

(19) DANMARK



PATENTDIREKTORATET
TAASTRUP

(12) FREMLÆGGELSESSKRIFT

(11) 159115 B

(21) Patentansøgning nr.: 5500/79
(22) Indleveringsdag: 21 dec 1979
(41) Alm. tilgængelig: 23 jun 1980
(44) Fremlagt: 03 sep 1990
(86) International ansøgning nr.: -
(30) Prioritet: 22 dec 1978 US 972314

(51) Int.Cl.⁵ C 07 D 491/113
C 07 D 495/10
C 07 D 207/16

(71) Ansøger: *E.R. SQUIBB & SONS INC.; Lawrenceville-Princeton Road; Princeton; New Jersey 08540, US
(72) Opfinder: John *Krapcho; US

(74) Fuldmægtig: Ingeniørfirmaet Budde, Schou & Co.

(54) Analogifremgangsmåde til fremstilling af et ketal- eller thioketalderivat af en mercaptoacylprolin 5500-

eller R¹ og R² forenes i en polymethylenkæde med formlen

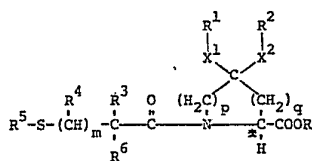
(56) Fremdragne publikationer

DK ans. nr. 596/77 (pat. nr. 157487)

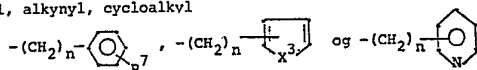
(57) Sammendrag:

5500-79

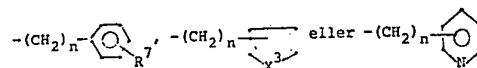
Ketal- og thioketalderivater af mercaptoacylproliner
med formlen



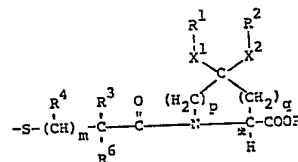
hvor R er hydrogen eller alkyl, R¹ og R² hver i sær er alkyl, der eventuelt er substitueret med halogen eller hydroxy, alkenyl, alkynyl, cycloalkyl



x¹, x² og x³ er hver valgt blandt en gruppe bestående af oxygen og svovl, R³ og R⁴ er hver valgt blandt en gruppe bestående af hydrogen, lavere alkyl, lavere alkylthio, -(CH₂)_n- og halogensubstitueret lavere alkyl, R⁶ er hydrogen eller lavere alkyl, forudsat at R⁶ kun er lavere alkyl, når R³ er lavere alkyl, m er 0, 1 eller 2, n er 1, 2 eller 3, p og q er hver 1 eller 2 forudsat at begge ikke er 2, t er 2 eller 3, R⁷ er hydrogen, lavere alkyl med 1-4 carbonatomer, lavere alkoxy med 1-4 carbonatomer, lavere alkylthio med 1-4 carbonatomer, chlor, brom, fluor, trifluormethyl eller hydroxy, R⁹ og R¹⁰ er begge hydrogen, lavere alkyl eller en af dem er hydrogen og den anden er lavere alkyl, halogensubstitueret lavere alkyl, hydroxysubstitueret lavere alkyl



og R⁵ er hydrogen, en beskyttende gruppe, der kan fjernes kemisk eller ved hydrolyse, eller forudsat at hver R³ eller R⁴ er -(CH₂)_n-SH

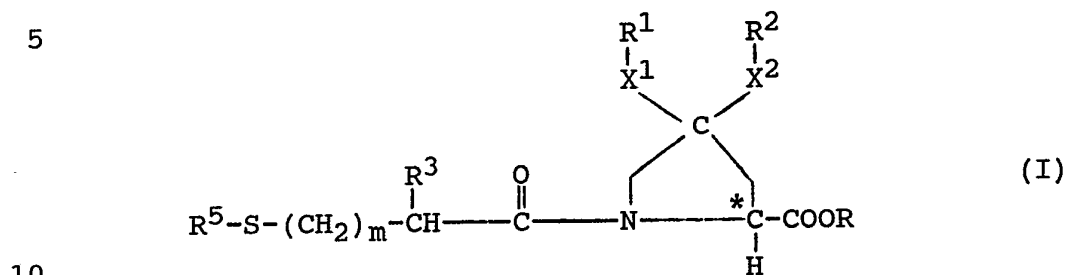


eller farmaceutisk acceptable salte deraf, fremstilles ved en række forskellige fremgangsmåder.

Forbindelser med ovenstående formel I har hypotensiv aktivitet.

DK 159115 B

Den foreliggende opfindelse angår en analogifremgangsmåde til fremstilling af et ketal- eller thioketalderivat af en mercaptoacylprolin med den almene formel I



hvor

R betyder hydrogen eller C₁-C₇-alkyl,

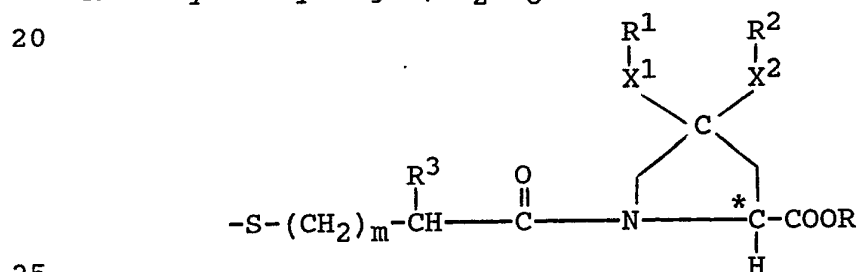
R³ betyder hydrogen, C₁-C₇-alkyl eller halogen-C₁-C₇-alkyl,

X¹ og X² betyder oxygen eller svovl,

15 R¹ og R² betyder C₁-C₇-alkyl, eller R¹ og R² betyder tilsammen en polymethylenkæde, således at der dannes en 5- eller 6-leddet ring,

m betyder 0, 1 eller 2, og

R⁵ betyder hydrogen, C₂-C₈-alkanoyl, benzoyl eller en gruppe



hvor R, R¹, R², R³, X¹, X² og m har de ovenfor angivne betydninger, således at der dannes en bis-symmetrisk disulfidforbindelse.

30 Stjernen i ovenstående formel viser et asymmetricenter i ringen. Dette center har L-konfiguration.

Asymmetriske centre kan også forekomme i mercaptoacylsidekæden afhængigt af definitionen af R³. Et andet asymmetricenter kan også forekomme i ringen, når X¹-R¹ og X²-R² er forskellige. Produkterne kan derfor forekomme i stereoisomere former eller som racemiske blandinger heraf. Alle disse kan fremstilles ved fremgangsmåden ifølge opfindelsen.

35

Den nedenfor beskrevne syntese kan benytte sig af racematet eller en af de enantiomere som udgangsmaterialer. Når der anvendes racemisk udgangsmateriale til syntesen, kan de stereoisomere, der fås i slutproduktet, adskilles ved gængse
5 chromatografiske metoder eller fraktioneret krystallisation. Dersom der findes et asymmetricenter i mercaptoacylsidekæden, er dette fortrinsvis i D-konfiguration.

De forbindelser, der fremstilles ved fremgangsmåden ifølge opfindelsen, er mercaptoacylderivaterne af prolin
10 med formlen I ovenfor, hvilke forbindelser er nyttige anti-hypertensive midler, idet de har en inhiberende virkning på angiotensin-omdannende enzym.

Fra dansk patentansøgning nr. 596/77 kendes nært beslægtede forbindelser med samme virkning, især forbindel-
15 sen, som er i handelen under navnet Captopril. Forbindelserne fremstillet ifølge opfindelsen udviser imidlertid en overraskende forøget virkning i forhold til de således kendte forbindelser.

Udtrykket alkyl, som det anvendes i definitionerne af symbolerne R, R¹, R² og R³ er ligekædede eller forgrenede
20 carbonhydridgrupper med op til 7 carbonatomer, f.eks. methyl, ethyl, propyl, isopropyl, butyl, isobutyl, t-butyl, pentyl og isopentyl. De foretrukne alkylgrupper har op til fire carbonatomer, idet methyl og ethyl er særlig foretrukket.
25 På lignende måde refererer udtrykkene alkoxy og alkylthio til sådanne alkylgrupper, der er knyttet til et oxygen- eller svovlatom.

Udtrykket halogen-substitueret alkyl refererer til sådanne alkylgrupper, der er beskrevet ovenfor, hvor et
30 eller flere hydrogenatomer er erstattet af chlor-, brom eller fluoratomer såsom trifluormethyl, pentafluorethyl, 2,2,2-trichlorethyl, chlormethyl og brommethyl.

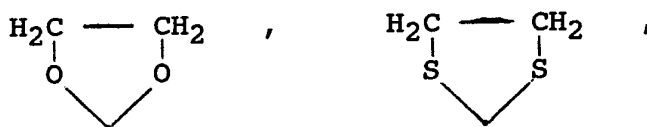
Som R⁵ foretrækkes alkanoylgrupper med op til fire carbonatomer, især acetyl, og benzoyl.

35 Foretrukne forbindelser med formlen I er det L-prolinholdige derivat, hvor R er hydrogen.

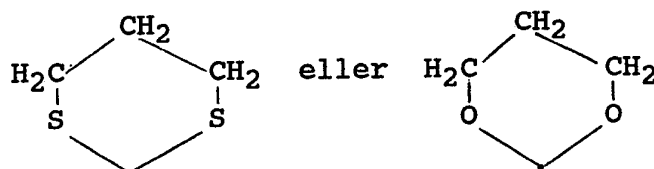
Med hensyn til mercaptoacylsidekæden foretrækkes som slutprodukter sådanne forbindelser, hvor R^5 er hydrogen, m er 0 eller 1, og R^3 er hydrogen, alkyl med 1-4 carbonatomer, især methyl, eller trifluormethyl. Foretrukket er ligeledes
 5 både som mellemprodukter og slutprodukter de ovennævnte sidekæder, hvor R^5 er alkanoyl med 2-4 carbonatomer, især acetyl, eller benzoyl.

Særlig foretrukne som slutprodukter er forbindelser med formlen I med en mercaptoacylsidekæde, hvor R^5 er hydro-
 10 gen, m er 1, R^3 er methyl, og det asymmetriske carbonatom, hvortil R^3 er knyttet, er i D-konfiguration.

Foretrukne med hensyn til substituenterne på prolin-
 ringen er sådanne forbindelser, hvor X^1 og X^2 er ens, især sådanne, hvor X^1-R^1 og X^2-R^2 begge er methoxy eller begge
 15 ethoxy, eller X^1-R^1 og X^2-R^2 tilsammen danner en gruppe



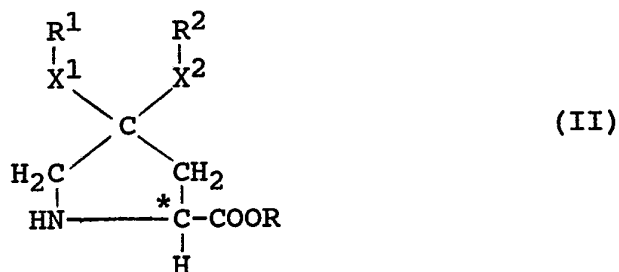
20



25

Fremgangsmåden ifølge opfindelsen til fremstilling af forbindelserne med formlen I er ejendommelig ved, at en substitueret prolin med formlen II

30



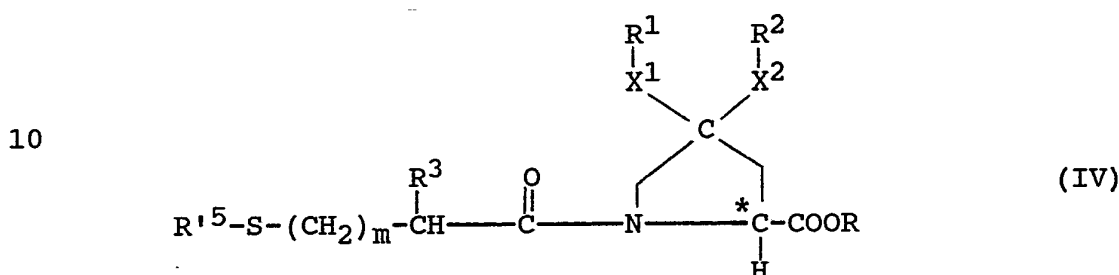
hvor R , R^1 , R^2 , X^1 og X^2 har de ovenfor angivne betydninger,
 35 kobles med en syre med formlen III



hvor

R^5 betyder $\text{C}_2\text{-C}_8$ -alkanoyl eller benzoyl,

5 eller et reaktivt derivat deraf, såsom et syrechlorid, til dannelsen af en forbindelse med formlen IV



10 hvorefter om ønsket gruppen R^5 fjernes til dannelsen af en forbindelse med formlen I, hvor R^5 betyder hydrogen, og denne forbindelse om ønsket oxideres med iod til den bis-symmetriske disulfidforbindelse.

Denne reaktion kan udføres i nærværelse af et koblingsmiddel såsom dicyclohexylcarbodiimid eller lignende, 20 eller syren kan aktiveres ved dannelsen af dens blandede anhydrid, symmetriske anhydrid, syrehalogenid, aktive ester eller ved anvendelse af Woodward-reagens K, N-ethoxycarbonyl-2-ethoxy-1,2-dihydroquinolin eller lignende. Med hensyn til acyleringsmetoder henvises til Methoden der organischen 25 Chemie (Houben-Weyl), bd. XV, 2. del, side 1 ff. (1974). Fortrinsvis omsættes syrehalogenidet, især syrechloridet, med formlen III med en syre med formlen II.

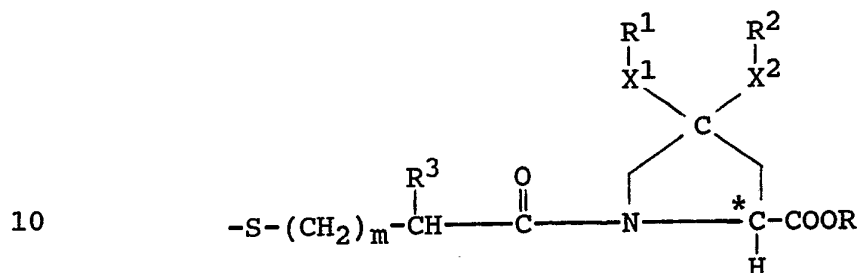
Hvis prolinet med formlen II omsættes i esterformen, kan det fremkomne esterprodukt med formlen IV, dvs. R er 30 alkyl, omdannes til den frie syre, dvs. R er hydrogen, ved gængse metoder. Hvis R er ethyl, kan således den esterbeskyttende gruppe fjernes ved hydrolyse.

Produktet med formlen IV isoleres og renses fortrinsvis ved krystallisation, f.eks. ved at danne dicyclohexylaminsaltet og derefter omdanne saltet til den frie syreform 35 ved behandling med en vandig opløsning af en syre såsom

kaliumhydrogensulfat.

Forbindelsen med formlen IV kan omdannes til produkterne med formlen I, hvor R^5 er hydrogen, ved gængs hydrolyse eller ammonolyse.

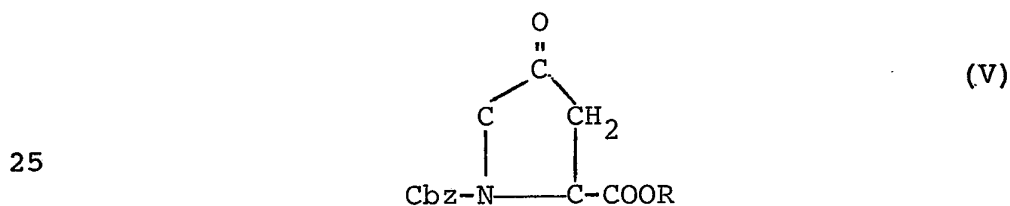
5 Forbindelserne med formlen I, hvor R^5 er



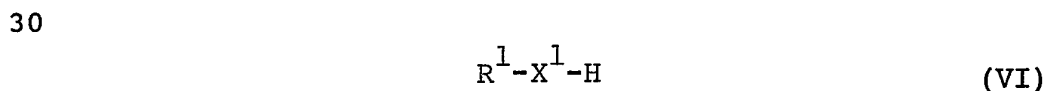
fås ved, at en forbindelse med formlen I, hvor R^5 er hydrogen, oxideres direkte med iod.

15 Esterne med formlen I, hvor R er alkyl, kan opnås ud fra carboxylsyreforbindelserne, dvs. hvor R er hydrogen, ved gængse esterificeringsmetoder, f.eks. ved esterificering med et diazoalkan såsom diazomethan, en 1-alkyl-3-p-tolyl-triazin såsom 1-n-butyl-3-p-tolyltriazin.

20 De disubstituerede proliner med formlen II, hvor X^1-R^1 og X^2-R^2 er ens, kan fås ved at omsætte en N-beskyttet ketoforbindelse med formlen

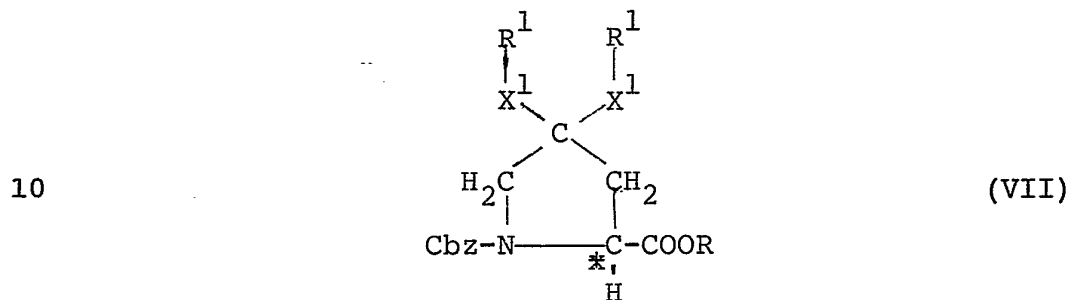


hvor Cbz er carbobenzyloxy, med en alkohol eller thiol med formlen



35 i nærværelse af et orthoformiat eller thioformiat med formlen $HC(X^1-R^1)_3$ og en syre såsom koncentreret svovlsyre eller p-toluensulfonsyre. Denne reaktion kan foregå i et inaktivt organisk opløsningsmiddel såsom benzen, eddikesyre, ether,

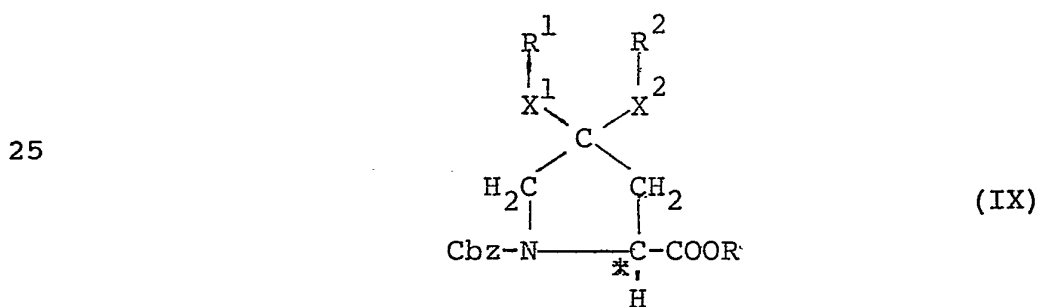
cyclohexan eller lignende, fortrinsvis under opvarmning, f. eks. til ca. tilbagesvalingstemperatur. Se Buehler m.fl. Survey of Organic Syntheses (Wiley & Sons, 1977), bd. 1, side 516-519. Produktet af denne reaktion er det N-beskyttede
 5 mellemprodukt med formlen



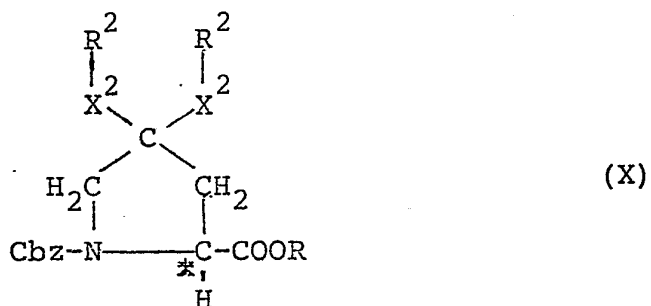
Det N-beskyttede mellemprodukt med formlen VII kan
 15 behandles med 1 mol ækvivalent af en alkohol eller thiol med formlen



20 ifølge de ovenfor beskrevne betingelser, hvilket giver mellemproduktet



30 Ved at anvende et moloverskud af alkoholen eller thiolen med formlen VIII fås mellemproduktet



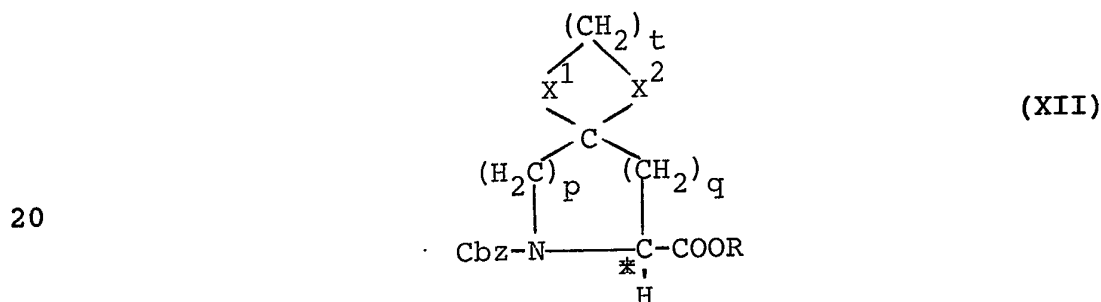
Den N-beskyttende gruppe kan derefter fjernes ved gængse metoder, f.eks. når X^1 og X^2 begge er oxygen, ved hydrogenolyse i nærværelse af palladium-carbon-katalysator, eller når det ene af eller begge symbolerne X^1 og X^2 er svovl, ved behandling med HBr og eddikesyre, hvilket giver de di-

5 substituerede forbindelser med formlen II.

På lignende måde kan spireforbindelserne med formlen II (dvs. R^1 og R^2 er forenet i en polymethylenkæde) fås ved at omsætte ketoforbindelsen med formlen V med en alkohol eller thiol med formlen



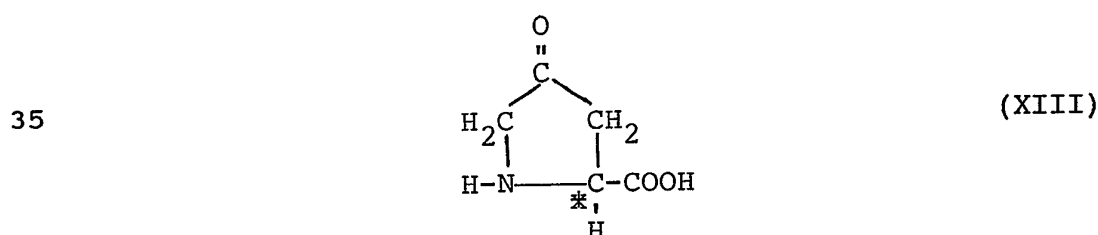
15 hvor t betyder 2 eller 3, i nærværelse af en syre såsom p-
-toluensulfonsyre, hvilket giver mellemproduktet



Alternativt kan den disubstituerede forbindelse med
formlen VII behandles direkte med et moloverskud af alkoholen
25 eller thiolen med formlen XI, hvilket giver mellemproduktet
med formlen XII.

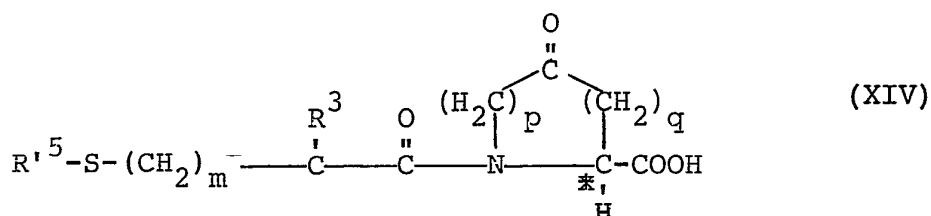
Som beskrevet ovenfor, kan den N-beskyttende gruppe derefter fjernes, hvilket giver spiroforbindelserne med formlen II.

30 Som en alternativ metode kan indførelsen af grup-
perne X^1-R^1 og X^2-R^2 ske senere i rækkefølgen. Ifølge denne
ændring behandles den beskyttede ketoforbindelse med formlen



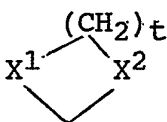
som derefter acyleres med syren, fortrinsvis syrehalogenidet med formelen III, hvorved fås en forbindelse med formelen

5



10

Grupperne $\text{X}^1\text{-R}^1$ og $\text{X}^2\text{-R}^2$ eller spirogruppen



15

kan derefter indføres på dette tidspunkt ved de ovenfor beskrevne metoder; hvilket giver et produkt med formelen IV.

Der henvises til de følgende litteratursteder med hensyn til yderligere metoder til fremstilling af udgangsmaterialer og mellemprodukter: USA patentskrifterne nr.

20

4.046.889, 4.105.776, 4.154.935 og 4.116.962, Can.J.Biochem. & Physiol. 37, 584 (1959), J.A.C.S. 79, 189 (1957), J.Med. Chem. 21, 445 (1978), Aus. J. Chem. 20, 1493-1509 (1967), Buehler m.fl., Survey of Organic Syntheses (Wiley & Sons, 1977), bd. 1, side 516-519, bd. 2, side 461-470, Chem.Pharm. Bull., Tokyo 26, 2209 og 2217 (1978), Can.J.Chem. 47, 860, (1969), J.Amer.Chem.Soc., 80, 6350 (1958), Harrison m.fl., Compendium or Organic Synthetic Methods (Wiley-Interscience, New York, 1971), side 449-456, J.Amer.Chem.Soc., 79, 192 (1956), Bull.Soc.Chem., 1965(8), side 2253-2259, J.Org.Chem. 25, side 521-530 (1960).

30

De deri beskrevne metoder kan anvendes som almene metoder ved syntesen af forbindelserne og adskillelsen af de isomere, der kan anvendes ved fremgangsmåden ifølge den foreliggende opfindelse. Yderligere detaljer findes i eksemplerne, der tjener som model for fremstillingen af andre forbindelser i gruppen.

35

Forbindelserne, der fremstilles ved fremgangsmåden ifølge opfindelsen, danner basiske salte med en lang række uorganiske eller organiske baser. Det saltdannende ion, der stammer fra sådanne baser, kan være metalioner, f.eks. aluminium, alkalimetalioner såsom natrium- eller kaliumjordalkalimetalioner såsom calcium eller magnesium eller et aminsaltion, hvoraf der kendes flere til dette formål f.eks. aralkylaminer såsom dibenzylamin, N,N-dibenzylethyldiamin, lavere alkylaminer såsom methylamin, t-butylamin, procain, lavere alkylpiperidiner såsom N-ethylpiperidin, cycloalkylaminer såsom cyclohexylamin eller dicyclohexylamin, 1-adamantanamin, benzathin eller salte, der stammer fra aminosyrer såsom arginin, lysin eller lignende. De fysiologisk acceptable salte kan anvendes medicinsk som beskrevet nedenfor og foretrækkes.

15 Saltene fremstilles ved at omsætte syreformen af forbindelsen med 1 ækvivalent af den base, der giver den ønskede basiske ion i et medium, hvori saltet udfældes, eller i et vandigt medium med påfølgende lyophilisering. Den frie syreform kan fås ud fra saltet ved gængse neutralisationsmetoder, f.eks.

20 med kaliumbisulfat eller saltsyre.

Forbindelsen med formlen I er, især når R^5 er hydrogen, anvendelige som hypotensive midler. De hæmmer omdannelsen af decapeptidet angiotensin I til angiotensin II og er derfor nyttige til lindring af angiotensin-fremkaldt hypertension. Virkningen af enzymet renin på angiotensinogen, et pseudoglobulin i blodplasma, producerer angiotensin I. Angiotensin I omdannes af det angiotensin-omdannende enzym (ACE) til angiotensin II. Dette er et aktivt pressorstof, der har været under mistanke for at være den fremkaldende årsag til

30 forskellige former for hypertension hos forskellige pattedyrarter, f.eks. rotter og hunde. Forbindelserne, der fremstilles ved fremgangsmåden ifølge opfindelsen, griber ind i angiotensinogen $\rightarrow$ (renin) $\rightarrow$ angiotensin I $\rightarrow$ (ACE) $\rightarrow$ angiotensin II-rækkefølgen ved at hæmme det angiotensin-omdannende enzym og nedsætte eller eliminere dan-

35

nelsen af pressorstoffet angiotensin II. Man kan således ved indgivelse af et middel indeholdende en eller en kombination af forbindelser med formlen I bedre angiotensin-fremkaldt hypertension hos pattedyr, der lider heraf. En enkelt
5 dosis, eller fortrinsvis to til fire opdelte daglige doser beregnet ud fra ca. 0,1-100 mg/kg legemsvægt pr. dag, fortrinsvis 1-15 mg/kg/dag, er passende til nedsættelse af blodtryk. Stoffet indgives fortrinsvis oralt, men der kan anvendes parenterale indgivelsesveje såsom subcutant, intra-
10 muskulært, intravenøst eller intraperitonealt.

Forbindelserne, der fremstilles ved fremgangsmåden ifølge opfindelsen, kan kombineres med et diuretisk stof til behandling af hypertension. Et kombineret produkt, der omfatter en forbindelse fremstillet ved fremgangsmåden ifølge
15 opfindelsen og et diuretisk stof, kan indgives i effektiv mængde, hvilket for et pattedyr på 70 kg omfatter en samlet daglig dosis på ca. 30-600 mg, fortrinsvis ca. 30-300 mg, af en forbindelse fremstillet ved fremgangsmåden ifølge opfindelsen og ca. 15-300 mg, fortrinsvis 15-200 mg, af et diuretisk
20 stof til et pattedyr, der har behov herfor. Eksempler på diuretika til anvendelse kombineret med en forbindelse fremstillet ved fremgangsmåden ifølge opfindelsen er thiaziddiuretika, f.eks. chlorthiazid, hydrochlorthiazid, flumthiazid, hydroglumthiazid, benzdroflumthiazid, methchlothiazid, tri-
25 chlorthiazid, polythiazid eller benzthiazid, samt ethacrynsyre, ticrynafen, chlorthalidon, furosemid, musolimin, bumetanid, triamteren, emilorid og spironolacton samt salte af sådanne forbindelser.

Forbindelserne med formlen I kan fremstilles til
30 brug ved reduktion af blodtryk i præparater såsom tabletter, kapsler eller eliksirer til oral indgivelse eller i sterile opløsninger eller suspensioner til parenteral indgivelse.

Fremgangsmåden ifølge opfindelsen belyses i det følgende nærmere ved hjælp af eksempler.
35

0

Eksempel 1

[7(S),8S]-7-[3-(Acetylthio)-2-methyl-1-oxopropyl]-1,4-dioxa-7-
-azaspiro[4,4]nonan-8-carboxylsyre

a) N-Carbobenzyloxy-4-hydroxy-L-prolin

5 26,5 g (0,20 mol) 4-hydroxy-L-prolin og 32,8 ml
(0,23 mol) benzylchlorformiat omsættes i 200 ml vand og 100
ml acetone i nærværelse af 20 g (0,02 mol) kaliumbicarbonat
og 69,2 g (0,50 mol) kaliumcarbonat og oparbejdes med 90 ml
koncentreret saltsyre som beskrevet i Can.J.Biochem. & Phy-
10 siol. 37, 584 (1959), hvorved fås N-carbobenzyloxy-4-hydroxy-
-L-prolin. Dette produkt omsættes med cyclohexylamin til dan-
nelse af cyclohexylaminsaltet i et udbytte på 69 g, smelte-
punkt 193-195°C. Saltet (34 g) neutraliseres med N-saltsyre
til opnåelse af 27 g fri syre som et farveløst glas. $[\alpha]_D^{26}$
15 -70°, (c, 1% i chloroform).

b) N-Carbobenzyloxy-4-keto-L-prolin

 21,5 g (0,81 mol) N-carbobenzyloxy-4-hydroxy-L-pro-
lin oxideres i 1,2 liter acetone med 83 ml 8N chromsyre i
svovlsyre som beskrevet i J.A.C.S. 79, 189 (1957). For at
20 lette den efterfølgende filtrering af chromsalte tilsættes
30 g "Celite" (diatoméjord) til acetoneopløsningen før ind-
førelse af oxideringsmidlet. Der anvendes en luftomrører.
Reaktionsblandingen filtreres, og acetonefiltratet indampes
til ca. 300 ml før fortynding med 1 liter chloroform. Op-
25 løsningen vaskes med 300 ml mættet natriumchlorid (fire gan-
ge), tørres ($MgSO_4$), filtreres, og opløsningsmidlet afdampes,
hvilket giver 22,8 g N-carbobenzyloxy-4-keto-L-prolin, der
krystalliseres ud fra 50 ml ether-150 ml hexan, hvorved fås
17,2 g produkt (81%), smeltepunkt 99-101°C, $[\alpha]_D^{26} +17^\circ$ (c,
30 1% i chloroform).

c) N-Carbobenzyloxy-4,4-ethylendioxy-L-prolin

 En omrørt blanding af 12,8 g (0,049 mol) N-carbo-
benzyloxy-4-keto-L-prolin, 53 ml (0,095 mol) ethylenglycol og
0,35 g p-toluensulfonsyre. H_2O i 1,31 liter benzen opvarmes,
35 og den fremkomne opløsning tilbagesvales i 7 timer (det dan-
nede vand opsamles i et Dean-Stark-apparat). Efter henstand

0 natten over ved stuetemperatur skilles det nederste glycollag
fra, og benzenopløsningen vaskes med 150 ml mættet natrium-
chlorid, tørres (MgSO_4), og opløsningsmidlet afdampes, hvil-
ket giver 14,6 g N-carbobenzyloxy-4,4-ethylendioxy-L-prolin
5 som en sirupsagtig remanens. Denne opløses i 60 ml ethanol,
filtreres, behandles med 5 g cyclohexylamin og fortyndes med
ether. Ved podning og gnidning skilles det krystallinske
cyclohexylaminsalt fra; vægt efter afkøling natten over 9,0
g, smeltepunkt $179-180^\circ\text{C}$ (begynder 173°C). Materialet om-
10 krystalliseres ud fra acetonitril, smeltepunkt $182-184^\circ\text{C}$
(begynder 179°C), $[\alpha]_D^{26} -21^\circ$ (c, 1% i EtOH).

8,4 g af cyclohexylaminsaltet suspenderes i 40 ml
ethylacetat, omrøres, afkøles og behandles med 1N saltsyre.
Lagene adskilles, den vandige fase ekstraheres med yder-
ligere 3 x 40 ml ethylacetat, de forenede organiske lag tør-
15 res (MgSO_4), og opløsningsmidlet afdampes, til slut ved 0,2
mm. Den sirupsagtige remanens, der begynder at krystallise-
re, gnides under ether, og etheren afdampes, hvilket giver
6,4 g (42%) næsten farveløst N-carbobenzyloxy-4,4-ethylen-
20 dioxy-L-prolin, smeltepunkt $101-103^\circ\text{C}$ (begynder 98°C), $[\alpha]_D^{26}$
 -34° (c, 1% i CHCl_3).

d) 4,4-Ethylendioxy-L-prolin

En opløsning af 3,2 g (0,0104 mol) N-carbobenzyl-
oxy-4,4-ethylendioxy-L-prolin i 100 ml methanol/vand (2:1)
25 behandles med 1 g 5% palladium-carbon og rystes på Parr-hydro-
genator i 6 timer. Katalysatoren filtreres fra under nitro-
gen, vaskes med methanol, og de forenede filtrater indampes,
til sidst ved 0,1-0,2 mm, hvilket giver 1,7 g (94%) farveløst
fast 4,4-ethylendioxy-L-prolin, smeltepunkt $245-247^\circ\text{C}$ (søn-
30 derdeling), $[\alpha]_D^{26} -32^\circ$ (c, 0,5% i 1:1 MeOH- H_2O).

e) [7(S),8S]-7-[3-(Acetylthio)-2-methyl-1-oxopropyl]-1,4-di-
oxa-7-azaspiro[4,4]nonan-8-carboxylsyre

En omrørt opløsning af 3,2 g 4,4-ethylendioxy-L-
-prolin (0,0185 mol) i 50 ml vand afkøles til 5°C og behand-
35 les portionsvis med fast natriumcarbonat til pH 8,5. Der-
efter tilsættes under fortsat omrøring og afkøling en opløs-

0

ning af 3,7 g (0,020 mol) D-3-acetylthio-2-methylpropanoylchlorid i 5 ml ether portionsvis, idet pH holdes på 8,5 med 25% natriumcarbonatopløsning (ca. 14 ml). Efter 1 1/4 times forløb behandles opløsningen med 50 ml ethylacetat, omrøres, afkøles, gøres forsigtigt sur med saltsyre (1:1) til pH 2,0, mættes med natriumchlorid, og lagene adskilles. Den vandige fase ekstraheres med yderligere 3 x 50 ml ethylacetat, de forenede organiske lag tørres (MgSO_4), og opløsningsmidlet afdampes til sidst ved 0,2 mm. Den faste remanens gnides under ether, og afdampningen gentages, hvorved der fås 5,9 g (100%) [7(S),8S]-7-[3-(acetylthio)-2-methyl-1-oxopropyl]-1,4-dioxa-7-azaspiro[4,4]nonan-8-carboxylsyre, smeltepunkt 108-111°C.

Produktet omdannes til dicyclohexylaminsaltet med 3,4 g dicyclohexylamin i 70 ml ethylacetat. Ved podning og gnidning udfældes det krystallinske salt og omkrystalliseres ud fra 95 ml acetonitril, udbytte 6,7 g, smeltepunkt 187-189°C (begynder ved 184°C), $[\alpha]_D^{25} -59^\circ$ (c, 1% i EtOH).

Dicyclohexylaminsaltet omdannes til den frie syre ved at blive suspenderes i ethylacetat og behandles med 75 ml 10% kaliumbisulfat og omrøring, indtil der fås to lag. Efter adskillelse ekstraheres den vandige fase med 4 x 75 ml ethylacetat, de organiske lag forenes, tørres (MgSO_4), og opløsningsmidlet afdampes, hvilket giver 4,1 g farveløst [7(S),8S]-7-[3-(acetylthio)-2-methyl-1-oxopropyl]-1,4-dioxa-7-azaspiro[4,4]nonan-8-carboxylsyre, smeltepunkt 120-122°C, begynder ved 117°C, $[\alpha]_D^{25} -118^\circ$ (c, 1% i EtOH).

Eksempel 2

[7(S),8S]-7-(3-Mercapto-2-methyl-1-oxopropyl)-1,4-dioxa-7-azaspiro[4,4]nonan-8-carboxylsyre

Argon ledes gennem en kold opløsning af 8,5 ml koncentreret ammoniumhydroxid i 20 ml vand. 4,0 g (0,013 mol) [7(S),8S]-7-[3-(acetylthio)-2-methyl-1-oxopropyl]-1,4-dioxa-7-azaspiro[4,4]nonan-8-carboxylsyre fra eksempel 1 (e) til sættes derefter, og blandingen omrøres i isbad i nogle få minutter og derefter ved stuetemperatur under argon i 2 timer.

Opløsningen behandles med 30 ml ethylacetat, afkøles, omrøres og gøres sur med 16 ml saltsyre (1:1). Lagene adskilles, den vandige fase ekstraheres med yderligere 30 ml ethylacetat (to gange), ethylacetatekstrakterne forenes, tørres (MgSO_4), og opløsningsmidlet afdampes, hvilket giver [7(S),-8S]-7-(3-mercapto-2-methyl-1-oxopropyl)-1,4-dioxa-7-azaspiro[4,4]nonan-8-carboxylsyre som en fast remanens. Produktet gnides under ether, og afdampningen gentages. Derefter tritureres produktet med 30 ml hexan, afkøles 1 time, filtreres un-er argon og tørres i vakuum, hvilket giver 2,7 g farveløs fast [7(S),8S]-7-(3-mercapto-2-methyl-1-oxopropyl)-1,4-dioxa-7-azaspiro[4,4]nonan-8-carboxylsyre, smeltepunkt $131-133^\circ\text{C}$ (begynder 125°C), $[\alpha]_D^{25} -66^\circ$ (c, 1% i EtOH).

Eksempel 3

(S)-1-[(3-Acetylthio)-2-methyl-1-oxopropyl]-4,4-dimethoxy-L-prolin

a) N-Carbobenzyloxy-4,4-dimethoxy-L-prolin-methylester

En omrørt opløsning af 7,8 g (0,03 mol) N-carbobenzyloxy-4-keto-L-prolin fra eksempel 1 i 60 ml methanol behandles med 96 ml trimethylorthoformiat efterfulgt af 0,6 ml koncentreret svovlsyre og henstår natten over ved stuetemperatur.

Den bleggule opløsning omrøres, behandles med 1,5 g kaliumcarbonat efterfulgt af 30 ml vand, og størstedelen af opløsningsmidlet fjernes på en roterende fordamper, hvilket giver en sirupsagtig remanens, der rystes med 30 ml vand og 30 ml chloroform. Efter at lagene er adskilt, ekstraheres den vandige fase med yderligere chloroform (3 x 30 ml), og de forenede organiske lag vaskes med 45 ml mættet natriumchloridopløsning og tørres (MgSO_4). Afdampning af opløsningsmidlet giver 8,4 g (88%) N-carbobenzyloxy-4,4-dimethoxy-L-prolin-methylester.

b) N-Carbobenzyloxy-4,4-dimethoxy-L-prolin

8,4 g (0,026 mol) af esteren fra del (a) opløses i 80 ml methanol, behandles dråbevis ved -1°C til 4°C med 18 ml (0,036 mol) 2N natriumhydroxid, holdes på 0°C i en time og

0

ved stuetemperatur natten over. Efter at ca. halvdelen af opløsningsmidlet er fjernes på en roterende fordamper, fortyndes opløsningen med 150 ml vand, vaskes med 100 ml ether (vaskevæsken kasseres), gøres sur under afkøling med 63 ml
5 1:1 saltsyre til pH 2 og ekstraheres med 4 x 750 ml ethylacetat. De forenede ekstrakter vaskes med 50 ml mættet natriumchloridopløsning, tørres (MgSO_4), og opløsningsmidlet afdampes, hvilket giver 8,0 g af en bleggul viskos olie. Olien opløses i 35 ml ethanol, behandles med 3,0 g cyclohexylamin i 10 ml ethanol og fortyndes til 500 ml med ether. Ved
10 podning og gnidning udskilles det krystallinske N-carbobenzyloxy-4,4-dimethoxy-L-prolin-cyclohexylaminsalt, der efter afkøling natten over vejer 7,0 g, smeltepunkt $157-159^\circ\text{C}$ (begynder 151°C), $[\alpha]_D^{26} -34^\circ$ (c, 1% i EtOH). Dette materiale
15 omkrystalliseres ud fra 100 ml acetonitril, hvilket giver saltet som et farveløst fast stof, smeltepunkt $158-160^\circ\text{C}$ (s, 154°C), $[\alpha]_D^{26} -33^\circ$ (c, 1% i EtOH).

N-Carbobenzyloxy-4,4-dimethoxy-L-prolin-cyclohexylaminsaltet suspenderes i 40 ml ethylacetat, omrøres og behandles med 25 ml 1N saltsyre. Når der er opnået to klare
20 lag, adskilles de, den vandige fase ekstraheres med yderligere 3 x 40 ml ethylacetat, de forenede organiske lag tørres (MgSO_4), og opløsningsmidlet afdampes, til sidst ved 0,2 mm og 40°C , hvilket giver 7,2 g (70%) N-carbobenzyloxy-4,4-dimethoxy-L-prolin som en bleggul viskos sirup.
25

c) 4,4-Dimethoxy-L-prolin

En opløsning af 72 g (0,022 mol) N-carbobenzyloxy-4,4-dimethoxy-L-prolin i 210 ml methanol/vand (2:1) behandles med 2,3 g 5% palladium-carbon og rystes på en Parr-hydrogenator i 6 timer. Katalysatoren filtreres fra under nitrogen, vaskes med methanol, og de forenede filtrater indampes, til sidst ved 0,1-0,2 mm, hvilket giver en delvis krystallinsk
30 remanens. Denne remanens tages op i 200 ml methanol, og indampningen gentages. Når det faste stof er gnedet under ether (indampning gentages igen) fås der 3,6 g (95%) næsten farveløst 4,4-dimethoxy-L-prolin, smeltepunkt $192-194^\circ\text{C}$ (sønderdeling), $[\alpha]_D^{26} -47^\circ$ (c, 1% i MeOH).
35

0

En prøve, der er krystalliseret ud fra methanol/ether, er farveløs og smelter ved 197-198°C (sønderdeling)

$[\alpha]_D^{26} -49^\circ$ (c, 1% i MeOH).

d) (S)-1-[3-(Acetylthio)-2-methyl-1-oxopropyl]-4,4-dimeth-

5

oxy-L-prolin

En omrørt opløsning af 3,3 g (0,019 mol) 4,4-dimethoxy-L-prolin i 50 ml vand afkøles til 5°C og bringes på pH 8,5 ved tilsætning af 25% natriumcarbonatopløsning (vægt/volumen). Derefter tilsættes portionsvis under fortsat omrøring og afkøling en opløsning af 3,8 g (0,021 mol) D-3-acetylthio-2-methylpropanoylchlorid i 5 ml ether, medens pH holdes på 7,5-8,5 ved dråbevis tilsætning af 25% natriumcarbonatopløsning. Når pH er stabiliseret ved 8,2-8,4 (efter ca. 15 minutter), fortsættes omrøring og afkøling i alt en time. Opløsningen vaskes derefter med 50 ml ethylacetat (vaskevæsken kasseres), dækkes med et lag af 50 ml ethylacetat, afkøles, omrøres, gøres forsigtigt sur med 1:1 saltsyre til pH 2,0, mættes med natriumchlorid, og lagene adskilles. Den vandige fase ekstraheres med yderligere 3 x 50 ml ethylacetat, de forenede organiske lag tørres (MgSO_4), og opløsningsmidlet afdampes, til sidst ved 0,2 mm, hvilket giver 6,7 g sirupsagtigt produkt. Denne sirup behandles i 70 ml ethylacetat med 3,9 g dicyclohexylamin, hvilket giver 6,5 g farveløst (S)-1-[3-(acetylthio)-2-methyl-1-oxopropyl]-4,4-dimethoxy-L-prolin-dicyclohexylaminsalt i udbytter på 3,1 g og 3,4 g, smeltepunkt 158-160°C (begynder ved 145°C), $[\alpha]_D^{26} -71^\circ$ (c, 1% i EtOH).

Efter omkrystallisation ud fra 20 ml varm ethylacetat og 60 ml hexan vejer det farveløse faste salt 6,0 g, smeltepunkt 158-166°C (begynder 155°C), $[\alpha]_D^{25} -69^\circ$ (c, 1% i EtOH).

Dicyclohexylaminsaltet omdannes til den frie syre ved at suspendere 5,0 g i 50 ml ethylacetat, afkøle det og behandle med 60 ml 10% kaliumbisulfatopløsning, hvilket giver 2 klare lag. Efter adskillelse ekstraheres den vandige fase med 3 x 50 ml ethylacetat, de forenede organiske lag tørres (MgSO_4), og opløsningsmidlet afdampes, til sidst ved 0,1-0,2

0

mm og 45°C, hvilket giver 4,1 g (69%) (S)-1-[3-(acetylthio)-2-methyl-1-oxopropyl]-4,4-dimethoxy-L-prolin som et viskøst næsten glaslignende materiale, $[\alpha]_D^{25} -112^\circ$ (c, 1% i EtOH).

5

Eksempel 4

(S)-1-(3-Mercapto-2-methyl-1-oxopropyl)-4,4-dimethoxy-L-prolin

Der ledes argon gennem en kold opløsning af 8,5 ml koncentreret ammoniumhydroxid i 20 ml vand i 0,25 time. Denne tilsættes under afkøling og argontæppe til 4,1 g (0,013 mol) (S)-1-[3-(acetylthio)-2-methyl-1-oxopropyl]-4,4-dimethoxy-L-prolin, og blandingen hvirvles om i isbad, indtil der fås en svagt gul opløsning (ca. 15 minutter). Omrøringen under argon fortsættes ved stuetemperatur i yderligere 2 timer, derefter ekstraheres opløsningen med 30 ml ethylacetat (denne og følgende operationer udføres i så stor udstrækning som muligt under argonatmosfære). Det vandige lag afkøles, omrøres, overdækkes med et lag af 30 ml ethylacetat, gøres portionsvis surt med 16 ml 1:1 saltsyre. Lagene adskilles, den vandige fase ekstraheres med yderligere 3 x 30 ml ethylacetat, de forenede ethylacetatlag tørres (MgSO_4), og opløsningsmidlet afdampes, hvilket giver 3,5 g (100%) (S)-1-(3-mercapto-2-methyl-1-oxopropyl)-4,4-dimethoxy-L-prolin som en farveløs viskos sirup, $[\alpha]_D^{25} -72^\circ$ (c, 1% i EtOH).

Denne forbindelse (3,4 g) tritureres med 20 ml ethylacetat, gnides, fortyndes med 30 ml hexan og afkøles, hvorved fås et farveløst fast stof, der vejer 2,6 g, smeltepunkt 108-110°C, $[\alpha]_D^{25} -77^\circ$ (c, 1% i EtOH).

Eksempel 5

(S)-1-[3-(Acetylthio)-2-methyl-1-oxopropyl]-4,4-diethoxy-L-prolin

a) N-Carbobenzyloxy-4,4-diethoxy-L-prolin-ethylester

Ved at følge fremgangsmåden i eksempel 3(a), men anvende triethylorthoformiat i stedet for trimethylorthoformiat og ethanol i stedet for methanol fås 10,8 g N-carbobenzyloxy-4,4-diethoxy-L-prolin-ethylester som en gul olie.

0

b) N-Carbobenzyloxy-4,4-diethoxy-L-prolin

Den rå ester fra del (a) (10,8 g, 0,03 mol) hydrolyseres med 70 ml 1N natriumhydroxid som anført i eksempel 4(b), der tilsættes 30 ml ethanol i 10 ml portioner, hvorved der fås en opløsning, som giver 10,5 g gul viskos olie. Denne olie opløses i 100 ml ether og behandles med 3,0 g cyclohexylamin. Ved podning og gnidning udskilles 8,3 g af det krystallinske N-carbobenzyloxy-4,4-diethoxy-L-prolin-cyclohexylaminsalt, smeltepunkt 123-126°C (begynder 114°C), $[\alpha]_D^{26} -32^\circ$ (c, 1% i ethanol). Dette materiale omkrystalliseres ud fra 20 ml acetonitril, hvilket giver 7,0 g af saltet som et farveløst fast stof, smeltepunkt 125-128°C (begynder ved 115°C), $[\alpha]_D^{26} -31^\circ$ (c, 1% i ethanol).

N-Carbobenzyloxy-4,4-diethoxy-L-prolin-cyclohexylaminsaltet suspenderes i 40 ml ethylacetat, omrøres og behandles med 20 ml 1N saltsyre. Lagene adskilles, og den vandige fase ekstraheres med yderligere 3 x 40 ml ethylacetat, de organiske lag forenes, tørres (MgSO_4), og opløsningsmidlet afdampes, hvilket giver 5,6 g (56%) N-carbobenzyloxy-4,4-diethoxy-L-prolin som en lysegul olie.

20

c) 4,4-Diethoxy-L-prolin

En opløsning af de 5,6 g N-carbobenzyloxy-4,4-diethoxy-L-prolin (0,017 mol) i 180 ml 2:1 ethanol/vand behandles med 2 g af en 5% palladium-carbon-katalysator og rystes under 3 atm. hydrogen i 6 timer. Det rå delvis faste produkt gnides først under ethanol, derefter ether, og indampningen gentages hver gang, hvilket giver 3 g (91%) næsten farveløst fast 4,4-diethoxy-L-prolin, smeltepunkt 172-174°C (sønderdeling) med forudgående gradvis mørkfarvning og sintring, $[\alpha]_D^{26} -40^\circ$ (c, 1% i methanol).

30

Analyse, beregnet for $\text{C}_9\text{H}_{17}\text{NO}_4 \cdot 0,25 \text{ H}_2\text{O}$:

C 52,03, H 8,49, N 6,74.

Fundet: C 52,22, H 8,59, N 6,69.

35

d) (S)-1-[3-(Acetylthio)-2-methyl-1-oxopropyl]-4,4-diethoxy-L-prolin

2,9 g 4,4-diethoxy-L-prolin (0,014 mol) fra del (c)

0 og 3 g (0,017 mol) D-3-acetylthio-2-methylpropionylchlorid opløst i 3,5 ml ether omsættes i 35 ml vand i nærværelse af natriumcarbonat som anført i eksempel 3(d), hvilket giver 5,4 g svagt gul viskos olie. Dette olieagtige produkt behand-

5 les i 40 ml ethylacetat med 2,6 g dicyclohexylamin og fortyndes med 60 ml hexan, hvilket i to udbytter giver 4,9 g (S)-1-[(3-acetylthio)-2-methyl-1-oxopropyl]-4,4-diethoxy-L-prolin-dicyclohexylaminsalt, smeltepunkt 135-138°C (begynder ved 132°C). Efter omkrystallisation ud fra 15 ml varm ethyl-

10 acetat og 45 ml hexan vejer det farveløse faste salt 4,2 g, smeltepunkt 138-140°C (begynder ved 135°C), $[\alpha]_D^{26} -63^\circ$ (c, 1% i ethanol).

Analyse, beregnet for $C_{15}H_{25}NO_6S \cdot C_{12}H_{23}N$:

C 61,33, H 9,15, N 5,30, S 6,06.

15 Fundet: C 61,48, H 9,55, N 5,25, S 5,91.

Dicyclohexylaminsaltet omdannes til den frie syre ved at suspendere 4,2 g i 40 ml ethylacetat, afkøle og behandle med 40 ml 10% kaliumbisulfatopløsning, hvorved der fås to lag. Efter adskillelse ekstraheres den vandige fase

20 med 3 x 50 ml ethylacetat, de forenede organiske lag tørres ($MgSO_4$), og opløsningsmidlet afdampes, hvilket giver 3,0 g (61%) (S)-1-[3-(acetylthio)-2-methyl-1-oxopropyl]-4,4-diethoxy-L-prolin som en bleggul viskos sirup.

25 Eksempel 6

(S)-4,4-Diethoxy-1-(3-Mercapto-2-methyl-1-oxopropyl)-L-prolin

Argon ledes gennem en kold opoøsning af 5,5 ml koncentreret ammoniumhydroxid i 13 ml vand i 0,25 time. Dette sættes derefter under afkøling under argontæppe til 3,0 g

30 (0,0086 mol) (S)-1-[3-(acetylthio)-2-methyl-1-oxopropyl]-4,4-diethoxy-L-prolin, og blandingen oparbejdes som beskrevet i eksempel 4, hvilket giver 2,4 g (92%) (S)-4,4-diethoxy-1-(3-mercapto-2-methyl-1-oxopropyl)-L-prolin som en næsten farveløs sirup $[\alpha]_D^{26} -64^\circ$ (c, 1% i ethanol).

35 Analyse, beregnet for $C_{13}H_{23}NO_5 \cdot 0,25 H_2O$:

C 50,38, H 7,64, N 4,52, S 10,35.

Fundet: C 50,68, H 7,96, N 4,78, S 10,07.

0

Eksempel 7

[2(S),3S]-2-[3-(Acetylthio)-2-methyl-1-oxopropyl]-6,10-dioxa-
-2-azaspiro[4,5]decan-3-carboxylsyre

a) N-Carbobenzyloxy-4,4-trimethylendioxy-L-prolin

5 Omsætning af 8,2 g (0,031 mol) N-carbobenzyloxy-
 -4-keto-L-prolin og 45 ml (0,62 mol) 1,3-propandiol i 450 ml
 benzen i nærværelse af 500 mg p-toluensulfonsyre giver 12,3
 g rått viskøst esterprodukt. Dette produkt hydrolyseres med
 70 ml 1N natriumhydroxid, hvilket giver 10,6 g rå N-carbo-
 10 benzyloxy-4,4-trimethylendioxy-L-prolin som en gul olie.
 Denne opløses i 40 ml ethanol/400 ml ether og behandles med
 3,2 g cyclohexylamin, hvilket giver 10,1 g N-carbobenzyloxy-
 -4,4-trimethylendioxy-L-prolin-cyclohexylaminsalt, smelte-
 punkt 163-165°C (begynder 160°C, $[\alpha]_D^{26} -27^\circ$ (c, 1% i ethanol)).
 15 Krystallisation af 9,8 g af saltet ud fra 300 ml acetonitril
 giver 9,5 g farveløst fast cyclohexylaminsalt, smeltepunkt
 165-167°C (begynder 162°C), $[\alpha]_D^{25} -27^\circ$ (c, 1% i ethanol).

Cyclohexylaminsaltet (9,0 g) suspenderes i 40 ml
 ethylacetat, omrøres, afkøles og behandles med 45 ml 1N salt-
 20 syre. Lagene adskilles, den vandige fase ekstraheres med
 yderligere 3 x 40 ml ethylacetat, de forenede organiske lag
 tørres (MgSO_4), og opløsningsmidlet afdampes, hvilket giver
 7,1 g (75%) glaslignende N-carbobenzyloxy-4,4-trimethylendi-
 oxy-L-prolin.

b) 4,4-Trimethylendioxy-L-prolin

25 En opløsning af 7,1 g (0,022 mol) N-carbobenzyl-
 oxy-4,4-trimethylendioxy-L-prolin i 200 ml 2:1 methanol/vand
 hydrogeneres i nærværelse af 2 g 5% palladium-carbon-kataly-
 sator, hvilket giver 3,8 g (93%) næsten farveløs 4,4-trimethyl-
 30 endioxy-L-prolin, smeltepunkt 234-236°C (sønderdeling) med
 forudgående gradvis mørkfarvning af sintring, $[\alpha]_D^{25} -36^\circ$ (c,
 1% i 1:1 methanol/vand).

Analyse, beregnet for $\text{C}_8\text{H}_{13}\text{NO}_4$:

C 51,33, H 7,00, N 7,48,

35

Fundet: C 51,42, H 7,11, N 7,40.

0

c) [2(S),3S]-2-[3-(Acetylthio)-2-methyl-1-oxopropyl]-6,10-dioxa-2-azaspiro[4,5]decan-3-carboxylsyre

3,7 g (0,02 mol) 4,4-trimethylenedioxy-L-prolin acyleres med 4,0 g (0,022 mol) D-3-acetylthio-2-methylpropionylchlorid i 50 ml vand i nærværelse af natriumcarbonat som anført i eksempel 1(e), hvilket giver 7,3 g glaslignende råprodukt.

Produktet omdannes til dicyclohexylaminsaltet med 3,6 g dicyclohexylamin i 70 ml ethylacetat. Efter podning og gnidning udfældes det krystallinske salt, smeltepunkt 168-170°C (begynder 166°C), $[\alpha]_D^{26} -59^\circ$ (c, 1% i ethanol). Omkrystallisation ud fra 30 ml acetonitril giver 6,5 g farveløst fast salt, smeltepunkt 169-171°C, $[\alpha]_D^{25} -63^\circ$, (c, 1% i ethanol).

Dicyclohexylaminsaltet omdannes til den frie syre ved, at man suspenderer 6,4 g i 75 ml ethylacetat og behandler med 75 ml 10% kaliumbisulfat og omrører, indtil der fås to lag. Efter adskillelse ekstraheres den vandige fase med ethylacetat (4 x 75 ml), de organiske lag forenes, tørres (MgSO₄) og opløsningsmidlet afdampes, hvilket giver 4,3 g (67%) glaslignende [2(S),3S]-2-[3-(acetylthio)-2-methyl-1-oxopropyl]-6,10-dioxa-2-azaspiro[4,5]decan-3-carboxylsyre.

Eksempel 8

25 [2(S),3S]-2-(3-Mercapto-2-methyl-1-oxopropyl)-6,10-dioxa-2-azaspiro[4,5]decan-3-carboxylsyre

[2(S),3S]-2-[3-(Acetylthio)-2-methyl-1-oxopropyl]-6,10-dioxa-2-azaspiro[4,5]decan-3-carboxylsyre (4,3 g, 0,013 mol) hydrolyseres med 8,5 ml koncentreret ammoniak i 20 ml ifølge fremgangsmåden i eksempel 2, hvilket giver 0,9 g farveløst fast produkt, $[\alpha]_D^{25} -64^\circ$ (c, 0,5% i ethanol). Der fås yderligere 0,8 g produkt ved at ekstrahere den vandige fase med chloroform, $[\alpha]_D^{25} -66^\circ$. De to udbytter opløses i chloroform, indampes, gnides under ether, og indampningen gentages, hvilket giver 1,7 g (46%) [2(S),3S]-2-(3-mercapto-2-methyl-1-oxopropyl)-6,10-dioxa-2-azaspiro[4,5]decan-3-carboxylsyre, smeltepunkt 169-171°C (begynder 167°C), $[\alpha]_D^{26}$

0

-71° (c, 1% i methanol).

Analyse, beregnet for $C_{12}H_{19}NO_5S$:

C 49,81, H 6,62, N 4,84, S 11,08.

Fundet: C 49,67, H 6,67, N 4,93, S 11,10.

5

Eksempel 9

[7(S),8S]-7-[3-(Acetylthio)-2-methyl-1-oxopropyl]-7-aza-1,4-
-dithiaspiro[4,4]nonan-8-carboxylsyre

a) N-Carbobenzyloxy-4,4-ethylendithio-L-prolin-methylester

10 En omrørt opløsning af 3,9 g (0,014 mol) N-carbo-
benzyloxy-4-keto-L-prolin-methylester i 60 ml methylenchlo-
rid behandles med 3 ml (0,036 mol) ethandithiol, afkøles til
8°C og behandles under argontæppe med 3 ml (0,024 mol) bor-
trifluoridetherat. Efter at kølebadet er fjernet, omrøres
15 den bleggule opløsning i yderligere en time og holdes natten
over ved stuetemperatur. Opløsningen omrøres, behandles med
flere stykker knust is, efterfulgt af 20 ml vand. Efter 30
minutters forløb skilles lagene, og den vandige fase (50 ml)
ekstraheres med yderligere 3 x 30 ml methylenchlorid. De
20 forenede organiske lag vaskes med 50 ml mættet natriumchlorid-
opløsning, tørres ($MgSO_4$), og opløsningsmidlet fjernes på en
roterende fordamper, hvilket giver 6 g (100%) af en bleggul
olie, N-carbobenzyloxy-4,4-ethylendithio-L-prolin-methylester.

b) N-Carbobenzyloxy-4,4-ethylendithio-L-prolin

25 Methylesterproduktet fra del (a) (7,4 g, ca. 0,018
mol) opløses i 65 ml methanol, behandles dråbevis ved -1 til
4°C med 14,5 ml (0,029 mol) 2N natriumhydroxid, holdes ved
0°C i en time og ved stuetemperatur natten over. Efter at
ca. halvdelen af opløsningsmidlet er fjernet på en roterende
30 fordamper, fortyndes opløsningen med 125 ml vand, vaskes med
ether (vaskevæsken kasseres), gøres sur under afkøling med
5 ml 1:1 saltsyre til pH 2 og ekstraheres med ethylacetat (4 x
50 ml). De forenede ekstrakter vaskes med 50 ml mættet na-
triumchlorid, tørres ($MgSO_4$), og opløsningsmidlet afdampes,
35 hvilket giver 6 g af en bleggul viskos olie. Denne olie op-
løses i 25 ml ethanol, behandles med 1,8 g cyclohexylamin i
5 ml ethanol og fortyndes til 300 ml med ether. Ved podning

0

og gnidning udskilles det krystallinske cyclohexylaminsalt, hvilket efter køling natten over giver 5,7 g N-carbobenzyloxy-4,4-ethylendithio-L-prolin-cyclohexylaminsalt, smeltepunkt 205-207°C (begynder 201°C). Omkrystallisation ud fra 50 ml ethanol/400 ml ether giver 4,9 g farveløst fast salt, smeltepunkt 207-209°C (begynder 201°C), $[\alpha]_D^{25} -15^\circ$ (c, 1% i chloroform).

Cyclohexylaminsaltet (4,8 g) suspenderes i 25 ml ethylacetat, omrøres og behandles med 25 ml 1N saltsyre. Når der fås to klare lag, skilles disse ad, den vandige fase ekstraheres med yderligere 3 x 25 ml ethylacetat, de forenede organiske lag tørres ($MgSO_4$), og opløsningsmidlet afdampes, hvilket giver 3,8 g (62%) N-carbobenzyloxy-4,4-ethylendithio-L-prolin som en bleggul viskos sirup.

15 c) 4,4-Ethylendithio-L-prolin-hydrobromid

3,7 g N-carbobenzyloxy-4,4-ethylendithio-L-prolin (0,011 mol) behandles med 20 ml hydrogenbromid i eddikesyre (30-32%), tilproppes løst og omrøres magnetisk. Blanding er vanskelig på grund af udgangsmaterialets viskositet, og dette opdeles så meget som muligt med en spatel. I mellemtiden begynder det krystallinske produkt at udskilles. Der tilsættes yderligere mængder hydrogenbromid i eddikesyre efter 15 minutter (10 ml) og efter 25 minutter (5 ml) og omrøringen fortsættes i ialt 35 minutter. Der tilsættes 250 ml ether for at afslutte udfældningen af produktet, og efter afkøling i 15 minutter filtreres det cremefarvede materiale under nitrogen, vaskes med ether og tørres i vakuum, hvilket giver 2,7 g 4,4-ethylendithio-L-prolin-hydrobromid, smeltepunkt 240-242°C (sønderdeling), sintring og mørkfarvning fra ca. 200°C, $[\alpha]_D^{26} -40^\circ$ (c, 0,5% i 1:1 chloroform/methanol).

30 d) [7(S),8S]-7-[3-(Acetylthio)-2-methyl-1-oxopropyl]-7-aza-1,4-dithiaspiro[4,4]nonan-8-carboxylsyre

En omrørt opløsning af 2,6 g (0,0091 mol) 4,4-ethylendithio-L-prolin-hydrobromid i 25 ml vand afkøles til 5°C og bringes til pH 8,2 ved tilsætning af 25% natriumcarbonat (vægt/volumen). Under fortsat omrøring og afkøling tilsættes portionsvis en opløsning af 1,9 g (0,01 mol) D-3-acetylthio-2-methylpropionylchlorid i 2,5 ml ether, idet pH holdes på 7,5-8,2 ved dråbevis tilsætning af 25% natriumcarbo-

0 nat. Når pH er stabiliseret på 8,2-8,5 (efter ca. 15 minutter), fortsættes omrøring og afkøling i ialt en time. Opløsningen vaskes derefter med 25 ml ethylacetat (vaskevæskens kasseres, dækkes med et lag af 25 ml ethylacetat, afkøles, 5 omrøres, gøres forsigtigt sur med 1:1 saltsyre til pH 2,0, mættes med natriumchlorid, og lagene adskilles. Den vandige fase ekstraheres med yderligere ethylacetat (3 x 25 ml), de forenede organiske lag tørres (MgSO_4), og opløsningsmidlet afdampes, tilsidst ved 0,2 mm, hvilket giver 2,6 g sirupsagtigt produkt, der begynder at krystallisere. Dette behandles 10 i 30 ml ethylacetat med 1,5 g dicyclohexylamin, hvilket giver 3,0 g farveløst dicyclohexylaminsalt, smeltepunkt $176-178^\circ$ (s 170°C), $[\alpha]_D^{26} -55^\circ$ (c, 1% i ethanol). Dette materiale formales i en morter under 15 ml acetonitril, afkøles 15 i en time, filtreres, vaskes med 5 ml kold acetonitril og med ether og tørres, hvilket giver 2,9 g dicyclohexylaminsalt, smeltepunkt $177-179^\circ\text{C}$ (s 172°), $[\alpha]_D^{26} -56^\circ$ (c, 1% i ethanol).

Analyse, beregnet for $\text{C}_{13}\text{H}_{19}\text{NO}_4\text{S} \cdot \text{C}_{12}\text{H}_{23}\text{N}$:
 20 C 56,56, H 7,98, N 5,28, S 18,12.
 Fundet: C 56,21, H 8,18, N 5,05, S 18,00.

Det ovennævnte dicyclohexylaminsalt omdannes til den frie syre ved at suspendere 2,8 g i 30 ml ethylacetat, afkøles og behandle med 30 ml 10% kaliumbisulfat, hvilket 25 giver to klare lag. Efter adskillelse ekstraheres den vandige fase med 3 x 50 ml ethylacetat, de forenede organiske lag tørres (MgSO_4), og opløsningsmidlet afdampes, til sidst ved 0,1-0,2 mm og 45°C , hvilket giver 2,0 g (63%) farveløs fast [7(S),8S]-7-[3-(acetylthio)-2-methyl-1-oxopropyl]-7- 30 -aza-1,4-dithiaspiro[4,4]-nonan-8-carboxylsyre, smeltepunkt $125-126^\circ\text{C}$ (s, 122°C), $[\alpha]_D^{26} -101^\circ$ (c, 1% i ethanol).

Eksempel 10

[7(S),8S]-7-(3-Mercapto-2-methyl-1-oxopropyl)-7-aza-1,4-dithiaspiro[4,4]nonan-8-carboxylsyre

35 Argon ledes gennem en kold opløsning af 3,5 ml koncentreret ammoniak i 8,5 ml vand i 15 minutter. Dette til-

0

sættes derefter under afkøling og argontæppe til 1,9 g (0,054 mol) [7(S),8S]-7-[3-(acetylthio)-2-methyl-1-oxopropyl]-7-aza-1,4-dithiaspiro[4,4]nonan-8-carboxylsyre, og blandingen hvirvles rundt i isbad, indtil der fås en opløsning. Omrøring under argon fortsættes ved stuetemperatur i yderligere to timer, derefter ekstraheres opløsningen med 15 ml ethylacetat under argonatmosfære. Det vandige lag afkøles, omrøres, dækkes med et lag af 15 ml ethylacetat og gøres portionsvis sure med ca. 6,5 ml 1:1 saltsyre. Lagene adskilles, den vandige fase ekstraheres med yderligere 3 x 15 ml ethylacetat, de forenede acetatlag tørres (MgSO_4), og opløsningsmidlet afdampes, hvilket giver en glaslignende remanens, der størkner, når den gnides under ether. Afdampningen gentages, og det farveløse produkt suspenderes i 30 ml hexan, filtreres og tørres i vakuum, hvilket giver 1,4 g (84%) [7(S),8S]-7-(3-mercapto-2-methyl-1-oxopropyl)-7-aza-1,4-dithiaspiro[4,4]nonan-8-carboxylsyre, smeltepunkt 116-118°C (s 105°C), $[\alpha]_D^{26} -44^\circ$ (c, 1% i ethanol).

Analyse, beregnet for $\text{C}_{11}\text{H}_{17}\text{NO}_3\text{S}_3$:

20 C 42,97, H 5,57, N 4,56, S 31,29, SH 100%

Fundet: C 42,70, H 5,71, N 4,54, S 31,13, SH 100%.

Eksempel 11

25 (8S)-7-[3-(Acetylthio)-2-trifluormethyl-1-oxopropyl]-1,4-dioxo-7-azaspiro[4,4]nonan-8-carboxylsyre, isomere A og B

a) D,L-3-(Acetylthio)-2-trifluormethylpropionsyre

10 g (0,071 mol) α -trifluormethylacrylsyre, fremstillet som anført i J.Chem.Soc., 1954, side 371, afkøles i et bad af is, vand og salt, omrøres og behandles portionsvis med 5,7 ml (0,075 mol) 97% thioleddikesyre. Efter tilsætningen omrøres en gule væske i kulden i en time, får lov at varme op til stuetemperatur og destilleres, hvilket giver 14 g (91%) D,L-3-(acetylthio)-2-trifluormethylpropionsyre som en lysegul olie, kogepunkt 149-153°C/13 mm. Materialet størkner ved opbevaring i kulden.

35

0

b) D,L-3-(Acetylthio)-2-trifluormethylpropionylchlorid

7 g (0,032 mol) D,L-3-(acetylthio)-2-trifluormethylpropionylsyre behandles med 18 ml (0,25) redestilleret thionylchlorid, og blandingen tilbagesvales i tre timer. Efter at det overskydende thionylchlorid er fjernet på en roterende fordamper, destilleres remanensen, hvilket giver 6,8 g D,L-3-(acetylthio)-2-trifluormethylpropionylchlorid som en bleggul olie, kogepunkt 80-82°C/16 mm.

c) (8S)-7-[3-(Acetylthio)-2-trifluormethyl-1-oxopropyl]-1,4-dioxa-7-azaspiro[4,4]nonan-8-carboxylsyre (isomere A og B)

10

2,4 g (0,014 mol) 4,4-ethylendioxy-L-prolin omsættes med 3,4 g (0,014 mol) D,L-3-(acetylthio)-2-trifluormethylpropionylchlorid i 40 ml vand i nærværelse af natriumcarbonat ifølge fremgangsmåden i eksempel 1(e), hvilket giver 4,5 g næsten farveløst fast produkt, smeltepunkt 126-145°C (s 115°C), $[\alpha]_D^{25} -34^\circ$ (c, 1% i ethanol).

15

Blandingen af diastereoisomere (4,2 g) suspenderes i 45 ml ether, omrøres i to timer, afkøles i 20 minutter, og det uopløste faste stof filtreres, vaskes med kold ether og lufttørres, hvilket giver 2,7 g produkt, smeltepunkt 166-172°C (s 140°C), $[\alpha]_D^{25} -62^\circ$ (c, 1% i ethanol). Materialet formales derefter i en morter under 25 ml ether, filtreres efter 15 minutter, vaskes med noget ether og lufttørres igen, hvilket giver 2,1 g produkt, (smeltepunkt 172-177°C (s 143°C). Efter krystallisation ud fra 11 ml kogende isopropanol og afkøling natten over fås 1,55 g farveløs (8S)-7-[3-(acetylthio)-2-trifluormethyl-1-oxopropyl]-1,4-dioxa-7-azaspiro[4,4]nonan-8-carboxylsyre, isomer A, smeltepunkt 192-194°C, (s 183°C), $[\alpha]_D^{25} -32^\circ$ (c, 1% i ethanol). En prøve omkrystalliseres ud fra isopropanol, smeltepunkt 193-195°C (s 184°C), $[\alpha]_D^{25} -134^\circ$ (c, 1% i ethanol).

25

30

Isomer B fås ved at kombinere ovenstående ether- og isopropanolfiltrater og fjerne opløsningsmidlerne under formindsket tryk, hvilket giver 2,2 g af et svagt gult fast stof, smeltepunkt 108-109°C (s 95°C), $[\alpha]_D^{25} +30^\circ$ (c, 1% i ethanol). Dette materiale renses ved krystallisation ud

35

0 fra 6 ml isopropanol, hvilket giver 1,2 g næsten farveløst
fast stof, smeltepunkt 153-155°C (s 130°C), $[\alpha]_D^{25} +40^\circ$ (c,
1% i ethanol). Efter krystallisation ud fra 4 ml ethylace-
tat/6 ml hexan fås 1,1 g (8S)-7-[3-(acetylthio)-2-trifluor-
5 methyl-1-oxopropyl]-1,4-dioxa-7-azaspiro[4,4]nonan-8-carbox-
ylsyre, isomer B, smeltepunkt 153-155°C (s 141°C), $[\alpha]_D^{25} +41^\circ$
(c, 1% i ethanol).

Eksempel 12

10 (8S)-7-(3-Mercapto-2-trifluormethyl-1-oxopropyl)-1,4-dioxa-7-
-azaspiro[4,4]nonan-8-carboxylsyre-isomer A

Isomer A-produktet fra eksempel 16 (1,45 g, 0,0039
mol) hydrolyseres med 2,5 ml koncentreret ammoniak i 6 ml
vand i en time som beskrevet i eksempel 2, hvilket giver
15 1,25 g (97%) farveløs (8S)-7-(3-mercapto-2-trifluormethyl-1-
-oxopropyl)-1,4-dioxa-7-azaspiro[4,4]nonan-8-carboxylsyre,
isomer A, som et glaslignende produkt, $[\alpha]_D^{25} -61^\circ$ (c, 1% i
ethanol). TLC: R_f 0,40 (95:5:5 methylenchlorid/methanol/ed-
dikesyre, vis. SH-reagens, PMA og varme).

20 Analyse, beregnet for $C_{11}H_{14}F_3NO_5S$:

C 40,12, H 4,28, N 4,25, S 9,74, F 17,31.

Fundet: C 40,10, H 4,43, N 4,51, S 9,63, F 17,10.

Ovennævnte syre opløses i ethylacetat og behandles
med 1-adamantanamin, hvilket giver 1-adamantanaminsaltet, smel-
25 tepunkt 213-125°C (sønderdeling, $[\alpha]_D^{25} -47^\circ$ (c, 1% i methanol).

Eksempel 13

(8S)-7-(3-Mercapto-2-trifluormethyl-1-oxopropyl)-1,4-dioxa-
-7-azaspiro[4,4]nonan-8-carboxylsyre, isomer B

30 Isomer B-produktet fra eksempel 16 (1,05 g, 0,028
mol) hydrolyseres med 2 ml koncentreret ammoniak i 5 ml vand
ifølge fremgangsmåden i eksempel 2, hvilket giver 0,9 g
(97%) (8S)-7-(3-mercapto-2-trifluormethyl-1-oxopropyl)-1,4-
-dioxa-7-azaspiro[4,4]nonan-8-carboxylsyre, isomer B som
35 en svagt gul viskos sirup, $[\alpha]_D^{25} -16^\circ$ (c, 1% i ethanol). Ma-

0

terialet størkner til et voksagtigt fast stof, smeltepunkt 61-64°C (s 55°).

Analyse, beregnet for $C_{11}H_{14}F_3NO_5 \cdot 0,25 H_2O$:

C 39,58, H 4,38, N 4,20, S 9,61, F 17,01.

5

Fundet: C 39,60, H 4,28, N 4,26, S 9,62, F 16,89.

Eksempel 14

[8S]-7-(3-Mercapto-2-trifluormethyl-1-oxopropyl)-7-aza-1,4-dithiaspiro[4,4]nonan-8-carboxylsyre

10

a) 3-[[(4-Methoxy)phenylmethyl]thio]-2-trifluormethylpropionylchlorid

15

En omhyggelig blanding af 3,9 g 1-trifluormethylacrylsyre og 4,3 g 4-methoxybenzylthiol omrøres ved 100-110°C i en time. Blandingen får lov at køle af til stuetemperatur, og det faste stof omkrystalliseres ud fra cyclohexan, hvilket giver 3-[[(4-methoxy)phenylmethyl]thio]-2-trifluormethylpropionsyre, smeltepunkt 72-74°C.

20

Behandling af denne syre med thionylchlorid giver 3-[[(4-methoxy)phenylmethyl]thio]-2-trifluormethylpropionylchlorid.

b) [8S]-7-[3-[[(4-Methoxy)phenylmethyl]thio]-2-trifluormethyl-1-oxopropyl]-7-aza-1,4-dithiaspiro[4,4]nonan-8-carboxylsyre

25

3-[[(4-Methoxy)phenylmethyl]thio]-2-trifluormethylpropionylchloridet fra del (a) omsættes med 4,4-ethyldithio-L-prolin ifølge fremgangsmåden i eksempel 9(d), hvilket giver [8S]-7-[3-[[(4-methoxy)phenylmethyl]thio]-2-trifluormethyl-1-oxopropyl]-7-aza-1,4-dithiaspiro[4,4]nonan-8-carboxylsyre.

30

c) [8S]-7-(3-Mercapto-2-trifluormethyl-1-oxopropyl)-7-aza-1,4-dithiaspiro[4,4]nonan-8-carboxylsyre

35

Produktet fra del (b) blandes med trifluoreddikesyre og anisol under nitrogen. Opløsningsmidlerne fjernes under vakuum, hvilket som reanens giver [8S]-7-(3-mercapto-2-trifluormethyl-1-oxopropyl)-7-aza-1,4-dithiaspiro[4,4]nonan-8-carboxylsyre.

Eksempel 151-(3-Mercapto-1-oxopropyl)-4,4-dimethylthio-L-prolina) 4-Keto-L-prolin-hydrobromid

Til 4,0 g (0,015 mol) N-carbobenzyloxy-4-keto-L-
5 -prolin sættes 20 ml hydrogenbromid i eddikesyre (30-32%).
Blandingen hvivles hyppigt om i et tidsrum på 8 minutter.
Ved slutningen af dette tidsrum (brusningen er ophørt), dæk-
kes den gulorange opløsning med et lag af ether på 25°C, og
det gummiagtige produkt tritureres. Etheren kasseres, og
10 det fremkomne klæbrige faste stof tritureres med frisk ether
og til sidst med 50 ml acetonitril, hvilket giver 4-keto-L-
-prolin-hydrobromid som et krystallinsk fast stof, der vejer
2,7 g (85%), smeltepunkt 153-155°C (sønderdeling), $[\alpha]_D^{26}$
-49° (c, 1% i vand).

b) 1-[3-(Acetylthio-1-oxopropyl)-4-oxo-L-prolin

En omrørt opløsning af 4,1 g (0,0195 mol) 4-keto-
-L-prolin-hydrobromid i 50 ml vand afkøles til 5°C og behand-
les portionsvis med fast natriumcarbonat (skumning reguleres
ved tilsætning af nogle dråber ether) til pH 8,0 (ca. 2 g er
20 nødvendigt). Derefter tilsættes portionsvis under fortsat
omrøring og afkøling en opløsning af 3,5 g (0,012 mol) 3-acet-
ylthiopropionylchlorid i 5 ml ethylacetat ved hjælp af en
pipette, idet pH holdes på 7,0-8,0 ved dråbevis tilsætning
af 25% (vægt/volumen) natriumcarbonatopløsning (ca. 10 ml).
25 Efter ca. 10 minutters' forløb stabiliseres pH på 8,0-8,4.
Efter fortsat omrøring og afkøling i i alt en time vaskes
opløsningen med 2 x 50 ml ethylacetat, dækkes med et lag
af 50 ml ethylacetat, omrøres, afkøles, gøres forsigtigt
sur med koncentreret saltsyre til pH 2,0, mættes med natrium-
30 chlorid, og lagene adskilles. Den vandige fase ekstraheres
med yderligere 3 x 50 ml ethylacetat, de forenede organiske
lag tørres (MgSO₄), og opløsningsmidlet afdampes, til sidst
ved 0,2 mm, hvilket giver 4,8 g af en gulorange glaslignende
remanens. Denne remanens opløses i 35 ml ethylacetat og be-
35 handles med en opløsning af 3,5 g dicyclohexylamin i 5 ml
ethylacetat. Ved podning og gnidning udskilles krystallinsk

0

1-[3-(acetylthio-1-oxopropyl)]-4-oxo-L-prolin-dicyclohexyl-
aminsalt, vægt efter afkøling natten over 2,7 g (næsten far-
veløs), smeltepunkt 191-193°C (sønderdeling), $[\alpha]_D^{26} -24^\circ$ (c,
1% i CHCl_3).

5

Dette dicyclohexylaminsalt omdannes til den frie
syre ved anvendelse af kaliumbisulfat som beskrevet i eksem-
pel 1(e), hvilket giver 3,7 g 1-[3-(acetylthio)-1-oxopropyl]-
-4-oxo-L-prolin som et bleggult glaslignende fast stof.

c) 1-[3-(Acetylthio)-1-oxopropyl]-4,4-dimethylthio-L-prolin

10

1-[3-(Acetylthio)-1-oxopropyl]-4-oxo-L-prolinet om-
sættes med methylthiol ifølge fremgangsmåden i eksempel 9(a),
hvilket giver 1-[3-(acetylthio)-1-oxopropyl]-4,4-dimethyl-
thio-L-prolin.

d) 1-(3-Mercapto-1-oxopropyl)-4,4-dimethylthio-L-prolin

15

Produktet fra del (a) hydrolyseres med koncentre-
ret ammoniak ifølge fremgangsmåden i eksempel 2, hvilket gi-
ver 1-(3-mercapto-1-oxopropyl)-4,4-dimethylthio-L-prolin.

Eksempel 16

20

[7(S), 8S]-7-(3-Mercapto-2-methyl-1-oxopropyl)-1,4-dioxo-7-aza-
spiro[4,4]nonan-2-methyl-8-carboxylsyre

a) N-Carbobenzyloxy-4,4-(1-methylethyldioxy)-L-prolin-methyl-
ester

25

En omrørt blanding af 8 g (0,025 mol) N-carbobenz-
yloxy-4,4-dimethoxy-L-prolin-methylester fra eksempel 3(a),
2,4 g (0,032 mol) 1,2-propandiol, 0,4 g p-toluensulfonsyre-mo-
nohydroat og 400 ml toluen opvarmes til tilbagesvaling (110-
112°C). Tilbagesvalingshastigheden reguleres således, at
opløsningsmidlet langsomt destillerer ved hjælp af en Dean-
Stark-ledning ind til en skalainddelt cylinder. Når der er op-
samlet 80 ml opløsningsmiddel, sættes en tilsvarende volu-
men frisk opløsningsmiddel til reaktionskolben gennem en
tilsætningstragt. Denne operation med at fjerne og erstat-
te 80 ml opløsningsmiddel gentages fire gange under en sam-
let tilbagesvalingsperiode på 1,25 time.

35

0

Efter henstand natten over vaskes blandingen med 2 x 100 ml vand, de forenede vaskninger ekstraheres tilbage med 100 ml toluen, de forenede organiske lag tørres (MgSO_4), og opløsningsmidlet fjernes på en roterende fordamper, til sidst ved 0,2 mm, hvilket giver 8,2 g (99%) N-carbobenzyl-
oxy-4,4-(1-methylethylendioxy)-L-prolin-methylester som en gul viskos olie.

5

b) N-Carbobenzyl-4,4-(1-methylethylendioxy)-L-prolin

Det rå methylesterprodukt fra del (a) (8,2 g, 0,025 mol) opløses i 80 ml methanol, behandles dråbevis ved -1 til +4°C med 18 ml (0,036 mol) 2N natriumhydroxid, holdes ved 0°C i en time og ved stuetemperatur natten over. Efter at ca. halvdelen af opløsningsmidlet er fjernet på en roterende fordamper, fortyndes opløsningen med 150 ml vand, vaskes med 100 ml ether (vaskevæskens kasseres), gøres sur under afkøling med 6,3 ml 1:1 saltsyre til pH 2 og ekstraheres med ethylacetat (4 x 75 ml). De forenede ekstrakter vaskes med 50 ml mættet natriumchlorid, tørres (MgSO_4), og opløsningsmidlet afdampes, hvilket giver 8 g rødorange viskos olie.
Denne olie opløses i 50 ml acetonitril, opvarmes, omrøres og behandles med 3,8 g 1-adamantanamin. Det faste salt udskilles hurtigt. Efter afkøling natten over filtreres materialet, vaskes med kold acetonitril og med ether og tørres i vakuum, hvilket giver 10,3 g rå adamantanaminsalt, smeltepunkt 202-204°C (sønderdeling), $[\alpha]_D^{26} -13^\circ$ (c, 1% i methanol). Efter triturering med 50 ml kogende acetonitril og afkøling vejer det svagt lysebrune salt 9,4 g, smeltepunkt 202-204°C, sønderdeling, $[\alpha]_D^{26} -13^\circ$ (c, 1% i methanol).

10

15

20

25

30

35

Ovennævnte adamantanaminsalt suspenderes i 40 ml ethylacetat, omrøres og behandles med 1N saltsyre. Når der er opnået to klare lag, adskilles disse, den vandige fase ekstraheres med yderligere 3 x 40 ml ethylacetat, de forenede organiske lag tørres (MgSO_4), og opløsningsmidlet afdampes, til sidst ved 0,2 mm og 40°C, hvilket giver 5,8 g (72%) N-carbobenzyl-4,4-(1-methylethylendioxy)-L-prolin som en gulorange viskos sirup.

0

c) 4,4-(1-Methylethyldioxy)-L-prolin

En opløsning 5,6 g (0,017 mol) af ovennævnte N-carbobenzyloxy-4,4-(1-methylethyldioxy)-L-prolin i 150 ml 2:1 methanol/vand behandles med 1,6 g 5% palladium-carbon-

5 -katalysator og rystes under 3 atm. hydrogen i 5 timer. Katalysatoren filtreres fra under nitrogen, vaskes med methanol og de forenede filtrater inddampes, til sidst ved 0,1-0,2 mm, hvilket giver en krystallinsk remanens. Denne suspenderes i 200 ml methanol, og inddampningen gentages. Den faste re-

10 manens gnides under ether (inddampning gentages), hvilket giver 3,0 g (94%) bleg lysebrunt 4,4-(1-methylethyldioxy)-L-prolin, smeltepunkt 219-221°C (sønderdeling) med forudgående gradvis mørkfarvning og sintring, $[\alpha]_D^{25} -22^\circ$ (c, 1% i 1:1 ethanol/vand).

15 d) [7(S),8S]-7-[3-(Acetylthio)-2-methyl-1-oxopropyl]-1,4-dioxo-7-azaspiro[4,4]nonan-2-methyl-8-carboxylsyre

2,8 g (0,015 mol) af 4,4-(1-methylethyldioxy)-L-prolinet omsættes med 3,0 g (0,017 mol) D-3-acetylthio-2-methylpropionylchlorid i 40 ml vand ifølge fremgangsmåden i

20 eksempel 1(e), hvilket giver 5,0 g viskøst gult produkt. Dette behandles med 2,8 g dicyclohexylamin i 45 ml ethylacetat, hvilket giver 4,2 g næsten farveløst [7(S),8S]-7-[3-(acetylthio)-2-methyl-1-oxopropyl]-1,4-dioxo-7-azaspiro[4,4]nonan-2-methyl-8-carboxylsyre-dicyclohexylaminsalt, smeltepunkt

25 170-172°C (s, 168°C), $[\alpha]_D^{25} -58^\circ$, (c, 1% i ethanol). Efter krystallisation ud fra 12 ml acetonitril vejer det farveløse faste salt 3,85 g (51%), smeltepunkt 170-172°C (s, 168°C), $[\alpha]_D^{25} -57^\circ$ (c, 1% i ethanol).

Analyse, beregnet for $C_{14}H_{21}NO_6S \cdot C_{12}H_{23}N$:

30 C 60,90, H 8,65, N 5,46, S 6,26.

Fundet: C 60,93, H 8,72, N 5,43, S 6,35.

Dicyclohexylaminsaltet omdannes til den frie syre ved at suspendere 3,8 g i ethylacetat og behandle med 45 ml 10% kaliumbisulfat og omrøre, indtil der fås to lag.

35 Efter adskillelse ekstraheres den vandige fase med ethylacetat (4 x 40 ml), de organiske lag forenes, tørres ($MgSO_4$),

0

og opløsningsmidlet afdampes, hvilket giver 2,5 g (51%)
farveløs fast [7(S),8S]-7-[3-(acetylthio)-2-methyl-1-oxopro-
pyl]-1,4-dioxo-7-azaspiro[4,4]nonan-2-methyl-8-carboxylsyre,
smeltepunkt 65-68°C (s, 48°C), $[\alpha]_D^{25} -100^\circ$ (c, 1% i ethanol).

5

e) [7(S),8S]-7-(3-mercapto-2-methyl-1-oxopropyl)-1,4-dioxo-
-7-azaspiro[4,4]nonan-2-methyl-8-carboxylsyre

10

Produktet fra del (d) hydrolyseres med koncentreret
ammoniak ifølge fremgangsmåden i eksempel 2, hvilket giver
2,05 g [7(S),8S]-7-(3-mercapto-2-methyl-1-oxopropyl)-1,4-di-
oxo-7-azaspiro[4,4]nonan-2-methyl-8-carboxylsyre som en vi-
skos farveløs olie, $[\alpha]_D^{25} -57^\circ$, (c, 1% i ethanol).

Eksempel 17

15

(S,S,S,S)-7,7'-[Dithiobis(2-methyl-1-oxo-3,1-propandiyl)]-
bis[1,4-dioxa-7-azaspiro[4,4]nonan-8-carboxylsyre

20

3,0 g (0,0109 mol) [7(S),8S]-7-(3-Mercapto-2-meth-
yl-1-oxopropyl)-1,4-dioxa-7-azaspiro[4,4]nonan-8-carboxylsy-
re fra eksempel 2 opløses i 80 ml vand, og pH indstilles til
6,5 med 1N natriumhydroxid. Til denne omrørte opløsning sæt-
tes dråbevis i alt 11 ml 0,5 molær iodopløsning i 95% ethan-
ol (6,34 g iod/50 ml opløsning), idet pH holdes på 5,5-6,5
med 1N natriumhydroxid. Efter 15 minutter fjernes spor af
overskydende iod med fortyndet natriumthiosulfat, og opløs-
ningen koncentrerer til ca. 50 ml, afkøles og gøres sur med
1:1 saltsyre. 30 ml methylenchlorid tilsættes, og blandin-
gen mættes med natriumchlorid, omrøres, og lagene adskilles.
Den vandige fase ekstraheres med yderligere 3 x 20 ml methyl-
enchlorid, de forenede organiske lag tørres (MgSO_4), og opløs-
ningsmidlet afdampes, til sidst ved 0,2 mm. Den sprøde re-
manens gnides under ether og afdampningen gentages, hvilket
giver 2,8 g bleggul fast remanens. Materialet genopløses i
50 ml methylenchlorid, vaskes med 3 x 10 ml vand, de forene-
de vandige lag tilbageekstraheres med 20 ml methylenchlorid,
og de forenede lag tørres (MgSO_4). Inddampning og triture-
ring med ether som ovenfor giver 2,2 g (73%) flødefarvet

35

0

amorft fast stof (S,S,S,S)-7,7'-[dithiobis(2-methyl-1-oxo-
-3,1-propandiyl)]bis[1,4-dioxa-7-azaspiro[4,4]nonan-8-carbox-
ylsyre], smeltepunkt 61-63°C (skumning), (s 50°C), $[\alpha]_D^{26}$
-92°, (c, 1% i ethanol).

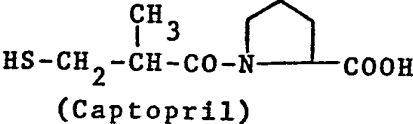
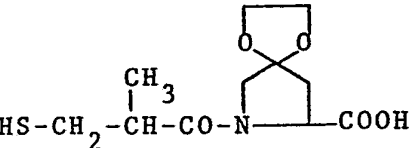
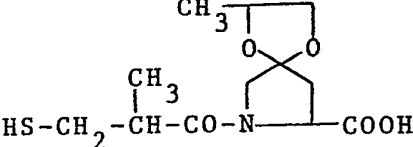
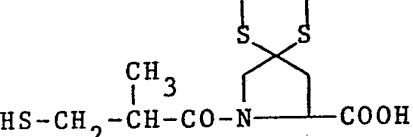
5

Analyse, beregnet for $C_{22}H_{32}N_2O_{10}S \cdot H_2O$:

C 46,63, H 6,05, N 4,94, S 11,31.

Fundet: C 46,52, H 6,29, N 4,63, S 10,96.

Den biologiske virkning af forbindelserne fremstillet
ifølge opfindelsen i sammenligning med captopril, som er
kendt fra dansk patentansøgning nr. 596/77, fremgår af den
følgende tabel.

		<u>I₅₀ (a)</u>	<u>% Inhibering (b)</u>
15	 (Captopril)	0,005	3
20		0,0008	10
25		0,002	16
30		0,002	52

(a) I₅₀ er den koncentration af den undersøgte forbindelse
(μg/ml), der giver 50% inhibering af angiotensin-omdan-
nende enzym isoleret fra kaninlunge.

(b) Tilbageværende procentisk inhibering af angiotensin-om-
dannende enzym efter 24 timer hos rotter, som målt ved
blodtrykket efter intravenøs infusion af angiotensin I.

35

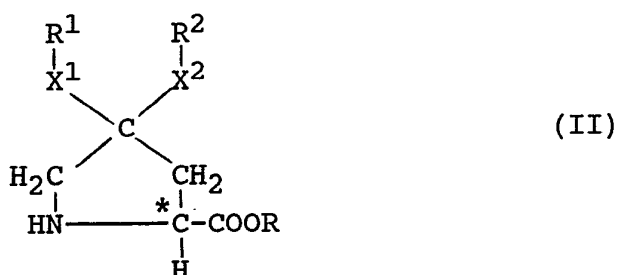
Dosering af forbindelse - 10 mg/kg ækvivalenter af captopril.

5

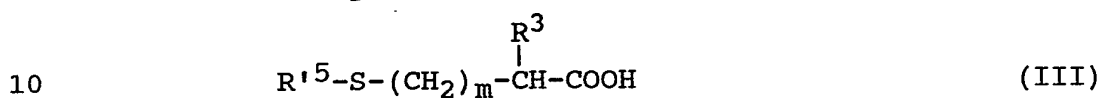
Som det fremgår af resultaterne, er de ved fremgangsmåden ifølge opfindelsen fremstillede forbindelser 3-5 gange så virksomme som captopril, og deres virkning har en betydelig længere varighed, idet der efter 24 timer resterer en

10 betydelig højere procentisk inhibering.

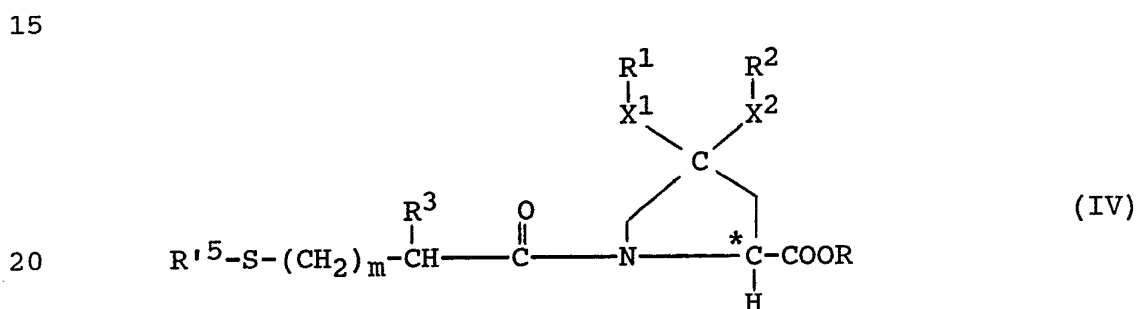
37



hvor R , R^1 , R^2 , X^1 og X^2 har de ovenfor angivne betydninger, kobles med en syre med formelen III



hvor R^3 har den ovenfor angivne betydning, og R'^5 betyder C_2 - C_8 -alkanoyl eller benzoyl, eller et reaktivt derivat deraf, såsom et syrechlorid, til dannelse af en forbindelse med formelen IV



hvorefter om ønsket gruppen R'^5 fjernes til dannelse af en forbindelse med formelen I, hvor R^5 betyder hydrogen, og denne forbindelse om ønsket oxideres med iod til den bis-symmetriske disulfidforbindelse.

2. Fremgangsmåde ifølge krav 1, kendet gennem det ved, at R'^5 betyder C_2 - C_8 -alkanoyl eller benzoyl, og at denne gruppe fjernes ved hydrolyse eller ammonolyse til dannelse af den forbindelse med formelen I, hvor R^5 betyder hydrogen.