(19) SUOMI - FINLAND
(FI)

PATENTTI- JA REKISTERIHALLITUS
PATENT- OCH REGISTERSTYRELSEN
FINNISH PATENT AND REGISTRATION OFFICE

(10) **FI 961857 A7**

(12) **JULKISEKSI TULLUT PATENTTIHAKEMUS**
PATENTANSÖKAN SOM BLIVIT OFFENTLIG
PATENT APPLICATION MADE AVAILABLE TO THE PUBLIC

(21) Patenttihakemus - Patentansökan - Patent application 961857

(51) Kansainvälinen patenttiluokitus - Internationell patentklassifikation - International patent classification
C07F 9/60
C07F 9/6558
C07F 9/30
C07C237/22
C07C259/06
C07C311/39
C07C323/60
C07C327/32
C07D209/20
C07F 9/65 (2006.01)

(22) Tekemispäivä - Ingivningsdag - Filing date **03.11.1994**

(23) Saapumispäivä - Ankomstdag - Reception date **02.05.1996**

(41) Tullut julkiseksi - Blivit offentlig - Available to the public **01.07.1996**

(43) Julkaisupäivä - Publiceringsdag - Publication date **13.06.2019**

(86) Kansainvälinen hakemus - Internationell ansökan - International application **03.11.1994 PCT/US1994/012214**

(32) (33) (31) Etuoikeus - Prioritet - Priority

04.11.1993 US 147811

(71) Hakija - Sökande - Applicant

1 • **Syntex (U.S.A.) Inc.,** 3401 Hillview Avenue, Palo Alto, CA 94304, AMERIKAN YHDYSVALLAT, (US)

(72) Keksijä - Uppfinnare - Inventor

1 • **Castelhano, Arlindo L.,** New City, NY 10956, AMERIKAN YHDYSVALLAT, (US)
2 • **Yuan, Zhengyo,** Santa Clara, CA 95051, AMERIKAN YHDYSVALLAT, (US)
3 • **Horne, Stephen,** Burlington, Ontario L7R 1R5, KANADA, (CA)
4 • **Liak, Teng J.,** Mississauga, Ontario L5M 4R6, KANADA, (CA)

(74) Asiamies - Ombud - Agent

Oy Jalo Ant-Wuorinen Ab, Iso Roobertinkatu 4 - 6 A, 00120 Helsinki

(54) Keksinnön nimitys - Uppfinningens benämning - Title of the invention
Matriksin metalloproteaasien inhibiittorit
Inhibitorer av matrix-metalloproteaser

L 6

HYV. NÄHT.

MENETELMÄ MATRIKSIN METALLOPROTEAASIEN INHIBIITTOREINA KÄYTTÖKELPOISTEN YHDISTEIDEN VALMISTAMISEKSI

Keksinnön ala

Tämä keksintö kohdistuu menetelmään sellaisten yhdisteiden ja niiden farmaseuttisesti hyväksyttävien suolojen valmistamiseksi, jotka inhiboivat matriksin metalloproteaaseja, erityisesti stromelysiiniä ja matrilysiiniä, ja jotka ovat siksi hyödyllisiä nisäkkäiden hoidossa, joilla on sellaisten matriksin metalloproteaasien inhibitiolla lievittyviä tautitiloja.

KEKSINNÖN TAUSTA

Matriksin metalloproteaasit ovat sidekudosten hajottamisesta ja uudistamisesta vastuussa oleva proteaasiperhe. Tämän entsyymiperheen jäsenillä on useita yhteisiä ominaisuuksia, mukaanluettuna sinkki- ja kalsiumriippuvuus, eritys tsymogeeneinä, ja 40-50% aminohappojärjestyshomologia. Matriksin metalloproteaasiperhe käsittää fibroblasteista/makrofaageista ja neutrofiileistä peräisin olevat välikudoskollagenaasit, jotka katalysoivat natiivien kollageenityyppien I, II, III ja X alku- ja nopeutta rajoittavan hajoamisen.

Kollageeni, nisäkkäiden tärkein rakenteellinen proteiini, on monien kudosten, esimerkiksi ruston, luun, jänteen ja ihon matriksin olennainen komponentti. Välikudoskollagenaasit ovat erittäin spesifisiä matriksin metalloproteaaseja, jotka hajottavat kollageenin siten että syntyy kaksi fragmenttia, jotka denaturoituvat spontaanisti fysiologisissa lämpötiloissa ja siksi tulevat herkiksi vähemmän spesifisten entsyymien hajotukselle. Koska kollagenaasin suorittama hajotus johtaa kohdekudoksen rakenteellisen eheyden menetykseen, se on olennaisesti palautumaton tapahtuma ja siksi hyvä kohde hoidolliselle interventiolle.

Välikudoskollagenaasien lisäksi matriksin metalloproteaasientsyymien perhe sisältää kaksi erillistä, vaikkakin hyvin lähisukuista, gelatinaasia: fibroblastien erittämä

72-kD:n entsyymi ja mononukleaaristen fagosyyttien vapauttama 92-kD:n entsyymi. Nämä gelatinaasit kykenevät hajottamaan gelatiineja (denaturoituja kollageeneja), natiiveja tyypin IV ja V kollageeneja, fibronektiiniä ja liukenematonta elastiinia.

Matriksin metalloproteaasien perhe sisältää myös stromelysiinit 1 ja 2, jotka kykenevät hajottamaan laajaa joukkoa matriksin substraatteja, mukaanluettuna laminiini, fibronektiini, proteoglykaanit ja tyypin IV ja IX kollageenit ei-helikaalisilta osiltaan.

Matrilysiini (oletettu metalloproteaasi eli PUMP) on äskettäin kuvattu matriksin metalloproteaasien perheen jäsen. Matrilysiini kykenee hajottamaan laajaa joukkoa matriksisubstraatteja, mukaanluettuna proteoglykaanit, gelatiinit, fibronektiini, elastiini ja laminiini. Sen ilmentyminen on osoitettu mononukleaarisissa fagosyyteissä, rotan kohdun kudosviljelmissä ja satunnaisesti kasvaimissa.

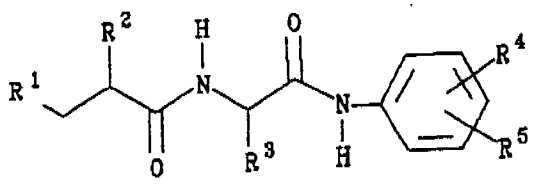
Matriksin metalloproteaasien inhibiittorien on arveltu saamaan aikaan hyödyllisiä hoitoja niveltulehdustauteihin, luukatotautiin, kuten osteoporoosi, sokeritautiin liittyvään lisääntyneeseen kollageenituhoon, periodontaalitautiin, sarveiskalvon haavaumaan, ihon haavaumaan, ja kasvainten etäpesäkkeisiin. Esimerkiksi kollagenaasi-inhibiittoreiden rakennetta ja potentiaalista käyttöä on kuvattu viitteissä *J. Enzyme Inhibition* (1987), Vol. 2, s. 1-22, ja *Drug News & Prospectives* (1990), Vol. 3, no. 8, s. 453-458. Matriksin metalloproteaasien inhibiittorit ovat myös monien patenttien ja patenttihakemusten aiheena, esimerkiksi U.S. Patentti-numerot 5,189,178 (Galardy) ja 5,183,900 (Galardy), EP-patenttihakemukset 0 438 223 (Beecham) ja 0 276 436 (F. Hoffmann-La Roche), PCT-hakemukset 92/21360 (Merck), 92/06966 (Beecham) ja 92/09563 (Glycomed).

KEKSINNÖN YHTEENVETO

Keksinnössä kuvataan uusia yhdisteitä, jotka ovat hyödyllisiä matriksin metalloproteaasien, erityisesti strome-

lysiinin ja matrilysiinin, inhibiittoreina ja jotka ovat tehokkaita tautitilojen hoidossa, joille matriksin metalloproteaasien yliaktiivisuus on luonteenomaista.

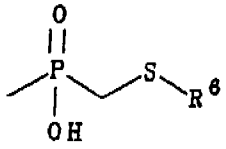
Sen mukaisesti keksintö kohdistuu menetelmään kaavan (I) mukaisten yhdisteiden valmistamiseksi:



(I)

jossa kaavassa

R^1 on merkapto, asetyylitio, karboksyyli, hydroksikarbamoyyli, alkoksikarbonyyli, aryylioksikarbonyyli, aralkoksikarbonyyli, bentsyylioksiaminokarbonyyli tai



(jossa R^6 on valinnaisesti substituoitu aryyli, jossa aryyliryhmä on kinol-2-yyli, naft-1-yyli, naft-2-yyli, pyridyyli tai fenyyli);

R^2 on alkyyli, aralkyyli tai sykloalkyylialkyyli;

R^3 on sykloalkyyli, alkyyli (valinnaisesti substituoitu ryhmällä sykloalkyyli, hydroksyyli, merkapto, alkyylitio, aralkoksi, karboksyyli, amino, alkyyliamino, guanidino, karbamoyyli, pyridyyli tai indolyyli), tai aralkyyli (valinnaisesti substituoitu ryhmällä hydroksyyli, karboksyyli, alkyyli tai alkoksi);

R^4 on nitro, amino, syano, hydroksyyli, alkoksi, karboksyyli, alkoksikarbonyyli, alkyylisulfonyyli, haloalkyyli, alkoksikarbonyylialkyyli, tetratsolyyli, karbamoyyli (valinnaisesti substituoitu alkyylillä tai dialkyyliaminoalkyylillä), tai aminosulfonyyli (valinnaisesti substituoitu alkyylillä); ja

R^5 on vety, halo tai hydroksyyli; yhtenä stereoisomeerinä

tai niiden seoksena; tai niiden farmaseuttisesti hyväksyttävien suolojen valmistamiseksi.

Matriksin metalloproteaasiaktiivisuuden inhiboimismenetelmissä hoidollisesti tehokas määrä edellä määriteltyä kaavan (I) mukaista yhdistettä annetaan sen tarpeessa olevaan nisäkkääseen, yhtenä stereoisomeerinä tai niiden seoksena, tai farmaseuttisesti hyväksyttävänä suolanaan.

Farmaseuttinen koostumus matriksin metalloproteaasiaktiivisuuden inhiboimiseen nisäkkäässä sisältää hoidollisesti tehokkaan määrän edellä määriteltyä kaavan (I) mukaista yhdistettä, yhtenä stereoisomeerinä tai niiden seoksena; tai farmaseuttisesti hyväksyttävänä suolanaan; ja farmaseuttisesti hyväksyttävän täyteaineen.

KEKSINNÖN YKSITYISKOHTAINEN KUVAUS

Määritelmiä

Selityksessä ja liitteenä olevissa patenttivaatimuksissa käytettyinä, ellei toisin ole määritelty, seuraavilla ilmauksilla on seuraava merkitys:

"BOC" merkitsee *t*-butyylioksikarbonyyliä.

"CBZ" merkitsee bentsyylioksikarbonyyliä (karbobentsyylioksi).

"DMAP" merkitsee *N,N*-dimetyyliaminopyridiiniä.

"DMF" merkitsee *N,N*-dimetyyliformamidia.

"EDCI" merkitsee *N*-etyyli-*N'*-(3-dimetyyliaminopropyyli)karbodi-imidiä.

"HOBT" merkitsee 1-hydroksibentsotriatsolia.

"Hydroksyyli" merkitsee radikaalia -OH.

"Amino" merkitsee radikaalia $-NH_2$.

"Asetyylitio" merkitsee radikaalia $-SC(O)CH_3$.

"Halo" merkitsee bromia, klooria tai fluoria.

"Karbamoyyli" merkitsee radikaalia $-C(O)NH_2$.

"Karboksyyli" merkitsee radikaalia -C(O)OH.

"Hydroksiamino" merkitsee radikaalia -NHOH.

"Hydroksikarbamoyyli" merkitsee radikaalia -C(O)NHOH.

"Merkapto" merkitsee radikaalia -SH.

"Bentsyylioksikarbamoyylin" merkitys on $-C(O)N(H)OCH_2C_6H_5$.

"Alkyyli" merkitsee suora- tai haaraketjuista monovalenttia radikaalia, joka koostuu yksinomaan hiilestä ja vedystä, ei sisällä tyydyttymättömiä osia ja jolla on yhdestä neljään hiiliatomia, esim. metyyli, etyyli, *n*-propyyli, 2-metyylipropyyli (*iso*-butyyli), 1-metyylietyyli (*iso*-propyyli), *n*-butyyli, ja 1,1-dimetyylietyyli (*t*-butyyli), ja näiden kaltaiset.

"Alkyyliamino" merkitsee kaavan $-NHR_a$ mukaista radikaalia, jossa R_a on alkyyli kuten edellä määritelty, esim. metyyliamino, etyyliamino, *iso*-propyyliamino, *n*-butyyliamino, ja näiden kaltaiset.

"Haloalkyyli" merkitsee kaavan $-R_aR_d$ mukaista radikaalia, jossa R_a on edellä määritelty alkyyli, joka on substituoitu yhdellä tai useammalla haloryhmällä R_d kuten edellä määritelty, esim. 2-kloorietyyli, 2-bromietyyli, trifluorimetyyli, ja näiden kaltaiset.

"Dialkyyliaminoalkyyli" merkitsee kaavan $-R_aN(R_a)_2$ mukaista radikaalia, jossa kukin R_a on toisesta riippumatta alkyyliradikaali kuten edellä määritelty, esim. dimetyyliaminoetyyli, dietyyliamino-*n*-propyyli, dimetyyliamino-*n*-propyyli, ja näiden kaltaiset.

"Aminosulfonyylin" merkitys on $-S(O)_2NH_2$.

"Alkyylisulfonyyli" merkitsee kaavan $-S(O)_2R_a$ mukaista radikaalia, jossa R_a on alkyyli kuten edellä määritelty, esim. metyylisulfonyyli, etyylisulfonyyli, *iso*-propyylisulfonyyli, ja näiden kaltaiset.

"Alkyylitio" merkitsee kaavan $-SR_a$ mukaista radikaalia, jossa R_a on alkyyli kuten edellä määritelty, esim. metyylitio, etyylitio, *iso*-propyylitio, *n*-butyylitio, ja näiden kaltaiset.

"Alkoksi" merkitsee kaavan $-OR_a$ mukaista radikaalia, jossa R_a on alkyyli kuten edellä määritelty, esim. metoksi, etoksi, *n*-propoksi, 1-metyylietyylioksi, *n*-butoksi, *t*-butoksi, ja näiden kaltaiset.

"Alkoksikarbonyylialkyyli" merkitsee kaavan $-R_aC(O)R_b$

mukaista radikaalia, jossa R_a on alkyyli kuten edellä määritelty ja R_b on alkoksi kuten edellä määritelty, esim. metoksikarbonyylietyyli, etoksikarbonyylietyyli, metoksikarbonyyli-*iso*-propyyli, ja näiden kaltaiset.

"Aryyli" merkitsee kinol-2-yyli-, naft-1-yyli-, naft-2-yyli- tai fenyyliradikaalia.

"Aryylioksi" merkitsee kaavan $-OR_b$ mukaista radikaalia, jossa R_b on aryyli kuten edellä määritelty, esim. fenoksi, kinol-2-yylioksi, naft-1-yylioksi, tai naft-2-yylioksi.

"Aralkyyli" merkitsee kaavan $-R_aR_b$ mukaista radikaalia, jossa R_a on alkyyli kuten edellä määritelty ja R_b on aryyli kuten edellä määritelty, esim. bentsyyli, fenyylietyleeni, 3-fenyylipropyyli, 2-kinol-2-yylietyyli, ja näiden kaltaiset.

"Aralkoksi" merkitsee kaavan $-OR_aR_b$ mukaista radikaalia, jossa R_a on alkyyli kuten edellä määritelty ja R_b on aryyli kuten edellä määritelty, esim. bentsyylioksi, 2-kinol-2-yylietoksi, 3-naft-2-yylipropoksi, ja näiden kaltaiset.

"Alkoksikarbonyyli" merkitsee kaavan $-C(O)R_b$ mukaista radikaalia, jossa R_b on alkoksi kuten edellä määritelty, esim. metoksikarbonyyli, etoksikarbonyyli, *t*-butoksikarbonyyli, ja näiden kaltaiset.

"Aralkoksikarbonyyli" merkitsee kaavan $-C(O)R_c$ mukaista radikaalia, jossa R_c on aralkoksi kuten edellä määritelty, esim. bentsyylioksikarbonyyli, 2-kinol-2-yylietoksikarbonyyli, ja näiden kaltaiset.

"Sykloalkyyli" merkitsee monovalenttia rengasradikaalia, joka koostuu yksinomaan vety- ja hiiliatomeista, ei sisällä tyydyttymättömiä osia ja jolla on viidestä seitsemään hiiliatomia, esim. syklopentyyli, sykloheksyyli ja sykloheptyyli.

"Sykloalkyylialkyyli" merkitsee kaavan $-R_cR_a$ mukaista radikaalia, jossa R_a on alkyyli kuten edellä määritelty ja R_c on sykloalkyyli kuten edellä määritelty, esim. sykloheksyylimetyyli, sykloheksyylietyyli, syklopentyylimetyyli, syklopentyylietyyli, ja näiden kaltaiset.

"Fosfinyyli" merkitsee kaavan $H_2P(O)$- mukaista radikaa-

lia, jossa 2 H-atomia voivat olla muiden ryhmien korvaamia.

"Valinnainen" tai "valinnaisesti" tarkoittaa että myöhemmin kuvattu tapahtuma tai seikat voivat tapahtua tai olla tapahtumatta, ja että kuvaus sisältää tapauksia, joissa mainittu tapahtuma tai seikka tapahtuu ja tapauksia, joissa se ei tapahdu. Esimerkiksi, "valinnaisesti substituoitu kinol-2-yyli" tarkoittaa, että kinol-2-yyliradikaali voi olla substituoitu tai substituoitumaton ja että kuvaus sisältää sekä substituoidut kinol-2-yyliradikaalit ja ilman substituutiota olevat kinol-2-yyliradikaalit.

"Valinnaisesti substituoitu aryyli" merkitsee kinol-2-yyli-, naft-1-yyli-, naft-2-yyli-, pyridyyli- tai fenyyliradikaalia valinnaisesti substituoituna yhdellä tai useammalla substituentilla valittuna ryhmästä, johon kuuluvat halo, alkyyli, alkoksi, hydroksyyli, ja nitro, esim. 6-nitrokinol-2-yyli, 6-fluorikinol-2-yyli, 6-hydroksikinol-2-yyli, 6-metoksikinol-2-yyli, 6-nitronaft-1-yyli, 6-kloorinaft-1-yyli, 6-hydroksinaft-1-yyli, 6-metoksinaft-1-yyli, 6-nitronaft-2-yyli, 6-kloorinaft-2-yyli, 6-hydroksinaft-2-yyli, 6-metoksinaft-2-yyli, 6-nitrofenyyli, 6-kloorifenyyli, 6-hydroksifenyyli, 6-metoksifenyyli, ja näiden kaltaiset.

"Aminosuojaryhmä" tässä käytettynä merkitsee orgaanisia ryhmiä, jotka on tarkoitettu suojaamaan typpiatomeja eitoivotuilta reaktioilta synteettisten menettelyjen aikana, ja niihin sisältyvät, mutta eivät rajoitu, bentsyyli, asyyli, asetyyli, bentsyylioksikarbonyyli, (karbobentsyylioksi), *p*-metoksibentsyylioksikarbonyyli, *p*-nitrobentsyylioksikarbonyyli, *t*-butoksikarbonyyli, ja näiden kaltaiset.

"Farmaseuttisesti hyväksyttävä suola" merkitsee suoloja, jotka säilyttävät vapaiden emästen tai vapaiden happojen biologisen vaikuttavuuden ja ominaisuudet, ja jotka eivät ole biologisesti tai muuten epämieluisia. Jos yhdiste esiintyy vapaana happona, haluttu suola voidaan valmis-

taa alan tavanomaisen taidon omaavien tuntemin menetelmin, kuten yhdisteen käsittely epäorgaanisella hapolla kuten kloorivetyhapolla, bromivetyhapolla, rikkihapolla, typpihapolla, fosforihapolla ja näiden kaltaisilla; tai orgaanisella hapolla kuten etikkahapolla, propionihapolla, glykolihapolla, palorypälehapolla, oksaalihapolla, maleiinihapolla, malonihapolla, meripihkahapolla, fumaarihapolla, viinihapolla, sitruunahapolla, bentsoehapolla, kanelihapolla, mantelihapolla, metaanisulfonihapolla, etaanisulfonihapolla, p-tolueenisulfonihapolla, salisyylihapolla, ja näiden kaltaisilla. Jos yhdiste esiintyy vapaana emäksenä, haluttu suola voidaan myös valmistaa alan tavanomaisen taidon omaavien tuntemin menetelmin, kuten yhdisteen käsittely epäorgaanisella emäksellä tai orgaanisella emäksellä. Epäorgaanisista emäksistä johdetut suolat käsittävät, mutteivät rajoitu niihin, natrium-, kalium-, litium-, ammonium-, kalsium-, magnesium-, rauta-, sinkki-, kupari-, mangaani-, alumiinisuolat ja näiden kaltaiset. Orgaanisista emäksistä johdetut suolat käsittävät, mutteivät rajoitu niihin, primääristen, sekundääristen, ja tertiääristen amiinien, substituoitujen amiinien, mukaanluettuna luonnossa esiintyvät substituoidut amiinit, syklisten amiinien ja emäksisten ioninvaihtohartsien suolat, kuten isopropyyliamiini, trimetyyliamiini, dietyyliamiini, trietyyliamiini, tripropyyliamiini, etanoliamiini, 2-dimetyyliaminoetanoli, 2-dietyyliaminoetanoli, trimetamiini, disykloheksyyliamiini, lysiini, arginiini, histidiini, kafeiini, prokaiini, hydrabamiini, koliini, betaiini, etyleenidiamiini, glukosamiini, metyyliglukamiini, teobromiini, puriinit, piperatsiini, piperidiini, *N*-etyylipiperidiini, polyamiinihartsit ja näiden kaltaiset.

"Nisäkäs" käsittää ihmiset ja kaikki koti- ja villieläimet sisältäen, rajoittamatta, nautakarjan, hevoset, siat, lampaat, vuohet, koirat, kissat, ja näiden kaltaiset.

"Hoidollisesti tehokas määrä" merkitsee sellaista määrää kaavan (I) mukaista yhdistettä, joka annettuna sen

tarpeessa olevaan nisäkkääseen on riittävä saamaan aikaan hoidon, kuten jäljempänä määritelty, matriksin metalloproteaasiaktiivisuuden, erityisesti stromelysiinin ja matrilysiinin aktivisuuden, inhibitiolla lievittyville tautitiloille. "Hoidollisesti tehokkaan määrän" muodostava määrä kaavan (I) mukaista yhdistettä vaihtelee riippuen yhdisteestä, tautitilasta ja sen vakavuudesta, ja hoidettavasta nisäkkäästä, mutta alan tavanomaisen taidon omaava henkilö oman tietämyksensä ja tämän julkaisun huomioon ottaen voi määrittää sen rutiininomaisesti.

"Hoitaminen" hai "hoito" tässä käytettynä kattavat tautitilan hoidon nisäkkäässä, erityisesti ihmisessä, mikä tautitila lievittyy matriksin metalloproteaasiaktiivisuuden, erityisesti stromelysiinin ja matrilysiinin aktivisuuden, ja sen kaltaisten, estämisellä, ja sisältävät:

(i) tautitilan ilmenemisen estämisen nisäkkäässä, erityisesti kun kyseinen nisäkäs on altistunut tautitilalle muttei ole vielä diagnosoitu sitä sairastavaksi;

(ii) tautitilan estämisen; siis sen kehittymisen estämisen; tai

(iii) tautitilan lievittämisen, siis tautitilan parantumisen aikaansaamisen.

"Stereoisomeerit" merkitsevät yhdisteitä, joilla on identtiset molekyylikaavat ja sidosluonne ja -järjestys, mutta joiden atomien avaruudellinen järjestys on erilainen.

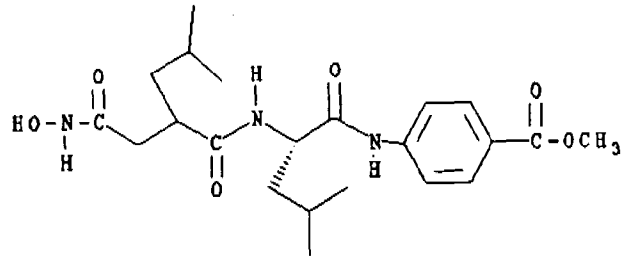
Tässä käytetty nimistö on pohjimmiltaan muunnettu muoto I.U.P.A.C.:in nimistöstä, jossa keksinnön mukaisesti valmistetut yhdisteet nimetään peptidijohdannaisina. Kaavan (I) mukaisilla yhdisteillä, tai niiden farmaseuttisesti hyväksyttävillä suoloilla, on rakenteessaan ainakin kaksi asymmetristä hiiliatomia, ja ne voivat siksi esiintyä yksittäisinä stereoisomeereinä, rasemaatteina, ja enatiomeerien ja diastereomeerien seoksina. Kaikki sellaiset yksittäiset stereoisomeerit, rasemaatit ja niiden seokset on tarkoitettu tämän keksinnön piiriin kuuluviksi.

Nimettäessä kaavan (I) mukaisten yhdisteiden yksit-

täisiä stereoisomeerejä, voidaan siinä oleville kiraalisille hiiliatomeille antaa absoluuttinen määre, *R* tai *S*, Cahnin, Ingoldin ja Prelogin "sekvenssisäännön" mukaan.

Lisäksi ne kaavan (I) mukaisten yhdisteiden osat, jotka sisältävät ryhmän R^3, voivat yhdessä viereisen typpiatomin ja karbonyyliryhmän kanssa määritellä α-aminohappotähteen, ja nimetään sellaisena.

Esimerkiksi seuraava kaavan (I) mukainen yhdiste:



jossa R^1 on hydroksikarbamoyyli; R^2 on 2-metyylipropyyli; R^3 on 2-metyylipropyyli; R^4 on metoksikarbonyyli; ja R^5 on vety; nimetään tässä *N*-(4-metyyli-2-(*N''*-hydroksikarbamoyyli)metyylipentanoyyli)-L-leusiini-*N'*-(4-metoksikarbonyylifenyyli)karboksiamidiksi.

Hyödyllisyys ja antaminen

A. Hyödyllisyys

Kaavan (I) mukaiset yhdisteet ovat hyödyllisiä nisäkkäiden matriksin metalloproteaasien, erityisesti stromelysiinin ja matrilysiinin inhiboinnissa, estäen siten kollageenin hajoamisen nisäkkäässä. Yhdisteet ovat siksi hyödyllisiä hoidettaessa tautitiloja, jotka liittyvät matriksin metalloproteaasien, erityisesti stromelysiinin ja matrilysiinin lisääntyneeseen aktiivisuuteen, kuten niveltulehdusta, osteoartriittia, kasvainten etäpesäkkeiden muodostusta, periodontaalitautia ja sarveiskalvon haavaumia. Katso esim. *Arthritis and Rheumatism* (1993), Vol. 36, no. 2, s. 181-189; *Arthritis and Rheumatism* (1991), Vol. 34, no. 9, s. 1073-1075; *Seminars in Arthritis and Rheumatism*

(1990), Vol. 19, no. 4, Liite 1 (helmikuu), s. 16-20; *Drugs of the Future* (1990), Vol. 15, no. 5, s. 495-508; ja *J. Enzyme Inhibition* (1987), Vol. 2, s. 1-22.

B. Kokeilu

Kaavan (I) mukaisten yhdisteiden kykyä inhiboida matriksin metalloproteaasiaktiivisuutta, erityisesti stromelysiinin tai matrilysiinin aktiivisuutta, voidaan osoittaa erilaisilla alan tavanomaisen taidon omaavien henkilöiden tuntemilla *in vitro* ja *in vivo* määrityksillä, kuten viitteessä *Anal. Biochem.* (1985), Vol. 147, s. 437 kuvatulla määritysmenetelmällä, tai sen muunnoksilla.

C. Yleinen antaminen

Kaavan (I) mukaisten yhdisteiden tai niiden farmaseuttisesti hyväksyttävien suolojen antaminen puhtaassa muodossa tai tarkoituksenmukaisessa farmaseuttisessa koostumuksessa voidaan suorittaa millä tahansa hyväksytyllä antotavalla tai samaa tarkoitusta palvelevilla välineillä. Täten antaminen voi käydä esimerkiksi suun kautta, nenän kautta, parenteraalisesti, paikallisesti, ihon läpi, tai peräsuolen kautta, kiinteinä, puolikiinteinä, lyofilisoituna jauheena, tai nestemäisinä annosmuotoina, kuten tabletteina, peräpuikkoina, pillereinä, pehmeinä elastisina tai kovina gelatiinikapseleina, jauheina, liuoksina, suspensioina, tai aerosoleina, tai näiden kaltaisina, edullisesti yksinkertaiseen tarkkojen annosten antamiseen sopivina annosyksikkömuotoina. Koostumukset sisältävät tavanomaisen farmaseuttisen kantaja-aineen tai täyteaineen ja kaavan (I) mukaisen yhdisteen ainoana/eräänä aktiivisena aineena ja voivat lisäksi sisältää muita lääkkeellisiä tai farmaseuttisia aineita, kantaja-aineita, adjuvantteja yms.

Yleensä, aiotusta antotavasta riippuen, farmaseuttisesti hyväksyttävät koostumukset sisältävät noin 1% - noin 99% painosta kaavan (I) mukaista yhdistettä (mukaisia yhdisteitä), tai sen (niiden) farmaseuttisesti hyväksyttävää

suolaa, ja 99% - 1% painosta sopivaa farmaseuttista täyteainetta. Koostumus on edullisesti noin 5% - 75% painosta kaavan (I) mukaista yhdistettä (mukaisia yhdisteitä), tai sen (niiden) farmaseuttisesti hyväksyttävää suolaa, lopun ollessa sopivia farmaseuttisia täyteaineita.

Edullinen antoreitti on suun kautta, käyttäen sopivaa päivittäistä annosohjetta, jota voidaan tarkistaa hoidettavan tautitilan vakavuusasteen mukaan. Sellaista suun kautta tapahtuvaa antamista varten muodostetaan kaavan (I) mukaista yhdistettä (mukaisia yhdisteitä), tai sen/niiden farmaseuttisesti hyväksyttävää suolaa sisältävä farmaseuttisesti hyväksyttävä koostumus sisällyttämällä mitä tahansa normaalisti käytettävää täyteainetta kuten esimerkiksi mannitolin farmaseuttisia laatuja, laktoosia, tärkkelystä, esigelatinoitua tärkkelystä, magnesiumstearaattia, natriumsakkariinia, talkkia, selluloosaeetterijohdannaisia, glukoosia, gelatiinia, sakkaroosia, sitraattia, propyyligallaattia, ja näiden kaltaisia. Sellaiset koostumukset ovat liuosten, suspensioiden, tablettien, pillereiden, kapseleiden, jauheiden, pitkäaikaisesti vapauttavien valmisteiden ja näiden kaltaisten muodossa.

Sellaiset koostumukset ovat edullisesti kapselin, kapletin tai tabletin muodossa ja sisältävät siksi laimennusainetta, kuten laktoosia, sakkaroosia, dikalsiumfosfaattia, ja näiden kaltaisia; hajotusainetta, kuten natriumkroskarmelloosi tai sen johdannaiset; voiteluainetta, kuten magnesiumstearaatti ja sen kaltaiset; ja sideainetta kuten tärkkelys, akaasiakumi, polyvinyylipyrrolidoni, gelatiini, selluloosaeetterijohdannaiset, ja näiden kaltaiset.

Kaavan (I) mukaisia yhdisteitä tai niiden farmaseuttisesti hyväksyttäviä suoloja voidaan myös formuloida lääkepuikoksi käyttäen esimerkiksi noin 0,5% - noin 50% aktiivista ainesosaa laitettuna hitaasti kehossa liukenevaan kantaja-aineeseen, esim. polyoksietyleeniglykoleihin ja polyetyleeniglykoleihin (PEG), esim. PEG 1000 (96%) ja PEG 4000 (4%).

Nestemäisiä farmaseuttisesti annettavia koostumuksia voidaan esimerkiksi valmistaa liuottamalla, dispergoimalla, jne. kaavan (I) mukaista yhdistettä (mukaisia yhdisteitä) (noin 0,5% - noin 20%), tai sen (niiden) farmaseuttisesti hyväksyttävää suolaa ja valinnaisia farmaseuttisia adjuvantteja kantaja-aineeseen, kuten esimerkiksi veteen, suolaliuokseen, nestemäiseen dekstroosiin, glyseroliin, etanoliin ja näiden kaltaisiin, tällä tavoin liuoksen tai suspension muodostaen.

Haluttaessa farmaseuttinen koostumus voi myös sisältää pieniä määriä apuaineita, kuten kostutus- tai emulgointiaineita, pH:n puskurointiaineita, hapettumisen estoaineita ja näiden kaltaisia, kuten esimerkiksi sitruunahappoa, sorbitaanimonolauraattia, trietanoliamiinioleaattia, butyloitua hydroksitolueenia, jne.

Tällaisten annostelumuotojen varsinaiset valmistusmenetelmät ovat alan asiantuntijoiden tuntemia tai ovat heille ilmeisiä; katso esimerkiksi *Remington's Pharmaceutical Sciences*, 18th Ed. (Mack Publishing Company, Easton, Pennsylvania, 1990). Annettava koostumus sisältää joka tapauksessa hoidollisesti tehokkaan määrän kaavan (I) mukaista yhdistettä tai sen farmaseuttisesti hyväksyttävää suolaa matriksin metalloproteaasiaktiivisuuden inhiboimisella lievittyvän tautitilan hoitoon tämän keksinnön oppien mukaisesti.

Kaavan (I) mukaiset yhdisteet, tai niiden farmaseuttisesti hyväksyttävät suolat annetaan hoidollisesti tehokkaana määränä, joka vaihtelee riippuen monista tekijöistä, mukaanluettuna käytetyn spesifisen yhdisteen aktiivisuudesta, yhdisteen metabolisesta pysyvyydestä ja toiminnan kestosta, iästä, ruumiinpainosta, eritysnopeudesta, lääkeaineyhdistelmästä, kyseisen tautitilan vakavuudesta, ja hoitoa saavasta isännästä. Yleensä hoidollisesti tehokas päivittäinen annos on n. 0,14 mg - noin 14,3 mg/kg ruumiinpainoa päivässä kaavan (I) mukaista yhdistettä, tai sen farmaseuttisesti hyväksyttävää suolaa; edullisesti noin 0,7 mg - noin 10 mg/kg ruumiinpainoa päivässä, ja

edullisimmin noin 1,4 mg - noin 7,2 mg/kg ruumiinpainoa päivässä. Esimerkiksi annettavaksi 70 kg:n henkilölle annostusalue olisi noin 10 mg:sta noin 1,0 grammaan päivässä kaavan (I) mukaista yhdistettä, tai sen farmaseuttisesti hyväksyttävää suolaa, edullisesti noin 50 mg:sta noin 700 mg:aan päivässä, ja edullisimmin noin 100 mg:sta noin 500 mg:aan päivässä.

Edulliset suoritusmuodot

Edullinen ryhmä kaavan (I) mukaisia yhdisteitä, kuten edellä kuvattu keksinnön yhteenvedossa, ovat ne yhdisteet joissa R^1 on merkapto tai asetyylitio.

Tämän ryhmän sisällä edullinen yhdisteiden alaryhmä ovat ne yhdisteet, joissa R^2 on alkyyli, aralkyyli, sykloalkyylialkyyli; R^3 on sykloalkyyli tai alkyyli (valinnaisesti substituoitu sykloalkyylillä, hydroksyylillä, aralkoksilla, alkyylitiolla, pyridyylillä tai indolyylillä); R^4 on syano, karboksyyli, hydroksyyli, alkoksi, alkoksikarbonyyli, alkoksikarbonyylialkyyli, karbamoyyli (valinnaisesti substituoitu aralkyyliaminoalkyylillä), tai aminosulfonyyli (valinnaisesti substituoitu alkyylillä); ja R^5 on vety.

Tämän alaryhmän sisällä edullinen yhdisteiden luokka ovat ne yhdisteet, joissa R^2 on alkyyli; R^3 on sykloheksyyli, alkyyli (valinnaisesti substituoitu sykloalkyylillä, hydroksyylillä, bentsyylioksilla, metyylitiolla, pyridyylillä tai indolyylillä); ja R^4 on karboksyyli, alkoksikarbonyyli ja aminosulfonyyli.

Tämän yhdisteluokan sisällä yhdisteet, joissa R^2 on 2-metyylipropyyli, ovat edullisia. Erityisen edullisia ovat ne yhdisteet joissa R^3 on 2-metyylipropyyli.

Toinen edullinen ryhmä kaavan (I) mukaisia yhdisteitä, kuten kuvattu edellä keksinnön yhteenvedossa, ovat ne yhdisteet, joissa R^1 on karboksyyli.

Tämän ryhmän sisällä edullinen yhdisteiden alaryhmä ovat ne yhdisteet, joissa R^2 on alkyyli, aralkyyli, sykloalkyylialkyyli; R^3 on sykloalkyyli tai alkyyli (valin-

naisesti substituoitu sykloalkyylillä, hydroksyylillä, aralkoksilla, alkyylitiolla, pyridyylillä tai indolyylillä); R^4 on syano, hydroksyyli, alkoksi, karboksyyli, alkoksikarbonyyli, alkoksikarbonyylialkyyli, karbamoyyli (valinnaisesti substituoitu aralkyyliaminoalkyylillä), tai aminosulfonyyli (valinnaisesti substituoitu alkyylillä); ja R^5 on vety.

Tämän alaryhmän sisällä edullinen yhdisteiden luokka ovat ne yhdisteet, joissa R^2 on alkyyli; R^3 on sykloheksyyli, alkyyli (valinnaisesti substituoitu sykloheksyylillä, hydroksyylillä, bentsyylioksilla, metyylitiolla, pyridyylillä tai indolyylillä); ja R^4 on karboksyyli, alkoksikarbonyyli ja aminosulfonyyli.

Tämän yhdisteluokan sisällä edullisia yhdisteitä ovat ne yhdisteet, joissa R^2 on 2-metyylipropyyli. Erityisen edullisia ovat ne yhdisteet, joissa R^3 sykloheksyyli, 2-metyylipropyyli, pyrid-3-yylimetyyli, 1-bentsyylioksietyyli, 1-metyylipropyyli, 1,1-dimetyylietyyli, 1-hydroksietyyli, ja indol-2-yylimetyyli; ja R^4 on metoksikarbonyyli.

Toinen edullinen ryhmä kaavan (I) mukaisia yhdisteitä, kuten kuvattu edellä keksinnön yhteenvedossa, ovat ne yhdisteet, joissa R^1 on hydroksikarbamoyyli.

Tämän ryhmän sisällä edullinen yhdisteiden alaryhmä ovat ne yhdisteet, joissa R^2 on alkyyli, aralkyyli, sykloalkyylialkyyli; R^3 on sykloalkyyli tai alkyyli (valinnaisesti substituoitu sykloalkyylillä, hydroksyylillä, aralkoksilla, alkyylitiolla, pyridyylillä tai indolyylillä); R^4 on syano, hydroksyyli, alkoksi, karboksyyli, alkoksikarbonyyli, alkoksikarbonyylialkyyli, karbamoyyli (valinnaisesti substituoitu aralkyyliaminoalkyylillä), tai aminosulfonyyli (valinnaisesti substituoitu alkyylillä); ja R^5 on vety.

Tämän alaryhmän sisällä edullinen yhdisteiden luokka ovat ne yhdisteet, joissa R^2 on alkyyli; R^3 on sykloheksyyli, alkyyli (valinnaisesti substituoitu sykloheksyylillä, hydroksyylillä, bentsyylioksilla, metyylitiolla, pyridyy-

lillä tai indolyylillä); ja R^4 on karboksyyli, alkoksikarbonyyli ja aminosulfonyyli.

Tämän yhdisteluokan sisällä edullisia yhdisteitä ovat ne yhdisteet, joissa R^2 on 2-metyylipropyyli. Erityisen edullisia ovat ne yhdisteet, joissa R^3 sykloheksyyli, 2-metyylipropyyli, pyrid-3-yylimetyyli, 1-bentsyylioksietyyli, 1-metyylipropyyli, 1,1-dimetyylietyyli, 1-hydroksietyyli, ja indol-2-yylimetyyli.

Tällä hetkellä edullisimmat kaavan (I) mukaiset yhdisteet ovat seuraavat:

N-(4-metyyli-2-(*N''*-hydroksikarbamoyyli)metyylipentanoyyli)-L-tryptofaani-*N'*-(4-karboksifenyyli)karboksiamidi;

N-(4-metyyli-2-(*N''*-hydroksikarbamoyyli)metyylipentanoyyli)-L-leusiini-*N'*-(4-metoksikarbonyylifenyyli)karboksiamidi;

N-(4-metyyli-2-(*N''*-hydroksikarbamoyyli)metyylipentanoyyli)-L-leusiini-*N'*-(4-karboksifenyyli)karboksiamidi;

N-(4-metyyli-2-merkaptometyylipentanoyyli)-L-leusiini-*N'*-(4-metoksikarbonyylifenyyli)karboksiamidi;

N-(4-metyyli-2-asetyylitiometyylipentanoyyli)-L-leusiini-*N'*-(4-metoksikarbonyylifenyyli)karboksiamidi;

N-(4-metyyli-2-karboksimetyylipentanoyyli)-L-leusiini-*N'*-(4-metoksikarbonyylifenyyli)karboksiamidi;

N-(4-metyyli-2-(*N''*-hydroksikarbamoyyli)metyylipentanoyyli)-L-sykloheksyyliglysiini-*N'*-(4-metoksikarbonyylifenyyli)karboksiamidi; ja

N-(4-metyyli-2-(*N''*-hydroksikarbamoyyli)metyylipentanoyyli)-L-*t*-leusiini-*N'*-(4-metoksikarbonyylifenyyli)karboksiamidi.

Kaavan (I) mukaisten yhdisteiden valmistaminen

Kaavan (I) mukaiset yhdisteet yksittäisinä stereoisomeereinä, tai niiden seoksina, ja niiden farmaseuttisesti hyväksyttävät suolat ovat peptidijohdannaisia, jotka voidaan valmistaa rakenneosana olevasta α-aminohappojohdannaisesta. Standardimenetelmiä peptidisidosten muodostamiseksi valaisevat edelleen M. Bodanszky et al., *The*

Practice of Peptide Synthesis (1984), Springer-Verlag; M. Bodanszky, *Principles of Peptide Synthesis* (1984), Springer-Verlag; J.P. Greenstein et al., *Chemistry of the Amino Acids* (1961), Vol. 1-3, John Wiley and Sons Inc.; G.R. Pettit, *Synthetic Peptides* (1970), Vol. 1-2, Van Nostrand Reinhold Company.

Kaavan (I) mukaisten yhdisteiden muodostamiseksi käytettävät amidiliittämiset suoritetaan yleensä karbodi-imidimenetelmällä disykloheksyylikarbodi-imidin tai *N'*-etyyli-*N'*-(3-dimetyyliaminopropyyli)karbodi-imidin (EDCI) kaltaisten reagenssien kanssa 1-hydroksibentsotriatsolin (HOBT) läsnäollessa inertissä liuottimessa, kuten dimetyyliformamidi (DMF). Muut amidi- tai peptidisidoksen muodostusmenetelmät käsittävät, mutta eivät rajoitu niihin, synteettiset tiet happokloridin, asyyliatsidin, seosanhydridin tai aktivoidun esterin, kuten nitrofenyyliesterin kautta. Tyypillisesti suoritetaan liuosfaasin amidiliittämisiä peptidifragmenttien kanssa tai ilman niitä.

Kaavan (I) mukaisten yhdisteiden valmistuksessa käytettävien terminaalisten amino- tai karboksyyliryhmiä suojaavien ryhmien valinnan määräävät osittain tietyt amidi- tai peptidiliittämisen olosuhteet, ja osittain liittämisessä osallisena olevat aminohappo- ja/tai peptidikomponentit. Tavallisesti käytettävät aminosuojausryhmät käsittävät alalla hyvin tunnetut ryhmät, esimerkiksi bentsyylioksikarbonyyli (karbobentsyylioksi), *p*-metoksibentsyylioksikarbonyyli, *p*-nitrobentsyylioksikarbonyyli, *t*-butoksikarbonyyli (BOC), ja näiden kaltaiset. On edullista käyttää joko BOC:ta tai bentsyylioksikarbonyyliä (CBZ) α-aminoryhmän suojaavana ryhmänä, koska sen poistaminen on helppoa miedoilla hapoilla, esimerkiksi trifluorietikkahapolla (TFA) tai kloorivetyhapolla etyyliasetaatissa; tai katalyyttisellä hydrogenaatiolla.

Kaavan (I) mukaisten yhdisteiden yksittäiset stereoisomeerit voidaan erottaa toisistaan alan tavanomaisen taidon omaavien tuntemin menetelmin, esimerkiksi valikoivalla kiteytyksellä tai kromatografialla, ja/tai tässä

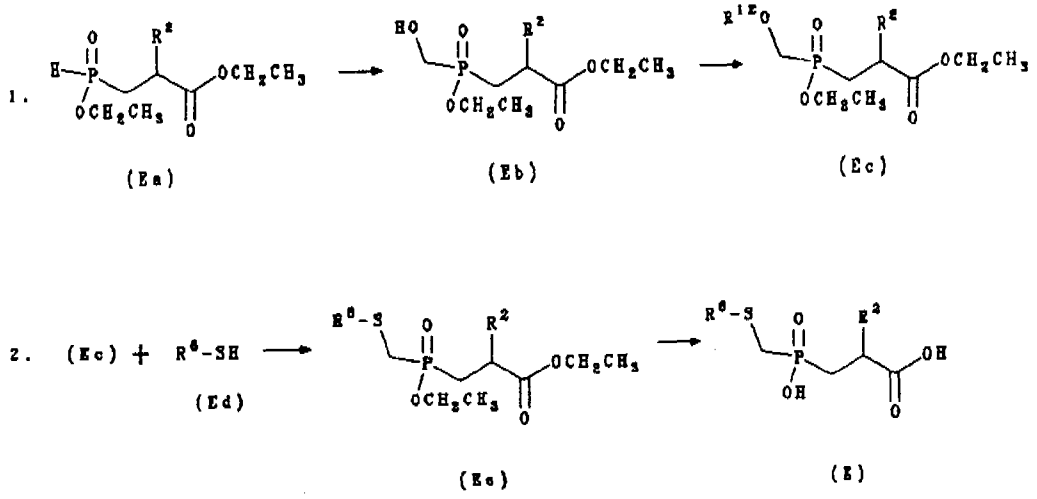
esitetyillä menetelmillä.

Kaavan (I) mukaisten yhdisteiden ja niiden välituotteiden substituenttien ja/tai muuttujien yhdistelmät ovat sallittuja vain jos kyseiset yhdistelmät johtavat pysyviin yhdisteisiin.

A. Kaavan (E) mukaisten yhdisteiden valmistaminen

Kaavan (E) mukaiset yhdisteet ovat kaavan (I) mukaisten yhdisteiden valmistamisessa käytettäviä välituotteita, ja niitä valmistetaan kuten esitetään seuraavassa reaktiokaaviossa 1, jossa R^2 ja R^6 ovat kuten määritelty edellä keksinnön yhteenvedossa ja R^{12} on mesyyli tai tosyyli:

Reaktiokaavio 1



Kaavan (Ea) mukaisia yhdisteitä voidaan valmistaa alan tavanomaisen taidon omaavien tuntemin menetelmin (ks. esimerkiksi eurooppalainen patenttihakemus 0 276 436), tai niitä voidaan valmistaa esimerkissä 1 jäljempänä kuvatun menetelmän mukaisesti. Kaavan (Ed) mukaiset yhdisteet ovat kaupallisesti saatavana tai niitä voidaan valmistaa alan tavanomaisen taidon omaavien tuntemin menetelmin.

Yleensä kaavan (E) mukaisia yhdisteitä valmistetaan käsittelemällä ensin kaavan (Ea) mukaista yhdistettä paraformaldehydillä aproottisessa liuottimessa, edullisesti

tetrahydrofuraanissa ja metyleenikloridissa, 0-15 °C:ssa, edullisesti 0 °C:ssa, emäksen, edullisesti di-isopropyylietyyliamiinin ja *bis*-(trimetyylisilyyli)asetamidin läsnäollessa. Tuloksena oleva liuos laitetaan 25-37 °C:seen, edullisesti 37 °C:seen, 18 tunnin ajaksi. Kaavan (Eb) mukainen yhdiste eristetään sitten standardimenetelmin, edullisesti haihduttamalla liuotin, uuttamisella ja suodatuksella.

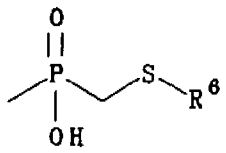
Kaavan (Eb) mukainen yhdiste jäähdytetään sitten aproottisessa liuottimessa, edullisesti metyleenikloridissa, lämpötilaan -20 °C - noin 0 °C, edullisesti noin -20 °C:seen. Kaavan (Ec) mukainen yhdiste esteröidään sitten standardimenetelmällä, jossa alkoholia käsitellään vähintään stökiömetrisestä määrästä noin 100% ylimäärään joko mesyylikloridia tai tosyylikloridia jonkin aikaa, edullisesti noin 15 minuutin ajan -20 °C:ssa, ja sen jälkeen jonkin aikaa, edullisesti noin 3,5 tunnin ajan huoneen lämpötilassa. Kaavan (Ec) mukainen yhdiste eristetään sitten reaktioseoksesta tavanomaisin eristysmenetelmin, edullisesti uuttamisella, suodatuksella ja haihdutuksella.

Kaavan (Ec) mukaisen yhdisteen annetaan sitten reagoida aproottisessa liuottimessa, edullisesti DMF, kaavan (Ed) mukaisen yhdisteen suolan kanssa (edullisesti natriumsuolan, joka on muodostunut kaavan (Ed) mukaisen yhdisteen reaktiossa natriumhydridin kanssa aproottisessa liuottimessa, edullisesti DMF) 16-20 tunnin, edullisesti noin 18 tunnin ajan, noin 0 °C:sta lähtevissä lämpötiloissa hitaasti huoneen lämpötilaan lämmeten. Tuloksena oleva kaavan (Ee) mukainen yhdiste eristetään reaktioseoksesta tavanomaisin eristysmenetelmin, kuten uuttamisella, haihdutuksella, ja flash-kromatografialla.

Kaavan (Ee) mukainen yhdiste hydrolysoidaan sitten emäksisissä olosuhteissa, edullisesti natriumhydroksidin läsnäollessa siten että muodostuu kaavan (E) mukainen yhdiste, joka eristetään sitten reaktioseoksesta tavanomaisilla eristystekniikoilla.

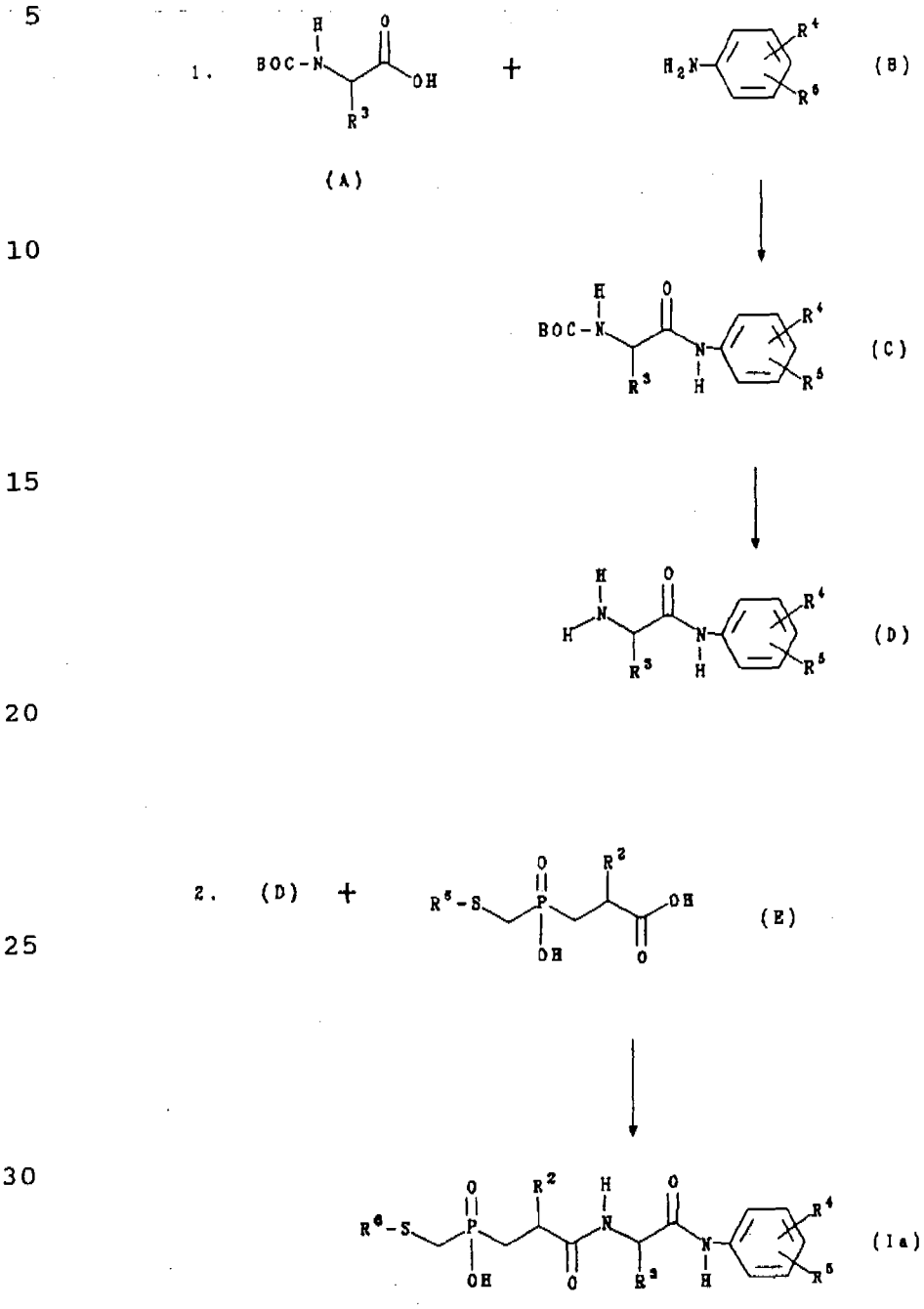
B. Kaavan (Ia) mukaisten yhdisteiden valmistaminen

Kaavan (Ia) mukaiset yhdisteet ovat kaavan (I) mukaisia yhdisteitä, joissa R^1 on



jossa R^6 on valinnaisesti substituoitu aryyli, jossa aryyliryhmä on kinol-2-yyli, naft-1-yyli, naft-2-yyli, pyridyyli tai fenyyli; R^2 on alkyyli; R^3 on kuten kuvattu edellä keksinnön yhteenvedossa; R^4 on kuten kuvattu edellä keksinnön yhteenvedossa ja R^5 on vety. Kaavan (Ia) mukaisia yhdisteitä valmistetaan kuten jäljempänä kuvattu reaktiokaaviossa 2, jossa R^2 on alkyyli; R^3 on kuten kuvattu edellä keksinnön yhteenvedossa; R^4 on kuten kuvattu edellä keksinnön yhteenvedossa; R^5 on vety; R_6 on kuten edellä kuvattu ja BOC on *t*-butoksikarbonyyli:

Reaktiokaavio 2



N-suojattuja kaavan (A) mukaisia aminohappoja ja kaavan (B) mukaisia yhdisteitä on kaupallisesti saatavana tai niitä voidaan valmistaa alan tavanomaisen taidon omaavien

tuntemin menetelmin. Kaavan (E) mukaisia yhdisteitä valmistetaan kuten edellä esitetty kappaleessa A.

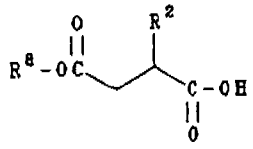
Yleensä kaavan (Ia) yhdisteitä valmistetaan liittämällä ensin kaavan (A) mukainen yhdiste kaavan (B) mukaiseen yhdisteeseen tavanomaisissa amidiliitosolosuhteissa siten että syntyy kaavan (C) mukainen yhdiste. Esimerkiksi kylmään (0-5 °C) liuokseen, jossa on kaavan (A) mukaista yhdistettä ja molaarinen ylimäärä HOBT ja DMF, lisätään molaarinen ylimäärä EDCI:tä. Saatavaa liuosta sekoitetaan 1-2 tunnin, edullisesti noin 1 tunnin ajan, 0-5 °C:ssa, edullisesti 0 °C:ssa. Kylmään liuokseen lisätään sitten liuos, jossa on ekvimolaarinen määrä kaavan (B) mukaista yhdistettä emäksen, edullisesti DMAP:n läsnäollessa. Tuloksena olevaa liuosta sekoitetaan 12-24 tunnin, edullisesti 24 tunnin ajan, huoneen lämpötilassa, edullisesti 25 °C:ssa. Kaavan (C) mukainen yhdiste eristetään sitten reaktioseoksesta peptidikemian tavanomaisin eristysmenetelmin, esimerkiksi haihdutuksella, uuttamisella, pylväskromatografialla ja/tai HPLC:llä.

Kaavan (C) mukaisen yhdisteen aminosuojausryhmä poistetaan sitten miedosti happamissa olosuhteissa, edullisesti trifluorietikkahapon läsnäollessa, siten että saadaan kaavan (D) mukainen yhdiste.

Näin muodostunut kaavan (D) mukainen yhdiste liitetään sitten kaavan (E) mukaiseen yhdisteeseen tavanomaisissa peptidiliitoksen olosuhteissa. Esimerkiksi, kylmään (0-5 °C, edullisesti 0 °C) kaavan (D) mukaisen yhdisteen liuokseen inertissä liuottimessa, edullisesti THF, lisätään 1,1'-karbonyylidi-imidatsolia. Saatavaa liuosta sekoitetaan 60-90 minuutin, edullisesti 75 minuutin ajan 0-5 °C:ssa, edullisesti 0 °C:ssa, ja sitten annetaan reagoida kaavan (E) mukaisen yhdisteen kanssa 12-17 tunnin, edullisesti noin 15 tunnin ajan. Tuloksena oleva kaavan (Ia) yhdiste eristetään sitten reaktioseoksesta peptidikemian tavanomaisin eristysmenetelmin, esimerkiksi uuttamisella ja käänteisfaasi-HPLC:llä.

C. Kaavan (F) mukaisten yhdisteiden valmistaminen

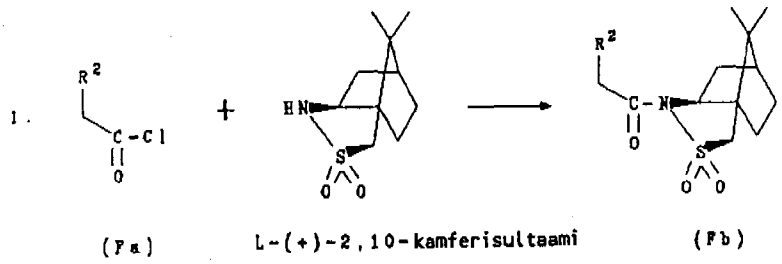
Kaavan (F) mukaiset yhdisteet:

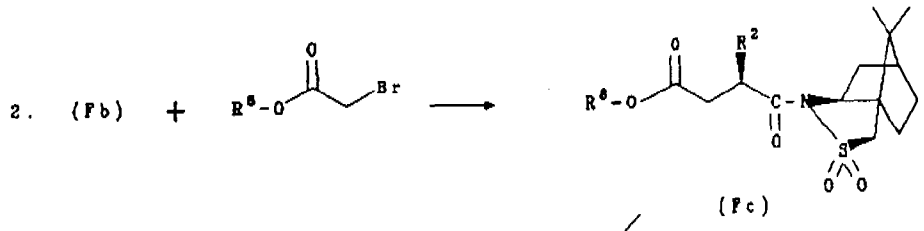


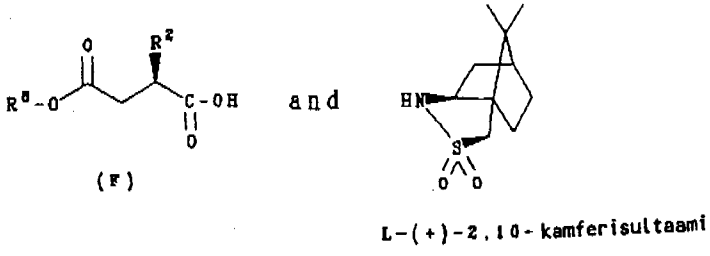
(F)

joissa R^2 on kuten edellä määritelty keksinnön yhteenvedossa ja R^8 on *t*-butyyli, ovat välituotteita kaavan (I) mukaisten yhdisteiden valmistuksessa, ja niitä valmistetaan kuten esitetään seuraavassa reaktiokaaviossa 3, jossa R^2 on kuten edellä määritelty keksinnön yhteenvedossa ja R^8 on *t*-butyyli:

Reaktiokaavio 3







Samalla tavalla, mutta korvaamalla L-(+)-2,10-kamferisultaami D-(-)-2,10-kamferisultaamilla, valmistettiin vastaavat yksittäiset stereoisomeerit (*S*)-konfiguraatiossa.

Kaavan (Fa) mukaiset yhdisteet ovat kaupallisesti saatavana tai niitä voidaan valmistaa alan tavanomaisen taidon omaavien tuntemin menetelmin, esimerkiksi jäljempänä esimerkissä 11 kuvatulla menetelmällä. L-(+)-2,10-Kamferisultaami ja D-(-)-2,10-kamferisultaami ovat kaupallisesti saatavana, esimerkiksi Aldrich Chemical Companysta, Milwaukee, Wisconsin, U.S.A.

Yleensä kaavan (F) mukaisia yhdisteitä valmistetaan kondensoimalla ensin kaavan (Fa) mukainen yhdiste L-(+)-2,10-kamferisultaamin kanssa siten, että muodostuu kaavan (Fb) mukainen yhdiste. Käyttäen NaHMDS:ää luomaan anionin 1 tunnin aikana, reaktio pysäytetään *t*-butyylibromiasetaatilla siten, että syntyy vastaava, kaavan (Q) mukainen esteri. Kamferiryhmä poistetaan sitten emäksisissä olosuhteissa kaavan (F) mukaisen yhdisteen yksittäisen stereoisomeerin saamiseksi, jossa se hiiliatomi, johon R^2-substituentti on kiinnittynyt, on (*R*)-konfiguraatiossa.

D. Kaavojen (Ib), (Ic), (Id) ja (Ie) mukaisten yhdisteiden valmistaminen

Kaavan (Ib) mukaiset yhdisteet ovat kaavan (I) mukaisia yhdisteitä, joissa R^1 on alkoksikarbonyyli tai aralkoksikarbonyyli; ja R^2, R^3, R^4 ja R^5 ovat kuten edellä määritelty keksinnön yhteenvedossa.

Kaavan (Ic) mukaiset yhdisteet ovat kaavan (I) mukaisia yhdisteitä, joissa R^1 on karboksyyli; ja R^2, R^3, R^4 ja R^5 ovat kuten edellä määritelty keksinnön yhteenvedossa.

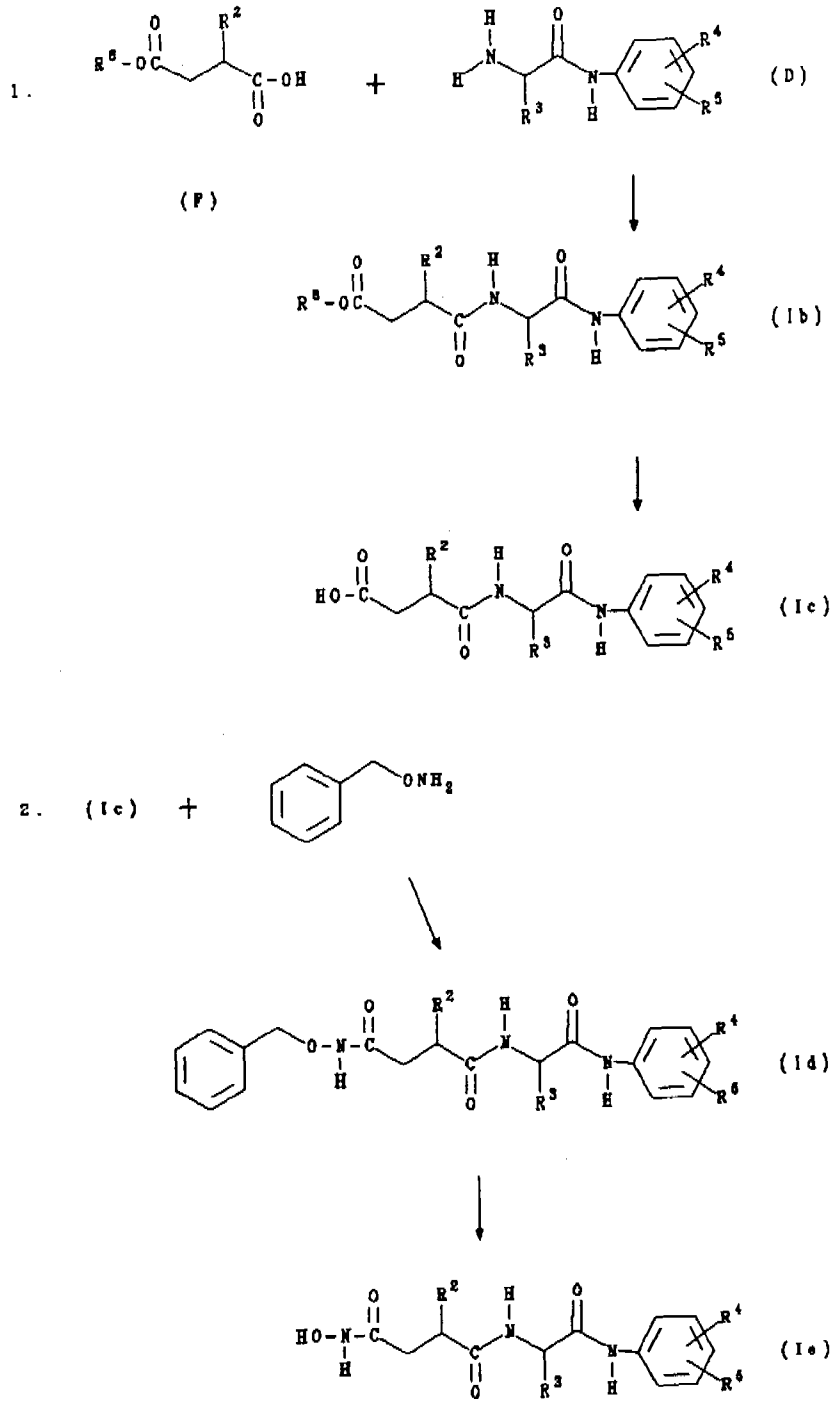
Kaavan (Id) mukaiset yhdisteet ovat kaavan (I) mukaisia yhdisteitä, joissa R^1 on bentsyylioksikarbamoyyli; ja R^2, R^3, R^4 ja R^5 ovat kuten edellä määritelty keksinnön yhteenvedossa.

Kaavan (Ie) mukaiset yhdisteet ovat kaavan (I) mukaisia yhdisteitä, joissa R^1 on hydroksikarbamoyyli; ja R^2, R^3, R^4

ja R^5 ovat kuten edellä määritelty keksinnön yhteenvedossa.

Kaavojen (Ib), (Ic), (Id) ja (Ie) mukaisia yhdisteitä valmistetaan kuten on esitetty seuraavassa reaktiokaaviossa 4, jossa R^2, R^3, R^4 ja R^5 ovat kuten edellä määritelty keksinnön yhteenvedossa; ja R^8 on *t*-butyyli.

Reaktiokaavio 4



Kaavan (F) mukaisia yhdisteitä valmistetaan kuten edellä esitetty kappaleessa C. Kaavan (D) mukaisia yhdisteitä valmistetaan kuten edellä esitetty kappaleessa B. *O*-Bentsyylihydroksyyliamiinia on kaupallisesti saatavana, esimerkiksi hydrokloridisuolana Aldrich Chemical Co.:lta.

Yleensä kaavojen (Ib), (Ic), (Id) ja (Ie) mukaisia yhdisteitä valmistetaan liittämällä ensin kaavan (F) mukainen yhdiste kaavan (D) mukaisen yhdisteen kanssa tavanomaisissa amidiliitosolosuhteissa siten, että muodostuu kaavan (Ib) mukainen yhdiste. Esimerkiksi, kaavan (F) mukaisen yhdisteen liuokseen aproottisessa liuottimessa, edullisesti DMF, joka sisältää pienen molaarisen ylimäärän HOBT, lisätään molaarinen ylimäärä EDCI:tä. Tuloksena olevaa seosta sekoitetaan noin 1 - noin 2 tunnin ajan, edullisesti noin 1 tunnin ajan, 0-5 °C:ssa, edullisesti 0 °C:ssa. Kylmään liuokseen lisätään sitten ekvimolaarinen määrä kaavan (D) mukaista yhdistettä emäksen, edullisesti DMAP:n läsnäollessa. Tuloksena olevaa seosta sekoitetaan 12 - 24 tunnin ajan, edullisesti 24 tunnin ajan, huoneen lämpötilassa, edullisesti noin 25 °C:ssa. Kaavan (Ib) mukainen yhdiste eristetään sitten reaktioseoksesta peptidikemian standardieristystekniikoilla, esimerkiksi liuottimet haihduttamalla, uuttamisella, flash-kromatografialla ja/tai HPLC:llä.

Kaavan (Ib) mukainen yhdiste hydrolysoidaan sitten miedosti happamissa olosuhteissa, edullisesti trifluorietikkahapolla, siten että saadaan kaavan (Ic) mukainen yhdiste.

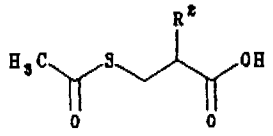
Tuloksena oleva kaavan (Ic) mukainen yhdiste käsitellään sitten *O*-bentsyylihydroksyyliamiinilla tavanomaisissa amidiliitosolosuhteissa siten, että muodostuu kaavan (Id) mukainen yhdiste. Esimerkiksi, kylmää (0-5 °C) liuosta, jossa on kaavan (Ic) mukaista yhdistettä ja HOBT inertissä liuottimessa, edullisesti DMF, käsitellään molaarisella EDCI-ylimäärällä. Kun tuloksena olevaa seosta on sekoitettu noin 30 minuutista tuntiin 0-5 °C:ssa, edullisesti 0 °C:ssa, lisätään ekvimolaarinen määrä *O*-bentsyylihydroksyy-

liamiinia. Reaktioseoksen annetaan lämmetä huoneenlämpöön yli yön. Kaavan (Id) mukainen yhdiste eristetään sitten reaktioseoksesta tavanomaisin eristysmenetelmin, esimerkiksi uuttamisella ja flash-kromatografialla.

Kaavan (Id) mukaisen yhdisteen hydroksyylin suojaava ryhmä (bentsyyli) poistetaan sitten katalyyttisen hydrogenaation olosuhteissa (Pd/C) siten että saadaan kaavan (Ie) mukainen yhdiste.

E. Kaavan (G) mukaisten yhdisteiden valmistaminen

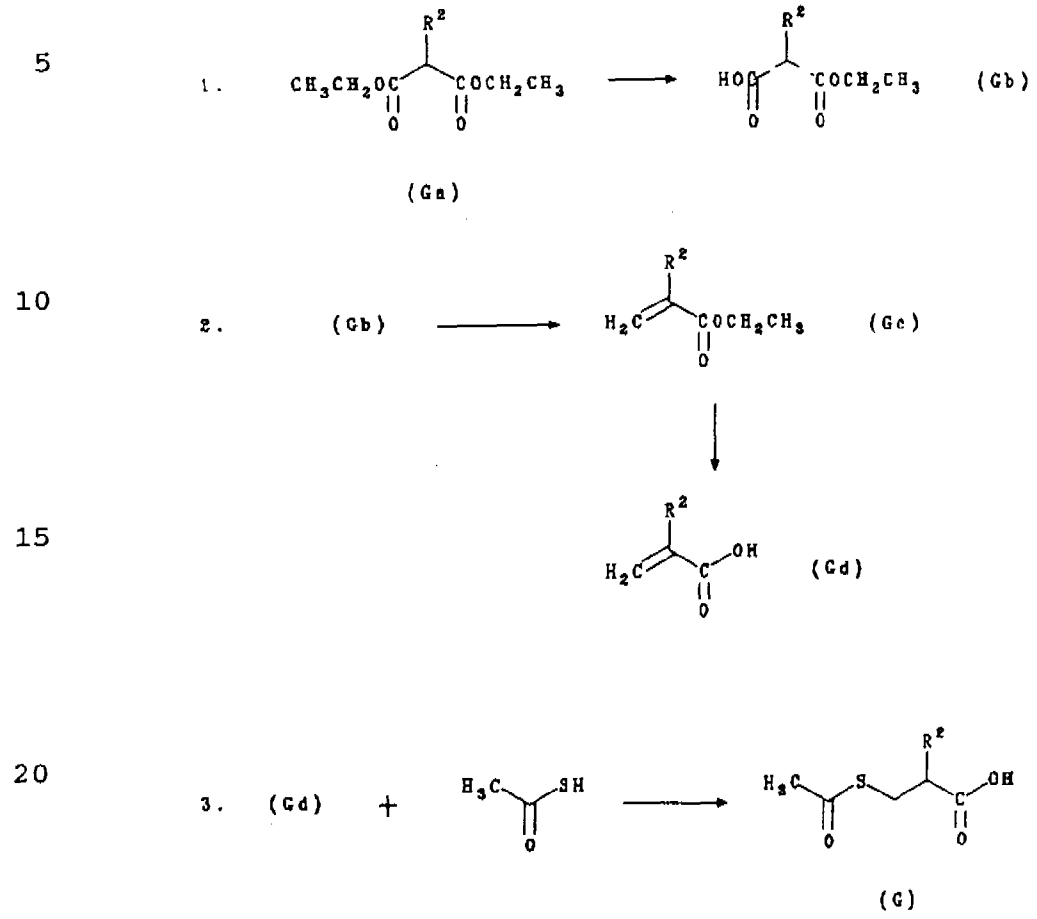
Kaavan (G) mukaiset yhdisteet:



(G)

joissa R^2 on kuten edellä määritelty keksinnön yhteenvedossa, ovat välituotteita kaavan (I) mukaisten yhdisteiden valmistuksessa, ja niitä valmistetaan kuten on esitetty seuraavassa reaktiokaaviossa 5, jossa R^2 on kuten edellä määritelty keksinnön yhteenvedossa.

Reaktiokaavio 5



Kaavan (Ga) mukaisia yhdisteitä ja tioetikkahappoa on saatavana kaupallisesti, esimerkiksi TCI America Organic Chemicals- ja Aldrich Chemical Company-yhtiöiltä, tässä järjestyksessä.

Yleensä kaavan (G) mukaisia yhdisteitä valmistetaan hydrolysoimalla ensin kaavan (Ga) yhdiste ekvimolaarisella määrällä emästä, esimerkiksi kaliumhydroksidia, siten että saadaan kaavan (Gb) mukainen yhdiste. Kaavan (Gb) mukainen yhdiste deprotonoidaan sitten emäksisissä olosuhteissa, esimerkiksi trietyyliamiinin läsnäollessa, 0-5 °C:ssa, edullisesti 0 °C:ssa, ja annetaan sitten reagoida formaldehydin kanssa ja sen jälkeen emäksen vesiliuoksen, edullisesti kaliumkarbonaatin, kanssa, siten että saadaan kaavan

(Gc) mukainen yhdiste, joka eristetään reaktioseoksesta tavanomaisin eristysmenetelmin.

Kaavan (Gc) mukainen yhdiste hydrolysoidaan sitten emäksisissä olosuhteissa, edullisesti litiumhydroksidin läsnäollessa, siten että saadaan kaavan (Gd) mukainen yhdiste. Kaavan (Gd) mukainen yhdisteen annetaan sitten reagoida molaarisen tioetikkahappoylimäärän kanssa 90-100 °C:ssa, edullisesti 95 °C:ssa, inertissä atmosfäärissä. Kaavan (G) mukainen yhdiste eristetään sitten reaktioseoksesta tavanomaisin eristysmenetelmin, esimerkiksi uuttamisella ja haihdutuksella.

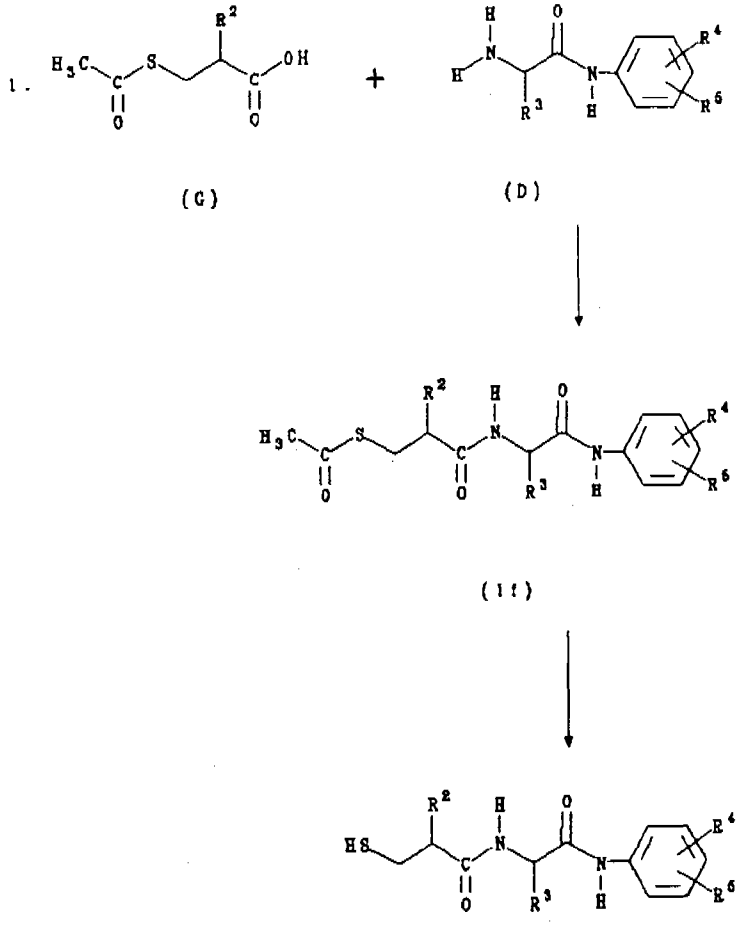
F. Kaavojen (If) ja (Ig) mukaisten yhdisteiden valmistaminen

Kaavan (If) mukaiset yhdisteet ovat kaavan (I) mukaisia yhdisteitä, joissa R^1 on asetyylitio; ja R^2, R^3, R^4 ja R^5 ovat kuten edellä määritelty keksinnön yhteenvedossa.

Kaavan (Ig) mukaiset yhdisteet ovat kaavan (I) mukaisia yhdisteitä, joissa R^1 on merkapto; ja R^2, R^3, R^4 ja R^5 ovat kuten edellä määritelty keksinnön yhteenvedossa.

Kaavojen (If) ja (Ig) mukaisia yhdisteitä valmistetaan kuten on esitetty seuraavassa reaktiokaaviossa 6, jossa R^2, R^3, R^4 ja R^5 ovat kuten määritelty keksinnön yhteenvedossa.

Reaktiokaavio 6



Kaavan (D) mukaisia yhdisteitä valmistetaan kuten on edellä esitetty kappaleessa B.

Kaavan (G) mukaisia yhdisteitä valmistetaan kuten on edellä esitetty kappaleessa E.

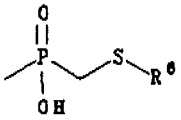
Yleensä kaavojen (If) ja (Ie) mukaisia yhdisteitä valmistetaan liittämällä ensin kaavan (G) mukainen yhdiste kaavan (D) mukaiseen yhdisteeseen tavanomaisissa amidiliitosolosuhteissa siten, että saadaan kaavan (If) mukainen yhdiste. Esimerkiksi, liuokseen, jossa on kaavan (G) mu-

kaista yhdistettä ja HOBT aproottisessa liuottimessa, edullisesti DMF, lisätään molaarinen ylimäärä EDCI:tä. Tuloksena olevaa seosta sekoitetaan yli yön huoneenlämmössä. Tuloksena oleva kaavan (If) mukainen yhdiste eristetään sitten reaktioseoksesta tavanomaisin eristystekniikoin, esimerkiksi haihduttamalla liuotin, uuttamisella, ja flash-kromatografialla. Kaavan (If) mukainen yhdiste hydrolysoidaan sitten emäksisissä olosuhteissa, edullisesti proottisessa liuottimessa kuten metanolissa ammoniumhydroksidin läsnäollessa, siten että muodostuu kaavan (Ig) mukainen yhdiste.

Lisäksi kaikki kaavan (I) mukaiset yhdisteet, jotka esiintyvät joko vapaan hapon tai vapaan emäksen muodossa, voidaan muuttaa farmaseuttisesti hyväksyttäviksi suoloikseen tarkoituksenmukaisella epäorgaanisella tai orgaanisella emäksellä tai tarkoituksenmukaisella epäorgaanisella tai orgaanisella hapolla käsittelemällä, tässä järjestyksessä. Kaavan (I) mukaisten yhdisteiden suolat voidaan myös muuttaa vapaan hapon tai vapaan emäksen muotoon tai toiseksi suolaksi.

Yhteenvetona, kaavojen (Ia), (Ib), (Ic), (Id), (Ie), (If) ja (Ig) mukaisia yhdisteitä, jotka kaikki ovat kaavan (I) mukaisia yhdisteitä, valmistetaan:

1. Antamalla kaavan (D) mukaisen yhdisteen, jossa R^3 ja R^4 ovat kuten määritelty edellä keksinnön yhteenvedossa; ja R^5 on vety; reagoida kaavan (E) mukaisen yhdisteen kanssa, jossa R^6 on valinnaisesti substituoitu aryyli, jossa aryyliryhmä on kinol-2-yyli, naft-1-yyli, naft-2-yyli, pyridyyli tai fenyyli; ja R^2 on alkyyli; siten että muodostuu kaavan (Ia) mukainen yhdiste, jossa R^1 on



jossa R^6 on kuten edellä määritelty kaavan (E) mukaiselle yhdisteelle; ja R^2, R^3, R^4, ja R^5 ovat kuten edellä määritel-

ty kaavojen (D) tai (E) mukaisille yhdisteille; tai

2. Antamalla kaavan (F) mukaisen yhdisteen, jossa R^2 on kuten edellä määritelty keksinnön yhteenvedossa; ja R^8 on alkyyli tai bentsyyli; reagoida kaavan (D) mukaisen yhdisteen kanssa, jossa R^3, R^4, ja R^5 ovat kuten edellä määritelty keksinnön yhteenvedossa; siten että muodostuu kaavan (Ib) mukainen yhdiste, jossa R^1 on alkoksikarbonyyli tai aralkoksikarbonyyli; ja R^2, R^3, R^4, R^5 ja R^8 ovat kuten edellä määritelty kaavojen (F) tai (D) mukaisille yhdisteille; tai

3. Käsittelemällä kaavan (Ib) mukaista yhdistettä, jossa R^2, R^3, R^4, ja R^5 ovat kuten edellä määritelty keksinnön yhteenvedossa; ja R^8 on alkyyli tai bentsyyli; siten että muodostuu kaavan (Ic) mukainen yhdiste, jossa R^1 on karboksyyli; ja R^2, R^3, R^4, ja R^5 ovat kuten edellä määritelty keksinnön yhteenvedossa; tai

4. Antamalla kaavan (Ic) mukaisen yhdisteen, jossa R^2, R^3, R^4, ja R^5 ovat kuten edellä määritelty keksinnön yhteenvedossa; reagoida *O*-bentsyylihydroksyyliamiinin kanssa siten, että muodostuu kaavan (Id) mukainen yhdiste, jossa R^1 on bentsyylioksikarbamoyyli; ja R^2, R^3, R^4, ja R^5 ovat kuten edellä määritelty keksinnön yhteenvedossa; tai

5. Käsittelemällä kaavan (Id) mukaista yhdistettä, jossa R^2, R^3, R^4, ja R^5 ovat kuten edellä määritelty keksinnön yhteenvedossa; siten että muodostuu kaavan (Ie) mukainen yhdiste, jossa R^1 on hydroksikarbamoyyli; ja R^2, R^3, R^4, ja R^5 ovat kuten edellä määritelty keksinnön yhteenvedossa; tai

6. Antamalla kaavan (G) mukaisen yhdisteen, jossa R^2 on kuten edellä määritelty keksinnön yhteenvedossa; reagoida kaavan (D) mukaisen yhdisteen kanssa, jossa R^3, R^4, ja R^5 ovat kuten edellä määritelty keksinnön yhteenvedossa; siten että muodostuu kaavan (If) mukainen yhdiste, jossa R^1 on asetyylitio; ja R^2, R^3, R^4, ja R^5 ovat kuten edellä määritelty keksinnön yhteenvedossa; tai

7. Käsittelemällä kaavan (If) mukaista yhdistettä, jossa R^2, R^3, R^4, ja R^5 ovat kuten edellä määritelty keksin-

nön yhteenvedossa; siten että muodostuu kaavan (Ig) mukainen yhdiste, jossa R^1 on merkapto; ja R^2, R^3, R^4, ja R^5 ovat kuten edellä määritelty keksinnön yhteenvedossa.

Seuraavat spesifiset valmisteet ja esimerkit annetaan ohjeeksi keksinnön toteuttamisessa auttamiseksi, eikä niitä ole tarkoitettu keksinnön toimintavapautta rajoittaviksi.

Esimerkki 1

Kaavan (Ea) mukaiset yhdisteet

A. Kiteistä fosfiinihappoa (8,4 g, 0,13 mol) sekoitettiin puhtaassa trietyyliortoformiaatissa (22 mL, 0,20 mL) 90 minuutin ajan huoneen lämpötilassa. Tämä siirrettiin sitten kanyylin kautta liuokseen, jossa sekoitettiin etyyli-isobutyyliakrylaattia (8 g, 0,036 mol) ja tetrametyyliguanidiinia (4,5 mL, 0,036 mol) ja joka oli jäähdytetty 0 °C:seen 10 minuutiksi. Jäähaude poistettiin ja reaktiota sekoitettiin 4 tuntia. Seos laimennettiin 200 mL:lla dietyylieetteriä ja liuos pestiin 1 N HCl:lla (100 mL), vedellä (4x100 mL), suolavedellä (100 mL), ja kuivattiin magnesiumsulfaatin päällä. Tämä haihdutettiin pyöröhaihduttimella siten, että saatiin 8,15 g 2-(etoksi)fosfinoyylimetyyli-4-metyylipentaanihapon etyyliesteriä lievästi kellanvärisenä öljynä. MS: 349 $(M-H_2O)^+$.

B. Samalla tavalla valmistetaan seuraavat kaavan (Ea) mukaiset yhdisteet:

2-(etoksi)fosfinoyylimetyyli-5-fenyylipentaanihapon etyyliesteri;

2-(etoksi)fosfinoyylimetyyli-4-fenyylibutaanihapon etyyliesteri;

2-(etoksi)fosfinoyylimetyyli-3-fenyylipropaanihapon etyyliesteri;

2-(etoksi)fosfinoyylimetyyli-3-sykloheksyylipropaanihapon etyyliesteri; ja

2-((etoksi)fosfinoyylimetyyli)pentaanihapon etyyliesteri.

Esimerkki 2

Kaavan (Eb) mukainen yhdiste

A. Raakaa 2-(etoksi)fosfinoyylimetyyli-4-metyylipentaanihapon etyyliesteriä (26 g) liuotettiin 600 mL:aan THF/CH_2Cl_2 (50/50) ja jäähdytettiin 0 °C:seen. N,N-di-isopropyylietyyliamiinia (32 mL) ja 90,8 mL *bis*-(trimetyylisilyyli)asetamidia lisättiin liuokseen ja tuloksena olevaa seosta sekoitettiin 20 minuutin ajan ja sitten lisättiin paraformaldehydiä (5,5 g). Liuos tuotiin huoneenlämpöön ja sitä kuumennettiin 37 °C:ssa 18 tuntia. Liuotin poistettiin haihduttamalla ja tuloksena oleva öljy liuotettiin 200 mL:aan etyyliasetaattia. Liuos pestiin 50 mL:lla 1 N HCl (2x), 50 mL:lla suolavettä (2x), kuivattiin $MgSO_4$:n päällä, suodatettiin ja haihdutettiin siten, että saatiin 19,3 g 2-(etoksi)(hydroksimetyyli)fosfinoyylimetyyli-4-metyylipentaanihapon etyyliesteriä heikosti keltaisena öljynä, MS: 281,2 (MH^+).

B. Samalla tavalla valmistetaan seuraavat kaavan (Eb) mukaiset yhdisteet:

2-(etoksi)(hydroksimetyyli)fosfinoyylimetyyli-5-fenyylipentaanihapon etyyliesteri;

2-(etoksi)(hydroksimetyyli)fosfinoyylimetyyli-4-fenyylibutaanihapon etyyliesteri;

2-(etoksi)(hydroksimetyyli)fosfinoyylimetyyli-3-fenyylipropaanihapon etyyliesteri;

2-(etoksi)(hydroksimetyyli)fosfinoyylimetyyli-3-sykloheksyylipropaanihapon etyyliesteri; ja

2-(etoksi)(hydroksimetyyli)fosfinoyylimetyyli)pentaanihapon etyyliesteri.

Esimerkki 3

Kaavan (Ec) mukaiset yhdisteet

A. 2-(Etoksi)(hydroksimetyyli)fosfinoyylimetyyli-4-metyylipentaanihapon etyyliesteriä (5 g) liuotettiin 20 mL:aan CH_2Cl_2 ja jäähdytettiin -20 °C:seen (duplikaattina). Metaanisulfonyylikloridia (1,5 mL) ja trietyyliamiinia (3,0 mL) lisättiin tipoittain liuokseen. Haude poistettiin

15 minuutin kuluttua ja reaktio jätettiin huoneenlämpöön 3½ tunniksi. Kumpikin liuos pestiin sitten 10 mL:lla kylmää 2% HCl, 10 mL:lla $NaHCO_3$ (kyll.) 10 mL:lla suolavettä, kuivattiin $MgSO_4$:n päällä, suodatettiin ja haihdutettiin siten, että saatiin 12,8 g (yhdistetty saanto) 2-(etoksi)-(metaanisulfonyylioksimetyyli)fosfinoyylimetyyli-4-metyylipentaanihapon etyyliesteriä.

B. Samalla tavalla, mutta korvaamalla metaanisulfonyylikloridi *p*-tolueenisulfonyylikloridilla, valmistetaan 2-(etoksi)-(*p*-tolueenisulfonyylioksimetyyli)fosfinoyylimetyyli-4-metyylipentaanihapon etyyliesteri.

C. Samalla tavalla valmistetaan seuraavat kaavan (Ec) yhdisteet:

2-(etoksi)(metaanisulfonyylioksimetyyli)fosfinoyylimetyyli-5-fenyylipentaanihapon etyyliesteri;

2-(etoksi)(metaanisulfonyylioksimetyyli)fosfinoyylimetyyli-4-fenyylibutaanihapon etyyliesteri;

2-(etoksi)(metaanisulfonyylioksimetyyli)fosfinoyylimetyyli-3-fenyylipropaanihapon etyyliesteri;

2-(etoksi)(metaanisulfonyylioksimetyyli)fosfinoyylimetyyli-3-sykloheksyylipropaanihapon etyyliesteri;

2-((etoksi)(metaanisulfonyylioksimetyyli)fosfinoyylimetyyli)pentaanihapon etyyliesteri;

2-(etoksi)(*p*-tolueenisulfonyylioksimetyyli)fosfinoyylimetyyli-5-fenyylipentaanihapon etyyliesteri;

2-(etoksi)(*p*-tolueenisulfonyylioksimetyyli)fosfinoyylimetyyli-4-fenyylibutaanihapon etyyliesteri;

2-(etoksi)(*p*-tolueenisulfonyylioksimetyyli)fosfinoyylimetyyli-3-fenyylipropaanihapon etyyliesteri;

2-(etoksi)(*p*-tolueenisulfonyylioksimetyyli)fosfinoyylimetyyli-3-sykloheksyylipropaanihapon etyyliesteri;

2-((etoksi)(*p*-tolueenisulfonyylioksimetyyli)fosfinoyylimetyyli)pentaanihapon etyyliesteri.

Esimerkki 4

Kaavan (Ee) mukaiset yhdisteet

Natriumhydridiä (1,52 g, (60%)) ja 2-kinoliinitiolia (6

g) sekoitettiin yhdessä 0 °C:ssa 50 mL:ssa DMF. Vedyn alkukehittymisen asetuttua seosta sekoitettiin huoneenlämmössä 2,5 tuntia. Seos jäähdytettiin sitten 0 °C:seen ja 2-(etoksi)(metaanisulfonyylioksimetyyli)fosfinoyylimetyyli-4-metyylipentaanihapon etyyliesteriä (12,8 g) 10 mL:ssa DMF lisättiin kanyylin kautta. Tuloksena olevaa seosta sekoitettiin 18 tunnin ajan sen hitaasti lämmetessä huoneen lämpötilaan. DMF poistettiin haihduttamalla, jäännös liuotettiin 50 mL:aan etyyliasetaattia ja pestiin 50 mL:lla H_2O (2x), suolavedellä (50 mL), kuivattiin $MgSO_4$:n päällä ja haihdutettiin keltaiseksi puolikiinteäksi aineeksi. Puhdistus flash-kromatografialla käyttäen eluutioon 10%:sta etyyliasetaatti/heksaanista 80%:seen etyyliasetaatti/heksaaniin, tuotti 10 g 2-(etoksi)(kinolin-2-yylitiometyyli)-fosfinoyylimetyyli-4-metyylipentaanihapon metyyliesteriä (Rf 0,35 80% etyyliasetaatti/heksaani), MS: 424,1 (MH^+).

B. Samalla tavalla, mutta korvaamalla 2-kinoliinitioli 1-naftaleenitiolilla, 2-naftaleenitiolilla, tai tiofenolilla, valmistetaan seuraavat kaavan (Ee) mukaiset yhdisteet:

2-(etoksi)(naft-1-yylitiometyyli)fosfinoyylimetyyli-4-metyylipentaanihapon etyyliesteri;

2-(etoksi)(naft-2-yylitiometyyli)fosfinoyylimetyyli-4-metyylipentaanihapon etyyliesteri;

2-(etoksi)(fenyylitiometyyli)fosfinoyylimetyyli-4-metyylipentaanihapon etyyliesteri;

C. Samalla tavalla valmistetaan seuraavat kaavan (Ee) mukaiset yhdisteet:

2-(etoksi)(kinolin-2-yylitiometyyli)fosfinoyylimetyyli-5-fenyylipentaanihapon etyyliesteri;

2-(etoksi)(kinolin-2-yylitiometyyli)fosfinoyylimetyyli-4-fenyylibutaanihapon etyyliesteri;

2-(etoksi)(kinolin-2-yylitiometyyli)fosfinoyylimetyyli-3-fenyylipropaanihapon etyyliesteri;

2-(etoksi)(kinolin-2-yylitiometyyli)fosfinoyylimetyyli-3-sykloheksyylipropaanihapon etyyliesteri;

2-((etoksi)(kinolin-2-yylitiometyyli)fosfinoyylimetyyli)-

pentaanihapon etyyliesteri;
2-(etoksi)(naft-1-yylitiometyyli)fosfinoyylimetyyli-5-fenyylipentaanihapon etyyliesteri;
2-(etoksi)(naft-1-yylitiometyyli)fosfinoyylimetyyli-4-fenyylibutaanihapon etyyliesteri;
2-(etoksi)(naft-1-yylitiometyyli)fosfinoyylimetyyli-3-fenyylipropaanihapon etyyliesteri;
2-(etoksi)(naft-1-yylitiometyyli)fosfinoyylimetyyli-3-sykloheksyylipropaanihapon etyyliesteri;
2-((etoksi)(naft-1-yylitiometyyli)fosfinoyylimetyyli)pentaanihapon etyyliesteri;
2-(etoksi)(naft-2-yylitiometyyli)fosfinoyylimetyyli-5-fenyylipentaanihapon etyyliesteri;
2-(etoksi)(naft-2-yylitiometyyli)fosfinoyylimetyyli-4-fenyylibutaanihapon etyyliesteri;
2-(etoksi)(naft-2-yylitiometyyli)fosfinoyylimetyyli-3-fenyylipropaanihapon etyyliesteri;
2-(etoksi)(naft-2-yylitiometyyli)fosfinoyylimetyyli-3-sykloheksyylipropaanihapon etyyliesteri;
2-((etoksi)(naft-2-yylitiometyyli)fosfinoyylimetyyli)pentaanihapon etyyliesteri;
2-(etoksi)(fenyylitiometyyli)fosfinoyylimetyyli-5-fenyylipentaanihapon etyyliesteri;
2-(etoksi)(fenyylitiometyyli)fosfinoyylimetyyli-4-fenyylibutaanihapon etyyliesteri;
2-(etoksi)(fenyylitiometyyli)fosfinoyylimetyyli-3-fenyylipropaanihapon etyyliesteri;
2-(etoksi)(fenyylitiometyyli)fosfinoyylimetyyli-3-sykloheksyylipropaanihapon etyyliesteri;
2-((etoksi)(fenyylitiometyyli)fosfinoyylimetyyli)pentaanihapon etyyliesteri.

Esimerkki 5

Kaavan (E) mukaiset yhdisteet

A. 2-(Etoksi)(kinolin-2-yylitiometyyli)fosfinoyylimetyyli-4-metyylipentaanihapon etyyliesteriä (4,5 g) liuotettiin 100 mL:aan THF ja 12,5 mL 2 N NaOH lisättiin yh-

dessä niin suuren metanolimäärän kanssa, että liuos tuli homogeeniseksi. 18 Tunnin kuluttua THF poistettiin haihduttamalla, jäännös laimennettiin 50 mL:lla H_2O ja pestiin 50 mL:lla etyyliasetaattia. Vesifaasi tehtiin sitten happamaksi arvoon pH 4, ja tuote uutettiin 50 mL:lla etyyliasetaattia (2x). Etyyliasetaatti pestiin 20 mL:lla suolavettä, kuivattiin $mgSO_4$:llä, ja haihdutettiin siten, että saatiin 3,8 g 2-(hydroksi)(kinolin-2-yylitiometyyli)fosfinoyylimetyyli-4-metyylipentaanihappoa keltaisena öljynä, MS: 368 (MH^+).

B. Samalla tavalla valmistetaan seuraavat kaavan (E) mukaiset yhdisteet:

2-(hydroksi)(naft-1-yylitiometyyli)fosfinoyylimetyyli-4-metyylipentaanihappo;

2-(hydroksi)(naft-2-yylitiometyyli)fosfinoyylimetyyli-4-metyylipentaanihappo;

2-(hydroksi)(fenyylitiometyyli)fosfinoyylimetyyli-4-metyylipentaanihappo;

C. Samalla tavalla valmistetaan seuraavat kaavan (E) mukaiset yhdisteet:

2-(hydroksi)(kinolin-2-yylitiometyyli)fosfinoyylimetyyli-5-fenyylipentaanihappo;

2-(hydroksi)(kinolin-2-yylitiometyyli)fosfinoyylimetyyli-4-fenyylibutaanihappo;

2-(hydroksi)(kinolin-2-yylitiometyyli)fosfinoyylimetyyli-3-fenyylipropaanihappo;

2-(hydroksi)(kinolin-2-yylitiometyyli)fosfinoyylimetyyli-3-sykloheksyylipropaanihappo;

2-((hydroksi)(kinolin-2-yylitiometyyli)fosfinoyylimetyyli)pentaanihappo;

2-(hydroksi)(naft-1-yylitiometyyli)fosfinoyylimetyyli-5-fenyylipentaanihappo;

2-(hydroksi)(naft-1-yylitiometyyli)fosfinoyylimetyyli-4-fenyylibutaanihappo;

2-(hydroksi)(naft-1-yylitiometyyli)fosfinoyylimetyyli-3-fenyylipropaanihappo;

2-(hydroksi)(naft-1-yylitiometyyli)fosfinoyylimetyyli-3-

sykloheksyylipropaanihappo;
2-((hydroksi)(naft-1-yylitiometyyli)fosfinoyylimetyyli)pentaanihappo;
2-(hydroksi)(naft-2-yylitiometyyli)fosfinoyylimetyyli-5-fenyylipentaanihappo;
2-(hydroksi)(naft-2-yylitiometyyli)fosfinoyylimetyyli-4-fenyylibutaanihappo;
2-(hydroksi)(naft-2-yylitiometyyli)fosfinoyylimetyyli-3-fenyylipropaanihappo;
2-(hydroksi)(naft-2-yylitiometyyli)fosfinoyylimetyyli-3-sykloheksyylipropaanihappo;
2-((hydroksi)(naft-2-yylitiometyyli)fosfinoyylimetyyli)pentaanihappo;
2-(hydroksi)(fenyylitiometyyli)fosfinoyylimetyyli-5-fenyylipentaanihappo;
2-(hydroksi)(fenyylitiometyyli)fosfinoyylimetyyli-4-fenyylibutaanihappo;
2-(hydroksi)(fenyylitiometyyli)fosfinoyylimetyyli-3-fenyylipropaanihappo;
2-(hydroksi)(fenyylitiometyyli)fosfinoyylimetyyli-3-sykloheksyylipropaanihappo; ja
2-((hydroksi)(fenyylitiometyyli)fosfinoyylimetyyli)pentaanihappo.

Esimerkki 6

Kaavan (E) mukaisen yhdisteen resoluutio

2-(Hydroksi)(kinolin-2-yylitiometyyli)fosfinoyylimetyyli-4-metyylipentaanihappoa (5,3 g) liuotettiin 50 mL:aan lämmintä etanolia (abs) ja 4,2 g (-)-kinkonidiiniä lisättiin. 30 minuutin kuluttua huoneenlämmössä suola alkoi saostua. Suola poistettiin sitten imusuodatuksella, ja suodos haihdutettiin keltaiseksi vaahdoksi. Suola ja suodos liuotettiin kumpikin 100 mL:aan etyyliasetaattia ja pestiin peräkkäin 1% HCl:lla kinkonidiinin poistamiseksi, pitäen pH:n yli arvon 4. Molemmat liuokset kuivattiin $MgSO_4$:n päällä ja haihdutettiin siten että saatiin 2,4 g yksittäistä stereoisomeeriä, $[\alpha]_D^{24}$=+10,68° (9,73 mg meta-

nolissa (2 mL)) ja 2,5 g toista yksittäistä stereoisomeeriä, $[\alpha]_D^{24}$=-8,70° (9,88 mg metanolissa (2 mL)).

Esimerkki 7

Kaavan (B) yhdisteet

A. Kylmään (0 °C) 4-asetamidobentseenisulfonyylikloridin (4,0 g, 17 mmol) suspensioon CH_2Cl_2:ssa (40 mL) lisättiin pyridiiniä (1,7 mL, 20 mmol) ja DMAP (209 mg, 1,7 mmol). Tuloksena oli kirkas liuos. Vedetöntä metyyliamiinia kuplitettiin liuokseen 1 tunnin ajan 0 °C:ssa, ja sitten liuoksen annettiin sekoittua 25 °C:ssa 2 tunnin ajan. Liuos uutettiin 1 M NaOH:lla (3x15 mL) ja yhdistettyjen uutosten pH säädettiin 0 °C:ssa 3 M HCl:lla arvoon 6. Höytymäisinä valkoisina kiteinä saostuva tuote suodatettiin ja pestiin kylmällä vedellä siten, että saatiin 3,2 g (82%) 4-asetamido-*N*-metyylibentseenisulfonamidia; ^{1}H NMR (300 MHz, MeOH) δ 2,35 (s, 3H), 2,70 (s, 3H), 7,96 (s, 4H).

B. Seosta, jossa oli 4-asetamido-*N*-metyylibentseenisulfonamidia (3,2 g, 14 mmol) ja 100 mL 1 M HCl pidettiin palautusjäähdytyksellä argonin alaisena 3 tunnin ajan. Jäähdytyksen jälkeen 25 °C:seen lisättiin CH_2Cl_2 (10 mL) ja vesifaasi neutraloitiin 1 M NaOH:lla 0 °C:ssa. Vesifaasi erotettiin ja uutettiin CH_2Cl_2:lla (2x25 mL). Yhdistetyt orgaaniset faasit pestiin suolavedellä (10 mL), kuivattiin (Na_2SO_4) ja konsentroitiin siten, että saatiin 1,5 g (58%) kaavan (B) mukaista yhdistettä, jossa R^4 on *N*-metyylisulfonamidi, värittömänä kiinteänä aineena; ^{1}H NMR (300 MHz, MeOH) δ 2,46 (s, 3H), 6,67-6,72 (AA'-osa AA'XX':sta, 2H), 7,48-7,52 (XX'-osa AA'XX':sta, 2H).

Esimerkki 8

Kaavan (C) mukaiset yhdisteet

A. Kylmään (0 °C) *N*-*tert*-butoksikarbonyyli-L-leusiinin (1,4 g, 6,3 mmol) ja HOBT:n (1,5 g, 9,8 mmol) liuokseen DMF:ssä (30 mL) lisättiin EDCI:tä (2,5 g, 14 mmol) annoksittain. Tunnin sekoituksen jälkeen 0 °C:ssa tuloksena ole-

va liuos käsiteltiin metyyli-4-aminobentsoaatilla (1,09 mL, 6,8 mmol) ja DMAP:llä (0,32 g, 2,6 mmol). 24 Tunnin sekoittamisen jälkeen 25 °C:ssa DMF poistettiin vakuumissa. Jäännös liuotettiin CH_2Cl_2:een ja pestiin kyllästetyllä $NaHCO_3$-liuoksella, 1 M HCl:lla (kahdesti), ja suolavedellä. Kuivaus Na_2SO_4:n päällä ja konsentrointi vakuumissa tuotti raakatuotteen, joka puhdistettiin flash-kromatografialla SiO_2:lla (20% etyyliasetaatti/heksaani-eluentti). Saatiin 1,0 g (85%) *N*-*t*-butoksikarbonyyli-L-leusiini-*N'*-(4-metoksikarbonyylifenyyli)karboksiamidia vaahtomaisena kiinteänä aineena, MS (FAB) 363 $(M-H)^-$.

B. Samalla tavalla valmistettiin seuraavat kaavan (C) mukaiset yhdisteet:

N-*t*-butoksikarbonyyli-L-tryptofaani-*N'*-fenyylimetyylikarboksiamidi;

N-*t*-butoksikarbonyyli-L-tryptofaani-*N'*-fenyylikarboksiamidi;

N-*t*-butoksikarbonyyli-L-tryptofaani-*N'*-(4-metoksikarbonyylifenyyli)karboksiamidi;

N-*t*-butoksikarbonyyli-L-tryptofaani-*N'*-(4-etoksikarbonyylifenyyli)karboksiamidi;

N-*t*-butoksikarbonyyli-L-leusiini-*N'*-(4-(*N''*-metyyliaminosulfonyyli)fenyyli)karboksiamidi;

N-*t*-butoksikarbonyyli-L-alaniini-*N'*-(4-metoksikarbonyylifenyyli)karboksiamidi;

N-*t*-butoksikarbonyyli-L-metioniini-*N'*-(4-metoksikarbonyylifenyyli)karboksiamidi;

N-*t*-butoksikarbonyyli-L-leusiini-*N'*-(3-etoksikarbonyylifenyyli)karboksiamidi;

N-*t*-butoksikarbonyyli-L-leusiini-*N'*-(2-metoksikarbonyylifenyyli)karboksiamidi;

N-*t*-butoksikarbonyyli-L-leusiini-*N'*-(4-(1-metyylietyylioksi)karbonyyli)fenyyli))karboksiamidi;

N-*t*-butoksikarbonyyli-L-leusiini-*N'*-(aminosulfonyyli)fenyyli)karboksiamidi;

N-*t*-butoksikarbonyyli-L-leusiini-*N'*-(4-metoksikarbonyylimetyylifenyyli)karboksiamidi;

N-*t*-butoksikarbonyyli-L-pyridin-3-yylialaniini-*N'*-(4-metoksikarbonyylifenyyli)karboksiamidi;
N-*t*-butoksikarbonyyli-L-sykloheksyyliglysiini-*N'*-(4-metoksikarbonyylifenyyli)karboksiamidi;
N-*t*-butoksikarbonyyli-L-isoleusiini-*N'*-(4-metoksikarbonyylifenyyli)karboksiamidi;
N-*t*-butoksikarbonyyli-L-*O*-bentsyylitreoniini-*N'*-(4-metoksikarbonyylifenyyli)karboksiamidi;
N-*t*-butoksikarbonyyli-L-*t*-leusiini-*N'*-(4-metoksikarbonyylifenyyli)karboksiamidi;
N-*t*-butoksikarbonyyli-L-leusiini-*N'*-(4-syanofenyyli)karboksiamidi;
N-*t*-butoksikarbonyyli-L-leusiini-*N'*-(4-(*N''*-(2-dimetyyliaminoetyylikarbamoyyli)karboksiamidi; ja
N-*t*-butoksikarbonyyli-L-leusiini-*N'*-(4-(*N''*-(3-dimetyyliaminopropyyli)karbamoyyli)fenyyli)karboksiamidi.

C. Samalla tavalla valmistetaan seuraavat kaavan (C) mukaiset yhdisteet:
N-*t*-butoksikarbonyyli-L-tryptofaani-*N'*-(4-nitrofenyyli)karboksiamidi;
N-*t*-butoksikarbonyyli-L-tryptofaani-*N'*-(4-aminofenyyli)karboksiamidi;
N-*t*-butoksikarbonyyli-L-leusiini-*N'*-(4-metyylisulfonyylifenyyli)karboksiamidi;
N-*t*-butoksikarbonyyli-L-leusiini-*N'*-(4-etyylisulfonyylifenyyli)karboksiamidi;
N-*t*-butoksikarbonyyli-L-leusiini-*N'*-(4-tetratsolyylifenyyli)karboksiamidi.

Esimerkki 9

Kaavan (D) mukaiset yhdisteet

A. Kylmään (0 °C) *N*-*t*-butoksikarbonyyli-L-leusiini-*N'*-fenyylikarboksiamidin (3,4 g, 11 mmol) liuokseen kuivassa CH_2Cl_2:ssa (10 ml) lisättiin TFA (2 mL). Liuoksen annettiin sekoittua 25 °C:ssa 6 tuntia ja sitten se konsentroitiin vakuumissa. Jäännös erotettiin CH_2Cl_2:n ja H_2O:n kesken ja vesikerros tehtiin emäksiseksi 0 °C:ssa kyllästetyllä K_2CO_3-

liuoksella. Orgaaninen faasi erotettiin ja vesikerros uutettiin kolmesti CH_2Cl_2:lla. Yhdistetyt orgaaniset kerrokset pestiin suolavedellä ja kuivattiin Na_2SO_4:n päällä. Konsentrointi tuotti L-leusiini-*N'*-fenyylikarboksiamidin.

B. Samalla tavalla valmistetaan seuraavat yhdisteet:
L-leusiini-*N'*-(4-metoksikarbonyylifenyyli)karboksiamidi;
L-tryptofaani-*N'*-fenyylimetyylikarboksiamidi;
L-tryptofaani-*N'*-fenyylikarboksiamidi;
L-tryptofaani-*N'*-(4-metoksikarbonyylifenyyli)karboksiamidi;
L-tryptofaani-*N'*-(4-etoksikarbonyylifenyyli)karboksiamidi;
L-leusiini-*N'*-(4-*N''*-metyyliaminosulfonyyli)fenyyli)karboksiamidi;
L-alaniini-*N'*-(4-metoksikarbonyylifenyyli)karboksiamidi;
L-metioniini-*N'*-(4-metoksikarbonyylifenyyli)karboksiamidi;
L-leusiini-*N'*-(3-etoksikarbonyylifenyyli)karboksiamidi;
L-leusiini-*N'*-(2-metoksikarbonyylifenyyli)karboksiamidi;
L-leusiini-*N'*-(4-(1-metyylietyylioksi)karbonyyli)fenyyli)-karboksiamidi;
L-leusiini-*N'*-(aminosulfonyyli)fenyyli)karboksiamidi;
L-leusiini-*N'*-(4-metoksikarbonyylimetyylifenyyli)karboksiamidi;
L-pyridin-3-yylialaniini-*N'*-(4-metoksikarbonyylifenyyli)-karboksiamidi;
L-spirosyklopentyyliglysiini-*N'*-(4-metoksikarbonyylifenyyli)karboksiamidi;
L-sykloheksyyliglysiini-*N'*-(4-metoksikarbonyylifenyyli)karboksiamidi;
L-isoleusiini-*N'*-(4-metoksikarbonyylifenyyli)karboksiamidi;
L-*O*-bentsyylitreoniini-*N'*-(4-metoksikarbonyylifenyyli)karboksiamidi;
L-*t*-leusiini-*N'*-(4-metoksikarbonyylifenyyli)karboksiamidi;
L-leusiini-*N'*-(4-syanofenyyli)karboksiamidi;
L-leusiini-*N'*-(4-(*N''*-(2-dimetyyliaminoetyyli)karbamoyyli)-fenyyli)karboksiamidi; ja
L-leusiini-*N'*-(4-(*N''*-(3-dimetyyliaminopropyyli)karbamoyyli)fenyyli)karboksiamidi;

C. Samalla tavalla valmistetaan seuraavat kaavan (D)

mukaiset yhdisteet:
L-tryptofaani-*N'*-(4-nitrofenyyli)karboksiamidi;
L-tryptofaani-*N'*-(4-aminofenyyli)karboksiamidi;
L-leusiini-*N'*-(4-metyylisulfonyylifenyyli)karboksiamidi;
L-leusiini-*N'*-(4-etyylisulfonyylifenyyli)karboksiamidi; ja
L-leusiini-*N'*-(4-tetratsolyylifenyyli)karboksiamidi.

Esimerkki 10

Kaavan (Ia) mukaiset yhdisteet

A. Kylmään (0 °C) 2-(hydroksi)kinolin-2-yylitiometyyli)fosfinoyylimetyyli-4-metyylipentaanihapon (0,20 g, 0,54 mmol) liuokseen THF:ssä (6 mL) lisättiin 1,1'-karbonyylidi-imidatsolia (0,12 g, 0,7 mmol). Seosta sekoitettiin 75 minuutin ajan 0 °C:ssa ja käsiteltiin sitten L-tryptofaani-*N'*-(4-etoksikarbonyylifenyyli)karboksiamidilla (0,22 g, 0,62 mmol) ja sekoitettiin 25 °C:ssa 15 tunnin ajan. THF haihdutettiin ja jäännös liuotettiin etyyliasetaattiin (60 mL). Liuos pestiin sitten H_2O:lla (10 mL), suolavedellä (10 mL), ja kuivattiin $MgSO_4$:n päällä. Konsentroinnin jälkeen suoritettiin käänteisfaasi-HPLC asetonitriilin ja 50 mM NH_4OAc-puskurin gradienttia käyttäen ja saatiin 30 mg *N*-2-(hydroksi)(kinolin-2-yylitiometyyli)fosfinoyylimetyyli-4-metyylipentanoyyli)-L-tryptofaani-*N'*-(4-etoksikarbonyylifenyyli)karboksiamidia likaisenvalkoisena kiinteänä aineena, MS (FAB) 701 $(M-H)^+$ (diastereomeerien seos).

B. Samalla tavalla valmistettiin seuraavat kaavan (Ia) mukaiset yhdisteet:
N-2-(hydroksi)(kinolin-2-yylitiometyyli)fosfinoyylimetyyli-4-metyylipentanoyyli)-L-tryptofaani-*N'*-(4-metoksikarbonyylifenyyli)karboksiamidi,
MS(FAB) 687 $(M+H)^+$;
N-2-(hydroksi)(kinolin-2-yylitiometyyli)fosfinoyylimetyyli-4-metyylipentanoyyli)-L-alaniini-*N'*-(4-metoksikarbonyylifenyyli)karboksiamidi,
MS(FAB) 572 $(M+H)^+$;
N-2-(hydroksi)(kinolin-2-yylitiometyyli)fosfinoyylimetyyli-4-metyylipentanoyyli)-L-metioniini-*N'*-(4-metoksikarbo-

nyylifenyyli)karboksiamidi,
MS(FAB) 632 $(M+H)^+$; **Yhdiste 1**
N-2-(hydroksi)(kinolin-2-yylitiometyyli)fosfinoyylimetyyli-4-metyylipentanoyyli)-L-leusiini-*N'*-(4-metoksikarbonyylifenyyli)karboksiamidi,
MS(FAB) 614 $(M+H)^+$;
N-2-(hydroksi)(kinolin-2-yylitiometyyli)fosfinoyylimetyyli-4-metyylipentanoyyli)-L-leusiini-*N'*-(3-etoksikarbonyylifenyyli)karboksiamidi,
^{1}H NMR (300 MHz, MeOH) δ 0,73-1,01 (m, 12H), 1,28-2,00 (m, 14H), 2,4-3,61 (m, 2H), 4,27-4,45 (m, 3H), 7,23-7,44 (m, 3H), 7,65-7,98 (m, 6H), 8,29 (s, 0,5H), 8,50 (s, 0,5H);
N-2-(hydroksi)(kinolin-2-yylitiometyyli)fosfinoyylimetyyli-4-metyylipentanoyyli)-L-leusiini-*N'*-(2-metoksikarbonyylifenyyli)karboksiamidi,
^{1}H NMR (300 MHz, MeOH) δ 0,78-0,99 (m, 13H), 1,3-2,4 (m, 7H), 2,90-3,05 (m, 1H), 3,5-3,75 (m, 2H), 3,89, 3,90, 3,94 (3s, 3H yhteensä), 4,35-3,50 (m, 1H), 7,05-8,10 (m, 11H), 8,32, 8,55, 8,60 (3d, J=8,7, 1H);
N-2-(hydroksi)(kinolin-2-yylitiometyyli)fosfinoyylimetyyli-4-metyylipentanoyyli)-L-leusiini-*N'*-(4-(1,1-dimetyylietoksikarbonyylifenyyli)karboksiamidi, MS(FAB) 642 $(MH)^+$;
N-2-(hydroksi)(kinolin-2-yylitiometyyli)fosfinoyylimetyyli-4-metyylipentanoyyli)-L-leusiini-*N'*-(4-aminosulfonyylifenyyli)karboksiamidi,
^{1}H NMR (300 MHz, MeOH) δ 0,76 (d, J=6,5, 3H), 0,81 (d, J=6,5, 3H), 0,85-1,1 (m, 7H), 1,2-2,1 (m, 7H), 2,92-2,95 (m, 1H), 3,45-3,70 (m, 2H) 4,35-4,45 (m, 1H), 7,28 (d, J=8,7, 1H), 7,45 (t, J=8,7, 1H), 7,68 (t, J=8,7, 1H), 7,7-7,8 (m, 3H), 7,87 (d, J=8,7, 1H), 7,95-8,1 (m, 3H);
N-2-(hydroksi)(kinolin-2-yylitiometyyli)fosfinoyylimetyyli-4-metyylipentanoyyli)-L-leusiini-*N'*-(4-metoksikarbonyylimetyylifenyyli)karboksiamidi,
MS(FAB) 628 $(MH)^+$.

C. Samalla tavalla valmistetaan seuraavat kaavan (Ia) mukaiset yhdisteet:
N-(2-(hydroksi)(kinolin-2-yylitiometyyli)fosfinoyylimetyy-

li-5-fenyylipentanoyyli)-L-leusiini-*N'*-(4-metoksikarbonyylifenyyli)karboksiamidi;

N-(2-(hydroksi)(kinolin-2-yylitiometyyli)fosfinoyylimetyyli-4-fenyylibutanoyyli)-L-leusiini-*N'*-(4-metoksikarbonyylifenyyli)karboksiamidi;

N-(2-(hydroksi)(kinolin-2-yylitiometyyli)fosfinoyylimetyyli-3-fenyylipropanoyyli)-L-leusiini-*N'*-(4-metoksikarbonyylifenyyli)karboksiamidi;

N-(2-(hydroksi)(kinolin-2-yylitiometyyli)fosfinoyylimetyyli-3-sykloheksyylipropanoyyli)-L-leusiini-*N'*-(4-metoksikarbonyylifenyyli)karboksiamidi;

N-(2-(hydroksi)(kinolin-2-yylitiometyyli)fosfinoyylimetyyli)pentanoyyli)-L-leusiini-*N'*-(4-metoksikarbonyylifenyyli)-karboksiamidi;

N-(2-(hydroksi)(naft-1-yylitiometyyli)fosfinoyylimetyyli-5-fenyylipentanoyyli)-L-leusiini-*N'*-(4-metoksikarbonyylifenyyli)karboksiamidi;

N-(2-(hydroksi)(naft-1-yylitiometyyli)fosfinoyylimetyyli-4-fenyylibutanoyyli)-L-leusiini-*N'*-(4-metoksikarbonyylifenyyli)karboksiamidi;

N-(2-(hydroksi)(naft-1-yylitiometyyli)fosfinoyylimetyyli-3-fenyylipropanoyyli)-L-leusiini-*N'*-(4-metoksikarbonyylifenyyli)karboksiamidi;

N-(2-(hydroksi)(naft-1-yylitiometyyli)fosfinoyylimetyyli-3-sykloheksyylipropanoyyli)-L-leusiini-*N'*-(4-metoksikarbonyylifenyyli)karboksiamidi;

N-(2-(hydroksi)(naft-1-yylitiometyyli)fosfinoyylimetyyli)-pentanoyyli)-L-leusiini-*N'*-(4-metoksikarbonyylifenyyli)karboksiamidi;

N-(2-(hydroksi)(naft-2-yylitiometyyli)fosfinoyylimetyyli-5-fenyylipentanoyyli)-L-leusiini-*N'*-(4-metoksikarbonyylifenyyli)karboksiamidi;

N-(2-(hydroksi)(naft-2-yylitiometyyli)fosfinoyylimetyyli-4-fenyylibutanoyyli)-L-leusiini-*N'*-(4-metoksikarbonyylifenyyli)karboksiamidi;

N-(2-(hydroksi)(naft-2-yylitiometyyli)fosfinoyylimetyyli-3-fenyylipropanoyyli)-L-leusiini-*N'*-(4-metoksikarbonyyli-

fenyyli)karboksiamidi;
N-(2-(hydroksi)(naft-2-yylitiometyyli)fosfinoyylimetyyli-3-sykloheksyylipropanoyyli)-L-leusiini-*N'*-(4-metoksikarbonyylifenyyli)karboksiamidi;
N-(2-(hydroksi)(naft-2-yylitiometyyli)fosfinoyylimetyyli)-pentanoyyli)-L-leusiini-*N'*-(4-metoksikarbonyylifenyyli)karboksiamidi;
N-(2-(hydroksi)(fenyylitiometyyli)fosfinoyylimetyyli-5-fenyylipentanoyyli)-L-leusiini-*N'*-(4-metoksikarbonyylifenyyli)karboksiamidi;
N-(2-(hydroksi)(fenyylitiometyyli)fosfinoyylimetyyli-4-fenyylibutanoyyli)-L-leusiini-*N'*-(4-metoksikarbonyylifenyyli)karboksiamidi;
N-(2-(hydroksi)(fenyylitiometyyli)fosfinoyylimetyyli-3-fenyylipropanoyyli)-L-leusiini-*N'*-(4-metoksikarbonyylifenyyli)karboksiamidi;
N-(2-(hydroksi)(fenyylitiometyyli)fosfinoyylimetyyli-3-sykloheksyylipropanoyyli)-L-leusiini-*N'*-(4-metoksikarbonyylifenyyli)karboksiamidi, ja
N-(2-(hydroksi)(fenyylitiometyyli)fosfinoyylimetyyli)pentanoyyli)-L-leusiini-*N'*-(4-metoksikarbonyylifenyyli)karboksiamidi.

D. Liuosta, jossa oli *N*-(2-(hydroksi)(kinolin-2-yylitiometyyli)fosfinoyylimetyyli-4-metyylipentanoyyli)-L-tryptofaani-*N'*-(4-metoksikarbonyylifenyyli)karboksiamidia THF:ssä (2 mL) ja 1 M NaOH (1 mL), sekoitettiin 24 tuntia 25 °C:ssa. Orgaaniset liuottimet haihdutettiin ja jäännös liuotettiin etyyliasetaatti/H_2O:hon. Vesifaasi tehtiin happamaksi 1 M HCl:lla ja erotettu vesifaasi uutettiin kahdesti etyyliasetaatilla. Yhdistetyt orgaaniset kerrokset pestiin suolavedellä, kuivattiin ($MgSO_4$) ja konsentroitiin 27 mg:ksi *N*-(2-(hydroksi)(kinolin-2-yylitiometyyli)fosfinoyylimetyyli-4-metyylipentanoyyli)-L-tryptofaani-*N'*-(4-karboksifenyyli)karboksiamidia keltaisena pulverina.

E. Samalla tavalla, mutta lähtemällä *N*-(2-(hydroksi)-(kinolin-2-yylitiometyyli)fosfinoyylimetyyli-4-metyylipentanoyyli)-L-leusiini-*N'*-(4-metoksikarbonyylifenyyli)karbok-

siamidista (30 mg, 0,048 mmol), saatiin 10 mg *N*-(2-(hydroksi)(kinolin-2-yylitiometyyli)fosfinoyylimetyyli-4-metyylipentanoyyli)-L-leusiini-*N'*-(4-karboksifenyyli)karboksiamidia puolikiinteänä aineena etyyliasetaatin kanssa trituroinnin jälkeen;

^{1}H NMR (300 MHz, MeOH) 0,81-1,02 (m, 12H), 1,1-2,3 (m, 10H), 2,82-3,00 (m, 1H), 3,49, 3,56 (2s, 2H), 3,5-3,8 (m, 2H), 4,45-4,55 (m, 1H), 7,09 (d, J=8,2, 1H), 7,19 (d, J=8,2 1H), 7,45 (t, J=8,2, 1H) 7,45-7,6 (m, 3H), 7,65-7,80 (m, 1H), 7,82-7,98 (m, 2H), 8,10-8,20 (m, 1H).

Esimerkki 11

Kaavan (Fa) mukaiset yhdisteet

A. 4-Metyylipentaanihappoon (25 g, 0,215 mmol) 25 °C vesihauteella lisättiin hitaasti tionyylikloridia (20,4 mL, 1,3 g). Seosta kuumennettiin 50 °C:ssa argonin alaisena 3 tunnin ajan (kunnes kaasun kehittyminen oli loppunut). Raaka reaktioseos tislattiin normaalipaineessa siten, että saatiin 4-metyylipentanoyylikloridia (25,3 g, 87,3%), kp. 143 °C.

B. Samalla tavalla, mutta korvaamalla 4-metyylipentaanihappo 5-fenyylipentaanihapolla (5 g), valmistettiin 5-fenyylipentanoyylikloridia (4,4 g) värittömänä nesteenä, kp. 91-93 °C.

Esimerkki 12

Kaavan (Fb) mukaiset yhdisteet

A. Suspensioon, jossa oli 60% NaH (836 mg, 1,5 ekv.) tolueenissa (200 mL) huoneenlämmössä argonin alaisena, lisättiin L-(+)-2,10-kamferisultaamia (3,0 g, 3,9 mmol) annoksittain. Seosta sekoitettiin voimakkaasti huoneenlämmössä tunnin ajan. Siten lisättiin 4-metyylipentanoyylikloridia varovasti tipoittain liuokseen 0 °C:ssa. Kun reaktiota oli sekoitettu huoneenlämmössä 3 tuntia, reaktio pysäytettiin 10 mL:lla vettä, ja 70 mL eetteriä lisättiin. Reaktioseos pestiin ensin 0,5 N HCl:lla (2x50 mL), sitten 5% K_2CO_3:lla (3x50 mL) ja lopuksi suolavedellä (1x50 ml).

Orgaaninen kerros kuivattiin $MgSO_4$:n päällä, suodatettiin ja haihdutettiin kuiviin. Puhdistus pylväskromatografialla (1:6 etyyliasetaatti/petroolieetteri eluenttina) tuotti *N*-4-metyylipentanoyyli-L-(+)-2,10-kamferisultaamia (3,39 g, 78%).

B. Samalla tavalla, mutta korvaamalla 4-metyylipentanoyylikloridi tarkoituksenmukaisella kloridilla, valmistettiin seuraavat kaavan (Fb) mukaiset yhdisteet:

N-3-fenyylipropanoyyli-L-(+)-2,10-kamferisultaami, MS: 347 (M^+);

N-5-fenyylipentanoyyli-L-(+)-2,10-kamferisultaami, MS: 375 (M^+);

N-pentanoyyli-L-(+)-2,10-kamferisultaami, MS: 300 $(M+H)^+$.

Esimerkki 13

Kaavan (Fc) mukaiset yhdisteet

A. *N*-4-metyylipentanoyyli-L-(+)-2,10-kamferisultaamin (3,39 g, 10,8 mmol) liuokseen 75 mL:ssa kuivaa THF -78 °C:ssa argonin alaisena lisättiin $NaN(TMS)_2$ (1,0 M THF:ssä, 11,34 mL, 1,05 ekv.) tipoittain viiden minuutin aikana. Kun oli sekoitettu -78 °C:ssa 1 tunnin ajan, seokseen lisättiin heksametyylifosforiamidia (5 mL), seuraavaksi *t*-butyylibromiasetaattia (5,2 mL, 3 ekv.), sitten 400 mg tetra-*n*-butyyliammoniumjodidia yhtenä annoksena. Tuloksena olevaa liuosta pidettiin -78 °C:ssa argonin alaisena yli yön. Seuraavana aamuna reaktio pysäytettiin vedellä (100 mL) ja uutettiin sitten eetterillä (3x100 mL). Yhdistetyt eetterikerrokset pestiin suolavedellä, kuivattiin Na_2SO_4:n päällä, suodatettiin ja konsentroitiin. Puhdistus pylväskromatografialla (5:95 etyyliasetaatti/petroolieetteri eluenttina) tuotti *N*-(4-metyyli-2-*t*-butoksikarbonyylimetyyli)pentanoyyli-L-(+)-2,10-kamferisultaamia (4 g, 86,5%).

B. Samalla tavalla, mutta korvaamalla *N*-4-metyylipentanoyyli-L-(+)-2,10-kamferisultaami tarkoituksenmukaisella kaavan (Fb) mukaisella yhdisteellä, valmistettiin seuraavat kaavan (Fc) mukaiset yhdisteet:

N-(3-fenyyli-2-*t*-butoksikarbonyylimetyyli)propanoyyli-L-

(+)-2,10-kamferisultaami, MS: 461 (M^+);
N-(5-fenyyli-2-*t*-butoksikarbonyylimetyyli)pentanoyyli-L-(+)-2,10-kamferisultaami, MS: 490,1 $(M+H)^+$;
N-(2-*t*-butoksikarbonyylimetyyli)pentanoyyli-L-(+)-2,10-kamferisultaami, MS: 414 $(M+H)^+$.

Esimerkki 14

Kaavan (F) mukaiset yhdisteet

A. *N*-(4-metyyli-2-*t*-butoksikarbonyylimetyyli)pentanoyyli-L-(+)-2,10-kamferisultaamin (5,45 g, 12,7 mmol) sekoitettavaan 50% THF:n vesiliuokseen (150 mL) 0 °C:ssa argonin alaisena lisättiin $LiOH.H_2O$-kiteitä (2,14 g, 4 ekv.) ja seuraavaksi 30% H_2O_2 (11,5 mL). Jäähaude poistettiin ja tuloksena olevaa emulsiota sekoitettiin 3 tuntia ennen kuin se muuttui kirkkaaksi. Suurin osa THF:stä poistettiin alennetussa paineessa 35 °C:ssa. Lisättiin CH_2Cl_2 (150 mL), sitten sekoittaen 4 N HCl pH-arvoon 2. NaCl:n lisäämisen jälkeen vesikerros uutettiin CH_2Cl_2:lla (3x150 mL). CH_2Cl_2 poistettiin alennetussa paineessa 35 °C:ssa. Jäännös otettiin etyyliasetaattiin (150 mL). Tämä liuos uutettiin sitten 5% K_2CO_3:lla (3x50 mL) ja yhdistetyt uutokset pestiin eetterillä (50 mL). Lisättiin CH_2Cl_2 vesikerrokseen ja sitten NaCl sekoittaen. Vesikerros uutettiin CH_2Cl_2:lla (3x70 mL) ja yhdistetyt uutokset kuivattiin Na_2SO_4:n päällä, suodatettiin ja konsentroitiin siten, että saatiin (2*R*)-4-metyyli-2-*t*-butoksikarbonyylimetyylipentaanihappoa värittömänä öljynä (2,95 g, kvantitatiivinen saanto).

B. Samalla tavalla, mutta korvaamalla *N*-(4-metyyli-2-*t*-butoksikarbonyylimetyyli)pentanoyyli-L-(+)-2,10-kamferisultaami tarkoituksenmukaisella kaavan (Fc) mukaisella yhdisteellä, valmistetaan seuraavat kaavan (F) mukaiset yhdisteet:
(2*R*)-3-fenyyli-2-*t*-butoksikarbonyylimetyylipropaanihappo, MS: 265 $(M+H)^+$;
(2*R*)-5-fenyyli-2-*t*-butoksikarbonyylimetyylipentaanihappo, MS: 293,1 $(M+H)^+$;

(2*R*)-2-*t*-butoksikarbonyylimetyylipentaanihappo, (väritön öljy, 1,09 g).

C. (2*R*)-3-Fenyyli-2-*t*-butoksikarbonyylimetyylipropaanihappoa (55 mg) otettiin jääetikkaan (20 mL) ja PtO_2 (25 mg) lisättiin etikkahapossa. Dekantterilasi pantiin Parrin pommiin, joka tyhjennettiin ja täytettiin 100 psi:llä H_2. Seos imusuodatettiin 3 päivän sekoittamisen jälkeen 1 cm:n celiittikerroksen läpi. Suodos konsentroitiin sitten keltaiseksi öljyksi, (2*R*)-3-sykloheksyyli-2-*t*-butoksikarbonyylimetyylipropaanihapoksi (56 mg), MS: 269,5 $(M-H)^-$.

Esimerkki 15

Kaavan (Ib) mukaiset yhdisteet

A. Liuokseen, jossa oli 4-metyyli-2-*t*-butoksikarbonyylimetyylipentaanihappoa (0,28 g, 1,2 mmol) DMF:ssä (5 mL) ja joka sisälsi HOBT (0,22 g, 1,8 mmol), lisättiin EDCI:tä (0,31 g, 1,8 mmol). Seosta sekoitettiin 0 °C:ssa 1 tunnin ajan ja sitten se käsiteltiin L-sykloheksyyliglysiini-*N'*-(4-metoksikarbonyylifenyyli)karboksiamidilla (1,2 mmol) ja DMAP:lla (27 mg, 0,24 mmol). Sekoitusta jatkettiin 24 tuntia 25 °C:ssa ja sitten DMF haihdutettiin. Jäännös liuotettiin CH_2Cl_2:een (20 mL) ja liuos pestiin 1 M HCl:lla (10 mL), kyllästetyllä $NaHCO_3$:lla (10 mL), suolavedellä (10 mL) ja kuivattiin Na_2SO_4:n päällä. Konsentrointi vakuumissa tuotti öljyn, joka puhdistettiin flash-kromatografialla SiO_2:lla 20% etyyliasetaatti/hekseeniä eluenttina käyttäen. Saatiin 0,22 g (22%) *N*-(4-metyyli-2-*t*-butoksikarbonyylimetyylipentanoyyli)-L-sykloheksyyliglysiini-*N'*-(4-metoksikarbonyylifenyyli)karboksiamidia kiinteänä aineena, MS(FAB) 503 $(MH)^+$.

B. Samalla tavalla valmistettiin seuraavat yhdisteet:
N-(4-metyyli-2-*t*-butoksikarbonyylimetyylipentanoyyli)-L-pyridin-3-yylialaniini-*N'*-(4-metoksikarbonyylifenyyli)karboksiamidi;
N-(4-metyyli-2-*t*-butoksikarbonyylimetyylipentanoyyli)-L-*O*-bentsyylitreoniini-*N'*-(4-metoksikarbonyylifenyyli)karboksiamidi;

N-(4-metyyli-2-*t*-butoksikarbonyylimetyylipentanoyyli)-L-isoleusiini-*N'*-(4-metoksikarbonyylifenyyli)karboksiamidi;
N-(4-metyyli-2-*t*-butoksikarbonyylimetyylipentanoyyli)-L-leusiini-*N'*-(4-metoksikarbonyylifenyyli)karboksiamidi;
N-(4-metyyli-2-*t*-butoksikarbonyylimetyylipentanoyyli)-L-*t*-leusiini-*N'*-(4-metoksikarbonyylifenyyli)karboksiamidi;
N-(4-metyyli-2-*t*-butoksikarbonyylimetyylipentanoyyli)-L-leusiini-*N'*-(4-syanofenyyli)karboksiamidi;
N-(4-metyyli-2-*t*-butoksikarbonyylimetyylipentanoyyli)-L-leusiini-*N'*-(4-(*N''*-(3-dimetyyliaminopropyyli)karbamoyyli)fenyyli)karboksiamidi;
N-(4-metyyli-2-*t*-butoksikarbonyylimetyylipentanoyyli)-L-leusiini-*N'*-(4-(*N''*-(2-dimetyyliaminoetyyli)karbamoyyli)-fenyyli)karboksiamidi;
N-(4-metyyli-2-*t*-butoksikarbonyylimetyylipentanoyyli)-L-leusiini-*N'*-(4-aminosulfonyylifenyyli)karboksiamidi;
N-(4-metyyli-2-*t*-butoksikarbonyylimetyylipentanoyyli)-L-leusiini-*N'*-(4-metyyliaminosulfonyylifenyyli)karboksiamidi;
N-(2-*t*-butoksikarbonyylimetyylipentanoyyli)-L-leusiini-*N'*-(4-metoksikarbonyylifenyyli)karboksiamidi;
N-(3-fenyyli-2-*t*-butoksikarbonyylimetyylipropanoyyli)-L-leusiini-*N'*-(4-metoksikarbonyylifenyyli)karboksiamidi;
N-(3-sykloheksyyli-2-*t*-butoksikarbonyylimetyylipropanoyyli)-L-leusiini-*N'*-(4-metoksikarbonyylifenyyli)karboksiamidi;
N-(4-fenyyli-2-*t*-butoksikarbonyylimetyylibutanoyyli)-L-leusiini-*N'*-(4-metoksikarbonyylifenyyli)karboksiamidi; ja
N-(5-fenyyli-2-*t*-butoksikarbonyylimetyylipentanoyyli)-L-leusiini-*N'*-(4-metoksikarbonyylifenyyli)karboksiamidi;

Esimerkki 16

Kaavan (Ic) mukaiset yhdisteet

A. Kylmään (0 °C) *N*-(4-metyyli-2-*t*-butoksikarbonyylimetyylipentanoyyli)-L-sykloheksyyliglysiini-*N'*-(4-metoksikarbonyylifenyyli)karboksiamidin (70 mg, 0,14 mmol) liuokseen CH_2Cl_2:ssa lisättiin TFA (0,5 mL). Kun oli sekoitettu 5

tuntia 25 °C:ssa, liuos konsentroitiin vakuumissa ja tuote puhdistettiin käänteisfaasi-HPLC:llä käyttäen asetonitriilin ja 50 mM NH_4OAc-puskurin gradienttia siten, että saatiin 44 mg (71%) *N*-(4-metyyli-2-karboksimetyylipentanoyyli)-L-sykloheksyyliglysiini-*N'*-(4-metoksikarbonyylifenyyli)karboksiamidia valkoisena kiinteänä aineena, MS(FAB) 445 $(M-H)^-$.

B. Samalla tavalla valmistettiin seuraavat yhdisteet:

N-(4-metyyli-2-karboksimetyylipentanoyyli)-L-isoleusiini-*N'*-(4-metoksikarbonyylifenyyli)karboksiamidi, MS(FAB) 419 $(M-H)^-$;

N-(4-metyyli-2-karboksimetyylipentanoyyli)-L-leusiini-*N'*-(4-metoksikarbonyylifenyyli)karboksiamidi, MS(FAB) 419 $(M-H)^-$;

N-(4-metyyli-2-karboksimetyylipentanoyyli)-L-*t*-leusiini-*N'*-(4-metoksikarbonyylifenyyli)karboksiamidi;

N-(4-metyyli-2-karboksimetyylipentanoyyli)-L-leusiini-*N'*-(4-syanofenyyli)karboksiamidi,
^1H NMR (300 MHz, MeOH) δ 0,84-0,99 (m, 12H), 1,15-1,82 (m, 6H), 2,36-2,41 (m, 1H), 2,52-2,65 (m, 1H), 2,8-2,95 (m, 1H), 4,49-4,54 (m, 1H), 7,4-7,9 (m, 4H);

N-(4-metyyli-2-karboksimetyylipentanoyyli)-L-leusiini-*N'*-(4-aminosulfonyylifenyyli)karboksiamidi, ^1H NMR (300 MHz, MeOH) δ 0,85-1,00 (m, 12H), 1,1-1,3 (m, 2H), 1,52-1,85 (m, 4H), 2,31-2,95 (m, 3H), 4,49-4,55 (m, 1H), 7,75-7,91 (m, 4H);

N-(4-metyyli-2-karboksimetyylipentanoyyli)-L-leusiini-*N'*-(4-metyyliaminosulfonyylifenyyli)karboksiamidi, MS(FAB) 459 $(M-H)^-$;

N-(2-karboksimetyylipentanoyyli)-L-leusiini-*N'*-(4-metoksikarbonyylifenyyli)karboksiamidi, MS(FAB) 405 $(M-H)^-$;

N-(3-fenyyli-2-karboksimetyylipropanoyyli)-L-leusiini-*N'*-(4-metoksikarbonyylifenyyli)karboksiamidi, MS(FAB) 455 $(M+H)^+$;

N-(3-sykloheksyyli-2-karboksimetyylipropanoyyli)-L-leusiini-*N'*-(4-metoksikarbonyylifenyyli)karboksiamidi, MS(FAB) 459 $(M-H)^-$;

N-(4-fenyyli-2-karboksimetyylibutanoyyli)-L-leusiini-*N'*-(4-metoksikarbonyylifenyyli)karboksiamidi, MS(FAB) 467 $(M-H)^-$;
N-(4-fenyyli-2-karboksimetyylibutanoyyli)-L-sykloheksyyliglysiini-*N'*-(4-metoksikarbonyylifenyyli)karboksiamidi;
N-(4-fenyyli-2-karboksimetyylibutanoyyli)-L-*t*-leusiini-*N'*-(4-metoksikarbonyylifenyyli)karboksiamidi;
N-(5-fenyyli-2-karboksimetyylipentanoyyli)-L-leusiini-*N'*-(4-metoksikarbonyylifenyyli)karboksiamidi, MS(FAB) 481 $(M-H)^-$; ja
N-(4-metyyli-2-karboksimetyylipentanoyyli)-L-*O*-bentsyylitreoniini-*N'*-(4-metoksikarbonyylifenyyli)karboksiamidi, MS(FAB) 497 $(M-H)^-$.

C. Samalla tavalla, mutta trituroimalla raakatuote eetterin kanssa ja sitten dekantoimalla eetteri seuraavien yhdisteiden saamiseksi TFA-suoloina:
N-(4-metyyli-2-karboksimetyylipentanoyyli)-L-pyridin-3-yylialaniini-*N'*-(4-metoksikarbonyylifenyyli)karboksiamidi, MS(FAB) 456 $(M+H)^+$;
N-(4-metyyli-2-karboksimetyylipentanoyyli)-L-leusiini-*N'*-(4-(*N''*-(3-dimetyyliaminopropyyli)karbamoyyli)fenyyli)karboksiamidi, MS(FAB) 491 $(M+H)^+$; ja
N-(4-metyyli-2-karboksimetyylipentanoyyli)-L-leusiini-*N'*-(4-(*N''*-(2-dimetyyliaminoetyyli)karbamoyyli)fenyyli)karboksiamidi, MS(FAB) 491 $(M+H)^+$.

D. *N*-(4-metyyli-2-karboksimetyylipentanoyyli)-L-*O*-bentsyylitreoniini-*N'*-(4-metoksikarbonyylifenyyli)karboksiamidin (60 mg) ja Pd/C:n seosta etyyliasetaatti/THF:ssä (1:1, 25 mL) vedytettiin yli yön 1 atm:n paineessa. Suodattaminen Celiten läpi, suodoksen konsentrointi ja jäännöksen trituroinnin eetteri/heksaanin kanssa tuotti *N*-(4-metyyli-2-*t*-butoksikarbonyylimetyylipentanoyyli)-L-treoniini-*N'*-(4-metoksikarbonyylifenyyli)karboksiamidia, MS(FAB) 407 $(M-H)^-$.

Esimerkki 17

Kaavan (Id) mukaiset yhdisteet

A. Liuos, jossa oli *N*-(4-metyyli-2-karboksimetyyli-

pentanoyyli)-L-leusiini-*N'*-(4-metoksikarbonyylifenyyli)karboksiamidia (0,28 g, 0,66 mmol) ja HOBT:a (0,12 g) kuivassa DMF:ssä (20 mL) jäähdytettiin 0 °C:seen ja käsiteltiin EDCI:llä (0,32 g). Kun oli sekoitettu 0,5 tuntia 0 °C:ssa, *O*-bentsyylihydroksyyliamiinia (0,30 mL) lisättiin ja reaktion annettiin lämmetä 25 °C:seen yli yön. DMF poistettiin vakuumissa ja jäännös otettiin CH_2Cl_2:een ja pestiin 5% HCl/5% $NaHCO_3$:lla ja suolavedellä, ja liuos kuivattiin Na_2SO_4:n päällä. Konsentroinnin jälkeen tuote puhdistettiin flash-kromatografialla (SiO_2, R_f=0,6, 10% MeOH/CH_2Cl_2). Tuotetta sisältävät fraktiot puhdistettiin edelleen trituroimalla CH_2Cl_2:n kanssa siten, että saatiin *N*-(4-metyyli-2-(*N''*-bentsyylioksikarbamoyyli)metyylipentanoyyli)-L-leusiini-*N'*-(4-metoksikarbonyylifenyyli)karboksiamidia kiinteänä aineena, sp. 198-199 °C.

B. Samalla tavalla valmistettiin seuraavat yhdisteet: *N'*-(2-(*N''*-bentsyylioksikarbamoyyli)metyylipentanoyyli)-L-leusiini-*N'*-(4-metoksikarbonyylifenyyli)karboksiamidi; *N*-(4-fenyyli-2-(*N''*-bentsyylioksikarbamoyyli)metyylibutanoyyli)-L-leusiini-*N'*-(4-metoksikarbonyylifenyyli)karboksiamidi; ja *N*-(4-metyyli-2-(*N''*-bentsyylioksikarbamoyyli)metyylipentanoyyli)-L-tryptofaani-*N'*-(4-metoksikarbonyylifenyyli)karboksiamidi.

C. *N*-(4-metyyli-2-(*N''*-bentsyylioksikarbamoyyli)metyylipentanoyyli)-L-leusiini-*N'*-(4-metoksikarbonyylifenyyli)karboksiamidia (210 mg) hydrolysoitiin 1 M NaOH:lla (1,4 mL) 50-60 °C:ssa 2 tuntia THF:ssä (20 mL) ja MeOH:ssa (5 mL). Orgaaniset liuottimet haihdutettiin ja jäännös otettiin 10 mL:aan H_2O ja pestiin eetterillä (2x10 mL). Vesifaasi tehtiin happamaksi 10% HCl:llä pH-arvoon 2 ja uutettiin etyyliasetaatilla (3x10 mL). Yhdistetyt uutokset pestiin suolavedellä, kuivattiin Na_2SO_4:n päällä, ja konsentroitiin siten, että saatiin *N*-(4-metyyli-2-(*N''*-bentsyylioksikarbamoyyli)metyylipentanoyyli)-L-leusiini-*N'*-(4-karboksifenyyli)karboksiamidia (110 mg).

Esimerkki 18

Kaavan (Ie) mukaiset yhdisteet

A. Liuokseen, jossa oli *N*-(4-fenyyli-2-(*N''*-bentsyylioksikarbamoyyli)metyylibutanoyyli)-L-leusiini-*N'*-(4-metoksikarbonyylifenyyli)karboksiamidia (25 mg) 20 mL:ssa MeOH ja 10 mL:ssa THF, lisättiin 10% Pd/C:tä (20 mg). Suspensiota vedytettiin 1 tunti ja sitten se imusuodatettiin Celiten läpi. Konsentrointi antoi tuotteen, joka puhdistettiin piihappogeelillä (2,5% MeOH/CH_2Cl_2) siten, että saatiin 8 mg *N*-(4-fenyyli-2-(*N''*-hydroksikarbamoyyli)metyylibutanoyyli)-L-leusiini-*N'*-(4-metoksikarbonyylifenyyli)karboksiamidia, MS(FAB) 482 $(M-H)^-$.

B. Samalla tavalla valmistettiin seuraavat yhdisteet:
N-(4-metyyli-2-(*N''*-hydroksikarbamoyyli)metyylipentanoyyli)-L-leusiini-*N'*-(4-karboksifenyyli)karboksiamidi;
N-(4-metyyli-2-(*N''*-hydroksikarbamoyyli)metyylipentanoyyli)-L-leusiini-*N'*-(4-metoksikarbonyylifenyyli)karboksiamidi, MS(FAB) 436 $(M+H)^+$; **Yhdiste 2**
N-(2-(*N''*-hydroksikarbamoyyli)metyylipentanoyyli)-L-leusiini-*N'*-(4-metoksikarbonyylifenyyli)karboksiamidi, MS(FAB) 420 $(M-H)^-$;
N-(4-fenyyli-2-(*N''*-hydroksikarbamoyyli)metyylibutanoyyli)-L-*t*-leusiini-*N'*-(4-metoksikarbonyylifenyyli)karboksiamidi;
N-(4-fenyyli-2-(*N''*-hydroksikarbamoyyli)metyylibutanoyyli)-L-sykloheksyyliglysiini-*N'*-(4-metoksikarbonyylifenyyli)karboksiamidi;
N-(4-fenyyli-2-(*N''*-hydroksikarbamoyyli)metyylibutanoyyli)-L-leusiini-*N'*-(4-metoksikarbonyylifenyyli)karboksiamidi;
N-(4-metyyli-2-(*N''*-hydroksikarbamoyyli)metyylipentanoyyli)-L-*t*-leusiini-*N'*-(4-metoksikarbonyylifenyyli)karboksiamidi;
N-(4-metyyli-2-(*N''*-hydroksikarbamoyyli)metyylipentanoyyli)-L-tryptofaani-*N'*-(4-metoksikarbonyylifenyyli)karboksiamidi, MS(FAB) 507 $(M-H)^-$; **Yhdiste 3 (2R); Yhdiste 4 (2S);** ja

N-(4-fenyyli-2-(*N''*-hydroksikarbamoyyli)metyylibutanoyyli)-L-leusiini-*N'*-(4-metoksikarbonyylifenyyli)karboksiamidi.

C. Samalla tavalla valmistetaan seuraavat yhdisteet:
N-(3-fenyyli-2-(*N''*-hydroksikarbamoyyli)metyylipropanoyyli)-L-leusiini-*N'*-(4-metoksikarbonyylifenyyli)karboksiamidi;
N-(5-fenyyli-2-(*N''*-hydroksikarbamoyyli)metyylipentanoyyli)-L-leusiini-*N'*-(4-metoksikarbonyylifenyyli)karboksiamidi; ja
N-(3-sykloheksyyli-2-(*N''*-hydroksikarbamoyyli)metyylipropanoyyli)-L-leusiini-*N'*-(4-metoksikarbonyylifenyyli)karboksiamidi.

Esimerkki 19

Kaavan (Gb) mukaiset yhdisteet

A. Dietyyli-isobutyylimalonaatin (21,6 g, 0,1 mol) kylmään (0 °C) liuokseen 150 mL:ssa etanolia lisättiin KOH-liuos (5,89 g, 0,1 mol) hitaasti 30 minuutin aikana. Kirkasta liuosta sekoitettiin 25 °C:ssa 60 tuntia.Etanoli poistettiin alennetussa paineessa ja kiinteä jäännös liuotettiin 50 mL:aan H_2O. Vesiliuos tehtiin happamaksi 4 M HCl:lla pH-arvoon 2 ja uutettiin eetterillä (2x50 mL). Yhdistetyt uutokset kuivattiin $MgSO_4$:n päällä ja haihdutettiin siten, että saatiin 19,0 g etyyli-isobutyylimalonaattia värittömänä öljynä.

B. Samalla tavalla valmistetaan seuraavat kaavan (Gb) mukaiset yhdisteet:
etyyli-*tert*-butyylimalonaatti;
etyylipropyylimalonaatti;
etyylibentsyylimalonaatti; ja
etyylisykloheksyylimetyylimalonaatti.

Esimerkki 20

Kaavojen (Gc) ja (Gd) mukaiset yhdisteet

A. Puhtaaseen etyyli-isobutyylimalonaattiin (25 g, 0,13 mol) 0 °C:ssa lisättiin hitaasti jääkylmää dietyy-

liamiinia (15,1 mL, 0,15 mol). Kun oli sekoitettu 15 minuuttia, lisättiin formaliinia (11,1 mL formaldehydin 37% vesiliuosta) tipoittain ja seoksen annettiin sekoittua 25 °C:ssa 3 päivää. Reaktio käsiteltiin liuoksella, jossa oli 20 g K_2CO_3 40 mL:ssa H_2O ja uutettiin eetterillä (2x100 mL). Yhdistetyt eetterikerrokset pestiin suolavedellä, kuivattiin $MgSO_4$:n päällä, ja haihdutettiin 20 °C:ssa pyöröhaihduttimella. Raakatuote, 4-metyyli-2-metyleenipentanoaatti (hiukan eetteriä sisältävä) liuotettiin 250 mL:aan absoluuttista etanolia ja käsiteltiin asetonitriilillä (250 mL), ja 1 M LiOH:lla (9,7 g 250 mL:ssa H_2O, 0,23 mol). Yön yli sekoittamisen jälkeen orgaaniset liuottimet haihdutettiin ja jäännösvesiliuos uutettiin etyyliasetaatilla (2x150 mL). Yhdistetyt uutokset pestiin suolavedellä, kuivattiin ($MgSO_4$), ja haihdutettiin siten, että saatiin 10,5 g 4-metyyli-2-metyleenipentaanihappoa värittömänä öljynä.

B. Samalla tavalla valmistetaan seuraavat kaavan (Gd) mukaiset yhdisteet:

4-fenyyli-2-metyleenibutaanihappo;

3-sykloheksyyli-2-metyleenipropaanihappo;

5-fenyyli-2-metyleenipentaanihappo;

2-metyleenipentaanihappo; ja

3,3-dimetyyli-2-metyleenibutaanihappo.

Esimerkki 21

Kaavan (G) mukaiset yhdisteet

A. 4-Metyyli-2-metyleenipentaanihapon (5,0 g) ja tioetikkahapon (25 mL) seosta kuumennettiin 95 °C:ssa argonin alaisena 3 päivää. Ylimäärä tioetikkahappoa haihdutettiin ja jäännösöljy liuotettiin etyyliasetaattiin (40 mL) ja uutettiin kyllästetyllä $NaHCO_3$:lla (3x40 mL). Yhdistetyt $NaHCO_3$-uutokset tehtiin happamaksi 0 °C:ssa 1 M HCl:lla pH-arvoon 2. Vesikerros uutettiin CH_2Cl_2:lla (3x40 mL), yhdistetyt orgaaniset faasit kuivattiin ($MgSO_4$), ja lopuksi haihdutettiin siten, että saatiin 3,0 g 4-metyyli-2-asetyylitiometyylipentaanihappoa; ^1H NMR (80 MHz, $CDCl_3$) δ 0,95 (d, J=8,0, 6H), 1,20-1,90 (m, 4H), 2,35 (s, 3H), 2,50-3,20

(m, 3H), 6,7 (leveä s, 1H).

Esimerkki 22

Kaavan (If) mukaiset yhdisteet

A. 4-Metyyli-2-asetyylitiometyylipentaanihapon (204 mg, 1,0 mmol) HOBT:tä (92 mg, 0,6 mmol) ja L-leusiini-*N'*-(4-metoksikarbonyylifenyyli)karboksiamidia (0,6 mmol) kuivassa DMF:ssä (15 mL) sisältävään liuokseen lisättiin EDCI:tä (345 mg, 1,8 mmol). Liuosta sekoitettiin yli yön 25 °C:ssa ja sitten DMF poistettiin vakuumissa. Jäännös liuotettiin etyyliasetaattiin (35 mL) ja pestiin 1 M HCl:lla, 1 M NaOH:lla, ja suolavedellä. Kuivaus $MgSO_4$:n päällä ja haihdutus tuottivat puolikiinteän aineen, joka erotettiin flash-kromatografialla piihappogeelillä (etyyliasetaatti 1:petroolieetteri 2) siten, että saatiin *N*-(4-metyyli-2-asetyylitiometyylipentanoyyli)-L-leusiini-*N'*-(4-metoksikarbonyylifenyyli)karboksiamidia (190 mg) valkoisena kiinteänä aineena.

B. Samalla tavalla valmistetaan seuraavat kaavan (If) mukaiset yhdisteet:

N-(5-fenyyli-2-asetyylitiometyylipentanoyyli)-L-leusiini-*N'*-(4-metoksikarbonyylifenyyli)karboksiamidi;

N-(4-fenyyli-2-asetyylitiometyylibutanoyyli)-L-leusiini-*N'*-(4-metoksikarbonyylifenyyli)karboksiamidi;

N-(3-fenyyli-2-asetyylitiometyylipropanoyyli)-L-leusiini-*N'*-(4-metoksikarbonyylifenyyli)karboksiamidi;

N-(3-sykloheksyyli-2-asetyylitiometyylipropanoyyli)-L-leusiini-*N'*-(4-metoksikarbonyylifenyyli)karboksiamidi;

N-(2-asetyylitiometyylipentanoyyli)-L-leusiini-*N'*-(4-metoksikarbonyylifenyyli)karboksiamidi;

N-(5-fenyyli-2-asetyylitiometyylipentanoyyli)-L-leusiini-*N'*-(4-aminokarbonyylifenyyli)karboksiamidi;

N-(4-fenyyli-2-asetyylitiometyylibutanoyyli)-L-leusiini-*N'*-(4-karbonyylifenyyli)karboksiamidi;

N-(3-fenyyli-2-asetyylitiometyylipropanoyyli)-L-leusiini-*N'*-(4-metyylisulfonyylifenyyli)karboksiamidi;

N-(3-sykloheksyyli-2-asetyylitiometyylipropanoyyli)-L-leu-

siini-*N'*-(4-karbamoyylifenyyli)karboksiamidi;
N-(2-asetyylitiometyylipentanoyyli)-L-leusiini-*N'*-(4-syanofenyyli)karboksiamidi;
N-(5-fenyyli-2-asetyylitiometyylipentanoyyli)-L-tryptofaani-*N'*-(4-metoksikarbonyylifenyyli)karboksiamidi;
N-(4-fenyyli-2-asetyylitiometyylibutanoyyli)-L-tryptofaani-*N'*-(4-metoksikarbonyylifenyyli)karboksiamidi;
N-(3-fenyyli-2-asetyylitiometyylipropanoyyli)-L-tryptofaani-*N'*-(4-metoksikarbonyylifenyyli)karboksiamidi;
N-(3-sykloheksyyli-2-asetyylitiometyylipropanoyyli)-L-tryptofaani-*N'*-(4-metoksikarbonyylifenyyli)karboksiamidi; ja
N-(2-asetyylitiometyylipentanoyyli)-L-tryptofaani-*N'*-(4-metoksikarbonyylifenyyli)karboksiamidi.

Esimerkki 23

Kaavan (Ig) mukaiset yhdisteet

A. *N*-(4-metyyli-2-asetyylitiometyylipentanoyyli)-L-leusiini-*N'*-(4-metoksikarbonyylifenyyli)karboksiamidin (85 mg, 0,19 mmol) liuokseen MeOH:ssa (8 mL) 0 °C:ssa lisättiin väkevää NH_4OH (0,4 mL). Kun oli sekoitettu 0 °C:ssa 5 tuntia, metanoli haihdutettiin ja eetteriä (30 mL) lisättiin. Eetteriliuos pestiin 0,5 M HCl:lla, suolavedellä, ja kuivattiin $MgSO_4$:n päällä. Konsentrointi tuotti *N*-(4-metyyli-2-merkaptometyylipentanoyyli)-L-leusiini-*N'*-(4-metoksikarbonyylifenyyli)karboksiamidia kvantitatiivisella saannolla valkoisena vaahtona, MS(FAB) 407 $(M-H)^-$.

B. Samalla tavalla valmistetaan seuraavat kaavan (Ig) mukaiset yhdisteet:
N-(5-fenyyli-2-merkaptometyylipentanoyyli)-L-leusiini-*N'*-(4-metoksikarbonyylifenyyli)karboksiamidi;
N-(4-fenyyli-2-merkaptometyylibutanoyyli)-L-leusiini-*N'*-(4-metoksikarbonyylifenyyli)karboksiamidi;
N-(3-fenyyli-2-merkaptometyylipropanoyyli)-L-leusiini-*N'*-(4-metoksikarbonyylifenyyli)karboksiamidi;
N-(3-sykloheksyyli-2-merkaptometyylipropanoyyli)-L-leusiini-*N'*-(4-metoksikarbonyylifenyyli)karboksiamidi;
N-(2-merkaptometyylipentanoyyli)-L-leusiini-*N'*-(4-metoksi-

karbonyylifenyyli)karboksiamidi;
N-(5-fenyyli-2-merkaptometyylipentanoyyli)-L-leusiini-*N'*-(4-aminokarbonyylifenyyli)karboksiamidi;
N-(4-fenyyli-2-merkaptometyylibutanoyyli)-L-leusiini-*N'*-(4-karboksifenyyli)karboksiamidi;
N-(3-fenyyli-2-merkaptometyylipropanoyyli)-L-leusiini-*N'*-(4-metyylisulfonyylifenyyli)karboksiamidi;
N-(3-sykloheksyyli-2-merkaptometyylipropanoyyli)-L-leusiini-*N'*-(4-karbamoyylifenyyli)karboksiamidi;
N-(2-merkaptometyylipentanoyyli)-L-leusiini-*N'*-(4-syanofenyyli)karboksiamidi;
N-(5-fenyyli-2-merkaptometyylipentanoyyli)-L-tryptofaani-*N'*-(4-metoksikarbonyylifenyyli)karboksiamidi;
N-(4-fenyyli-2-merkaptometyylibutanoyyli)-L-tryptofaani-*N'*-(4-metoksikarbonyylifenyyli)karboksiamidi;
N-(3-fenyyli-2-merkaptometyylipropanoyyli)-L-tryptofaani-*N'*-(4-metoksikarbonyylifenyyli)karboksiamidi;
N-(3-sykloheksyyli-2-merkaptometyylipropanoyyli)-L-tryptofaani-*N'*-(4-metoksikarbonyylifenyyli)karboksiamidi; ja
N-(2-merkaptometyylipentanoyyli)-L-tryptofaani-*N'*-(4-metoksikarbonyylifenyyli)karboksiamidi.

Esimerkki 24

Tämä esimerkki valaisee edustavien oraaliseen antamiseen tarkoitettujen, kaavan (I) mukaista yhdistettä tai sen farmaseuttisesti hyväksyttävää suolaa, esimerkiksi *N*-(4-metyyli-2-(*N''*-hydroksikarbamoyyli)metyylipentanoyyli)-L-leusiini-*N'*-(4-metoksikarbonyylifenyyli)karboksiamidia, sisältävien farmaseuttisten koostumusten valmistamista:

A.	Ainesosat	% paino/paino
	Kaavan (I) mukainen yhdiste	20,0%
	Laktoosi	79,5%
	Magnesiumstearaatti	0,5%

Yllämainitut ainesosat sekoitetaan ja jaetaan kovakuorisiin, kukin 100 mg sisältäviin gelatiinikapseleihin, yksi kapseli vastaisi suunnilleen päivittäistä kokonaisannosta.

B.	Ainesosat	% paino/paino
	Kaavan (I) mukainen yhdiste	20,0%
	Magnesiumstearaatti	0,9%
	Tärkkelys	8,6%
	Laktoosi	69,6%
	PVP (polyvinyylipyrrolidoni)	0,9%

Yllämainitut ainesosat magnesiumstearaattia lukuunottamatta yhdistetään ja granuloidaan käyttäen vettä granulointinesteenä. Sitten valmiste kuivataan, sekoitetaan magnesiumstearaatin kanssa ja muotoillaan tableteiksi tarkoituksenmukaisella tabletinvalmistuskoneella.

C.	Ainesosat	
	Kaavan (I) mukainen yhdiste	0,1 g
	Propyleeniglykoli	20,0 g
	Polyetyleeniglykoli 400	20,0 g
	Polysorbaatti 80	1,0 g
	Vesi	q.s. 100 mL

Kaavan (I) mukainen yhdiste liuotetaan propyleeniglykoliin, polyetyleeniglykoli 400:aan ja polysorbaatti 80:een. Riittävä vesimäärä lisätään sitten sekoittaen siten, että saadaan 100 mL liuosta, joka suodatetaan ja pullotetaan.

D.	Ainesosat	% paino/paino
	Kaavan (I) mukainen yhdiste	20,0%
	Maapähkinäöljy	78,0%
	Span 60	2,0%

Yllämainitut ainesosat sulatetaan, sekoitetaan ja täytetään pehmeisiin elastisiin kapseleihin.

Esimerkki 25

Tämä esimerkki valaisee edustavan parenteraaliseen antamiseen tarkoitetun, kaavan (I) mukaista yhdistettä tai sen farmaseuttisesti hyväksyttävää suolaa, esimerkiksi *N*-(4-metyyli-2-(*N''*-hydroksikarbamoyyli)metyylipentanoyyli)-L-tryptofaani-*N'*-(4-karboksifenyyli)karboksiamidia, sisältävän farmaseuttisen formulaation valmistamista:

Ainesosat		
Kaavan (I) mukainen yhdiste		0,02 g
Propyleeniglykoli		20,0 g
Polyetyleeniglykoli 400		20,0 g
Polysorbaatti 80		1,0 g
0,9% suolaliuos	q.s.	100 mL

Kaavan (I) mukainen yhdiste liuotetaan propyleeniglykoliin, polyetyleeniglykoli 400:aan ja polysorbaatti 80:een. Riittävä määrä 0,9% suolaliuosta lisätään sitten sekoittaen siten, että saadaan 100 mL i.v. liuosta, joka suodatetaan 0,2 µm kalvosuodattimen läpi ja pakataan steriileissä olosuhteissa.

Esimerkki 26

Tämä esimerkki valaisee edustavan, lääkepuikon muodossa olevan, kaavan (I) mukaista yhdistettä tai sen farmaseuttisesti hyväksyttävää suolaa, esimerkiksi *N*-(4-metyyli-2-(*N''*-hydroksikarbamoyyli)metyylipentanoyyli)-L-leusiini-*N'*-(4-karboksifenyyli)karboksiamidia, sisältävän farmaseuttisen koostumuksen valmistamista:

Ainesosat	% paino/paino
Kaavan (I) mukainen yhdiste	1,0%
Polyetyleeniglykoli 1000	74,5%
Polyetyleeniglykoli 4000	24,5%

Ainesosat sulatetaan yhdessä ja sekoitetaan höyryhauteella, ja kaadetaan muotteihin, jotka sisältävät 2,5 g kokonaispainoa.

Esimerkki 27

Tämä esimerkki valaisee edustavan, täyttöpuhallukseen (insufflation) tarkoitetun, kaavan (I) mukaista yhdistettä tai sen farmaseuttisesti hyväksyttävää suolaa, esimerkiksi *N*-(4-metyyli-2-(*N''*-hydroksikarbamoyyli)metyylipentanoyyli)-L-sykloheksyyliglysiini-*N'*-(4-metoksikarbonyylifenyyli)karboksiamidia, sisältävän farmaseuttisen koostumuksen valmistamista:

Ainesosat	% paino/paino
Hienonnettu kaavan (I) mukainen yhdiste	1,0%
Hienonnettu laktoosi	99,0%

Ainesosat myllytetään, sekoitetaan, ja pakataan lääkkeenpuhallusastiaan, joka on varustettu annostelupumpulla.

Esimerkki 28

Tämä esimerkki valaisee edustavan, sumutusmuodossa olevan, kaavan (I) mukaista yhdistettä tai sen farmaseuttisesti hyväksyttävää suolaa, esimerkiksi *N*-(4-metyyli-2-(*N''*-hydroksikarbamoyyli)metyylipentanoyyli)-L-*t*-leusiini-*N'*-(4-metoksikarbonyylifenyyli)karboksiamidia, sisältävän farmaseuttisen formulaation valmistamista:

Ainesosat	% paino/paino
Kaavan (I) mukainen yhdiste	0,005%
Vesi	89,995%
Etanoli	10,000%

Kaavan (I) mukainen yhdiste liuotetaan etanoliin ja sekoitetaan veden kanssa. Formulaatio pakataan sitten sumuttimeen, joka on varustettu annostelupumpulla.

Esimerkki 29

Tämä esimerkki valaisee edustavan, aerosolimuodossa olevan, kaavan (I) mukaista yhdistettä tai sen farmaseuttisesti hyväksyttävää suolaa, esimerkiksi *N*-(4-metyyli-2-merkaptometyylipentanoyyli)-L-leusiini-*N'*-(4-metoksikarbonyylifenyyli)karboksiamidia, sisältävän farmaseuttisen formulaation valmistamista:

Ainesosat	% paino/paino
Kaavan (I) mukainen yhdiste	0,10%
Ponneaine 11/12	98,90%
Oleiinihappo	1,00%

Kaavan (I) mukainen yhdiste hajotetaan oleiinihappoon ja ponneaineisiin. Tuloksena oleva seos kaadetaan sitten aerosoliastiaan, jossa on mittausventtiili.

Esimerkki 30

In vitro-määritys

Matrilysiini puhdistettiin kloonatusta nisäkässoluviljelmästä Blue-sefaroosilla ja sinkkiä kelatoivalla sefaroosipylväällä, ja sen jälkeen fast protein liquid-kromatografialla MONO S-pylväällä. Entsyymi aktivoitiin inkuboimalla 1 mmol APMA:n kanssa 1 tunnin ajan 35-37 °C:ssa.

Kaavan (I) mukaiset yhdisteet liuotettiin DMSO:hon ja lisättiin kyvettiin, jossa oli 0,4 µg matrilysiiniä 1 ml:ssa TC-puskuria (20 mM Tris, 5 mM $CaCl_2$, pH 7,5) (2% DMSO loppupitoisuus). Kaavan (I) mukaisten yhdisteiden pitoisuudet valittiin siten, että ainakin yksi mittauspiste tuli kutakin aktiivisuuden 20 %:n muutosta kohden. Entsyymin ja yhdisteiden annettiin esi-inkuboitua 3 min 37 °C:ssa. Reaktion alkuunsaattamiseksi N-(7-dimetyyliamino-4-metyyli)kumarinyyliä ("DACM") ja tiopeptidiä (Ac-Pro-Leu-Gly-S-"Leu"-Leu-Gly-OEt, Bachem Bioscience Inc.) lisättiin kumpaakin 20 µM pitoisuudeksi. Fluoresenssin lisääntyminen rekisteröitiin ekskitaatio- ja emissioaallopituuksilla 395 ja 485 nm, tässä järjestyksessä. Jokainen datapiste on kahden kokeen keskiarvo. Analysoidiin ainakin kuusi datapistettä, ja tulokset ilmiasiin fluoresenssin muutoksena minuutissa yhdisteen pitoisuuden funktiona, käyttäen IC_{50}-sopivuutta Enzfitter-ohjelmassa.

Kaavan (I) mukaiset yhdisteet osoittivat kykyä inhiboida matrilysiiniä tässä kokeessa testattuina.

	IC_{50} (nM)			
	HFC	**PUMP**	**HNG**	**STROM.**
Yhdiste 2	8,4	k^i=140 fM		1,4

Esimerkki 31

In vitro määritys

Tämä koe määrittää, inhiboivatko kaavan (I) mukaiset yhdisteet ^{35}S-leimattujen glykosaminoglykaanien (GAG) vapautumista rustokudosviljelmistä.

Pieniä rustokudosviljelmiä (halkaisija 3 mm) valmistet-

tiin juuri lopetettujen nautojen polvinivelistä ja leimattiin $^{35}SO_4$:llä. ^{35}S-Leimattuja glykosaminoglykaaneja (GAG) vapautuu viljelyalustaan vasteena rhIL-1-alfan lisäämiselle, joka indusoi kondrosyyttien matriksin metalloproteaasien (MMP), mukaanluettuna stromelysiini ja kollagenaasi, ilmentymisen. Leimattujen GAG:ien prosentuaalinen inhibitio korjattiin ilman rhIL-1-alfan läsnäoloa havaittavan spontaanin vapautumisen suhteen. Kunkin ryhmän osalta tulokset edustavat keskiarvoa ± keskiarvon keskivirhettä (sem) viidelle kudosviljelmälle.

Kaavan (I) mukaiset yhdisteet osoittivat tässä kokeessa testattuina kykyä inhiboida ^{35}S-leimattujen GAG:ien vapautumista rustokudosviljelmistä.

	EC_{50} (molaarinen)
Yhdiste 2	$3,5 \times 10^{-6}$

Esimerkki 32

In vitro määritys

Rotan sikiön *in vitro* pitkäluumallia käytettiin kaavan (I) mukaisten yhdisteiden luukatoa ehkäisevän vaikutuksen tutkimiseen. Naudan PTH:ta käytettiin aikaansaamaan luukatoa *in vitro*. Luukatovaikutukset ilmaistiin ^{45}Ca:n määrinä, jotka vapautuivat ^{45}Ca:llä esileimatuista rotan sikiön pitkäluista viljelyalustaan. Kaavan (I) mukaisten yhdisteiden inhiboiva vaikutus naudan PTH:n indusoimaan luukatoon ilmaistiin keskimääräisenä prosenttisena inhibitiona ± sem.

^{45}Ca:llä esileimattuja rotan sikiön pitkäluita (eturaajoista) dissekoitiin ja viljeltiin Lindbro-maljoilla 37 °C:ssa yli yön BGJb-alustassa, johon oli lisätty 1 mg/ml BSA:ta. Jokaisessa ryhmässä oli viisi paria luita. Kaavan (I) mukaiset yhdisteet liuotettiin ensin etanoliin, laimennettiin sitten eri pitoisuuksiin ja lisättiin samanaikaisesti naudan PTH:n (1-34) kanssa $1x10^{-8}$ M pitoisuudessa päivänä 1. Etanolipitoisuudet yhdisteiden liuoksissa olivat alle 0,05%, mikä ei häirinnyt koetta. Koe lopetettiin päivänä 6, yksi alustanvaihdos tehtiin päivänä 3.

Kunkin alustanvaihdoksen lopussa laskettiin viljelys-

alustassa olevan ^{45}Ca:n määrä. Jäljelle jäänyt luu hajotettiin 0.1 N HCl:lla ja luu-uutteessa oleva ^{45}Ca:n määrä laskettiin myös. Tulokset ilmaistaan prosentteina kustakin luuparista vapautuneen ^{45}Ca:n kokonaismäärästä. Naudan PTH pitoisuudessa $1x10^{-8}$ M saa aikaan luukatoa maksimitasolla, joka asetetaan 100%:ksi ja tätä pitoisuutta käytettiin standardina. Perustason luukato vain viljelyalustan kanssa asetettiin 0%:ksi. Kaikkia yhdisteillä käsiteltyjä ryhmiä verrattiin naudan PTH:oon (1-34) pitoisuudessa $1x10^{-8}$ M. Pitoisuus, jossa yhdiste inhiboi luukatoa 50%:lla määriteltiin IC_{50}:ksi.

Kaavan (Ia) mukaiset yhdisteet osoittivat kykyä inhiboida naudan PTH:n aikaansaamaa luukatoa tässä kokeessa.

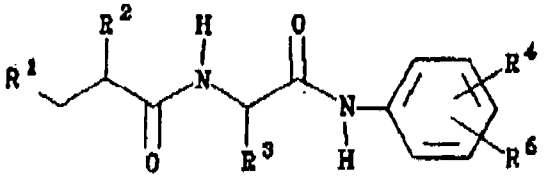
	IC_{50} (molaarinen)
Yhdiste 1	$\geq 5x10^{-6}$
Yhdiste 2	$2,7x10^{-7}$
Yhdiste 3	$5x10^{-8}$
Yhdiste 4	$\geq 5x10^{-6}$

TOKSIKOLOGIA

Mitään vakavia toksikologisia vaikutuksia ei havaittu edellä kuvatuissa kokeissa.

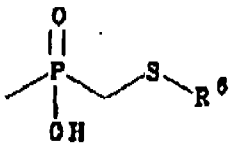
PATENTTIVAATIMUKSET

1. Menetelmä kaavan (I) mukaisen farmaseuttisesti käyttökelpoisen yhdisteen valmistamiseksi:



(I)

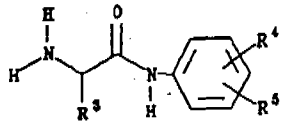
jossa
R^1 on merkapto, asetyylitio, karboksyyli, hydroksikarbamoyyli, alkoksikarbonyyli, aryylioksikarbonyyli, aralkoksikarbonyyli, bentsyylioksikarbamoyyli tai



(jossa R^6 on valinnaisesti substituoitu aryyli, jossa aryyliryhmä on kinol-2-yyli, naft-1-yyli, naft-2-yyli, pyridyyli tai fenyyli);
R^2 on alkyyli, aralkyyli tai sykloalkyylialkyyli;
R^3 on sykloalkyyli, alkyyli (valinnaisesti substituoitu sykloalkyylillä, hydroksyylillä, merkaptolla, alkyylitiolla, aralkoksilla, karboksyylillä, aminolla, alkyyliaminolla, guanidinolla, karbamoyylillä, pyridyylillä tai indolyylillä), tai aralkyyli (valinnaisesti substituoitu hydroksyylillä, karboksyylillä, alkyylillä tai alkoksilla);
R^4 on nitro, amino, syano, hydroksyyli, alkoksi, karboksyyli, alkoksikarbonyyli, alkyylisulfonyyli, haloalkyyli, alkoksikarbonyylialkyyli, tetratsolyyli, karbamoyyli (valinnaisesti substituoitu alkyylillä tai dialkyyliaminoal-

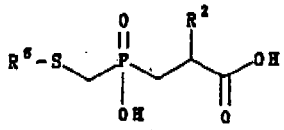
kyylillä) tai aminosulfonyyli (valinnaisesti substituoitu alkyylillä); ja
R^5 on vety, halogeeni tai hydroksyyli; yksittäisenä stereoisomeerinä tai niiden seoksena; tai farmaseuttisesti hyväksyttävänä suolanaan, **tunnettu** siitä, että

(a) kaavan (D) mukainen yhdiste



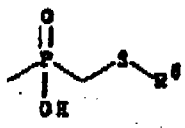
(D)

jossa R^3 ja R^4 ovat kuten on määritelty edellä kaavan I yhteydessä ja R^5 on vety, saatetaan reagoimaan kaavan (E) mukaisen yhdisteen kanssa



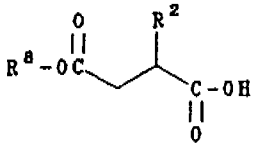
(E)

jossa R^6 on valinnaisesti substituoitu aryyli, jossa aryyliryhmä on kinol-2-yyli, naft-1-yyli, naft-2-yyli, pyridyyli tai fenyyli; ja R^2 on alkyyli; siten että muodostuu kaavan (Ia) mukainen yhdiste, jossa R^1 on



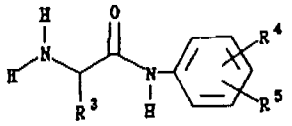
jossa R^6 on kuten edellä on määritelty kaavan (E) mukaiselle yhdisteelle; ja R^2, R^3, R^4 ja R^5 ovat kuten edellä on määritelty kaavojen (D) tai (E) mukaisille yhdisteille; tai

(b) kaavan (F) mukainen yhdiste



(F)

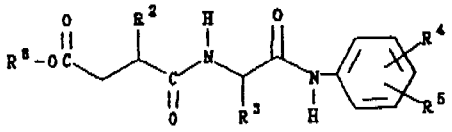
jossa R^2 on kuten edellä on määritelty kaavan I yhteydessä ja R^8 on alkyyli tai bentsyyli; saatetaan reagoimaan kaavan (D) mukaisen yhdisteen kanssa



(D)

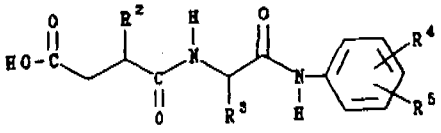
jossa R^3, R^4 ja R^5 ovat kuten on määritelty edellä kaavan I yhteydessä, siten että muodostuu kaavan (Ib) mukainen yhdiste, jossa R^1 on alkoksikarbonyyli tai aralkoksikarbonyyli; ja R^2, R^3, R^4, R^5 ja R^8 ovat kuten määritelty edellä kaavojen (F) tai (D) mukaisille yhdisteille; tai

(c) kaavan (Ib) mukainen yhdiste



(Ib)

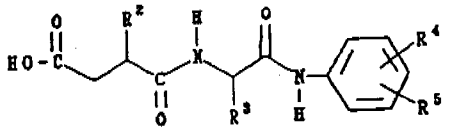
jossa R^2, R^3, R^4 ja R^5 ovat kuten edellä on määritelty kaavan I yhteydessä ja R^8 on alkyyli tai bentsyyli; käsitellään siten, että muodostuu kaavan (Ic) mukainen yhdiste



(Ic)

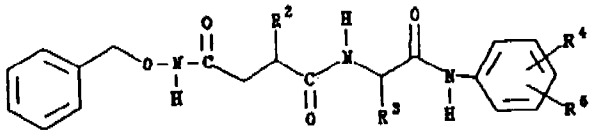
jossa R^1 on karboksyyli; ja R^2, R^3, R^4 ja R^5 ovat kuten edellä on määritelty kaavan I yhteydessä tai

(d) kaavan (Ic) mukainen yhdiste



(Ic)

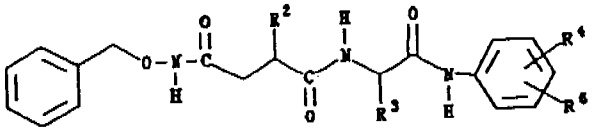
jossa R^2, R^3, R^4, ja R^5 ovat kuten edellä määritelty kaavan I yhteydessä saatetaan reagoimaan *O*-bentsyylihydroksiamiinin kanssa siten että muodostuu kaavan (Id) mukainen yhdiste



(Id)

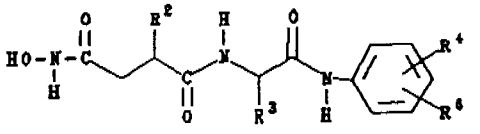
jossa R^1 on bentsyylioksikarbamoyyli; ja R^2, R^3, R^4, ja R^5 ovat kuten edellä on määritelty kaavan I yhteydessä, tai

(e) kaavan (Id) mukainen yhdiste



(Id)

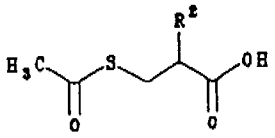
jossa R^2, R^3, R^4, ja R^5 ovat kuten edellä on määritelty kaavan I yhteydessä, käsitellään siten että muodostuu kaavan (Ie) mukainen yhdiste



(Ie)

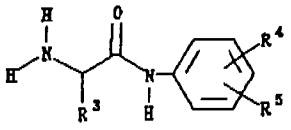
jossa R^1 on hydroksikarbamoyyli; ja R^2, R^3, R^4, ja R^5 ovat kuten edellä on määritelty kaavan I yhteydessä, tai

(f) kaavan (G) mukainen yhdiste



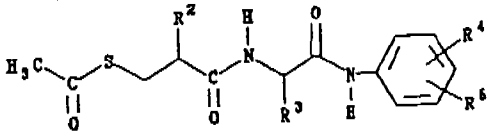
(C)

jossa R^2 on kuten edellä on määritelty kaavan I yhteydessä saatetaan reagoimaan kaavan (D) mukaisen yhdisteen kanssa



(D)

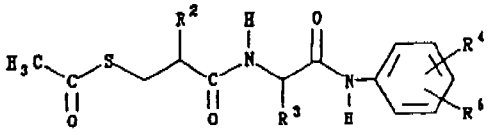
jossa R^3, R^4 ja R^5 ovat kuten edellä on määritelty kaavan I yhteydessä, siten että muodostuu kaavan (If) mukainen yhdiste



(If)

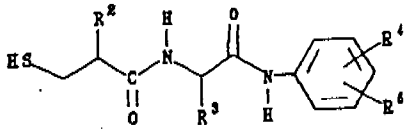
jossa R^1 on asetyylitio; ja R^2, R^3, R^4, ja R^5 ovat kuten edellä on määritelty kaavan I yhteydessä, tai

(g) kaavan (If) mukainen yhdiste



(If)

jossa R^2, R^3, R^4, ja R^5 ovat kuten edellä määritelty kaavan I yhteydessä käsitellään siten että muodostuu kaavan (Ig) mukainen yhdiste



(Ig)

jossa R^1 on merkapto; ja R^2, R^3, R^4, ja R^5 ovat kuten edellä on määritelty kaavan I yhteydessä, tai

(h) kaavan I mukaisen yhdisteen vapaa emäs saatetaan reagoimaan hapon kanssa farmaseuttisesti hyväksyttävän happoadditiosuolan saamiseksi; tai

(i) kaavan I mukaisen yhdisteen happoadditiosuola saatetaan reagoimaan emäksen kanssa vastaavan vapaan
emäksen saamiseksi; tai

(j) kaavan I mukaisen yhdisteen happoadditiosuola muutetaan toiseksi farmaseuttisesti hyväksyttäväksi kaavan I mukaiseksi happoadditiosuolaksi.

2. Patenttivaatimuksen 1 mukainen menetelmä kaavan (I) mukaisen yhdisteen, jossa R^1 on merkapto, R^2 ja R^3 ovat 2-metyylipropyyli, R^4 on metoksikarbonyyli ja R^5 on vety, nimittäin *N*-(4-metyyli-2-merkaptometyylipentanoyyli)-L-leusiini-*N'*-(4-metoksikarbonyylifenyyli)karboksiamidin; tai sen farmaseuttisesti hyväksyttävän suolan valmistamiseksi.

3. Patenttivaatimuksen 1 mukainen menetelmä kaavan (I) mukaisen yhdisteen, jossa R^1 on asetyylitio, R^2 ja R^3 ovat 2-metyylipropyyli, R^4 on metoksikarbonyyli ja R^5 on vety, nimittäin *N*-(4-metyyli-2-asetyylitiometyylipentanoyyli)-L-leusiini-*N'*-(4-metoksikarbonyylifenyyli)karboksiamidin; tai sen farmaseuttisesti hyväksyttävän suolan valmistamiseksi.

4. Patenttivaatimuksen 1 mukainen menetelmä kaavan (I) mukaisen yhdisteen, jossa R^1 on karboksyyli, R^2 on 2-metyylipropyyli, R^3 on 2-metyylipropyyli, R^4 on karboksyyli ja R^5 on vety, nimittäin *N*-(4-metyyli-2-karboksimetyylipentanoyyli)-L-leusiini-*N'*-(4-karboksifenyyli)karboksiamidin; tai sen farmaseuttisesti hyväksyttävän suolan valmistamiseksi.

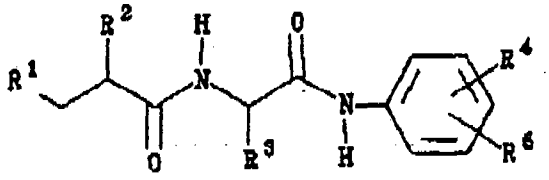
5. Patenttivaatimuksen 1 mukainen menetelmä kaavan (I) mukaisen yhdisteen, jossa R^1 on karboksyyli, R^2 on 2-metyylipropyyli, R^3 on 2-metyylipropyyli, R^4 on metoksikarbonyyli, ja R^5 on vety, nimittäin *N*-(4-metyyli-2-karboksimetyylipentanoyyli)-L-leusiini-*N'*-(4-metoksikarbonyylifenyyli)karboksiamidin; tai sen farmaseuttisesti hyväksyttävän suolan valmistamiseksi.

6. Patenttivaatimuksen 1 mukainen menetelmä kaavan (I) mukaisen yhdisteen, jossa R^1 on hydroksikarbamoyyli, R^2 on 2-metyylipropyyli, R^3 on 2-metyylipropyyli, R^4 on karboksyyli ja R^5 on vety, nimittäin *N*-(4-metyyli-2-(*N''*-hydroksikarbamoyyli)metyylipentanoyyli)-L-leusiini-*N'*-(4-karboksifenyyli)karboksiamidin; tai *N*-(4-metyyli-2-(*N''*-hydroksikarbamoyyli)metyylipentanoyyli)-L-tryptofaani-*N'*-(4-karboksifenyyli)karboksiamidin; tai niiden farmaseuttisesti hyväksyttävän suolan valmistamiseksi.

7. Patenttivaatimuksen 1 mukainen menetelmä kaavan (I) mukaisen yhdisteen, jossa R^1 on hydroksikarbamoyyli, R^2 on 2-metyylipropyyli, R^3 on 2-metyylipropyyli, R^4 on metoksikarbonyyli, ja R^5 on vety, nimittäin *N*-(4-metyyli-2-(*N''*-hydroksikarbamoyyli)metyylipentanoyyli)-L-leusiini-*N'*-(4-metoksikarbonyylifenyyli)karboksiamidin; *N*-(4-metyyli-2-(*N''*-hydroksikarbamoyyli)metyylipentanoyyli)-L-sykloheksyyliglysiini-*N'*-(4-metoksikarboksifenyyli)karboksiamidin; tai *N*-(4-metyyli-2-(*N''*-hydroksikarbamoyyli)metyylipentanoyyli)-L-*t*-leusiini-*N'*-(4-metoksikarbonyylifenyyli)karboksiamidin; tai niiden farmaseuttisesti hyväksyttävän suolan valmistamiseksi.

PATENTKRAV

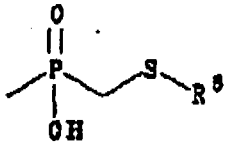
1. Förfarande för framställning av en farmaceutiskt användbar förening med formeln (I)



(I)

vari

R^1 är merkapto, acetyltio, karboxyl, hydroxikarbamoyl, alkoxikarbonyl, aryloxikarbonyl, aralkoxikarbonyl, bensyloxikarbamoyl eller



(vari R^6 är en valfritt substituerad aryl, vari arylgruppen är kinol-2-yl, naft-1-yl, naft-2-yl, pyridyl eller fenyl);

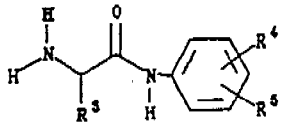
R^2 är alkyl, aralkyl eller cykloalkylalkyl;

R^3 är cykloalkyl, alkyl (valfritt substituerad med cykloalkyl, hydroxyl, merkapto, alkyltio, aralkoxi, karboxyl, amino, alkylamino, guanidino, karbamoyl, pyridyl eller indolyl), eller aralkyl (valfritt substituerad med hydroxyl, karboxyl, alkyl eller alkoxi);

R^4 är nitro, amino, cyano, hydroxyl, alkoxi, karboxyl, alkoxikarbonyl, alkylsulfonyl, haloalkyl, alkoxikarbonylalkyl, tetrazolyl, karbamoyl (valfritt substituerad med alkyl eller dialkylaminoalkyl) eller aminosulfonyl (valfritt substituerad med alkyl); och

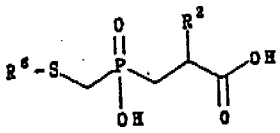
R^5 är väte, halogen eller hydroxyl; som enskild stereoisomer eller en blandning av dessa; eller som sitt farmaceutiskt godtagbara salt, **kännetecknat** därav, att

(a) en förening med formeln (D)



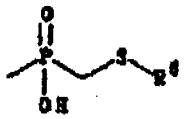
(D)

vari R^3 och R^4 är som ovan definierats i samband med formeln I och R^5 är väte, omsättes med en förening med formeln (E)



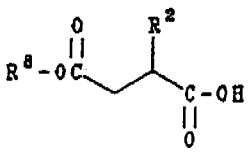
(E)

vari R^6 är en valfritt substituerad aryl, vari arylgruppen är kinol-2-yl, naft-1-yl, naft-2-yl, pyridyl eller fenyl; och R^2 är alkyl; så att en förening med formeln (Ia) bildas, vari R^1 är



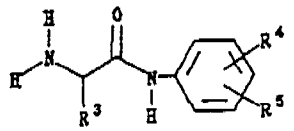
vari R^6 är som ovan definierats för föreningen med formeln (E); och R^2, R^3, R^4 och R^5 är som ovan definierats för föreningar med formlerna (D) eller (E); eller

(b) en förening med formeln (F)



(F)

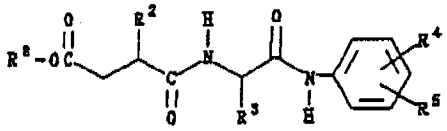
vari R^2 är som ovan definierats i samband med formeln I och R^8 är alkyl eller bensyl; omsättes med en förening med formeln (D)



(D)

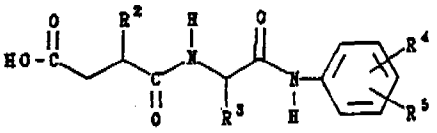
vari R^3, R^4 och R^5 är som ovan definierats i samband med formeln I, så att en förening med formeln (Ib) bildas, vari R^1 är alkoxikarbonyl eller aralkoxikarbonyl; och R^2, R^3, R^4, R^5 och R^8 är som ovan definierats för föreningar med formlerna (F) eller (D); eller

(c) en förening med formeln (Ib)



(Ib)

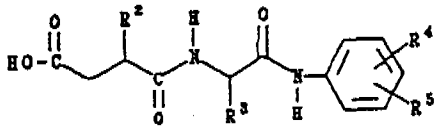
vari R^2, R^3, R^4 och R^5 är som ovan definierats i samband med formeln I och R^8 är alkyl eller bensyl; behandlas så att en förening med formeln (Ic) bildas



(Ic)

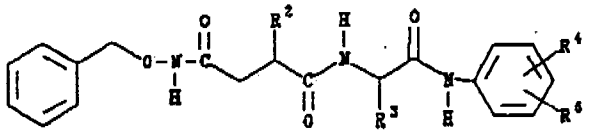
vari R^1 är karboxyl; och R^2, R^3, R^4 och R^5 är som ovan definierats i samband med formeln I eller

(d) en förening med formeln (Ic)



(Ic)

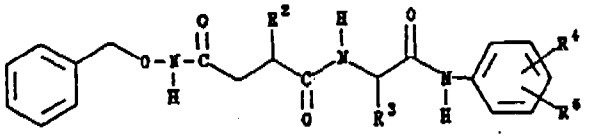
vari R^2, R^3, R^4 och R^5 är som ovan definierats i samband med formeln I, omsättes med *O*-bensylhydroxiamin så att en förening med formeln (Id) bildas



(Id)

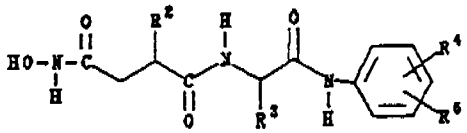
vari R^1 är bensyloxikarbamoyl; och R^2, R^3, R^4 och R^5 är som ovan definierats i samband med formeln I, eller

(e) en förening med formeln (Id)



(Id)

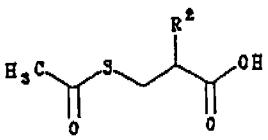
vari R^2, R^3, R^4 och R^5 är som ovan definierats i samband med formeln I, behandlas så att en förening med formeln (Ie) bildas



(Ie)

vari R^1 är hydroxikarbamoyl; och R^2, R^3, R^4 och R^5 är som ovan definierats i samband med formeln I, eller

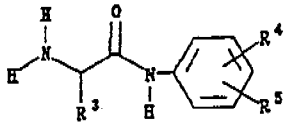
(f) en förening med formeln (G)



(G)

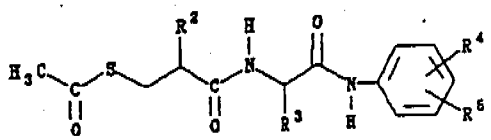
vari R^2 är som ovan definierats i samband med formeln I,

omsättes med en förening med formeln (D)



(D)

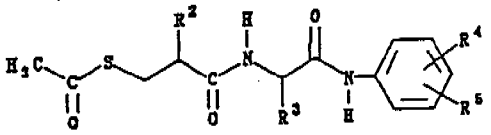
vari R^3, R^4 och R^5 är som ovan definierats i samband med formeln I, så att en förening med formeln (If) bildas



(If)

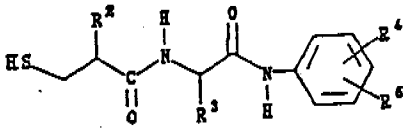
vari R^1 är acetyltio; och R^2, R^3, R^4 och R^5 är som ovan definierats i samband med formeln I, eller

(g) en förening med formeln (If)



(If)

vari R^2, R^3, R^4 och R^5 är som ovan definierats i samband med formeln I, behandlas så att en förening med formeln (Ig) bildas



(Ig)

vari R^1 är merkapto; och R^2, R^3, R^4 och R^5 är som ovan definierats i samband med formeln I, eller

(h) en fri bas av en förening med formeln I omsättes med en syra för erhållande av ett farmaceutiskt godtagbart syraadditionssalt; eller

(i) ett syraadditionssalt av en förening med formeln I omsättes med en bas för erhållande av en motsvarande fri bas; eller

(j) ett syraadditionssalt av en förening med formeln I omvandlas till ett annat farmaceutiskt godtagbart syraadditionssalt med formeln I.

2. Förfarande enligt patentkravet 1 för framställning av en förening med formeln (I), vari R^1 är merkapto, R^2 och R^3 är 2-metylpropyl, R^4 är metoxikarbonyl och R^5 är väte, nämligen *N*-(4-metyl-2-merkaptometylpentanoyl)-L-leucin-*N'*-(4-metoxikarbonylfenyl)karboxiamid; eller ett farmaceutiskt godtagbart salt därav.

3. Förfarande enligt patentkravet 1 för framställning av en förening med formeln (I), vari R^1 är acetyltio, R^2 och R^3 är 2-metylpropyl, R^4 är metoxikarbonyl och R^5 är väte, nämligen *N*-(4-metyl-2-acetyltiometylpentanoyl)-L-leucin-*N'*-(4-metoxikarbonylfenyl)karboxiamid; eller ett farmaceutiskt godtagbart salt därav.

4. Förfarande enligt patenktravet 1 för framställning av en förening med formeln (I), vari R^1 är karboxyl, R^2 är 2-metylpropyl, R^3 är 2-metylpropyl, R^4 är karboxyl och R^5 är väte, nämligen *N*-(4-metyl-2-karboximetylpentanoyl)-L-leucin-*N'*-(4-karboxifenyl)karboxiamid; eller ett farmaceutiskt godtagbart salt därav.

5. Förfarande enligt patenkravet 1 för framställning av en förening med formeln (I), vari R^1 är karboxyl, R^2 är 2-metylpropyl, R^3 är 2-metylpropyl, R^4 är metoxikarbonyl, och R^5 är väte, nämligen *N*-(4-metyl-2-karboximetylpentanoyl)-L-leucin-*N'*-(4-metoxikarbonylfenyl)karboxiamid; eller ett farmaceutiskt godtagbart salt därav.

6. Förfarande enligt patentkravet 1 för framställning av

en förening med formeln (I), vari R^1 är hydroxikarbamoyl, R^2 är 2-metylpropyl, R^3 är 2-metylpropyl, R^4 är karboxyl och R^5 är väte, nämligen *N*-(4-metyl-2-(*N''*-hydroxikarbamoyl)metylpentanoyl)-L-leucin-*N'*-(4-karboxifenyl)karboxiamid; eller *N*-(4-metyl-2-(*N''*-hydroxikarbamoyl)metylpentanoyl)-L-tryptofan-*N'*-(4-karboxifenyl)karboxiamid; eller ett farmaceutiskt godtagbart salt av dessa.

7. Förfarande enligt patentkravet 1 för framställning av en förening med formeln (I), vari R^1 är hydroxikarbamoyl, R^2 är 2-metylpropyl, R^3 är 2-metylpropyl, R^4 är metoxikarbonyl, och R^5 är väte, nämligen *N*-(4-metyl-2-(*N''*-hydroxikarbamoyl)metylpentanoyl)-L-leucin-*N'*-(4-metoxikarbonylfenyl)karboxiamid;
N-(4-metyl-2-(*N''*-hydroxikarbamoyl)metylpentanoyl)-L-cyklohexylglycin-*N'*-(4-metoxikarboxifenyl)karboxiamid; eller *N*-(4-metyl-2-(*N''*-hydroxikarbamoyl)metylpentanoyl)-L-*t*-leucin-*N'*-(4-metoxikarbonylfenyl)karboxiamid; eller ett farmaceutiskt godtagbart salt av dessa.