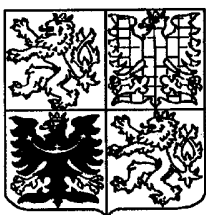


ČESKÁ
REPUBLIKA

(19)



ÚŘAD
PRŮMYSLOVÉHO
VLASTNICTVÍ

ZVEŘEJNĚNÁ PŘIHLÁŠKA VYNÁLEZU

(12)

(22) 24.03.94
(32) 02.04.93, 29.06.93
(31) 93/042377, 93/085338
(33) US, US
(40) 18.01.95

(21) 690-94

(13) A3

5(51) 6

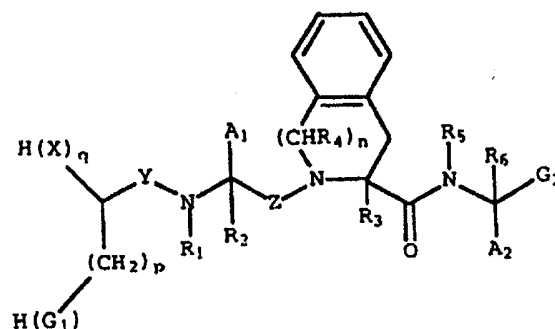
prejito
C 07 K 5/062
C 07 K 5/065
C 07 K 5/083
C 07 K 5/087
C 07 K 5/103
A 61 K 38/05
A 61 K 38/06
A 61 K 38/07

(71) Bristol-Myers Squibb Company, Princeton, NJ, US;

(72) Dinesh V. Patel, Cupertino, CA;
Toni B. Kline, New York, NY, US;
Chster A. Meyers, Medford, NJ, US;
Leftheris Katerina, Skillman, NJ, US;
Rajeev S. Bhide, Langhorne, PA, US;

(54) Heterocyklické inhibitory farnesyl-protein transferásy

(57) Inhibice farnesyl protein transferásy je dosaženo sloučeninami uvedeného obecného vzorce, jejich enetiomery, diastereomery, farmaceuticky přijatelnými solemi, prodrugs nebo solváty, kde A₁ a A₂ jsou každý nezávisle H, alkyl, substituovaný alkyl, cykloalkyl, substituovaný cykloalkyl, fenyl nebo substituovaný fenyl, G₁ je S nebo O, G₂ je H, -C(O)OH, -C(O)NH₂, 5-tetrazolyl, -C(O)N(R₇)OH nebo -CH₂OH, X je O nebo R₈N, Y a Z jsou každý nezávisle -CH₂- nebo -C(O)-, R₁, R₂, R₃, R₄, R₅, R₆ a R₇ jsou každý nezávisle H nebo alkyl, R₁ může být také alkanol, R₁ A₁ spolu mohou tvořit -(CH₂)_m, R₈ je H, alkyl, fenyl, fenylalkyl, substituovaný fenyl, (substituovaný fenyl)alkyl nebo -C(O)R₉, R₉ je H, alkyl, fenyl, fenylalkyl, substituovaný fenyl nebo (substituovaný fenyl)alkyl, m je 3 nebo 4, n je 0, 1 nebo 2, p je 0, 1 nebo 2 a q je 0 nebo 1, s podmínkou, že když p je 0, pak je q také 0.



026987	DOŠLO	16. V. 84	URAD PRŮMYSLového VLASTNICTVÍ	PŘÍL.
--------	-------	-----------	-------------------------------------	-------

Heterocyklické inhibitory farnesyl protein transferázy

Oblast techniky

Vynález se týká sloučenin, které inhibují farnesyl-protein transferázu a Ras protein farnesylaci, což je činí vhodnými jako protirakovinová činidla. Tyto sloučeniny jsou také vhodné při léčení chorob, jiných než je rakovina, spojených se signálními transdukčními drahami operujícími přes Ras a tím spojenými s CAAX-obsahujícími proteiny jinými než je Ras, které jsou také posttranslačně modifikovány enzymem farnesyl protein transferásou. Sloučeniny také mohou působit jako inhibitory jiných prenyl transferás a jsou tak účinné při léčení chorob spojených s jinými prenyl modifikacemi proteinů.

Podstata vynálezu

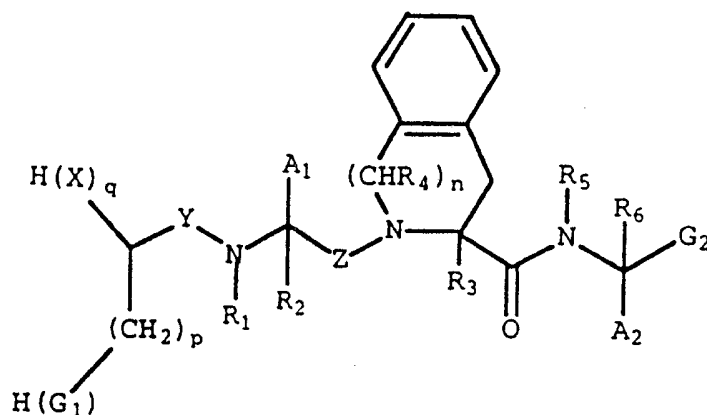
Rodina samčích ras genů zahrnuje tři geny, H-ras, K-ras a N-ras. Ras proteiny jsou rodina GTP-vázajících a hydrolyzujících proteinů, které regulují buněčný růst a diferenciaci. Nadprodukce normálních Ras proteinů nebo mutace, které inhibují jejich GTPásovou aktivitu mohou vést k nekontrolovatelnému buněčnému dělení.

Transformační aktivita ras je závislá na lokalizaci proteinu k plasmové membráně. Tato vazba k membráně se uskutečňuje serií posttranslačních modifikací cytosolických Ras proteinů. Prvním a podstatným stupněm v této sekvenci je vždy farnesylace těchto proteinů. Reakce je katalyzována farnesyl protein transferásou (FTP) a farnesyl pyrofosfát (FPP) slouží jako donor farnesylové skupiny v této reakci. Ras C-terminus obsahuje motiv sekvence "Cys-Aaa₁-Aaa₂-Xaa" box (CAXX box), kde Cys je cystein, Aaa je alifatická aminokyselina a Xaa je serin nebo methionin. Farne-

sylace probíhá na cysteinylovém zbytku CAAX boxu (Cys-186), čímž je připojena prenylskupina k proteinu vazbou thioetherovou.

Podstata vynálezu

V souladu s předloženým vynálezem sloučeniny obecného vzorce I



její enantiomery a diastereomery a farmaceuticky přijatelné soli, prodrugs a jejich solváty, inhibující S-farnesyl protein transferázu, což je enzym zahrnutý do ras onkogenní funkce. Ve vzorci I a v celém popise, pokud není uvedeno jinak, jsou výše uvedené symboly definovány následovně:

A₁ a A₂ jsou každý nezávisle na druhém H, alkyl, substituovaný alkyl, cykloalkyl, substituovaný cykloalkyl, fenyl nebo substituovaný fenyl,

G₁ je S nebo O,

G₂ je H, -C(O)OH, -C(O)NH₂, 5-tetrazolyl, -C(O)N(R₇)OH nebo GH₂OH,

X je O nebo R₈N,

Y a Z jsou nezávisle na sobě každý -CH₂- nebo -C(O)-,

R₁, R₂, R₃, R₄, R₅, R₆ a R₇ jsou každý nezávisle na ostatních H nebo alkyl,

R_1 může být také alkanoyl,

R_1 a A_1 společně mohou znamenat $-(CH_2)_m$,

R_8 je H, alkyl, fenyl, fenylalkyl, substituovaný fenyl,
(substituovaný fenyl)alkyl nebo $-C(O)R_9$,

R_9 je H, alkyl, fenyl, fenylalkyl, substituovaný fenyl
nebo (substituovaný fenyl)alkyl,

m je 3 nebo 4,

n je 0, 1 nebo 2,

p je 0, 1 nebo 2 a

q je 0 nebo 1 s podmínkou, že $q=1$ p 0, potom je q také 0.

Dále jsou uvedeny definice různých termínů používaných v tomto popise. Tyto definice je třeba aplikovat na výrazy, které jsou v popise použity, pokud není ve specifických příkladech uvedeno jinak, buď jako samostatné nebo jsou-li částí větší skupiny.

Výraz "alkyl" nebo "alk-" označuje přímé nebo rozvětvené řetězce nesubstituovaných uhlovodíkových skupin s 1 až 7 atomy uhlíku. Výraz "nižší alkyl" označuje nesubstituované alkylové skupiny s 1 až 4 atomy uhlíku.

Výraz "cykloalkyl" označuje cyklické uhlovodíkové skupiny se 3 až 8 atomy uhlíku.

Výraz "halogen" nebo "halo" označuje fluor, chlor, brom a jod.

Výraz "alkoxy" označuje alkyl-O-.

Výraz "alkanoyl" označuje alkyl-C(O)-.

Výraz "alkanoyloxy" označuje alkyl-C(O)-O-.

Výraz "alkylamino" a "dialkylamino" označuje (alkyl)NH-
a (alkyl)₂N-.

Výraz "alkanoylamino" označuje alkyl-C(O)-NH-.

Výraz "alkylthio" označuje alkyl-S-.

Výraz "alkylthiono" označuje alkyl-S(O)-.

Výraz "alkylsulfonyl" označuje alkyl-S(O)₂-.

Výraz "karbamyloxy" označuje -C(O)NH₂.

Výraz "alkoxykarbonyl" označuje alkyl-O-C(O)-.

Výrazy "substituovaný alkyl" a "substituovaný cykloalkyl" označují alkylovou nebo cykloalkylovou skupinu, substituovanou například jedním až čtyřmi substituenty jako je halo, hydroxy, alkoxy, alkanoyl, alkanoyloxy, amino, alkylamino, dialkylamino, alkanoylamino, thiol, alkylthio, alkylthiono, alkylsulfonyl, sulfonamido, nitro, kyan, karboxy, karbamyloxy, N-hydroxykarbamyloxy, alkoxykarbonyl, fenyl, substituovaný fenyl, guanidino, indolyl, imidazolyl, furyl, thienyl, thiazolyl, pyrrolidinyl, pyridyl, pyrimidyl a podobně.

Výraz "substituovaný fenyl" zahrnuje fenylovou skupinu substituovanou například jedním až čtyřmi substituenty jako je alkyl, halo, hydroxy, alkoxy, alkanoyl, alkanoyloxy, amino, alkylamino, dialkylamino, alkanoylamino, thiol, alkylthio, nitro, kyano, karboxy, karbamyloxy, alkoxykarbonyl, alkylthiono, alkylsulfonyl, sulfonamido a podobně.

Sloučeniny vzorce I tvoří soli, které také spadají do rozsahu předloženého vynálezu. Farmaceuticky přijatelné (tj. netoxické, fyziologicky přijatelné) soli jsou preferovány, i když jiné soli jsou také vhodné, např. při izolaci nebo čištění sloučenin podle vynálezu.

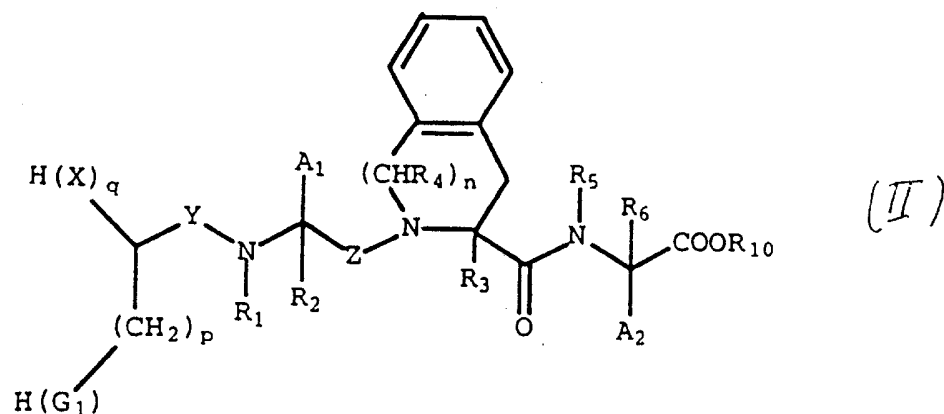
Sloučeniny vzorce I mohou tvořit soli s alkalickými kovy jako je sodík, draslík a lithium, s kovy alkalických zemin jako je vápník a hořčík, s organickými bázemi jako je dicyklohexylamin, tributylamin, pyridin a aminokyseliny jako je arginin, lysin a podobně. Tyto soli mohou být získány výměnou protonů karboxylové kyseliny ve sloučenině vzorce I za požadovaný ion v prostředí, ve kterém se sůl sráží nebo ve vodném prostředí s následujícím odpařením.

Jestliže sloučenina vzorce I obsahuje bázičskou skupinu, jako je amino nebo substituovaná amino, může tvořit soli s různými organickými a anorganickými kyselinami. Tyto soli zahrnují ty, které jsou vytvořeny s chlorovodíkem, bromovodíkem, kyselinou methansulfonovou, kyselinou sírovou, kyselinou octovou, kyselinou trifluoroctovou, kyselinou maleinovou, kyselinou benzensulfonovou, kyselinou toluensulfonovou a různé jiné (např. nitráty, fosfáty, boráty, tartráty, citráty, sukcináty, benzoáty, askorbáty, salicyláty a podobně). Tyto soli mohou být vytvořena reakcí sloučeniny vzorce I v ekvivalentním množství kyseliny v prostředí, ve kterém se sůl sráží nebo ve vodném mediu s následujícím odpařením.

Dále mohou být vytvořena zwitteriony ("vnitřní soli").

Sloučenina vzorce I může také mít formu prodrug. Jakékoliv sloučenina, které se in vivo bude konvertovat tak, že

poskytne bioaktivní činidlo (tj. sloučeninu vzorce I) je prodrug v rozsahu a duchu vynálezu. Například může být sloučenina vzorce I ve formě prodrug, majícího vzorec II



kde

R₁₀ je nižší alkyl jako je methyl, ethyl a podobně,

substituovaný nižší alkyl jako je 2-(N-morfolin)ethyl a podobně,

nižší aralkyl jako je benzyl, bifenylylmethyl a podobně,

(acyloxy)alkyl jako je (pivalyloxy)methyl, 1-(propanoyloxy)-2-methyl-1-propyl a podobně,

(aminoacyloxy)aroyloxyalkyl, jako je para-glycyloxybenzoyloxymethyl a podobně,

(aminoalkoxy)aroyloxyalkyl, jako je para-2-(N-morfolin)-ethoxy/benzoyloxymethyl a podobně,

substituované amidy jako je N,N-di(2-hydroxyethyl)acetamid, 4-methylpiperazin-1-acetyl, 4-(2-hydroxyethyl)pi-

perazin-1-acetyl a podobně nebo

dioxolanmethyl jako je (5-methyl-2-oxo-1,3-dioxolan-4-yl)methyl a podobně.

Dále u sloučeniny vzorce O, kde A_2 je $-(CH_2)_wOH$ (kde w je 2 nebo 3) a G_2 je $-C(O)OH$, mohou být A_2 a G_2 spojeny za vzniku laktonového kruhu, který může být otevřen in vivo za vzniku sloučeniny vzorce I, kde A_2 je $-(CH_2)_wOH$ (kde w je 2 nebo 3) a G_2 je $-C(O)OH$.

Různé formy prodrugs jsou v oboru dobře známé. Příklady takových prodrug derivátů viz:

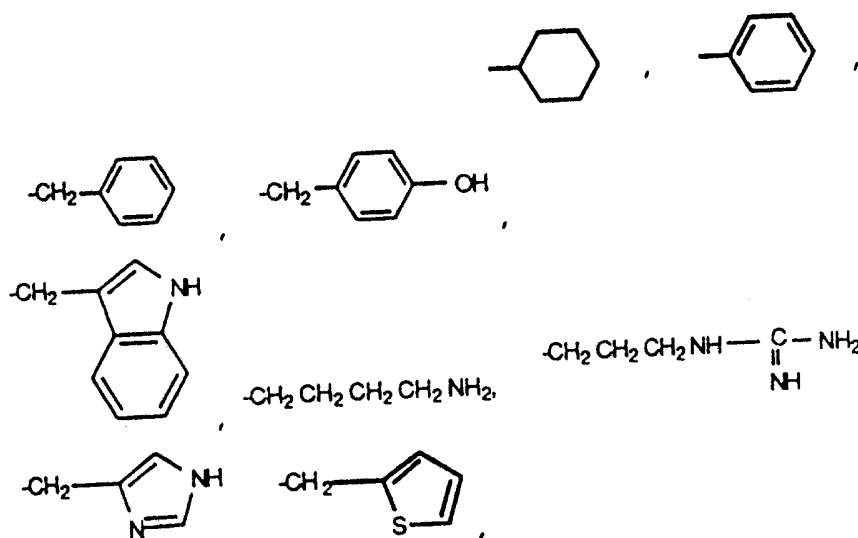
- a) Design of Prodrugs, vyd. H. Bundgaard, (Elsevier, 1985) a Methods in Enzymology, Vol. 42, str. 309 až 396, vyd. K. Widder a spol., (Academic Press, 1985),
- b) Textbook of Drug Design and Development, vyd. Krogsgaard-Larsen a H. Bundgaard, kapitola 5, "Design and Application of Prodrugs", H. Bundgaard, str. 113-191 (1991),
- c) H. Bundgaard, Advanced Drug Delivery Reviews, 8, 1-38 (1992),
- d) H. Bundgaard a spol., Journal of Pharmaceutical Sciences, 77, 285 (1988) a
- e) N. Kakeya a spol., Chem. Pharm. Bull, 32, 692 (1984).

Do rozsahu vynálezu spadají také solváty (např. hydráty) sloučenin vzorce I. Způsob solvatace je obecně v oboru znám.

Výhodné skupiny

Pro sloučeninu vzorce I jsou preferovány následující skupiny:

A_1 a A_2 jsou každý nezávisle na druhém H nebo D-, L- nebo DL-
 $-CH_3$, $-CH(CH_3)_2$, $-CH_2CH(CH_3)_2$, $-CH(CH_3)CH_2CH_3$, $-C(CH_3)_3$,
 $-CH_2OH$, $-CH_2CH_2OH$, $-CH_2CH_2CH_2OH$, $-CH(OH)CH_3$



$-\text{CH}_2\text{C}(\text{O})\text{OH}$, $-\text{CH}_2\text{CH}_2\text{C}(\text{O})\text{OH}$, $-\text{CH}_2\text{C}(\text{O})\text{NH}_2$, $-\text{CH}_2\text{CH}_2\text{C}(\text{O})\text{NR}_{11}\text{R}_{12}$,
 kde R_{11} a R_{12} jsou nezávisle na sobě každý H, alkyl nebo
 fenyl a R_{11} a R_{12} společně mohou tvořit $-(\text{CH}_2)_o-$, kde o je
 2 až 6, $-\text{CH}_2\text{CH}_2\text{C}(\text{O})\text{NHOH}$, $-\text{CH}_2\text{SH}$, $-\text{CH}_2\text{CH}_2\text{SH}$,
 $-\text{CH}_2\text{CH}_2\text{S}(\text{O})_2\text{NH}_2$, $-\text{CH}_2\text{CH}_2\text{OCH}_3$ nebo $-\text{CH}_2\text{CH}_2\text{SCH}_3$.

Zvláště preferovány jsou následující skupiny:

A_1 je $-\text{CH}_3$, $-\text{CH}(\text{CH}_3)_2$, $-\text{CH}_2\text{CH}(\text{CH}_3)_2$, $-\text{C}(\text{CH}_3)_3$, $-\text{CH}(\text{CH}_3)\text{CH}_2\text{CH}_3$,
 $-\text{CH}_2\text{OH}$ nebo $-\text{CH}(\text{OH})\text{CH}_3$,

A_2 je $-\text{CH}_2\text{CH}_2\text{SCH}_3$, $-\text{CH}_2\text{CH}_2\text{OH}$, $-\text{CH}_2\text{CH}_2\text{CH}_2\text{OH}$,
 $-\text{CH}_2\text{CH}_2\text{C}(\text{O})\text{NR}_{11}\text{R}_{12}$, kde R_{11} a R_{12} jsou nezávisle na sobě
 každý H, alkyl nebo fenyl a R_{11} a R_{12} mohou spolu tvořit
 $-(\text{CH}_2)_o-$, kde o je 2 až 6, $-\text{CH}_2\text{CH}_2\text{OCH}_3$ nebo $-\text{CH}_2\text{CH}_2\text{SH}$,

G_1 je S,

G_2 je $-\text{C}(\text{O})\text{OH}$,

X je R_8N ,

Y je $-\text{CH}_2-$,

R_1 , R_2 , R_3 , R_4 , R_5 , R_6 , R_7 a R_8 jsou H,

n je 1 a

p je 1.

Použití a využitelnost

Sloučeniny obecného vzorce I jsou inhibitory S-farnesyl protein transferázy. Proto mohou být použitelné při léčení různých rakovin, zahrnujících (ale neomezujících se tak) následující:

- karcinom, zahrnující karcinomy měchýře, prsu, střeva, ledvin, jater, plic, vaječníků, pankreasu, žaludku, cervixu, thyroidu a kůže,
- hematopoietické tumory lymfoidní linie, zahrnující akutní lymfocytické leukemie, B-buněčný lymfom a Burkettův lymfom,
- hematopoietické tumory myeloidní linie, zahrnující akutní a chronické myelogenní leukemie a promyelocytické leukemie,
- tumory mesenchymálního původu, zahrnující fibrosarkom a rhabdomyosarkom a
- jiné tumory, zahrnující melanomy, seminomy, tetratokarcinomy, neuroblastomy a gliomy.

Sloučeniny vzorce I jsou zejména použitelné při léčení tumorů, majících vysoký výskyt ras zapojení, jako jsou střevní, plicní a pankreatické tumory. Při podání přípravku, obsahujícího jednu (nebo kombinaci) ze sloučenin podle vynálezu, se vývoj tumorů v savčím hostiteli redukuje.

Sloučeniny vzorce I mohou také být použitelné při léčení chorob jiných než je rakovina, které mohou být spojeny se signální transdukcí drah, operujících přes Ras, např. neuro-fibromatosis.

Sloučeniny vzorce I mohou být také použitelné při léčení chorob spojených s CAAX-obsahujícími proteiny jinými než Ras (např. jaderné laminy a transducin), které jsou také posttranslačně modifikovány enzymem farnesyl protein

transferásou.

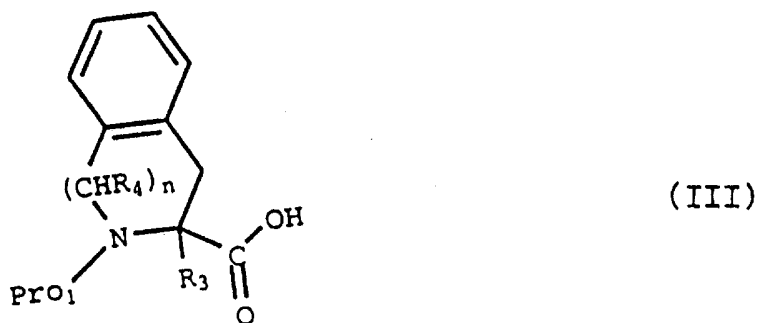
Sloučeniny vzorce I mohou také působit jako inhibitory jiných prenyl transferás (např. geranylgeranyl transferázy) a být tak účinné při léčbě chorob spojených s jinými prenyl modifikacemi (např. geranylgeranylace) proteinů (např. rap, rab, rac a rho genové produkty a podobně). Například mohou nalézt použití jako léčiva vůči Hepatitis delta viravým (HDV) infekcím, jak bylo v poslední době potvrzeno zjištěním, že geranylgeranylace velké isoformy delta antigenu HDV je požadavkem pro produktivní virovou infekci /J.S.Glenn a spol., Science, 256, 1331 (1992)/.

Sloučeniny podle vynálezu mohou být také použitelné v kombinaci se známými protirakovinovými a cytotoxickými činidly. Jestliže jsou formulovány jako pevná dávka, mohou takové kombinační produkty obsahovat sloučeniny podle vynálezu v dávkovém rozmezí popsaném dále a jiné farmaceuticky aktivní činidlo v jeho doporučeném dávkovém rozsahu. Sloučeniny vzorce I mohou být použity postupně se známými protirakovinovými nebo cytotoxickými činidly, jestliže je kombinační přípravek nevhodný.

Sloučeniny podle tohoto vynálezu mohou být formulovány s farmaceutickým vehikulem nebo ředidlem pro orální, intravenózní nebo subkutánní podání. Farmaceutický přípravek může být formulován klasickým způsobem na použití pevných nebo kapalných vehikul, ředidel a aditiv vhodných pro požadovaný způsob podání. Orálně mohou být sloučeniny podávány ve formě tablet, kapslí, granulí, prášků a podobně. Tyto sloučeniny mohou být podávány v dávkovém rozsahu od asi 0,05 do 50 mg/kg/den, výhodně méně než 50 mg/kg/den, v jediné dávce nebo 2 až 4 rozdělených dávkách.

Způsob přípravy

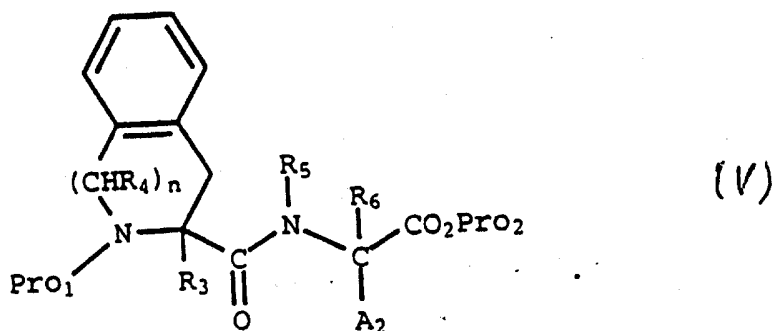
Sloučenina dále uvedeného vzorce III, kde Pro₁ je chránící skupina aminoskupiny (např. terc.butyloxykarbonyl (Boc), benzyloxykarbonyl (Cbz) a podobně):



může být kopulována s aminokyselinovým derivátem chráněným na karboxyskupině vzorce IV



na vzorci sloučeniny vzorce V dále, kde Pro₂ je chránící skupina karboxylové skupiny (např. alkyl, benzyl, p-methoxybenzyl a podobně):



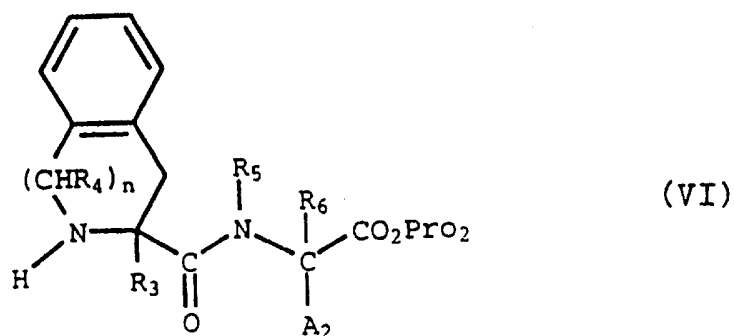
Další příklady chránících skupin amino- a karboxyskupin (jakož i způsoby přípravy a eventuálního odstranění chránících skupin) viz T.W.Greene a P.G.M.Wuts, "Protective Groups in Organic Synthesis", 2.vydání, John Wiley and Sons, New York, 1991.

Pro tuto kopulaci mohou být použita různá kopulační činidla, zahrnující 1-(3-dimethylaminopropyl)-3-ethylkarbodiimid hydrochlorid (EDCI) s 1-hydroxybenzotriazolem (HOBT), dicyklohexylkarbodiimid (DCC) s HOBT, benzotriazol-1-yloxytris(dimethylamino)forfoniumhexafluorofosfát (BOP) s nebo bez HOBT, karbonyldiimidazol (CDI), bis(2-oxo-3-oxazolidinyl)-fosfochlorid (BOP chlorid), isopropylchlorformiát (IPCF) a podobně.

Sloučeniny vzorce IV jsou známy v oboru. Viz např. R.M. Williams, "Synthesis of Optically Active α -Amino Acids", Pergamon Press, Oxford, 1989.

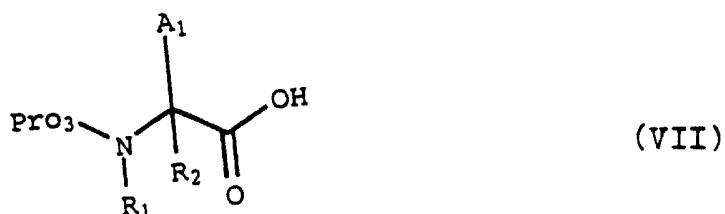
Sloučeniny vzorce III mohou být připraveny metodami v oboru známými. Například, pro sloučeniny vzorce III, kde n je 1 a R_3 je alkyl, viz např. J.W.Skiles a spol., J.Med.Chem., 29, 784 (1986) a U.Schollkopf a spol., Angew.Chem. Int.Ed.Engl., 26, 143 (1987). Pro sloučeniny vzorce III, kde R_4 je alkyl a n je 1 viz například I.Huber a D. Seebach, Helvetica Chim Acta, 70, 1944 (1987). Pro sloučeniny vzorce III, kde n je 0 a R_3 je H viz např. J.L.Stanton a spol., J.Med.Chem., 26, 1267 (1983) a kde n je 2 a R_3 je H viz např. M.Okada a spol., JP 02,193,971, 31.červenec 1990.

Sloučeniny vzorce V mohou být zpracovány se vhodným N-deprotekčním činidlem pro poskytnutí odpovídajícího volného aminu vzorce VI

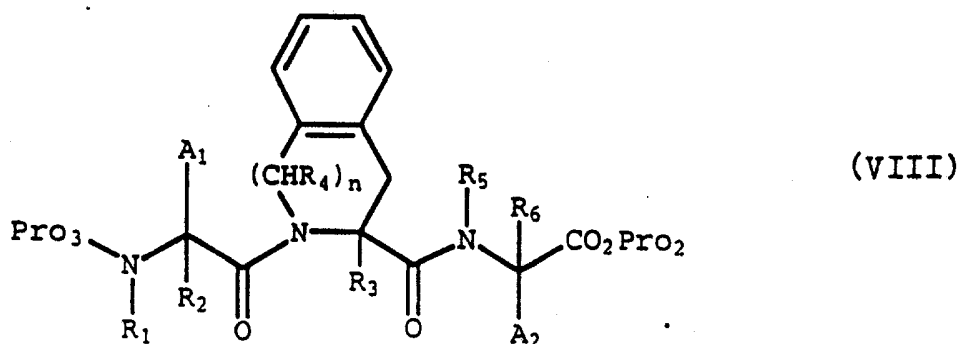


(Pro₁ a Pro₂ chránící skupiny jsou zvoleny tak, že Pro₁ může být selektivně odstraněna za přítomnosti Pro₂).

Amin vzorce VI může být kopulován se vhodnou aminochráňnou aminokyselinou vzorce VII (kde Pro₃ je aminovou skupinu chránící skupina):



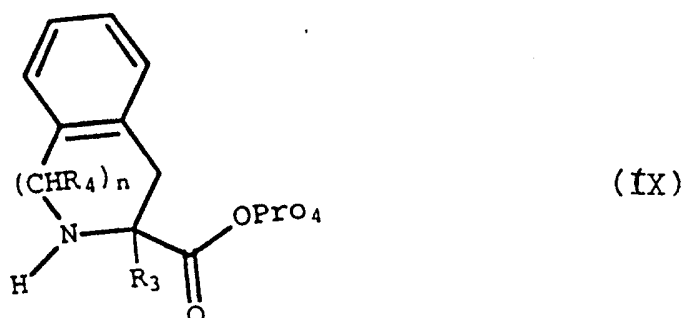
za použití vhodného kopulačního činidla (např. BOP-CL) za vzniku sloučeniny vzorce VIII



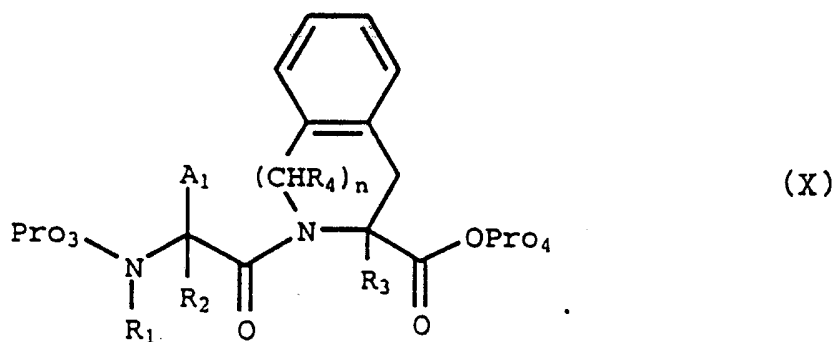
(Sloučeniny vzorce VIII jsou v oboru známe. Viz např. R.M.

Williams, "Synthesis of Optically Active α -amino Acids", Pergamon Press, Oxford, 1989).

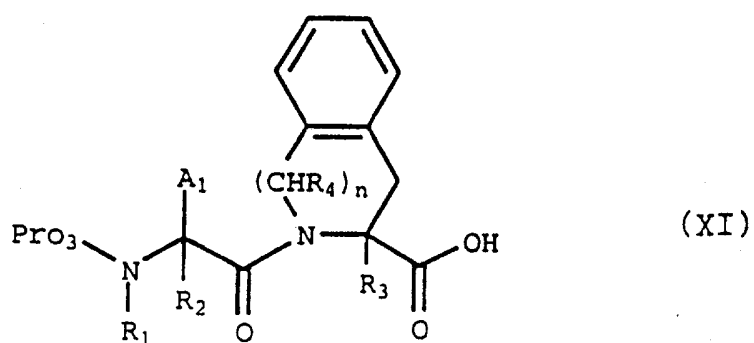
Sloučeniny vzorce VIII mohou být také připraveny kopolací C-terminálně chráněné aminokyseliny vzorce IX (kde Pro_4 je chránicí skupina karboxylové kyseliny):



s amino-chráněnou aminokyselinou vzorce VII výše za vzniku sloučeniny vzorce X:



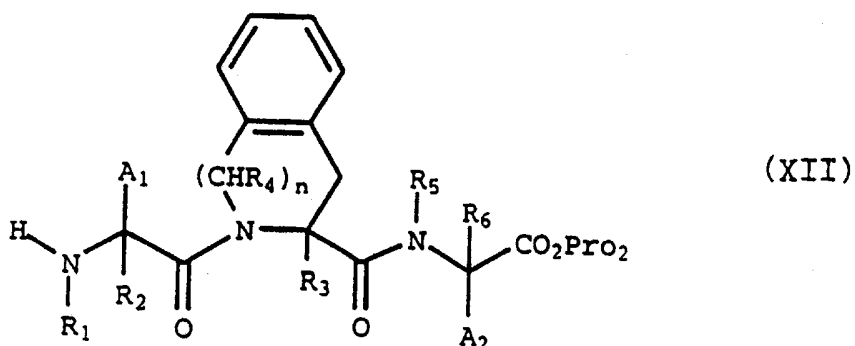
Pro_4 chránicí skupina sloučeniny X může být selektivně odstraněna metodami v oboru známými za vzniku sloučeniny vzorce XI dále



(Pro₃ a Pro₄ chránící skupiny jsou voleny tak, že Pro₄ může být selektivně odstraněna za přítomnosti Pro₃).

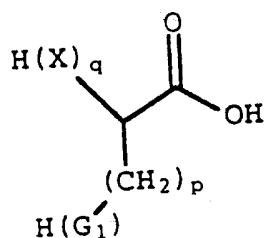
Kopulací sloučeniny vzorce XI s aminoesterem vzorce IV pak může být poskytnuta sloučenina vzorce VIII.

Sloučenina vzorce VIII může být selektivně N-zbavena chránící skupiny metodami v oboru známými za vzniku aminu vzorce XII



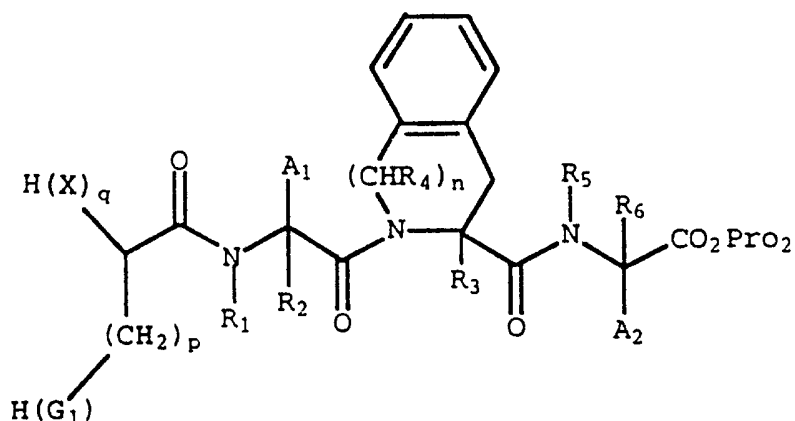
(Pro₂ a Pro₃ chránící skupiny jsou voleny tak, že Pro₃ může být selektivně odstraněna za přítomnosti Pro₂).

Kopulací amino vzorce XII s kyselinou vzorce XIII (kde X a G₁ jsou popřípadě chráněny):



(XIII)

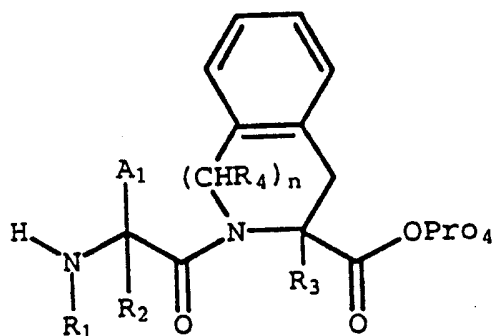
se vhodným kopulačním činidlem se získá sloučenina vzorce XIV



(XIV)

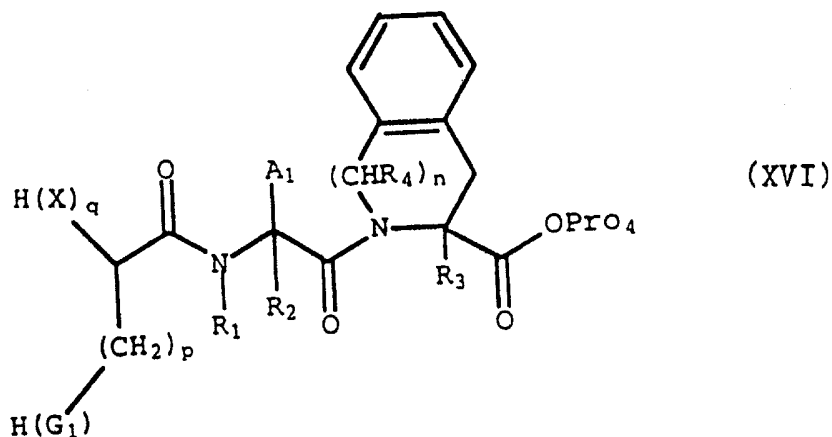
Odstraněním Pro_2 skupiny z XIV a odstraněním popřípadě přítomných chránících skupin, chránících X a G_1 se pak získá sloučenina vzorce I, kde Y a Z jsou $-\text{C}(\text{O})-$ a G_2 je $-\text{C}(\text{O})\text{OH}$. (Viz T.W.Greene a P.G.M.Wuts, "Protective Groups in Organic Synthesis", John Wiley and Sons, New York, 1991, pro příklady chránících skupin pro X a G_1 , jejich tvorbu a odstranění).

Alternativně, odstranění dusík chránící skupiny (Pro_3) ze sloučeniny vzorce X poskytne amin vzorce XV:

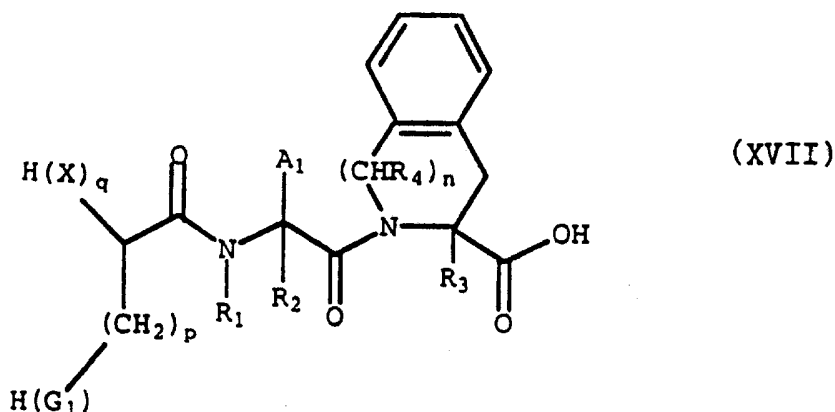


(XV)

který pak může být kopulován s kyselinou vzorce XIII za vzniku sloučeniny vzorce XVI, kde X a G₁ jsou popřípadě chráněny:



Selektivní odstranění Pro₄ chránící skupiny XVI poskytne kyselinu vzorce XVII



která může být kopulována s aminem vzorce IV za vzniku sloučeniny vzorce XIV. Odstranění Pro₂ chránící skupiny z XIV a odstranění popřípadě přítomných chránících skupin na X a G₁ pak také poskytne sloučeninu vzorce I, kde Y a Z jsou -C(O)- a G₂ je -C(O)OH.

Sloučenina vzorce I, kde Y a Z jsou -C(O)- a G₂ je -C(O)-OH nebo -C(O)NH₂, mohou být připraveny automatickou peptidovou syntézou v pevné fázi za použití metod dobře v oboru známých.

Viz například:

- a) M.Bodanszky a A.Bodanszky, "The Practice of Peptide Synthesis", Springer Verlag, Berlin/Heidelberg/New York/Tokyo, 1984.
- b) J.M.Stewart a J.D.Young, "Solid Phase Peptide Synthesis", Pierce Chemical Co., Rockport, Illinois, 1984.

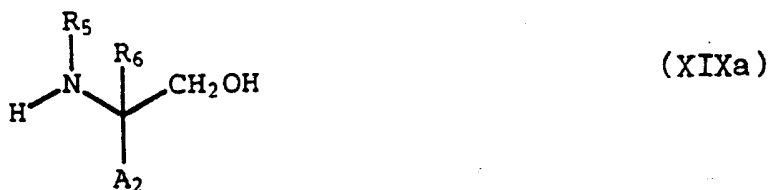
Redukce sloučeniny vzorce XVIII dále, kde Pro_5 je aminochránící skupina (např. Terc.butyloxykarbonyl (Boc), benzyloxykarbonyl (Cbz) a podobně):



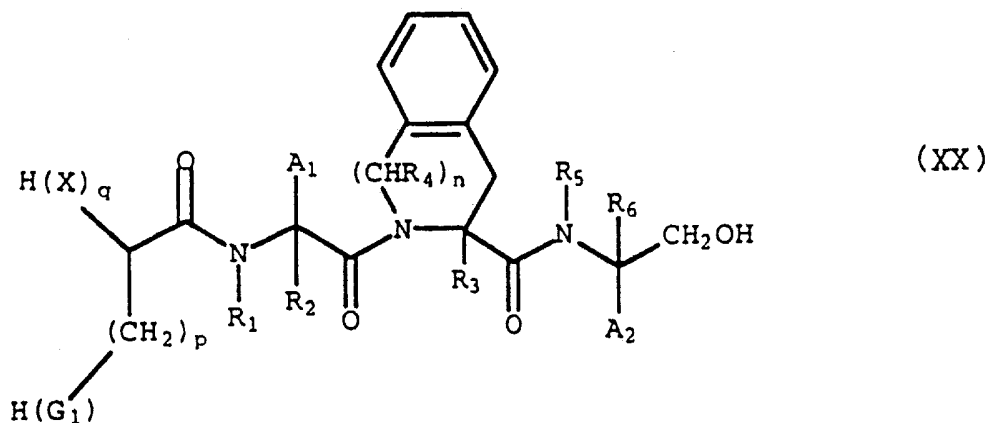
s redukčním činidlem jako je boran, poskytne alkohol vzorce XIX:



Sloučenina vzorce XIX může být zbavena chránící N-skupiny metodami známými v oboru za vzniku aminu vzorce XIXa:



který může být kopulován se sloučeninou vzorce XVII za vzniku sloučeniny vzorce XX

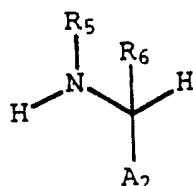


Odstranění popřípadě přítomných chránících skupin chránících X a G pak poskytne sloučeninu vzorce I, kde Y a Z jsou $-C(O)$ a G_2 je $-CH_2OH$.

Sloučeniny vzorce XVIII jsou známe v oboru. Viz například R.M.Williams, "Synthesis of Optically Active α -Amino Acids", Pergamon Press, Oxford, 1989.

Sloučenina vzorce I, kde Y a Z jsou $-C(O)$ a G_2 je $-CH_2OH$ mohou být také připraveny použitím automatizované peptidové syntézy v pevné fázi provedením rutinního konečného stupně uvolnění produktu z jeho pevného nosiče postupem podle J.M.Stewart a spol., US patent č. 4254023 (1981). Například C-terminální aminokyselinový zbytek obvykle připojený k fenylacetamidomethyl (PAM) pryskyřici může být uvolněn jako primární alkohol po zpracování s lithiumborohydridem ve vhodném rozpouštědle jako je tetrahydrofuran.

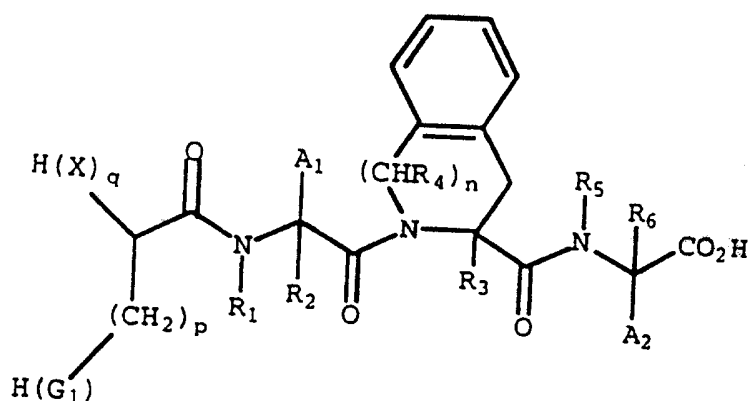
Kopulace sloučeniny vzorce VII se sloučeninou vzorce XXI



(XIX)

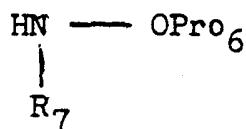
a odstranění případných chránících skupin X a G_1 poskytne sloučeninu vzorce I, kde Y a Z jsou $-C(O)-$ a G_2 je H. Sloučeniny vzorce XXI mohou být připraveny metodami známými v oboru.

Selektivní odstranění Pro_2 skupiny ve sloučenině vzorce XIV metodami známými v oboru poskytne sloučeninu vzorce XXII, kde X a G_1 jsou popřípadě chráněny:



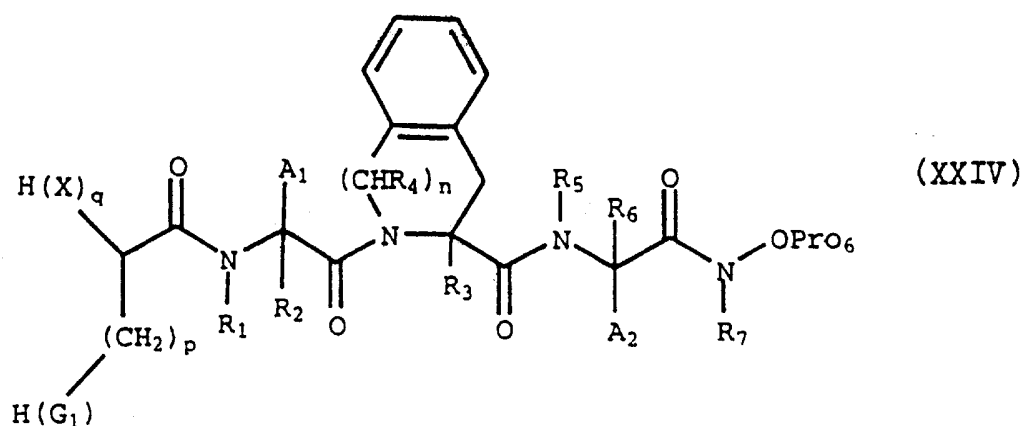
(XXII)

Sloučenina vzorce XXII může být kopulována s alkoxyaminem vzorce XXIII dále (kde Pro_6 je vhodná chránící skupina známá v oboru, např. benzyl, 2-tetrahydropyranyl (THP) a podobně):



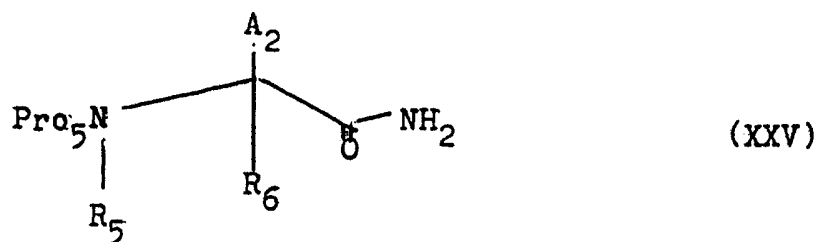
(XXIII)

metodami známými v oboru za vzniku hydroxamového etheru vzorce XXIV, kde X a G_1 jsou popřípadě chráněny:



Vhodné odstranění ochránících skupin ze sloučeniny vzorce XXIV, je-li žádoucí, závisí na definicích Pro₆, X a G₁ poskytne sloučeninu vzorce I, kde Y a Z jsou -C(O)- a G₂ je C(O)N(R₇)OH.

Kyselina vzorce XVIII může být kopulována s amoniakem metodami v oboru známými za vzniku amidu vzorce XXV:



Amid vzorce XXV může být dehydratován za vzniku nitrilu vzorce XXVI metodami známými v oboru: (např. POCl₃ v pyridinu nebo p-toluensulfonylchloridu v pyridinu):



Sloučenina vzorce XXVI může být převedena na tetrazol vzorce XXVII, kde Pro_7 je vhodná tetrazol-chránící skupina, metodami v oboru známými:

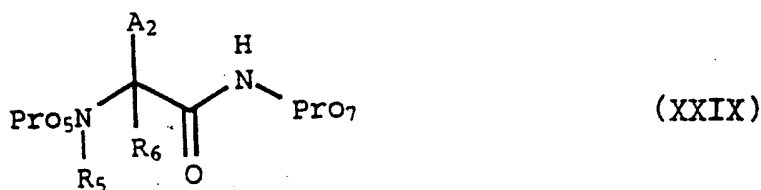


Například zahřátím sloučeniny vzorce XXVI s tributylcínazidem v organickém rozpouštědle (např. toluenu), s následujícím ošetřením hydroxidem a tritylchloridem se získá sloučenina vzorce XXVII, kde Pro_7 je tritylová skupina. Viz např. P. Brooks a spol., J. Chem. Soc., 925 (1960); Y. Hirotsu a spol., Bull. Chem. Soc. Japan, 40, 2945 (1967); Z. Grzonka a B. Liberek, Roczniki Chemii Ann. Soc. Chim. Polonorum, 45, 967 (1971).

Alternativně může být sloučenina vzorce XVIII kopulována s aminem vzorce XXVIII dále metodami v oboru známými:

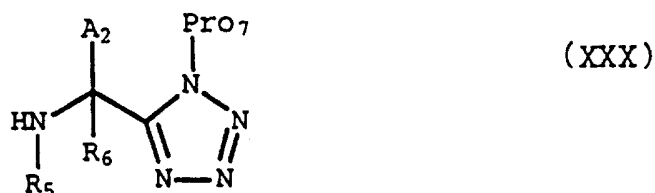


za vzniku amidu vzorce XXIX:

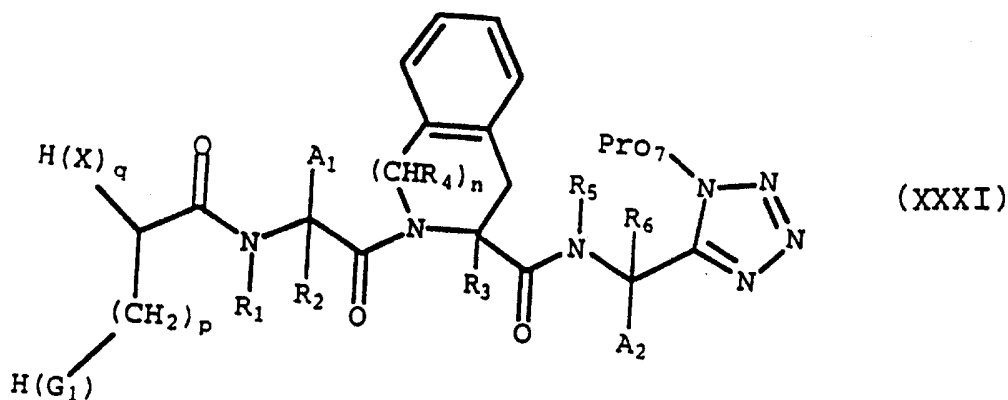


který může být zpracován za podmínek známých v oboru (např. azidotrimethylsilanem, trifenylofosfinem, diethylazodikarboxylátem v tetrahydrofuranu, jak je popsáno v práci J.V. Duncia a spol., J.Org.Chem. 56 2395 (1991)) za vzniku sloučeniny vzorce XXVII. Například sloučenina vzorce XXVII, kde Pro_7 je kyanoethylskupina, může být připravena použitím tohoto alternativního postupu.

Odstranění Pro_5 chránicí skupiny ze sloučeniny vzorce XXVII poskytne amin vzorce XXX

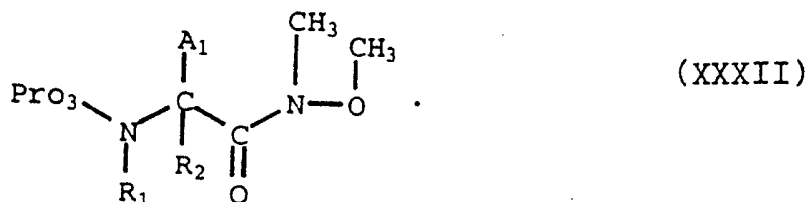


který může být kopulován s kyselinou vzorce XVII za vzniku sloučeniny vzorce XXXI, kde X a G_1 jsou popřípadě chráněny

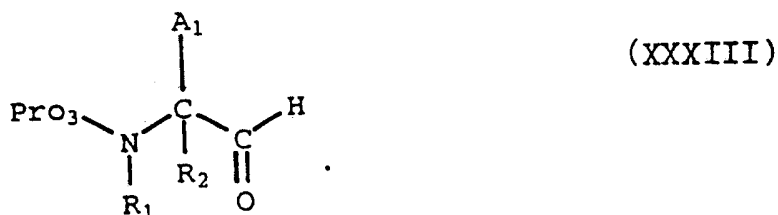


Vhodná odstranění chránících skupin ze sloučeniny vzorce XXXI je-li žádoucí, závisí na definicích Pro_7 , X a G_1 metodami známými v oboru, poskytne sloučeninu vzorce I, kde Y a Z jsou $-\text{C}(\text{O})-$ a G_2 je 5-tetrazolyl.

Aminokyselina vzorce VII (kde Pro_3 je vhodná aminochránící skupina) může být převedena na N-methoxy-N-methylamid⁸ vzorce XXXII metodami známými v oboru:



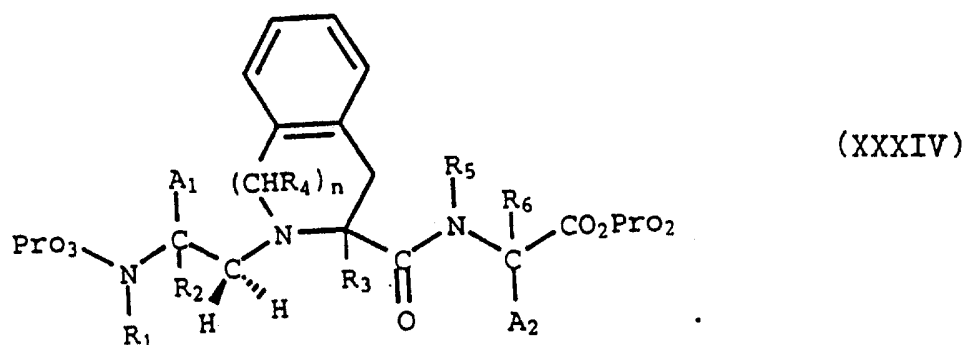
Sloučenina vzorce XXXII může být redukována na aldehyd vzorce XXXIII metodami známými v oboru (např. Fehrentz a spol., Synthesis, 676 (1983)):



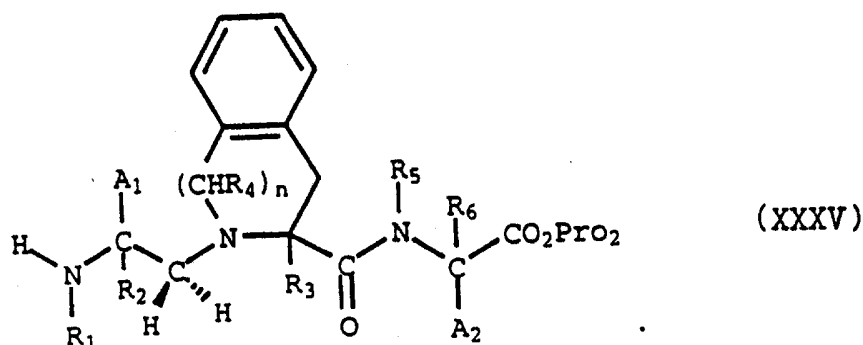
Alternativně, sloučenina vzorce XXXIII může být připravena redukcí sloučeniny vzorce VII redukčním činidlem jako je boran s následující oxidací vzniklého alkoholu za použití například Swerovy metody oxidace (např. Luly a spol., J.Org.

Chem., 52, 1487 (1987); Stanfield a spol., J.Org.Chem., 46, 4797 (1981)). V ještě další alternativě, sloučenina vzorce XXXIII může být připravena redukcí esteru sloučeniny vzorce VII redukčním činidlem jako je diisobutylaluminiumhydroxid. Viz např. Rich a spol., J.Org.Chem., 43, 3624 (1978).

N-Chráněný aldehyd vzorce XXXIII může být redukčně aminován aminem vzorce VI za vzniku sloučeniny vzorce XXXIV použitím metod známých v oboru (např. Borch a spol., J.Am.Chem.Soc., 93, 2897 (1971)):

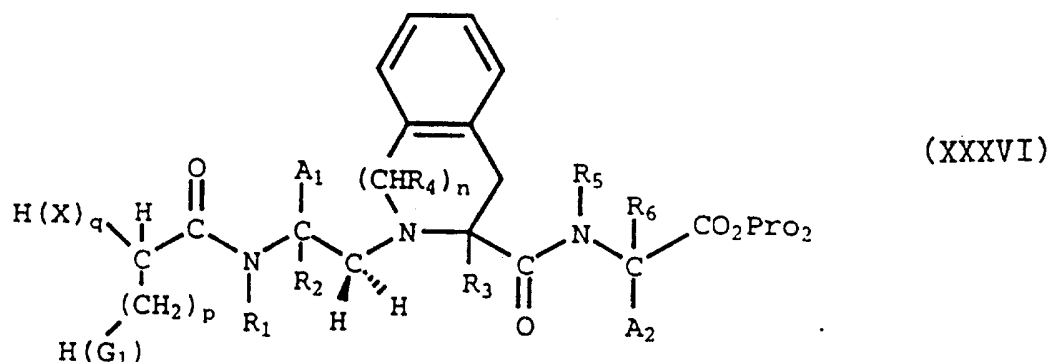


Sloučenina vzorce XXXIV může být zpracována se vhodným N-deprotektčním činidlem za vzniku odpovídajícího volného aminu vzorce XXXV



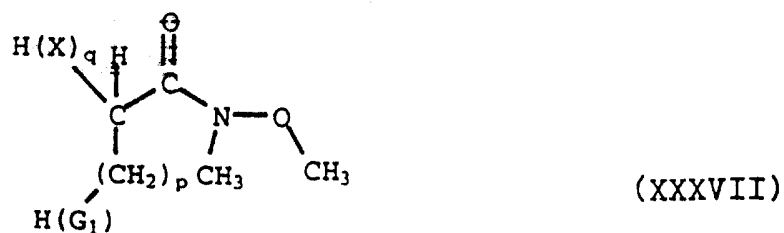
(Pro₂ a Pro₃ chránicí skupiny jsou zvoleny tak, že Pro₃ může být selektivně odstraněna za přítomnosti Pro₂).

Sloučenina vzorce XXXV může být kopulována s kyselinou vzorce XIII (kde X a G₁ jsou popřípadě chráněny) za použití vhodného kopulačního činidla za vzniku sloučeniny vzorce XXXVI:

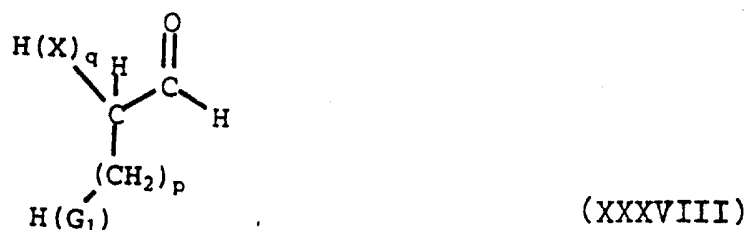


Odstranění Pro₂ chránicí skupiny XXXVI a odstranění popřípadě přítomných chránících skupin na X a G₁ poskytne sloučeninu vzorce I, kde Y je -C(O)-, Z je -CH₂- a G₂ je C(O)OH. (Viz. T.W. Greene a P.G.M. Wuts, "Protective Groups in Organic Synthesis", 2. vydání, John Wiley and Sons, New York 1991, pro příklady chránících skupin X a G₁, jejich tvorbu a odstranění).

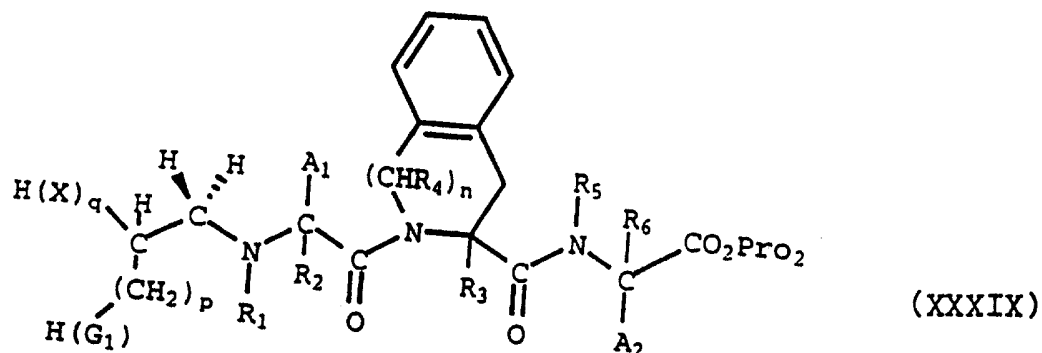
Kyselina vzorce XIII (kde X a G₁ jsou popřípadě chráněny) může být také převedena na N-methoxy-N-methylamid vzorce XXXVII metodami známými v oboru (např. Fehremtz a spol., Synthesis, 676 (1983)):



Sloučeniny vzorce XXXVII může být selektivně redukována na aldehyd vzorce XXXVIII metodami známými v oboru (např. Fehrentz a spol., Synthesis, 676 (1983)):



Aldehyd vzorce XXXVIII může být reduktivně aminován aminem vzorce XII za vzniku sloučeniny vzorce XXXIX použitím metod známých v oboru (Borch a spol., J. Am. Chem. Soc. 93, 2897 (1971)):

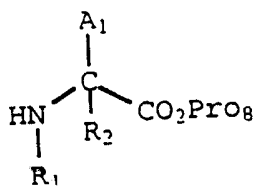


Deprtekci Pro₂ skupiny XXXIX a odstraněním popřípadě přítomných chránících skupin na X a G₁ se získá sloučenina

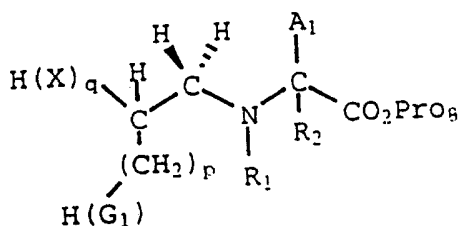
vzorci I, kde Y je $-\text{CH}_2-$, Z je $-\text{C}(\text{O})-$ a G_2 je $\text{C}(\text{O})\text{OH}$.

Kombinací vhodných výše uvedených stupňů může odborník v oboru připravit sloučeninu vzorce I, kde oba Y a Z jsou $-\text{CH}_2-$ a G_2 je $\text{C}(\text{O})\text{OH}$. Dále kombinací výše uvedených vhodných stupňů může odborník v oboru připravit sloučeniny vzorce I, kde jeden nebo oba Y a Z jsou $-\text{CH}_2-$ a G_2 je H, $-\text{C}(\text{O})\text{NH}_2$, 5-tetrazolyl, $-\text{C}(\text{O})\text{N}(\text{R}_7)\text{OH}$ nebo $-\text{CH}_2\text{OH}$.

V ještě dalším procesu může být aldehyd vzorce XXXVIII redukčně aminován aminem vzorce XXXY, kde Pro_8 je chránicí skupina karboxylové kyseliny (např. alkyl, benzyl, p-methoxybenzyl a podobně), za vzniku sloučeniny vzorce XXXI použitím metod v oboru známých (Borch a spol., J.Am.Chem.Soc., 93, 2897 (1971)):



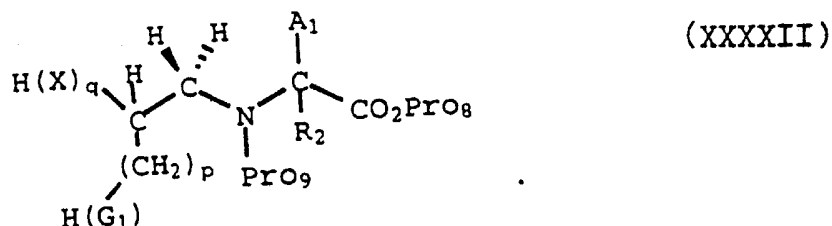
(XXXXa)



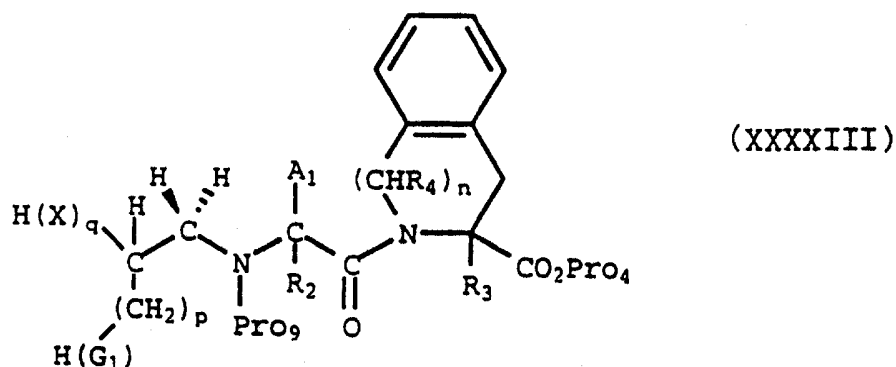
(XXXXI)

Pro_8 chránicí skupina může být selektivně odstraněna metodami známými v oboru za vzniku odpovídající karboxylové kyseliny, které může být kopulována s aminem vzorce VI za vzniku sloučeniny vzorce XXXIX. Odstranění chránicích skupin jak je popsáno výše, poskytne sloučeninu vzorce I, kde Y je $-\text{CH}_2-$, Z je $-\text{C}(\text{O})-$ a G_2 je $\text{C}(\text{O})\text{OH}$.

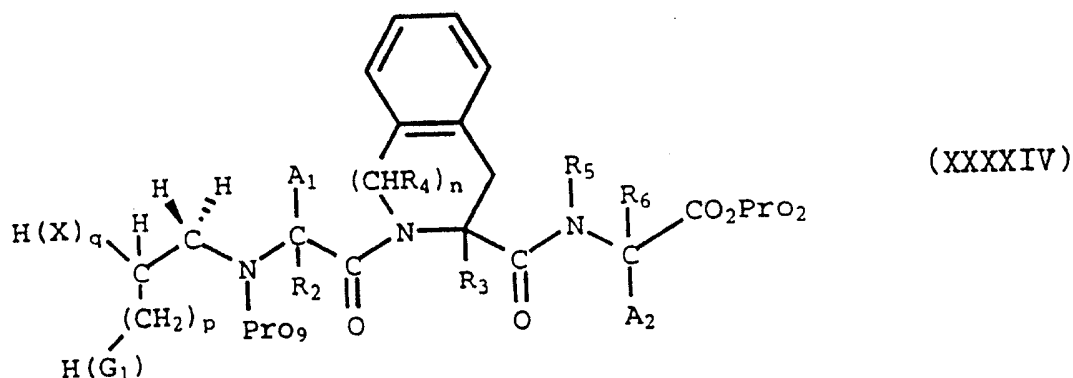
V ještě dalším procesu může být sloučenina vzorce XXXI kde R_1 je H chráněna na sekundárním aminu vhodnou N-chrá-
nící skupinou Pro_9 (jako je Obz. skupina) za vzniku slouče-
niny vzorce XXXXII:



Pro_8 chránící skupina sloučeniny vzorce XXXXII může
být selektivně odstraněna metodami v oboru známými za poskyt-
nutí odpovídající karboxylové kyseliny, která může být ko-
pulována s aminem vzorce IX za poskytnutí sloučeniny vzorce
XXXXIII:



Pro_4 chránící skupina sloučeniny vzorce XXXXIII může
být selektivně odstraněna metodami známými v oboru za poskyt-
nutí odpovídající karboxylové kyseliny, která může být ko-
pulována s aminem vzorce IV za vzniku sloučeniny vzorce
XXXXIV:



Depratekce Pro_2 skupiny XXXIV, odstranění N-chránící skupiny Pro_9 (například použitím směsi kyseliny trifluor-octové, thioanisolu a bromtrimethylsilanu) a odstranění po-
případě přítomných chránících skupin na X a G_1 , poskytne
sloučeninu vzorce I, kde Y je $-\text{CH}_2-$, Z je $-\text{C}(\text{O})-$, R_1 je
H a G_2 je $\text{C}(\text{O})\text{OH}$.

Chránící skupiny a postranního řetězce mohou být po-
užity v procesech pro aminokyseliny, mající seaktivní funkce,
jako je hydroxyl, karboxyl, amino, merkaptó, guanidino, imi-
dazolyl a podobně. Zvláštní chránící skupiny použité pro
jakékoliv aminokyselinové zbytky závisejí na vedlejších
řetězcích, které se chrání a jsou obecně v oboru známe. Pří-
klady chránících skupin postranních řetězců zahrnují acetyl,
benzoyl, benzyl, terc.butyl a podobně pro hydroxyl; cyklo-
hexyl, benzyl, methyl, ethyl, terc.butyl a podobně pro kar-
boxyl; benzyl, 4-methylbenzyl, 4-methoxybenzyl, acetyl,
acetamidomethyl, trifenylmethyl(trityl), a podobně pro
merkaptó; terc.butoxykarbonyl (Boc), benzyloxykarbonyl (Cbz),
N-/(9H-fluoren-9-ylmethoxy)karbonyl/ (Fmoc), ftaloyl (Pht),
p-toluensulfonyl (Tos), trifluoracetyl, 2-(trimethylsilyl)-
ethoxykarbonyl (Teoc) a podobné pro amino; 2,4-dinitrofenyl,
benzyloxymethyl, Tos, Boc, trityl a podobně pro imidazolyl;

formyl, Cbz, Teoc, 2,2,2-trichlorethylkarbamát (TROC) a podobně pro indolyl; a tosyl, nitro, bis(1-adamantyloxykarbonyl) a podobně pro guanidino.

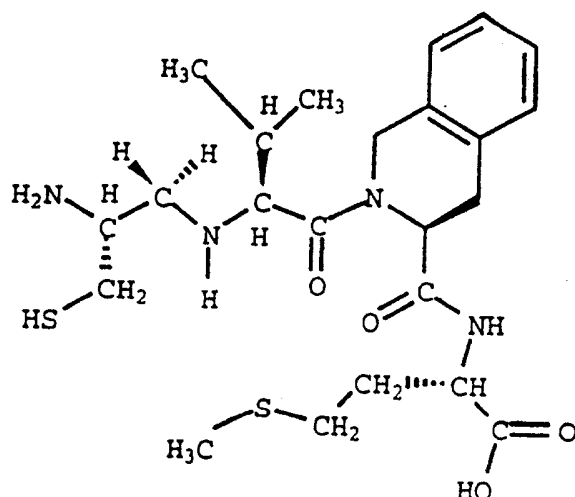
Chráničí skupiny postranního řetězce mohou být odstraněny, je-li to žádoucí, například, zpracováním s jedním nebo více deprotekčními činidly v inertním rozpouštědle nebo směsi rozpouštědel. Příklady chráničích skupin a vhodných deprotekčních činidel viz M.Bodansky a A.Bodansky, "The Practice of Peptide Synthesis", Springer-Verlag, Inc. (1984) a T.W.Greene a P.G.M.Wuts, "Protective Groups in Organic Synthesis", 2.vydání, John Wiley and Sons, New York, 1991.

Vynález nyní bude blíže popsán následujícími příklady provedení, které představují výhodná provedení vynálezu. Všechny teploty jsou ve °C pokud není uvedeno jinak. Sloučeniny, jejichž příklady jsou zde uvedeny, které obsahují bázičskou skupinu jako je amin nebo substituovaný amin, mohou existovat jako sole organické nebo anorganické kyseliny. Tato informace není explicitně popsána ve všech příkladech, ale je třeba chápat, že odborníkům v oboru je zřejmé. Příklady jsou míněny jako ilustrativní a ne omezující.

Příklady provedení vynálezu

Příklad 1

(R*,S*)-N-//2-//N-2-Amino-3-merkaptopropyl)-L-valyl/-1,2,3,4-tetrahydro-3-isochinolinyl/karbonyl/-L-methionin



A. (R*)-N-((1,1-Dimethylethoxy)carbonyl)-1,2,3,4-tetrahydro-3-isochinolinyl/karbonyl/-L-methionin, methylester

Roztok (S)-3,4-dihydro-2,3(1H)-isochinolindikarboxylové kyseliny, 2-(1,1-dimethylethyl)esteru (2,0 g, 7,21 mmol) a L-methionin-methylesteru-HCl (1,44 g, 7,21 mmol) v 5:15 N-methypyrolidinonu-CH₂Cl₂ se míchá při 4 °C. Přidá se N,N-diisopropylethylamin (1,23 ml, 7,21 mmol) a dále N-hydroxybenzotriazol (974 mg, 7,21 mmol). Reakční směs se míchá 5 minut, potom se přidá 1-ethyl-3-(3-dimethylaminopropyl)karbo-diimid-HCl (1,38 g, 7,21 mmol). Reakční směs se nechá ohřát na teplotu místnosti, míchá se přes noc a rozdělí se mezi CH₂Cl₂ a nasycený NaCl. Organická fáze se postupně promyje kyselinou citronovou, NaHCO₃ a NaCl, suší se nad MgSO₄ a zahustěním ve vakuu se získá 2,64 g (86 %) sloučeniny A. Tato se použije v dalším stupni bez dalšího čištění.

B. (R*)-N-((1,2,3,4-Tetrahydro-3-isochinolinyl)karbonyl/-L-methionin, methylester

Roztok sloučeniny A (2 g, 6,22 mmol) v 10 ml CH₂Cl₂ se zpracuje při teplotě místnosti s 10 ml kyseliny trifluoroctové a 0,5 ml dimethylsulfidu a míchá se 0,5 hodiny. Reakční směs se zahustí ve vakuu, rozpustí v CH₂Cl₂ a zahustí. Tento postup se opakuje pětkrát za získání sloučeniny B (99 %)

jako čisté sklovité látky. Tato se použije v dalším stupni bez dalšího čištění.

C. (R*)-N-//2-/N-/(1,1-dimethylethoxy)karbonyl/-L-valyl/-1,2,3,4-tetrahydro-3-isochinolinyll/karbonyl/-L-methionin, methylester

Sloučenina B (4,73 mmol) se rozpustí v CH_2Cl_2 (20 ml) a ochladí na 0 °C. Přidá se N-terc.butyloxykarbonyl-L-valin (2,06 g, 9,466 mmol), bis(2-oxo-3-oxazolidinyl)fosforový chlorid (1,2 g, 4,733 mmol) a N,N-diisopropylethylamin (1,2 g, 1,6 ml, 9,466 mmol). Reakční směs se míchá 24 hodin při 0 °C. Přidá se další bis(2-oxo-3-oxazolidinyl)fosforový chlorid (1,2 g, 4,733 mmol) a N,N-diisopropylethylamin (590 mg, 0,8 ml, 4,733 mmol) a reakční směs se míchá dalších 12 hodin při 0 °C. Reakční směs se zahustí a chromatografuje (silikagel, eluce 50% ethylacetátu, 50 % hexanu). Aktivní frakce se spojí a zahustí. Získá se Sloučenina C jako čirý olej (2,4 g, 97 %).

D. (R*)-N-//2-/L-Valyl)-1,2,3,4-tetrahydro-3-isochinolinyll/karbonyl/-L-methionin, methylester

Sloučenina C (190 mg, 0,45 mmol) se míchá v methylsulfidu (0,3 ml) a 4N HCl v dioxanu (10 ml) 30 minut při teplotě místnosti. Reakční směs se zahustí ve vakuu, rozpustí v CH_2Cl_2 (30 ml) a zahustí. Posledně uvedený postup se opakuje pětkrát a poskytne sloučeninu D (99 %) jako čiré sklo. Tato se použije v dalším kopulačním stupni bez dalšího čištění.

E. N²-/(1,1-Dimethylethoxy)karbonyl/-N-methoxy-N-methyl-S-(trifenylmethyl)-L-cysteinamid

N-Butyloxykarbonyl-S-trityl-L-cystein (20,0 g, 43,14 mmol), 1-ethyl-3-(3-dimethylaminopropyl)karbodiimid.HCl (8,3 g, 43,1 mmol) a hydrát 1-hydroxybenzotriazolu (5,8 g, 43,1 mmol) se rozpustí v dimethylformamidu (100 ml). Potom se přidá N,O-dimethylhydroxylamin-hydrochlorid (4,91 g, 50,6 mmol) a N,N-diisopropylethylamin (6,13 g, 47,5 mmol). Reakční směs se míchá 5 hodin při teplotě místnosti, nalije se do vody (50 ml) a extrahuje se ethylacetátem (3 x 200 ml). Spojené organické vrstvy se promyjí vodou (3 x 500 ml) a solankou (200 ml), suší (síran hořečnatý), zahustí a chromatografují (silikagel, eluce 40 % ethylacetátu, 60 % hexanu). Frakce, obsahující produkt se spojí a zahuštěním se získá sloučenina E jako bílá pevná látka (19,95 g, 92 %).

F. N-/(1,1-Dimethylethoxy)karbonyl/-S-(trifenylmethyl)-L-cysteinol

Sloučenina E (1,00g, 1,89 mmol) se rozpustí v tetrahydrofuranu (4 ml) a roztok se ochladí na 0 °C. Po kapkách se během 20 minut přikape 1M LiAlH₄ v tetrahydrofuranu (4,9 ml, 4,9 mmol). Reakční směs se míchá 30 minut při 0 °C pod dusíkem. Diethylether (200 ml) se přidá a reakční směs se rozruší při 0 °C přikapaným 1M KHSO₄ (40 ml). Směs se míchá dalších 30 minut při 0 °C a vrstvy se oddělí. Organická vrstva se promyje nasyceným NaHCO₃ (50 ml), 1M KHSO₄ (50 ml) a solankou (50 ml), suší se (MgSO₄) a zahuštěním se získá sloučenina F jako bílé sklo (840 mg, 99 %) která se použije ihned v dalším stupni bez dalšího čištění.

G. (R*,S*)-N-//2-/N-/2-//(1,1-Dimethylethoxy)karbonyl/-amino/-3-/(trifenylmethyl)thio/propyl/-L-valyl/-1,2,3,4-tetrahydro-3-isochinolinyll/karbonyl/-L-methionin, methyl-ester

Sloučenina D (0,45 mmol) a sloučenina F (250 mg, 0,54 mmol) se rozpustí v methanolu (10 ml) a ledové kyselině octové (0,2 ml) při teplotě místnosti. Kyanoborohydrid sodný (28 mg, 0,45 mmol) se rozpustí v methanolu (2 ml) a během 30 minut se přikape. Reakční směs se 3 hodiny míchá. Potom se přidá další sloučenina F (125 mg, 0,27 mmol) a reakční směs se míchá další 3 hodiny. Směs se ochladí na 0 °C a pomalu se přidá nasycený NaHCO₃ (50 ml). Produkt se pak extrahuje do ethylacetátu (60 ml). Ethylacetátová vrstva se promyje vodou (100 ml) a solankou (100 ml), suší (MgSO₄), zahustí a chromatografuje na silikagelu za eluce 40 % ethylacetátu a 60 % hexanu. Frakce, obsahující produkt se spojí a zahuštěním se získá sloučenina G jako čirý olej (260 mg, 67 %).

H. (R^{*}, S^{*})-N-//2-/N-(2-Amino-3-merkaptopropyl)-L-valyl/-
1,2,3,4-tetrahydro-3-isochinolinyll/karbonyl/-L-
methionin

Sloučenina G (1,8 g, 2,11 mmol) se rozpustí v methanolu (30 ml) a 5N NaOH (10 ml) při teplotě místnosti. Reakční směs se míchá 3 hodiny při teplotě místnosti. Směs se neutralizuje na pH 6 za použití 5N HCl, zahustí a rozpustí v ethylacetátu (100 ml) a vodě (100 ml). Vodná vrstva se oddělí, okyselí na pH 2 použitím 5N HCl a extrahuje se ethylacetátem (100 ml). Spojené organické vrstvy se promyjí solankou (50 ml), suší (MgSO₄) a zahustí na bílou pevnou látku. Tento materiál se rozpustí v CH₂Cl₂ (10 ml), kyselině tri-fluoroctové (10 ml) a triethylsilanu (1,0 ml) a míchá se 40 min při teplotě místnosti. Směs se zahustí, rozpustí v CH₂Cl₂ (50 ml) a potom se opět zahustí. Posledně uvedený postup se opakuje pětkrát za získání surového produktu jako bílé lepivé látky (kvantitativní získání surové látky). Surová pevná látka se čistí preparativní HPLC (YMC-C18 kolona,

2,2 x 25 cm, 5 mikrometrů, 120 angstrom; rozpouštědlo A, 0,1 % trifluoroctové kyseliny ve vodě; rozpouštědlo B, 0,1 % trifluoroctové kyseliny v acetonitrilu: 25-35 % B v A během 40 minut, průtoková rychlost 9 ml/min, UV monitorováno při 220 nm). Frakce, obsahující sloučeninu H se spojí a lyofilizací se získá bílá pevná látka (790 mg, 75% výtěžek), t.t. 103 až 104 °C.

Optická otáčivost: $-44,2^{\circ}$ ($c = 0,5$, methanol)

MS: $(M+H)^+$ 497⁺.

Elementární analýza pro: 2,20 C₂HF₃O₂, 0,80 H₂O:

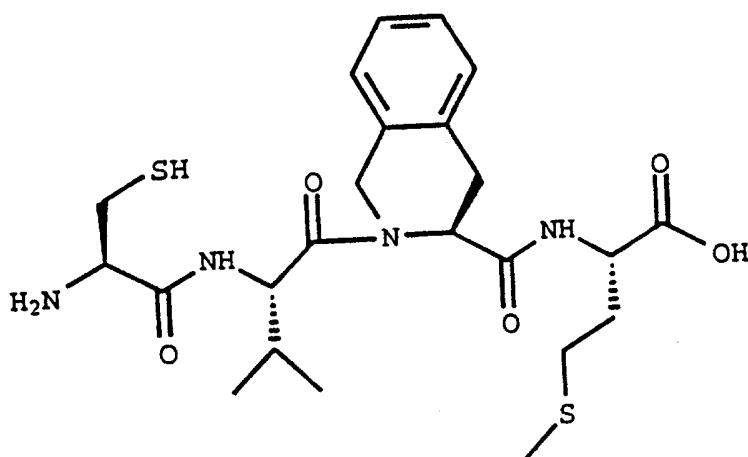
vypočteno 45,03 % C, 5,68 % H, 7,99 % N, 13,40 % F

nalezeno 45,03 % C, 5,44 % H, 7,95 % N, 12,99 % F

¹H-NMR (CD₃OD, 270 MHz) δ (ppm) 7,17 (4H,m), 4,72 (4H,m), 4,48 (1H, m), 4,29 (1H,m), 3,92 (1H,m), 3,25 (2H,m), 2,69 (2H,m), 2,12 (3H, m), 1,95 (3H,d), 1,83 (2H,m), 0,98 (6H,m).

Příklad 2

(R^{*})-N-//2-/N-(L-Cysteiny)-L-valyl/-1,2,3,4-tetrahydro-3-isochinolinyl/karbonyl/-L- methionin



A. (R^{*})-N-//2-/N-/N-/(1,1-Dimethylethoxy)karbonyl/-S-(trifenylmethyl)-L-cysteiny/-L-valyl/-1,2,3,4-tetrahydro-3-isochinolinyl/karbonyl/-L-methionin, methylester

Roztok sloučeniny 1C (1,2 g, 2,3 mmol) v 7 ml CH_2Cl_2 se zpracuje při 4 °C se 7,5 ml kyseliny trifluoroctové a míchá se jednu hodinu. Reakční směs se zahustí ve vakuu, rozpustí v CH_2Cl_2 a neutralizuje N,N-diisopropylethylaminem. Výsledný roztok se přidá k na ledové lázni chlazenému roztoku N-terc.butyloxykarbonyl-S-trityl-L-cysteinu (3,21 g, 6,9 mmol), benzotriazol-1-yloxy-tris(dimethylamino)fosfonium-hexafluorofosfátu (3,05 g, 6,9 mmol) N-hydroxybenzotriazolu (936 mg, 6,9 mmol) a N,N-diisopropylethylaminu (1,2 ml, 9 mmol) v tetrahydrofuranu. Reakční směs se nechá ohřát na teplotu místnosti a míchá se přes noc. Rozpouštědlo se odstraní ve vakuu a zbytek se rozpustí v ethylacetátu. Organický roztok se promyje postupně nasyceným roztokem kyseliny citronové, NaHCO_3 a NaCl, potom se suší nad síranem hořečnatým a zahustěním ve vakuu se získá bílý pěnovitý zbytek. Purifikací na 5 x 16 sloupci silikagelu za eluce 25 % až 40 % ethylacetátu/hexanu se získá 1,34 g (1,55 mmol, 67 %) sloučeniny A.

Alternativně se sloučenina 1C (3 g, 5,75 mmol) přidá k roztoku 2N HCl v kyselině octové (10 ml) a dimethylsulfidu (1 ml). Po míchání po 3 hodiny se rozpouštědla odstraní ve vakuu a zbytek se trituruje s etherem (3 x 50 ml). Roztok výsledného materiálu (2,4 g) v ethylacetátu (100 ml) se promyje hydrogenuhličitanem sodným (20 ml), suší se nad síranem sodným, filtruje a zahustí ve vakuu. Zbytek (2,19 g) se rozpustí v dimethylformamidu (30 ml) a ochladí na 0 °C pod dusíkem. Přidá se N-terc.butyloxykarbonyl-S-trityl-L-cystein (2,42 g, 5,21 mmol), N,N-diisopropylethylamin (905 ml, 5,21 mmol) a benzotriazol-1-yloxy-tris(dimethylamino)-fosfonium-hexafluorofosfát (2,30 g, 5,21 mmol). Po 30 minutách se reakční směs nechá ohřát na teplotu místnosti. Po 6 hodinách míchání se reakční směs zředí ethylacetátem (300 ml)

a promyje se postupně nasyceným hydrogenuhličitanem sodným (100 ml), fosfátovým pufrům (pH=4, 100 ml) a 10% chloridem lithným (3 x 100 ml). Organická vrstva se suší nad síranem sodným, filtruje a zahustí se ve vakuu. Zbytek se čistí na silikagelu (400 ml, eluce 3:1 až 1:1 hexanem/ethylacetátem). Získá se sloučenina A (4,23 g, 86 %).

TLC: $R_f = 0,49$ (1:1 hexan/ethylacetát, vizualizováno síranem ceritoamonným), t.t. 82 až 84 °C.

B. (R*)-N-//2-/N-/N-/(1,1-Dimethylethoxy)karbonyl/-S-(trifenylmethyl)-L-cysteiny/-L-valyl/-1,2,3,4-tetrahydro-3-isochinoliny/-L-methionin

Sloučenina A (1,34 g, 1,55 mmol) v 90 ml methanolu se zpracuje při teplotě místnosti s LiOH (162 mg, 3,88 mmol) ve 30 ml vody po 3 hodiny. Methanol se rozpustí ve vakuu, a vodný roztok se zředí vodou, promyje se etherem a okyslí se nasycenou kyselinou citronovou. Produkt se extrahuje z vodné fáze ethylacetátem. Organický roztok se promyje nasyceným NaCl a suší nad síranem hořečnatým a rozpouštědlo se odstraní ve vakuu, získá se 650 mg (0,76 mmol, 50 %) sloučeniny B, která se použije v následujícím stupni bez dalšího čištění.

Alternativně se k roztoku sloučeniny A (1,0 g, 1,15 mmol) v tetrahydrofuranu (4 ml) při 0 °C přidá 1N hydroxid sodný (2,30 ml, 2,30 mmol). Po 2 hodinách míchání se reakční směs nalije do 1N kyseliny chlorovodíkové (10 ml) a extrahuje se ethylacetátem (3 x 50 ml). Organická vrstva se suší nad síranem sodným, filtruje a zahuštěním ve vakuu se získá sloučenina B (970 mg, 99 %).

TLC: $R_f = 0,75$ (9:1:0,05 chloroform/methanol/kyselina octová, vizualizováno síranem ceritoamonným), t.t. 112 až 115 °C.

C. (R*)-N-//2-/(L-cysteinyl)-L-valyl/-1,2,3,4-tetrahydro-3-isochinolinyl/-karbonyl/-L-methionin

Sloučenina B se zpracuje při teplotě místnosti se směsí 95 ml kyseliny trifluoroctové, 3 ml thioanisolu, 1 ml methylsulfidu a 1 ml ethandithiolu, po 3,5 hodiny. Těkavé látky se odstraní za vakua a zbytek se trituruje se studeným etherem. Surový peptid se vysráží a shromáždí se 286 mg (0,56 mmol, 74 %) látky, promyje se studeným etherem a nakonec se extrahuje do ledové kyseliny octové. Roztok kyseliny octové se lyofilizuje a lyofilizát se purifikuje pomocí HPLC s reverzní fází za použití gradientu 25 až 60 % rozpouštědla B v rozpouštědle A během 60 minut (rozpouštědlo A, 0,05% kyselina trifluoroctová ve vodě; rozpouštědlo B, 0,05 % kyseliny trifluoroctové v CH_3CN), získá se, po lyofilizaci, 120 mg (42 %) čisté sloučeniny C.

FAB-MS: 533(M Na^+) 511 (MH^+), 362 (M-Met H^+), 309 (M-Tic Met H^+).

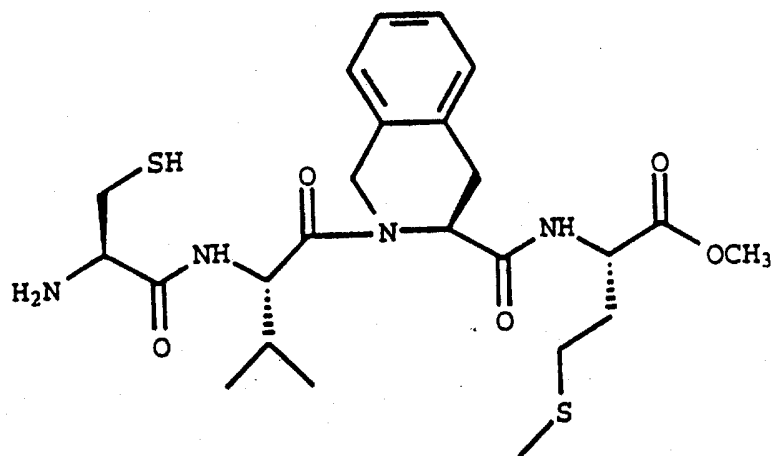
Elementární analýza pro $\text{C}_{28}\text{H}_{34}\text{N}_4\text{O}_5\text{S}_2 \cdot \text{C}_2\text{HF}_3\text{O}_2 \cdot \text{H}_2\text{O}$:

vypočteno 47,22 % C, 5,82 % H, 8,85 % N, 10,12 % S, 8,55 % F

nalezeno 47,21 % C, 5,67 % H, 8,60 % N, 10,15 % S, 8,41 % F

Příklad 3

(R*)-N-//2-/N-(L-Cysteinyl)-L-valyl/-1,2,3,4-tetrahydro-3-isochinolinyl/karbonyl/-L-methionin, methylester



Titulní sloučeniny (100 mg, 27 %) se připraví ze sloučeniny 2A (672 mg, 0,72 mmol) za použití postupu popsaného pro přípravu sloučeniny 2C ze sloučeniny 2B s tím rozdílem, že se reakce provede při 0 °C.

FAB-MS: 525 (MH⁺), 547 (MNa⁺).

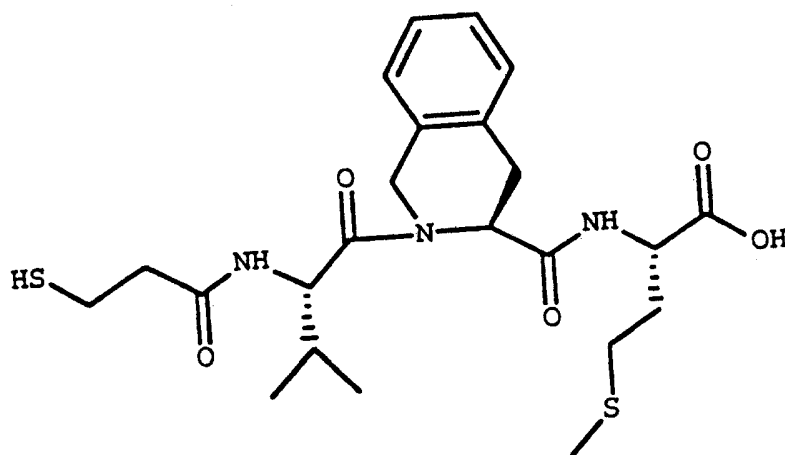
Elementární analýza pro C₂₄H₃₆N₄O₅S₂·1,22C₂HF₃O₂·0,14H₂O

vypočteno 47,66 % C, 5,67 % H, 8,41 % N, 9,62 % S, 10,44 % F

nalezeno 47,66 % C, 5,41 % H, 8,17 % N, 9,85 % S, 10,42 % F.

Příklad 4

(R^{*})-N-//2-/N-(3-Merkapto-1-oxopropyl)-L-valyl/-1,2,3,4-tetrahydro-3-isochinolinyl/karbonyl/-L-methionin



A. (R^{*})-N-//2-/N-/3-/(trifenylmethylthio/-1-oxopropyl/-L-valyl/-1,2,3,4-tetrahydro-3-isochinolinyl/karbonyl/-L-methionin, methylester

Sloučenina 1C (2,61 g, 5 mmol) se zpracuje při 0 °C s 50 ml 1:1 kyseliny trifluoroctové/CH₂Cl₂ po jednu hodinu. Těkavé látky se odstraní ve vakuu a zbytek se rozpustí ve 25 ml tetrahydrofuranu, neutralizuje se N,N-diisopropylethyl-

aminem a přidá se k ledově studenému roztoku S-trityl-3-merkaptopropionové kyseliny (5,22 g, 15 mmol, připravené podle Kwang-a a spol., J. Med. Chem., 13, (1970) 414), benzotriazol-1-yl, oxy-tris(dimethylamino)fosfonium hexafluorofosfátu (6,65 g, 15 mmol), N-hydroxybenzotriazolu (2,03 g, 15 mmol) a N,N-diisopropylethylaminu (2,7 ml) v 75 ml tetrahydrofuranu. Reakční směs se nechá ohřát na teplotu místnosti a míchá se přes noc. Reakční směs se zahustí ve vakuu a zbytek se rozdělí mezi ethylacetát a NaCl. Organická fáze se promyje kyselinou citronovou, hydrogenuhlíčitanem sodným a HCl, suší se nad síranem hořečnatým a zahuštěním se získá bílý pěnovitý zbytek. Tento se čistí na 5 x 16 sloupci silikagelu za použití 20-60% ethylacetátu/hexanu jako elučního činidla. Získá se 2,07 g (55 %) sloučeniny A.

B.. (R*)-N-//2-/N-//3-/(Trifenylmethyl)thio/-1-oxopropyl/-L-valyl/-1,2,3,4-tetrahydro-3-isochinolinyll/karbonyl/-L-methionin

Sloučenina A (1,59 g, 2,1 mmol) se zpracuje s LiOH jak je popsáno pro přípravu sloučeniny 2B za vzniku 1,25 g (88 %) sloučeniny B.

C.. (R*)-N-//2-/N-(3-Merkapto-1-oxopropyl)-L-valyl/-1,2,3,4-tetrahydro-3-isochinolinyll/karbonyl/-L-methionin

Sloučenina B (740 mg, 1 mmol) se zbaví ochranních skupin v kyselině trifluoroctové/thioanisolu/methylsulfidu/ethanthiolu jak je popsáno pro přípravu sloučeniny 3A. Po odstranění těkavých látek se zbytek trituruje s etherem/pentanem a vysrážený surový produkt se promyje studeným pentanem, potom se extrahuje do 0,5% kyseliny trifluoroctové v acetonitrilu. Acetonitrilový roztok se zředí stejným objemem 0,5% kyseliny trifluoroctové ve vodě; lyofilizuje a zbytek se čistí HPLC s reverzní fází. Získá se sloučenina C.

FAB-MS: 496(MH⁺), 518(MNa⁺).

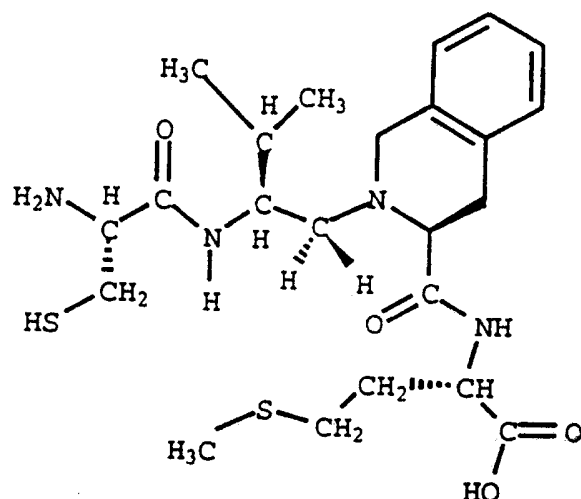
Elementární analýza pro C₂₃H₃₃N₃O₅S₂·0,46C₂H₅F₃O₂·0,03H₂O

vypočteno 52,40 % C, 6,16 % H, 7,79 % N, 11,91 % S, 4,73 % F

nalezeno 52,40 % C, 6,24 % H, 7,79 % N, 11,91 % S, 4,72 % F.

Příklad 5

(R*,R*)-N-//2-/2-(L-Cysteinylamino)-3-methylbutyl-1,2,3,4-tetrahydro-3-isochinolinyl/karbonyl/-L-methionin



A. N²-/(1,1-Dimethylethoxy)karbonyl/-N-methoxy-N-methyl-L-valinamid

N,O-Dimethylhydroxylamin-hydrochlorid (4,91 g, 50,6 mmol) se rozpustí v CH₂Cl₂ (100 ml). Přidá se N-terc. Butyloxykarbonyl-L-valin (10,0 g, 46 mmol), 1-ethyl-3-(3-dimethylaminopropyl)-karbodiimid·HCl (9,7 g, 50,6 mmol) a N,N-diisopropylethylamin (6,13 g, 8,3 ml, 47,5 mmol). Reakční směs se míchá 16 hodin při teplotě místnosti, zahustí se a chromatografuje (silikagel, eluce 40% ethylacetátu, 60 % hexanu). Aktivní frakce se spojí a zahuštěním se získá sloučenina A jako čirý olej (3,5 g, 42 %).

B. N-/(1,1-Dimethylethoxy)karbonyl/-L-valinal

Sloučenina B (2,6 g, 99%, bezbarvý olej) se připraví ze sloučeniny A (3,5 g, 11,8 mmol) použitím postupu popsaného pro přípravu sloučeniny 1F ze sloučeniny 1E.

C. (R*)-N-//2-/2-//(1,1-Dimethylethoxy)karbonyl/amino/-3-methylbutyl/-1,2,3,4-tetrahydro-3-isochinolinyl/-karbonyl/-L-methionin, methylester

K roztoku sloučeniny B (2,6 g, 11,82 mmol) a sloučeniny 1B (4,66 g, 13,8 mmol) v methanolu (100 ml) při teplotě místnosti se přidá ledová kyselina octová (2,0 ml). Po částech se během 30 minut přidá kyanoborohydrid sodný (743 mg, 11,82 mmol). Reakční směs se míchá při teplotě místnosti 4 hodiny. Směs se ochladí na 0 °C. Pomalu se přidá nasycený roztok hydrogenuhličitanu sodného (100 ml) a produkt se extrahuje ethylacetátem (200 ml). Ethylacetátová vrstva se promyje vodou (200 ml) a solankou (100 ml), suší se (síran hořečnatý), zahustí a chromatografuje (silikagel, eluce 50% diethyletheru, 50 % hexanu). Frakce, obsahující produkt se spojí a zahustí. Získá se sloučenina C jako čirý olej (1,5 g, 30 %).

D. (R*,R*)-N-//2-/2-//N-/(1,1-Dimethylethoxy)karbonyl/-S-(trifenylmethyl)-L-cysteinyl/amino/-3-methylbutyl/-1,2,3,4-tetrahydro-3-isochinolinyl/karbonyl/-L-methionin, methyl-ester

Sloučenina C (1,5 g, 2,96 mmol) se míchá v methylsulfidu (0,4 ml) a 4N HCl v dioxanu (10 ml) 30 minut při teplotě místnosti. Směs se zahustí, rozpustí v CH₂Cl₂ (30 ml) a potom se opět zahustí. Tento posledně uvedený postup se opakuje pětkrát, získá se amin hydrochlorid jako čiré sklo. Tento materiál se rozpustí v dimethylformamidu (20 ml) a N,N-diisopropylethylaminu (383 mg, 0,52 ml, 2,96 mmol). Tento

roztok se přikape k míchanému roztoku N-terc-butyloxykarbo-
nyl-S-trityl-L-cysteinu (1,65 g, 3,55 mmol), 1-ethyl-3-(3-
dimethylaminopropyl)-karbodiimidu-HCl (737 mg, 3,85 mmol)
a 1-hydroxybenzotriazol-hydrátu (519 mg, 3,85 mmol) v di-
methylformamidu (30 ml). Reakční směs se míchá 16 hodin. Směs
se nalije do vody (100 ml) a produkt se extrahuje ethyl-
acetátem (2 x 100 ml). Spojené ethylacetátové vrstvy se
promyjí vodou (3 x 200 ml) a solankou (100 ml), suší (MgSO_4),
zahustí se a chromatografuje (silikagel, eluce 50 % ethylace-
tátu, 50 % hexanu). Frakce, obsahující produkt se spojí a
zahuštěním se získá sloučenina D jako čirý olej (1,9 g, 75 %).

E. (R^* , R^*)-N-//2-/2-(L-Cysteinylamino)-3-methylbutyl/-
1,2,3,4-tetrahydro-3-isochinolinyl/karbonyl/-L-methio-
nin

Sloučenina E /50 % (se připraví ze sloučeniny D (1,4
g, 1,64 mmol) použitím postupu popsaného pro přípravu slou-
čeniny 1H ze sloučeniny 1G.

t.t. 112 až 113 °C

optická otáčivost: $-55,7^\circ$ ($c = 0,5$, methanol)

MS: $(\text{M}+\text{H})^+$ 497⁺

Elementární analýza pro $2,20\text{C}_2\text{HF}_3\text{O}_2 \cdot 0,80\text{H}_2\text{O}$

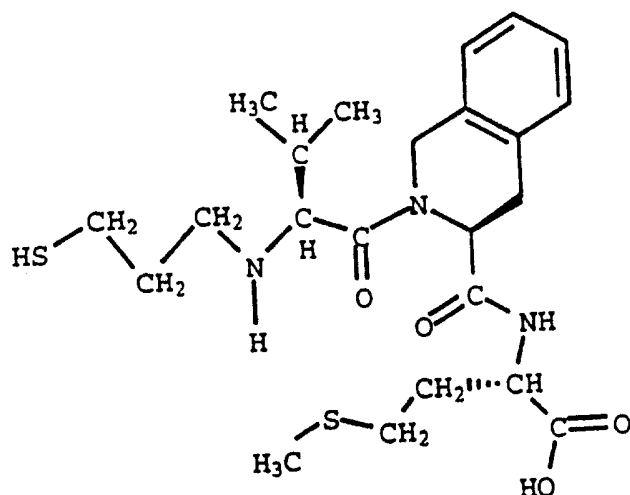
vypočteno 43,123 % C, 5,02 % H, 6,84 % N

nalezeno 42,83 % C, 5,12 % H, 7,13 % N

$^1\text{H-NMR}$ (CD_3OD , 270 MHz) δ (ppm) 7,28 (4H,m), 4,57 (2H,m),
4,39 (1H,m), 4,22 (2H,m), 4,11 (1H,m), 3,14 (4H, š m), 2,55
(2H,m), 2,21 (2H,m), 2,10 (3H,s), 1,97 (3H,m), 0,98 (6H,m).

Příklad 6

(R^{*})-N-//2-/N-(3-Merkaptopropyl)-L-valyl/-1,2,3,4-tetrahydro-3-isochinolinyl/karbonyl/-L-methionin



A. 3-/(Trifenylmethyl)thio/-N-methoxy-N-methylpropanamid

K míchanému roztoku S-trityl-3-merkaptopropionové kyseliny (4,5 g, 12,9 mmol, připravené podle Kwanga a spol., J.Med.Chem., 13, (1970) 414) v CH₂Cl₂ (40 ml) se přidá N,N-diisopropylethylamin (2,2 ml, 12,9 mmol) a dále benzotriazol-1-yloxy-tris(dimethylamino)fosfonium-hexafluorofosfát (5,7 g, 12,9 mmol). Po několika minutách se přidá N,O-dimethylhydroxylamin-hydrochlorid (1,31 g, 13,5 mmol) spolu s dalším diisopropylethylaminem (2,2 ml, 12,9 mmol). Roztok se míchá 2 hodiny při teplotě místnosti. Přidá se další (80 ml) CH₂Cl₂ a roztok se promyje 1N KHSO₄ (3x), nasyceným NaHCO₃ (3x) a solankou (2x). Organická vrstva se suší (MgSO₄) a zahustí. Zbytek se rekrystaluje dvakrát za použití ethylacetátu/hexanů. Získá se sloučenina A (4,12 g, 82 %).

B. /((Trifenylmethyl)thio)propanal

Sloučenina B (1,5 g, 88 %) se připraví ze sloučeniny A (1,8 g, 5,2 mmol) použitím postupu popsaného pro přípravu sloučeniny 1F ze sloučeniny 1E.

C. (R*)-N-//2-/N-/3-/((Trifenylmethyl)-thio)propyl/-L-valyl/-1,2,3,4-tetrahydro-3-isochinolinyl/karbonyl/-L-methionin, methylester

Sloučenina C (1,8 g, 53 %) se připraví ze sloučeniny B (1,5 g, 4,6 mmol) a sloučeniny 1D (2,2 g, 5,2 mmol) postupem analogickým postupu popsanému pro přípravu sloučeniny 5C ze sloučeniny 5B a sloučeniny 1B.

D. (R*)-N-//2-/N-(3-Merkaptopropyl)-L-valyl/-1,2,3,4-tetrahydro-3-isochinolinyl/karbonyl/-L-methionin

Sloučenina D (bílý prášek, 49%) se připraví ze sloučeniny C (700 mg, 0,94 mmol) použitím postupu analogického postupu popsanému pro přípravu sloučeniny 1H ze sloučeniny 1G.

MS (M+H)⁺ 482⁺

¹H-NMR (CD₃OD, 270 MHz) δ (ppm) 7,23-7,13 (4H,m), 4,65-4,49 (4H,m), 4,26 (1H,m), 3,22 (1H,m), 3,06-2,88 (3H,m), 2,51-2,35 (4H,m), 1,97 (3H,s), 2,33-1,77 (4H,m), 1,10-1,07 (6H,m).

Elementární analýza pro C₂₃H₃₄N₃O₄S₂·1,2C₂H₅F₃O₂·1,35H₂O

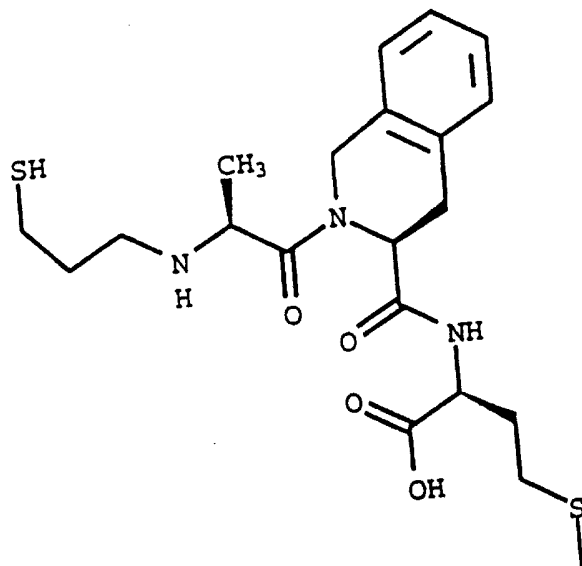
vypočteno 47,53 % C, 5,95 % H, 6,55 % N, 9,99 % S, 10,68 % F

nalezeno 47,54 % C, 5,85 % H, 6,69 % N, 9,76 % S, 10,66 % F

optická otáčivost: -33,8° (c = 0,7, methanol)

Příklad 7

(R*)-N-//2-N-(3-Merkaptopropyl)-L-alanyl/-1,2,3,4-tetrahydro-3-isochinolonyl/karbonyl/-L-methionin



A. (R*)-N-//2-N-/(1,1-Dimethylethoxy)karbonyl/-L-alanyl/-1,2,3,4-tetrahydro-3-isochinolonyl/karbonyl/-L-methionin, methylester

Sloučenina 1A (4,0 g, 9,47 mmol) se míchá v dimethylsulfidu (0,5 ml) a 4N HCl v dioxanu (10 ml) 30 minut. Směs se zahustí, rozpustí v methylenchloridu (50 ml) a zahustí. Posledně uvedený postup se opakuje pětkrát a získá se aminhydrochlorid jako čiré sklo. Tento materiál se rozpustí v methylenchloridu (40 ml) a ochladí se na 0 °C. Přidá se *tert*-butyloxykarbonyl-L-alanin (3,58 g, 18,93 mmol), bis(2-oxo-3-oxazolidinyl)fosforový chlorid (4,82 g, 19,93 mmol) a N,N-diisopropylethylamin (3,68 g, 5,0 ml, 28,40 mmol). Reakční směs se míchá 24 hodin při 0 °C. Reakční směs se zahustí a chromatografuje (silikagel, eluce 40 % ethylacetátu, 60 % hexanu). Frakce, obsahující produkt se oddělí a zahustí, získá se sloučenina A jako bílé sklo (4,6 g, 99%).

B. (R*)-N-//2-/N-/3-/(Trifenylmethyl)thio/propyl/-L-alanyl/-1,2,3,4-tetrahydro-3-isochinolinyl/karbonyl/-L-methionin, methylester

Sloučenina A (2,5 g, 5,07 mmol) se míchá v methylsulfidu (0,3 ml) a 4N HCl v dioxanu (10 ml) po 30 minut při teplotě místnosti. Směs se zahustí, rozpustí se v methylenchloridu (30 ml) a zahustí. Tento posledně uvedený postup se opakuje pětkrát a získá se aminhydrochlorid jako čiré sklo. Tento materiál a sloučenina 6B (4,4 g, 13,25 mmol) se rozpustí v methanolu (100 ml) a ledové kyselině octové (2,0 ml) při teplotě místnosti. Po částech se během 30 minut přidá kyanoborohydrid sodný (833 mg, 13,25 mmol). Reakční směs se míchá 4 hodiny při teplotě místnosti. Směs se ochladí na 0 °C a pomalu se přidá nasycený roztok NaHCO₃ (100 ml). Produkt se pak extrahuje do ethylacetátu (200 ml). Ethylacetátová vrstva se promyje vodou (200 ml) a solankou (100 ml), suší se (MgSO₄), zahustí a chromatografuje (silikagel, eluce 50 % ethylacetátu, 50 % hexanu). Frakce, obsahující produkt se spojí a zahuštěním se získá sloučenina B jako čirý olej (2,0 g, 56 %).

C. (R*)-N-//2-(N-(3-Metkaptopropyl)-L-alanyl/-1,2,3,4-tetrahydro-3-isochinolinyl/karbonyl/-L-methionin

Sloučenina C se připraví ze sloučeniny B použitím postupu popsaného pro přípravu sloučeniny 1H ze sloučeniny 1G.

t.t. 81 až 82 °C

$\alpha_D^{25} = -43,3^\circ$ (c=1,0, methanol),

MS: (M+H)⁺ 454⁺.

Elementární analýza pro

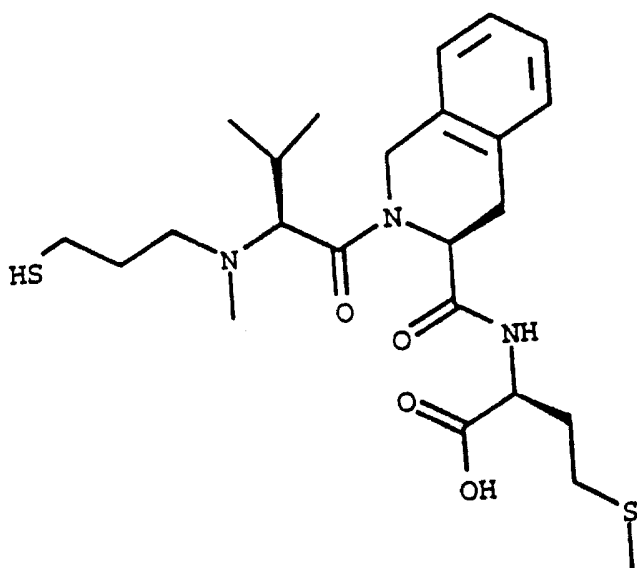
vypočteno 46,82 % C, 5,89 % H, 7,12 % N

nalezeno 46,83 % C, 5,52 % H, 7,05 % N

$^1\text{H-NMR}$ (CD_3OD , 270 MHz) (ppm) 7,16 (4H, m), 4,67 (2H, m), 4,56 (2H, m), 4,51 (1H, m), 4,39 (1H, m), 4,03 (1H, m), 3,19 (2H, m), 3,01 (2H, m), 2,48 (2H, m), 2,35 (1H, m), 1,99 (1H, m), 1,96 (3H, s), 1,86 (2H, m), 1,51 (3H, m).

Příklad 8

(R^*)-N-//2-/N-(3-Merkaptopropyl)-N-methyl-L-valyl/-1,2,3,4-tetrahydro-3-isochinolinyl/karbonyl/-L-methionin



A. (R^*)-N-//2-/N-/(9H-Fluoren-9-ylmethoxy)karbonyl/-N-methyl-L-valyl/-1,2,3,4-tetrahydro-3-isochinolinyl/karbonyl/-L-methionin, methylester

Sloučenina 1A (2,0 g, 4,733 mmol) se zbaví N-chránicí skupiny postupem popsaným v přípravě sloučeniny 7A. Výsledný amin hydrochlorid se rozpustí v CH_2Cl_2 (20 ml) a ochladí se na 0 °C. Přidá se Fmoc-N-methyl-L-valin (1,67 g, 4,733 mmol), bis-(2-oxo-3-oxazolidinyl)fosforový chlorid (2,41 g,

9,467 mmol) a N,N-diisopropylethylamin (2,45 g, 3,3 ml, 18,9 mmol). Reakční směs se míchá 4 hodiny při 0 °C. Reakční směs se zahustí a chromatografuje (silikagel, eluce 40 % ethylacetátu, 60 % hexanu). Získá se sloučenina A jako bílé sklo (2,4 g, 78 %).

B. (R*)-N-//2-/N-/3-/(Trifenylmethyl)thio/propyl/-N-methyl-L-valyl/-1,2,3,4-tetrahydro-3-isochinoliny1/karbonyl/-L-methionin, methylester

Sloučenina A (1,20 g, 2,309 mmol) se míchá v acetonitrilu (30 ml) a diethylaminu (2,4 ml) 1 hodinu při teplotě místnosti. Směs se zahustí, rozpustí se v methylenchloridu (50 ml) a potom se opět zahustí. Posledně uvedený postup se opakuje sedmkrát a poskytne amin jako čiré sklo. Tento amin se převede na hydrochloridovou sůl 4N HCl v dioxanu (10 ml). Výsledný roztok se zahustí, rozpustí se v methylenchloridu (50 ml) a potom se opět zahustí. Posledně uvedený postup se třikrát opakuje a získá se amin-hydrochlorid jako směs čirého skla/oleje. Tento produkt a sloučenina 6B (1,33 g, 4,018 mmol) se rozpustí v methanolu (35 ml) a ledové kyselině octové (0,6 ml) při teplotě místnosti. Po částech se během 1 hodiny přidá kyanoborohydrid sodný (253 mg, 4,018 mmol). Reakční směs se 16 hodin míchá. Směs se ochladí na 0 °C a pomalu se přidá nasycený roztok NaHCO₃ (50 ml). Produkt se pak extrahuje do ethylacetátu (100 ml). Ethylacetátová vrstva se promyje vodou (100 ml) a solankou (50 ml), suší se (MgSO₄), zahustí a chromatografuje (silikagel, eluce 95 % methylenchloridu, 5 % methanolu). Frakce, obsahující požadovanou sloučeninu se spojí a zahuštěním se získá sloučenina B jako čirý olej (1,4 g, 52 %).

C. (R^{*})-N-//2-/N-(3-Merkaptopropyl)-N-methyl-L-valyl/-
1,2,3,4-tetrahydro-3-isochinolinyl/karbonyl/-L-methio-
nin

Sloučenina C (60% výtěžek) se připraví ze sloučeniny
B (1,3 g, 1,73 mmol) použitím postupu popsaného pro pří-
pravu sloučeniny 1H ze sloučeniny 1G.

t.t. 85-86 °C

$[\alpha]_D^{25} = -31,9^\circ$ (c=0,7, methanol)

MS: (M+H)⁺ 496⁺

Elementární analýza:

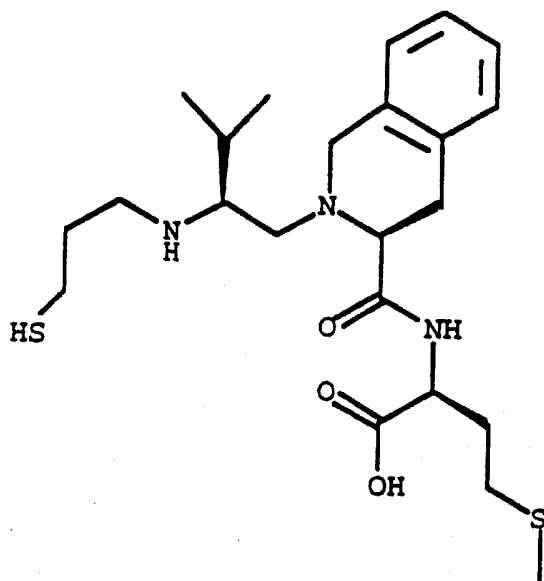
vypočteno: 49,38 % C, 6,17 % H, 6,59 % N, 9,84 % F

nalezeno 49,50 % C, 6,39 % H, 6,41 % N, 9,70 % F

¹H-NMR (CD₃OD, 270 MHz) δ (ppm) 7,21 (4H,m), 4,87 (2H,m),
4,55 (2H,m), 3,24 (2H,m), 3,06 (2H,m), 2,48 (2H,m), 2,32
(1H,m), 2,07 (1H,m), 1,98 (3H,s), 1,88 (3H,m), 1,22 (3H,
d, J=7,03Hz), 0,95 (3H, d, J=6,45Hz).

Příklad 9

(R^{*},R^{*})-N-//2-/2-/(3-Merkaptopropyl)amino/-3-methylbutyl/-
1,2,3,4-tetrahydro-3-isochinolinyl/karbonyl/-L-methionin



A. (R^{*})-N-//2-/2-//3-/(Trifenylmethyl)thio/propyl/amino/-3-methylbutyl/-1,2,3,4-tetrahydro-3-isochinolinyl/karbo-nyl/-L-methionin

Sloučenina A (1,7 g, 54 %) se připraví ze sloučeniny 5C (2,00 g, 3,95 mmol) použitím dvoustupňového postupu popsaného pro přípravu sloučeniny 7B ze sloučeniny 7A s tím rozdílem, že se ve druhém stupni použije pouze 1,1 ekvivalentu (4,34 mmol) sloučeniny 6B a 1,1 ekvivalentu (4,34 mmol) kyanoborohydridu sodného.

B. (R^{*},R^{*})-N-//2-/2-/(3-Merkaptopropyl)amino/-3-methylbutyl/-1,2,3,4-tetrahydro-3-isochinolinyl/karbo-nyl/-L-methionin

Sloučenina B (70% výtěžek) se připraví ze sloučeniny A (1,6 g, 2,21 mmol) použitím postupu popsaného pro přípravu sloučeniny 1H ze sloučeniny 1G.

t.t. 68 až 69 °C

$[\alpha]_D^{25} = -19,2^\circ$ (c= 0,6, methanol)

MS: (M+H)⁺ 468⁺.

Elementární analýza:

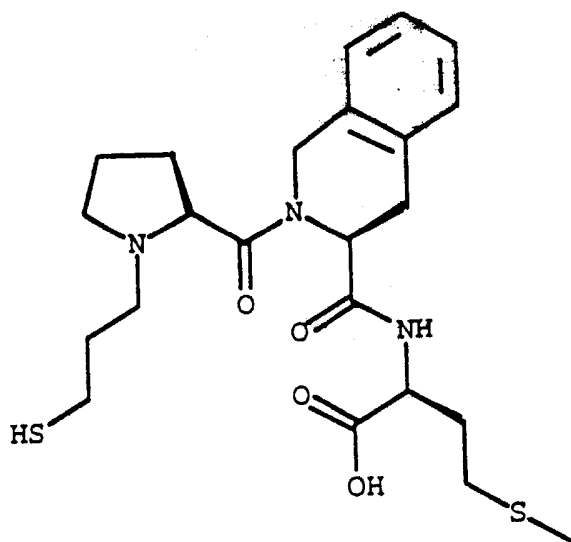
vypočteno 49,40 % C, 6,25 % H, 6,78 % N, 11,49 % F

nalezeno 49,40 % C, 6,50 % H, 6,60 % N, 11,33 % F

¹H-NMR (CD₃OD, 270 MHz) δ (ppm) 7,18 (4H,m), 4,64 (1H,m), 4,04 (2H,m), 3,84 (1H,m), 3,25 (2H,m), 3,12 (2H,m), 2,77 (2H,m), 2,67 (2H,m), 2,54 (2H,m), 2,18 (1H,m), 2,08 (3H,s), 2,02 (4H,m), 1,03 (3H, d, J=6,45Hz), 0,95 (3H,d,J=7,03Hz).

Příklad 10

(R^{*})-N-//2-/N-(3-Merkaptopropyl)-L-propyl/-1,2,3,4-tetrahydro-3-isochinolinyl/karbo-nyl/-L-methionin



- A. (R*)-N-((2-((1,1-Dimethylethoxy)carbonyl)-L-propyl)-1,2,3,4-tetrahydro-3-isochinolinyl)carbonyl-L-methionin, methylester

Sloučenina A (1,2 g, 49 %) se připraví ze sloučeniny 1A (2,0 g, 4,73 mmol) použitím dvoustupňového postupu popsaného pro přípravu sloučeniny 8A ze sloučeniny 1A s tím rozdílem, že sdružený stupeň používá terc.butyloxykarbonyl-L-prolin (2,04 g, 9,46 mmol) místo Fmoc-N-methyl-L-valinu.

- B. (R*)-N-((2-((N-(3-(Trifenylmethyl)thio)propyl)-L-prolyl)-1,2,3,4-tetrahydro-3-isochinolinyl)carbonyl)-L-methionin, methylester

Sloučenina B (čirý olej, 1,5 g, 89 %) se připraví ze sloučenina A (1,20 g, 2,31 mmol) použitím postupu popsaného pro přípravu sloučeniny 7B ze sloučeniny 7A.

- C. (R*)-N-((2-((3-Merkaptopropyl)-L-prolyl)-1,2,3,4-tetrahydro-3-isochinolinyl)carbonyl)-L-methionin

Sloučenina C (70 % výtěžek) se připraví ze sloučeniny B (1,5 g, 2,04 mmol) použitím postupu popsaného pro přípravu sloučeniny 1H ze sloučeniny 1G.

t.t. 54 až 55 °C

$[\alpha]_D^{25} = -50,0^\circ$ (c= 0,7, methanol)

MS: (M+H)⁺ : 480⁺

Elementární analýza:

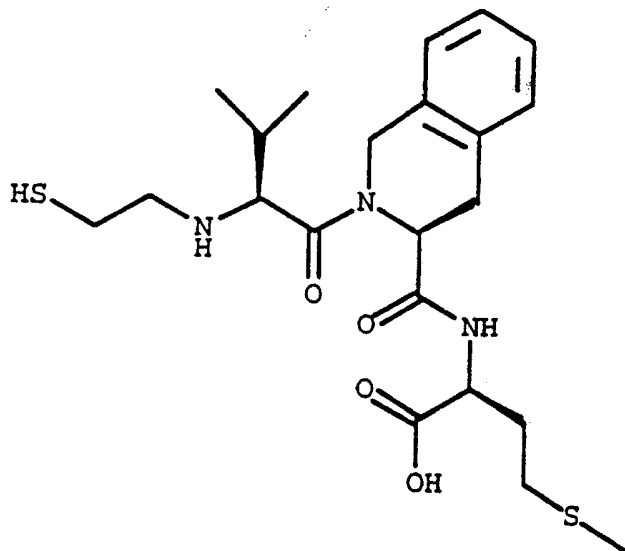
vypočteno 48,75 % C, 5,75 % H, 6,74 % N, 10,51 % F

nalezeno 48,63 % C, 5,92 % H, 6,65 % N, 10,66 % F

¹H-NMR (CD₃OD, 270 MHz) δ (ppm) 7,18 (4H,m), 4,67 (2H,m), 4,53 (2H, m), 4,41 (1H,m), 4,30 (1H,m), 3,72 (1H,m), 3,24 (4H, m), 2,70 (1H,m), 2,46 (2H,m), 2,34 (1H,m), 2,11 (2H,m), 1,98 (2H,m), 1,96(3H,s), 1,87 (4H,m).

Příklad 11

(R^{*})-N-//2-/N-(2-Merkaptoethyl)-L-valyl/-1,2,3,4-tetrahydro-3-isochinolinyl/karbonyl/-L-methionin



A. 2-/Trifenylmethyl)thio/-N-methoxy-N-methylacetamid

Sloučenina A (6,0 g, 76 %) se připraví za použití postupu popsaného pro přípravu sloučeniny 6A s tím rozdí-

lem, že se použije kyselina trifenylmethylthiooctová (7,0 g, 20,96 mmol) místo kyseliny S-(trifenylmethyl)-3-merkaptopropionové.

B. /((Trifenylmethyl)thio)acetaldehyd

Sloučenina B se připraví ze sloučeniny A (2,0 g, 5,3 mmol) ve kvantitativním výtěžku za použití postupu popsaného pro přípravu sloučeniny 6B ze sloučeniny 6A.

C. (R*)-N-//2-/N-//2-/N-/2-/((Trifenylmethyl)thio)ethyl/-L-valyl/-1,2,3,4-tetrahydro-3-isochinolinyl/karbonyl/-L-methionin, methylester

Sloučenina C (490 mg, 12,8 %) se připraví ze sloučeniny B (5,3 mmol) a sloučeniny 1C (2,8 g, 5,3 mmol) použitím postupu popsaného pro přípravu sloučeniny 6C ze sloučeniny 6B.

D. (R*)-N-//2-/N-(2-Merkaptoethyl)-L-valyl/-1,2,3,4-tetrahydro-3-isochinolinyl/karbonyl/-L-methionin

Sloučenina D (bílý prášek, 50% výtěžek) se připraví ze sloučeniny C (490 mg, 0,68 mmol) použitím postupu popsaného pro přípravu sloučeniny 6D ze sloučeniny 6C.

t.t. 94 až 96 °C

$[\alpha]_D^{25} = -36,7^\circ$ (c=0,81, methanol)

MS: (M+H)⁺ 468⁺.

Elementární analýza:

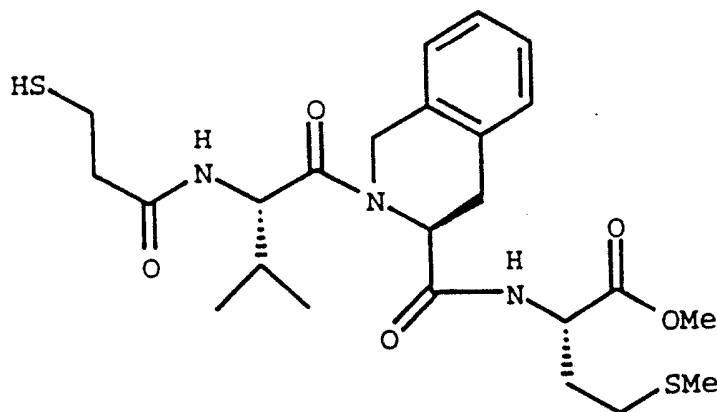
vypočteno 48,38 % C, 5,87 % H, 7,05 % N, 9,57 % F

nalezeno 48,39 % C, 6,09 % H, 7,14 % N, 9,60 % F

¹H-NMR (CD₃OD, 270 MHz) δ (ppm) 7,19 (4H,m), 4,58 (4H,m), 3,07 (2H,m), 2,65 (2H,m), 2,47 (1H,m), 2,29 (1H,m), 2,08 (1H,m), 1,97 (3H,s), 1,90 (2H,m), 1,07 (6H,m).

Příklad 12

(R*)-N-//2-/N-(3-Merkapto-1-oxopropyl)-L-valyl/-1,2,3,4-tetrahydro-3-isochinolinyl/karbonyl/-L-methionin, methyl-ester



Triethylsilan (223 mg, 306 ml, 1,9 mmol) v 10 ml CH_2Cl_2 a kyselina trifluoroctová (10 ml) se přikapeu, střídavě, k roztoku sloučeniny 4A (480 mg, 0,64 mmol) v 5 ml CH_2Cl_2 . Reakční směs se míchá pod dusíkem při teplotě místnosti 40 minu, potom se zahustí za vakua. Zbytek se trituruje s etherem/pentanem a sraženina se oddělí, promyje se vícekrát etherem a pentanem a potom se extrahuje do CH_3CN /0,5% kyseliny trifluoroctové. Tento roztok se zředí vodou/0,5% kyselinou trifluoroctovou a lyofilizací se získá 250 mg (0,5 mmol, 77 %) surového esteru jako bílé pevné látky. Purifikací HPLC s reverzní fází (35 až 90 % rozpouštědla B v rozpouštědle A během 100 minut: rozpouštědlo A, 0,05 % kyseliny trifluoroctové ve vodě; rozpouštědlo B, 0,05 % kyseliny trifluoroctové v CH_3CN) se získá 105 mg (0,21 mmol, 32 %) čisté titulní sloučeniny jako amorfního bílého prášku.

FAB-MS: 510 MH^+ , 508 MH^- .

^1H NMR: δ 7,3-7,4 (m), 4,8-5,2 (m), 3,83 (s), 3,77 (s), 3,2-3,7 (m), 2,5-2,9 (m), 2,2 (s), 2,1 (s), 1,2 (m).

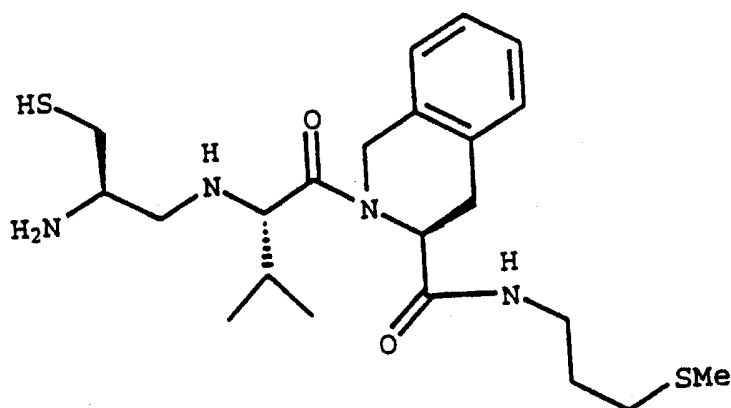
Elementární analýza pro $\text{C}_{24}\text{H}_{35}\text{N}_3\text{O}_5\text{S}_2 \cdot \text{H}_2\text{O}$

vypočteno 54,66 % C, 7,06 % H, 7,97 % N, 12,16 % S

nalezeno 54,79 % C, 6,64 % H, 7,84 % N, 11,91 % S

Příklad 13

(R^* , S^*)-2-/N-(2-Amino-3-merkaptopropyl)-L-valyl/-1,2,3,4-tetrahydro-N-/3-(methylthio)propyl/-3-isochinolinkarboxamid



A. (S)-2-/(1,1-Dimethylethoxy)karbonyl/-1,2,3,4-tetrahydro-N-/3-(methylthio)propyl/-3-isochinolinkarboxamid

K dusíkem propláchnuté, ledem chlazené suspenzi N-terc. butyloxykarbonyl-L-(1,2,3,4-tetrahydro)isochinolin-3-karboxylátu (3,0 g, 10,8 mmol) a (3-methylthio)propylaminu (1,13 g, 10,8 mmol) ve 40:13 CH_2Cl_2 /N-methylpyrolidinonu, se přidá

N,N-diisopropylethylamin (1,85 ml, 10,8 mmol) a N-hydroxybenzotriazol (1,46 g, 10,8 mmol). Po pěti minutách míchání při 0 °C se přidá 1-(3-dimethylaminopropyl)-3-ethylkarbo-diimid-hydrochlorid (2,07 g, 10,8 mmol). Během jedné hodiny se získá čirý roztok. Reakční směs se nechá pomalu ohřát na teplotu místnosti a míchá se přes noc. Roztok se postupně promyje nasyceným NaCl, kyselinou citronovou, nasyceným hydrogenuhlíčitanem sodným a nasyceným NaCl, suší se nad síranem hořečnatým a zahustí se ve vakuu. Výsledný zbytek se rozpustí v CHCl_3 a promyje se vícekrát nasyceným NaCl. Organická vrstva se suší nad síranem hořečnatým a zahuštěním ve vakuu se získá sloučenina A (3,91 g, 10,2 mmol) (94%) jako bezbarvý olej.

B. (R³)-2-/N-/(1,1-Dimethylethoxy)karbonyl/-L-valyl/-
1,2,3,4-tetrahydro-N-/3-(methylthio)propyl/-3-isochino-
linkarboxamid

Sloučenina A (10,2 mmol) se míchá pod dusíkem ve 40 ml 1:1 kyseliny trifluoroctové CH_2Cl_2 po jednu hodinu. Roztok se zahustí ve vakuu. Přidá se CH_2Cl_2 a roztok se opět zahustí; tento poslední krok se opakuje dvakrát navíc. Zbytek se rozpustí v CH_2Cl_2 , zpracuje se s N,N-diisopropylethylaminem (1,77 ml, 10,2 mmol) a přidá se k ledu chlazené, dusíkem propláchnuté (asi 20 min) reakční směsi N-terc.butyloxykarbonyl-L-valinu (4,42 g, 20,4 mmol), bis(2-oxo-3-oxazolidinyl)fosforného chloridu (5,19 g, 20,4 mol) a N,N-diisopropylethylaminu (3,55 ml, 20,4 mmol) v CH_2Cl_2 . pH se upraví na 6 přidávkou dalšího 0,9 ml N,N-diisopropylethylaminu a reakční směs se umístí pod dusíkem do místnosti o teplotě 4 °C přes noc. Roztok se postupně promyje nasyceným NaCl, 50 mM KHSO_4 , nasyceným hydrogenuhlíčitanem sodným a nasyceným NaCl. Organická vrstva se suší nad síranem hořečnatým a zahuštěním ve vakuu se získá olejovitý zbytek. Rychlá chromatografie na 5 x 12 sloupci silikagelu, elucí 12,5 %

až 50 % ethylacetátu v hexanu se získá sloučenina B (1,9 g, 4,1 mmol).

C. (R^{*},S^{*})-2-/N-/2-//(1,1-Dimethylethoxy)karbonyl/amino/-3-
/(trifenylnmethyl)thio/propyl/-L-valyl/-1,2,3,4-tetra-
hydro-N-/3-(methylthio)propyl/-3-isochinolinkarboxamid

Dusíkem propláchnutý roztok sloučeniny B (0,93 g, 2,0 mmol) a methylsulfidu (1,5 ml, 20 mmol) ve 20 ml 1:1 kyseliny trifluorooctové-CH₂Cl₂ se míchá při 0 °C po jednu hodinu. Směs se zahustí ve vakuu, rozpustí v CH₂Cl₂ a opět zahustí ve vakuu. Posledně uvedený postup se několikrát opakuje až je pH roztoku CH₂Cl₂ 4. Tento roztok se zahustí, spojí se se sloučeninou 1F v bezvodém methanolu pod dusíkem a pH se upraví na 7 přikapáním N,N-diisopropylethylaminu. Pevný NaBH₃CN (160 mg, 2,8 mmol) se přidá po částech a reakce se nechá probíhat při teplotě místnosti přes noc. pH se znovu upraví na 9 až 6 4 kapkami ledové kyseliny octové a reakční směs se míchá dalších 1,5 hodiny. Směs se zahustí ve vakuu, Zbytek se ochladí na ledu a rozdělí se mezi studený ethylacetát a nasycený hydrogenuhličitán sodný. Organická fáze se promyje nasyceným NaCl, suší se nad síranem hořečnatým a zahustí se ve vakuu. Zbytek se purifikuje ryckleu sloupčovou chromatografií na 2 x 18 cm silikagelu za eluce 25 %, potom 40 %, ethylacetátu v hexanu, získá se 625 mg (0,79 mmol, 40 %) sloučeniny C.

D. (R^{*},S^{*})-2-/N-(2-Amino-3-merkaptopropyl)-L-valyl/-1,2,3,4-tetrahydro-N-/3-(methylthio)propyl/-3-isochinolinkarboxamid

K dusíkem propláchnutému roztoku sloučeniny C (0,79 mmol) v 5 ml CH₂Cl₂ se po kapkách přidá a střídavě, kyselina trifluorooctová (15 ml) a triethylsálan (10 ml). Reakční směs se míchá při teplotě místnosti 3 hodiny, zahustí se ve vakuu

a trituruje se s etherem a pentanem, získá se pevný zbytek. Tento pevný zbytek se oddělí, promyje se několikrát etherem a pentanem a potom se extrahuje do ledové kyseliny octové. Kyselý roztok se lyofilizuje a získá se tmavý olejovitý zbytek. Tento zbytek se rozpustí v 50:50 $\text{CH}_3\text{CN}/0,5\%$ kyselině trifluorooctové- $\text{H}_2\text{O}/0,5\%$ kyselině trifluorooctové, filtruje se přes Norit pro odstranění tmavé barvy a potom se čistí preparativní HPLC, za eluce gradientem 20 % až 50 % B v A (A je 0,05 % kyseliny trifluorooctové ve vodě; B je 0,05 % kyseliny trifluorooctové v CH_3CN). Lyofilizací produkt obsahujících frakcí se získá 27 mg (0,06 mmol, 8 %) titulní sloučeniny jako bílého amorfního prášku.

FAB MS: MH^+ 453

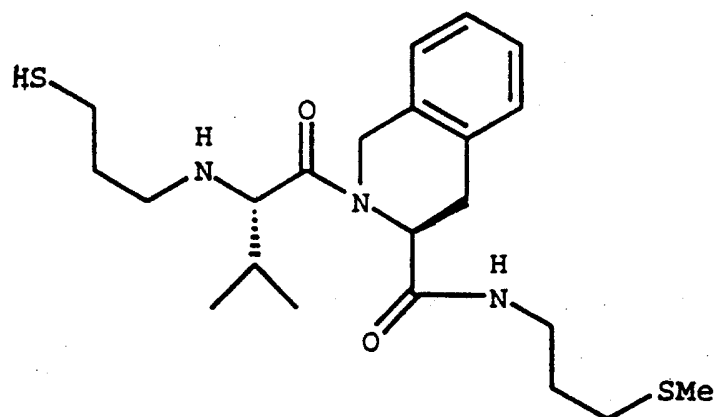
^1H NMR (CD_3OD): δ 7,0-7,2 (m), 4,5-4,9 (m), 3,9 (d), 3,7 (d), 2,9-3,5 (m), 2,6-2,9 (m), 2,3 (dt), 1,9-2,2 (m), 1,6 (m), 1,4-1,5 (m), 0,9-1,1 (dd).

Elementární analýza pro $\text{C}_{22}\text{H}_{35}\text{N}_4\text{O}_2\text{S}_2 \cdot 1,95$ kyselina trifluorooctová $\cdot 2,10$ H_2O

vypočteno 43,70 % C, 5,83 % H, 7,87 % N, 9,01 % S, 15,61 % F
nalezeno 43,67 % C, 5,52 % H, 7,55 % N, 8,67 % S, 15,83 % F.

Příklad 14

(R^W)-2-/N-(3-Merkaptopropyl)-L-valyl/-1,2,3,4-tetrahydro-N-/3-(methylthio)propyl/-3-isochinolinakarboxamid



A. (R^{*})-2-/N-/3-/(Trifenylmethyl)thio/propyl/-L-valyl/-1,2,3,4-tetrahydro-N-/3-(methylthio)propyl/-3-isochinolinkarboxamid

Dusíkem propláchnutý roztok sloučeniny 13B (0,95 g, 1 mmol), kyseliny trifluoroctové (10 ml) a methylsulfidu (1,5 ml, 20 mmol) v 10 ml CH₂Cl₂ se míchá 1 hodinu při 0 °C a potom se zahustí ve vakuu. Zbytek se rozpustí v CH₂Cl₂ a zahustí (tento proces se opakuje čtyřikrát). Aminová sůl se pak rozpustí spolu se sloučeninou 6B v 15:1 směsi tetrahydrofuran-methanol. pH se upraví na 7 N,N-diisopropylethylaminem a po částech se během několika minut přidá pevný NaBH₃CN (160 mg, 2,8 mmol). Reakční směs se míchá při teplotě místnosti přes noc, v této době se pH udržuje pod 6 několika málo kapkami octové kyseliny. Přidá se další NaBH₃CN (80 mg, 1,4 mmol) a reakční směs se míchá dalších 24 hodin. Směs se ochladí na 0 °C a přeruší přídatkem ethylacetátu a NaHCO₃. Fáze se oddělí a organická fáze se promyje nasyceným NaCl, suší se nad síranem hořečnatým a zahustí se ve vakuu, Zbytek se aplikuje pro čištění na 2 x 20 cm sloupec pro rychlou chromatografii silikagelu. Elučí 25 % potom 40 % ethylacetátu v hexanu se získá 385 mg (0,55 mmol, 28 %) sloučeniny A,

B. (R^{*})-2-/N-(3-Merkaptopropyl)-L-valyl/-1,2,3,4-tetrahydro-N-/3-(methylthio)propyl/-3-isochinolinkarboxamid

Sloučenina A se míchá při 0 °C pod dusíkem v roztoku 95:3:1:1 kyseliny trifluoroctové-thioanisolu-methylsulfidu-ethandithiolu (50 ml) po tři hodiny. Těkavé látky se odstraní ve vakuu a zbytek se analyzuje HPLC, bylo zjištěno významné množství výchozího materiálu. Zpracování s 95:3:1:1 kyselinou trifluoroctovou-thioanisolem-methylsulfidem-ethandithiolem (50 ml) se opakuje při teplotě místnosti po 2 hodiny. Směs se zahustí ve vakuu a zbytek se čistí preparativní HPLC (C-18). Elučí gradientem 20 až 50 % rozpouštědla B v rozpouštědle A a lyofilizací frakcí, obsahujících produkt (roz-

pouštědlo A je 0,05% kyselina trifluorooctová ve vodě, roz-
pouštědlo B je 0,05% kyselina trifluorooctová v CH_3CN) se
získá titulní sloučenina (63,6 mg, 0,15 mmol) jako chmýřo-
vitý bílý amorfni prášek.

FAB MS: MH^+ 438.

^1H NMR (CD_3OD): δ 7,0-7,3 (m), 4,5-4,9 (m), 4,15 (d), 2,8-
3,4 (m), 2,1-2,5 (m), 1,7-2,1 (m), 1,601,7 (m), 1,4-1,5 (m),
0,9 - 1,1 (dd).

$[\alpha]_D^{20}$ (methanol) $-27,8^\circ$.

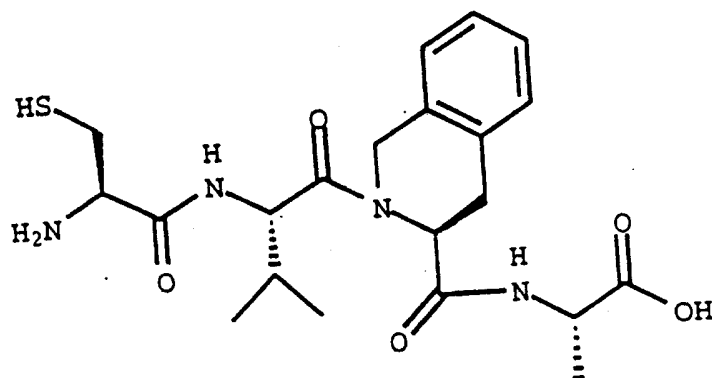
Elementární analýza pro $\text{C}_{22}\text{H}_{34}\text{N}_3\text{O}_2\text{S}_2$ -kyselina trifluoroc-
tová. H_2O

vypočteno 50,69 % C, 6,56 % H, 7,39 % N, 11,28 % S, 10,02
% F

nalezeno 50,67 % C, 6,60 % H, 6,96 % N, 11,61 % S, 10,03
% F.

Příklad 15

(R^*)-N-//2-/N-(L-Cysteiny1)-L-valyl/-1,2,3,4-tetrahydro-3-
isochinolinyl/karboxyl/-L-alanin



Chráněný peptidový meziprodukt se připraví postupně metodou v pevné fázi v zařízení Applied Biosystems Model 430A Peptide Synthesizer za použití N-methylpyrrolidin (NMP) HOBT terc.Boc chemického programu dbdaného se zařízením, Butyloxykarbonyl-L-Ala-PAM pryskyřice (0,5 g, 0,23 mmol) se získá komerčně. Aminokyseliny se kopulují jako jejich N-terc.butyloxykarbonylderiváty a reaktivní vedlejší řetězec cysteinu se chrání p-methoxybenzylem. N-terc.Butyloxykarbonyl-skupiny se odstraní v každém cyklu následnými 10minutovými zpracováními s 33% a 50% kyselinou trifluoroctovou v CH_2Cl_2 . Neutralizace α -aminoskupin se provede 10% N,N-diisopropylethylaminem v CH_2Cl_2 . Každá aminokyselina se kopuluje s DDC/HOBT v NMP/ CH_2Cl_2 směsích při teplotě místnosti. Jakékoliv volné aminoskupiny se acetylují 10% acetanhydridem/5% N,N-diisopropylethylaminem v CH_2Cl_2 po 10 minut. Po konečné kopulaci se N-terc.butyloxykarbonylové skupina odstraní jak je popsáno výše. Sušená, chráněná peptidyl-pryskyřice váží 584 mg (93 %).

Celý výše uvedený produkt se zbaví chránících skupin a odštěpí od pryskyřice zpracováním s bezvodým kapalným HF následovně: peptidyl-pryskyřice (584 mg) se umístí do Kel-F HF reakční nádoby s míchací tyčinkou a zpracuje se s 0,75 ml thioanisolu, 0,25 ml ethandithiolu a 0,25 ml methylsulfidu. Nádoba se evakuuje v HF zařízení a ochladí se v lázni suchý led/ethanol. Přibližně 10 ml HF se oddestiluje z válce do reakční nádoby a lázeň suchého ledu se nahradí lázní led-voda. Reakční směs se míchá při 4 °C 1,5 hodiny a potom se HF odstraní za vakua během 30 minut. Produkt se vysráží a promyje se etherem a potom se rozpustí v 15% vodné kyselině octové a oddělí od pryskyřice filtrací. Filtrát se zmrazí na suchém ledu a lyofilizací se získá 103 mg surového peptidového produktu. Podíly vzorku (10 mg) se aplikují na YMC ODS-AQ C_{18} kolonu (10 x 250 mm, 5 m) a provede se HPLC s reverzní fází za následujících podmínek: rozpouštědlo A, 0,05 % kyselina trifluoroctová ve vodě, rozpouš-

tředlo B, 0,05 % kyseliny trifluoroctové v CH_3CN : lineární gradient od 10 do 50 % rozpouštědla B v rozpouštědle A během 40 min, průtoková rychlost 8 ml/min. Frakce, obsahující hlavní pík (220 nm) eluující při 30,3 min se spojí a lyofilizují, získá se 7 mg titulní sloučeniny jako bílého, chmýřovitého prášku.

Analytická HPLC: YMC ODS-AQ C_{18} (4,6 x 250 mm), 220 nm, 1,0 ml/min, lineární gradient od 5 % do 60 % rozpouštědla B v rozpouštědle A během 40 min (rozpuštědlo A, 0,05 % kyseliny trifluoroctové ve vodě; rozpouštědlo B, 0,05 % kyseliny trifluoroctové v CH_3CN). RT 21,7 min.

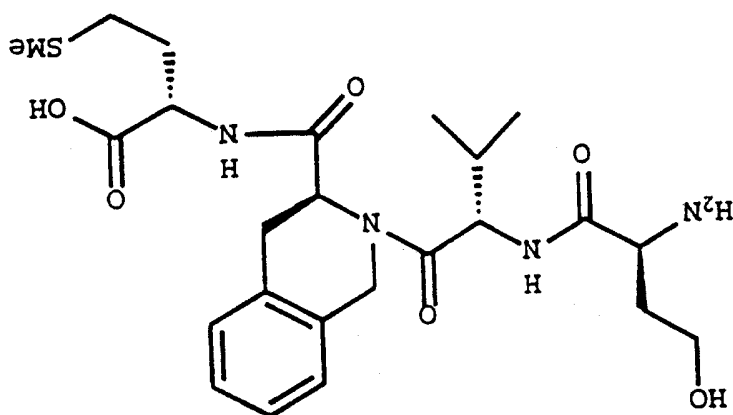
H.I.: >98 %

MS: 451^+ (M+H) $^+$.

^1H NMR (CD_3OD , 270 MHz) δ (ppm) 7,12 (m, Ar-H), 5,60-5,90 (m), 4,22 (m), 3,95 (m), 3,08 (J= 5,9 Hz), 2,07 (J= 11,1 Hz), 1,86 (J=16,4 Hz), 1,27 (J= 7,0 Hz), 1,17 (J= 7,0 Hz), 1,06 (J= 7,6 Hz), 1,00 (J= 6,0 Hz), 0,94 (J= 6,5 Hz).

Příklad 16

(R^* , R^*)-N-//2-/N-(2-Amino-4-hydroxy-1-oxobutyl)-L-valyl/-1,2,3,4-tetrahydro-3-isochinolinyl/karbonyl/-L-methionin



Titulní sloučenina (6 mg, bílý chmýřovitý prášek) se připraví použitím metody v pevné fázi popsané v příkladu 15 s následujícími modifikacemi:

N-terc. Butyloxykarbonyl-L-Met-PAM pryskyřice (0,59 g, 0,25 mmol) se získá komerčně. Neaktivní vedlejší řetězec homoserinu se chrání jako benzylether.

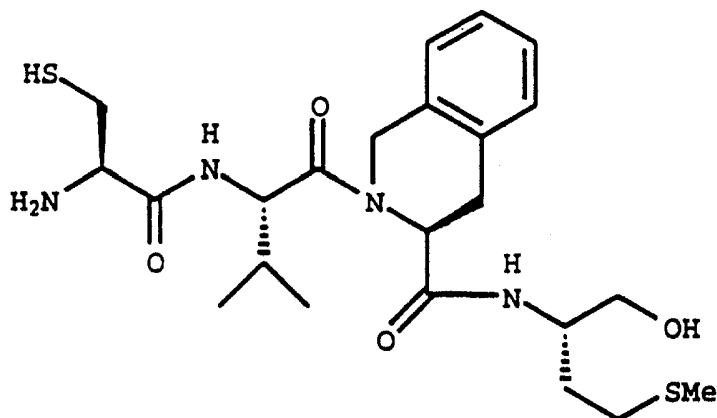
MS: $(M+H)^+$ 509⁺.

¹H-NMR (CD₃OD, 270 MHz): δ (ppm) 7,52 (m), 7,24 (m), 5,14 (m), 5,02 (m), 5,06 (m), 5,09 (m), 4,7 (m), 4,5 (m), 3,78 (m), 3,64 (m), 3,19 (m), 2,72 (m), 2,39 (m), 1,92 (m), 1,12 (m), 1,03 (m).

Pozorovány rotamery.

Příklad 17

(R^{*}, R^{**})-2-/N-(L-CysteinyI)-L-valyl/-1,2,3,4-tetrahydro-N-/1-(hydroxymethyl)-3-(methylthio)propyl/-3-isochinolinakarboxamid



Titulní sloučeniny (5,5 mg, skelná pevná látka) se připraví použitím metody v pevné fázi popsané v příkladu 15

s následujícími modifikacemi:

N-terc. Butyloxykarbonyl-L-Met-PAM pryskyřice (1,0 g, 0,42 mmol) se získá komerčně.

Tetrapeptidový produkt se odštěpí z pryskyřice zpracováním s LiBH_4 . Ve čtyřech částech se přikape roztok LiBH_4 (28 mg, 1,30 mmol) v 5 ml bezvodého tetrahydrofuranu během 1 hodiny k 0,788 g (0,26 mmol) tetrapeptidové pryskyřice suspendované ve 30 ml bezvodého tetrahydrofuranu při 0 °C. Směs se ohřeje na teplotu místnosti a míchá se 1 hodinu. Reakce se přeruší přidávkem ledové kyseliny octové (4 x 1 ml). Přidá se další ledová kyselina octová (5 ml) a potom 15% vodná kyselina octová (10 ml). Produkt se oddělí od pryskyřice filtrací a postupným promytím ledovou kyselinou octovou, 15% kyselinou octovou a vodou. Filtrát se lyofilizuje a získá se surový chráněný peptidalkohol jako skelná pevná látka.

Chráněný peptidalkohol se suspenduje v 15 ml CH_2Cl_2 a zpracuje se s 1,5 ml thioanisolu, 0,5 ml ethandithiolu, 0,5 ml methylsulfidu a 19 ml kyseliny trifluoroctové při teplotě místnosti. Směs se míchá při teplotě místnosti 2 hodiny a potom se zahustí ve vakuu. Zbytek se promyje diethyletherem a dekantuje (4 x 15 ml). Zbytek se rozpustí v ledové kyselině octové (2 ml) a 15% kyselině octové (45 ml) a pak se lyofilizuje. Lyofilát (20 mg) se čistí HPLC s reverzní fází jak je popsáno v příkladu 15 a získá se 5,5 mg titulní sloučeniny.

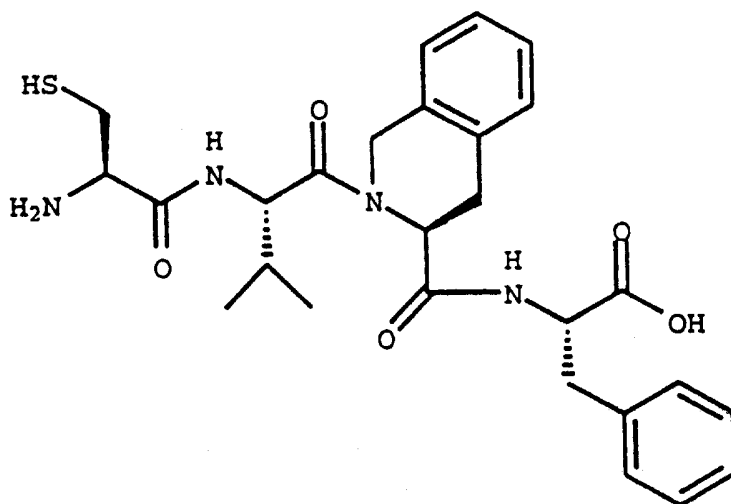
MS: $(\text{M}+\text{H})^+$ 497⁺.

¹H NMR (400 MHz, D₆ DMSO, 30 °C): δ (ppm): 8,70 (m, vyměnitelný), 8,13 (š s, vym), 7,50 (m, vym.), 7,17 (m, 5H, Ar-H), 6,49 (š s, vym., CONH), 4,50-5,15 (m, α -H), 4,15 (š, vym), 3,69 (š, vym), 3,01 (d, J=6,4 Hz), 2,75-2,95 (m), 2,32 (m),

2,16 (m), 1,99 (s), 1,77 (m), 1,50 (m), 1,24 (s), 1,02 d, $J = 6,84$ Hz), 0,96 (d, $J = 6,4$ Hz).

Příklad 18

(R*)-N-//2-/N-(L-CysteinyI)-L-valyl/-1,2,3,4-tetrahydro-3-isochinolinyl/karbonyl/-L-fenylalanin



A. (R*)-2-/N-/(1,1-Dimethylethoxy)karbonyl/-L-valyl/-1,2,3,4-tetrahydro-3-isochinolinylkarboxylová kyselina, fenylmethylester

Benzyl-(S)-1,2,3,4-tetrahydroisochinolin-3-karboxylát (S)-sůl s mandlovou kyselinou (připravená podle B.O.T.Kammermeiera a spol., Synthesis, 1157 (1992)/ (80 g, 0,19 mol) se rozdělí mezi 2 l ethylacetátu a 1 l 0,9M hydrogenuhličitanu sodného. Organická vrstva se suší (síran hořečnatý) a odpaří se olej. Olej se rozpustí v 600 ml dichlormethanu a roztok se zchladí na 5 °C pod dusíkem. Studený roztok se zpracuje postupně s N-terc.butyloxykarbonyl-L-valinem (46 g, 0,21 mol), N,N-diisopropylethylaminem (60 ml, 44,5 g, 0,35

mol), a bis(2-oxo-3-oxazolidinyl)fosforový chlorid (58,3 g, 0,23 mol) s ochlazením na 5 °C po každém přidavku. Směs se míchá přes noc při 5 °C a získá se kaše. Směs se nalije do 2 l ethylacetátu a postupně se promyje 1,5 l kyseliny chlorovodíkové, 1 l vody, 1,5 l 1N hydrogenuhličitanu sodného a 1 l solanky. Druhý 1 l ethylacetátového extraktu se spojí s prvním. Třetí extrakt obsahuje převážně polárnější materiál a nespojuje se. Extrakty, obsahující produkt se spojí a odpaří na olej. Odčerpáním ve vakuu na konstantní hmotnost se získá 82,3 g (93% výtěžek) produktu ve formě hustého bezbarvého oleje, který částečně stáním tuhne.

B. (R*)-2-L-Valyl-1,2,3,4-tetrahydro-3-isochinolinkarboxylová kyselina, fenylmethylester

Roztok sloučenina A (7,94 g, 0,017 mol) v 1M HCl v kyselině octové (34 ml) se míchá 2 hodiny při teplotě místnosti. Přidá se další 1M HCl v kyselině octové (23,5 ml). Reakční směs se míchá další 1,5 hodiny a rozpouštědla se odstraní ve vakuu. Ethylacetát se přidá a reakční směs se zahustí ve vakuu. Zbytek se trituruje s hexanem a suší ve vakuu, získá se sloučenina B (6,26 g, 99 %).

t.t.: 80-83 °C

TLC: $R_f=0,65$ (9:1:0,05 chloroform/methanol/octová kyselina, vizualizováno síranem ceritovým)

MS: $(M+H)^+$ 367.

C. (R*)-2-/N-/N-/(1,1-Dimethylethoxy)karbonyl-/S-(trifenylnmethyl)-L-cysteinyln-/L-valyln-/1,2,3,4-tetrahydro-3-isochinolinkarboxylová kyselina, fenylmethylester.

K roztoku N-terc.butyloxykarbonyl-S-trityl-L-cysteinu (7,78 g, 16,8 mmol) v dimethylformamidu (80 ml) při 0 °C pod dusíkem se přidá benzotriazol-1-yloxy-tris(dimethylamino)fos-

foniumhexafluorofosfátu (7,42 g, 16,8 mmol) a N,N-diisopropylethylamin (2,92 ml, 16,8 mmol). Po 30 minutovém míchání se přidá sloučenina B (6,96 g, 16,8 mmol, 1 ekv.) a N,N-diisopropylethylamin (2,92 ml, 16,9 mmol). Po 16 hodinách míchání při 0 °C se reakční směs zředí ethylacetátem (500 ml) a postupně se promyje nasyceným hydrogenuhličitánem sodným (100 ml) a 10% lithným chloridem (4 x 100 ml). Organická vrstva se suší nad síranem sodným, filtruje a zahustí ve vakuu. Zbytek se čistí na silikagelu (400 ml, eluce 1:4 až 3:7 ethylacetát/hexan), získá se sloučenina C (10,46 g, 77 %). t.t. 85 až 87 °C, TLC: $R_f = 0,40$ (2:1 hexan/ethylacetát, vizualizováno síranem cerit-amonným).

D. (R*)-2-/N-/N-/(1,1-Dimethylethoxy)karbonyl/-S-(trifenylmethyl)-L-cysteiny/-L-valyl/-1,2,3,4-tetrahydro-3-isochinolinkarboxylová kyselina

K roztoku sloučeniny C (8,61 g, 10,6 mmol) v tetrahydrofuranu/methanolu (40 ml 3:1) při 0 °C se přidá 1N hydroxid lithný (15,9 ml, 15,9 mmol). Po 1 hodině míchání při 0 °C a 1 hodině při teplotě místnosti se reakční směs zředí vodou (20 ml) a 1N kyselina chlorovodíková se přidá (pH=2). Reakční směs se extrahuje ethylacetátem (2 x 100 ml). Organické vrstvy se spojí, suší se nad síranem sodným, filtrují a zahuštěním ve vakuu se získá sloučenina D (8,54 g, 73% podle HPLC).

MS: (M-H)⁻ 720.

¹H NMR 400 MHz (CD₃OD): 0,89 (d, 3H, J= 5,86), 1,00 (d, 3H, J= 5,86), 1,45 (s, 9H), 2,03 (m, 1H), 2,22 (m, 1H), 2,61 (m, 1H), 2,92 (m, 1H), 3,14 (m, 1H), 3,93 (m, 1H), 4,62-5,41 (m, 4H), 7,27 (m, 19H),

^{13}C NMR 100 MHz (CD_3OD): 17,4, 19,0, 28,0, 30,2, 31,0, 33,6, 45,5, 51,5, 54,1, 64,6, 66,5, 79,8, 126,0, 126,6, 126,8, 127,2, 127,8, 128,2, 129,3, 131,4, 131,8, 140,6, 144,1, 154,9, 170,5, 171,7, 173,6.

E. (R^*)-N-//2-/N-/(1,1-Dimethylethoxy)karbonyl/-S-(trifenylmethyl)-L-cysteiny/-L-valyl/-1,2,3,4-tetrahydro-3-iso-chinoliny/-karbonyl/-L-fenylalanin, methylester.

K roztoku sloučeniny D (573 mg, 0,70 mmol, 88 0 hmotn.) v dimethylformamidu (3 ml) při 0 °C pod dusíkem se přidá methylester L-fenylalaninu (181 mg, 0,84 mmol), N-methyl-morfolin (184 ml, 1,68 mmol) a benzotriazol-1-yloxy-tris(dimethylamino)fosfonium-Hexafluorofosfát (371 mg, 0,84 mmol). Po míchání při 0 °C po 16 hodin se reakční směs zředí ethylacetátem (100 ml) a postupně se promyje nasyceným hydrogenuhlíčitanem sodným (30ml), 1% hydrogensíranem draselným (30 ml) a 10% chloridem lithným (3 x 30 ml). Organická vrstva se suší nad síranem sodným, filtruje a zahustí ve vakuu. Zbytek se čistí na silikagelu Merck (100 ml, eluce 3:1 až 2:1 hexanem/ethylacetátem), získá se sloučenina E (458 mg, 76 %), t.t. 88 až 92 °C. TLC: R_f = 0,15 (2:1 hexan/ethylacetát, vizualizováno síranem ceritoamonným).

F. (R^*)-N-//2-/N-/N-/(1,1-Dimethylethoxy)karbonyl/-S-(trifenylmethyl)-L-cysteiny/-L-valyl/-1,2,3,4-tetrahydro-3-iso-chinoliny/-karbonyl/-L-fenylalanin

K roztoku sloučeniny E (376 mg, 0,426 mmol) v tetrahydrofuranu (5 ml) při 0 °C se přidá 1N hydroxid sodný (0,853 ml, 0,853 mmol). Po 3 hodinách míchání se reakční směs zředí ethylacetátem (100 ml) a vodou (100 ml) a pH se upraví na 1N kyselinou chlorovodíkovou (pH je 2). Vrstvy se oddělí a vodná vrstva se extrahuje ethylacetátem (2 x 100 ml). Organické vrstvy se spojí, suší nad síranem sodným, filtrují a

zahustí se ve vakuu, získá se sloučenina F (0,354 g, 96 %).
t.t.: 125 až 129 °C
TLC: $R_f = 0,65$ (9:1:0,05 chloroform/methanol/octová kyselina,
vizualizováno síranem ceritooamonným).

G. (R*)-N-//2-/N-(L-Cysteinyl)-L-valyl/-1,2,3,4-tetrahydro-
3-isochinolinyl/karbonyl/-L-fenylalanin

(Všechna rozpouštědla použitá v příkladu 18G jsou od-
plyněna). K roztoku sloučeniny F (377 mg, 0,434 mmol) v
dichlormethanu (2 ml) při 0 °C pod dusíkem se přidá tri-
ethylsilan (0,69 ml, 4,34 mmol) a kyselina trifluoroctová
(2 ml). při 0 °C a 1 hodině při teplotě místnosti se roz-
pouštědla odstraní ve vakuu. Zbytek se rozpustí v methanolu
(5 ml) a voda (3 ml) se přidá. Sraženina se odfiltruje a
polovina filtrátu se čistí preparativní HPLC (YMC ODS S-10,
30 x 500 mm, 21 ml/min, gradient 36-90 % vodný CH₃OH, 0,1 %
kyseliny trifluoroctové), získá se titulní sloučenina (54
mg, 40 %).

t.t. 137 až 142 °C.

TLC: $R_f = 0,32$ (4:1:1 butanol/octová kyselina/voda, vizua-
lizováno síranem ceritooamonným)

MS: (M+H)⁺ 527.

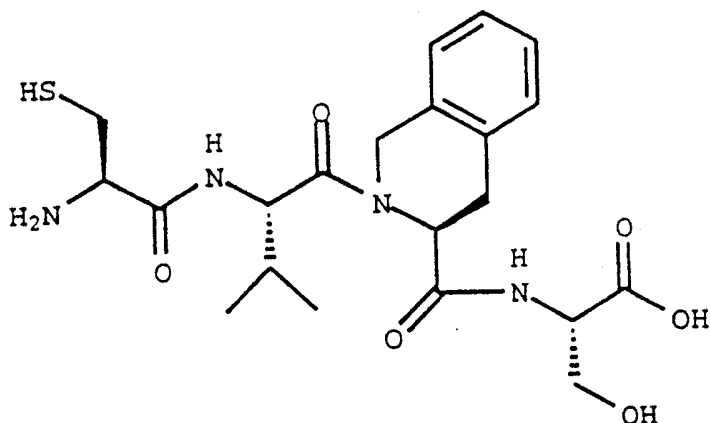
$[\alpha]_D^{20} = -9,9^\circ$ /c=0,102, CH₃OH/

¹H NMR 400 MHz (CD₃OD): 0,096-1,74 (m, 6H), 2,06-2,20 (m,
2H), 2,88-3,42 (m, 6H), 4,07, 4,23 (dd, 1H, J=5,13, 5,55),
4,44-5,00 (m, 5H, také pík vody), 7,06-7,26 (m, 9H).

¹³C NMR 100 MHz (CD₃OD): 18,3, 18,6, 19,7, 19,9, 26,5, 26,9,
31,4, 31,6, 31,7, 32,3, 37,6, 38,4, 44,0, 47,3, 47,5, 54,9,
55,3, 55,5, 55,8, 56,0, 56,9, 57,0, 57,6, 127,1, 127,2, 127,6,
127,8, 127,9, 128,0, 128,8, 129,4, 130,4, 130,5, 131,0,
132,9, 133,3, 134,8, 134,9, 138,0, 138,6, 168,4, 169,2,
171,5, 172,8, 173,1, 173,3, 174,2, 175,1.

Příklad 19

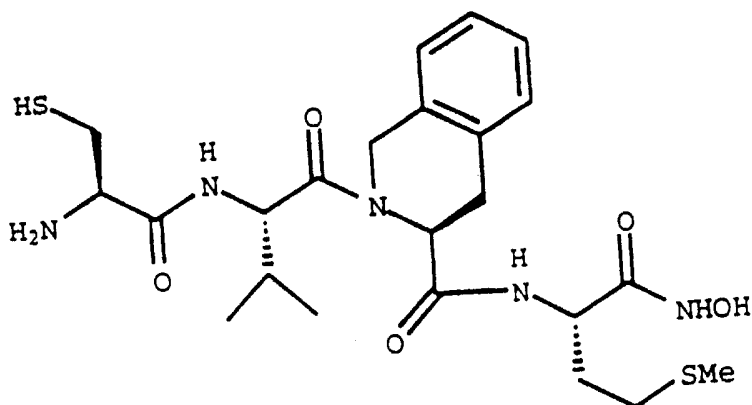
(R³)-N-//2-/N-(L-Cysteinyl)-L-valyl/-1,2,3,4-tetrahydro-3-isochinolinyll/karbonyl/-L-seria



Titulní sloučenina (137 mg, 37%, bezbarvá pevná látka) se připraví z methylesteru L-serinu a sloučeniny 18D (574 mg) třístupňovým postupem analogicky tomu, který je popsán pro přípravu sloučeniny 18G ze sloučeniny 18D.
MS: 467 (M+H)⁺.

Příklad 20

(R³-N-//2-/N-(L-Cysteinyl)-L-valyl/-1,2,3,4- tetrahydro-3-isochinolinyll/karbonyl/-N-hydroxy-L-methioninamid



A. O-Tetrahydropyran-2-yl-hydroxylamin

K roztoku N-hydroxyftalimidu (20 g, 0,2123 mol) v tetrahydrofuranu (350 ml) se přidá dihydropyran (17,0 ml, 0,187 mol) a monohydrát kyseliny p-toluensulfonové (400 mg) pod dusíkem při teplotě místnosti. Další dihydropyran (5,6 ml, 0,062 mol) se přidá po 8 hodinách a 24 hodinách. Reakční směs se odfiltruje a zahustí na 150 ml. Potom se přidá dihydropyran (11,2 ml, 0,125 mol) a monohydrát kyseliny p-toluensulfonové (800 mg). Po 16 hodinách míchání se reakční směs zahustí ve vakuu. Zbytek se rozpustí v ethylacetátu (400 ml) a promyje se nasyceným hydrogenuhlíčitanem sodným (3 x 150 ml). Organická vrstva se suší nad síranem sodným, zfiltruje se a zahustí ve vakuu. Zbytek se trituruje s hexanem (3 x 200 ml) a získá se tetrahydropyranylether N-hydroxyftalimidu (23,9 g, 78 %).

t.t.: 210 °C

TLC: $R_f = 0,81$ (3:7 hexan/ethylacetát, vizualizováno pomocí UV 254 nm)

MS: $(M+H)^+$ 248.

K roztoku výše připraveného meziproduktu (23,64 g, 0,095 mol) v toluenu (60 ml) se přidá methylhydrazin (5,59

ml, 0,105 mol)). Po zahřívání na 80 °C po 1 hodinu se rozpouští dlo odstraní ve vakuu. Zbytek se trituruje s etherem (20 ml) a filtruje. Pevná látka se rozpustí v hexanu, zpracuje se s aktivním uhlím, filtruje přes celit a zahustí na 50 ml. Krystaly se odfiltrují a suší. Získá se sloučenina A (5,542 g, 50 %).

t.t.: 33 až 38 °C

TLC: $R_f = 0,67$ (1:4 hexan/ethylacetát, vizualizováno síranem cerit^{IV}oamonným)

MS: $(M+H)^+$ 118.

1H 400 MHz ($CDCl_3$): 1,53-1,78 (m, 6H), 3,57 (m, 1H), 3,91 (m, 1H), 4,71 (m, 1H), 5,49 (šs, 2H),

^{13}C 100 MHz ($CDCl_3$): 19,6, 25,3, 28,8, 62,5, 102,5

B. (R*)-N-//2-/N-/N-/(1,1-Dimethylethoxy)karbonyl/-S-(trifenylmethyl)-L-cysteinyll/-L-valyl/-1,2,3,4-tetrahydro-3-isochinolinyll/karbonyl/-N-tetrahydropyran-2-yloxy-L-methioninamid⁷

K roztoku sloučeniny 2B (400 mg, 0,469 mmol) v dimethylformamidu (3 ml) při 0 °C pod dusíkem, se postupně přidá sloučenina A (55 mg, 0,469 mmol), N,N-diisopropylamin (81,5 ml, 0,469 mmol) a benzotriazol-1-yloxy-tris(dimethylamino)-fosfoniumhexafluorofosfát (207 mg, 0,469 mmol). Po míchání při 0 °C po 18 hodin se reakční směs zředí ethylacetátem (70 ml) a postupně se promyje nasyceným hydrogenuhličitánem sodným (30 ml), 1% $KHSO_4$ (30 ml) a 10% chloridem lithným (3 x 30 ml). Organická vrstva se suší nad síranem sodným, filtruje a zahustí se ve vakuu. Získá se sloučenina B (427 mg, 96 %).

t.t.: 113 až 115 °C

TLC: $R_f = 0,85$ (9:1:0,05 chloroform/methanol/kyselina octová, vizualizováno síranem cerit^{IV}oamonným)

MS: $(M+H)^+$ 952

C. (R*)-N-//2-N-(L-Cysteinyl)-L-valyl/-1,2,3,4-tetrahydro-3-isochinolinyll/karbonyl/-N-hydroxy-L-methioninamid

Sloučenina C (72 mg, 33 %) se připraví ze sloučeniny B (323 mg, 0,340 mmol) za použití postupu analogického postupu popsanému pro přípravu sloučeniny 18G ze sloučeniny 18F.

t.t. 135 až 139 °C

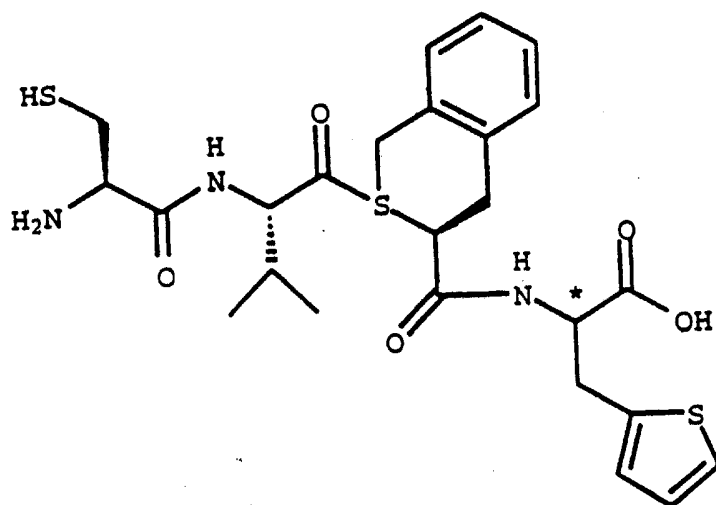
TLC: $R_f = 0,17$ (9:1:0,05 chloroform/methanol/kyselina octová, vizualizováno síranem cerčtoamonným)

MS: (M+H)⁺ 526

¹H NMR 400 MHz (CD₃OH): 1,06 (m, 6H), 1,99, 2,05 (s, 3H), 1,89-2,45 (m, 5H), 2,90-3,18 (m, 4H), 4,00-5,20 (m, 6H), 7,22 (b m, 4H).

Příklad 21

(R*)-N-//2-N-(L-Cysteinyl)-L-valyl/-1,2,3,4-tetrahydro-3-isochinolinyll/karbonyl/-3-(2-thienyl)-DL-alanin



~ 1:1 směs

A. 3-(2-Thienyl)-DL-alanin, methylester

Bezvodý HCl se probublává suspenzí kyseliny R,S- α -amino-2-thiofenpropionové (2 g, 11,68 mmol) a methanolu (75 ml) při 0 °C do dosažení roztoku. Směs se míchá 16 hodin při teplotě místnosti, 3 hodiny pod refluxem a potom se zahustí za vakua. Pevná látka se rozpustí ve vodě (50 ml), extrahuje CH_2Cl_2 (3 x 50 ml). Vodná vrstva se zalkalizuje 10% NaHCO_3 a extrahuje CH_2Cl_2 (4 x 50 ml). Spojené organické extrakty z bázičského podílu se suší (MgSO_4), zfiltruje a zahuštěním za vakua se získá sloučenina A (2,0 g, 93 %).

TLC: $R_f = 0,51$ (9:1:0,05 CHCl_3 /methanol/kyselina octová, vizualizace síranem ceritooamonným/molybdát amonný/kyselina sírová/voda).

MS: $(M+H)^+$ 186.

B. (R^{**}) -N-//2-/N-/N-/(1,1-dimethylethoxy)karbonyl/-S-(trifenylmethyl)-L-cysteinyll/-L-valyl/-1,2,3,4-tetrahydro-3-isochinolinyl/karbonyl/-3-(2-thienyl)-DL-alanin, methylester

N,N-Diisopropylethylamin (0,130 mL, 0,748 mmol) se přidá k roztoku sloučeniny 18D (0,539 g, 0,748 mmol), sloučenina A (0,138 g, 0,748 mmol), benzotriazol-1-yloxy-tris(dimethylamino)fosfonium-hexafluorofosfát (0,331 g, 0,748 mmol) v CH_3CN (15 ml) a dimethylformamid (3 ml) se míchají při teplotě místnosti 16 hodin. Reakce se přeruší 1N HCl (100 ml) a extrahuje se ethylacetátem (3x100 ml). Spojené organické fáze se postupně promyjí 10% NaHCO_3 (2 x 100 ml), a 10% LiCl (2 x 100 ml), suší se (MgSO_4), filtrují a zahuštěním za vakua se získá zbytek. Tento se čistí rychlou chromatografií (eluze 4:1 hexan/acetone) a získá se sloučenina B (0,616 g, 93 %).

t.t.: 51 až 56 °C

TLC: $R_f = 0,56$ (2:1 hexan/aceton, vizualizace síranem ceriitoamonným/molybdenanem amonným/ H_2SO_4 /vodou).

MS: $(M+H)^+$ 889.

C. (R^*) -N-//2-/N-(L-Cysteinyl)-L-valyl/-1,2,3,4-tetrahydro-3-isochinoliny/karbonyl/-3-(2-thienyl)-DL-alanin

Sloučenina C (57%) se připraví ze sloučeniny B (0,61 g, 0,687 mmol) použitím dvoustupňového postupu analogického postupu popsanému pro přípravu sloučeniny 18G ze sloučeniny 18E.

t.t. 140 až 147 °C.

TLC: $R_f = 0,28$ (9:1:0,05 $CHCl_3$ /methanol/kyselina octová, vizualizace síranem ceriitoamonným/molybdenanem amonným/kyselinou sírovou/vodou).

MS: $(M+H)^+$ 533

$[\alpha]_D^{22} = -20,0^\circ$ (c= 0,05, CH_3OH)

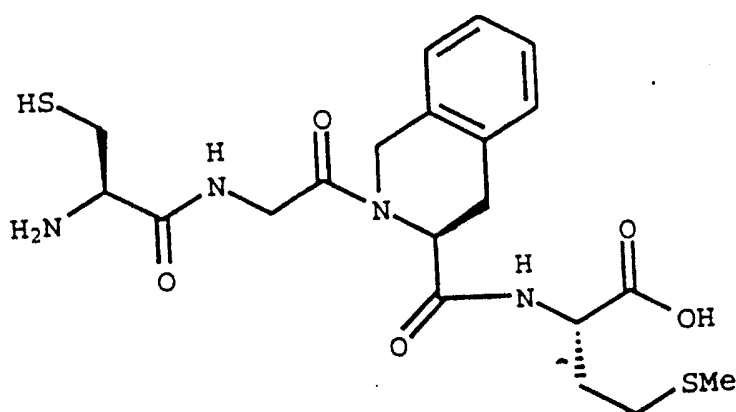
1H (CD_3OD): 0,98 (d, 1,5 H, $J = 5,3$), 1,00 (d, 1,5 H, $J = 6,4$), 1,03 (d, 1,5 H, $J = 7,1$), 1,05 (d, 1,5 H, $J = 6,4$), 2,20-2,40 (m, 1H), 2,91-3,35 (m, 6H), 4,05-4,13 (m, 1H), 4,58-5,10 (m, 5H), 6,72-6,92 (m, 2H), 7,14-7,50 (m, 5H).

Elementární analýza pro $C_{25}H_{32}N_4O_5S_2 \cdot 0,55 H_2O$. $C_{25}H_{32}N_4O_5S_2$

vypočteno 49,39 % C, 5,23 % H, 8,53 % N, 9,77 % S, 8,68 % F
nalezeno 49,64 % C, 5,32 % H, 8,60 % N, 9,57 % S, 8,25 % F.

Příklad 22

(R*)-N-//2-N-(L-Cysteinyl)glycyl/-1,2,3,4-tetrahydro-3-isochinolinyl/karbonyl/-L-methionin



A. (R*)-N-/(1,2,3,4-Tetrahydro-3-isochinolinyl)karbonyl/-L-methionin, methylester

HCl/dioxan (bezvodý, 4M, 0,18 ml, 0,007 mmol) se přidá k suspenzi sloučeniny 1A (1,5 g, 3,55 mmol) v CH₃OH/tetrahydrofuranu (20/3 ml) při teplotě místnosti pod argonem. Po 15 hodinách se reakční směs zahustí ve vakuu. Zbytek se krátce trituruje s etherem a pevná látka se suší. Získá se sloučenina A (1,14 g, 100 %).

B. (R*)-N-//2-N-/(1,1-Dimethylethoxy)karbonyl/glycyl/-1,2,3,4-tetrahydro-3-isochinolinyl/karbonyl/-L-methionin, methylester

Bis(2-oxo-3-oxazolidinyl)fosforový chlorid (1,08 g, 4,24

mmol) se přidá k míchanému roztoku sloučeniny A (1,14 g, 3,53 mmol), N-terc.butyloxykarbonylglycinu (0,68 g, 3,88 mmol) a N,N-diisopropylethylaminu (2,02 ml, 1,50 g, 11,6 mmol) v CH_2Cl_2 (14 ml) při 0 °C pod argonem. Po 2,5denním míchání se reakční směs rozdělí mezi ethylacetát (35 ml) a 10% HCl (10 ml). Vodná vrstva se extrahuje (2 x 30 ml) ethylacetátem). Spojené organické extrakty se promyjí postupně 10% HCl (2 x 10 ml), vodou (2 x 20 ml), nasyceným NaHCO_3 (2 x 10 ml) a nasyceným NaCl (2 x 20 ml). Organická vrstva se suší nad MgSO_4 , filtruje a zahuštěním se získá sloučenina B (1,7 g, 100 %), která se použije bez dalšího čištění.

MS: $(\text{M}+\text{H})^+$ 400⁺

TLC: R_f 0,75 (ethylacetát), vizualizováno UV, molybdenan ceričtoamonný.

C. $(\text{R}^*)\text{-N-//2-/N-/N-/(1,1-Dimethylethoxy)karbonyl/-S-}$
 $(\text{trifenylmethyl})\text{-L-cysteinylyl/glycyl/-1,2,3,4-tetrahydro-}$
 $3\text{-isochinolinylyl/karbonyl/-L-methionin, methylester}$

Sloučenina C (82 %) se připraví ze sloučeniny B (1,64 g, 3,41 mmol) za použití dvoustupňového postupu popsaného pro přípravu sloučeniny B ze sloučeniny 1A s tím rozdílem, že se ve druhém stupni použije N-terc.butyloxykarbonyl-S-trityl-L-cystein (0,78 g, 1,67 mmol) místo N-terc.butyloxykarbonylglycinu.

TLC: R_f 0,69 (ethylacetát), vizualizováno UV, molybdenanem ceričtoamonným)

D. $(\text{R}^*)\text{-N-//2-/N-(L-Cysteinylyl)glycyl/-1,2,3,4-tetrahydro-}$
 $3\text{-isochinolinylyl/karbonyl/-L-methionin}$

Sloučenina D (39 %) se připraví ze sloučeniny C (1,09 g, 1,58 mmol) za použití postupu analogického postupu popsanému pro přípravu sloučeniny 1H ze sloučeniny 1G s tím rozdílem, že se titulní sloučenina čistí chromatografií na

silikagelu za použití eluce pomocí CHCl_3 a $\text{CHCl}_3/\text{CH}_3\text{OH}$ (9:1) a preparativní HPLC.

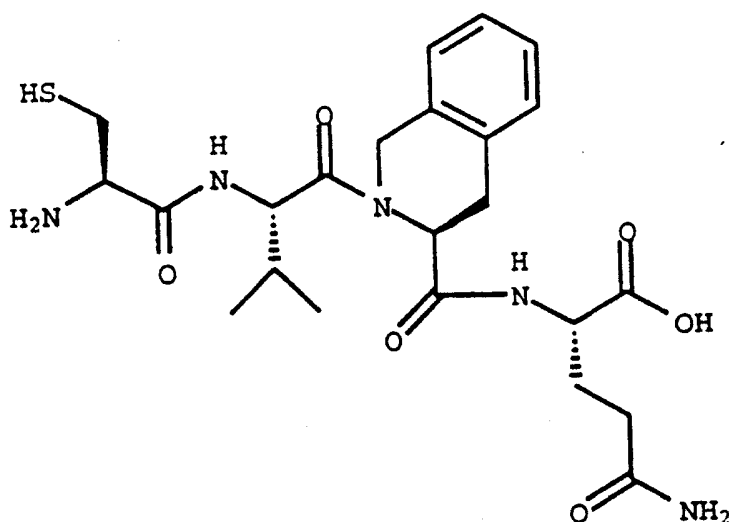
t.t. 95 až 99 °C

TLC: R_f 0,3 (9:1:0,1 $\text{CHCl}_3/\text{CH}_3\text{OH}/\text{CH}_3\text{COOH}$), vizualizováno UV, molybdenem cerámoanným).

MS: $(\text{M}+\text{H})^+$ 469⁺.

Příklad 23.

$(R^*)\text{-N}^2\text{-//2-/N-(L-CysteinyI)-L-valyl/-1,2,3,4-tetrahydro-3-isochinolinyI/karboNyl-L-glutamin}$



A. $(R^*)\text{-N}^2\text{-//2-/N-/N-/(1,1-Dimethylethoxy)karboNyl/-S-(trifenylmethyl)-L-cysteinyI/glycyI/-1,2,3,4-tetrahydro-3-isochinolinyI/karboNyl/-L-glutamin, 1,1-dimethylethylester}$

K ochlazenému roztoku (4 °C) sloučeniny 18D (722 mg, 0,5 mmol) se přidá terc.butylester L-glutaminu (120 mg, 0,5 mmol), 4-methylmorfolin (137 ml, 1,25 mmol) v dimethylformamidu (2,5 ml) a benzotriazol-1-yloxy-tris(dimethylamino)-

fosfonium-hexafluorofosfát (332 mg, 0,75 mmol). Směs se míchá při 4 °C 18 hodin, nechá se ohřát na teplotu místnosti a míchá se dalších 24 hodin. Směs se nalije do kyseliny chlorovodíkové (50 ml, 0,5 N) a extrahuje se ethylacetátem (3 x 100 ml). Organické extrakty se spojí, promyjí hydrogenuhličitanem sodným (50 ml, nasycený vodný roztok), suší (síran hořečnatý) a zahuštěním ve vakuu se získá sloučenina A (510 mg, 68% výtěžek, 60% čistota), který se použije bez dalšího čištění.

B. (R*)-N²-//2-/N-(L-CysteinyI)-L-valyl/-1,2,3,4-tetrahydro-3-isochinolinyI/karbonyl/-L-glutamin

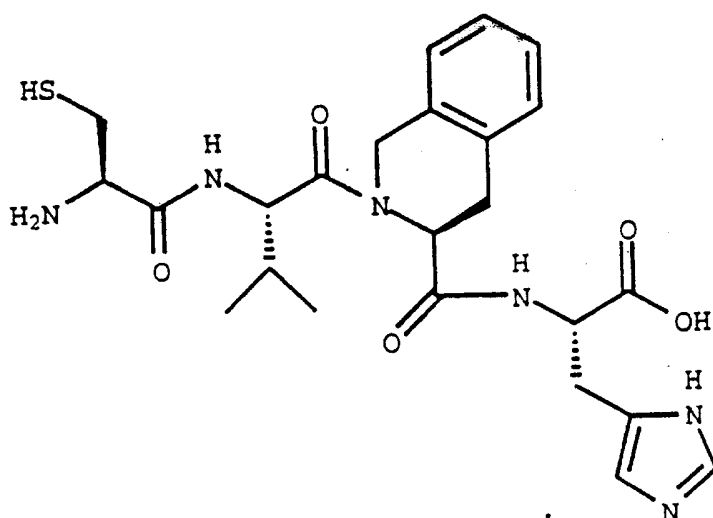
Roztok sloučeniny A (470 mg, 0,52 mmol), triethylsilanu (832 ml, 5,2 mmol), kyseliny trifluoroctové (5 ml) a dichlormethanu (5 ml) se míchá dvě hodiny, zahustí se ve vakuu na ambrový olej a čistí se preparativní HPLC (YMC S-15 ODS 50 x 500 mm kolona eluovaná 35 ml/min 10 až 90% vodným roztokem methanolového gradientu, obsahujícího 0,1 % kyseliny trifluoroctové během 1 hodiny, UV detekce při 215 nm). Vhodné frakce se spojí (stanoveno pomocí analytické HPLC), zahustí se ve vakuu a lyofilizací z vody se získá titulní sloučenina jako bílá pevná látka (80 mg, 0,11 mmol, 22 %).

t.t. 145 až 150 °C

$[\alpha]_D^{22} = -27,5^\circ$ (c=0,10, CH₃OH)

Příklad 24

(R*)-N-//2-/N-(L-CysteinyI)-L-valyl/-1,2,3,4-tetrahydro-3-isochinolinyI/karbonyl/-L-histidin



Titulní sloučenina (0,196 g, 30%) se připraví ze sloučeniny 18D (0,60 g) a L-histidinu-methylester-hydrochloridu za použití třísupňového postupu popsaného pro přípravu sloučeniny 21C ze sloučeniny 18D a sloučeniny 21A, s tím rozdílem, že v prvním stupni se eliminuje přerušení 1N HCl. t.t. 130 až 137 °C

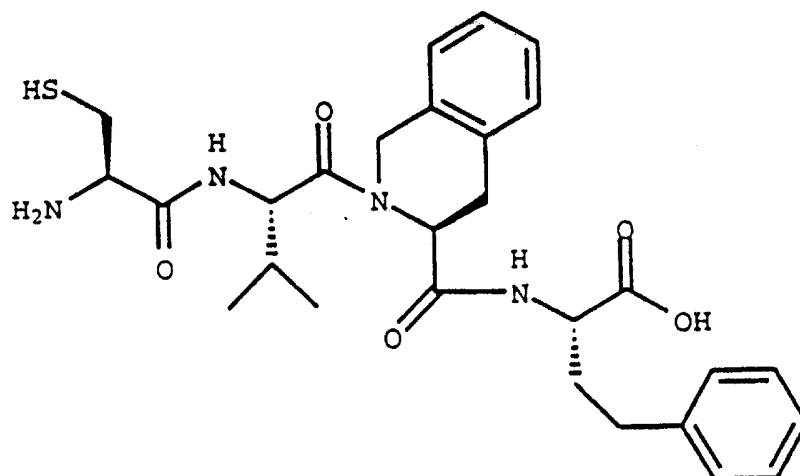
TLC: $R_f = 0,26$ (6:3:1 n-propanol/hydroxid amonný/voda, vizualizace síranem ceritovým/amonným/molybdenanem amonným/kyselinou sírovou/vodou).

MS: $(M+H)^+$ 516

1H (CD_3OD): 1,03 (d, 3H, $J = 6,5$), 1,08 (d, 3H, $J = 6,5$), 2,20-2,28 (m, 1H), 2,93 (d, 2H, $J = 5,3$), 3,00-3,42 (m, 4H), 4,15 (t, 1H, $J = 5,9$), 4,59-5,13 (m, 5H), 7,17-7,40 (m, 6H).

Příklad 25

(R*)-N-//2-/N-(L-CysteinyI)-L-valyl/-1,2,3,4-tetrahydro-3-
isochinolinyI/karbonyI/-3-(fenylmethyl)-L-alanin



A. 3-(Fenylmethyl)-L-alanin, methylester

K roztoku L-homofenylalaninu (0,99 g, 5,53 mmol) v absolutním methanolu (50 ml) pod argonem se přidá p-TsOH.H₂O (2,09 g, 11,0 mmol) a směs se zahřívá pod refluxem 6 hodin. Reakční směs se ochladí a zahustí ve vakuu. Zbytek se třeturuje s etherem a získá se sloučenina A (2,0 g, 90 %).

B. (R^{*})-N-//2-/N-/N-/(1,1-Dimethylethoxy)karbonyl/-S-trifenylmethyl)-L-cysteinyI/-L-valyI/-1,2,3,4-tetrahydro-3-isochinolinyI/karbonyl/-3-(fenylmethyl)-L-alanin, methylester

Ke studenému (0 °C) roztoku sloučeniny 18D (360 mg, 0,5 mmol) v dichlormethanu (5 ml), obsahujícím dimethylformamid (0,5 ml) se přidá sloučenina A (292 mg, 0,8 mmol), bis(2-oxo-3-oxazolidinyI)fosforový chlorid (128 mg, 0,5 mmol) a N-methyl-morfolin (0,22 ml, 2,0 mmol). Po 2 hodinách se reakční směs nechá ohřát na 5 °C a míchá se přes noc (16 hodin). Směs se zředí chloroformem (10 ml) a postupně se promyje vždy 10 ml 1N HCl, nasyceného roztoku hydrogenuhlíčitanu sodného a solanky. Organická vrstva se suší (MgSO₄), filtruje a zahustí se ve vakuu. Purifikací rychlou sloupcovou chromatografií na silikagelu za eluce 30% ethylacetátem v hexanech se získá sloučenina B (330 mg; 73 %).

TLC: R_f 0,46 (40 % ethylacetátu v hexanech), vizualizace molybdenanem cerčtoamonným).

MS: (FAB) $(M+H)^+ = 897^+$.

C. (R^*) -N-//2-/N-(L-Cysteinyl)-L-valyl/-1,2,3,4-tetrahydro-3-isochinolinyl/karboxyl/-3-(fenylmethyl)-L-alanin

Titulní sloučenina (60% výtěžek) se připraví ze sloučeniny B (195 mg) použitím dvoustupňového postupu popsaného pro přípravu sloučeniny 18G ze sloučeniny 18E.

t.t. 120 až 123 °C

MS: (FAB) $(M+H)^+ = 541$.

$[\alpha]_D^{22} = -34,7^\circ$ ($c = 0,426$, methanol)

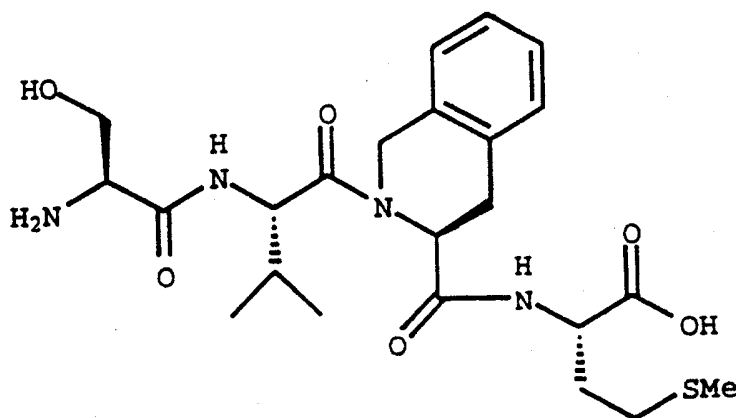
Elementární analýza pro $C_{28}H_{36}N_4O_5S \cdot 0,8 H_2O \cdot 1,13$ kyselina trifluoroctová:

vypočteno 53,14 % C, 5,71 % H, 8,19 % N, 9,42 % F

nalezeno 53,14 % C, 5,68 % H, 8,19 % N, 9,44 % F.

Příklad 26

(R^*) -N-//2-/N-(L-Seryl)-L-valyl/-1,2,3,4-tetrahydro-3-isochinolinyl/karboxyl/-L-methionin



Titulní sloučenina (6 mg, chmýřovitý prášek) se připraví použitím metody v pevné fázi popsané v příkladu 15 s následujícími modifikacemi:

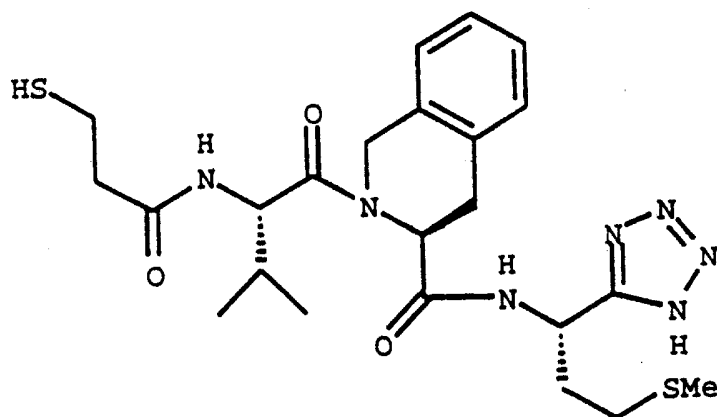
N-terc. Butyloxykarbonyl-L-Met-PAM pryskyřice (0,59 g, 0,25 mmol) se získá komerčně. Reaktivní vedlejší řetězec serinu je chráněn jako benzylether.

MS: $(M+H)^+$ 495⁺.

¹H NMR (CD₃OD): (ppm) 7,23 (m), 5,03 (m), 4,95 (m), 4,71 (m), 4,46 (m), 4,22 (m), 4,06-3,69 (m), 3,44 (m), 3,38 (m), 3,16 (m), 2,39 (m), 2,24 (m), 2,08 (m), 2,04 (s), 1,94 (m), 1,29 (m), 1,09 (J= 6,4 Hz), 1,00 (m). (Pozorovány rotamery).

Příklad 27

(R*,R*)-2-/N-(3-Merkapto-1-oxopropyl)-L-valyl/-1,2,3,4-tetrahydro-N-/3-(methylthio)-1-(1H-tetrazol-5-yl)propyl/-3-isochinolinkarboxamid



A. N-(2-Kyanoethyl)-N²-(1,1-dimethylethoxy)karbonyl/-L-methionin

1-Ethyl-3-(3-dimethylaminopropyl)karbodiimid-hydrochlorid

(16,24 g, 85 mmol), 3-aminopropionitril (10,9 g, 85 mmol, fumarátová sůl), N,N-diisopropylethylamin (17,9 ml, 100 mmol) se přidá k roztoku N-terc.butyloxykarbonyl-L-methioninu (19,9 g, 80 mmol) a N-hydroxybenzotriazolu (13,0 g, 85 mmol) v tetrahydrofuranu (150 ml) při teplotě místnosti pod argonem. Reakční směs velmi zhoustne a vytvoří se sraženina. Přidá se další tetrahydrofuran (80 ml) a dimethylformamid (50 ml). Po 7 hodinách se přidá další aminová sůl (2 g) a N,N-diisopropylethylamin (3 ml) a směs se míchá dalších 18 hodin. Reakční směs se rozdělí mezi nasycený chlorid amonný (100 ml) a ethylacetát (110 ml). Organická vrstva se postupně promyje 1N HCl (100 ml) a NaHCO₃ (100 ml). Organická vrstva se suší (MgSO₄), filtruje a zahustí. Získaný olej se čistí sloupcovou chromatografií na silikagelu za eluce gradientem do 50 % ethylacetátu v hexanech. Získá se sloučenina A (11,2 g, 47 %).

MS (CI), (M+H)⁺=320.

TLC: R_f 0,11 (50%, ethylacetát v hexanech, vizualizováno UV a molybdenanem ceričtoamonným).

B. (R)-/1-/1-(2-Kyanoethyl)-1H-tetrazol-5-yl)-3-(methylthio)-propyl/karbamová kyselina, 1,1-dimethylester

K roztoku sloučeniny A (10 g, 33,2 mmol) v tetrahydrofuranu (300 ml) při teplotě místnosti pod argonem se postupně přidá trifenylofosfin (18 g, 69,8 mmol), diethylazodikarboxylát (10,99 ml, 69,8 mmol) a azidotrimethylsilan (9,26 ml, 69,8 mmol). Po 72 hodinách se těkavé látky odstraní na rotační odparce za užití bezpečnostního štítu. Zbytek se zpracuje s

dusičnanem ceričitoamonným (3 g v 50 ml). Sraženina se tvoří spolu s vývojem plynu. Přidá se voda (50 ml) a vodná vrstva se extrahuje dichlormethanem (100 ml). Organická vrstva se suší (MgSO_4), filtruje a zahustí ve vakuu. Čištěním zbytku rychlou sloupcovou chromatografií na silikagelu (50 x 300 mm), elucí 40% ethylacetátem v hexanech se získá krystalická (dlouhé jehlice) sloučenina B (7,2 g, 66 %).

MS (CI): $(\text{M}+\text{H})^+$ 327.

TLC: R_f 0,3 (50%, ethylacetát v hexanech, vizualizace UV a molybdenem ceričitoamonným).

C. (R^*) -2-/N-/(1,1-Dimethylethoxy)karbonyl/-L-valyl/-
1,2,3,4-tetrahydro-3-isochinolinkarboxylová kyselina

K roztoku sloučeniny 18A (3,1 g, 6,66 mmol) v 50 ml methanolu se přidá 150 mg $\text{Pd}(\text{OH})_2$ (20% na uhlí). Směs se míchá pod H_2 atmosférou (balonek) 1,5 hodiny. Směs se zfiltruje přes celit a filtrát se zahustí ve vakuu, získá se sloučenina C (2,3 g, 92 %) jako bílá pevná látka.

t.t. 89 °C

MS: $(\text{M}+\text{H})^+$ 377.

D. (R^*, R^*) -2-/N-/(1,1-Dimethylethoxy)karbonyl/-L-valyl/-1,2,
3,4-tetrahydro-N-/3-(methylthio)-1-/1-(2-kyanoethyl)-
1H-tetrazol-5-yl/propyl/-3-isochinolinkarboxamid

Bezvodý HCl (4M v dioxanu, 1 ml, 4 mmol) a triethylsilan (0,3 ml) se přidají k pevné sloučenině B (64 mg, 0,2 mmol) při teplotě místnosti pod argonem. Po míchání přes noc (16 hodin) se vytvoří bílá sraženina. Dioxanový supernatant se odstraní pipetou a pevná látka se trituruje s etherem a sušením ve vakuu se získá pevná látka (120 mg). (MS: $(\text{M}+\text{H})^+$ 227⁺).

Tento materiál (120 mg) se rozpustí v dichlormethanu

(1,5 ml) při teplotě místnosti pod argonem a postupně se zpracuje se sloučeninou C (90 mg, 0,25 mmol), N-methylmorfolinem (0,08 ml, 0,75 mmol) a benzotriazol-1-yloxy-tris(dimethylamino)fosfonium-hexafluorofosfátem (105 mg, 0,25 mmol). Po míchání přes noc (16 hodin) se směs zředí ethylacetátem (5 ml) a promyje se 1N HCl, nasyceným NaHCO_3 a solankou (vždy 5 ml). Organická vrstva se suší (MgSO_4), filtruje a zahuštěním se získá olej. Čištěním rychlou sloupcovou chromatografií na silikagelu za eluce 40 % ethylacetátu v hexanech se získá sloučenina D (101 mg, 85 %).

MS:(CI) $(\text{M}+\text{H})^+ = 585^+$.

TLC (R_f 0,67 (80 %, ethylacetát v hexanech, vizualizováno UV a molybdenanem ceričitoamonným).

E. (R^*, R^*) -2-/N-/3-/(Trifenylmethyl)thio/-1-oxopropyl/-L-valyl/-1,2,3,4-tetrahydro-N-/3-(methylthio)-1-/1-(2-kyanoethyl)-1H-tetrazol-5-yl/propyl/-3-isochinolin-karboxamid

Sloučenina E se připraví ze sloučeniny D za použití dvoustupňového postupu popsaného výše pro přípravu sloučeniny D ze sloučeniny B s tím rozdílem, že ve druhém stupni se místo sloučeniny C použije S-trityl-3-merkaptopropionová kyselina.

TLC R_f 0,48 (80% ethylacetát v hexanech vizualizováno molybdenanem ceričitoamonným).

MS (FAB) $(\text{M}+\text{H})^+ = 815$.

F. (R^*, R^*) -2-/N-/3-/(Trifenylmethyl)thio/-1-oxopropyl/-L-valyl/-1,2,3,4-tetrahydro-N-/3-(methylthio)-1-(1H-tetrazol-5-yl)propyl/-3-isochinolinkarboxamid

K roztoku sloučeniny E (180 mg, 0,22 mmol) v tetrahydrofuranu (1,5 ml) při teplotě místnosti pod argonem se při-

dá roztok LiOH (0,44 ml, 0,44 mmol). Pro získání homogenní směsi se přidá methanol (0,4 ml) a roztokem se 2 minuty probublává argon. Po 1 hodině se směs zředí 1N HCl (5 ml) a extrahuje se ethylacetátem (2 x 10 ml). Organické extrakty se spojí, suší (MgSO_4) a zahuštěním ve vakuu se získá sloučenina F (160 mg, 95%) jako pěnovitá pevná látka.

TLC: R_f 0,05 (70% ethylacetát v hexanech, vizualizováno molybdenanem ceričitoamonným).

MS (FAB) $(M+H)^+ = 762$.

G. (R^*, R^*) -2-/N-(3-Merkapto-1-oxopropyl)-L-valyl/-1,2,3,4-tetrahydro-N-/3-(methylthio)-1-(1H-tetrazol-5-yl)propyl/-3-isochinolinkarboxamid

(Všechna rozpouštědla použitá v přípravě sloučeniny G ze sloučeniny F, s výjimkou trifluoroctové kyseliny, byla zbavena kyslíku probubláním argonem před použitím).

K roztoku sloučeniny F (150 mg, 0,2 mmol) v dichlormethanu (2 ml) při teplotě místnosti pod argonem se přidá kyselina trifluoroctová (0,1 ml). Po 5 min se přikape voda (5 ml) a potom nasycený NaHCO_3 (do $\text{pH}=8$) a potom se znovu okyselí 1N HCl (1 ml). Výsledná směs se extrahuje chloroformem (2 x 10 ml). Organické extrakty se spojí, suší (MgSO_4), filtrují a zahustí. Zbytek se čistí preparativní HPLC (YMC, S10, C18, 30 x 500 mm sloupec) za eluce 50-90% vodným methanolem. Vhodné frakce se spojí. Methanol se odstraní na rotační odparce a vodný roztok se lyofilizuje. Získá se titulní sloučenina.

t.t. 102 °C.

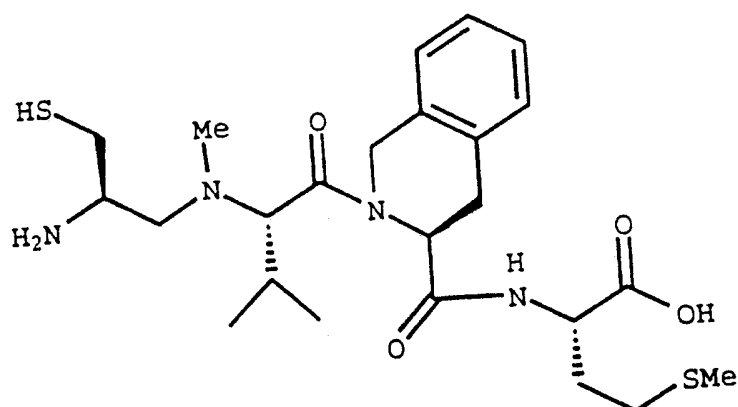
TLC: R_f 0,49 (CHCl_3 :methanol:octová kyselina, 9:1:0,1, vizualizace molybdenanem ceričito amonným)

MS (FAB) $(M+H)^+ = 520$

Elementární analýza pro $C_{23}H_{33}N_7O_3S_2 \cdot 0,6 H_2O$
 vypočteno 52,07 % C, 6,50 % H, 18,48 % N
 nalezeno 52,07 % C, 6,38 % H, 18,24 % N.

Příklad 28

(R*, S*)-N-//2-/N-(2-Amino-3-merkaptopropyl)-N-methyl-L-
 valyl/-1,2,3,4-tetrahydro-3-isochinolinyl/karbonyl/-L-
 methionin



A. (R*)-N-//2-/N-/(1,1-Dimethylethoxy)karbonyl/-N-methyl-
 L-valyl/-1,2,3,4-tetrahydro-3-isochinolinyl/karbonyl/-
 L-methionin, methylester

Sloučenina A (čirý olej, 3,0 g, 99 %) se připraví ze
 sloučeniny 1A (2,0 g, 4,73 mmol) použitím dvoustupňového
 postupu popsaného pro přípravu sloučeniny 8A s tím rozdílem,
 že se ve druhém stupni použije místo N-Fmoc-N-methyl-L-val-
 linu N-terc.butyloxykarbonyl-N-methyl-L-valin (1,80 g, 7,78
 mmol). MS: (M+H)⁺ 536.

B. (R^*, S^*) -N-//2-/N-/2-/(1,1-Dimethylethoxy)karbonyl/-
amino/-3-/(trifenylmethyl)thio/propyl/-N-methyl-L-
valyl/-1,2,3,4-tetrahydro-3-isochinolinyll/karbonyl/-
L-methionin, methylester

Sloučenina B (čirý olej, 200 mg, 5%) se připraví ze sloučeniny A (2,5 g, 4,73 mmol) použitím dvoustupňového postupu analogického postupu popsanému pro přípravu sloučeniny 7B, s následujícími modifikacemi: ve sdruženém stupni se použije sloučenina 1F (2,2 g, 4,92 mmol) místo sloučeniny 6B a použije se pouze jeden ekvivalent kyanoborohydridu sodného (298 mg, 4,73 mmol).

MS: $(M+H)^+$ 867.

C. (R^*, S^*) -N-//2-/N-(2-Amino-3-merkaptopropyl)-N-methyl-L-valyl/-1,2,3,4-tetrahydro-3-isochinolinyll/karbonyl/-L-methionin

Sloučenina C (26 mg, 22%) se připraví ze sloučeniny B (200 mg, 0,231 mmol) použitím postupu popsaného pro přípravu sloučeniny 1N ze sloučeniny 1G.

t.t. 59 až 60 °C

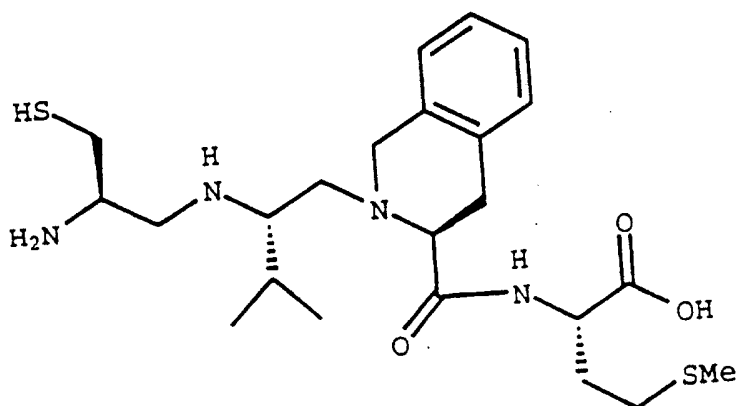
$\alpha_D^{25} = -12,0^\circ$ (c=0,1, CH₃OH)

MS: $(M+H)^+$ 511⁺.

¹H-NMR (CD₃OD, 270 MHz) δ (ppm) 7,18 (4H, m), 4,43 (1H, m), 4,28 (1H, m), 3,55 (1H, m), 3,15 (4H, š. m), 2,69 (2H, m), 2,48 (2H, m), 2,40 (1H, m), 2,27 (3H, m), 2,20 (2H, m), 1,95 (3H, d), 1,85 (3H, m), 0,91 (6H, m).

Příklad 29

(R^*, R^*, S^*) -N-//2-/2-/2-/(2-Amino-3-merkaptopropyl)amino/-3-methylbutyl/-1,2,3,4-tetrahydro-3-isochinolinyll/karbonyl/-L-methionin



A. (R^{3k}, R^{3k}, S^{3k})-N-//2-/2-//2-//(1,1-Dimethylethoxy)karbonyl/-
amino/-3-/(trifenyImethyl)thio/propyl/amino/-3-methylbu-
tyl/-1,2,3,4-tetrahydro-3-isochinolinyI/karbonyl/-L-
methionin, methylester

Sloučenina A (1,2 g, 32 %) se připraví ze sloučeniny 5C (2,30 g, 4,54 mmol) použitím dvoustupňového postupu analo-
gického postupu popsaného pro přípravu sloučeniny 7B s ná-
sledujícími modifikacemi: ve druhém stupni se použije slou-
čenina 1F (2,2 g, 4,92 mmol) místo sloučeniny 6B, a použije
se pouze jeden ekvivalent kyanoborohydridu sodného (285 mg,
4,54 mmol).

MS: $(M+H)^+$ 839.

B. (R², R³, S²)-N-//2-/2-/(2-Amino-3-merkaptopropyl)amino/-
3-methylbutyl/-1,2,3,4-tetrahydro-3-isochinolinyll/karbo-
nyll/-L-methionin

Sloučenina B (50% výtěžek) se připraví ze sloučeniny A (1,2 g, 1,43 mmol) použitím dvoustupňového postupu popsaného pro přípravu sloučeniny 1H ze sloučeniny 1G.

t.t. 72 až 73 °C

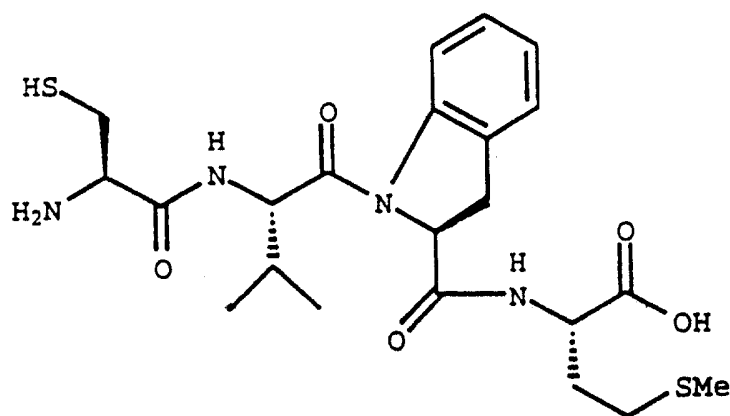
$$[\alpha]_D^{25} = -30,0^\circ \quad (c = 0,18, \text{CH}_3\text{OH})$$

MS: (M+H)⁺ 483

$^1\text{H-NMR}$ (CD_3OD , 270 MHz) δ (ppm) 7,28 (4H, m), 4,68 (1H, m), 4,19 (1H, m), 3,66 (1H, m), 3,42 (2H, m), 3,24 (2H, m), 3,03 (2H, m), 2,94 (2H, d, $J=4,28$ Hz), 2,60 (2H, m), 2,20 (2H, m), 2,10 (3H, s), 2,07 (3H, m), 1,01 (3H, d, $J=7,03$ Hz), 0,93 (3H, d, $J=7,04$ Hz).

Příklad 30

(R^*)-N-//1-/N-(L-CysteinyI)-L-valyl/-2,3-dihydro-1H-indol-2-yl/karbonyl/-L-methionin



A. (R^*)-1-/N-/(1,1-Dimethylethoxy)karbonyl/-L-valyl/-2,3-dihydro-1H-indol-2-karboxylová kyselina, ethylester

Bis(2-oxo-3-oxazolidinyl)fosforový chlorid (2,54 g, 10 mmol), (S)-2,3-dihydro-1H-indol-2-karboxylová kyselina -ethylester (1,15 g, 5 mmol) /viz Stanton a spol., J.Med.Chem., 26, 1267 (1983)/ a N-methylmorfolin (2,2 ml, 20,0 mmol) se přidají k roztoku N-terc.butyloxykarbonyl-L-valinu (2,17 g, 10 mmol) v dichlormethanu (30 ml), obsahujícím dimethylformamid (1 ml) při 0 °C pod argonem. Reakční směs se nechá ohřát na 5 °C během 2 hodin a míchá se přes noc (20 hodin). Reakční směs se promyje 1N HCl (30 ml), a 10% LiCl (30 ml), suší se (MgSO_4), filtruje a zahustí. Získaný olej se

čistí sloupcovou chromatografií na silikagelu za použití eluce 10% acetonem v hexanech, rozpustí se v etheru (30 ml) a promyje se 1N HCl (3 x 20 ml). Organická vrstva se zahustí ve vakuu a získá se sloučenina A (880 mg, 47 %) jako olej. MS (CI), $(M+H)^+ = 391^+$.

TLC: R_f 0,6 (20%, ethylacetát v $CHCl_3$, vizualizace UV a molybdenanem ceričitoamonným).

B. (R^*) -2-/N-/(1,1-Dimethylethoxy)karbonyl/-L-valyl/-
2,3-dihydro-1H-indol-2-ylkarboxylová kyselina

Sloučenina B (650 mg, 83 %) se připraví ze sloučeniny A (840 mg, 2,15 mmol) použitím postupu popsaného pro přípravu sloučeniny 18D ze sloučeniny 18C. MS: (CI) $(M+H)^+ = 363^+$.

C. (R^*) -N-//1-/N-/(1,1-Dimethylethoxy)karbonyl/-L-valyl/-
2,3-dihydro-1H-indol-2-yl/karbonyl/-L-methionin, 1,1-dimethylethylester

Sloučenina C (340 mg, 74 %) se připraví ze sloučeniny B (300 mg, 0,83 mmol) použitím postupu analogického postupu popsanému pro přípravu sloučeniny 23A s následujícími modifikacemi: L-methionin-terc.butylester-hydrochlorid (242 mg, 1,0 mmol) se použije místo hydrochloridu terc.butylesteru L-glutaminu a produkt se čistí sloupcovou chromatografií za eluce 30% ethylacetátem v hexanech. t.t. 79 až 81 °C

MS(CI) $(M+H)^+ = 550^+$.

TLC R_f 0,2 (30% ethylacetát v hexanech, vizualizace UV, molybdenanem ceričitoamonným).

D. (R^*) -N-//1-(L-Valyl)-2,3-dihydro-1H-indol-2-yl/karbonyl/-
L-methionin, 1,1-dimethylethylester

K roztoku sloučeniny C (130 mg, 0,24 mmol) v kyselině mravenčí (98%, 0,5 ml) při teplotě místnosti pod argonem se přidá triethylsilan (0,08 ml) a postup reakce se sleduje pomocí TLC analýzy reakční směsi. Po 9 hodinách se ke směsi přidá nasycený hydrogenuhličitan sodný (5 ml) a extrahuje se CHCl_3 (2 x 5 ml). Organické extrakty se spojí, siší se (MgSO_4), filtruje a zahuštěním se získá sloučenina D (100 mg, 92 %).

MS (CI) $(\text{M}+\text{H})^+ = 450^+$.

E. $(\text{R}^*)\text{-N-//1-/N-/N-/(1,1-Dimethylethoxy)karbonyl/-S-(tri-fenylmethyl)-L-cysteinyl/-L-valyl/-2,3-dihydro-1H-indol-2-yl/karbonyl/-L-methionin, 1,1-dimethylethylester}$

K roztoku sloučeniny D (100 mg, 0,22 mmol) v dichlormethanu (1 ml) při 0 °C pod argonem se postupně přidá N-terc. butyloxykarbonyl-S-trityl-L-cystein (122 mg, 0,26 mmol), N-methylmorfolin (0,33 ml, 0,3 mmol) a benzotriazol-1-yloxy-tris-(dimethylamino)fosfonium-hexafluorofosfát (115 mg, 0,26 mmol). Reakční směs se nechá ohřát na teplotu místnosti během 2 hodin a potom se míchá přes noc (16 hodin). Reakční směs se pak zředí chloroformem (5 ml) a promyje se postupně 1N HCl, nasyceným NaHCO_3 a solankou (vždy 5 ml). Čištěním rychlou sloupcovou chromatografií na silikagelu za eluce 30% ethylacetátem v hexanech se získá sloučenina E (160 mg, 81 %). TLC R_f 0,11 (70% ethylacetát v hexanech, vizualizace UV, molybdenan ceričitoamonný).

MS (FAB) $(\text{M}+\text{H})^+ = 895^+$.

F. $(\text{R}^*)\text{-N-//1-/N-(L-Cysteinyl)-L-valyl/-2,3-dihydro-1H-indol-2-yl/karbonyl/-L-methionin}$

K roztoku sloučeniny E (140 mg, 0,16 mmol) v dichlormethanu (1,5 ml) při teplotě místnosti pod argonem se přidá

triethylsilan (0,2 ml, 1,25 mmol) a kyselina trifluoroctová (0,5 ml). Po 2 hodinách se těkavé látky odstraní odpařením na rotační odparce a zbytek se čistí preparativní HPLC (C-18, S10, 30 x 500 mm kolona) za eluce lineárním gradientem 10 až 90% vodného methanolu, obsahujícího 0,1 % kyseliny trifluoroctové. Vhodné frakce se spojí, methanol se odstraní na rotační odparce a vodný roztok se lyofilizuje, získá se titulní sloučenina (56 mg, 70 %).

t.t. 72 až 74 °C

MS: $(M+H)^+ = 497^+$

$[\alpha]_D = -49,8^\circ$ (c = 0,49, CH₃OH)

HPLC: (C-18, S3, 6 x 150 mm kolona), 1,5 ml/min, 220 nm: 10-90% vodný methanol, obsahující 0,2 % H₃PO₄, RT= 18,06 min.

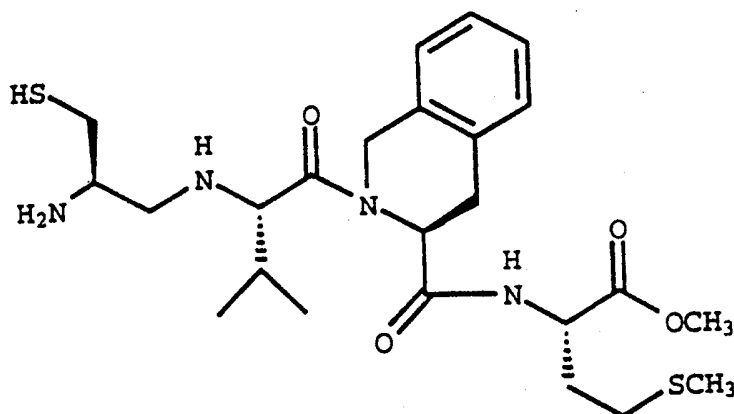
Elementární analýza pro C₂₃H₃₃N₇O₃S₂·0,6H₂O

vypočteno 52,07 % C, 6,50 % H, 18,48 % N

nalezeno 52,07 % C, 6,38 % H, 18,24 % N.

Příklad 31

(S*,R*)-N-//2-/N-(2-Amino-3-merkaptopropyl)-L-valyl/-1,2,3,4-tetrahydro-3-isochinolinyl/karbonyl/-L-methionin, methyl-ester, trifluoracetátová sůl (1:2)

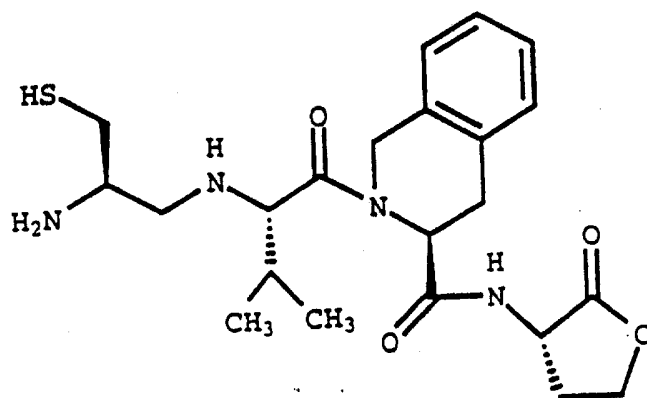


A. (S*,R*)-N-//2-/N-(2-Amino-3-merkaptopropyl)-L-valyl/-1,2,3,4-tetrahydro-3-isochinolinyll/karbonyl/-L-methionin, methylester, trifluoracetátová sůl (1:2)

K roztoku 180 mg (0,211 mmol) sloučeniny 1G ve 3 ml dichlormethanu se přidá 0,20 ml (1,27 mmol) triethylsilanu. Výsledný roztok se ochladí na 0 °C a probublá argonem. Přidá se 1 ml kyseliny trifluoroctové. Směs se ohřeje na teplotu místnosti a míchá se 2 hodiny. Rozpouštědlo se odstraní ve vakuu a zbytek se trituruje s hexanem. Zbytek se čistí pomocí HPLC (YMC S-10 ODS 30 x 500 mm, 220 nm, 28 ml/min, 40-90 % vodný methanol s 0,1% kyseliny trifluoroctové). Vhodné frakce se zahustí ve vakuu a lyofilizací se získá titulní sloučenina (70 mg) jako bílý lyofilizát. t.t. 56 až 68 °C
MS: (M+H)⁺ 511

Příklad 32

/3S-/2-/R*(S*)/, 3R*(R*)//2-/N-(2-Amino-3-merkaptopropyl)-L-valyl/-1,2,3,4-tetrahydro-N-(tetrahydro-2-oxo-3-furanyl)-3-isochinolinkarboxamid, trifluoracetátová (1:2) sůl



A. (S*)-N-/2-//(1,1-Dimethylethoxy)karbonyl/amino/-3-/(trifenylmethyl)thio/propyl/-L-valin, methylester

Kyselina octová (2,6 ml, 44 mmol) se přidá k roztoku sloučeniny 1F (20 g, 44,7 mmol) a hydrochloridu methylesteru L-valinu (9,0 g, 53,7 mmol) v methanolu (50 ml). Směs se míchá při teplotě místnosti 30 minut. Přikape se kyanoborohydrid sodný (2,8 g, 44,7 mmol) v tetrahydrofuranu (50 ml) a směs se míchá při teplotě místnosti 2 hodiny. Reakce se přeruší hydrogenuhlíčanem sodným (3,75 g, 44,7 mmol) ve vodě (20 ml) a zahustí se za vakua. Zbytek se rozpustí v 10% hydrogenuhlíčitanu sodném (10 ml) a extrahuje se dichlormethanem (3 x 100 ml). Spojené organické extrakty se suší (síran hořečnatý), filtrují a zahustí se za vakua. Zbytek se čistí rychlou chromatografií (eluce 9:1 hexan/aceton) a získá se sloučenina A (17,7 g, 70 %).

TLC: R_f 0,25 (8:1 hexan:aceton, vizualizace UV).

MS: (M+H)⁺ 563

IR: (CH₂Cl₂ film) 1491, 1715 cm⁻¹.

B. (S*)-N-/2-//(1,1-Dimethylethoxy)karbonyl/amino/-3-/(trifenylmethyl)thio/propyl/-N-/(fenylmethoxy)karbonyl/-L-valin, methylester

Benzylchlorformiát (asi 90%, 3,2 ml, 20,3 mmol) se přidá k roztoku sloučeniny 2 (3,8 g, 6,76 mmol) a diisopropylethylaminu (3,8 ml, 21,6 mmol) v dichlormethanu (20 ml) při 0 °C. Směs se ohřeje na teplotu místnosti a míchá se 16 hodin. Reakční směs se zředí dichlormethanem (100 ml) a postupně se promyje 1N kyselinou chlorovodíkovou (2 x 100 ml) a 10% hydrogenuhlíčanem sodným (2 x 100 ml). Organická vrstva se suší (síran hořečnatý), filtruje a zahustí ve vakuu. Zbytek se čistí rychlou chromatografií (eluce 8:1 hexan:aceton) a získá se sloučenina B (4,3 g, 92 %) jako bílá pevná látka.

t.t. 48 až 52 °C

TLC: R_f 0,35 (4:1 hexan:aceton, vizualizace UV).

C. (S*)-N-/2-/(1,1-Dimethylethoxy)karbonyl/amino/-3-/(Trifenylnmethyl)thio/propyl/-N-/(fenylmethoxy)karbonyl/-L-valin

Hydroxid lithný (2N, 1,5 ml, 3,0 mmol) se přikape k roztoku sloučeniny B (0,696 g, 1,0 mmol) v tetrahydrofuranu (5 ml) a methanolu (3,5 ml). Homogenní reakční směs se ohřeje na teplotu místnosti a míchá se 16 hodin. Směs se zahustí za vakua, zředí 1N kyselinou chlorovodíkovou (30 ml) a extrahuje dichlormethanem (3 x 50 ml). Spojené organické extrakty se suší (síran hořečnatý), filtrují a zahustí za vakua. Získá se sloučenina C (0,68 g, 100 %).

t.t. 66 až 72 °C

TLC: R_f 0,61 (9:1:0,05 chloroform:methanol:kyselina octová, vizualizace UV)

MS (M-H)⁻ 681

D. /3S-/2/R*(S*)/,3R*//-2-/N-/2-/(1,1-Dimethylethoxy)karbonyl/amino/-3-/(trifenylnmethyl)thio/propyl/-N-/(fenylmethoxy)karbonyl/-L-valyl/-1,2,3,4-tetrahydro-3-isochinolin-karboxylová kyselina, methylester

Diisopropylamin (19,7 ml, 113 mmol) se přidá k roztoku sloučeniny C (24,15 g, 35,4 mmol), hydrochloridu methylesteru kyseliny (S)-1,2,3,4-tetrahydroisochinolin-3-karboxylové (9,66 g, 42,5 mmol) a benzotriazol-1-yloxytris(dimethylamino)fosfonium-hexafluorofosfátu -hydrochloridu (10,8 g, 42,5 mmol) v dichlormethanu (200 ml). Směs se míchá při 0 °C po 16 hodin. Reakce se přeruší 1N kyselinou chlorovodíkovou (300 ml) a extrahuje se dichlormethanem (3 x 100 ml). Spojené organické extrakty se promyjí 10% hydrogenuhlíčitánem sodným (100 ml), suší, filtrují a zahustí za va-

kua. Zbytek se čistí rychlou chromatografií (eluce 4:1 hexan: aceton) a získá se sloučenina D (21,8 g, 72 %) jako bílá pevná látka.

t.t. 66 až 70 °C

TLC: R_f 0,28 (4:1 hexan:aceton, vizualizace UV)

MS (M+H)⁺ 856

E. /3S-/2/R^{*}(S^{*})/,3R^{*}//-2-/N-/2-/(1,1-Dimethylethoxy)karbonyl/amino/-3-/(trifenylmethyl)thio/propyl/-N-/(fenylmethoxy)karbonyl/-L-valyl/-1,2,3,4-tetrahydro-3-isochinolinkarboxylová kyselina

Sloučenina E se připraví za použití sloučeniny D (12,5 g, 14,6 mmol) postupem popsaným v příkladu 32C. Sloučenina E (12,3 g, 100 %) se připraví jako bílá pevná látka.
t.t. 88 až 94 °C

TLC: R_f 0,52 (9:1:0,05 chloroform:methanol:kyselina octová, vizualizace UV)

MS: (M-H)⁻ 840

F. /3S-/2/R^{*}(S^{*})/,3R^{*}(R^{*})//-2-/N-/2-/(1,1-Dimethylethoxy)-karbonyl/amino/-3-/(trifenylmethyl)thio/propyl/-N-/(fenylmethoxy)karbonyl/-L-valyl/-1,2,3,4-tetrahydro-N-(tetrahydro-2-oxo-3-furanyl)-3-isochinolinkarboxamid

Diisopropylethylamin (0,651 ml, 3,74 mmol) se přidá k roztoku sloučeniny E (1,5 g, 1,78 mmol), hydrochloridu laktonu L-homoserinu (0,245 g, 1,78 mmol) a benzotriazol-1-yl-oxytris(dimethylamino)fosfonium-hexafluorofosfátu (0,789 g, 1,78 mmol) v acetonitrilu (3 ml) a dimethylformamidu (1 ml). Směs se pak míchá při teplotě místnosti 16 hodin. Reakce se přeruší 1N kyselinou chlorovodíkovou (50 ml) a extrahuje se ethylacetátem (3 x 75 ml). Spojené organické extrakty se promyjí 10% chloridem lithným (2 x 50 ml), suší, filtrují

a zahustí za vakua. Zbytek se čistí rychlou chromatografií (eluze 2:1 hexan:aceton) a získá se sloučenina F (1,45 g, 88 %) jako guma.

TLC: R_f 0,61 (1:1 hexan:aceton, vizualizace UV).

G. /3S-/2/R^{*}(S^{*})/,3R^{*}(R^{*})/-2-/N-(2-Amino-3-merkaptopropyl)-L-valyl/-1,2,3,4-tetrahydro-N-(tetrahydro-2-oxo-3-furanyl)-3-isochinolinkarboxamid, trifluoracetátová (1:2) sůl

Kyselina trifluorooctová (4,3 ml, 55,8 mmol) se přidá k roztoku sloučeniny F (0,8 g, 0,866 mmol) v dichlormethanu (9 ml) a triethylsilanu (1,4 ml, 8,66 mmol). Výsledný roztok se míchá při teplotě místnosti 1 hodinu. Reakční směs se zahustí ve vakuu a zbytek se trituruje s hexanem (3 x 10 ml). Hexanová vrstva se odlaží. Ve zvláštní baňce se zpracuje kyselina trifluorooctová s thioanisolem (1 ml, 8,5 mmol) a 1,2-ethandithiolem (0,726 ml, 8,66 mmol) při 0 °C. Tento roztok se přidá k triturovanému zbytku a dále se po kapkách přidá bromtrimethylsilan (1,1 ml, 4,3 mmol). Roztok se míchá při 0 °C 1 hodinu. Reakční směs se zpracuje s diethyletherem (40 ml) a výsledná sraženina se odstředí. Supernatant se odstraní a odloží a pevná látka se promyje a odstředí s diethyletherem (3 x 40 ml), ethylacetátem (2 x 40 ml) a diethyletherem (1 x 40 ml). Pevná látka se čistí preparativní HPLC (YMC S-10 ODS 30 x 500 mm, 220 nm, 35 ml/min, 10-90% vodný methanol s 0,1 % kyseliny trifluorooctové - gradient). Vhodné frakce se zahustí za vakua při teplotě místnosti a zbytek se lyofilizuje, získá se titulní sloučenina (0,13 g, 26 %).

t.t. 95 - 107 °C

TLC: R_f = 0,68 (6:3:1 n-propanol/hydroxid amonný:voda, vizualizace síranem ceričitoamonným/molybdenanem amonným, kyselinou sírovou/vodou)

MS: (M+H)⁺ 449 volná báze

IR: (KBr) 1678, 1773, 2974 cm^{-1}

Elementární analýza pro $\text{C}_{26}\text{H}_{34}\text{N}_4\text{F}_6\text{S}_1\text{O}_6 \cdot 2,56 \text{H}_2\text{O}$

vypočtemo 45,21 % C, 5,71 % H, 8,11 % N, 4,64 % S

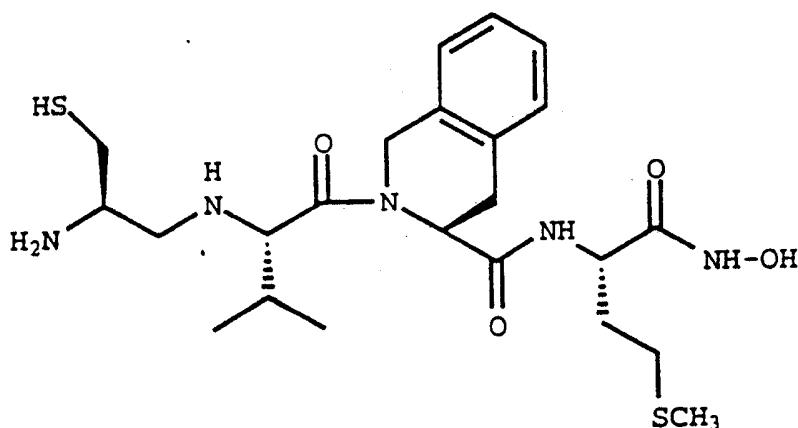
nalezemo 45,26 % C, 5,25 % H, 8,06 % N, 4,83 % S

^1H (CD_3OD): 1,06-1,13 (m, 6H), 2,11-2,46 (m, 5H), 2,85 ÷ 2,89 (m, 3H), 3,12-3,20 (m, 2H), 3,50-3,80 (m, 1H), 4,25-4,91 (m, 6H), 7,28 (s, 4H)

$n_D^{20} = -6,7^\circ$, $c = 0,76$ (methanol)

Příklad 33

(S^* , R^*)- N^2 -//2-/N-(2-Amino-3-merkaptopropyl)-L-valyl/-
1,2,3,4-tetrahydro-3-isochinolinyl/karbonyl/-N-hydroxy-L-
methioninamid, trifluoracetátová (1:2) sůl



A. (S^* , R^*)-N-//2-/N-/2-//(1,1-Dimethylethoxy)karbonyl/amino/-
3-/(trifenylnmethyl)thio/propyl/-N-/(fenylmethoxy)karbo-
nyl/-L-valyl/-1,2,3,4-tetrahydro-3-isochinolinyl/karbonyl/-
L-methionin, methylester

Sloučenina A (707 mg, 60% výtěžek) se připraví za po-

užití sloučeniny 32E (1,00 g, 1,19 mmol) a hydrochloridu methylesteru methioninu (237 mg, 1,19 mmol) způsobem popsaným v příkladu 32F.

t.t. 77 až 79 °C

TLC: R_f = 0,72 (1:1 hexan:ethylacetát, vizualizováno kyselinou fosfomolybdenovou)

MS: $(M+H)^+$ 987

B. (S^R, R^*) -N²-//2-/N-//(1,1-Dimethylethoxy)karbonyl/amino/-3-/(trifenylmethyl)thio/propyl/-N-/(fenylmethoxy)karbonyl/-L-valyl/-1,2,3,4-tetrahydro-3-isochinolinyll/karbonyl/-N-(tetrahydropyran-2-yloxy)-L-methioninamid

K roztoku sloučeniny A (600 mg, 0,608 mmol) v tetrahydrofuranu (3 ml) při 0 °C se přidá 1N hydroxid lithný (0,912 ml, 0,912 mmol). Po 2 hodinách míchání se přidá 1N kyselina chlorovodíková (0,912 ml, 0,912 mmol) a reakční směs se zahustí na 1 ml. Směs se zředí dichlormethanem (100 ml) a 1N kyselinou chlorovodíkovou (10 ml). Vrstvy se oddělí a vodná vrstva se extrahuje dichlormethanem (1 x 100 ml) a ethylacetátem (100 ml), suší, filtruje a zahustí. Získá se surová kyselina (500 mg, 85% výtěžek). HPLC ukazuje směs, obsahující 7:3 poměr požadované kyseliny a odpovídající methionin-sulfoxid. Tato se použije bez dalšího čištění.

MS: $(M+Li)^+$ 979 a $(M-H)^-$ 971

$(M+Li)^+$ 997 a $(M-H)^-$ 987

K roztoku výše uvedeného materiálu (500 mg, 0,514 mmol) v dimethylformamidu (3 ml) při 0 °C pod dusíkem se přidá sloučenina 20A (60 mg, 0,514 mmol), diisopropylethylamin (89 ml, 0,514 mol) a benzotriazol-1-yloxytris-(dimethylamino)fosfonium-hexafluorofosfát (227 mg, 0,514 mmol). Po 20 hodinách míchání při 0 °C se přidá diisopropylethylamin (30 μ l, 0,171 mmol), sloučenina 20A (20 mg, 0,171 mmol) a benzotriazol-1-yloxytris-(dimethylamino)fosfonium)hexafluorofosfát

(45 mg, 0,102 mmol) se přidá k reakci. Po ohřátí na teplotu místnosti a míchání po 4 hodiny se směs zředí ethylacetátem (100 ml), promyje se postupně nasyceným hydrogenuhlíčitanem sodným (50 ml), 1% hydrogensíranem draselným (50 ml), a 10% chloridem lithným (3 x 50 ml), suší se, filtruje a koncentruje ve vakuu. Zbytek se čistí na silikagelu (20 ml, eluce hexanem/ethylacetátem 4:1 až 0:1) a získá se sloučenina B (300 mg, 54% výtěžek).

t.t. 150 až 151 °C

TLC: $R_f = 0,37$ (2:1 hexan/aceton, vizualizováno fosfomolybdenovou kyselinou)

MS: $(M+H)^+$ 1072

C. (S^*, R^*) -N²-//2-/N-(2-Amino-3-merkaptopropyl)-L-valyl/-1,2,3,4-tetrahydro-3-isochinolinyll/karbonyl/-N-hydroxy-L-methioninamid, trifluoracetátová (1:2) sůl

Sloučenina C (57 mg, 33 %) se připraví ze sloučeniny B (250 mg, 0,233 mmol) použitím metody popsané v příkladu 32G.

t.t. 94 až 97 °C

TLC: $R_f = 0,14$ (chloroform:methanol:octová kyselina 9:1:0,05, vizualizováno síranem ceričitoamonným)

MS: $(M^+)^+$ 512

IR: (KBr) 1676, 1206 cm^{-1}

$[\alpha]_D^{25} = -31,5^\circ$ (c= 0,260, methanol/

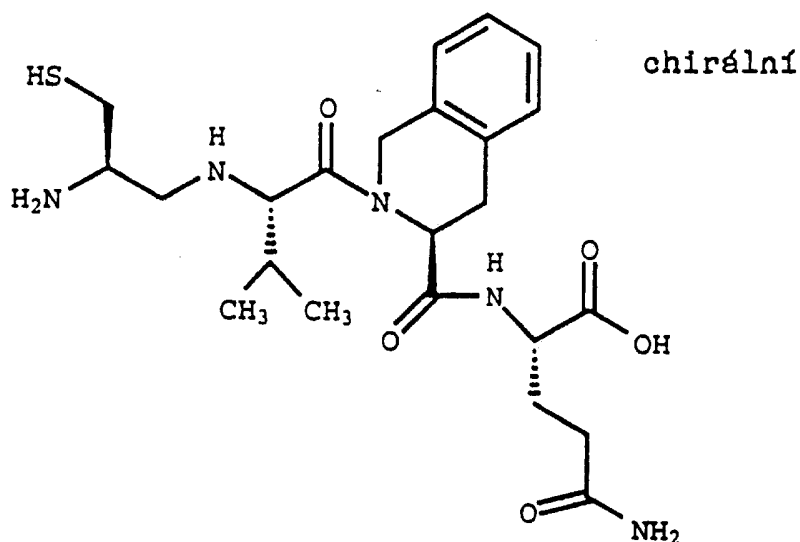
¹H NMR 400 MHz (CDCl₃): 0,92 - 1,23 (m, 6H), 1,72-2,50 (m, 10H), 2,73-3,21 (m, 4H), 3,55 (m, 1H), 4,22-4,72 (m, 5H), 7,26 (m, 4H)

¹³C 100 MHz (CDCl₃): 15,3, 17,9, 18,1, 19,6, 19,9, 25,6, 25,7, 30,6, 30,9, 31,1, 32,2, 32,4, 32,6, 33,3, 46,0, 47,6, 48,4, 48,6, 48,8, 49,0, 49,2, 49,4, 49,7, 51,5, 51,7, 53,2, 53,5, 57,3, 57,7, 59,1, 65,9, 66,0, 126,9, 127,7, 128,3, 128,6, 128,8, 129,0, 129,3, 129,7, 130,9, 133,6, 134,0, 135,3, 135,4, 170,4, 170,8, 172,4, 173,3, 173,3, 173,5, 173,8

Elementární analýza pro $C_{23}H_{37}N_5O_4S \cdot 1,71 H_2O \cdot 0,2 CF_3CO_2H$
 vypočteno 42,09 % C, 5,55 % H, 9,09 % N, 8,32 % S, 14,79 % F
 nalezeno 42,19 % C, 5,20 % H, 8,73 % N, 8,35 % S, 15,24 % F

Příklad 34

/R-(R^{*}, S^{*})/-N²-//2-/N-(2-Amino-3-merkaptopropyl)-L-valyl/-
 1,2,3,4-tetrahydro-3-isochinolinyl/karbonyl/-L-glutamin, tri-
 fluoracetátová (1:2) sůl



A. (S^{*}, R^{*})-N²-//2-/N-/2-//(1,1-Dimethylethoxy)karbonyl/amino/-
 3-/(trifenylnmethyl)thio/propyl/-N-/(fenylmethoxy)karbo-
 nyl/-L-valyl/-1,2,3,4-tetrahydro-3-isochinolinyl/karbonyl/-
 L-glutamin, 1,1-dimethylethylester

Sloučenina A (1,0 g, 90 % se připraví jako bílá pevná
 látka použitím sloučeniny 32E (1,0 g, 1,19 mmol) a terc.butyl-
 esteru L-glutaminu.HCl (0,284 g, 1,19 mmol) metodou popsá-
 nou v příkladu 32F.
 t.t. 80 až 86 °C

TLC: R_f : 0,82 (9:1 chloroform/methanol, vizualizace UV)
MS: $(M+H)^+$ 1026

B. /R-(R^{*},S^{*})/-N²-//24/N-(2-Amino-3-merkaptopropyl)-L-valyl/-
1,2,3,4-tetrahydro-3-isochinolinyl/karbonyl/-L-glutamín,
trifluoracetátová (1:2) sůl

Titulní sloučenina (0,425 g, 56 %) se připraví jako bílý
lyofilizát použitím sloučeniny A (1,0 g, 0,976 mmol) meto-
dou popsanou v příkladu 32G.

t.t. 65 až 75 °C

TLC: R_f = 0,69 (6/3/1 n-propanol/hydroxid amonný/voda, vi-
zualizace síranem ceričitoamonným)

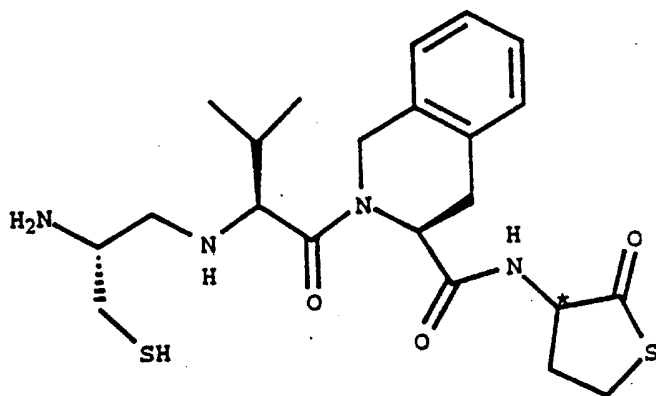
MS: $(M+H)^+$ 494, volný amin

IR: (KBr) 1202, 1670, 2567 cm^{-1}

^1H (CD_3OD): 1,07, 1,08, 1,09 (d, 6H; $J=7,6$), 1,93 (š m, 1H),
2,12-2,31 (m, 6H), 2,78-3,49 (m, 5H), 4,23, 4,25, 4,38 (š m,
2H), 4,64-4,91 (m, 3H), 7,22-7,33 (m, 4H)
 $[\alpha]_D = -21,4^\circ$ ($c=0,69$, methanol)

Příklad 35

/R-(R^{*},S^{*})/-2-/N-(2-Amino-3-merkaptopropyl)-L-valyl/-1,2,3,4-
tetrahydro-N-(tetrahydro-2-oxo-3-thienyl)-3-isochinolin-
karboxamid, trifluoracetátová (2,5) sůl



chirální *isomer "A"

*isomer "B"

A. /3S-/2-S*), 3R*/-2-/N-// (1,1-Dimethylethoxy)karbonyl/-
amino/-3-/(trifenylmethyl)thio/propyl/-N-/(fenylmethoxy)-
karbonyl/-L-valyl/-1,2,3,4-tetrahydro-N-(tetrahydro-2-oxo-
3-thienyl)-3-isochinolinkarboxamid

Sloučenina A (0,62 g, 63 %) se připraví použitím hydrochloridové soli thiolaktonu D,L-homocysteinu (0,16 g, 1,04 mmol) a sloučeniny 32E (0,88 g, 1,04 mmol) metodou popsanou v příkladu 32F.

TLC: R_f 0,37 (1:1 hexan/ethylacetát), vizualizováno UV,
PMA

MS: /M-H/-939-

B. /R-(R*,S*)/-2-/N-(2-Amino-3-merkaptopropyl)-L-valyl/-
1,2,3,4-tetrahydro-N-(tetrahydro-2-oxo-3-thienyl)-3-
isochinolinkarboxamid, trifluoracetátová(2,5) sůl

Titulní sloučenina (0,056 g, 57 %) se připraví jako směs isomerů za použití sloučeniny A (0,40 g, 0,42 mmol) metodou popsanou v příkladu 32G.

(Isomer "A")

Elementární analýza pro: $C_{22}H_{32}N_4O_3S_2 \cdot 1,71$ voda. 2,50

kyselina trifluoroctová

vypočteno 41,55 % C, 4,90 % H, 7,18 % N

nalezeno 41,55 % C, 4,60 % H, 7,18 % N

TLC: R_f 0,5

(9/1/0,1 trichlormethan/methanol/kyselina octová), vizualizováno UV, PMA

HPLC Rt 13,12 minut (96%), 10-90% vodný methanol s 0,1 %

pufry kyseliny fosforečné, 30 minut gradient, 1,5 ml/minut,

220 nm, C_{18} (6,0 x 150 mm) sloupec

IR: (KBr) 2928, 1684, 1643, 1206, 1140, cm^{-1}
 MS: $(\text{M}+\text{H})^+$ 465⁺

(Isomer "B")

Elementární analýza pro

$\text{C}_{22}\text{H}_{32}\text{N}_4\text{O}_3\text{S}_2 \cdot 1,40 \text{ H}_2\text{O}$. 2,20 kyselina trifluoroctová

vypočteno 42,81 % C, 5,03 % H, 7,56 % N

nalezeno 42,64 % C, 4,81 % H, 7,85 % N

TLC: R_f 0,4 (6/3/1 n-propanol/hydroxid amonný/voda, vizualizováno UV, PMA)

HPLC R_t 14,0 minut (99%), 10-90% vodný methanol s 0,2% pufru kyseliny fosforečné, 30 minut gradient, 1,5 ml/minutu,

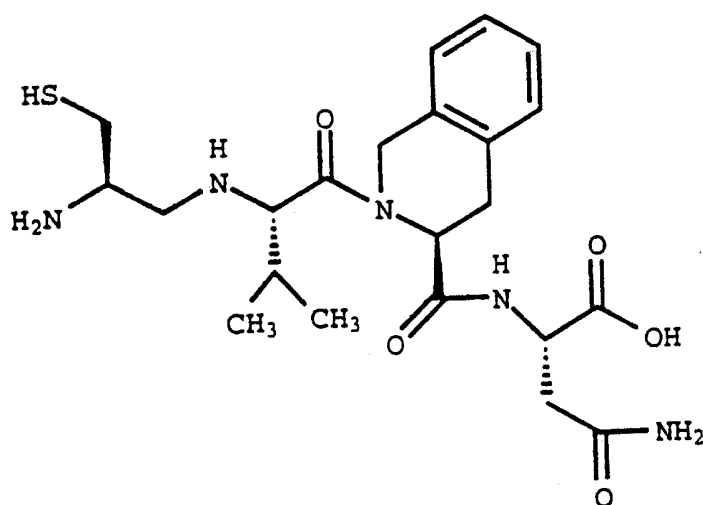
C_{18} (6,0 x 150 mm) sloupec.

IR (KBr) 2971, 1682, 1645, 1206, 1136, 723 cm^{-1}

MS $/\text{M}+\text{H}/^+$ 465⁺

Příklad 36

(S^*, R^*) -N²-//2-/N-(2-Amino-3-merkaptopropyl)-L-valyl/-1,2,3,4-tetrahydro-3-isochinolinyl/-L-asparagin, trifluoracetátová (1:2) sůl



chirální

A. (S^{*},R^{*})-N²-//2-/N-//(1,1-Dimethylethoxy)karbonyl/amino/-
3-/(trifenylmethyl)thio/propyl/-N-/(fenylmethoxy)kar-
bonyl/-L-valyl/-1,2,3,4-tetrahydro-3-isochinolinyl/kar-
bonyl/-L-asparagin, 1,1-dimethylethylester

Sloučenina A (1,4 g, 93%) se připraví jako bílá pevná látka za použití sloučeniny 32E (1,25 g, 1,5 mmol) a terc. butylesteru L-asparaginu (0,282 g, 1,5 mmol) metodou popsanou v příkladu 32F.

t.t. 88 až 96 °C

TLC: R_f = 0,34 (2/1 hexan/aceton, vizualizace UV)

MS: (M+H)⁺ 1012

B. (S^{*},R^{*})-N²-//2-/N-(2-Amino-3-merkaptopropyl)-L-valyl/-
1,2,3,4-tetrahydro-isochinolinyl/karbonyl/-L-asparagin,
trifluoracetátová (1:2) sůl

Titulní sloučenina (0,14 g, 18%) se připraví jako bílý lyofilizát použitím sloučeniny A (1,14 g, 1,13 mmol) metodou popsanou v příkladu 32G.

t.t. 95 až 110 °C

TLC: R_f = 0,50 (6/3/1 n-propanol/hydroxid amonný/voda, vizualizace síranem ceričitoamonným)

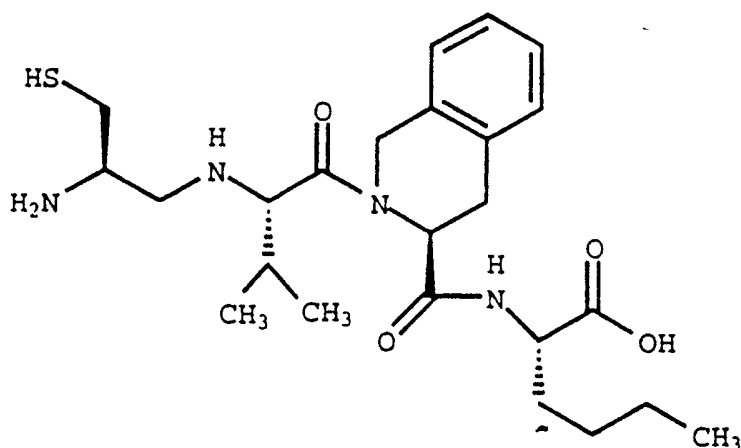
MS: (M+H)⁺ 480, volný amin

IR: (KBr) 1204, 1674, 3424 cm⁻¹

¹H (CD₃OD) 1,02, 1,04, 1,15 (d, 6H, J = 6,84, 7,27), 1,98
2,20 (š m, 1H), 2,51 až 2,89 (m, 5H), 3,08-3,51 (m, 5H),
4,65-4,89 (m, 4H), 7,22- 7,24 (m, 4H)
/α/_D = -16,1° (c = 0,54, methanol)

Příklad 37

(S^H, R^H)-N-//2-/(2-Amino-3-merkaptopropyl)-L-valyl/-1,2,3,4-tetrahydro-3-isochinolinyl/karbonyl/-L-norleucin, trifluoracetátová (1:2) sůl



A. (S^H, R^H)-N-//2-N-//(1,1-Dimethylethoxy)karbonyl/amino/-3-/(trifenylmethyl)thio/propyl/-N-/(fenylmethoxy)karbonyl/-L-valyl/-1,2,3,4-tetrahydro-3-isochinolinyl/karbonyl/-L-norleucin, methylester

Sloučenina A (1,265 g, 79 %) se připraví jako bílá pevná látka za použití sloučeniny 32E (1,39 g, 1,65 mmol), hydrochloridu methylesteru norleucinu (0,3 g, 1,65 mmol) a benzotriazol-1-yloxytris-(dimethylamino)fosfonium-hexafluorofosfátu (0,73 g, 1,65 mmol) v acetonitrilu (9 ml) a dimethylformamidu (3 ml) metodou popsanou v příkladu 32F. t.t. 58 až 68 °C

TLC: R_f 0,37 (4/1 hexan/aceton, vizualizace UV)

MS: (M+H)⁺ 969

B. (S*,R*)-N-//2-/N-/2-//(1,1-Dimethylethoxy)karbonyl/amino/-3-/(trifenylmethyl)thio/propyl/-N-/(fenylmethoxy)-karbonyl/-L-valyl/-1,2,3,4-tetrahydro-3-isochinoliny/-karbonyl/-L-norleucin

Sloučenina B (1,1 g, 98 %) se připraví jako hygroskopická pevná látka použitím sloučeniny A (1,14 g, 1,18 mmol) metodou popsanou v příkladu 32C.

t.t. 86 až 94 °C

TLC: R_f = 0,53 (9/1/0,05 chloroform/kyselina octová, vizualizace síranem ceričitoamonným (molybdenanem smonným/kyselinou sírovou/vodou)

MS: (M+H)⁺ 955

C. (S*,R*)-N-//2-/(2-Amino-3-merkaptopropyl)-L-valyl/-1,2,3,4-tetrahydro-3-isochinoliny/-karbonyl/-L-norleucin, trifluoracetátová (1:2)sůl

Titulní sloučenina (0,248 g, 33%) se připraví jako bílý lyofilát použitím sloučeniny B (1,0 g, 1,05 mmol) metodou popsanou v příkladu 32G.

t.t. 80 až 90 °C

TLC: R_f 0,69 (6/3/1 n-propanol/hydroxid amonný/voda, vizualizace síranem ceričitoamonným)

MS: (M+H)⁺ 479, volný amín

IR (KBr) 1674, 3435 cm⁻¹

Elementární analýza pro C₂₈H₄₀N₄F₆S · 1,29 H₂O

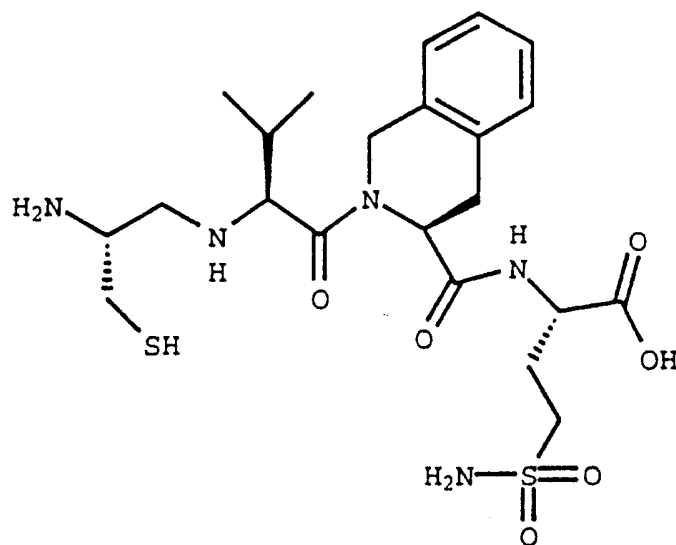
vypočteno 46,07 % C, 5,88 % H, 7,68 % N, 4,39 % S, 15,62 % F
nalezeno 46,39 % C, 5,82 % H, 7,36 % N, 4,45 % S, 15,53 % F

¹H (CD₃OD): 0,83-1,31 (m, 13H), 1,49-1,82 (m, 4H), 2,10, 2,21 (š m, 1H), 2,75-3,77 (m, 5H), 4,06-4,34 (m, 2H), 4,51-4,89 (m, 3H), 7,22-7,29 (m, 4H).

$[\alpha]_D^{20}$ = -27,7° (c = 0,43, methanol)

Příklad 38

(S^{*}, R^{*})-N-/(2-/(2-N-(2-Amino-3-merkaptopropyl)-L-valyl/-1,2,3,4-tetrahydro-3-isochinolinyll/karbonyl/- γ -(aminosulfonyl)-L- α -aminomáselná kyselina, trifluoracetátová (2:5) sůl



A. (S)-4-(Aminosulfonyl)-2-aminomáselná kyselina, methylester, hydrochlorid

Plynná kyselina chlorovodíková se probublává roztokem kyseliny (S)-4-(aminosulfonyl)-2-amino-máselné (0,50 g, 2,7 mmol) v methanolu (100 ml) při teplotě místnosti. Reakční směs se míchá 13 hodin a zahustí se. Zbytek se trituruje s etherem a získá se sloučenina A jako pevná látka (0,55 g, 100 %).

B. (S^{*}, R^{*})- γ -(Aminosulfonyl)-N-///2-N-/2-/(1,1-dimethylethoxy)karbonyl/amino/-3-/(trifenylmethyl)thio/propyl/-N-/(fenylmethoxy)karbonyl/-L-valyl/-1,2,3,4-tetrahydro-3-isochinolinyll/karbonyl/-L- α -aminomáselná kyselina, methylester

Sloučenina B (0,428 g, 68%) se připraví použitím sloučeniny A (0,123 g, 0,61 mmol) a sloučeniny 32E (0,51 g, 0,61 mmol) metodou popsanou v příkladu 32F.

Elementární analýza pro $C_{55}H_{65}N_5O_{10}S_2 \cdot 2,73 H_2O$

vypočteno 61,77 % C, 6,64 % H, 6,55 % N

nalezeno 61,72 % C, 6,11 % H, 6,52 % N

C. (S*,R*)- β -(Aminosulfonyl)-N-//2-/N-/2-//(1,1-dimethylethoxy)karbonyl/amino/-3-/(trifenylmethyl)thio/propyl/-N-/(fenylmethoxy)karbonyl/-L-valyl/-1,2,3,4-tetrahydro-3-isochinolinyl/karbonyl/-L- α -aminomáselná kyselina

Hydroxid sodný (1N, 0,47 ml, 0,018 g, 0,47 mmol) se přidá k roztoku sloučeniny B (0,40 g, 0,39 mmol) v methanolu (2 ml). Po míchání po 13 hodin při teplotě místnosti se reakce přeruší 10% kyselinou chlorovodíkovou (10 ml) a ethylacetátem (20 ml). Vrstvy se oddělí a vodná vrstva se extrahuje ethylacetátem (2 x 20 ml). Spojené organické vrstvy se promyjí 10% kyselinou chlorovodíkovou (1 x 10 ml) a solankou (1 x 20 ml). Organická vrstva se suší nad síranem hořečnatým, zfiltruje a zahustí - získá se kyselina. Produkt se čistí prep HPLC (YMC S-10, ODS, 30 x 500 mm, C18 kolona) za eluce 10-90% vodným methanolem, obsahujícím 0,1% kyseliny trifluoroctové, gradient během 30 minut. Frakce s produktem se zahustí a lyofilizací se získá kyselina sloučenina C (0,065 g).

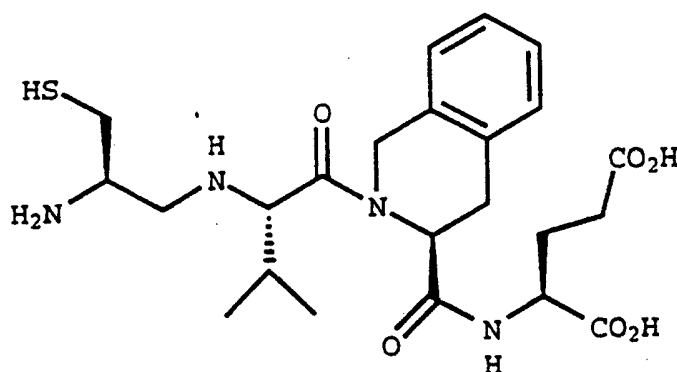
D. (S*,R*)-N-/(2-/N-(2-Amino-3-merkaptopropyl)-L-valyl/-1,2,3,4-tetrahydro-3-isochinolinyl/karbonyl/-L- α -(aminosulfonyl)-L- -aminomáselná kyselina, trifluoracetátová (2:5) sůl

Titulní sloučenina (0,0329 g, 63%) se připraví použitím sloučeniny C (0,100 g, 0,095 mmol) metodou popsanou v příkladu 32G.

Elementární analýza pro $C_{22}H_{35}N_5O_6S_2 \cdot 0,75 H_2O \cdot 2,5 TFA$
 vypočteno 39,16 % C, 4,75 % H, 8,46 % N
 nalezeno 39,15 % C, 5,00 % H, 8,36 % N
 $R_F = 0,6$ (6/3/1 n-propanol/hydroxid amonný/voda), vizualizováno UV, PMA
 HPLC Rt 11,05 minut (97%), 10-90 % vodný methanol s 0,2 % pufru kyseliny fosforečné, 30 minut gradient, 1,5 ml/min, 220 nm, C_{18} (6,0 x 150 mm) kolona
 IR (KBr) 3439, 1678, 1653, 1437, 1206, 1142, 723 cm^{-1}
 MS: $[M+H]^+$ 530⁺
 $[\alpha]_D = -16,3^{\circ}$ (c= 0,19, methanol)

Příklad 39

(S^x, R^x)-N-//2-/N-(2-Amino-3-merkaptopropyl)-L-valyl/-
 1,2,3,4-tetrahydro-3-isochinolinyl/karbonyl/-L-glutamová
 kyselina, trifluoracetátová sůl



A. L-Glutamová kyselina, 1,1-dimethylethylester

Vodný hydrogenuhlíčitan sodný (10%, 150 ml) se přidá k suspenzi dicyklohexylaminové soli 1,1-dimethylethylesteru

kyseliny N-/(fenylmethoxy)karbonyl/-L-glutamové (2,3 g, 4,43 mmol) v etheru (50 ml). Vodná vrstva se okyslí 3N kyselinou chlorovodíkovou (pH=2) a extrahuje se ethylacetátem (3 x 50 ml). Spojené organické extrakty se zahustí za vakua. Zbytek se rozpustí v methanolu (10 ml), zpracuje s 10% hydroxidem paladia/C (150 mg) a míchá se pod atmosférou vodíku při teplotě místnosti 16 hodin. Reakční směs se zfiltruje a filtrát se zahustí za vakua, získá se sloučenina A (0,700 g, 78%), která se použije bez dalšího čištění.
MS: (M+H)⁺ 204

¹H (CD₃OD): 1,52 (s, 9H), 2,00-2,43 (m, 2H), 2,41 (t, 2H, J= 6,41), 3,87-3,90 (m, 1H)

B. (S*,R*)-N-//2-/N-/2-//(1,1-Dimethylethoxy)karbonyl/amino/-3-/(trifenylmethyl)thio/propyl/-N-/(fenylmethoxy)karbonyl/-L-valyl/-1,2,3,4-tetrahydro-3-isochinolinyl/-karbonyl/-L-glutamová kyselina, 1,1-dimethylethylester

Hydrochlorid 1-(3-dimethylaminopropyl)-3-ethylkarbo-diimidu (0,228 g, 1,19 mmol) se přidá k roztoku sloučeniny 32E (1,0 g, 1,19 mmol) a N-hydroxysukcinimidu (0,137 g, 1,19 mmol) v dimethylformamidu (10 ml) a míchá se 1 hodinu při 0 °C. Přidá se hydrogenuhličitan sodný (0,084 g, 1,0 mmol) ke sloučenině A (0,201 g, 1,0 mmol) ve vodě (1 ml) a roztok se přidá k aktivovanému esteru. Směs se pak míchá při teplotě místnosti 16 hodin. Reakce se přeruší 1N kyselinou chlorovodíkovou (50 ml), a extrahuje se ethylacetátem (3 x 50 ml). Spojené organické extrakty se promyjí 10% chloridem lithným (3 x 100 ml), suší (síran hořečnatý), filtrují a zahustí za vakua. Zbytek se čistí rychlou chromatografií (eluce 1/1 hexan/acetan) a získá se sloučenina B (0,55 g, 54 %) jako bílá pevná látka.

t.t. 78 až 88 °C

TLC: R_f 0,68 (1/1 hexan/acetan, vizualizace UV)

MS: (M+H)⁺ 1027

C. (S^{*},R^{*})-N²-//2-/N-(2-Amino-3-merkaptopropyl)-L-valyl/-
1,2,3,4-tetrahydro-3-isochinolinyll/-karbonyl/-L-glu-
tamová kyselina, trifluoracetátová sůl

Titulní sloučenina (0,123 g, 35%) se připraví použitím
sloučeniny B' (0,5 g, 0,487 mmol) metodou popsanou v pří-
kladu 32G.

t.t. 115 až 125 °C

TLC: R_f = 0,40 (6/3/1 n-propanol/hydroxid amonný/voda, vi-
zualizace síranem ceričitoamonným)

MS: (M+H)⁺ 495, volný amin

IR (KBr) 1431, 1672, 2976, 3428 cm⁻¹

Elementární analýza pro C₂₃H₃₄N₄O₆S . 1,4 H₂O . 1,8 TFA

vypočteno 44,06 % C, 5,37 % H, 7,73 % N, 4,42 % S, 14,15 % F

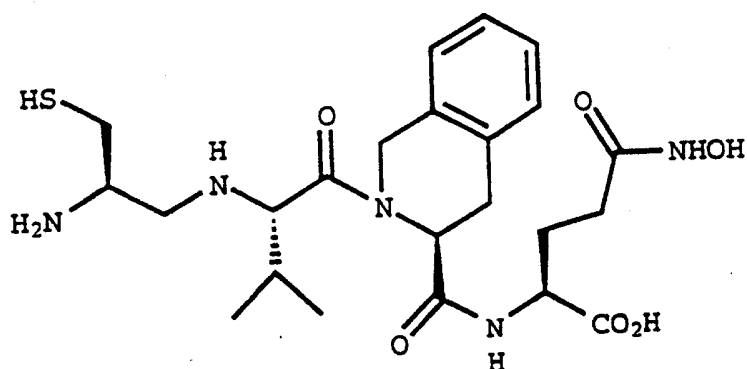
nalezeno 44,13 % C, 5,21 % H, 7,60 % N, 4,45 % S, 14,02 % F

¹H (CD₃OD): 1,026-1,15 (m, 6H), 1,89-2,37 (m, 6H), 2,71-
3,31 (m, 6H), 3,60, 4,05, 4,27, 4,61 (š m, 2H), 4,67-4,91
(m, 3H), 7,22-7,27 (m, 4H),

[α]_D²⁰ = -41,8° (c = 0,33, methanol)

Příklad 40

(S^{*},R^{*})-N²-//2-/N-(2-Amino-3-merkaptopropyl)-L-valyl/-
1,2,3,4-tetrahydro-3-isochinolinyll/karbonyl/-N⁵-hydroxy-L-
glutamin, trifluoracetátová (1:2) sůl



chirální

A. $(S^*, R^*)-N^2-//2-/N-/2-//(1,1\text{-Dimethylethoxy})\text{karbonyl/amino/-}$
 $3-/(trifeny\text{lmethyl})\text{thio/propyl-/N-/(fenylmethoxy)karbo-}$
 $nyl-/L\text{-valyl-/}1,2,3,4\text{-tetrahydro-3-isochinoliny\text{ l/karbo-}}$
 $nyl-/N^5\text{-(tetrahydropyran-2-yloxy)-L-glutamin, 1,1-di-}$
 methylethylester

Sloučenina A (0,50 g, 91 %) se připraví jako bílá
 pevná látka za použití sloučeniny 39B (0,5 g, 0,487 mmol)
 a sloučeniny 20A (0,057 g, 0,487 mmol) metodou popsanou v
 příkladu 32F.

t.t. 70 až 80 °C

TLC: R_f 0,75 (1/1 hexan/acetone, vizualizace UV)

MS: $(M+H)^+$ 1126,5

B. $(S^*, R^*)-N^2-//2-/N\text{-(2-Amino-3-merkaptopropyl)-L-valyl-/}$
 $1,2,3,4\text{-tetrahydro-3-isochinoliny\text{ l/karbonyl-/}N^5\text{-hydroxy-}}$
 $L\text{-glutamin, trifluoracetátová (1:2) sůl}$

Titulní sloučenina (0,050 g, 16%) se připraví jako
 bílý lyofilát použitím sloučeniny A (0,471 g, 0,419 mmol)
 metodou popsanou v příkladu 32G.

t.t.: rozklad nad 95 °C

TLC: R_f 0,52 (6/3/1 n-propanol/hydroxid amonný/voda, vizua-
 lizace síranem ceričitoamonným)

MS: $(M+H)^+$ 510, volný amin

IR: (KBr) 1204, 1676, 2976, 3430 cm^{-1}

Elementární analýza pro $C_{23}H_{35}N_5O_6S \cdot 1,0 H_2O \cdot 2,15 TFA$

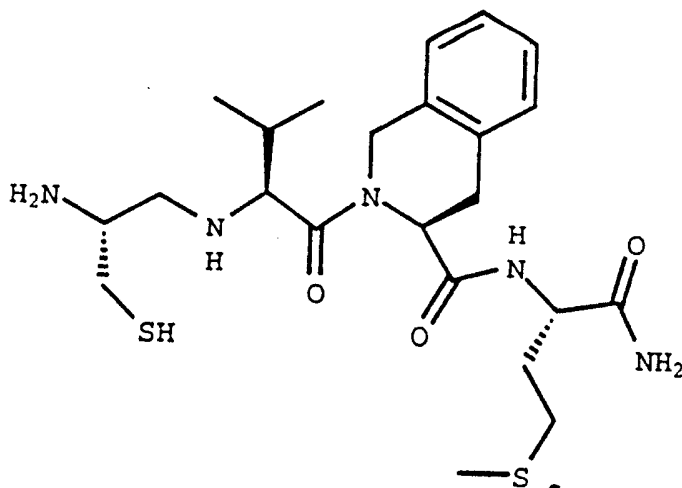
vypočteno 42,43 % C, 5,11 % H, 9,06 % N, 4,15 % S, 15,86 % F
 nalezeno 42,46 % C, 4,96 % H, 8,99 % N, 4,41 % S, 15,85 % F

1H (CD_3OD): 1,07-1,25 (m, 6H), 1,97-2,30 (m, 7H), 2,75-3,40
 (m, 5H), 3,80, 3,95, 4,40 (š m, 2H), 4,60-5,00 (m, 3H),
 7,22-7,35 (m, 4H)

$[\alpha]_D = -23,2^\circ$ (c= 0,22, methanol)

Příklad 41

/R-(R^{*},S^{*})/-N-//2-/N-(2-Amino-3-merkaptopropyl)-L-valyl/-
1,2,3,4-tetrahydro-3-isochinolinyll/karbonyl/-L-methionin-
amid, trifluoracetátové (1:2) sůl



A. (S^{*},R^{*})-N²-//2-/N-//2-//(1,1-Dimethylethoxy)karbonyl/-
amino/-3-/(trifenylmethyl)thio/propyl/-N-/(fenylmethoxy)-
karbonyl/-L-valyl/-1,2,3,4-tetrahydro-3-isochinolinyll/-
karbonyl/-L-methioninamid

Sloučenina A (633 mg, 65%) se připraví použitím slou-
čeniny 32E (841 mg, 1,00 mmol) a hydrochloridu L-methionin-
amidu (185 mg, 1,00 mmol) metodou popsanou v příkladu 32F.

B. /R-(R^{*},S^{*})/-N-//2-/N-(2-Amino-3-merkaptopropyl)-L-valyl/-
1,2,3,4-tetrahydro-3-isochinolinyll/karbonyl/-L-methio-
ninamid, trifluoracetátové (1:2) sůl

Titulní sloučenina (0,13 g, 45 %) se připraví použitím
sloučeniny A (0,579 g, 0,596 mmol) metodou popsanou v pří-
kladu 32G.

Elementární analýza pro $C_{23}H_{37}N_5O_3S_2 \cdot 1,30 H_2O \cdot 2,0 TFA$

vypočteno 43,39 % C, 5,61 % H, 9,37 % N

nalezeno 43,39 % C, 5,64 % H, 9,44 % N

TLC: R_f 0,5 (6:3:1, n-propanol/hydroxid amonný/voda), vizualizováno UV, PMA

HPLC R_t 14,1 minut (96%), 10-90% vodný methanol s 0,2 %

pufry kyseliny fosforečné, 30 minut gradient, 1,5 ml/minutu,

220 nm, C_{18} (6,0 x 150 mm) kolona

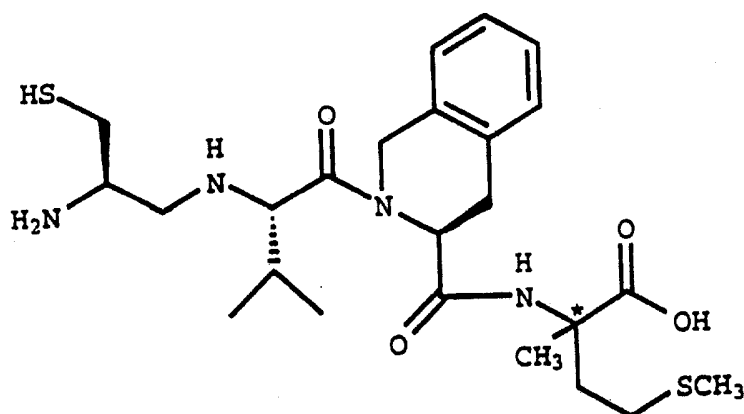
IR: (KBr) 3435, 2972, 1678, 1435, 1206, 1140, 841, 723 cm^{-1}

MS: $[M+H]^+$ 496⁺

$[\alpha]_D = -23,6^\circ$ (c = 0,44, methanol)

Příklad 42

N-//(S)-2-/N-/(R)-2-Amino-3-merkaptopropyl/-L-valyl/-1,2,3,4-tetrahydro-3-isochinolinyl/karbonyl/-2-methyl-DL-methionin, trifluoracetátová (1:2) sůl



A. 2-Methyl-DL-methionin, methylester

Roztok D,L- α -methylnmethioninu (0,500 g, 3,06 mmol) ve 20 ml methanolu se nasatí kyselinou chlorovodíkovou: (g), míchá se 48 hodin při teplotě místnosti a potom se zahřívá

pod refluxem 12 hodin. Směs se zahustí ve vakuu. Zbytek se rozpustí v 50 ml dichlormethanu a promyje 10% hydrogenuhličitanem sodným (50 ml). Organická vrstva se suší (síran sodný), filtruje a zahustí za vakua a získá se 320 mg (59 %) sloučeniny A.

B. N-//(S)-2-/N-/(R)-2-//(1,1-Dimethylethoxy)karbonyl/amino/-3-/(trifenylnmethyl)thio/propyl/-N-/(fenylmethoxy)karbonyl/-L-valyl/-1,2,3,4-tetrahydro-3-isochinolinylnl/karbonyl/-DL-methionin, methylester

Sloučenina B (0,766 g, 77%) se připraví jako bílá pevná látka použitím sloučeniny 32E (0,841 g, 1,00 mmol) a sloučeniny A (0,195 g, 1,10 mmol) metodou popsanou v příkladu 32F.

C. N-//(S)-2-/N-/(R)-2-//(1,1-Dimethylethoxy)karbonyl/amino/-3-/(trifenylnmethyl)thio/propyl/-N-/(fenylmethoxy)karbonyl/-L-valyl/-1,2,3,4-tetrahydro-3-isochinolinylnl/-karbonyl/-DL-methionin

Sloučenina C (0,716 g, 98%) se připraví použitím sloučeniny B (0,74 g, 0,740 mmol) metodou popsanou v příkladu 32C.

D. N-//(S)-2-/N-/(R)-2-Amino-3-merkaptopropyl/-L-valyl/-1,2,3,4-tetrahydro-3-isochinolinylnl/karbonyl/-2-methyl-DL-methionin, trifluoracetátová (1:2) sůl

Titulní sloučenina (0,095 g, 29%) se připraví jako bílý lyofilát použitím sloučeniny C (0,400 g, 0,406 mmol) metodou popsanou v příkladu 32G.

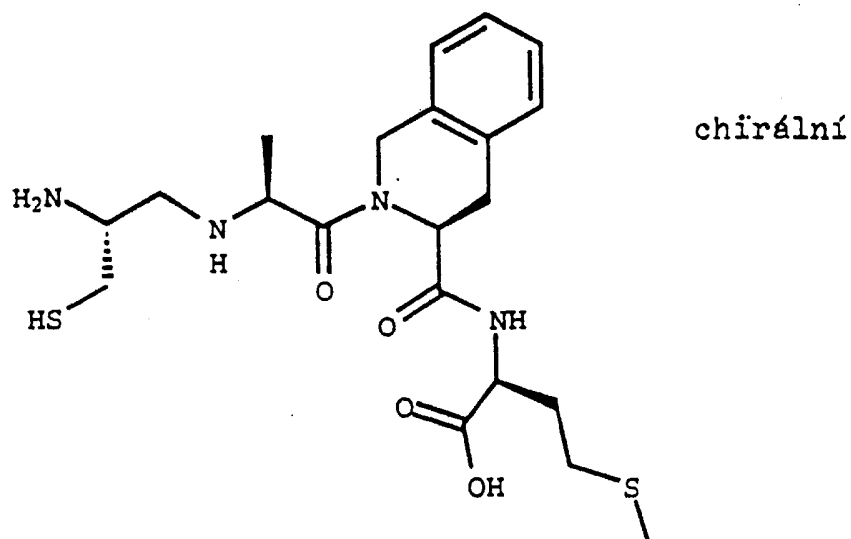
t.t. 95 až 110 °C

MS: (M+H)⁺ 511

Příklad 43

(S*,R*)-N-//2-/N-(2-Amino-3-merkaptopropyl)-L-alanyl/-

1,2,3,4-tetrahydro-3-isochinolinyl/karbonyl/-L-methionin



- A. (S^{*},R^{*})-N-//2-/N-2-//(1,1-Dimethylethoxy)karbonyl/amino/-3-/(trifenylmethyl)thio/propyl/-L-alanyl/-1,2,3,4-tetrahydro-3-isochinolinyl/karbonyl/-L-methionin, methylester

Sloučenina A se připraví jako čirý olej (700 mg, 28%) použitím sloučeniny 7A (1,50 g, 3,04 mmol) a sloučeniny 1F (2,10 g, 4,74 mmol) ve dvoustupňovém postupu popsáném v příkladu 7B.

- B. (S^{*},R^{*})-N-//2-/N-(2-Amino-3-merkaptopropyl)-L-alanyl/-1,2,3,4-tetrahydro-3-isochinolinyl/karbonyl/-L-methionin

Titulní sloučenina (96 mg, 15 %) se připraví za použití sloučeniny A (700 mg, 0,85 mmol) ve dvoustupňovém postupu popsáném v příkladu 1F.

t.t. 89 až 90 °C, čistota 98 %, / $\alpha_D^{25} = -32,1^\circ$ (c= 1,0, methanol), MS (M+H)⁺ 469⁺.

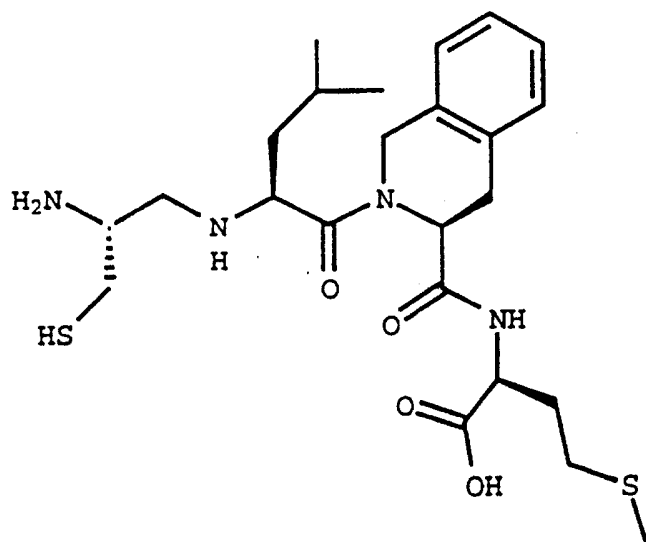
Elementární analýza: pro 1,90 trifluoroctovou kyselinu .
3,17 vodw

vypočteno 40,12 % C, 5,46 % H, 7,55 % N, 14,59 % F
nalezeno 40,12 % C, 5,05 % H, 7,31 % N, 14,24 % F

$^1\text{H-NMR}$ (CD_3OD , 270 MHz) δ (ppm) 7,16 (4H, m), 4,71 (2H, m), 4,57 (2H, m), 4,43 (1H, m), 4,32 (1H, m), 3,98 (1H, m), 3,56 (1H, m), 3,33-3,02 (2H, m), 2,84 (2H, m), 2,37 (1H, m), 1,98 (2H, m), 1,89 (1H, m), 2,10-1,76 (3H, m), 1,57 (2H, m), 1,43 (1H, m).

Příklad 44

(S^* , R^*)-N-//2-/N-(2-Amino-3-merkaptopropyl)-L-leucyl/-
17ě7š7č-tetrahydro-3-isochinolinyl/karbonyl/-L-methionin,
trifluoracetátová (1:2) sůl



A. (R^*)-N-//2-/N-/(1,1-Dimethylethoxy)karbonyl/-L-leucyl/-
1,2,3,4-tetrahydro-3-isochinolinyl/karbonyl/-L-
methionin, methylester

N-terc.Butyloxykarbonyl-L-leucin (1,0 g, 4,01 mmol) a
sloučenina 1B (hydrochlorid, 1,43 g, 4,01 mmol) se rozpustí

v dichlormethanu (10 ml). Přidá se brom-tris-pyrrolidino-fosfonium-hexafluorofosfát (2,10 g, 4,41 mmol) a 4-dimethylamino-pyridin (100 mg, 0,815 mmol). Přikape se N,N-diisopropylethylamin (1,49 g, 2,0 ml, 11,5 mmol). Reakční směs se míchá 2 hodiny při teplotě místnosti, zahustí se a chromatografuje (silikagel, 5,0 x 15 cm) (40% ethylacetát, 60% hexan). Frakce, obsahující požadovanou sloučeninu se oddělí a zahuštěním se získá sloučenina A jako čirý olej (2,0 g, 93 %) $(M+H)^+ 536^+$

B. (S^*, R^*) -N-//2-/N-/2-//(1,1-Dimethylethoxy)karbonyl/amino/-3-/(trifenylmethyl)thio/propyl/-L-leucyl/-1,2,3,4-tetrahydro-3-isochinolinyl/karbonyl/-L-methionin, methylester

Sloučenina B (600 mg, 25%) se připraví jako čirý olej za použití sloučeniny A (1,5 g, 2,81 mmol) a sloučeniny 1F (1,43 g, 2,81 mmol) ve dvoustupňovém postupu popsáném v příkladu 7B. $(M+H)^+ 867^+$

C. (S^*, R^*) -N-//2-/N-(2-Amino-3-merkaptopropyl)-L-leucyl/-1,2,3,4-tetrahydro-3-isochinolinyl/karbonyl/-L-methionin, trifluoracetátová (1:2) sůl

Titulní sloučenina (200 mg, 38%) se připraví použitím sloučeniny B (600 mg, 0,693 mmol) ve dvoustupňovém postupu popsáném v příkladu 1H.

t.t. 85 až 86 °C, čistota 98,4 %

$\alpha_D^{25} = -35,3^\circ$ (C=0,15, methanol)

MS $(M+H)^+ 511$,

elementární analýza pro 1,95 trifluoroctová kyselina .

0,95 voda:

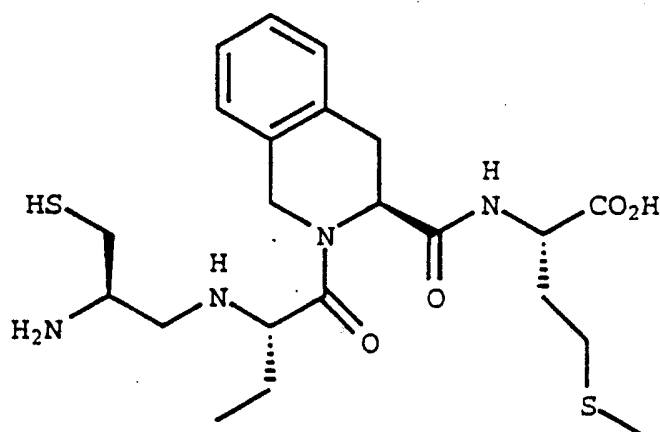
vypočteno 44,67 % C, 5,62 % H, 7,47 % N

nalezeno 44,36 % C, 5,75 % H, 8,09 % N

$^1\text{H-NMR}$ (CD_3OD , 400 MHz) δ (ppm) 7,26 (4H, m), 4,68 (2H, m), 4,51 (1H, m), 4,40 (1H, m), 4,24 (1H, m), 3,62 (1H, m), 3,34 (2H, m), 3,10 (2H, m), 2,82 (2H, m), 2,46 (2H, m), 2,06 (3H, m), 1,90 (2H, m), 1,72 (1H, m), 1,62 (1H, m), 1,46 (1H, m), 1,03 (6H, m).

Příklad 45

/R^{*}/R^{*}(S^{*})//-N-//2-/2-/(2-Amino-3-merkaptopropyl)amino/-
1-oxobutyl/-1,2,3,4-tetrahydro-3-isochinolinyl/karbonyl/-
L-methionin, trifluoracetátová (1:1) sůl



obsahuje 1,5 H₂O

A. Kyselina (S)-2-//(1,1-dimethylethoxy)karbonyl/amino/-
méselná

Směs (S)-(+)-2-aminomáselné kyseliny (5,0 g, 48,5 mmol), pelet hydroxidu sodného (2,0 g, 50 mmol), vody (5 ml), terc.butanolu (20 ml) a di-terc.butylđíkarbonátu (11,0 g, 50 mmol) se míchá při 25 °C 18 hodin. Směs se pak nalije do vody a promyje se etherem. Vodná vrstva se okyselí přídavkem zředěné kyseliny chlorovodíkové a extrahuje se ethylacetátem (2 x). Extrakt se pak suší a zahuštěním se získá sloučenina A jako bezbarvý olej (10,3 g, >100 %)

B. (R*,R*)-N-//2-/2-//(1,1-Dimethylethoxy)karbonyl/amino/-
1-oxobutyl/-1,2,3,4-tetrahydro-3-isochinolinyll/karbo-
nyl/-L-methionin, methylester

Směs sloučeniny A (550 mg, 2,7 mmol), hydrochloridu sloučeniny 1B (895 mg, 2,5 mmol), diisopropylethylaminu (0,70 ml, 4 mmol), 4-dimethylaminopyridinu (61 mg, 0,5 mmol) a brom-tris-pyrrolidino-fosfonium-hexafluorofosfátu (1,86 g, 4 mmol) v methylenchloridu (10 ml) se míchá při 25 °C 20 hodin. Směs se pak míchá v 1N roztoku kyseliny chlorovodíkové a extrahuje se ethylacetátem. Extrakt se promyje nasyceným roztokem hydrogenuhličitanu sodného a solankou, suší se a zahuštěním ve vakuu se získá zbytek. Tento se čistí rychlou chromatografií na silikagelu (300 g, EM), za eluce hexanem:ethylacetátem (1:1) a získá se sloučenina B jako čistý olej (600 mg, 47 %)

C./R*/R*(S*)//N-//2-//2-//(1,1-Dimethylethoxy)karbonyl/-
amino/-3-/(trifenylmethyl)thio/propyl/amino/-1-oxobutyl/-
1,2,3,4-tetrahydro-3-isochinolinyll/karbonyl/-L-
methionin, methylester

Roztok sloučeniny B (600 mg, 1,18 mmol) v kyselině octové nasycené chlorovodíkem (10 ml) se míchá při 25 °C jednu hodinu, potom se zahustí ve vakuu a získá se sloučenina B (450 mg, 94 %). K roztoku tohoto materiálu (443 mg, 1,0 mmol) v methanolu (2 ml) se přidá sloučenina 1F (445 mg, 1,0 mmol). Po 30 minutách se přidá kyselina octová (0,2 ml) a kyanoborohydrid sodný (63 mg, 1,0 mmol) a výsledná směs se míchá při 25 °C 48 hodin. Směs se pak nalije do přebytku 1N kyseliny chlorovodíkové a extrahuje se ethylacetátem. Vodná vrstva se zalkalizuje přidávkou hydrogenuhličitanu sodného a extrahuje se opět ethylacetátem. Extrakty se spojí, suší a zahustí ve vakuu. Zbytek se čistí rychlou chromatografií na silikagelu (60 g, EM) za eluce hexanem:ethylacetátem (1:1) a získá se produkt s vysokým R_F (BOC-trityl-cysteinol),

a potom sloučenina C (100 mg, 12 %).

D. $/R^*/R^*(S^*)/-N-//2-/2-/(2\text{-Amino-3-merkaptopropyl})\text{amino}/-$
 $1\text{-oxobutyl}/-1,2,3,4\text{-tetrahydro-3-isochinolinyl}/\text{karbonyl}/-$
L-methionin, trifluoracetátová sůl (1:1)

Směs sloučeniny C (100 mg, hydroxidu sodného (2 ml) a methanolu (2 ml) se míchá při 25 °C 2 hodiny, potom se nalije do přebytku 1N kyseliny chlorovodíkové a extrahuje se ethylacetátem. Extrakt se suší a zahustí na sklo (90 mg). Sklo se rozpustí v kyselině trifluoroctové (2 ml) a triethylsilan (0,2 ml) se přidá. Směs se míchá jednu hodinu při 25 °C a potom se zahustí ve vakuu. Zbytek se čistí preparativní HPLC (YMC S-10 ODS kolona, 30 x 500 mm, eluce 50 ml/minutu lineárního gradientu od 10 % do 90 % vodného methanolu, obsahujícího 0,1 % kyseliny trifluoroctové během 30 minut). Frakce se sledují UV absorbcí při 220 nm. Ty, které obsahují první hlavní eluovaný produkt se spojí a zahustí. Zbytek se lyofilizuje a získá se titulní sloučenina jako hygro-skopická bílá pevná látka (30 mg, 52 %).

t.t. 85 až 95 °C

$[\alpha]_D^{20}$: -31° (c= 0,1, ethanol)

IR (KBr): 3435, 2924, 1674, 1431 cm^{-1}

MS: 483⁺ (M+H)⁺

¹H NMR: (CD₃OD) 1,1 (6H, m), 1,97 a 2,07 (3H, s (rotamery)), 1,8-4,9 (20H, m), 7,25 (4H, m).

TLC: R_f 0,15, EM silikagel, 2:1 ethylacetát:pyridin 20: kyselina octová 6: voda 11/, UV + PMA vybarvení

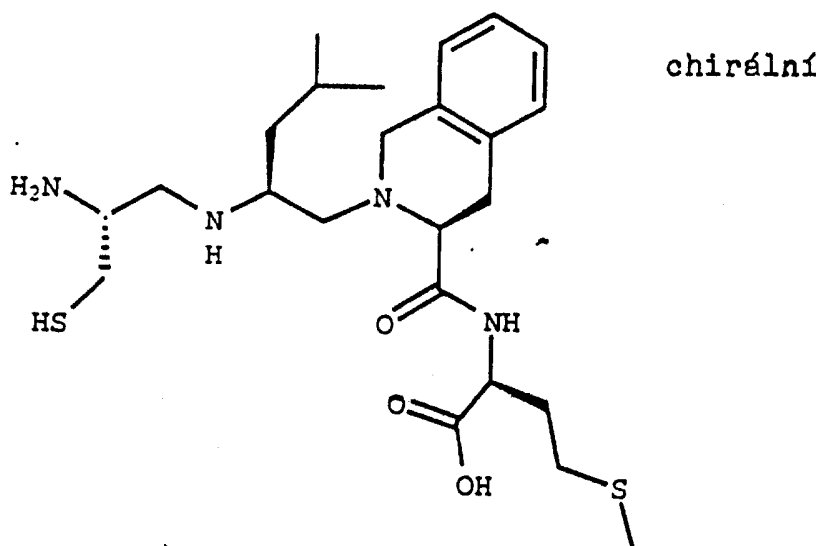
HPLC: >90 % při 14,9 minutách (YMC S3 ODS kolona, 6,0 x 150 mm, eluce 30 minut libeárním gradientem od 10 % do 90 % vodného methanolu, obsahujícího 0,2 % kyseliny fosforečné, monitorováno při 220 nm).

Elementární analýza pro $C_{22}H_{34}N_4O_4S_2 \cdot 1,90$ trifluoroctová
kyselina. 1,5 voda

vypočteno 42,66 % C, 5,40 % H, 7,71 % N, 8,83 % S, 14,91 % F
nalezeno 42,81 % C, 5,32 % H, 7,77 % N, 8,99 % S, 14,81 % F.

Příklad 46

(S*,R*)-N-//2-/(2-Amino-3-merkaptopropyl)amino/-4-methyl-
pentyl/-1,2,3,4-tetrahydro-3-isochinolinyl/karbonyl/-L-
methionin, trifluoracetátová (2:3) sůl



A. N²-/(1,1-Dimethylethoxy)karbonyl/-N-methoxy-N-methyl-L-
leucinamid

N-terc. Butyloxykarbonyl-L-leucin (3,0 g, 12,05 mmol)
a N,O-dimethylhydroxylamin-hydrochlorid (1,3 g, 13,25 mmol)
se rozpustí v dichlormethanu (100 ml). Přidá se brom-tris-
pyrrolidinafosfonium-hexafluorofosfát (6,18 g, 13,25 mmol)
a 4-dimethylaminopyridin (300 mg, 2,45 mmol). Přikape se
N,N-diisopropylethylamin (3,71 g, 5,0 ml, 28,65 mmol).
Reakční směs se míchá 4 hodiny při teplotě místnosti, za-
hustí se a chromatografuje (silikagel, 5,0 x 15 cm, 40 % ethyl-

acetát, 60 % hexan). Frakce, obsahující požadovanou sloučeninu se spojí a zahuštěním se získá sloučenina A jako slabě žlutý olej (2,8 g, 80 %).

(M+H)⁺ 275⁺

B. (1-Formyl)-3-methylbutyl)karbamová kyselina, 1,1-dimethylethylester

Sloučenina A (2,8 g, 9,61 mmol) se použije v metodě popsané v příkladu 1F pro přípravu sloučeniny B jako čirého oleje (2,1 g, 99 %), která se použije ihned v dalším stupni bez dalšího čištění.

C. (R^{*},R^{*})-N-//2-/2-//(1,1-Dimethylethoxy)karbonyl/amino/-4 methylpentyl/-1,2,3,4-tetrahydro-3-isochinoliny/karbonyl/-L-methionin, methylester

Sloučenina 1A (3,0 g, 7,11 mmol) se míchá v dimethylsulfidu (1,0 ml) a 4N kyselině chlorovodíkové v dioxanu (20 ml) 30 minut. Směs se zahustí, rozpustí v methylenchloridu (30 ml) a zahustí. Tento postup se opakuje pětkrát a získá se amín jako čiré sklo. Tento amín a sloučenina B (2,1 g, 9,60 mmol) se rozpustí v methanolu (20 ml) a ledové kyselině octové (0,4 ml). Po částech se během 30 minut přidá kyanborohydrid sodný (447 mg, 7,11 mmol). Reakční směs se míchá 16 hodin. Směs se ochladí na 0 °C a pomalu se přidá nasycený hydrogenuhličitan sodný (100 ml). Produkt se pak extrahuje do ethylacetátu (100 ml). Ethylacetátová vrstva se promyje vodou (200 ml) a solankou (100 ml), suší se (síran hořečnatý), zahustí a chromatografuje (silikagel, 4,1 x 15 cm, 25% ethylacetát, 75 % hexan). Frakce, obsahující požadovanou sloučeninu se odeberou a zahustí na sloučeninu C jako čirý olej (2,3 g, 62 %).

(M+H)⁺ 522⁺

D. /R^{*}/R^{*}(S^{*})//N-//2-/2-//2-//(1,1-Dimethylethoxy)karbonyl/-
3-/(trifenylmethyl)thio/propyl/amino/-4-methylpentyl/-
1,2,3,4-tetrahydro-3-isochinolinyl/karbonyl/-L-methio-
nin, methylester

Sloučenina D (500 mg, 24 %) se připraví jako čiré sklo
použitím sloučeniny C (1,3 g, 2,40 mmol) a sloučeniny 1F
(5,1 g, 11,4 mmol) ve dvoustupňovém postupu popsáném v
příkladu 46C.

(M+H)⁺ 853⁺

E. (S^{*},R^{*})-N-//2-/2-/(2-Amino-3-merkaptopropyl)amino/-4-
methylpentyl/-1,2,3,4-tetrahydro-3-isochinolinyl/kar-
bonyl/-L-methionin, trifluoracetátová (2:3) sůl

Titulní sloučenina (35 mg, 24 %) se připraví za použití
sloučeniny D (500 mg, 0,587 mmol) ve dvoustupňovém postupu
popsáném v příkladu 1H.

t.t. 118 až 119 °C, čistota > 98 %

$\alpha_D^{25} = -29,2^\circ$ (c = 0,1, 2 methanol), MS (M+H)⁺ 497⁺

Elementární analýza pro 2,80 kyselina trifluoroctová. 3,50
voda

vypočteno 40,44 % C, 5,71 % H, 6,37 % N

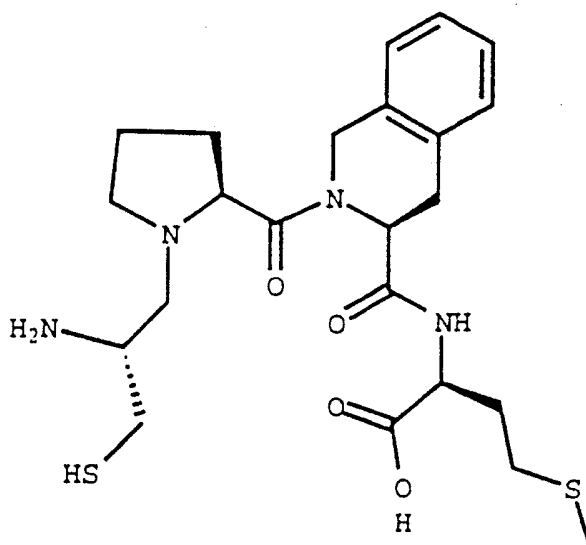
nalezeno 40,47 % C, 5,35 % H, 6,52 % N

H-NMR (CD₃OD, 400 MHz) δ (ppm) 7,14 (4H, m), 4,53 (1H, m),
4,10 (2H, m), 3,87 (1H, m), 3,60 (1H, m), 3,09 (4H, m), 2,85
(4H, m), 2,42 (1H, m), 2,31 (1H, m), 2,08 (1H, m), 1,98
(3H, s), 1,92 (1H, m), 1,53 (2H, m), 1,30 (1H, m), 0,84
(6H, m)

Příklad 47

(R)-N-//2-/1-/(2-Amino-3-merkaptopropyl)-L-prolyl/-1,2,3,4-
tetrahydro-3-isochinolinyl/karbonyl-L-methionin, trifluor-

acetátová (1:2) sůl



A. (R*)-N-((2-(1-((1,1-Dimethylethoxy)carbonyl)-L-propyl)-1,2,3,4-tetrahydro-3-isochinolinyl)carbonyl)-L-methionin, methylester

Sloučenina 1B (hydrochlorid, 1,88 g, 4,1 mmol) se spojí s N-terc.butyloxykarbonyl-L-prolinem (0,881 g, 4,1 mmol), brom-tris-pyrrolidino-fosfonium-hexafluorofosfátem (1,91 g, 4,1 mmol) a diisopropylethylaminem (2,1 ml, 12,3 mmol) v methylenchloridu (40 ml). Nechá se míchat 2 hodiny při teplotě místnosti a potom se zahustí za vakua. Zbytek se chromatografuje (silikagel, 7,1 x 20 cm, 50 % ethylacetát, 50 % hexan) a frakce, obsahující požadovanou sloučeninu se spojí a zahustí. Získá se sloučenina A jako sklo (výtěžek: 1,88 g, 72 %).

MS (M+H)⁺ 520⁺

B. (S*,R*)-N-((2-(1-((1,1-Dimethylethoxy)carbonyl)amino)-1,2,3,4-tetrahydro-3-isochinolinyl)carbonyl)-L-methionin, methylester

3-/(trifenylmethyl)thio/propyl/-L-prolyl/-1,2,3,4-tetrahydro-3-isochinoliny1/karbonyl/-L-methionin, methylester

Sloučenina B (5,21 mg, 25 %) se připraví použitím sloučeniny A (1,38 g, 2,66 mmol), sloučeniny 1F (1,28 g, 2,88 mmol) a kyanoborohydridu sodného (167 mg, 2,6 mmol) ve dvoustupňovém postupu popsaném v příkladu 7B.

(M+H)⁺ 851⁺

R_f 0,75 (chloroform, methanol, octová kyselina 85:10:5)

C. (R)-N-//2-/1-/(2-Amino-3-merkaptopropyl)-L-prolyl/-1,2,3,4-tetrahydro-3-isochinoliny1/karbonyl/-L-methionin, trifluoracetátová (1:2) sůl

Titulní sloučenina (70 mg, 15 %) se připraví jako bílý prášek použitím sloučeniny B (520 mg, 0,61 mmol) ve dvoustupňovém postupu popsaném v příkladu 1H.

(M+H)⁺ 495⁺

t.t. 69 až 71 °C, ¹H-NMR (CD₃OD, 400 MHz) δ (ppm) 7,15 (4H, m), 4,91 (1H, t), 4,63 (4H, m), 4,40 (1H, m), 4,20 (1H, dd), 3,85 (1H, m), 3,65 (4H, m), 3,42 (1H, dd), 3,27 (1H, m), 3,08 (1H, dd), 2,80 (2H, m), 2,40 (1H, m), 2,18 (1H, m), 2,00 (1,5H, s), 1,99 (3H, m), 1,89 (1,5H, s).

Elementární analýza pro C₂₃H₃₄N₄O₄S₂·2,35C₂HF₃O₂·0,65 voda

vypočteno 42,97 % C, 4,90 % H, 7,24 % N, 8,28 % S, 17,30 % F

nalezeno 42,67 % C, 4,78 % H, 7,05 % N, 8,63 % S, 17,13 % F

α_D^{25} -60,4° (c= 0,5, methanol).

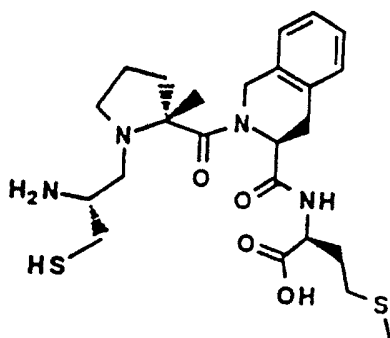
>98% při 13,1 minutách (YMC S3-ODS kolona 6,0 x 150 mm,

30 minut lineární gradient od 10 do 90 % vodného methanolu,

obsahujícího 0,2 % kyseliny fosforečné 1,5 ml/min, monitorování při 220 nm).

Příklad 48

/R^{*}/S^{*}(S^{*})//-N-//2-//1-(2-Amino-3-merkaptopropyl)-2-methyl-2-pyrrolidinyI/karbonyl/-1,2,3,4-tetrahydro-3-isochinolinyI/karbonyl/-L-methionin, trifluoracetátová (1:2) sůl



A. (S^{*},R^{*})-N-//2-//1-/(1,1-Dimethylethoxy)karbonyl/-2-methyl-2-pyrrolidinyI/karbonyl/-1,2,3,4-tetrahydro-3-isochinolinyI/karbonyl/-L-methionin, methylester

(R)-2-Methyl-1,2-pyrrolidindikarboxylová kyselina 1-(1,1-dimethylethyl)ester /viz D.Seebach a spol., J.Am. Chem.Soc., 1983, 105 5390/ (0,427 g, 1,18 mmol) se spojí se sloučeninou 1D (1 g, 2,7 mmol), brom-tris-pyrrolidino-fosfonium-hexafluorofosfátem (1,2 g, 2,6 mmol), dimethylamidpyridinem (0,2 g) a diisopropylethylaminem (0,8 ml, 5,2 mmol) v methylenchloridu (40 ml). Míchá se 16 hodin a zahustí se za vakua. Zbytek se chromatografuje (silikagel, 4,5 x 21 cm, 50 % ethylacetát, 50 % hexan) a frakce, obsahující požadovanou sloučeninu se spojí a zahuštěním se získá sloučenina A jako skla (508 mg, 81 %)
MS (M+H)⁺ 534⁺

B. /R^{*}/S^{*}(S^{*})//-N-//2-//1-2-//(1,1-Bimethylethoxy)karbonyl/-amino/-3-/(trifenylmethyl)thio/propyl/-2-methyl-2-pyrrolidinyl/karbonyl/-1,2,3,4-tetrahydro-3-isochinolinyl/karbonyl/-L-methionin

Sloučenina B (270 mg, 34 %) se připraví použitím sloučeniny A (0,5 g, 0,93 mmol) a sloučeniny 1F (1,31 g, 2,88 mmol) ve dvoustupňovém postupu popsáném v příkladu 7B.
MS (M+H)⁺ 865⁺

C.C. /R^{*}/S^{*}(S^{*})//-N-//2-//1-(2-Amino-3-merkaptopropyl)-2-methyl-2-pyrrolidinyl/karbonyl/-1,2,3,4-tetrahydro-3-isochinolinyl/-karbonyl/-L-methionin, trifluoracetátová (1:2) sůl

K 10 ml methanolu se přidá sloučenina B (180 mg, 0,21 mmol) spolu se 2N hydroxidem sodným pro úpravu na pH 12. Míchá se až do kvantitativního zmizení výchozí výchozího materiálu (4 hodiny). pH se upraví na 3-4 použitím 1N hydrogensíranu draselného a ethylacetát (30 ml) se přidá. Vrstvy se oddělí a vodná vrstva se promyje ethylacetátem (3 x 30 ml). Organické extrakty se spojí, suší (síran hořečnatý) a zahustí.

Zbytek (179 mg, 0,21 mmol) se spojí s kyselinou trifluorooctovou (5 ml), methylenchloridem (10 ml) a triethylsilanem (0,25 ml, 1,56 mmol). Roztok se míchá 1 hodinu a potom se zahustí za vakua. Přidá se methylenchlorid a roztok se znovu zahustí a pečlivě suší za vakua. Zbytek se aplikuje na YMC C18 kolonu (S-10, ODS 30 x 500 mm) za monitorování při 220 nm. Provede se HPLC čištění za následujících podmínek: rozpouštědlo A: 0,1% kyselina trifluorooctová ve vodě, rozpouštědlo B: 0,1% kyselina trifluorooctová v methanolu; 20-50 % B v A během 40 minut. Frakce, obsahující hlavní pík se spojí a lyofilizují. Získá se 25 mg titulní sloučeniny jako

bílého prášku.

MS (M+H)⁺ 509⁺

t.t. 107 až 108 °C

¹H-NMR (CD₃OD, 400 MHz) (ppm) 7,29 (4H, m), 4,60 (4H, m), 3,40 (1H, m), 3,22 (1H, m), 3,14 (1H, m), 2,97 (1H, m), 2,97 (1H, m), 2,78 (2H, m), 2,59 (1H, m), 2,33 (2H, m), 2,21 (1H, m), 2,11 (1H, m), 2,05 (3H, s), 1,92 (2H, m), 1,80 (1H, m), 1,53 (3H, s),

Elementární analýza pro C₂₄H₃₆N₄O₄S₂·2,3C₂HF₃O₂·3 voda

vypočteno 41,63 % C, 5,41 % H, 6,79 % N

nalezeno 41,31 % C, 4,98 % H, 6,64 % N

/α/_D²⁵+26,3° (c= 0,38 methanol)

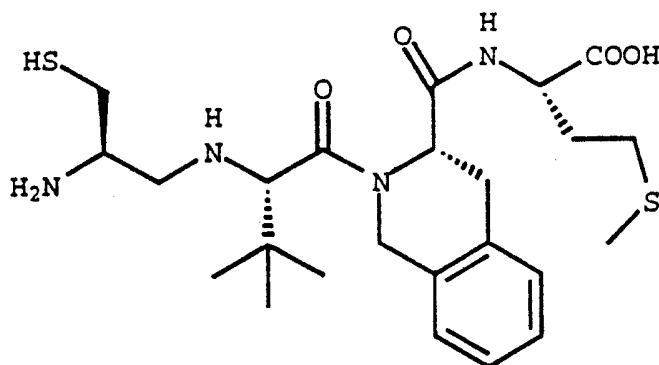
> 99 % při 13,9 minutách (YMC S3-ODS kolona 6,0 x 150 mm

30 minut lineární gradient od 10 do 90 % vodného methanolu,

obsahujícího 0,2 % kyseliny fosforečné, 1,5 ml/min, monitorování při 220 nm).

Příklad 49

(S⁺, R⁺)-N-//2-/N-(2-Amino-3-merkaptopropyl)-3-methyl-L-valyl/-
1,2,3,4-tetrahydro-3-isochinolinyl/karbonyl/-L-methionin,
trifluoracetátová (1:2) sůl



A. N-/(1,1-Dimethylethoxy)karbonyl/-3-methyl-L-valin

K suspenzi L-terc.leucinu (1,0 gm, 7,6 mmol) v dioxanu (10 ml) při 0 °C se přidá 1N hydroxid sodný (7,6 ml, 7,6 mmol) a voda (7 ml). K výslednému čirému roztoku se přidá terc.butoxykarbonylanhydrid (1,86 gm, 8,5 mmol) a odstraní se chladičí lázeň. Po 1 hodině se reakční směs zahustí na polovinu a za intenzivního míchání se přidá ethylacetát (15 ml) a 1N kyselina chlorovodíková (10 ml). Vodná vrstva se oddělí a extrahuje se ethylacetátem (10 ml). Organické vrstvy se spojí, suší (síran hořečnatý), filtrují a zahustí ve vakuu a získá se sloučenina A (2,0 g).

MS (FAB), $(M+H)^+ = 232^+$

B. (R³)-N-//2-/N-/(1,1-Dimethylethoxy)karbonyl/-3-methyl-L-valyl/-1,2,3,4-tetrahydro-3-isochinolinyl/karbonyl/-L-methionin, methylester

K roztoku sloučeniny A (0,4 g, 1,7 mmol) v dichlor-methanu (5 ml) při 0 °C pod argonem se postupně přidá brom-tris-pyrrolidino-fosfonium-hexafluorofosfát (0,79 g, 1,7 mmol), diisopropylethylamin (0,72 ml, 5,1 mmol) a dimethylaminopropylamin (22 mg, 0,2 mmol). Po 5 minutách se přidá hydrochlorid sloučeniny 1B (0,6 g, 1,68 mmol). Reakce se nechá ohřát na teplotu místnosti. Po 3 hodinách se reakční směs promyje postupně 1N kyselinou chlorovodíkovou, nasyceným hydrogenuhlíčitanem sodným a solankou (vždy 5 ml). Každá vodná vrstva se extrahuje chloroformem (5 ml). Organické vrstvy se spojí, suší (síran hořečnatý), filtrují a zahustí. Zbytek se čistí rychlou sloupcovou chromatografií na silikagelu za eluce 30 % ethylacetátu v hexanech. Získá se sloučenina B (430 mg, 48 %).

MS (CI) $(M+H)^+ = 536^+$

C. (S*,R*)-N-//2-/N-/2-//(1,1-Dimethylethoxy)karbonyl/amino/-
3-/(trifenylmethyl)thio/propyl/-3-methyl-L-valyl/-
1,2,3,4-tetrahydro-3-isochinolinyll/karbonyl/-L-methio-
nin, methylester

Bezvodý chlorovodík (4M v dioxanu, 1 ml, 4 mmol) a triethylsilanu (0,24 ml, 1,5 mmol) se přidá k pevné sloučenině B (400 mg, 0,75 mmol) při teplotě místnosti pod argonem. Po 2 hodinách míchání se reakční směs zahustí a zbytek se tluče s etherem a suší ve vakuu, získá se 325 mg materiálu (MS: (M-H)⁻ = 434⁻). K roztoku tohoto tripeptidu (310 mg, 0,66 mmol) v methanolu (2 ml) se přidá roztok sloučeniny 1F (0,3 g, 0,6 mmol) v methanolu (1 ml) a kyselina octová (0,1 ml). Po 5 minutách se přidá pevný kyanoborohydrid sodný (33 mg, 0,6 mmol). Po 1 hodině se přidá další aldehyd (0,3 g, 0,6 mmol) v methanolu (1 ml) a kyanoborohydroxid sodný (67 mg, 1,2 mmol). Po 30 minutách se přidá aldehyd (0,3 g, 0,6 mmol) v methanolu (1 ml). Po další 1 hodině se reakční směs zředí ethylacetátem (5 ml) a etherem (5 ml) a promyje se nasyceným hydrogenuhlíčitanem sodným (10 ml). Organická vrstva se promyje solankou (10 ml), suší (síran hořečnatý), filtruje a zahustí se ve vakuu. Zbytek se čistí sloupcovou chromatografií na silikagelu za eluce stupňovitým gradientem 30 %, 50 % ethylacetátu v hexanech. Získá se bílá pěna sloučeniny C (540 mg, 95 %).
MS (FAB) (M+H)⁺ = 867⁺

D. (S*,R*)-N-//2-/N-(2-Amino-3-merkaptopropyl)-3-methyl-L-valyl/-1,2,3,4-tetrahydro-3-isochinolinyll/karbonyl/-L-methionin, trifluoracetátová (1:2) sůl

K roztoku sloučeniny C (0,3 g, 0,34 mmol) v methanolu (1,5 ml) při 0 °C se přidá vodný 1N hydroxid sodný (0,4 ml, 0,4 mmol) Vytvořená sraženina se rozpustí přidávkem tetrahydrofuranu (0,8 ml) Reakční směs se nechá ohřát na teplotu místnosti. Po 1 hodině se přidá 1N kyselina chlorovodíková (1 ml) a směs se extrahuje ethylacetátem (5 ml). Organická

vrstva se suší (MgSO_4), filtruje a zahustí ve vakuu. Získá se bílá pevná látka (0,28 g, 98 %).

MS (M-H)⁻ 851⁻

K roztoku této pevné látky (270 mg, 0,31 mmol) v di-chlormethanu (1,5 ml) při teplotě místnosti pod argonem se přidá triethylsilan (0,5 ml) a kyselina trifluoroctová (1,5 ml). Po 1,5 hodině se těkavé látky odstraní na rotační od-parce a zbytek se rozpustí v 50% rodném methanolu zbaveném kyslíku. Vytvořená sraženina se filtruje přes nylonový 0,45 μm filtr a filtrát se čistí pomocí RPHPLC (YMC, S10, C18, 30 x 500 mm kolona) za eluce lineárním gradientem 26%-66% vod-ného methanolu, obsahujícího 0,1 % kyseliny trifluoroctové během 1 hodiny. Vhodné frakce se spojí, zahustí na rotační odparce pro odstranění methanolu a potom se lyofilizují. Získá se titulní sloučenina (153 mg, 63 %) jako bílý lyofilát). t.t. 87 až 90 °C

MS: (FAB) (M+H)⁺ = 511⁺

IR (KBr): 1676, 1204 cm^{-1}

$[\alpha]_D^{25} = -27^\circ$ (c = 0,46, methanol)

HPLC: YMC, S3, C18 (6 x 150 mm) kolona, 220 nm, 1,5 ml/min, 0-90% vodný methanol s 0,2 % kyseliny fosforečné, gradient během 30 minut: Rt: 17,5 min

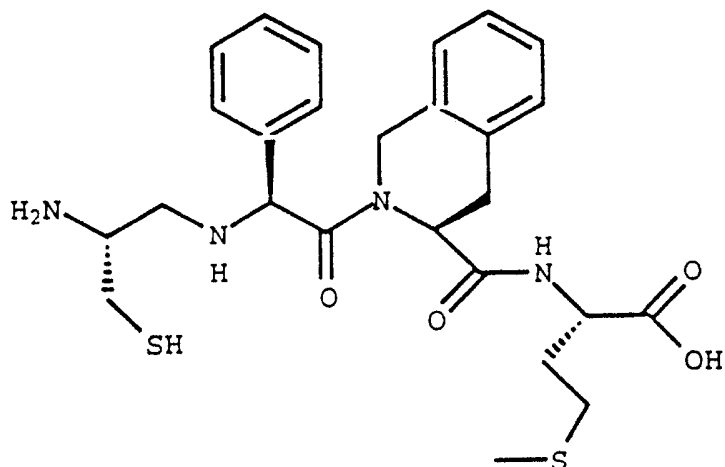
Elementární analýza pro $\text{C}_{24}\text{H}_{38}\text{N}_4\text{O}_4\text{S}_2 \cdot 1,5 \text{ H}_2\text{O} \cdot 1,85$ kyselina trifluoroctová

vypočteno 44,44 % C, 5,77 % H, 7,48 % N, 8,57 % S, 14,08 % F
nalezeno 44,38 % C, 5,47 % H, 7,39 % N, 8,50 % S, 14,13 % F

^1H NMR (CD_3OD), 400 MHz): δ 7,35-7,20 (4H, m), 5,0-4,55 (5H, m), 3,45-3,1 (2H, m), 2,90-2,45 (5H, m), 2,07, 2,03 (3H, 2s, rotamerní), 2,2-1,95 (2H, m), 1,12, 1,06 (9H, 2s, ro-tamerní).

Příklad 50

/R^{*}/R^{*}(S^{*})//-N-/(2-//(2-Amino-3-merkaptopropyl)amino/fenyl-acetyl/-1,2,3,4-tetrahydro-3-isochinolinyI/karbonyl/-L-methionin, trifluoracetátová sůl (1:2)



A. α -Aminobenzenoctová kyselina, methylester, hydrochlorid

Plynný chlorovodík se probublává roztokem kyseliny α -aminobenzenové (5,00 g, 33,0 mmol) v methanolu (100 ml). Po míchání po 6 dnů se reakční směs zahustí a zbytek se trituruje s etherem a pevná látka se odfiltruje a suší vzduchem. Získá se sloučenina A (5,8 g, 88 %).

B. /R-(R^{*},S^{*})/- α -/(2-//(1,1-Dimethylethoxy)karbonyl/amino/-3-/(trifenylmethyl)thio/propyl/amino/benzenoctová kyselina, methylester

Kyselina octová (0,5 ml) se přidá k roztoku sloučeniny 1F (0,30 g, 0,67 mmol) a sloučeniny A (0,144 g, 0,87 mmol)

pod argonem při teplotě místnosti. Po 30 minutách míchání se přidá kyanoborohydrid sodný (0,050 g, 0,87 mmol) a reakční směs se míchá 13 hodin při teplotě místnosti. Reakční směs se zředí hydrogenuhlíčitánem sodným (10 ml) a ethylacetátem (20 ml) a vrstvy se oddělí. Vodná vrstva se extrahuje ethylacetátem (2 x 20 ml). Spojené organické vrstvy se promyjí solankou (1 x 20 ml), suší se nad síranem hořečnatým, filtrují a zahustí. Zbytek se čistí rychlou sloupcovou chromatografií na silikageli za eluce 9/1, 8/2 hexan/ethylacetát. Získá se sloučenina B (0,22 g, 56 %).

C. /R-(R*,S*)/-α-//2-//(1,1-Dimethylethoxy)karbonyl/amino/-3-/(trifenylmethyl)thio/propyl/amino/benzenoctová kyselina

Hydroxid sodný (1N, 0,47 ml, 0,019 g, 0,47 mmol) se přidá k roztoku sloučeniny B (0,22 g, 0,37 mmol) v methanolu (2 ml). Po míchání po 13 hodin při teplotě místnosti se reakce přeruší 10% kyselinou chlorovodíkovou (10 ml) a ethylacetátem (20 ml). Vrstvy se oddělí a vodná vrstva se extrahuje ethylacetátem (2 x 20 ml). Spojené organické vrstvy se promyjí 10% kyselinou chlorovodíkovou (1 x 10 ml) a solankou (1 x 20 ml). Organická vrstva se suší nad síranem hořečnatým, filtruje a zahustí. Získá se kyselina-sloučenina C (0,21 g, 94 %).

D. /R*/R*(S*)//N-//2-/N-//2-//(1,1-Dimethylethoxy)karbonyl/amino/-3-/(trifenylmethyl)thio/propyl/amino/fenylacetyl/-1,2,3,4-tetrahydro-3-isochinolinyll/karbonyl/-L-methionin, methylester

Hydrochlorid benzotriazol-1-yloxytris-(dimethylamino)-fosfonium-hexafluorofosfátu (0,093 g, 0,36 mmol) se přidá k roztoku sloučeniny C (0,21 g, 0,36 mmol), sloučeniny 1B, hydrochloridu (0,21 g, 0,36 mmol), sloučeniny 1B, hydrochloridu (0,14 g, 0,40 mmol) a diisopropylethylaminu (0,13 ml, 0,10 g, 0,80 mmol) v dichlormethanu (2 ml) pod argonem.

Tato reakční směs se míchá 13 hodin při teplotě místnosti. Reakční směs se zředí 10% kyselinou chlorovodíkovou (10 ml) a ethylacetátem (20 ml). Vodná vrstva se extrahuje ethylacetátem (2 x 20 ml). Spojené organické vrstvy se promyjí 10% kyselinou chlorovodíkovou (2 x 10 ml), vodou (1 x 10 ml) hydrogenuhlíčitanem sodným (2 x 10 ml) a solankou (2 x 20 ml). Suší se nad síranem hořečnatým, filtrují a zahustí. Produkt se čistí rychlou chromatografií na sloupci silikagelu za eluce 7/3, 1/1 hexanem/ethylacetátem. Získá se sloučenina D (0,087 g, 28 %).

E. /R^{*}/R^{*}(S^{*})/-N-/(2-/(2-Amino-3-merkaptopropyl(amino/-fanylacetyl/-1,2,3,4-tetrahydro-3-isochinolinyl/-karbonyl/-L-methionin, trifluoracetátová (1:2) sůl

Titulní sloučenina (0,03 g) se připraví ze sloučeniny D (0,09 g, 0,10 mmol) ve dvoustupňovém postupu popsáném v příkladu 49D.

Elementární analýza pro C₂₆H₃₄N₄O₄S₂·2,5 voda. 2,1 kyselina trifluoroctová

vypočteno 44,50 % C, 5,08 % H, 6,87 % N

nalezeno 44,30 % C, 4,75 % H, 6,90 % N

TLC: R_f 0,6 (6/3/1, n-propanol/hydroxid amonný/voda), vizualizace UV, PMA

HPLC Rt 18,6 minut (92 %), 10-90% vodný methanol s pufrům kyseliny fosforečné, 30 min (0,2%) gradient, 1,5 ml/min, C18 (6,0 x 150 mm) kolona

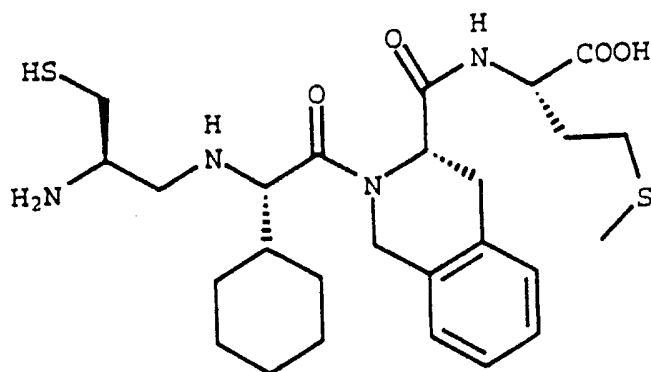
IR (KBr) 3435, 2924, 1680, 1206, 1134 cm⁻¹

MS: /M+H⁺ 531⁺

Příklad 51

/R^{*}/R^{*}(S^{*})/-N-/(2-/2-/(2-Amino-3-merkaptopropyl(amino/-

2-cyklohexylacetyl/-1,2,3,4-tetrahydro-3-isochinolinyI/karbonyl/-L-methionin, trifluoracetátová (1:2) sůl



A. (S)- α // (1,1-Dimethylethoxy) karbonyl/amino/cyklohexanoctová kyselina

Sloučenina A (3,5 g) se připraví za použití L-cyklohexylalaninu (1,6 g, 10,1 mmol) /P.J.Corringer a spol., J. Med.Chem., 1993, 36, 166/ metodou popsanou v příkladu 49A. MS (FAB), $(M+H)^+ = 258^+$.

B. (R*,R*)-N-//2-/Cyklohexyl//(1,1-dimethylethoxy) karbonyl/-amino/acetyl/-1,2,3,4-tetrahydro-3-isochinolinyI/karbonyl/-L-methionin, methylester

Sloučenina B (430 mg, 48 %) se připraví použitím sloučeniny A (0,77 g, 3,01 mmol) a sloučeniny 1B, hydrochloridu metodou popsanou v příkladu 49B. MS (CI), $(M+H)^+ = 562^+$

C. /R*/R*(S*)//N-//2-/cyklohexyl//2-//(1,1-dimethylethoxy)-karbonyl/amino-3-/(trifenylmethyl)thio/propyl/amino/acetyl/-1,2,3,4-tetrahydro-3-isochinolinyI/karbonyl/-L-

methionin, methylester

Sloučenina C (230 mg, 59%) se připraví jako bílá pěna použitím sloučeniny B (250 mg, 0,44 mmol) a sloučeniny 1F (0,2 g, 0,4 mmol) ve dvoustupňovém postupu popsaném v příkladu 49C.

MS: (FAB) $(M+H)^+ = 893^+$

D. $/R^*/R^*(S^*)//N-//2-/2-/(2\text{-Amino-3-merkaptopropyl})\text{amino-}/$
 $2\text{-cyklohexylacetyl-}/1,2,3,4\text{-tetrahydro-3-isochinolinyl-}/$
 $\text{karbonyl-}/\text{-L-methionin, trifluoracetátová (1:2) sůl}$

Titulní sloučeniny (55 mg, 50 %) se připraví jako bílý lyofilát použitím sloučeniny C (0,22 g, 0,25 mmol) ve dvoustupňovém postupu popsaném v příkladu 49D.

t.t. 100 až 105 °C

MS (FAB): $(M+H)^+ = 537^+$

IR (KBr): 2934, 1676, 1434, 1204 cm^{-1}

HPLC: YMC, S3, C18 (6 x 150 mm) kolona, 220 nm, 1,5 ml/min:
0-90% vodný methanol s 0,2% kyselinou fosforečnou, gradient
během 30 min retenční čas: 20,3 minut

$[\alpha]_D^{20} = -31^\circ$ (c= 0,3, methanol)

Elementární analýza pro $\text{C}_{26}\text{H}_{40}\text{N}_4\text{O}_4\text{S}_2 \cdot 1,8 \text{ voda, } 2,0 \text{ kyselina trifluoroctová}$

vypočteno 45,20 % C, 5,77 % H, 7,03 % N, 8,04 % S

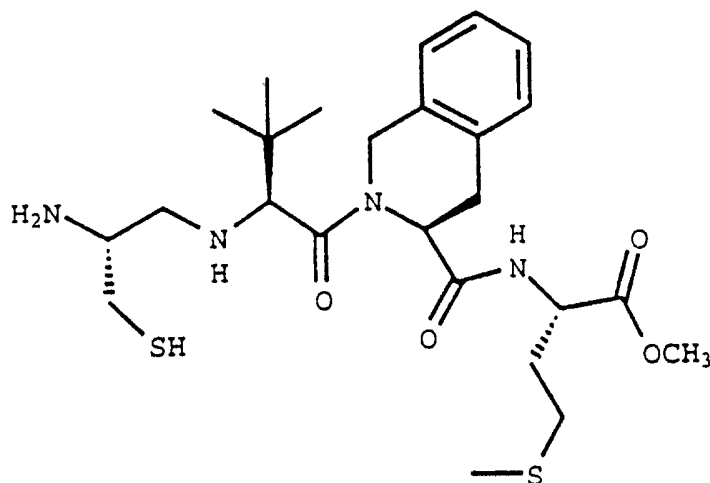
nalezeno 45,29 % C, 5,49 % H, 6,98 % N, 7,76 % S

$^1\text{H NMR}$ (CD_3OD , 400 MHz): δ 7,30-7,15 (4H, m), 4,90-4,50 (5H, m), 3,40 (1H, m), 3,15 (1H, m), 3,00-2,70 (3H, m), 2,60-2,40 (2H, m), 2,20-1,50 (16H, m), 2,06, 2,00 (2H, 2s, rotamer-
ní), 1,40-1,10 (6H, m)

Příklad 52

$(S^*, R^*)\text{-N-//2-/N-(2-Amino-3-merkaptopropyl)-3-methyl-L-valyl-}/$

1,2,3,4-tetrahydro-3-isochinolinyll/karbonyl/-L-methionin,
methylester, trifluoracetátová (1:2) sůl



A. (S^{*}, R^{*})-N-//2-/N-(2-Amino-3-merkaptopropyl)-3-methyl-L-valyl/-1,2,3,4-tetrahydro-3-isochinolinyll/karbonyl/-L-methionin, methylester, trifluoracetátová (1:2) sůl

Triethylsilam (0,66 ml, 0,048 g, 0,415 mmol) se přidá k roztoku sloučeniny 49C (0,180 g, 0,207 mmol) a kyseliny trifluoroctové (0,4 ml) v dichlormethanu (0,8 ml). Po míchání po 3 hodiny se reakční směs zahustí a vznikne pevná látka, která se čistí prep.HPLC (YMC, S-10, ODS, 30 x 500 mm; kolona) za eluce 30-90% vodným methanolem, obsahujícím 0,1 % kyseliny trifluoroctové, gradient během 30 minut. Frakce s produktem se zahustí a lyofilizací se získá titulní sloučenina (0,36 g, 23 %).

Elementární analýza pro C₂₅H₄₀N₄O₄S₂ 0,73 H₂O . 2,0 kyselina trifluoroctová

vypočteno 45,48 % C, 5,72 % H, 7,31 % N

nalezeno 45,48 % C, 5,71 % H, 7,37 % N

HPLC: Rt 19,85 minut (99 %), 10-90% vodný methanol s 0,2 % kyseliny fosforečné-pufrov, 30minut gradient, 1,5 ml/minuta,

220 nm, C₁₈ (6,0 x 150 mm) kolona

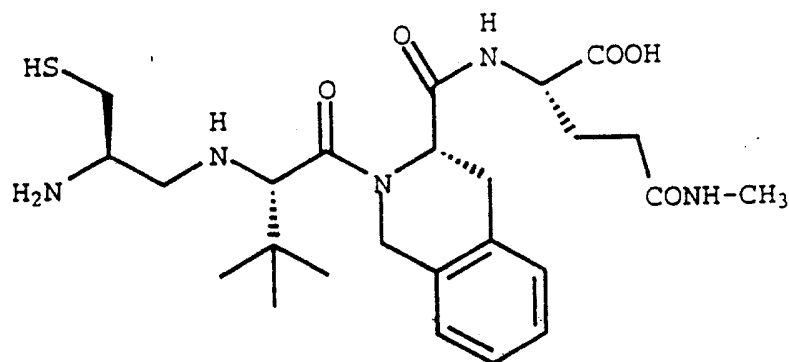
IR: (KBr) 3435, 2924, 1437, 1682, 1636, 1208, 1134 cm⁻¹

MS: /M+H/⁺ 525⁺

/α/D_D²⁰ = -32° (c = 0,25, methanol)

Příklad 53

(S^{*}, R^{*})-N²-/(2-/N-(2-Amino-3-merkaptopropyl)-3-methyl-L-valyl/-1,2,3,4-tetrahydro-3-isochinolinyl/karbonyl/-N⁵-methyl-L-glutamin, trifluoracetátová (1:2) sůl



A. N²-/(1,1-Dimethylethoxy)karbonyl/-N⁵-methyl-L-glutamin, 1,1-dimethylethylester

K roztoku 1-(1,1-dimethylethyl)esteru kyseliny N-/(1,1-dimethylethoxy)karbonyl/-L-glutamové (3,03 g, 10 mmol) v dichlormethanu (40 ml) se při teplotě místnosti pod argonem přidá benzotriazol-1-yloxytris-(dimethylamino)fosfonium-hexafluorofosfát (4,42 g, 10 mmol) a diisopropylethylamin (7,1 ml, 40 mmol). Po 15 minutách se přidá hydrochlorid methylaminu (2,01 g, 30 mmol). Po míchání přes noc (18 h) se reakční směs promyje postupně 1N kyselinou chlorovodí-

kovou (30 ml) a hydrogenuhlíčitanem sodným (30 ml), Vodné promývací roztoky se extrahují odděleně chloroformem (30 ml), suší (síran hořečnatý), filtrují a zahustí. Získaný olej se čistí sloupcovou chromatografií na silikagelu za eluce 30 % acetonu v hexanech a získá se sloučenina A (2,8 g, 88 %).

MS (CI), $(M+H)^+ = 317$

B. N⁵-Methyl-L-glutamin-1,1-dimethylethylester

K roztoku sloučeniny A (0,6 g, 1,9 mmol) v dichlormethanu (2 ml) při teplotě místnosti se pod argonem přidá 2,6-lutidin (0,49 ml, 4,2 mmol) a potom terc.butyldimethylsilyltriflát (0,52 ml, 2,28 mmol). Po 30 minutách se reakční směs promyje nasyceným chloridem amonným (2 x 5 ml) a extrahuje chloroformem (5 ml). Organická vrstva se zahustí za vakua (produkt se částečně rozloží na silikagelové TLC destičce). Získaný olej se rozpustí v tetrahydrofuranu (3 ml) a 1N kyselině chlorovodíkové (2 ml). Získaná směs se intenzivně míchá 20 minut a promyje se etherem (5 ml). Vodná vrstva se zalkalizuje na pH 8,5 přidavkem nasyceného hydrogenuhlíčitanu sodného, promyje se etherem (2 x 5 ml) a zahustí se ve vakuu. Ke zbytku se přidá acetonitril a zahustí se (2 x 5 ml). K získané pevné látce se přidá chloroform a methanol (1:1) a nerozpustné anorganické látka se odfiltrují. Filtrát se zahustí ve vakuu a pevná látka se suspenduje v acetonitrilu (5 ml) a zahustí ve vakuu a získá se sloučenina B (0,37 g), která se použije bez dalšího čištění.

C. 3-Methyl-N-/(fenylmethoxy)karbonyl/-L-valin

K roztoku L-terc.leucinu (10,2 g, 77,6 mmol) ve vodném hydroxidu sodném (2N, 40 ml) při 0 °C se přidá benzylchloroformiát (12,1 ml, 85,4 mmol) a hydroxid sodný (2N, 40 ml) střídavě v 5 dávkách během 30 minut. Chladicí lázeň se odstraní a po 1 hodině se pH směsi upraví na 10. Směs se extrahuje

etherem (2 x 50 ml). Vodná vrstva se ochladí na 0 °C a okyselí se (pH 2) 5N kyselinou chlorovodíkovou a extrahuje se etherem (3 x 70 ml). Organická vrstva se suší (síran hořečnatý) a zahuštěním se získá (ve vakuu) lepkavý olej sloučeniny C (18,2 g, 88 %)

MS (CI): $(M+H)^+ = 266^+$

D. (S)-1,2,3,4-Tetrahydro-2-/3-methyl-N-/(fenylmethoxy)-karbonyl/-L-valyl/-3-isochinolinkarboxylová kyselina, methylester

K roztoku sloučeniny C (5,31 g, 20 mmol) v dichlormethanu (80 ml) při 0 °C pod argonem se postupně přidá diisopropylethylamin (10,6 ml, 60 mmol), benzotriazol-1-yloxytris(dimethylamino)fosfonium-hexafluorofosfát (5,08 g, 20 mmol) a hydrochlorid methylesteru (S)-1,2,3,4-tetrahydroisochinolín-3-karboxylové kyseliny (5,68 g, 25 mmol). Reakční směs se nechá ohřát na 5 °C během 2 hodin a potom se míchá přes noc (16 hodin). Směs se promyje 1N kyselinou chlorovodíkovou, nasyceným hydrogenuhličitanem sodným a solankou (vždy 50 ml). Organická vrstva se suší (síran hořečnatý), filtruje a zahuštěním se získá olej. Přечиštěním rychlou chromatografií na sloupci silikagelu za eluce 20 % ethylacetátu v hexanech se získá sloučenina D (4,0 g, 45 %). MS: (CI) $(M+H)^+ = 439^+$

E. (S)-1,2,3,4-Tetrahydro-2-/3-methyl-N-/(fenylmethoxy)karbonyl/-L-valyl/-3-isochinolinkarboxylová kyselina

K roztoku sloučeniny D (830 mg, 1,9 mmol) v tetrahydrofuranu/methanolu (4 ml/5 ml) při teplotě místnosti se přidá hydroxid lithný (1N, 1,9 ml). Po 1 hodině se přidá hydroxid lithný (1N, 1,5 ml). Po 2 hodinách se přidá hydroxid sodný (1N, 1,9 ml). Po ještě další hodině se rozpouštědlo odstraní a zbytek se rozdělí mezi 1N kyselinu chlorovodíkovou

a ethylacetát (10 ml vždy). Organická vrstva se suší (síran hořečnatý) a zahuštěním ve vakuu se získá sloučenina E (820 mg).

F. (R*)-N⁵-methyl-N²-//1,2,3,4-tetrahydro-2-/3-methyl-N-
/(fenylmethoxy)karbonyl/-L-valyl/-3-isochinolinyl/kar-
bonyl/-L-glutamin, 1,1-dimethylethylester

K roztoku sloučeniny B (370 mg, 1,71 mmol) a sloučeniny E (800 mg, 1,88 mmol) ve směsi dimethylformamidu:tetrahydrofuranu (2 ml: 1 ml) při 0 °C pod argonem se přidá 1-hydroxybenzotriazol (290 mg, 1,9 mmol) a potom hydrochlorid 1-(3-dimethylaminopropyl)-3-ethylkarbodiimidu (363 mg, 1,9 mmol). Reakční směs se nechá ohřát na teplotu místnosti během 1 hodiny a potom se míchá přes noc (18 hodin). Směs se zředí ethylacetátem (10 ml) a promyje se 1N kyselinou chlorovodíkovou, nasyceným hydrogenuhlíčanem sodným a solankou (vždy 10 ml). Přečištěním na sloupci silikagelu chromatograficky za eluce 30 % acetonu v hexanech se získá bílá pěnovitá pevná látka- sloučenina F (585 mg, 55 %) MS (CI) (M+H)⁺ = 623

G. (S*,R*)-N²-//2-/N-/2-//(1,1-Dimethylethoxy)karbonyl/-
amino/-3-/(trifenylmethyl)thio/propyl/-3-methyl-L-valyl/-
1,2,3,4-tetrahydro-3-isochinolinyl/karbonyl/-N⁵-methyl-L-
glutamin, 1,1-dimethylethylester

K roztoku sloučeniny F (300 mg, 0,48 mmol) v dichlormethanu (2 ml) se při teplotě místnosti pod argonem přidá triethylsilan (115 μ l, 0,72 mmol), diisopropylethylamin (14 μ l, 0,1 mmol) a octan paladia (11 mg, 0,05 mmol). Vytvoří se černá sraženina. Po 1 hodině indikuje TLC analýza na silikagelu nepřítomnost sloučeniny F a přítomnost méně polárního produktu, který se částečně na TLC desce rozkládá. Směs se filtruje přes Celite^R a filtrát se zahustí ve vakuu. Produkt se použije bez dalšího čištění,

K roztoku zbytku (0,48 mmol celkem) v methanolu (1,5 ml) při teplotě místnosti se přidá kyselina octová (0,5 ml). Roztok aldehydu sloučeniny 1F (447 mg, 1,0 mmol) v methanolu (1,5 ml) se připraví. Po 20 minutách se přidá výše uvedený roztok aldehydu (0,8 ml). Po 5 minutách se přidá kyanoborohydrid sodný (20 mg, 0,33 mmol). Ve dvou podílech se během 20 minutového intervalu přidá zbylý roztok aldehydu a kyanoborohydridu sodného (vždy 20 mg). Po dalších 20 minutách se těkavé látky odstraní ve vakuu a zbytek se rozdělí mezi ethylacetát a nasycený hydrogenuhlíčan sodný (vždy 20 ml). Vodná vrstva se oddělí a extrahuje se ethylacetátem (15 ml) a organické vrstvy se spojí, suší (síran hořečnatý) a zahustí ve vakuu. Zbytek se čistí sloupcovou chromatografií na silikagelu za eluce 80 % ethylacetátu v hexanech na malé koloně, získá se sloučenina G (310 mg).
MS (FAB): $(M+H)^+ = 920$

H. $(S^*, R^*)-N^2-//2-/N-(2-Amino-3-merkaptopropyl)-3-methyl-L-valyl/-1,2,3,4-tetrahydro-3-isochinolinyll/karbonyl/-N^5-methyl-L-glutamin, trifluoracetátová (1:2) sůl$

K roztoku sloučeniny G (270 mg, 0,29 mmol) v suchém dichlormethanu (2 ml) se pod argonem přidá kyselina trifluoroctová (2 ml) a triethylsilan (0,5 ml). Po 2 hodinách se těkavé látky odstraní ve vakuu. Ke zbytku se přidá vodný methanol (50%, 1,5 ml zbavený kyslíku). Bílá sraženina se odfiltruje přes bylonový filtr a filtrát se čistí preparativní RP HPLC (EM Science E8, 50 x 250 mm, S12 lichrosféry) za eluce 30 až 74% vodným methanolem, obsahujícím 0,1 % kyseliny trifluoroctové. Vhodné frakce se spojí a lyofilizují. Získá se titulní sloučenina (177 mg, 75 %).
MS (FAB): $(M+H)^+ = 522$
IR (KBr) 3432, 1678, 1647, 120, 1138 cm^{-1}
 $[\alpha]_D^{25} = -15^{\circ}$ (c= 0,92, methanol)

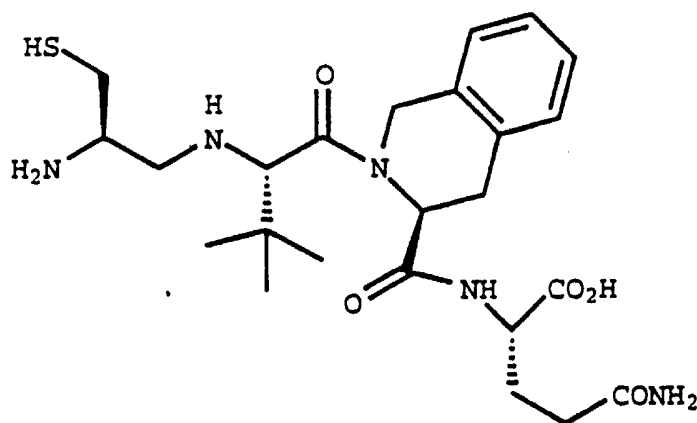
HPLC: HPLC: (YMC S3 ODS 6 x 150 mm, C18 kolona při 60 °C), 70-90% vodný methanol, obsahující 0,2 % kyseliny fosforečné, retenční čas 13,9 minut.

Elementární analýza pro $C_{25}H_{39}N_5O_5S \cdot 2,31$ kyselina trifluor-
octová. 1,39 voda

vypočteno 43,95 % C, 5,48 % H, 8,65 % N, 3,96 % S, 16,26 % F
nalezeno 43,95 % C, 5,29 % H, 8,68 % N, 3,98 % S, 16,26 % F

Příklad 54

(S*, R*)-N²-//2-/N-(2-Amino-3-merkaptopropyl)-3-methyl-L-
valyl/-1,2,3,4-tetrahydro-3-isochinolinyl/karbonyl/-L-
glutamin, trifluoracetátová (1:2) sůl



A. (R*)-N²-//1,2,3,4-Tetrahydro-2-/3-methyl-N-/(fenylmethoxy)karbonyl/-L-valyl/-3-isochinolinyl/karbonyl/-L-glutamin, 1,1-dimethylethylester

Sloučenina A (1,1 g, 87 %) se připraví jako bílá pevná látka použitím sloučeniny 53E (0,9 g, 2,1 mmol) a L-glu-

taminu -terc.butylesteru-hydrochloridu (0,501 g, 2,1 mmol) metodou popsanou v příkladu 32F).
t.t. 60 až 68 °C

B. (R*)-N²-//1,2,3,4-Tetrahydro-2-(3-methyl-L-valyl/-3-isochinolinylyl/karbonyl/-L-glutamin, 1,1-dimethylethylester, hydrochlorid

Hydroxid palladia na uhlí (10%, 0,091 g) se přidá k roztoku sloučeniny A (0,914 g, 1,5 mmol) v tetrahydrofuranu (9,1 ml) s 1N kyselinou chlorovodíkovou (1,5 ml). Připojí se k reakční směsi balonek s vodíkem a směs se míchá při teplotě místnosti 3 hodiny. Reakční směs se zfiltruje přes Celite^R a zahuštěním za vakua se získá sloučenina B (0,767 g, 100 %), která se použije bez dalšího čištění.
t.t.: pění a uvolňuje plyn nad 128 °C.

C. (S*,R*)-N²-//2-/N-/2-//(1,1-Dimethylethoxy)karbonyl/amino/-3-/(trifenylmethyl)thio/propyl/-3-methyl-L-valyl/-1,2,3,4-tetrahydro-3-isochinolinylyl/karbonyl/-L-glutamin, 1,1-dimethylethylester

Kyanoborohydrid sodný (0,077 g, 1,22 mmol) se po částech přidá k roztoku sloučeniny B (0,464 g, 0,91 mmol), sloučeniny 1F (0,609 g, 1,4 mmol) a kyseliny octové (0,135 ml) v methanolu (4,5 ml) a míchá se při teplotě místnosti 2,25 hodiny. Reakce se přeruší vodou (100 ml) a extrahuje se dichlormethanem (3 x 100 ml). Spojené organické extrakty se suší (síran hořečnatý), filtrují a zahustí se za vakua. Zbytek se čistí rychlou chromatografií (eluce ethylacetátem) a získá se sloučenina C (0,55 g, 67 %) jako guma.
MS: (M+H)⁺ 906

D. (S*, R*)-N²-//2-/N-(2-Amino-3-merkaptopropyl)-3-methyl-L-valyl/-1,2,3,4-tetrahydro-3-isochinolinyl/karbonyl/-L-glutamin, trifluoracetátová (1:2) sůl

Kyselina trifluoroctová (5 ml, 65 mmol) se přidá k roztoku sloučeniny C (0,487 g, 0,538 mmol) a triethylsilanu (0,843 ml, 5,38 mmol) v dichlormethanu (5 ml) při 0 °C, ohřeje se na teplotu místnosti a míchá 3 hodiny. Přidá se chloroform (10 ml) a reakce se zahustí za vakua. Zbytek se trituruje s hexanem (hexanová vrstva se odloží) a zahustí se za vakua. Zbytek se čistí preparativní HPLC (EM S-12 Lichrosphere Select B, 50 x 250 mm, 220 nm, 40 ml/minutu, gradient 10-90% vodný methanol s 0,1 % tetrahydrofuranu). Po zahuštění vhodných frakcí se zbytek rozpustí ve vodě, filtruje a lyofilizuje. Získá se titulní sloučenina (0,28 g, 71 %).

t.t.: rozklad nad 97 °C

TLC: R_f = 0,55 (6/3/1 n-propanol/hydroxid amonný/voda, vizualizace síranem ceričitoamonným)

MS: (M+H)⁺ 508

IR: (KBr) 1431, 1674, 2972, 3437 cm⁻¹

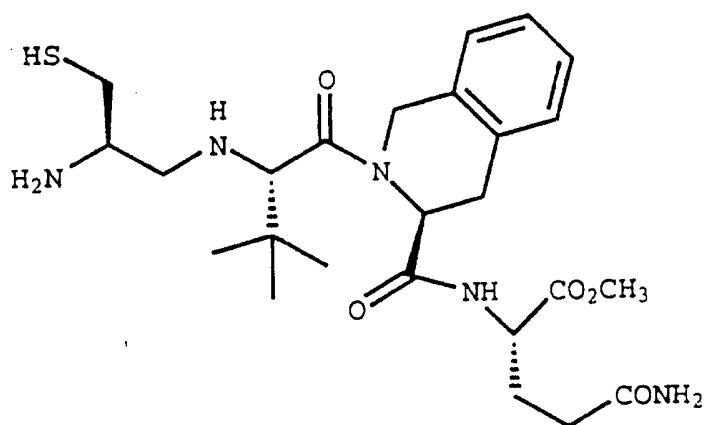
Elementární analýza pro C₂₈H₃₉N₅O₉SF₆·1,07 voda

vypočteno 44,54 % C, 5,49 % H, 9,28 % N, 4,25 % S, 15,10 % F
nalezeno 44,56 % C, 5,17 % H, 9,26 % N, 4,23 % S, 15,48 % F
[α]_D²⁰ = -17,6° (c = 0,33, methanol)

¹H(DMSO): 1,00 (s, 9H), 1,81-1,96 (m, 2H), 2,08-2,13 (m, 2H), 2,35-2,47 (m, 2H), 2,72 (š m, 1H), 2,96 (š m, 2H), 3,34 (š m, 2H), 4,18-4,20 (m, 1H), 4,52-4,59 (m, 1H), 4,85-5,02 (m, 3H), 7,17 (s, 4H).

Příklad 55

(S*,R*)-N²-//2-/N-(2-Amino-3-merkaptopropyl)-3-methyl-L-valyl/-1,2,3,4-tetrahydro-3-isachinolinyl/karbonyl/-L-glutamin, methylester, trifluoracetátová (1: 2) sůl



A.N²-/(1,1-Dimethylethoxy)karbonyl/-L-glutamin, methylester

1-Methyl-3-nitro-1-nitrosoguanidín (9 g, 61,0 mmol) se po částech přidá ke směsi (1:1) diethyletheru/50% vodného hydroxidů draselného (200 ml) při -10 °C. Organická vrstva se dekantuje a suší nad pevným hydroxidem draselný, V oddělené lahvi se rozpustí N²-(1,1-dimethylethoxy)karbonyl/-L-glutamin (5,0 g, 20,3 mmol) v tetrahydrofuranu (15 ml) při -10 °C. Po částech se přidá diazomethanový roztok k roztoku kyseliny až do přetrvání žlutého zbarvení. Reakce se přeruší kyselinou octovou (3 ml), zředí se diethyletherem (100 ml) a promyje se 10% hydrogenuhlíčitanem sodným (100 ml). Vodná vrstva se extrahuje ethylacetátem (3 x 150 ml) a spojené organické extrakty se suší (síran hořečnatý), filtrují a zahustí za vakua. Získá se sloučenina A (2,0 g, 38 %),

která se použije bez dalšího čištění.

MS: $(M+H)^+$ 261

B. L-Glutamin, methylester, hydrochlorid

Chlorovodík v dioxanu (4M, 20 ml) se přidá ke sloučenině A (2,0 g, 7,7 mmol) a míchá se při teplotě místnosti 0,5 hodiny. Reakční směs se zahustí za vakua a získá se sloučenina B (1,4 g, 93 %).

MS: $(M+H)^+$ 161

C. $(R^*)-N^2-//1,2,3,4\text{-Tetrahydro-2-}/3\text{-methyl-N-}/(\text{fenylmethoxy})\text{-karbonyl}/\text{-L-valyl}/\text{-3-isochinolinyl}/\text{karbonyl}/\text{-L-glutamin, methylester}$

Sloučenina C (1,05 g, 88 %) se připraví jako bílá pevná látka za použití sloučeniny B (0,26 g, 3,2 mmol) a sloučeniny 52E (0,90 g, 2,1 mmol) metodou popsanou v příkladu 32F. t.t. 55 až 60 °C

D. $(R^*)-N^2-//1,2,3,4\text{-Tetrahydro-2-}(3\text{-methyl-L-valyl})\text{-3-isochinolinyl}/\text{karbonyl}/\text{-L-glutamin, methylester, hydrochlorid}$

Sloučenina D (0,715 g, 91 %) se připraví použitím sloučeniny C (0,95 g, 1,68 mmol) metodou popsanou v příkladu 54B.

t.t.: pění a uvolňuje plyn nad 100 °C

E. $(S^*, R^*)-N^2-//2\text{-}/N\text{-}/(1,1\text{-Dimethylethoxy})\text{karbonyl}/\text{amino}/\text{-3-}/(\text{trifenylmethyl})\text{thio}/\text{propyl}/\text{-3-methyl-L-valyl}/\text{-1,2,3,4-tetrahydro-3-isochinolinyl}/\text{karbonyl}/\text{-L-glutamin, methylester}$

Sloučenina E (1,25 g, 70 %) se připraví jako guma za použití sloučeniny D (0,645 g, 1,38 mmol) a sloučeniny 1F (0,925 g, 2,07 mmol) metodou popsanou v příkladu 54C.

F. (S*,R*)-N²-//2-/N-(2-Amino-3-merkaptopropyl)-3-methyl-L-valyl/-1,2,3,4-tetrahydro-3-isochinolinyl/karbonyl/-L-glutamin, methylester, trifluoracetátová (1:2) sůl

Titulní sloučenina (0,291 g, 60 %) se připraví použitím sloučeniny E (0,55 g, 0,649 mmol) metodou popsanou v příkladu 54D.

t.t. 67 až 77 °C

TLC: R_F= 0,73 (6/3/1 n-propanol/hydroxid amonný/voda, vizualizace síranem ceričitoamonným)

MS: (M+H)⁺ 522

IR (KBr) 1431, 1674, 2972, 3437 cm⁻¹

Elementární analýza pro C₂₅H₃₉N₅O₅S₂· 2,45 kyselina trifluor-octová. 0,59 voda

vypočteno 44,25 % C, 5,29 % H, 8,63 % N, 3,95 % S, 17,20 % F

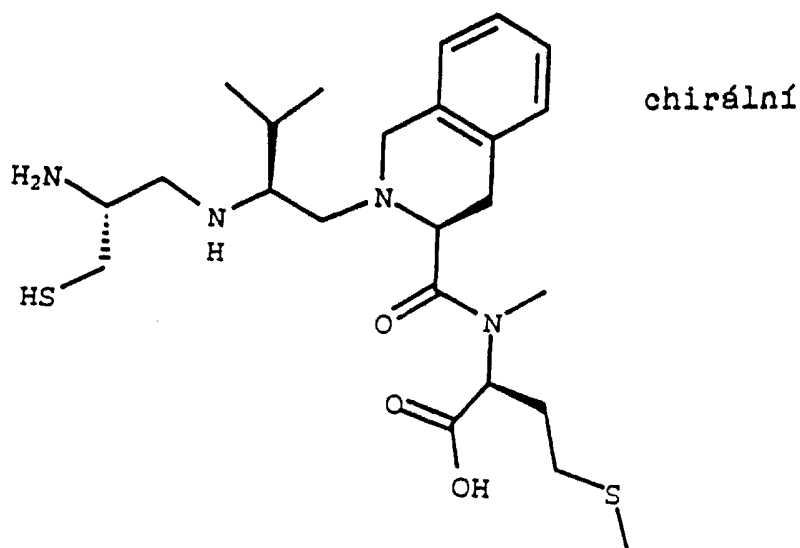
nalezeno 44,25 % C, 5,20 % H, 8,51 % N, 3,80 % S, 17,21 % F

$\alpha/\beta_D = -22,7^\circ$ (c= 0,30, methanol)

¹H DMSO): 1,00 (s, 9H), 1,79-1,99 (m, 2H), 2,01-2,13 (m, 2H), 2,44 (š m, 2H), 2,72 (š m, 3H), 2,97 (š m, 1H), 3,33 (š m, 1H), 3,51, 3,55 (s, 3H), 4,20-4,28 (m, 1H), 4,51-4,60 (m, 1H), 4,85-4,96 (m, 2H), 5,02-5,04 (m, 1H), 7,15-7,18 (s, 4H)

Příklad 56

/R*/R*(S*)//N-//2-/(2-Amino-3-merkaptopropyl)amino/-3-methylbutal/-1,2,3,4-tetrahydro-3-isochinolinyl/karbonyl/-N-methyl-L-methionin



A. N-/(1,1-Dimethylethoxy)karbonyl/-N-methyl-L-methionin,
fenylmethylester

Hydrid sodný (3,37 g 60% suspenze v minerálním oleji, 84,2 mmol) se rozmíchá v hexanu (3 x 50 ml) a nechá usadit. Hexan se oddekantuje a tetrahydrofuran (100 ml) se přidá. Přidá se roztok N-terc.-butyloxykarbonyl-L-methioninu (7,00 g, 28,1 mmol) v tetrahydrofuranu (120 ml) k roztoku hydridu sodného při 0 °C a zpracuje se s methyljodidem (12,0 g, 5,24 ml, 84,2 mmol) po kapkách. Směs se míchá při teplotě místnosti 20 hodin, zředí se ethylacetátem (100 ml) a přeruší vodou (50 ml). Organická vrstva se oddělí a extrahuje nasyceným hydrogenuhlíčitanem sodným (3 x 100 ml) a spojená hydrogenuhlíčitanová vrstva se okyselí na pH 2 použitím hydrogensíranu draselného. Ke kyselému roztoku se přidá nasycený chlorid sodný a produkt se extrahuje ethylacetátem (3 x 100 ml). Spojené ethylacetátové promývací roztoky se suší (síran hořečnatý) a zahuštěním se získá požadovaný produkt jako slabě nažloutlý olej (5,43 g, 73 %), MS: (M+H)⁺ 264⁺.

Benzylbromid (1,43 g, 1,00 ml, 8,36 mmol) se přidá k získanému oleji (2,00 g, 7,60 mmol) a uhličitanu draselnému (1,16 g, 8,36 mmol) v dimethylformamidu (12 ml). Směs se míchá 48 hodin a rozdělí se mezi vodu (100 ml) a ethylacetát (100 ml). Ethylacetátová vrstva se promyje nasyceným hydrogenuhličitanem sodným (3 x 50 ml), vodou (3 x 50 ml) a solankou (2 x 50 ml), suší se (síran hořečnatý) a zahuštěním se získá sloučenina A jako čirý olej (2,32 g, 86 %), MS $(M+H)^+$ 354⁺.

B. (R^{*})-N-//2-/(1,1-Dimethylethoxy)karbonyl/-1,2,3,4-tetrahydro-3-isochinolinyl/karbonyl/-N-methyl-L-methionin, fenylmethylester

Sloučenina A (1,5 g, 4,234 mmol) se míchá v dimethylsulfidu (0,6 ml) a kyselině chlorovodíkové v dioxanu (10 ml) po 30 minut. Směs se zahustí, rozpustí se v methylenchloridu (30 ml) a zahustí. Tento postup se opakuje pětkrát a získá se hydrochlorid aminu jako čiré sklo. Tento amin se rozpustí v methylenchloridu (20 ml) a ochladí na 0 °C. Přidá se terc.butyloxykarbonyl-L-1,2,3,4.tetrahydroisochinolin-3-karboxylová kyselina (1,76 g, 6,35 mmol), bis-(2-oxo-3-oxazolidinyl)-fosforový chlorid (3,23 g, 12,7 mmol) a N,N-diisopropylethylamin (1,64 g, 2,22 ml, 12,7 mmol). Reakční směs se míchá 24 hodin při 0 °C. Přidá se další bis-(2-oxo-3-oxazolidinyl)-fosforový chlorid (1,61 g, 6,35 mmol) a N,N-diisopropylethylamin (820 mg, 1,1 ml, 6,35 mmol) a reakční směs se míchá dalších 24 hodin při 0 °C. Reakční směs se zahustí a chromatografuje (silikagel, 4,1 x 20 cm, 40 % ethylacetát, 60 % hexan). Frakce, obsahující požadovanou sloučeninu se spojí a zahustí. Získá se sloučenina B jako čirý olej (2,4 g, 99 %).
 $(M+H)^+$ 513⁺

C. (R^*, R^*) -N-//2-/2-/2-//(1,1-Dimethylethoxy)karbonyl/amino/-3-methylbutyl/-1,2,3,4-tetrahydro-3-isochinolinyll/karbonyl/-N-methyl-L-methionin, fenylmethylester

Sloučenina C (800 mg, 50 %) se připraví jako čirý olej použitím sloučeniny B (1,4 g, 2,64 mmol) a sloučeniny 5B (770 mg, 3,84 mmol) ve dvoustupňovém postupu popsaném v příkladu 7B.

$(M+H)^+$ 590⁺

D. $/R^*/R^*(S^*-//N-//2-/2-/2-//(1,1-Dimethylethoxy)karbonyl/-amino/-3-/(trifenylmethyl)thio/propyl/-3-methylbutyl/-1,2,3,4-tetrahydro-3-isochinolinyll/karbonyl/-N-methyl-L-methionin, fenylmethylester$

Sloučenina D (150 mg, 16 %) se připraví jako čirý olej použitím sloučeniny C (600 mg, 1,00 mmol) a sloučeniny 1F (890 mg, 2,00 mmol) ve dvoustupňovém postupu popsaném v příkladu 7B.

E. $/R^*/R^*(S^*)//N-//2-/(2-Amino-3-merkaptopropyl)amino/-3-methylbutyl/-1,2,3,4-tetrahydro-3-isochinolinyll/-karbonyl/-N-methyl-L-methionin$

Titulní sloučenina (28 mg, 19 %) se připraví za použití sloučeniny D (150 mg, 0,161 mmol) ve dvoustupňovém postupu popsaném v příkladu 1H.

$/\alpha_D^{25} = -20,0^\circ$ (c= 0,1, methanol)

MS $(M+H)^+$ 497⁺

Elementární analýza pro 2,70 kyselina trifluorooctová . 5,50 voda

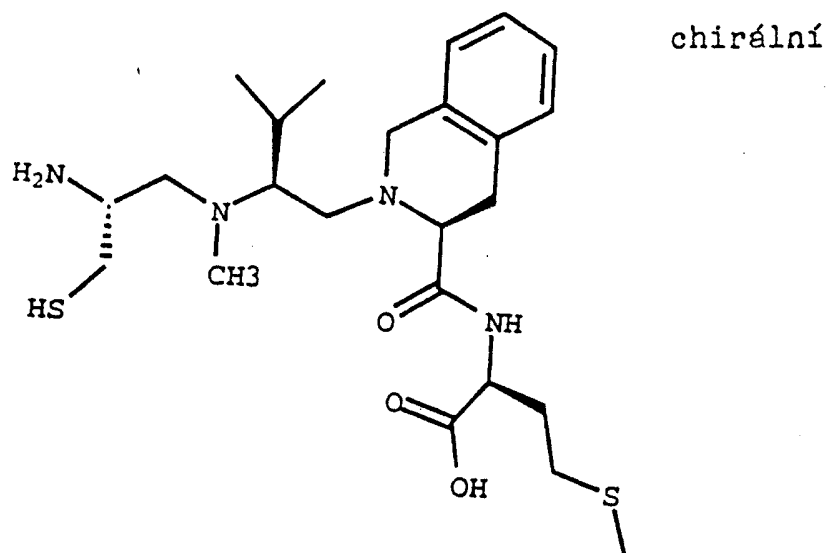
vypočteno 39,08 % C, 5,99 % H, 6,20 % N, 17,03 % F

nalezeno 39,12 % C, 5,38 % H, 6,22 % N, 17,03 % F

^1H NMR (CD_3OD , 270 MHz) δ (ppm) 7,19 (4H, m), 4,28 (4H, m), 3,46 (1H, m), 3,32 (2H, m), 2,82 (2H, m), 2,61 (2H, m), 2,49 (2H, m), 2,25 (1H, m), 2,12 (1H, m), 2,11 (3H, s), 2,01 (3H, s), 1,97 (1H, m), 0,88 (6H, m)

Příklad 57

(S^* , R^*)-N-//2-/2-/N-(2-Amino-3-merkaptopropyl)methyl-amino/-3-methylbutyl/-1,2,3,4-tetrahydro-3-isochinoliny/-karbonyl/-L-methionin, trifluoracetátová (2:3) sůl



A. (S)-(1-Formyl-2-methylpropyl)methyl-karbamová kyselina, 1,1-dimethylethylester

Sloučenina A (1,8 g, 58 %) se připraví jako čirý olej použitím N^2 -(1,1-dimethylethoxy)karbonyl/-N-methoxy- N,N^2 -dimethyl-L-valinamidu (4,0 g, 14,62 mmol) metodou popsanou v příkladu 1F.

($\text{M}+\text{H}$) $^+$ 522 $^+$

B. (R^*) -N-//2-/N-/(1,1-Dimethylethoxy)karbonyl/methylamino/-3-methylbutyl/-1,2,3,4-tetrahydro-3-isochinolinyl/karbonyl/-L-methionin, methylester

Sloučenina B (1,9 g, 60 %) se připraví jako čirý olej použitím sloučeniny 1A (6,0 g, 14,22 mmol) a sloučeniny A (1,8 g, 8,43 mmol) ve dvoustupňovém postupu popsaném v příkladu 7B.

$(M+H)^+$ 522⁺

C. $/R^*/R^*(S^*)//$ -N-//2-/2-/N-/2-//(1,1-Dimethylethoxy)karbonyl/amino/-3-/(trifenylmethyl)thio/propyl/methylamino/-3-methylbutyl/-1,2,3,4-tetrahydro-3-isochinolinyl/karbonyl/-L-methionin, methylester

Sloučenina C (1,1 g, 35 %) se připraví jako čirý olej použitím sloučeniny B (1,9 g, 3,64 mmol) a sloučiny 1F (8,4 g, 18,8 mmol) ve dvoustupňovém postupu popsaném v příkladu 7B.

$(M+H)^+$ 853⁺

D. (S^*, R^*) -N-//2-/2-/N-(2-Amino-3-merkaptopropyl)methylamino/-3-methylbutyl/-1,2,3,4-tetrahydro-3-isochinolinyl/karbonyl/-L-methionin, trifluoracetátová (2:3) sůl

Titulní sloučenina se (380 mg) připraví za použití sloučeniny C (500 mg, 0,587 mmol) metodou popsanou v příkladu 1H.

t.t. 113 až 114 °C, čistota 98 %, $[\alpha]_D^{25} = -38,0^\circ$ (c= 0,1, methanol), MS $(M+H)^+$ 497⁺

Elementární analýza pro 1,90 kyselina trifluoroctová. 1,00 voda:

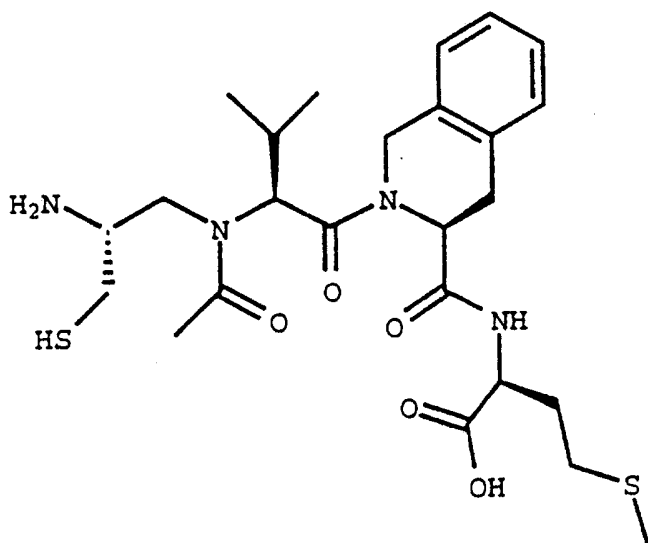
vypočteno 45,72 % C, 5,92 % H, 7,67 % N

nalezeno 45,75 % C, 5,94 % H, 7,99 % N

$^1\text{H-NMR}$ (CD_3OD , 400 MHz) δ (ppm) 7,27 (4H, m), 4,64 (1H, m), 4,39 (1H, m), 4,29 (2H, m), 3,56 (1H, m), 3,39 (3H, m), 3,01 (2H, m), 2,85 (4H, m), 2,60 (2H, m), 2,56 (3H, s), 2,18 (1H, m), 2,09 (3H, s), 1,94 (2H, m), 0,99 (3H, d, $J=6,8$ Hz), 0,82 (3H, d, $J=6,4$ Hz)

Příklad 58

(S^* , R^*)-N-//2-/N-Acetyl-N-(2-amino-3-merkaptopropyl)-L-valyl/-1,2,3,4-tetrahydro-3-isochinolinyl/karbonyl/-L-methionin, trifluoracetátová (1:1) sůl



A. (S^* , R^*)-N-//2-/N-Acetyl-N-/2-/(1,1-dimethylethoxy)-karbonyl/-amino/-3-/(trifenyImethyl)thio/propyl/-L-valyl/-1,2,3,4-tetrahydro-3-isochinolinyl/karbonyl/-L-methionin, methylester

Sloučenina 1G (700 mg, 0,821 mmol) se míchá v acetanhydridu (5,41 g, 53,0 mmol) a N,N-diisopropylethylaminu (3,70 g; 5,0 ml, 28,6 mmol) 24 hodin při teplotě místnosti. Směs se zahustí, rozpustí v methylenchloridu (30 ml) a zahustí. Posledně uvedený postup se opakuje pětkrát a získá se surový produkt jako hnědý olej (700 mg, směs).

MS (M+H)⁺ 895⁺

B. (S^{*},R^{*})-N-//2-/N-Acetyl-N-(2-amino-3-merkaptopropyl)-L-valyl/-1,2,3,4-tetrahydro-3-isochinolinyl/karbonyl/-L-methionin, trifluoracetátová (1:1) sůl

Titulní sloučeniny (41 mg) se připraví za použití sloučeniny A (700 mg, 0,82 mmol celkem) ve dvoustupňovém postupu popsáném v příkladu 1H. Čistota 98 %, $[\alpha]_D^{25} = -38,0^{\circ}$ (c = 0,1, methanol), MS (M+H)⁺ 539⁺

Elementární analýza pro 1,10 kyseliny trifluoroctové .

1,30 vody

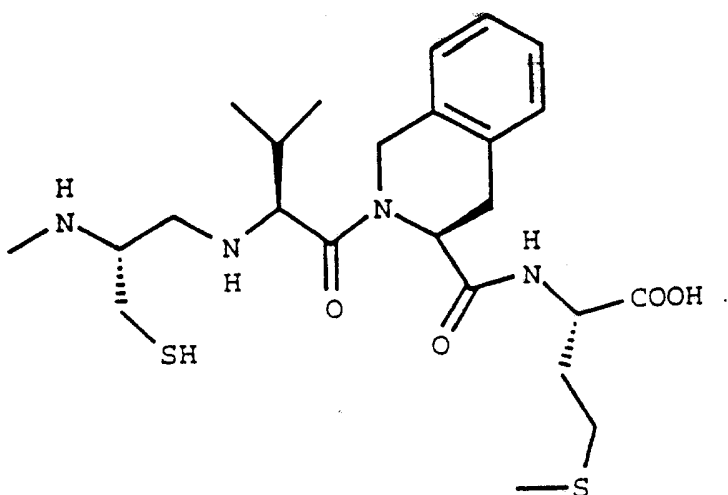
vypočteno 47,52 % C, 6,11 % H, 8,15 % N

nalezeno 47,52 % C, 6,07 % H, 8,09% N

¹H-NMR (CD₃OD, 270 MHz) δ (ppm) 7,19 (4H, m), 5,47-5,13 (2H, 4,58 (2H, m), 4,45 (2H, m), 4,20 (1H, m), 3,92 - 3,58 (2H, m), 3,42 (2H, m), 3,18 (1H, m), 2,84 - 2,55 (2H, m), 2,43 (1H, m), 2,31 (1H, m), 2,11 (3H, s), 1,98 (3H, m), 1,85 (1H, m), 0,75-1,13 (6H, m).

Příklad 59

(S^{*},R^{*})-N-//2-/N-/3-Merkapto-2-(methylamino)propyl/-L-valyl/-1,2,3,4-tetrahydro-3-isochinolinyl/karbonyl/-L-methionin, trifluoracetátová (2:3) sůl



A. N-Methyl-L-cystein

Jak je v práci Blodeau-a a spoř., Can.J.Chem., 45, 49, 1967, uváděno, přidá se kovový sodík k roztoku kyseliny (R)-4-thiazolidinkarboxylové (22,0 g, 165,2 mmol) v kapalném amoniaku a ochladí se na lázni aceton/suchý led na -30°C . Získá se modře zbarvený roztok, který přetrvává 20 minut. Reakce se přeruší chloridem amonným až je reakční směs čirá. Amoniak se odpaří proudem dusíku a získá se purpurový zbytek, který se okyslí koncentrovanou kyselinou chlorovodíkovou na $\text{pH} = 0$. Reakční směs se zahustí a extrahuje se horkým ethanolem (2 x 50 ml) a extrakty se zahustí, získá se sloučenina A (19,8 g, 89 %).

MS: $\text{M} + \text{H}^+$ 136⁺

B. N-Methyl-S-(trifenylmethyl)-L-cystein

Tritylalkohol (1,93 g, 7,39 mmol) se přidá k roztoku sloučeniny A (1,00 g, 7,39 mmol) v kyselině trifluoroctové (10 ml) a míchá se pod argonem. Reakční směs se zahustí, zbytek se trituruje s hexanem a extrahuje trichlormethanem (2 x 10 ml). Organická vrstva se zahustí a získá se sloučenina B (1,6 g, 57 %). TLC: R_f 0,16 (ethylacetát) vizualizováno UV, molybdenanem ceričitoamonným.

C. N-/(1,1-Dimethylethoxy)karbonyl/-N-methyl-S-(trifenylmethyl)-L-cystein

Di-terc.butyldikarbonát (1,50 g, 6,88 mmol) v tetrahydrofuranu (5 ml) se přikape k roztoku sloučeniny B (2,0 g, 5,29 mmol) v tetrahydrofuranu a vodném hydrogenuhličitanu sodném (10 ml, nasycený) při 0 °C. Reakce se ohřeje na teplotu místnosti a míchá se 15 hodin. Reakční směs se nalije do směsi solanky (25 ml) a methylenchloridu (50 ml). Vrstvy se oddělí a vodná vrstva se extrahuje dichlormethanem (2 x 50 ml). Spojené organické vrstvy se promyjí 10% hydrogensíranem draselným (2 x 20 ml) a solankou (25 ml) a suší se nad síranem hořečnatým, filtrují a zahuštěním se získá olej, který se čistí na silikagelové rychlé koloně za eluce trichlormethanem/methanolem/kyselinou octovou (9:1:9,1) a získá se sloučenina C (1,82 g, 72 %).

MS: $[M-H]^-$ 476⁻

D. (R)-N-/1-Formyl-2-/(trifenylmethyl)thio/ethyl/methyl-karbamová kyselina, 1,1-dimethylethylester

Sloučenina D (0,55 g, 57 %) se připraví použitím sloučeniny C (1,0 g, 2,09 mmol) ve dvoustupňovém postupu jak je popsáno v příkladu 1E a F.

MS: $[M+H]^+$ 521⁺

E. (S*,R*)-N-//2-/N-/2-/N-/(1,1-Dimethylethoxy)karbonyl/-methylamino/-3-/(trifenylmethyl)thio/propyl/-L-valyl/-1,2,3,4-tetrahydro-3-isochinolinyl/karbonyl/-L-methionin, methylester

Kyanoborohydrid sodný (0,023 g, 0,37 mmol) se přikape jako roztok v methanolu (0,5 ml) k míchanému roztoku slou-

čeniny D z příkladu 1 (0,17 g, 0,41 mmol) a sloučeniny D (0,14 g, 0,31 mmol) v kyselině octové (1 ml) a methanolu (1 ml) při 0 °C. Směs se pomalu ohřeje na teplotu místnosti a míchá se 15 hodin. Reakční směs se zředí nasyceným hydrogenuhlíčitanem sodným při 0 °C a extrahuje se ethylacetátem (3 x 20 ml). Spojené extrakty se promyjí solankou a suší se nad síranem hořečnatým, filtrují a zahustí, Produkt se čistí na silikagelové rychlé koloně za eluce 7/3, 1/1 hexanem/ethylacetátem. Získá se sloučenina E (0,141 g, 63 %).

MS: $[M+H]^+$ 867⁺

IR: (KBr) 2926, 1636, 1165, 702 cm⁻¹

F. (S^{*}, R^{*})-N-//2-/2-/N-/3-Merkapto-2-(methylamino)-propyl/-L-valyl/-1,2,3,4-tetrahydro-3-isochinolinyl/karboxyl/-L-methionin, trifluoracetátová (2:3) sůl

Hydroxid sodný (1N, 0,32 ml, 0,012 g, 0,31 mmol) se přidá k roztoku sloučeniny E (0,23 g, 0,26 mmol) v methanolu (2 ml). Po míchání po 3 hodiny při teplotě místnosti se reakce přeruší 10% kyselinou chlorovodíkovou (15 ml) a ethylacetátem (20 ml). Vrstvy se oddělí a vidná vrstva se extrahuje ethylacetátem (2 x 20 ml). Spojené organické vrstvy se promyjí 10% kyselinou chlorovodíkovou (1 x 10 ml) a solankou (1 x 20 ml). Organická vrstva se suší nad síranem hořečnatým, filtruje a zahuštěním se získá kyselina. Produkt se čistí prep HPLC (YMC S-10, ODS, 30 x 500 mm, C18 kolona) za eluce 10-90% vodným methanolem, obsahujícím 0,1 % kyseliny trifluoroctové, gradient během 30 minut. Frakce s produktem se zahustí a lyofilizují (0,13 g, 59 %).

Pevná látka se převede na sloučeninu F (0,072 g, 39 %) použitím metody popsané v příkladu 34D.

Elementární analýza pro $C_{24}H_{38}N_4O_4S_2 \cdot 0,35 H_2O \cdot 1,6$ kyselina trifluorooctová

vypočteno 46,71 % C, 5,81 % H, 8,01 % N

nalezeno 46,71 % C, 5,88 % H, 7,84 % N

TLC: R_f 0,32 (9/1/0,1 trichlormethan/methanol/kyselina octová), vizualizováno UV, PMA.

HPLC R_t 17,15 minut (99 %), 10-90% vodný methanol s 0,2 % pufru kyseliny fosforečné, 30 minut gradient, 1,5 ml/min, 220 nm, C18 (6,0 x 150 mm) kolona.

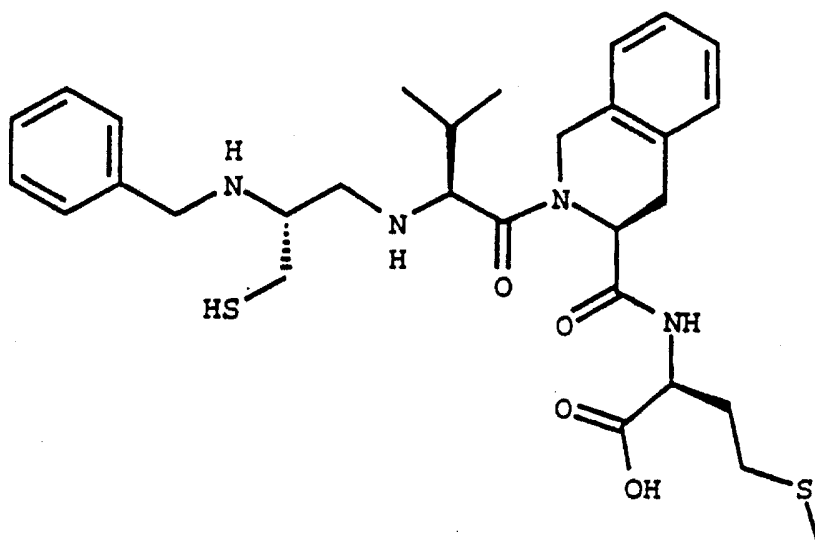
IR: (KBr) 2421, 1670, 1435, 1202, 1136, 721 cm^{-1}

MS: $M+H^+$ 511⁺

$\alpha/D = -25,5^\circ$ (c= 0,2, methanol)

Příklad 60

(S^{*},R^{*})-N-//1,2,3,4-Tetrahydro-2-N-/3-merkapt-2-/(fenylmethyl)-amino/propyl/-L-valyl/-3-isochinolinyl/karbonyl/-L-methionin, trifluoracetátová (2:3) sůl



A. (S*,R*)-N-//1,2,3,4-Tetrahydro-2-/N-/2-/(fenylmethyl)-amino/-3-/(trifenylmethyl)thio/propyl/-L-valyl/-3-isochinolinylnyl/karbonyl/-L-methionin, methylester

Sloučenina 1G (400 mg, 0,469 mmol) se míchá v kyselině trifluoroctové (7,5 g, 5,0 ml, 65,8 mmol) a dichlormethanu 30 minut. Směs se zahustí, rozpustí v methylenchloridu (50 ml) a zahustí. Posledně uvedený postup se opakuje pětkrát a získá se čiré sklo. Toto a benzaldehyd (50 mg, 0,05 ml, 0,469 mmol) se rozpustí v methanolu (10 ml) a ledové kyselině octové (0,2 ml). Po částech se během 15 minut přidá kyanoborohydrid sodný (30 mg, 0,469 mmol). Reakční směs se míchá 16 hodin. Směs se ochladí na 0 °C a pomalu se přidá nasycený hydrogenuhličitán sodný (10 ml). Produkt se pak extrahuje do ethylacetátu (60 ml). Ethylacetátová vrstva se promyje vodou (100 ml) a solankou (100 ml) a suší (síran hořečnatý), zahustí a chromatografuje (silikagel, 4,1 x 15 cm, 95 % dichlormethan, 5 % methanol). Frakce, obsahující požadovanou sloučeninu se spojí a zahuštěním se získá sloučenina A jako čirý olej (270 mg, 68 %).
(M+H)⁺ 843⁺

B. (S*,R*)-N-//1,2,3,4-Tetrahydro-2-/N-/3-merkaptto-2-/(fenylmethyl)amino/propyl/-L-valyl/-3-isochinolinylnyl/karbonyl/-L-methionin, trifluoracetátová (2:3)sůl

Titulní sloučenina (40 mg) se připraví za použití sloučeniny A (270 mg, 0,32 mmol) ve dvoustupňovém postupu popsaném v příkladu 1H.

čistota >94 %, $[\alpha]_D^{25} = -18,0^{\circ}$ (c= 0,1, methanol)

MS (M+H)⁺ 587⁺

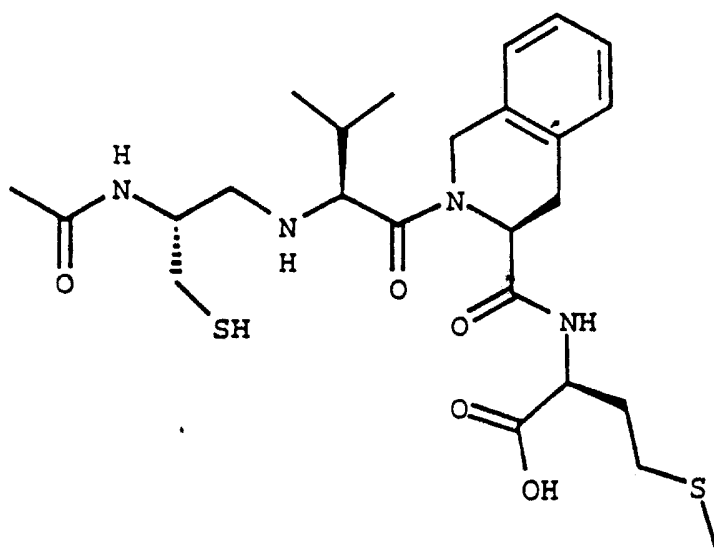
Elementární analýza pro 1,69 kyselina trifluoroctová.2,18 voda:

vypočteno 48,97 % C, 5,91 % H, 6,84 % N
nalezeno 48,96 % C, 5,57 % H, 6,71 % N

$^1\text{H-NMR}$ (CD_3OD , 270 MHz) δ (ppm) 7,42 (5H, m), 7,21 (4H, m), 4,93 (1H, m), 4,73 (1H, m), 4,51 (2H, m), 4,28 (1H, m), 3,52 (1H, m), 3,43 (1H, m), 3,18 (4H, m), 2,87 (3H, m), 1,98 (2H, m), 1,94 (3H, s), 1,87 (2H, m), 1,67 (1H, m), 1,06 (3H, d), 0,97 (3H, d)

Příklad 61

(S^* , R^*)-N-//2-/N-/2-(Acetylamino)-3-merkaptopropyl(-L-valyl/-1,2,3,4-tetrahydro-3-isochinolinyl/karbonyl/-L-methionin, trifluoracetátová (4:5) sůl



A. (S^* , R^*)-N-//2-/N-/2-Amino-3-/(trifenylmethyl)thio/-propyl/-L-valyl/-1,2,3,4-tetrahydro-3-isochinolinyl/karbonyl/-L-methionin, methylester

Sloučenina 1G (230 mg, 0,469 mmol) se míchá v kyselině trifluoroctové (7,5 g, 5,0 ml, 65,8 mmol) a methylenchloridu (5,0 ml) 30 minut. Směs se zahustí, rozpustí v methylenchloridu (50 ml) a zahustí. Tento poslední postup se opakuje pětkrát a získá se sloučenina A jako čiré sklo (200 mg, 99 %), ($\text{M}+\text{H}$) $^+$ 753 $^+$.

B. (S*,R*)-N-//2-/N-/2-(Acetylamino)-3-/(trifenylmethyl)thio/-propyl/-L-valyl/-1,2,3,4-tetrahydro-3-isochinolinyll/-karbonyl/-L-methionin, methylester

Sloučenina A (200 mg, 0,266 mmol) se rozpustí v di-chlormethanu (10 ml). N,N-Diisopropylethylamin (74 mg, 0,1 ml, 0,574 mmol) a acetanhydrid (55 mg, 0,1 ml, 0,541 mmol) se přidá. Směs se míchá 2 hodiny, zahustí a chromatografuje (silikagel, 4,1 x 15 cm, 50% ethylacetát, 50% hexan). Frakce, obsahující požadovanou sloučeninu se spojí a zahuš-těním se získá sloučenina B jako čirý olej (100 mg, 47 %).
(M+H)⁺ 795⁺

C. (S*,R*)-N-//2-/N-/2-(Acetylamino)-3-merkaptopropyl/-L-valyl/-1,2,3,4-tetrahydro-3-isochinolinyll/karbonyl/-L-methionin, trifluoracetátová (4:5) sůl

Titulní sloučenina (38 mg) se připraví za použití sloučeniny B (100 mg, 0,126 mmol) metodou popsanou v pří-kladu 1H.

t.t. 98 až 99 °C, čistota > 98,9 %

$\alpha_D^{25} = -41,0^\circ$ (c= 0,1, methanol)

MS (M+H)⁺ 539⁺

Analýza pro 1,25 kyselina trifluoroctová. 0,96 voda

vypočteno 47,28 % C, 5,94 % H, 8,02 % N

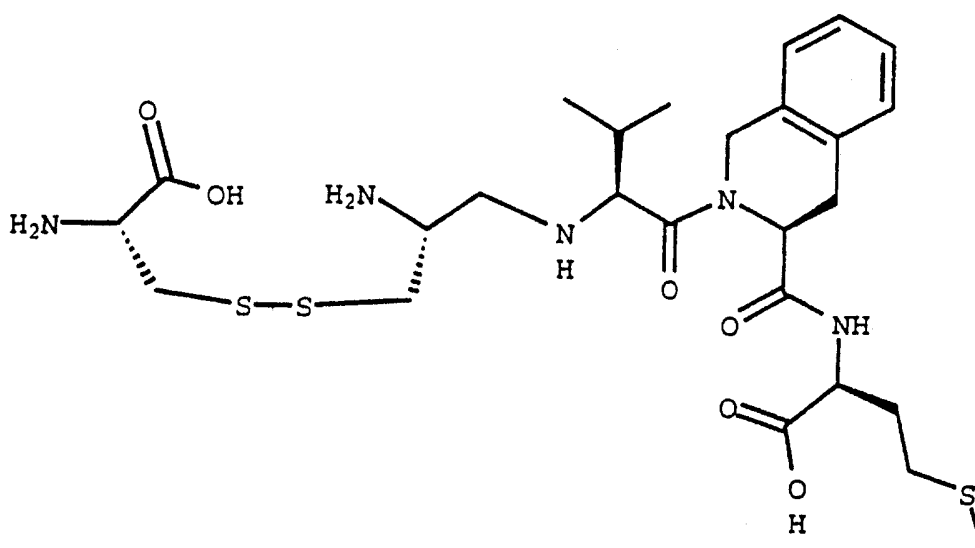
nalezeno 47,28 % C, 5,60 % H, 7,81 % N

¹H-NMR (CD₃OD, 400 MHz) δ (ppm) 7,28 (4H, m), 4,84 (2H, m), 4,65 (1H, m), 4,52 (2H, m), 4,31 (1H, m), 4,09 (1H, d, J= 6,4 Hz), 3,63 (1H, m), 3,48 (2H, m), 3,14 (1H, m), 2,68 (2H, m), 2,38 (2H, m), 1,99 (3H, m), 1,92 (1H, m), 1,89 (3H, s), 1,77 (1H, m), 1,66 (1H, m), 1,14 (6H, m).

Příklad 62

/R^{*}/S^{*}(S^{*})/-N-//2-/N-/2-Amino-3-/(2-amino-2-karboxyethyl)dithio/propyl/-L-valyl/-1,2,3,4-tetrahydro-3-isochinolinyl/karbonyl/-L-methionin

chirální



A. /R^{*}/S^{*}(S^{*})/-N-//2-/N-(2-Amino-3-/(2-amino-2-karboxyethyl)dithio/propyl/-L-valyl/-1,2,3,4-tetrahydro-3-isochinolinyl/karbonyl/-L-methionin

Cystin (59 mg, 0,24 mmol) se spojí se sloučeninou 1H (30 mg, 0,06 mmol) ve 2 ml 0,2M Hepes pufru upravujícího na pH 7,4. Roztok se nechá stát 5 hodin a potom se provede HPLC purifikace (YMC S-10, ODS 30 x 500 mm, monitorování při 220 nm, průtoková rychlost 20 ml/min, 30 až 50 % B během 45 minut). Vhodné frakce se spojí a lyofilizací se získá 14 mg (38 %) titulní sloučeniny.

t.t. 130 až 132 °C

MS: (M+H)⁺ 616⁺

¹H-NMR (CD₃OD, 270 MHz) δ (ppm) 7,14 (4H, m), 4,71 (1H, m), 4,60 (1H, m), 4,45 (1H, d), 4,30 (1H, d), 4,07 (2H, m), 3,55 (1H, m), 3,47 (1H, m), 3,07 (2H, dd), 2,87 (1H, m),

2,75 (1H, m), 2,6 (1H, m), 2,40 (1H, m), 2,1-1,75 (2H, m),
1,95 (3H, 2s), 0,99 (6H, m)

Elementární analýza pro $C_{26}H_{41}N_5O_6S_3 \cdot 4C_2HF_3O \cdot 1,3$ voda

vypočteno 37,28 % C, 4,38 % H, 6,39 % N

nalezeno 37,6 % C, 4,81 % H, 6,70 % N

$[\alpha]_D^{25} = -84^\circ$ (c= 0,05, methanol)

C-18 (YMC ODS, 5 mikrometrů, 120 Å, 6 x 150 mm), 220 nm,
isokratické podmínky při 10-90% vodném methanolu během 30
minut, obsahujícím 0,2 % kyseliny fosforečné, 1,5 ml/min
monitorování při 220 nm

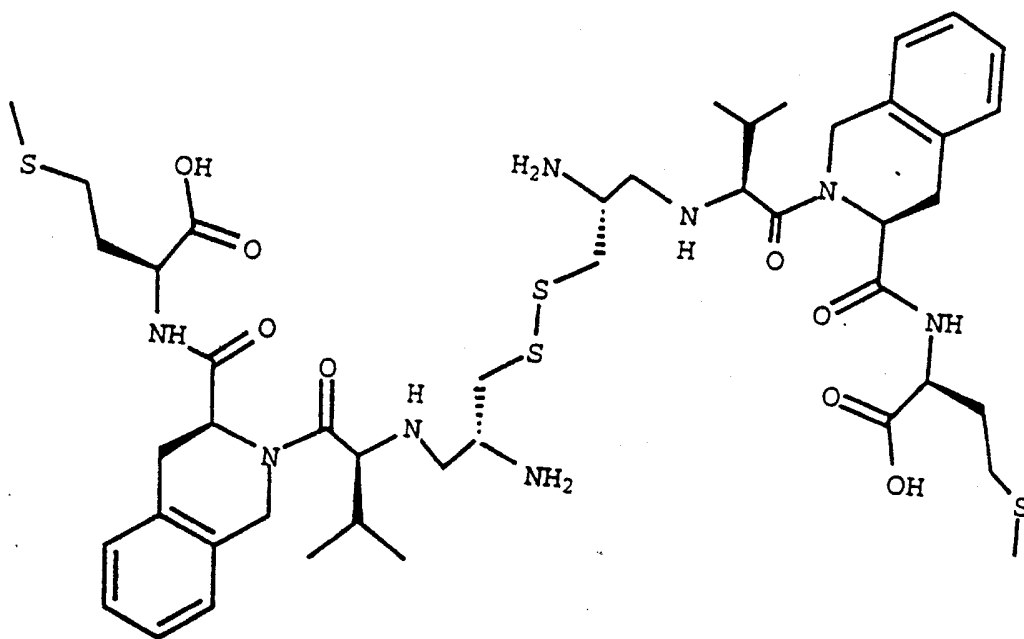
Rt 15,05 minut

HI = >98 %

Příklad 63

(S*,R*)-N,N'-Dithiobis(2-amino-3,1-propandiyl)bis/N-//2-
(L-valyl)-1,2,3,4-tetrahydro-3-isochinolinyl/karbonyl/-L-
methionin

chirální



A. (S*,R*)-N,N'-Dithiobis(2-amino-3,1-propandiyl)bis/N-//2-(L-valyl)-1,2,3,4-tetrahydro-3-isochinolinyl/karbonyl-L-methionin

Sloučenina 1H (70 mg, 0,141 mmol) se rozpustí v 0,1% kyselině trifluoroctové ve vodě (10 ml). Roztok se nechá stát při teplotě místnosti 72 hodin a lyofilizuje se. Tato surová pevná látka se čistí preparativní HPLC (YMC-C18 kolona, 2,2 x 25 cm, 5 mikrometrů, 120 angstromů, rozpoštědlo A, 0,1% kyselina trifluoroctová ve vodě, rozpouštědlo B, 0,1% kyselina trifluoroctová v acetonitrilu: 30-40 % B během 40 minut, průtoková rychlost 9 ml/min, UV monitorování při 220 nm). Frakce, obsahující požadovaný produkt se spojí a lyofilizací se získá titulní sloučenina (30 mg, 43 %).

t.t. 115 až 116 °C

čistota 96 %

$[\alpha]_D^{25} = -42,2^\circ$ (c= 0,09, methanol)

MS: (M+H)⁺ 991⁺

Elementární analýza pro 4,0 kyselinu trifluoroctovou .

3,71 vodu

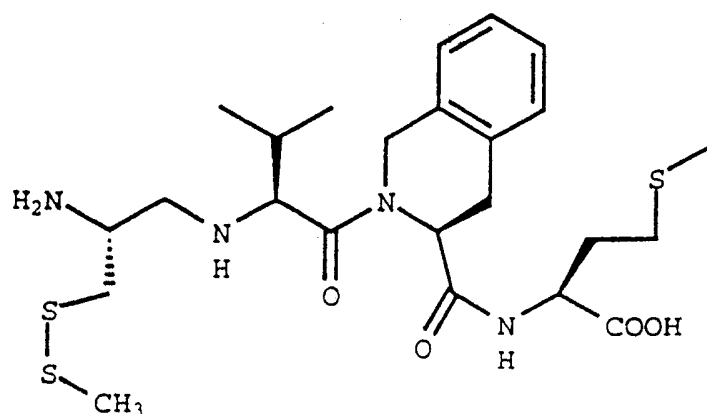
vypočteno 42,83 % C, 5,42 % H, 7,40 % N

nalezeno 42,83 % C, 5,28 % H, 7,47 % N

¹H-NMR (CD₃OD, 400 MHz) δ (ppm) 7,26 (8H, m), 4,84 (8H, m), 4,55 (2H, m), 4,38 (2H, m), 3,80 (2H, m), 3,57 (2H, m), 2,95 (4H, m), 2,72 (2H, m), 2,48 (2H, m), 2,31 (2H, m), 2,13 (4H, m), 2,05 (6H, m), 1,96 (4H, m), 1,07 (12H, m)

Příklad 64

(S*,R*)-N-//2-/N-/2-Amino-3-(methyldithio)propyl/-L-valyl/-1,2,3,4-tetrahydro-3-isochinolinyl/karbonyl/-L-methionin, trifluoracetátová (1:2) sůl



A. (S^* , R^*)-N-//2-/N-/2-Amino-3-(methyldithio)propyl/-L-valyl/-1,2,3,4-tetrahydro-3-isochinolinyI/karbonyl/-L-methionin, trifluoracetátová (1:2) sůl

K roztoku sloučeniny 1H (100 mg, 0,20 mmol) ve směsi methanolu/vody (0,5/0,3 ml, zbavené kyslíku) při 0 °C pod argonem se přidá methylmethanthiosulfonát (36 μ l, 0,35 mmol). Reakční směs se ohřeje a míchá při 5 °C přes noc (16 hodin). Těkavé látky se odstraní ve vakuu. Zbytek se čistí preparativní RP HPLC (YMC, S10, 30 x 500 mm, C18 kolona) za eluce 36% až 70% vodným methanolem během 1 hodiny. Vhodné frakce se spojí a lyofilizací se získá bílý lyofilát titulní sloučeniny (65 mg).

t.t. 77 až 80 °C

MS (FAB): $(M+H)^+ = 543$

IR (KBr) 2974, 1676, 1431, 1204, 1140 cm^{-1}

$[\alpha]_D^{20} = -45,9^{\circ}$ ($c = 0,18$, methanol)

HPLC: YMC, S3, C18 (6 x 150 mm) kolona, 220 nm, 1,5 ml/min: 10-90 % vodný methanol s 0,2% kyseliny fosforečné, lineární gradient během 30 minut

retenční čas: 18,8 minut

Elementární analýza pro $C_{24}H_{38}N_4O_4S_3 \cdot 1,6 H_2O$. 2,1 kyselina

trifluoroctová:

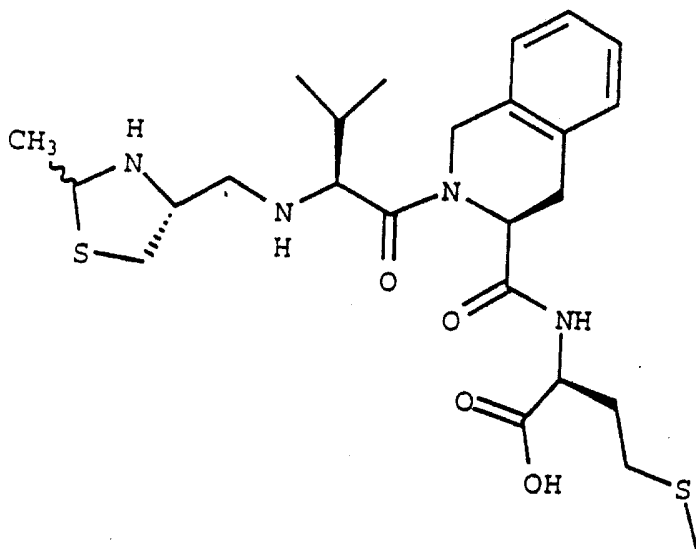
vypočteno: 41,76 % C, 5,38 % H, 6,91 % N, 11,86 % S, 14,76 % F

nalezeno 41,75 % C, 5,23 % H, 6,77 % N, 11,88 % S, 14,70 % F

1H NMR ($CDCl_3$ s 5 % CD_3OD , 400 MHz): δ 7,29-7,20 (4H, m), 4,92 (1H, d, $J = 16,7$ Hz), 4,77 (1H, m), 4,56 (1H, d, $J = 16,7$ Hz), 4,48 (1H, m), 3,50-2,90 (6H, m), 2,44 a 2,34 (3H, dva s), 2,2-2,1 (2H, m), 2,04 a 1,91 (3H, dva s), 1,80 - 1,60 (3H, m), 1,11 (3H, d, $J = 6,8$ Hz), 1,09 (6H, d, $J = 6,4$ Hz)

Příklad 65

N-//(S)-1,2,3,4-Tetrahydro-2-/N-//(4R)-2-methyl-4-thiazolidinyl/methyl/-L-valyl/-3-isochinolinylnyl/karbonyl/-L-methionin, trifluoracetátová (1:2) sůl



A. N-//(S)-1,2,3,4-Tetrahydro-2-/N-//(4R)-2-methyl-4-thiazolidinyl/methyl/-L-valyl/-3-isochinolinylnyl/karbonyl/-L-methionin, trifluoracetátová (1:2) sůl

Sloučenina 1H (60 mg, 0,121 mmol) se rozpustí v di-chlormethanu (10 ml). Roztok se ochladí na 0 °C a acetalde-hydu (0,39 g, 0,50 ml, 8,94 mmol) se přidá. Směs se míchá 1 hodinu při 0 °C. Rozpouštědlo se odpaří na polovinu obje-mu pod proudem dusíku a pevná látka se odfiltruje a suší za vakua 5 hodin a získá se titulní sloučenina (35 mg, 55 %).
t.t. 156 až 157 °C

čistota $\geq$ 93 %

$[\alpha]_D^{25} = -8,0$ (c= 0,1, methanol)

MS (M+H)⁺ 523⁺

Elementární analýza pro 1,90 kyselina trifluoroctová. 1,25 voda

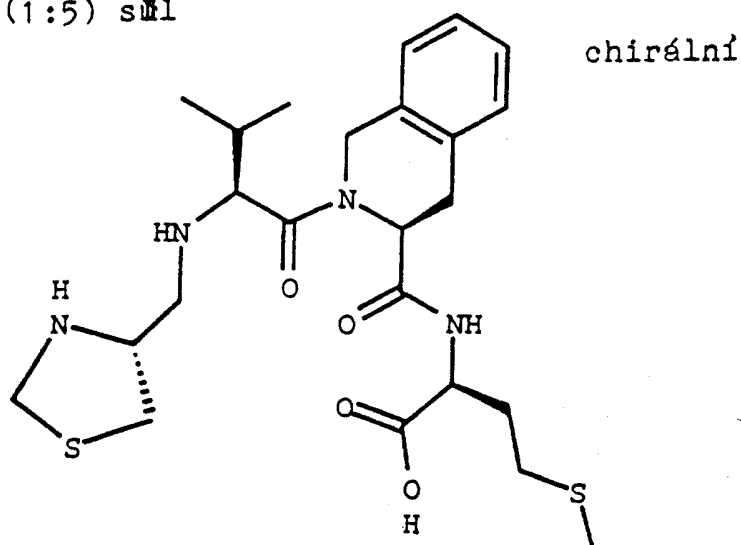
vypočteno 45,40 % C, 5,61 % H, 7,35 % N

nalezeno 45,39 % C, 5,47 % H, 7,00 % N

¹H-NMR (CD₃OD, 400 MHz) δ (ppm) 7,27 (4H, m), 4,75 (2H, m), 4,65 (1H, m), 4,56 (2H, m), 4,11 (1H, m), 4,03 (1H, m), 3,21 (1H, m), 3,16 (3H, m), 3,00 (1H, m), 2,75 (1H, m), 2,55 (2H, m), 2,42 (1H, m), 2,14 (1H, m), 2,07 (3H, m), 1,93 (1H, m), 1,43 (3H, m), 1,19 (3H, d, J= 6,8 Hz), 1,14 (3H, d, J= 7,3 Hz).

Příklad 66

(S^{*},R^{*})-N-//1,2,3,4-Tetrahydro-2-/N-(4-thiazolidinylmethyl)-L-valyl/-3-isochinolinyll/karbonyl/-L-methionin, trifluor-acetátová (1:5) směs



A. (R)-4-/(N-Methoxy-N-methylamino)karbonyl/-3-thiazolidin-karboxylová kyselina, 1,1-dimethylethylester

(R)-3,4-Thiazolidinkarboxylová kyselina, 3-(1,1-di-methylethyl)ester (1 g, 4,97 mmol), brom-tris-pyrrolidino-fosfonium-hexafluorofosfát (5,1 g, 10,93 mmol) a dimethyl-aminopyridin (200 mg, 1,6 mmol) se rozpustí v methylenchlo-ridu (20 ml). Přidá se N,O-dimethylhydroxylamin-hydrochlo-rid (1,07 g, 10,93 mmol) a N,N-diisopropylethylamin (4,5 ml, 25,7 mmol). Reakční směs se míchá 1 hodinu při teplotě místnosti a zahustí se a chromatografuje (silikagel, 7,1 x 20 cm, 40 % ethylacetát, 60 % hexan). Frakce, obsahující požadovanou sloučeninu se spojí a zahuštěním se získá slou-čenina A jako bílá pevná látka (700 mg, 51 %).

(M+H)⁺ 277⁺

B. (R)-4-Formyl-3-thiazolidinkarboxylová kyselina, 1,1-di-methylethylester

Sloučenina B (500 mg, 92 %) se připraví jako bílé sklo za použití sloučeniny A (0,7 g, 2,5 mmol) metodou popsanou v příkladu 1F.

C. (S^{*},R^{*})/-N-//2-/N-//3-/(1,1-Dimethylethoxy)karbonyl/-4-thiazolidinyl/methyl/-L-valyl/-1,2,3,4-tetrahydro-3-isochinolinyll/karbonyl/-L-methionin, methylester

Sloučenina C (400 mg, 25 %) se připraví použitím slou-čeniny B (0,5 g, 2,3 mmol) a sloučeniny 1D (1,6 g, 2,5 mmol) metodou popsanou v příkladu 1G.

MS: (M+H)⁺ 622⁺.

D. (S^{*},R^{*})/-N-//2-/N-//3-/(1,1-Dimethylethoxy)karbonyl/-4-thiazolidinyl/methyl-L-valyl/-1,2,3,4-tetrahydro-3-isochinolinyll/karbonyl/-L-methionin

Ke 25 ml methanolu se přidá sloučenina C (300 mg, 0,48 ml) spolu se 2N hydroxidem sodným upravujícím pH na 12. Nechá se míchat, dokud není dosaženo kvantitativní tvorby požadované sloučeniny podle TLC (chloroform, methanol, kyselina octová 85:10:5) (3 hodiny). pH se upraví na 3 až 4 použitím 1N hydrogenuhličitanu draselného a přidá se ethylacetát (30 ml). Vrstvy se oddělí a vodná vrstva se promyje ethylacetátem (3 x 30 ml). Organické extrakty se spojí, suší (síran hořečnatý) a zahuštěním se získá 312 mg sloučeniny D (98 %).

MS (M+H)⁺ 609⁺

E. (S^{*},R^{*})-N-//1,2,3,4-Tetrahydro-2-/N-(4-thiazolidinylmethyl)-L-valyl/-3-isochinolinyll/karbonyl/-L-methionin, trifluoracetátová (1:5) sůl

Sloučenina D 250 mg (0,41 mmol) se spojí s kyselinou trifluorooctovou (10 ml), methylenchloridem (5 ml) a dimethylsulfidem (0,5 ml). Roztok se 1 hodinu míchá a potom se zahustí za vakua. Přidá se methylenchlorid a roztok se znovu zahustí a pečlivě suší ve vakuu. Výtěžek zbytku, 240 mg (kvantitativní výtěžek). HPLC purifikace byla provedena za následujících podmínek: rozpouštědlo A: 0,1% kyselina trifluorooctová ve vodě, rozpouštědlo B: 0,1% kyselina trifluorooctová v methanolu (YMC S-10, ODS 30 x 500 mm, monitorování při 220 nm, průtoková rychlost 20 ml/min, 30-50 % B během 45 minut). Frakce, obsahující hlavní pík (220 nm) se spojí a lyofilizací se získá 194 mg (67 %) titulní sloučeniny jako bílého prášku.

MS (M+H)⁺ 509⁺

¹H-NMR (CD₃OD, 270 MHz) (ppm) 7,17 (4H, m), 4,67 (4H, m), 4,20 (2H, m), 3,28 (2H, m), 3,06 (2H, m), 2,89 (1H, q), 2,40 (1H, m), 1,95 (2H, s), 1,89 (1H, s), 1,09 (6H, m)

Elementární analýza pro C₂₄H₃₆N₄O₄S₂ · 1,4C₂HF₃O₂ · 1,53 voda

vypočteno 46,26 % C, 5,86 % H, 8,05 % N, 9,21 % S, 11,47 % F

nalezeno 46,26 % C, 5,70 % H, 7,82 % N, 9,03 % S, 11,46 % F

$[\alpha]_D^{25} = -30^{\circ}$ (c= 0,94, methanol)

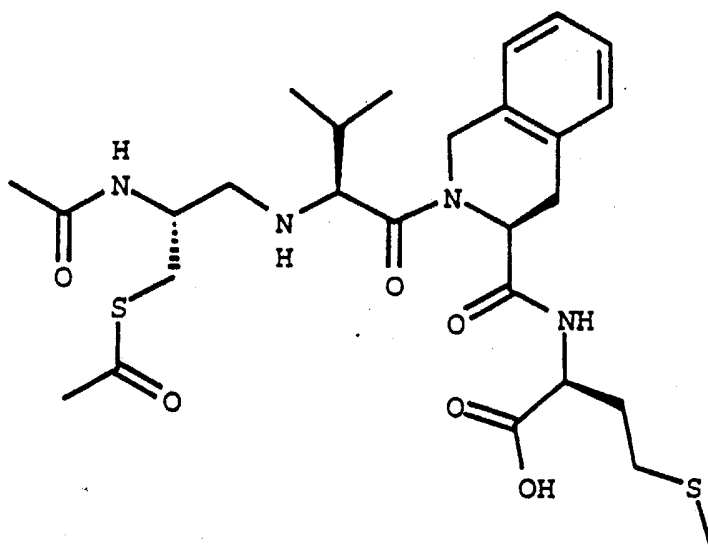
C-18 (YMC ODS, 5 mikrometrů, 120 Å, 6 × 150 mm), 220 nm, isokratické podmínky při 10-90% vodném methanolu během 30 minut, obsahujícím 0,2 % kyseliny fosforečné, 1,5 ml/min monitorování při 220 nm

Rt 17,34 min

HI= >97%

Příklad 67

(S^{*},R^{*})-N-//2-/N-/2-(Acetylamino)-3-(acetylthio)propyl/-L-valyl/-1,2,3,4-tetrahydro-3-isochinolinyl/karbonyl/-L-methionin, trifluoracetátová (2:3) sůl



A. (S^{*},R^{*})-N-//2-/N-/2-(Acetylamino)-3-(acetylthio)propyl/-L-valyl/-1,2,3,4-tetrahydro-3-isochinolinyl/karbonyl/-L-methionin, trifluoracetátová (2:3) sůl

Sloučenina 1H (70 mg, 0,141 mmol) se rozpustí v dichlormethanu (10 ml). Přidá se N,N-diisopropylethylamin (74 mg, 0,1 ml, 0,574 mmol) a acetanhydrid (55 mg, 0,1 ml, 0,541 mmol). Směs se míchá 2 hodiny, zahustí se a čistí preparativní HPLC (YMC S-10 ODS kolona, 30 x 500 nm, rozpouštědlo A 0,1 % kyseliny trifluoroctové v 90 % vody, 10 % methanolu, rozpouštědlo B 0,1 % kyseliny trifluoroctové v 10 % vody, 90 % methanolu, 50-100 % B v 70 minutách, průtoková rychlost 20 ml/min, UV monitorováno při 220 nm). Frakce, obsahující požadovaný produkt se spojí a lyofilizují. Získá se titulní sloučenina (30 mg).

t.t. 91 -92

čistota > 97,9 %

$[\alpha]_D^{25} = -37^{\circ}$ (c= 0,1, methanol)

MS (M+H)⁺ 581⁺

Elementární analýza pro 1,50 kyselina trifluoroctová.0,13 voda

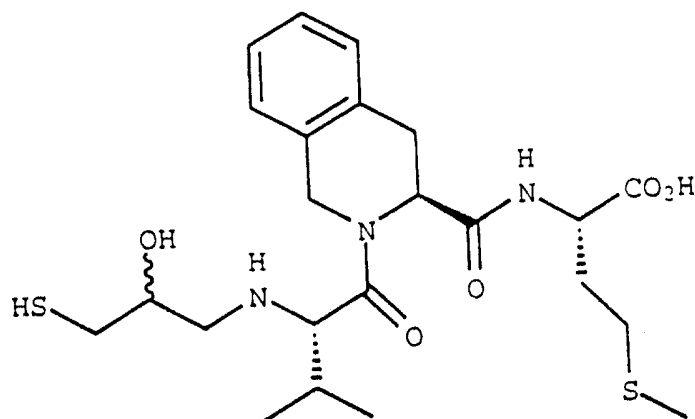
vypočteno 47,78 % C, 5,58 % H, 7,43 % N

nalezeno 47,78 % C, 5,78 % H, 7,55 % N

¹H-NMR (CD₃OD, 400 MHz) δ (ppm) 7,28 (4H, m), 4,89-4,68 (2H, m), 4,53 (2H, m), 4,32 (1H, m), 4,12 (1H, d, J= 7,3 Hz), 3,66 (1H, m), 3,49 (1H, d, J= 12,8Hz), 3,34 (1H, d, J= 10,7 Hz), 3,18-3,00 (3H, m), 2,40 (3H, s), 2,35 (1H, m), 2,01 (1H, m), 1,95 (3H, s), 1,89 (3H, s), 1,85 (1H, m), 1,71 (1H, m), 1,61 (1H, m), 1,13 (6H, m).

Příklad 68

N-//(S)-1,2,3,4-Tetrahydro-2-/N-(2-hydroxy-3-merkaptopropyl)-L-valyl/-3-isochinolinyl/-karbonyl/-L-methionin, trifluoracetátová (1:1) sůl



A. //T_rifenylmethyl)thio/methyl/oxiran

Směs trifenylmethylmerkaptanu (2,76 g, 10 mmol), (+)-epichlorhydrinu (1 ml, 12 mmol) a uhličitamu xcesného (4,87 g, 15 mmol) v dimethylformamidu (25 ml) se míchá při 25 °C 4 hodiny, potom se nalije do vody a extrahuje se ethylacetátem. Extrakt se suší a zahustí na olej. Olej se čistí rychlou chromatografií na silikagelu (300 g), eluce 4:1 hexanem:ethylacetátem, získá se olej. Triturací s petroletherem, obsahujícím několik kapek diethyletheru se získá sloučenina A jako bílá pevná látka (2,0 g, 60 %).

B. N-//(S)-1,2,3,4-Tetrahydro-2-/N-/2-hydroxy-3-/(trifenylmethyl)thio/propyl/-L-valyl/-3-isochinolinyl/karbonyl/-L-methionin, methylester

Směs sloučeniny A (500 mg, 1,5 mmol), sloučeniny 1D (640 mg, 1,4 mmol) a triethylaminu (0,28 ml, 2,0 mmol) v methanolu (7 ml) se zahřívá pod refluxem 15 hodin a potom se zahustí ve vakuu. Zbytek se rozdělí mezi ethylacetát a hydrogenuhlíčan sodný a vodná vrstva se dále extrahuje ethylacetátem (3x). Spojený extrakt se suší a zahustí. Zbytek se čistí rychlou chromatografií na silikagelu (300 g) za eluce stupňovým gradientem od 20:20:1 do 0:10:1 hexanu:ethylacetátu/pyridinu 20:kyselina octová 6 :voda 11/ a získá se sloučenina B jako zlatý olej (540 mg, 51 %).

C. N-//(S)-1,2,3,4-Tetrahydro-2-/N-/2-hydroxy-3-/(trifenylmethyl)thio/propyl/-L-valyl/-3-isochinolinyl/karbonyl/-L-methionin

Směs sloučeniny B (400 mg, 0,53 mmol), tetrahydrofuranu (10 ml), methanolu (10 ml) a 1N roztoku hydroxidu sodného (2 ml) se míchá při 25 °C 30 minut, potom se nalije do přebytku 1N kyseliny chlorovodíkové a extrahuje se ethylacetátem. Extrakt se suší a zahuštěním se získá sloučenina C (350 mg, 89 %).

D. N-//(S)-1,2,3,4-Tetrahydro-2-/N-(2-hydroxy-3-merkaptopropyl)-L-valyl/-3-isochinolinyl/-karbonyl/-L-methionin, trifluoracetátová (1:1) sůl

Směs sloučeniny C (330 mg, 0,45 mmol), kyseliny trifluoroctové (20 ml) a triethylsilanu (1 ml) se míchá jednu hodinu při 25 °C, potom se zahustí ve vakuu. Zbytek se čistí preparativní HPLC (YMC S-10 ODS kolona, 30 x 500 mm, eluce

50 ml/min lineárním gradientem od 32 % do 90% vodného methanolu, obsahujícího 0,1 % kyseliny trifluoroctové během 10 minut). Frakce se monitorují UV absorbcí při 220 nm. Frakce, obsahující první hlavní produkt při eluci se spojí a zahustí. Zbytek se lyofilizuje a získá se titulní sloučenina jako hygroskopická bílá pevná látka (100 mg, 42 %).

t.t. 91 až 105 °C

$[\alpha]_D^{20} = -33^\circ$ (c= 0,6, ethanol)

IR (KBr): 3432, 2974, 2575, 1672, 1437 cm^{-1}

MS: 498⁺ (M+H)⁺

¹H NMR: (CD₃OD) 1,18 (6H, m), 2,07 (3H, s), 1,8-4,9 (17H, m)

¹³C NMR (CD₃OD) 174,8, 173,3, 168,2, 168,2, 135,4, 135,3, 129,3, 129,2, 128,4, 128,2, 126,9, 126,8, 69,8, 68,7, 64,1, 63,3, 57,5, 51,7, 51,6, 32,5, 31,7, 31,0, 29,6, 29,3, 18,8, 18,5, 18,3, 18,2, 18,0, 15,2 ppm

TLC R_F = 0,67, EM silikagel, 1:1 ethylacetát:pyridin 20: kyselina octová 6:voda 11/, UV + PMA vybarvení

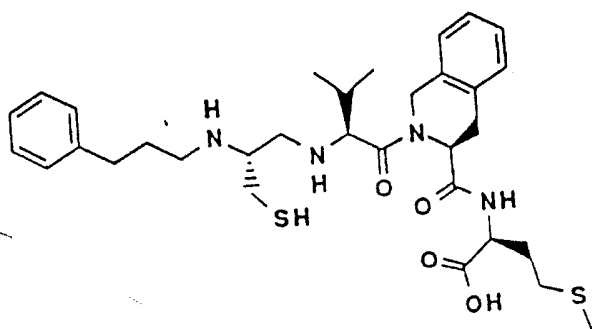
HPLC: 97 % při 17,8 minutách (YMC S3 ODS kolona, 6,0 x 150 mm, eluce 30minutovým lineárním gradientem od 10% do 90% vodného methanolu, obsahujícího 0,2 % kyseliny fosforečné, monitorováno při 220 nm)

Elementární analýza pro C₂₃H₃₅N₃O₅S₂·1,00 kyselina trifluoroctová. 0,5 voda

vypočteno 43,38 % C, 6,01 % H, 6,77 % N, 10,33 % S, 9,18 % F
nalezeno 43,38 % C, 6,18 % H, 6,67 % N, 10,48 % S, 9,29 % F

Příklad 69

(S*,R*)-N-//1,2,3,4-Tetrahydro-2-/N-/3-merkaptó-2-/(3-fenylpropyl)amino/propyl/-L-valyl/-3-isochinolinyl/karbonyl/-L-methionin, trifluoracetátová (1:2) sůl



- A. (S*,R*)-N-/(1,2,3,4-Tetrahydro-2-N-/2-/(3-phenylpropyl)-amino/-3-/(trifenylylmethyl)thio/propyl/-L-valyl/-3-iso-chinolinylyl/karbonyl/-L-methionin, methylester

Sloučenina 61A (450 mg, 0,598 mmol) a hydrocinnamaldehydu (80 mg, 0,080 ml, 0,598 mmol) se použijí v metodě popsané v příkladu 5C pro přípravu sloučeniny A jako čirého oleje (300 mg, 58 %), (M+H)⁺ 871⁺.

- B. (S*,R*)-N-/(1,2,3,4-Tetrahydro-2-N-/3-merkpto-2-/(3-phenylpropyl)amino/propyl/-L-valyl/-3-isochinolinylyl/karbonyl/-L-methionin, trifluoracetátová (1:2) sůl

Sloučenina A (300 mg, 0,34 mmol) se použije ve dvoustupňovém postupu popsaném v příkladu 1H pro přípravu titulní sloučeniny (57 mg, 20 %), čistota >99 % (YMC S3 ODS kolona, 6 x 150 mm, 220 mm, 1,5 ml/min, 0-100% B v A během 30 minut (A, 0,2 % H₃PO₄ v 90% vody, 10 % methanolu; B, 0,2 % H₃PO₄ v 90 % methanolu, 10 % vody), Rt. 22,96 minut, HI > 99 %), $[\alpha]_D^{25} = -41,0^\circ$ (c= 0,1, methanol), MS (M+H)⁺ 615⁺.

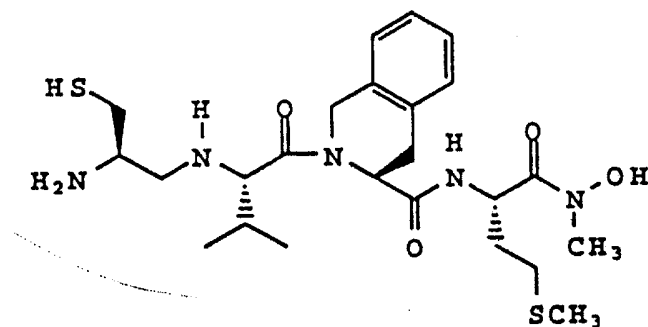
Elementární analýza pro 1,80TFA. 0,55H₂O
vypočteno 51,52 % C, 5,94 % H, 6,75 % N
nalezeno 51,54 % C, 5,77 % H, 6,65 % N.

¹H NMR (CD₃OD, 270 MHz) δ (ppm) 7,33-7,16 (9H, m), 4,84

(2H, m), 4,72 (1H, m), 4,69-4,59 (2H, m), 4,55 (1H, m), 4,37 (1H, m), 3,36 (2H, m), 3,16 -2,97 (3H, m), 2,85 (2H, m), 2,80-2,68 (2H, m), 2,48 (1H, m), 2,29 (1H, m), 2,21-2,08 (2H, m), 2,02 (3H, s), 1,99 (2H, m), 1,90 (1H, m), 1,15-0,92 (6H, m).

Příklad 70

(S*,R*)-N²-//2-/N-(2-Amino-3-merkaptopropyl)-L-valyl/-1,2,3,4-tetrahydro-3-isochinolinylnyl/karbonyl/-N-hydroxy-N-methyl-L-methioninamid, trifluoracetátová (1:2) sůl



A. (S*,R*)-N²-//2-/N-/2-//(1,1-Dimethylethoxy)karbonyl/-amino/-3-/(trifenylmethyl)thio/propyl/-L-valyl/-1,2,3,4-tetrahydro-3-isochinolinylnyl/karbonyl/-N-methyl-N-hydroxy-L-methioninamid

K roztoku sloučeniny 1G (9,8 g, 0,176 mmol v tetrahydroruranu:methanolu (70 ml, 5:2) se přidá 2N hydroxid lithný (15 ml, 30 mmol). Po 20 hodinách míchání se přidá další 2N hydroxid lithný (7,5 ml, 15 mmol). Po míchání po dalších 20 hodin se přidá 1N kyselina chlorovodíková (40 ml, 40 mmol) a reakční směs se zahustí na 60 ml. Vodný roztok

se extrahuje chloroformem (3 x 200 ml), suší se nad síranem sodným, filtruje a zahuštěním se získá bílá pevná látka (9,30 g, 100 %).

K roztoku této pevné látky (400 mg, 0,477 mmol) v dimethylformamidu (2 ml) při 0 °C pod dusíkem se přidá N-methylhydroxylamin-hydrochlorid (40 mg, 0,477 mmol), diisopropylethylamin (166 µl, 0,984 mmol) a benzotriazol-1-yloxytris(dimethylamino)fosfonium-hexafluorofosfát (211 mg, 0,477 mmol). Po 20 hodinách míchání směsi při 0 °C se reakční směs zředí ethylacetátem (100 ml) a postupně se promyje nasyceným hydrogenuhlíčitanem sodným (40 ml), 10% kyselinou citronovou (40 ml) a 10% chloridem lithným (3 x 40 ml), suší se nad síranem sodným, filtruje a zahustí se ve vakuu. Zbytek se čistí na silikagelu (100 ml, eluce hexan:aceton:methanol 5:2:0 až 1:1:0,01) a získá se sloučenina A (288 mg, 70 %, bílá pevná látka).

t.t. 83 až 86 °C

MS: (M+H)⁺ 868⁺

B. (S*,R*)-N²-//2-/N-(2-Amino-3-merkaptopropyl)-L-valyl/-1,2,3,4-tetrahydro-3-isochinolinyl/karbonyl/-N-hydroxy-N-methyl-L-methioninamid, trifluoracetátová (1:2) sůl

K roztoku sloučeniny A (288 mg, 0,332 mmol) v kyselině trifluoroctové (3 ml) při 0 °C pod dusíkem se přidá po kapkách triethylsilan až do zmizení žluté barvy. Po 30 minutách míchání při 0 °C se směs zahustí za vakua. Zbytek se čistí prep HPLC (YMC ODS S-10, 30 x 500 mm, 22 ml/min, 10-90% vodný methanol, 0,1 % kyseliny trifluoroctové, 60 min). Vhodné frakce se spojí, zahustí na 1/4 objemu a získá se titulní sloučenina (85 mg, 32 %).

t.t. 103 až 105 °C

MS: (M+H)⁺ 526⁺

IR (KBr) 1678, 1653, 1520, 1433, 1204, 1184 cm⁻¹

TLC R_f = 0,18 (chloroform:methanol:kyselina octová, 9:1:0,05, vizualizováno síranem ceričitoamonným)

/α/D = -30,2° /c= 0,24, methanol/

HPLC: 96,6 % při 11,2 min, YMC S3 ODS, 6,0 x 150 mm,

λ = 220 nm, 27% vodný methanol, 0,2% H₃PO₄, 1,5 ml/min

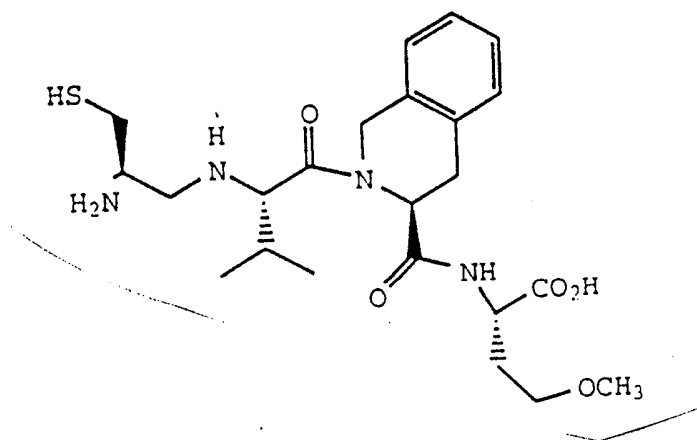
¹H NMR 270 MHz (CD₃OD): 1,15-1,38 (m, 6H), 1,87-2,62 (m, 8H), 2,92-3,86 (m, 11H plus CD₃OD), 4,42-5,23 (m, 4H plus voda), 7,32-7,42 (m, 4H)

¹³C NMR 100 MHz (CD₃OD): 15,5, 15,6, 17,4, 17,6, 17,9, 18,2, 18,4, 19,8, 20,2, 25,9, 26,1, 31,3, 31,5, 32,3, 32,5, 32,6, 32,8, 33,0, 33,7, 36,9, 37,0, 46,3, 47,7, 50,6, 51,1, 53,2, 57,6, 57,7, 57,8, 66,3, 66,4, 127,2, 127,8, 128,2, 128,9, 129,0, 129,1, 129,5, 129,7, 133,9, 134,3, 134,6, 135,8, 171,7, 172,6, 173,4, 173,5, 173,8

Elementární analýza pro C₂₄H₃₉N₅O₄S₂·1,00 H₂O·0,25 CF₃CO₂H
vypočteno: 42,77 % C, 5,45 % H, 8,75 % N, 8,01 % S, 16,02 % F
nalezeno: 42,86 % C, 5,14 % H, 8,51 % N, 7,97 % S, 16,23 % F

Příklad 71

(S^{*},R^{*})-N-//2-/N-(2-Amino-3-merkaptopropyl)-L-valyl/-1,2,3,4-tetrahydro-3-isochinoliny1/karbonyl/-O-methyl-L-homoserin, trifluoracetátová (1:2) sůl



A. O-Methyl-L-homoserin, methylester, hydrochloridová sůl

Hydrid sodný (60%, 0,365 g, 9,12 mmol) se přidá k roztoku N-terc.butyloxykarbonyl-L-homoserinu (1,0 g, 4,56 mmol) v tetrahydrofuranu (20 ml) při 0 °C. Reakční směs se míchá 30 minut při 0 °C, přidá se jodmethan (1,14 ml, 18,2 mmol) a reakce se ohřeje na teplotu místnosti a míchá se 16 hodin. Reakce se přeruší 1N kyselinou chlorovodíkovou (50 ml) a extrahuje se ethylacetátem (4 x 50 ml). Spojené organické extrakty se suší (síran hořečnatý), filtrují a zahustí za vakua. Získá se 1,0 g gumy, která se použije bez dalšího čištění. MS(M+H)⁺ 234

K roztoku této gumy v methanolu (60 ml), (guma 1,0 g, 4,29 mmol) se přidá bezvodý chlorovodík při 0 °C. Reakce se nechá ohřát na teplotu místnosti a míchá se 72 hodin. Roztok se zahustí ve vakuu a získá se sloučenina A (0,788 g, 100 %), guma, která se použije bez dalšího čištění. MS: (M+H)⁺ 148 volný amin.

B. (S*,R*)-N-//2-/N-/2-//(1,1-Dimethylethoxy)karbonyl/-
amino/-3-/(trifenylmethyl)thio/propyl/-N-/(fenylmethoxy)-
karbonyl/-L-valyl/-1,2,3,4-tetrahydro-3-isochinoliny/-
karbonyl/-O-methyl-L-homoserin, methylester

Diisopropylethylamin (1,12 ml, 6,45 mmol) se přidá k
roztoku sloučeniny A (0,394 g, 2,15 mmol), sloučeniny 32E
(1,81 g, 2,15 mmol) a benzotriazol-1-yloxytris-(dimethyl-
amino)fosfonium-hexafluorofosfátu (0,951 g, 2,15 mmol) v
acetonitrilu (30 ml) a dimethylformamidu (10 ml). Směs se
pak míchá při teplotě místnosti 16 hodin. Reakce se pře-
ruší 1N kyselinou chlorovočíkovou (50 ml) a extrahuje se
ethylacetátem (4 x 50 ml). Spojené organické extrakty se
promyjí 10% chloridem lithným (3 x 100 ml), suší, filtrují
a zahustí se za vakua. Zbytek se čistí rychlou chromato-
grafií (eluze 3/1 hexan/acetone) a získá se sloučenina B
(1,16 g, 56 %) jako bílá pevná látka.

t.t. 57 až 65 °C

TLC: R_f 0,85 (1/1 hexan/acetone, vizualizace ceričitým bar-
vivem).

MS: (M+H)⁺ 971

C. (S*,R*)-N-//2-/N-(2-Amino-3-merkaptopropyl)-L-valyl/-
1,2,3,4-tetrahydro-3-isochinoliny/karbonyl/-O-methyl-L-
homoserin, trifluoracetátová (1:2) sůl

Hydroxid sodný (1N, 1,02 ml, 1,96 mmol) se pomalu přidá
k roztoku sloučeniny B (0,50 g, 0,52 mmol) v methanolu
(15 ml) a míchá se 16 hodin. Směs se zahustí za vakua, zředí
se 1N HCl (100 ml) a extrahuje se dichlormethanem (3 x 100
ml). Spojené organické extrakty se suší (síran hořečnatý),
filtrují a zahuštěním za vakua se získá 0,497 g bílé pev-
né látky.

TLC: R_f = 0,37 (9/1 chloroform/methanol, vizualizace UV).

MS: (M+H)⁺ 979

Kyselina trifluoroctová (2,6 ml, 34 mmol) se přidá k roztoku výše uvedené pevné látky (0,5 g, 0,523 mmol) v dichlormethanu (5 ml) a triethylsilanu (0,836 ml, 5,23 mmol) při 0 °C. Výsledný roztok se ohřeje a míchá při teplotě místnosti 1 hodinu. Reakční směs se zahustí za vakua a zbytek se trituruje s hexanem (2 x 20 ml). Hexanová vrstva se odloží. V oddělené lahvi se zpracuje kyselina trifluoroctová (10,3 ml, 133 mmol) s thioanisolem (0,614 ml, 5,23 mmol), 1,2-ethandithiolem (0,439 ml, 5,23 mmol) a p-thiokresolem (0,649 g, 5,23 mmol) při 0 °C. Tento roztok se přidá ke triturovanému zbytku a potom se přikape bromtrimethylsilan (0,552 ml, 4,18 mmol, 8). Roztok se míchá při 0 °C 1,5 hodiny. Reakční směs se zpracuje s diethyletherem (30 ml) a výsledná sraženina se odstředí. Supernatant se odstraní a odloží a pevná látka se promyje a odstředí s diethyletherem (2 x 30 ml), ethylacetátem (1 x 30 ml) a diethyletherem (1 x 30 ml). Pevná látka se čistí preparativní HPLC (YMC S-15 ODS 50 x 500 mm, 220 nm, 50 ml/min, 26% až 74% vodný methanol s 0,1 % kyseliny trifluoroctové-gradient). Vhodné frakce se zahustí za vakua při teplotě místnosti a zbytek se lyofilizuje a získá se titulní sloučenina (0,197 g, 53 %).

t.t. 78 až 88 °C

TLC: R_f = 0,65 (6/3/1 n-propanol/hydroxid amonný/voda, vizualizace síranem ceričitoamonným (molybdenanem amonným/ kyselinou sírovou/vodou)

MS: (M+H)⁺ 481 volná báze

IR (KBr) 1204, 1431, 1676, 2974 cm⁻¹

Elementární analýza pro $C_{22}H_{36}N_4S_1O_5 \cdot 2,4 \text{ TFA} \cdot 0,3 \text{ H}_2O$

vypočteno 43,95 % C, 5,17 % H, 7,38 % N, 4,22 % S, 18,01 % F

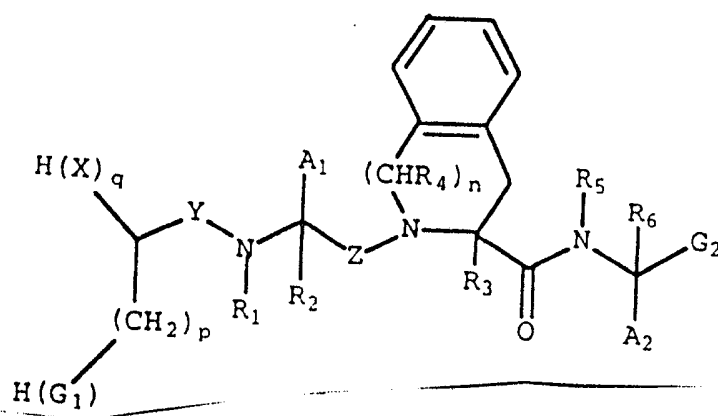
nalezeno 43,95 % C, 5,28 % H, 7,59 % N, 4,45 % S, 18,01 % F

^1H (DMSO- d_6 , ϑ 125 °C): 0,93 (d, 3H, $J = 6,45$), 1,00 (d, 3H, $J = 6,45$), 1,75-1,80 (m, 2H), 1,88-1,93 (m, 3H), 2,72-3,00 (m, 5H), 3,17 (s, 3H), 3,23-3,29 (m, 2H), 3,50 (š m, 1H), 4,23-4,25 (m, 1H), 4,53-4,96 (m, 3H), 7,16, 17,18 (s, 4H).

$[\alpha]_D = -19,1^\circ$, $c = 0,22$ (methanol)

P A T E N T O V É N Á R O K Y

1. Sloučenina obecného vzorce



nebo její enantiomer, diastereomer, farmaceuticky přijatelná sůl, prodrug nebo solvát, kde

A_1 a A_2 jsou každý nezávisle na druhém H, alkyl, substituovaný alkyl, cykloalkyl, substituovaný cykloalkyl, fenyl nebo substituovaný fenyl,

G_1 je S nebo O,

G_2 je H, $-C(O)OH$, $-C(O)NH_2$, 5-tetrazolyl, $-C(O)N(R_7)OH$ nebo GH_2OH ,

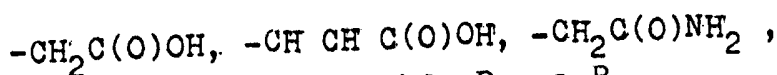
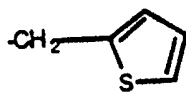
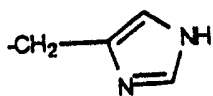
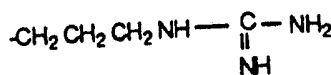
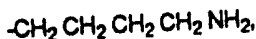
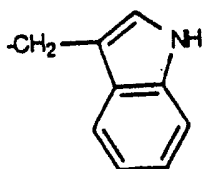
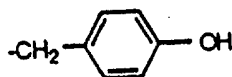
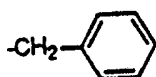
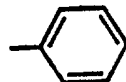
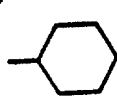
X je O nebo R_8N ,

Y a Z jsou nezávisle na sobě každý $-CH_2-$ nebo $-C(O)-$,

R_1 , R_2 , R_3 , R_4 , R_5 , R_6 a R_7 jsou každý nezávisle na ostatních H nebo alkyl,

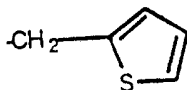
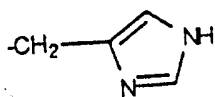
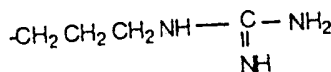
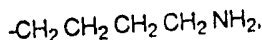
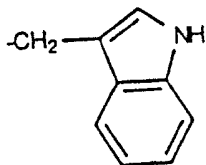
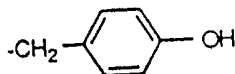
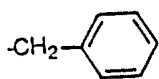
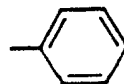
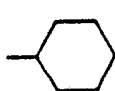
R_1 může být také alkanoyl,
 R_1 a A_1 mohou spolu tvořit $-(CH_2)_m$,
 R_8 je H, alkyl, fenyl, fenylalkyl, substituovaný fenyl,
(substituovaný fenyl)alkyl nebo $-C(O)R_9$,
 R_9 je H, alkyl, fenyl, fenylalkyl, substituovaný fenyl nebo
(substituovaný fenyl)alkyl,
 m je 3 nebo 4
 n je 0, 1 nebo 2,
 p je 0, 1 nebo 2 a
 q je 0 nebo 1 s tou podmínkou, že když p je 0 pak je
 q také 0.

2. Sloučenina podle nároku 1, kde A_1 a A_2 jsou nezávisle na sobě každý H nebo D-, L- nebo DL- $-CH_3$, $-CH(CH_3)_2$, $-CH_2CH(CH_3)_2$, $-CH(CH_3)CH_2CH_3$, $-C(CH_3)_3$, $-CH_2OH$, $-CH_2CH_2OH$, $-CH_2CH_2CH_2OH$, $-CH(OH)CH_3$,



$-CH_2CH_2C(O)NR_{11}R_{12}$, kde R_{11} a R_{12} jsou vždy nezávisle na druhém každé H, alkyl nebo fenyl, a R_{11} a R_{12} mohou spolu tvořit $-(CH_2)_o$, kde o je 2 až 6, $-CH_2CH_2C(O)NHOH$, $-CH_2SH$, $-CH_2CH_2S(O)_2NH_2$, $-CH_2CH_2OCH_3$ nebo $-CH_2CH_2SCH_3$.

3. Sloučenina podle nároku 2, kde A_1 a A_2 jsou vždy nezávisle na sobě H nebo L- $-\text{CH}_3$, $-\text{CH}(\text{CH}_3)_2$, $-\text{CH}_2\text{CH}(\text{CH}_3)_2$, $-\text{CH}(\text{CH}_3)\text{CH}_2\text{CH}_3$, $-\text{C}(\text{CH}_3)_3$, $-\text{CH}_2\text{OH}$, $-\text{CH}_2\text{CH}_2\text{OH}$, $-\text{CH}_2\text{CH}_2\text{CH}_2\text{OH}$, $-\text{CH}(\text{OH})\text{CH}_3$,



$-\text{CH}_2\text{C}(\text{O})\text{OH}$, $-\text{CH}_2\text{CH}_2\text{C}(\text{O})\text{OH}$, $-\text{CH}_2\text{C}(\text{O})\text{NH}_2$, $-\text{CH}_2\text{CH}_2\text{C}(\text{O})\text{NR}_{11}\text{R}_{12}$, kde R_{11} a R_{12} jsou vždy nezávisle na sobě každý H, alkyl nebo fenyl a R_{11} a R_{12} mohou spolu tvořit $-(\text{CH}_2)_o-$, kde o je 2 až 6, $-\text{CH}_2\text{CH}_2\text{C}(\text{O})\text{NHOH}$, $-\text{CH}_2\text{SH}$, $-\text{CH}_2\text{CH}_2\text{SH}$, $-\text{CH}_2\text{CH}_2\text{S}(\text{O})_2\text{NH}_2$, $-\text{CH}_2\text{CH}_2\text{OCH}_3$ nebo $-\text{CH}_2\text{CH}_2\text{SCH}_3$.

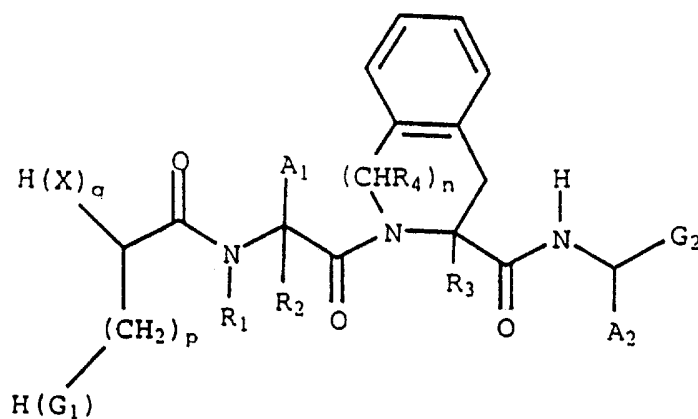
4. Sloučenina podle nároku 3, kde A_1 je L- $-\text{CH}_3$, $-\text{CH}(\text{CH}_3)_2$, $-\text{CH}_2\text{CH}(\text{CH}_3)_2$, $-\text{C}(\text{CH}_3)_3$, $-\text{CH}(\text{CH}_3)\text{CH}_2\text{CH}_3$, $-\text{CH}_2\text{OH}$ nebo $-\text{CH}(\text{OH})\text{CH}_3$ a A_2 je L- $-\text{CH}_2\text{CH}_2\text{SCH}_3$, $-\text{CH}_2\text{CH}_2\text{OH}$, $-\text{CH}_2\text{CH}_2\text{CH}_2\text{OH}$, $-\text{CH}_2\text{CH}_2\text{C}(\text{O})\text{NR}_{11}\text{R}_{12}$, kde R_{11} a R_{12} jsou každý nezávisle na druhém H, alkyl nebo fenyl a R_{11} a R_{12} mohou spolu tvořit $-(\text{CH}_2)_o-$, kde o je 2 až 6, $-\text{CH}_2\text{CH}_2\text{OCH}_3$ nebo $-\text{CH}_2\text{CH}_2\text{SH}$.

5. Sloučenina podle nároku 1, kde n je 1.

6. Sloučenina podle nároku 1, kde R_8 je H.

7. Sloučenina podle nároku 1, kde A_1 je L- $-\text{CH}_3$, $-\text{CH}(\text{CH}_3)_2$, $-\text{CH}_2\text{CH}(\text{CH}_3)_2$, $-\text{C}(\text{CH}_3)_3$, $-\text{CH}(\text{CH}_3)\text{CH}_2\text{CH}_3$, $-\text{CH}_2\text{OH}$ nebo $-\text{CH}(\text{OH})\text{CH}_3$, A_2 je L- $-\text{CH}_2\text{CH}_2\text{SCH}_3$, $-\text{CH}_2\text{CH}_2\text{OH}$, $-\text{CH}_2\text{CH}_2\text{CH}_2\text{OH}$, $-\text{CH}_2\text{CH}_2\text{C}(\text{O})\text{NR}_{11}\text{R}_{12}$, kde R_{11} a R_{12} jsou každý nezávisle na druhém H, alkyl nebo fenyl, a R_{11} a R_{12} mohou spolu tvořit $-(\text{CH}_2)_o-$, kde o je 2 až 6, $-\text{CH}_2\text{CH}_2\text{OCH}_3$ nebo $-\text{CH}_2\text{CH}_2\text{SH}$, G_1 je S, G_2 je $-\text{C}(\text{O})\text{OH}$, X je R_8N , Y je $-\text{CH}_2-$, R_1 , R_2 , R_3 , R_4 , R_5 , R_6 , R_7 a R_8 jsou každý H, n je 1 a p je 1.

8. Sloučenina podle nároku 1 obecného vzorce



nebo její enantiomer, diastereomer, farmaceuticky přijatelná sůl, prodrug nebo solvát, kde

A_1 a A_2 jsou nezávisle na sobě každý H, alkyl, substituovaný alkyl, cykloalkyl, substituovaný cykloalkyl, fenyl, nebo substituovaný fenyl,

G_1 je S nebo O,

G_2 je H, $-\text{C}(\text{O})\text{OH}$, $-\text{C}(\text{O})\text{NH}_2$, $-\text{C}(\text{O})\text{N}(\text{R}_7)\text{OH}$ nebo $-\text{CH}_2\text{OH}$,

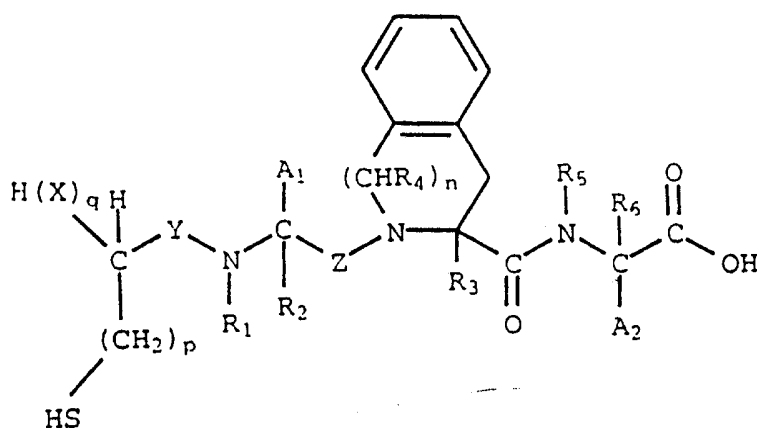
X je O nebo R_8N ,

R_1 , R_2 , R_3 , R_4 a R_7 jsou každý nezávisle na druhém H nebo alkyl,

R_1 může být také alkanoyl,

R_1 a A_1 spolu mohou tvořit $-(CH_2)_m$,
 R_8 je H, alkyl, fenyl, fenylalkyl, substituovaný fenyl,
 (substituovaný fenyl)alkyl nebo $-C(O)R_9$,
 R_9 je H, alkyl, fenyl, fenylalkyl, substituovaný fenyl
 nebo (substituovaný fenyl)alkyl,
 m je 3 nebo 4,
 n je 0, 1 nebo 2
 p je 0, 1 nebo 2 a
 q je 0 nebo 1 s tou podmínkou, že když p je 0 je také
 q 0.

9.. Sloučenina podle nároku 1 obecného vzorce



nebo její enantiomer, diastereomer, farmaceuticky přijatelná
 sůl, prodrug nebo solvát, kde
 A_1 a A_2 jsou každý nezávisle H, alkyl, substituovaný alkyl,
 cykloalkyl, substituovaný cykloalkyl, fenyl nebo substi-
 tuovaný fenyl,
 X je O nebo R_8N ,
 Y a Z jsou nezávisle $-CH_2-$ nebo $-C(O)-$,
 R_1 , R_2 , R_3 , R_4 , R_5 , R_6 a R_7 jsou každý nezávisle H nebo
 alkyl,
 R_1 může být také alkanoyl,

R_1 a A_1 spolu mohou tvořit $-(CH_2)_m$,
 R_8 je H, alkyl, fenyl, fenylalkyl, substituovaný fenyl,
(substituovaný fenyl)alkyl nebo $-C(O)R_9$,
 R_9 je H, alkyl, fenyl, fenylalkyl, substituovaný fenyl nebo
(substituovaný fenyl)alkyl,
 m je 3 nebo 4,
 n je 0, 1 nebo 2,
 p je 0, 1 nebo 2 a
 q je 0 nebo 1 s podmínkou, že když je p 0 je q také 0.

10. Sloučenina podle nároku 9, kde A_1 je L- $-CH_3$,
 $-CH(CH_3)_2$, $-CH_2CH(CH_3)_2$, $-C(CH_3)_3$, $-CH(CH_3)CH_2CH_3$, $-CH_2OH$
nebo $-CH(OH)CH_3$, A_2 je L- $-(CH_2)_2SCH_3$, $-CH_2CH_2OH$,
 $-CH_2CH_2CH_2OH$, $-CH_2CH_2C(O)NR_{11}R_{12}$, kde R_{11} a R_{12} jsou každý
nezávisle na druhém H, alkyl nebo fenyl, a R_{11} a R_{12} spolu
mohou tvořit $-(CH_2)_o-$, kde o je 2 až 6, $-CH_2CH_2OCH_3$ nebo
 $-CH_2CH_2SH$, Y je $-CH_2-$, Z je $-C(O)-$, X je R_8N ,
 R_1 , R_2 , R_3 , R_4 , R_5 , R_6 a R_8 jsou H, n je 1 a p je 1.

11. Sloučenina podle nároku 1, vybraná ze skupiny, zahr-
nující

$(R^*, S^*)-N-//2-N-(2-amino-3-merkaptopropyl)-L-valyl/-$
1,2,3,4-tetrahydro-3-isochinolinyl/karbonyl/-L-methionin,

$(R^*)-N-//2-N-(L-cysteinyI)-L-valyl/-1,2,3,4-tetrahydro-3-$
isochinolinyl/karbonyl/-L-methionin,

$(R^*)-N-//2-N-(L-cysteinyI)-L-valyl/-1,2,3,4-tetrahydro-3-$
isochinolinyl/karbonyl/-L-methionin, methylester,

$(R^*)-N-//2-N-(3-merkaptol-oxopropyl)-L-valyl/-1,2,3,4-$
tetrahydro-3-isochinolinyl/karbonyl/-L-methionin,

(R*,R*)-N-//2-/2-(L-cysteinyllamino)-3-methylbutyl/-1,2,3,4-tetrahydro-3-isochinolinyll/karbonyll/-L-methionin,

(R*)-N-//2-/N-(3-merkaptopropyl)-L-valyl/-1,2,3,4-tetrahydro-3-isochinolinyll/karbonyll/-L-methionin,

(R*)-N-//2-/N-(3-merkaptopropyl)-L-alanyl/-1,2,3,4-tetrahydro-3-isochinolinyll/karbonyll/-L-methionin,

(R*)-N-//2-/N-(3-merkaptopropyl)-N-methyl-L-valyl/-1,2,3,4-tetrahydro-3-isochinolinyll/karbonyll/-L-methionin,

(R*,R*)-N-//2-/2-/(3-merkaptopropyl)amino/-3-methylbutyl/-1,2,3,4-tetrahydro-3-isochinolinyll/karbonyll/-L-methionin,

(R*)-N-//2-/N-(3-merkaptopropyl)-L-propyl/-1,2,3,4-tetrahydro-3-isochinolinyll/karbonyll/-L-methionin,

(R*)-N-//2-/N-(2-merkaptoethyl)-L-valyl/-1,2,3,4-tetrahydro-3-isochinolinyll/karbonyll/-L-methionin,

(R*)-N-//2-/N-(3-merkapto-1-oxopropyl)-L-valyl/-1,2,3,4-tetrahydro-3-isochinolinyll/karbonyll/-L-methionin, methyl-ester,

(R*,S*)-2-/N-(2-amino-3-merkaptopropyl)-L-valyl/-1,2,3,4-tetrahydro-N-/3-(methylthio)propyl/-3-isochinolinkarboxamid,

(R*)-2-/N-(3-merkaptopropyl)-L-valyl/-1,2,3,4-tetrahydro-N-/3-(methylthio)propyl/-3-isochinolinkarboxamid,

(R*)-N-//2-/N-(L-cysteinyll)-L-valyl/-1,2,3,4-tetrahydro-3-isochinolinyll/karbonyll/-L-alanin,

(R*,R*)-N-//2-/N-(2-amino-4-hydroxy-1-oxobutyl)-L-valyl/-1,2,3,4-tetrahydro-3-isochinolinyll/karbonyll/-L-methionin,

(R*,R*)-2-/N-(L-cysteinył)-L-valyl/-1,2,3,4-tetrahydro-N-
/1-(hydroxymethyl)-3-(methylthio)propyl/-3-isochinolinkar-
boxamid,

(R*)-N-//2-(L-cysteinył)-L-valyl/-1,2,3,4-tetrahydro-3-
isochinolinył/karbonył/-L-fenylalanin,

(R*)-N-//2-/N-(L-cysteinył)-L-valyl/-1,2,3,4-tetrahydro-3-
isochinolinył/karbonył/-L-serin,

(R*)-N²-//2-/N-(L-cysteinył)-L-valyl/-1,2,3,4-tetrahydro-
3-isochinolinył/karbonył/-N-hydroxy-L-methioninamid,

(R*)-N-//2-/N-(L-cysteinył)-L-valyl/-1,2,3,4-tetrahydro-3-
isochinolinył/karbonył/-3-(2-thienyl)-DL-alanin,

(R*)-N-//2-/N-(L-cysteinył)glycyl/-1,2,3,4-tetrahydro-3-
isochinolinył/karbonył/-L-methionin,

(R*)-N²-//2-/N-(L-cysteinył)-L-valyl/-1,2,3,4-tetrahydro-3-
isochinolinył/karbonył/-L-glutamin,

(R*)-N-//2-/N-(L-cysteinył)-L-valyl/-1,2,3,4-tetrahydro-
3-isochinolinył/karbonył/-L-histidin,

(R*)-N-//2-/N-(L-cysteinył)-L-valyl/-1,2,3,4-tetrahydro-
3-isochinolinył/karbonył/-3-(fenylmethyl)-L-alanin,

(R*)-N-//2-/N-(L-seryl)-L-valyl/-1,2,3,4-tetrahydro-3-iso-
chinolinył/karbonył/-L-methionin,

(R*,R*)-2-/N-(3-merkapt-1-oxopropyl)-L-valyl/-1,2,3,4-
tetrahydro-N-/3-(methylthio)-1-(1H-tetrazol-5-yl)propyl/-
3-isochinolinkarboxamid,

(R^*, S^*) -N-//2-/N-(2-amino-3-merkaptopropyl)-N-methyl-L-valyl/-1,2,3,4-tetrahydro-3-isochinolinyll/karbonyl/-L-methionin,

(R^*, R^*, S^*) -N-//2-/(2-amino-3-merkaptopropyl)amino/-3-methylbutyl/-1,2,3,4-tetrahydro-3-isochinolinyll/karbonyl/-L-methionin,

(R^*) -N-//1-(N-(L-cysteinyll)-L-valyl/-2,3-dihydro-1H-indol-2-yl/karbonyl/-L-methionin,

(S^*, R^*) -N-//2-/2-/N-(2-amino-3-merkaptopropyl)-L-valyl/-1,2,3,4-tetrahydro-3-isochinolinyll/karbonyl/-L-methionin, methylester,

/3S_{*}/2/R^{*}(S^{*})/, 3R^{*}(R^{*})/-2-/N-(2-amino-3-merkaptopropyl)-L-valyl/-1,2,3,4-tetrahydro-N-(tetrahydro-2-oxo-3-furanyl)-3-isochinolinkarboxamid,

(S^*, R^*) -N²-//2-/N-(2-amino-3-merkaptopropyl)-L-valyl/-1,2,3,4-tetrahydro-3-isochinolinyll/karbonyl/-N-hydroxy-L-methioninamid,

/R-(R^{*}, S^{*})/-N²-//2-/N-(2-amino-3-merkaptopropyl)-L-valyl/-1,2,3,4-tetrahydro-3-isochinolinyll/-karbonyl/-L-glutamin,

/R-(R^{*}, S^{*})/-2-/N-(2-amino-3-merkaptopropyl)-L-valyl/-1,2,3,4-tetrahydro-N-(tetrahydro-2-oxo-3-thienyl)-3-isochinolinkarboxamid,

(S^*, R^*) -N²-//2-/N-(2-amino-3-merkaptopropyl)-L-valyl/-1,2,3,4-tetrahydro-3-isochinolinyll/karbonyl/-L-asparagin,

(S^*, R^*) -N-//2-/(2-amino-3-merkaptopropyl)-L-valyl/-1,2,3,4-tetrahydro-3-isochinolinyll/karbonyl/-L-norleucin,

(S*,R*)-N-/(2-/N-(2-amino-3-merkaptopropyl)-L-valyl/-1,2,3,4-tetrahydro-3-isochinolinyll/karbonyl/- γ -(aminosulfonyl)-L- α -aminomáselná kyselina,

(S*,R*)-N-//2-/N-(2-amino-3-merkaptopropyl)-L-valyl/-1,2,3,4-tetrahydro-3-isochinolinyll/karbonyl/-L-glutamová kyselina,

(S*,R*)N²-//2-/N-(2-amino-3-merkaptopropyl)-L-valyl/-1,2,3,4-tetrahydro-3-isochinolinyll/karbonyl/-N⁵-hydroxy-L-glutamin,

/R-(R*,S*)/-N²-//2-/N-(2-amino-3-merkaptopropyl)-L-valyl/-1,2,3,4-tetrahydro-3-isochinolinyll/karbonyl/-L-methioninamid,

N-//(S)-2-/N-/(R)-2-amino-3-merkaptopropyl/-L-valyl/-1,2,3,4-tetrahydro-3-isochinolinyll/karbonyl/-2-methyl-DL-methionin,

(S*,R*)-N-//2-/N-(2-amino-3-merkaptopropyl)-L-alanyl/-1,2,3,4-tetrahydro-3-isochinolinyll/karbonyl/-L-methionin,

(S*,R*)-N-//2-/N-(2-amino-3-merkaptopropyl)-L-leucyl/-1,2,3,4-tetrahydro-3-isochinolinyll/karbonyl/-L-methionin,

/R* /R*(S*)//N-//2-/2-/(2-amino-3-merkaptopropyl)amino/-1-oxobutyl/-1,2,3,4-tetrahydro-3-isochinolinyll/karbonyl/-L-methionin,

(S*,R*)-N-//2-/2-/(2-amino-3-merkaptopropyl)amino/-4-methylpentyl/-1,2,3,4-tetrahydro-3-isochinolinyll/karbonyl/-L-methionin,

(R)-N-//2-/1-/(2-amino-3-merkaptopropyl)-L-prolyl/-1,2,3,4-tetrahydro-3-isochinolinyll/karbonyl/-L-methionin,

/R^{*}/S^{*}(S^{*})//-N-//2-//1-(2-amino-3-merkaptopropyl)-2-methyl-2-pyrrolidinyl/karbonyl/-1,2,3,4-tetrahydro-3-isochinolinyll/karbonyl/-L-methiomin,

(S^{*},R^{*})-N-//2-/N-(2-amino-3-merkaptopropyl)-3-methyl-L-valyl/-1,2,3,4-tetrahydro-3-isochinolinyll/karbonyl/-L-methionin,

/R^{*}/R^{*}(S^{*})//-N-/(2-//(2-amino-3-merkaptopropyl)amino)fenylacetyl/-1,2,3,4-tetrahydro-3-isochinolinyll/karbonyl/-L-methionin,

/R^{*}/R^{*}(S^{*})//-N-//2-/2-/(2-amino-3-merkaptopropyl)amino/-2-cyklohexylacetyl/-1,2,3,4-tetrahydro-3-isochinolinyll/karbonyl/-L-methionin,

(S^{*},R^{*})-N-//2-/N-(2-amino-3-merkaptopropyl)-3-methyl-L-valyl/-1,2,3,4-tetrahydro-3-isochinolinyll/karbonyl/-L-methionin, methylester,

(S^{*},R^{*})-N²-//2-/N-(2-amino-3-merkaptopropyl)-3-methyl-L-valyl/-1,2,3,4-tetrahydro-3-isochinolinyll/karbonyl/-N⁵-methyl-L-glutamin,

(S^{*},R^{*})-N²-//2-/N-(2-amino-3-merkaptopropyl)-3-methyl-L-valyl/-1,2,3,4-tetrahydro-3-isochinolinyll/karbonyl/-L-glutamin,

(S^{*},R^{*})-N²-//2-/N-(2-amino-3-merkaptopropyl)-3-methyl-L-valyl/-1,2,3,4-tetrahydro-3-isochinolinyll/karbonyl/-L-glutamin, methylester,

/R^{*}/R^{*}(S^{*})//N-//2-2-/(2-amino-3-merkaptopropyl)amino/-3-methylbutyl/-1,2,3,4-tetrahydro-3-isochinolinyll/-N-methyl-L-methionin,

(S^{*},R^{*})-N-//2-2-N-2-amino-3-merkaptopropyl)methylamino/-3-methylbutyl/-1,2,3,4-tetrahydro-3-isochinolinyll/karbonyll/-L-methionin,

(S^{*},R^{*})-N-//2-N-acetyl-N-(2-amino-3-merkaptopropyl)-L-valyl/-1,2,3,4-tetrahydro-3-isochinolinyll/karbonyll/-L-methionin,

(S^{*},R^{*})-N-//2-N-3-merkpto-2-(methylamino)propyl/-L-valyl/-1,2,3,4-tetrahydro-3-isochinolinyll/karbonyll/-L-methionin,

(S^{*},R^{*})-N-//1,2,3,4-tetrahydro-2-N-3-merkpto-2-/(fenylmethyl)amino/propyl/-L-valyl/-3-isochinolinyll/karbonyll/-L-methionin,

(S^{*},R^{*})-N-//2-N-2-(acetylamino)-3-merkaptopropyl/-L-valyl/-1,2,3,4-tetrahydro-3-isochinolinyll/karbonyll/-L-methionin,

/R^{*}/S^{*}(S^{*})//N-//2-N-2-amino-3-/(2-amino-2-karboxyethyl)-dithio/propyl/-L-valyl/-1,2,3,4-tetrahydro-3-isochinolinyll/-karbonyll/-L-methionin,

(S^{*},R^{*})-N,N'-dithiobis(2-amino-3,1-propandiyll)bis-N-//2-(L-valyl)-1,2,3,4-tetrahydro-3-isochinolinyll/karbonyll/-L-methionin/,

(S^{*},R^{*})-N-//2-N-2-amino-3-(methyldithio)propyl/-L-valyl/-1,2,3,4-tetrahydro-3-isochinolinyll/karbonyll/-L-methionin,

č. l.	050111
Dosled	02. X. 97
GRAD	
FFCH	
ELASTIC	
Fil.	

N-//(S)-1,2,3,4-tetrahydro-2-/N-/(4R)-2-methyl-4-thiazolidinyl/methyl/-L-valyl/-3-isochinolinyl/karbonyl/-L-methionin,

(S*,R*)-N-//1,2,3,4-tetrahydro-2-/N-(4-thiazolidinylmethyl)-L-valyl/-3-isochinolinyl/karbonyl/-L-methionin,

(S*,R*)-N-//2-/N-/2-(acetylthio)propyl/-L-valyl/-1,2,3,4-tetrahydro-3-isochinolinyl/karbonyl/-L-methionin,

N-//(S)-1,2,3,4-tetrahydro-2-/N-(2-hydroxy-3-merkaptopropyl)-L-valyl/-3-isochinolinyl/karbonyl/-L-methionin,

(S*,R*)-N-//1,2,3,4-tetrahydro-2-/N-/3-merkpto-2-/(3-fenylpropyl)amino/propyl/-L-valyl/-3-isochinolinyl/karbonyl/-L-methionin,

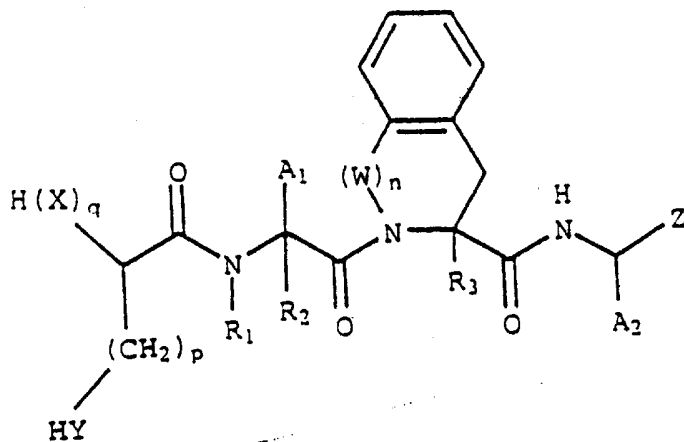
(S*,R*)-N²-//2-/N-(2-amino-3-merkaptopropyl)-L-valyl/-1,2,3,4-tetrahydro-3-isochinolinyl/karbonyl/-N-hydroxy-N-methyl-L-methioninamid a

(S*,R*)-N-//2-/N-(2-amino-3-merkaptopropyl)-L-valyl/-1,2,3,4-tetrahydro-3-isochinolinyl/karbonyl/-O-methyl-L-homoserin.

12. Použití sloučeniny podle kteréhokoliv z předcházejících nároků pro výrobu léčiva pro inhibici farnesyl protein transferázy.

13. Použití sloučeniny podle kteréhokoliv z předcházejících nároků pro výrobu léčiva pro inhibici prenyl transferázy.

17. Sloučenina vzorce



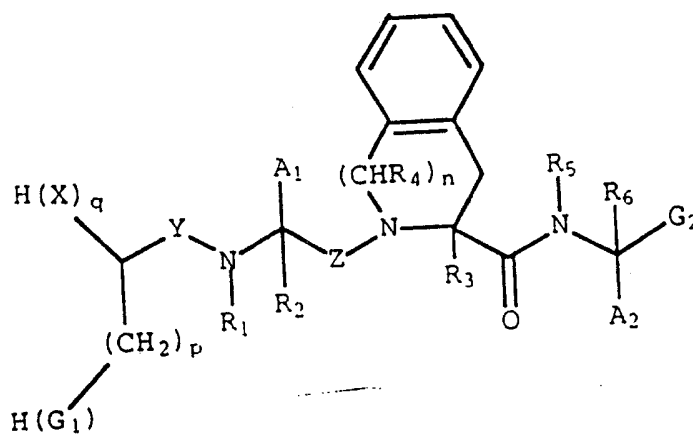
její enantiomery a diastereomery a farmaceuticky přijatelné soli, prodrugs a solváty, kde A_1 a A_2 jsou každý nezávisle H nebo jakékoli přirozené D-, L- nebo DL-aminokyselinové postranní řetězce, W je $CH-R_4$,

~~JUDr. Petr KALENSKÝ~~
~~advokát~~

SPOLEČNÁ ADVOKÁTNÍ KANCELARIE
VŠETEČKA A PARTNERA
Hájkova 2
120 00 Praha 1

X je O nebo R_5N ,
Y je S nebo O,
Z je H, C(O)OH, tetrazolyl, C(O)N(R_7)OH nebo C(O)CH₂OH,
 R_1 , R_2 , R_3 , R_4 a R_7 jsou každý nezávisle H nebo alkyl,
 R_1 a A_1 mohou spolu tvořit (CH₂)_m,
 R_5 je H, alkyl, fenyl, fenylalkyl nebo C(O) R_6 , kde fenyl
a fenylalkyl mohou být popřípadě na fenylovém kruhu substi-
tuovány,
 R_6 je H, alkyl, fenyl, nebo fenylalkyl, kde fenyl a fenyl-
alkyl mohou být popřípadě na fenylovém kruhu substituovány,
m je 3 nebo 4,
n je 0, 1 nebo 2,
p je 1 nebo 2 a
q je 0 nebo 1.

18. Sloučenina obecného vzorce



nebo její enantiomery, diastereomery, farmaceuticky příja-
telné sole, prodrugs nebo solváty, kde
 A_1 a A_2 jsou nezávisle každý H, alkyl, substituovaný
alkyl, fenyl nebo substituovaný fenyl,
 G_1 je S nebo O,

G_2 je H, $-C(O)OH$, $-C(O)NH_2$, 5-tetrazolyl, $-C(O)N(R_7)OH$ nebo $-CH_2OH$,

X je O nebo R_8N ,

Y a Z jsou nezávisle $-CH_2-$ nebo $-C(O)$,

R_1 , R_2 , R_3 , R_4 , R_5 , R_6 a R_7 jsou každý nezávisle H nebo alkyl,

R_1 a A_1 mohou spolu tvořit $-(CH_2)_m$,

R_8 je H, alkyl, fenyl, fenylalkyl, substituovaný fenyl, (substituovaný fenyl)alkyl nebo $-C(O)R_9$,

R_9 je H, alkyl, fenyl, fenylalkyl, substituovaný fenyl nebo (substituovaný fenyl)alkyl,

m je 3 nebo 4,

n je 0,1 nebo 2,

p je 0,1 nebo 2 a

q je 0 nebo 1 s podmínkou, že když p je 0 je q také 0.

JUDr. Petr KALENSKÝ
advokát

SPOLÉČNÁ ADVOKÁTNÍ PRÁCE
VŠETČKA A PARTNER
Hájkova 2
120 00 Praha