(19) SUOMI - FINLAND
(FI)

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

(10) **FI 954913 A7**

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

(21) Patenttihakemus - Patentansökan - Patent application 954913

(51) Kansainvälinen patenttiluokitus - Internationell patentklassifikation - International patent classification
C07C 271/22 (2006.01)
C07C 317/50 (2006.01)
C07D 207/26 (2006.01)
C07D 209/42 (2006.01)
C07D 211/46 (2006.01)
C07D 213/30 (2006.01)
C07D 213/56 (2006.01)
C07D 295/155 (2006.01)
C07D 295/215 (2006.01)
C07D 307/20 (2006.01)
C07D 309/06 (2006.01)

(22) Tekemispäivä - Ingivningsdag - Filing date **16.10.1995**

(23) Saapumispäivä - Ankomstdag - Reception date **16.10.1995**

(41) Tullut julkiseksi - Blivit offentlig - Available to the public **20.04.1996**

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

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

19.10.1994 CH 3140/94 21.08.1995 CH 2382/95

(71) Hakija - Sökande - Applicant

1 • **Novartis AG,** Schwarzwaldallee 215, 4058 BASEL, SVEITSI, (CH)

(72) Keksijä - Uppfinnare - Inventor

1 • **Bold, Guido,** Gipf-Oberfrick, SVEITSI, (CH)
2 • **Capraro, Hans Georg,** Rheinfelden, SVEITSI, (CH)
3 • **Fässler, Alexander,** Oberwil, SVEITSI, (CH)
4 • **Lang, Marc,** Mulhouse, RANSKA, (FR)
5 • **Bhagwat, Shripad Subray,** USA, AMERIKAN YHDYSVALLAT, (US)
6 • **Khanna, Satish Chandra,** Bottmingen, SVEITSI, (CH)
7 • **Lazdins, Janis Karlis,** Switzerland, SVEITSI, (CH)
8 • **Mestan, Jürgen,** Germany, SAKSA, (DE)

(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
Aspartaattiproteaasisubstraattien isosteerien antiviraaliset eetterit
Antivirala etrar av isosterer av aspartatproteassubstrat

Aspartaattiproteaasisubstraattien isosteerien antiviraaliset eetterit - Antivirala etrar av isosterer av aspartatproteassubstrat

Keksintö koskee aspartaattiproteaasisubstraattien isosteerien eettereitä ja niiden suoloja, menetelmiä näiden yhdisteiden ja niiden suolojen valmistamiseksi, farmaseuttisia valmisteita, jotka sisältävät näitä yhdisteitä tai niiden suoloja, ja näiden yhdisteiden tai niiden suolojen käyttöä (joko yksinään tai yhdistelmänä muiden aktiivisten yhdisteiden kanssa, jotka ovat tehokkaita retroviruksia vastaan) ihmis- tai eläinkehon terapeuttiseen tai diagnostiseen käsittelyyn tai farmaseuttisten valmisteiden tuottamiseen.

WHO'n arvioiden mukaan huomattavasti useampi kuin 15 miljoonaa ihmistä on nykyisin infektoitunut HIV-1:llä tai HIV-2:lla.

Käänteistranskriptaasin, retrovirus-RNA:ta DNA:ksi muuttavan entsyymin estäjiä, kuten 3'-atsido-3'-deoksitymidiiniä (AZT) tai dideoksi-inosiinia (DDI), ja myös trinatriumfosfonoformiaattia, ammonium-21-tungsto-9-antimoniaattia, 1-β-D-ribofuranoksyyli-1,2,4-triatsoli-3-karboksamidia ja dideoksisytidiiniä, ja myös adriamysiiniä, on tähän mennessä käytetty pääasiassa retrovirussairauksien kuten AIDS'in hoitoon. On myös tehty yrityksiä lisätä kehoon esimerkiksi yhdistelmä-DNA-molekyylinä tai molekyylifragmenttina T4-solureseptori, joka on läsnä ihmiskehossa immuunojärjestelmän määrätyissä soluissa ja joka on vastuussa infektoivien partikkelien ankkuroimisesta ja niiden johtamisesta näihin soluihin, ja on niin muodoin vastuussa niiden kyvystä infektoida. Tästä olisi vaikutuksena viruksen sitoutumiskohtien pois titraaminen niin, ettei virus enää voisi kiinnittyä soluihin. Käytetään myös yhdisteitä, jotka käyttävät muita tapoja estämään virusta tunkeutumasta solumembraanin läpi, kuten polymannoasetaattia.

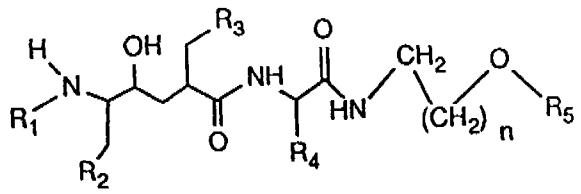
Tämän lisäksi on kuvattu ensimmäiset kliiniset kokeet, joissa hydroksietyleeni-isosteeriä, N-tert-butyylidekahydro-2-[2(R)-hydroksi-4-fenyyli-3(S)-[[N-2-kinolyylikarbolyyli-L-asparaginyyli]amino]butyyli]-(4aS,8aS)-isokinoliini-3(S)-karboksamidia (Ro 31-8959) käytetään HIV-proteaasin estäjänä. Tällä yhdisteellä oli estovaikutusta HIV-proteaasiin *in vitro*, ja se esti viraalista replikaationta solukokeissa, ja käyttökelpoisia veritasoja saavutettiin jyrsijöissä jopa oraalisella annolla (katso julkaisua: Roberts, N. A., *et al.*; Biochemical Soc. Transactions 20, 513-516 (1992)); käyttökelpoiset veritasot saavutettiin myös ihmisillä (katso esimerkiksi julkaisua: G.J. Muirhead *et al.*; Brit. J. Clin. Pharmacol. 34, 170P-171P (1992)). Nk. "surrogate marker" (CD4-lymfosyyttien tiitteri veressä, jonka aleneminen hoitamattomilla potilailla on AIDS-sairauden kehittymisen mitta) osoitti ensimmäiset positiiviset vaikutukset AIDS-potilailla (katso "Roche statement on HIV Proteinase Inhibitor (Ro 31-8959) European Trials Results", joka jaettiin 9. kansainvälisen AIDS-kongferenssin osanottajille Berliinissä, 7.- 11. kesäkuuta 1993).

AIDS-viruksissa, HIV-1 ja HIV-2, ja muissa retroviruksissa, esimerkiksi vastaavissa viruksissa kissoissa (FIV) ja apinoissa (SIV), viruksen esimerkiksi ydinproteiinien proteolyyttisen kypsymisen aikaansaa aspartaattiproteaasi, kuten HIV-proteaasi. Ilman tätä proteolyyttisyä kypsymistä ei voitu tuottaa infektoivia viraalisia partikkeleita. Mainittujen aspartaattiproteaasien, kuten HIV-1-proteaasin tai HIV-2-proteaasin viruksen kypsymisessä omaavan keskeisen merkityksen pohjalta, ja koetulosten pohjalta, jotka on saatu esimerkiksi infektoiduilla soluviljelmillä, oletetaan, että tämän proteaasin aikaansaaman kypsymisvaiheen tehokas esto *in vivo* estää kypsien virionien kokoonpanon. Seurauksena sopivia inhibiittoreita voidaan käyttää terapeuttisesti.

Keksinnön eräänä kohteena on valmistaa uutta luokkaa yh-

disteitä, joilla on myös, erityisesti, suotuisat farmakologiset ominaisuudet, kuten hyvä farmakokinetiikka, hyötyosuus ja/tai hyvä siedettävyys.

Aspartaattiproteaasisubstraattien isosteerien uudet eetterit ovat kaavan I mukaisia yhdisteitä



(I)

jossa

R_1 on asyyliradikaali, joka on alempi-alkoksi-alempi-alkanoyyli (mukaan lukien alempi-alkoksikarbonyyli), jossa alempi-alkoksi radikaali on substituoimaton tai substituoitu yhdellä tai usealla radikaalilla, jotka ovat toisistaan riippumatta halogeeni, fenyyli tai alempi-alkoksi, tai radikaalilla, joka on piperidinyyli, pyrrolidinyyli, tetrahydropyranyyli, tetrahydrofuranyyli, tiatsolidinyyli, tiatsolyyli, indolyyli tai 4H-1-bentsopyranyyli, jotka ovat substituoimattomia tai substituoitu yhdellä tai usealla radikaalilla, jotka ovat toisistaan riippumatta okso, hydroksyyli, amino, alempi alkyyli, alempi-alkoksikarbonyyli ja fenyyli-alempi-alkoksikarbonyyli; alempi alkanoyyli, joka on substituoimaton tai on substituoitu piperidinyylillä, pyrrolidinyylillä, tetrahydropyranyylillä, tetrahydrofuranyylillä, tiatsolidinyylillä, tiatsolyylillä, indolyylillä, 4H-1-bentsopyranyylillä, piperidinyylioksilla, pyrrolidinyylioksilla, tetrahydropyranyylioksilla, tetrahydrofuranyylioksilla, tiatsolidinyylioksilla, tiatsolyylioksilla, indolyylioksilla tai 4H-1-bentsopyranyylioksilla, jotka ovat kussakin tapauksessa substituoimattomia tai substituoituja yhdellä tai usealla substituentilla, jotka ovat toisistaan riippumatta okso, hydroksyyli, amino, alempi alkyyli, alempi-alkoksikarbonyyli ja fenyyli-alempi-

alkoksikarbonyyli; aryylikarbonyyli tai heterosyklyylikarbonyyli, joka on substituoitu heterosyklyylillä tai heterosyklyyli-alempi-alkyylillä; fenyyli-alempi-alkanoyyli, joka on substituoitu hydroksyylillä ja alempi-alkyylillä; ja aryylisulfonyyli;

tähde, joka on liittynyt aminohapon karbonyyliryhmän kautta, joka aminohappo on glysiini, alaniini, 3-aminopropaanihappo, 2-aminovoihappo, 3-aminovoihappo, 4-aminovoihappo, 3-aminopentaanihappo, 4-aminopentaanihappo, 5-aminopentaanihappo, 3-aminoheksaanihappo, 4-aminoheksaanihappo, 5-aminoheksaanihappo, valiini, norvaliini, leusiini, isoleusiini, norleusiini, seriini, homoseriini, treoniini, metioniini, kysteiini, fenyylialaniini, tyrosiini, 4-aminofenyylialaniini, 4-kloorifenyylialaniini, 4-karboksifenyylialaniini, β-fenyyliseriini, fenyyliglysiini, α-naftyylialaniini, sykloheksyylialaniini, sykloheksyyliglysiini, tryptofaani, asparagiinihappo β-fenyyli-alempi-alkyyliaspartaatti, asparagiini, aminomalonihappo, aminomalonihappomonoamidi, glutamiinihappo, γ-fenyyli-alempi-alkyyliglutamaatti, glutamiini, histidiini, arginiini, lysiini, δ-hydroksilysiini, ornitiini, α,γ-diaminovoihappo tai α,β-diaminopropionihappo;

tai radikaali, joka on liittynyt karbonyyliryhmän kautta, joka on jossain viimeksi mainituista aminohapoista, joka on N-asyloitu aminotyppeen jollakin aikaisemmin mainituista asyyliradikaaleista,

R_2 ja R_3 ovat toisistaan riippumatta sykloheksyyli, sykloheksenyyli, fenyyli, naftyyli tai tetrahydronaftyyli, jotka ovat substituoimattomia tai on substituoitu yhdellä tai usealla radikaalilla, jotka ovat toisistaan riippumatta alempi alkyyli, fenyyli, syaanifenyyli, fenyyli-alempi alkyyli, halogeeni, halogeeni-alempi alkyyli, syaani, hydroksyyli, alempi-alkoksi, fenyyli-alempi-alkoksyyli, pyridyyli-alempi-alkoksi, jossa pyridyyli on liittynyt rengas-

hiiliatomin kautta, alempi-alkoksi-alempi-alkoksi, alempi-alkoksikarbonyyli-alempi-alkoksi, karboksyyli-alempi-alkoksi, hydroksyyli-alempi-alkoksi, jossa on ainakin kaksi hiiliatomia, jossa hydroksyyli ei ole liittynyt 1-asemaan, karbamoyyli-alempi-alkoksi, syaani-alempi-alkoksi, alempi-alkyleenidioksi, ja fenyyli-alempi-alkaanisulfonyyli, joka on substituoimaton tai on substituoitu fenyyliradikaaliin yhdellä tai usealla radikaalilla, jotka ovat toisistaan riippumatta halogeeni,

R_4 on alempi alkyyli, sykloheksyyli tai fenyyli,

R_5 on alempi alkyyli, ja

n on 1 tai 2,

tai niiden suoloja, edellyttäen että läsnä on ainakin yksi suolaa muodostavat ryhmä.

Tämän patenttihakemuksen puitteissa edellä ja alla käytetyilää yleisillä käsitteillä on edullisesti seuraavat merkitykset, ellei muuta mainita:

Etuliite "alempi" tai sanakomponentti "alempi", esimerkiksi alempi-alkyylissä, alempi-alkoksissa, alempi-alkanoyylissä tai fenyyli-alempi-alkyylissä, merkitsee radikaalia, jossa on enintään 7, erityisesti enintään 4 hiiliatomia, jolloin kyseiset radikaalit voivat olla haaroittumattomia tai olla kerran tai useammin kuin kerran haaroittuneita.

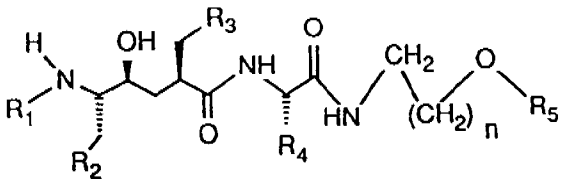
Yhdisteitä, suoloja ja vastaavia mainitessa nämä käsitteet merkitsevät myös yhdistettä, suolaa ja vastaavaa.

Läsnä voi olla epäsymmetrisiä hiiliatomeita, mukaan lukien niitä, joissa substituentit R_1, R_2, R_3, R_4 ja R_5 voivat olla (R)-, (S)- tai (R,S)-konfiguraatiossa, edullisesti (R)-konfiguraatiossa tai (S)-konfiguraatiossa. Näin ollen kek-

sinnön mukaiset yhdisteet voivat esiintyä isomeeriseoksina tai puhtaina isomeereinä, erityisesti diastereomeeriseoksina, enantiomeeriseoksina tai, edullisesti, puhtaina enantiomeereinä.

Lisämaininta "vaihtoehtoisesti tai lisäksi" tarkoittaa joko, että vastaavat merkityt substituenttitarkoitukset yhdistettynä vastaavien substituenttitarkoitusryhmien kanssa, joita ei ole esitetty tämän lisäilmoituksen kanssa, muodostavat yhdessä substituenttien ryhmän, tai että vastaavasti merkityt substituenttitarkoitukset muodostavat oman ryhmän, tai että tarkoitukset, joita ei ole esitetty tämän lisäilmoituksen kanssa, muodostavat myös sinänsä substituenttitarkoitusten ryhmän.

Edullisesti kaavan I mukaiset yhdisteet ovat kaavan I' mukaisia,



(I')

jossa radikaaleilla on kaavan I mukaisille yhdisteille esitetyt merkitykset.

Alempi-alkoksi-alempi-alkanoyylissä, R_1 on alempi-alkoksiradikaali, edullisesti metoksi, etoksi, n-propoksi, isopropoksi, n-butoksi, isobutoksi, sec-butoksi tai tert-butoksi samalla kun alempi alkanoyyli on edullisesti formyyli (vastaava radikaali on tällöin alempi-alkoksikarbonyyliradikaali, erityisesti metoksikarbonyyli, etoksikarbonyyli tai tert-butoksikarbonyyli), asetyyli tai propionyyli.

Piperidinyyli, pyrrolidinyyli, tetrahydropyranyyli, tetrahydrofuranyyli, tiatsolidinyyli, tiatsolyyli, indolyyli tai 4H-1-bentsopyranyyli ovat substituoimattomia tai ne on

substituoitu yhdellä tai usealla radikaalilla, jotka ovat toisistaan riippumatta okso, hydroksyyli, amino, alempi alkyyli, alempi-alkoksikarbonyyli ja fenyyli-alempi-alkoksikarbonyyli, erityisesti substituoimattomia tai substituoitu yhdellä tai kahdella toisistaan riippumattomalla radikaalilla.

Halogeeni on fluori, kloori, bromi tai jodi, erityisesti fluori tai kloori.

Piperidinyyli on erityisesti, piperidin-4-yyli, joka on substituoimaton tai on edullisesti substituoitu typpiatomiin alempi-alkyylillä, kuten metyylillä, tai alempi-alkoksikarbonyylillä, kuten etoksikarbonyylillä.

Pyrrolidinyyli on erityisesti pyrrolidin-2-yyli tai -5-yyli, joka on substituoimaton tai edullisesti substituoitu oksolla tai hydroksyylillä hiiliatomiin ja substituoitu fenyyli-alempi-alkoksikarbonyylillä typpeen, tai substituoimaton typpeen, ja on edullisesti (R)-muodossa, (R,S)-muodossa tai, erityisesti, (S)-muodossa kiinnityshiiliatomissa, ja on erityisesti 2-oksopyrrolidin-5(S)-yyli, (L)-trans-4-hydroksiprolyyli tai (L)-N-bentsyylioksikarbonyyli-trans-4-hydroksiprolyyli.

Tetrahydropyranyyli on erityisesti tetrahydropyran-2-yyli tai -4-yyli, joka on edullisesti substituoimaton ja on edullisesti liittynyt (R)-muodossa, (S)-muodossa tai, erityisesti, (R,S)-muodossa, edellyttäen että se on liittynyt 2-hiiliatomin kautta.

Tetrahydrofuranyyli on erityisesti tetrahydrofuran-3-yyli, joka on edullisesti substituoimaton ja on edullisesti liittynyt (R)-muodossa, (R,S)-muodossa tai, erityisesti, (S)-muodossa.

Tiatsolidinyyli on erityisesti tiatsolidin-4-yyli, joka on

edullisesti substituoimaton ja on edullisesti (S)-muodossa, (R,S)-muodossa tai, erityisesti, (R)-muodossa (=(L)-muodossa) kiinnityshiiliatomiin.

Tiatsolyyli on, erityisesti, tiatsol-4-yyli, joka on edullisesti substituoitu aminolla, kuten 2-amino-4-tiatsolyyli.

Indolyyli on, erityisesti, indol-2-yyli, joka on edullisesti substituoimaton.

4H-1-bentsopyranyyli on, erityisesti, 4H-1-bentsopyran-2-yyli, joka on substituoimaton tai edullisesti substituoitu oksolla, kuten 4-okso-4H-1-bentsopyran-2-yyli.

Piperidinyylin, pyrrolidinyylin, tetrahydropyranyylin, tetrahydrofuranyylin, tiatsolidinyylin, tiatsolyylin, indolyylin tai 4H-1-bentsopyranyylin okso-, hydroksyyli- ja aminosubstituentit, jotka voivat olla läsnä, ovat edullisesti liittyneet hiileen, kun taas alempi-alkoksi-, alempi-alkoksikarbonyyli- ja fenyyli-alempi-alkoksikarbonyylisubstituentit ovat edullisesti liittyneet typpeen tai hiileen.

Alempi-alkoksiradikaali alempi-alkoksi-alempi-alkanoyylissä R_1 on substituoimaton tai substituoitu yhdellä tai usealla, erityisesti 1 - 3:een mainituista radikaaleista, erityisesti (edullisesti 1 - edullisesti 3) halogeenilla, erityisesti fluorilla; tai (edullisesti kerran) yhdellä jäljellä olevista mainituista radikaaleista, erityisesti (edullisesti kerran) alempi-alkoksilla, erityisesti metoksilla, tai (edullisesti kerran) pyrrolidinyylillä, erityisesti pyrrolidin-2-yylillä tai -5-yylillä, joka on substituoimaton tai, erityisesti, substituoitu oksolla; tai, lisäksi, fenyylillä, kuten bentsyylioksikarbonyylissä.

Alempi-alkanoyylissä R_1, joka on substituoimaton tai substituoitu piperidinyylillä, pyrrolidinyylillä, tetrahydropyranyylillä, tetrahydrofuranyylillä, tiatsolidinyylillä,

tiatsolyylillä, indolyylillä, 4H-1-bentsopyranyylillä, piperidinyylioksilla, pyrrolidinyylioksilla, tetrahydropyranyylioksilla, tetrahydrofuranyylioksilla, tiatsolidinyylioksilla, tiatsolyylioksilla, indolyylioksilla tai 4H-1-bentsopyranyylioksilla, jotka ovat kussakin tapauksessa substituoimattomia tai substituoituja yhdellä tai usealla (edullisesti yhdellä) substituentilla, jotka ovat toisistaan riippumatta okso, hydroksyyli, amino, alempi alkyyli, alempi-alkoksikarbonyyli ja fenyyli-alempi-alkoksikarbonyyli; alempi alkanoyyli on erityisesti formyyli (antaa kussakin tapauksessa tulokseksi yhden mainituista radikaaleista kanssa vastaavasti substituoidun karbonyyliradikaalin), asetyyli tai 2- tai 3-propionyyli, jolloin läsnä on edullisesti (R)-muoto, (R,S)-muoto tai, erityisesti, (S)-muoto kun substituentti on liittynyt 2-asemaan, kun taas loput radikaalit ovat edellä määritellyt. Edullinen on juuri N-alempi-alkoksikarbonyyli-piperidinyyli-alempi-alkanoyyli, esimerkiksi -karbonyyli, kuten N-etoksikarbonyyli-piperidin-4-yylikarbonyyli, pyrrolidinyyli-alempi-alkanoyyli, kuten -karbonyyli, joka on substituoitu hydroksyylillä hiiliatomiin ja/tai fenyyli-alempi-alkoksikarbonyylillä typpiatomiin, ja joka on edullisesti (R)-muodossa, (R,S)-muodossa tai, erityisesti, (S)-muodossa kiinnityshiiliatomissa, kuten (L)-trans-4-hydroksiprolyyli tai (L)-N-bentsyylioksikarbonyyli-trans-4-hydroksiprolyyli, aminotiatsolidinyyli-alempi-alkanoyyli, esimerkiksi -asetyyli, kuten 2-amino-4-tiatsolyyli-asetyyli, tiatsolyyli-alempi-alkanoyyli, esimerkiksi -karbonyyli, kuten tiatsol-2-yylikarbonyyli, indolyyli-alempi-alkanoyyli, esimerkiksi -karbonyyli, kuten indol-2-yylikarbonyyli, 4H-1-bentsopyranyyli-alempi-alkanoyyli, esimerkiksi -karbonyyli, joka on substituoitu oksolla, kuten 4-okso-4H-1-bentsopyran-2-yylikarbonyyli, N-alempi-alkyyli-piperidinyylioksi-alempi-alkanoyyli, esimerkiksi -karbonyyli, kuten N-metyylipiperidin-4-yylioksikarbonyyli, tetrahydropyranyylioksi-alempi-alkanoyyli, esimerkiksi -propionyyli tai -karbonyyli, kuten 2(S)-(tetrahydropyran-4-yylioksi)propionyyli tai tetrahyd-

ropyran-2(R,S)-yylioksikarbonyyli, tai tetrahydrofuranyyli-oksi-alempi-alkanoyyli, esimerkiksi -karbonyyli, kuten tetrahydrofuran-3(S)-yylioksikarbonyyli.

Heterosyklyyli on edullisesti substituoimaton tai substituoitu heterosyklinen rengas, jossa on 5 - 7, edullisesti 5 tai 6 rengasatomia, ja jossa 1 tai 2 rengashiiliatomia on korvattu heteroatomilla, joka on O, N ja S, on tyydyttymätön tai täysin tai osaksi tyydyttynyt ja voi olla yksinkertainen rengas tai bentsofuusioitu, syklopentafuusioitu tai sykloheksafuusioitu, jolloin substituentit ovat edullisesti toisistaan riippumatta yksi tai useita (edullisesti yksi tai kaksi) substituentteja, jotka ovat okso, hydroksyyli, amino, alempi alkyyli, alempi-alkoksikarbonyyli tai fenyyli-alempi-alkoksikarbonyyli; ja on erityisesti, morfolinyyli, piperatsinyyli, esimerkiksi piperatsin-1-yyli, pyridinyyli, esimerkiksi pyridin-3-yyli, piperidinyyli, pyrrolidinyyli, tetrahydropyranyyli, tetrahydrofuranyyli, tiatsolidinyyli, tiatsolyyli, indolyyli ja 4H-1-bentsopyranyyli, jotka ovat kussakin tapauksessa substituoimattomia tai substituoituja yhdellä tai usealla radikaalilla, jotka ovat toisistaan riippumatta okso, hydroksyyli, amino, alempi alkyyli, alempi-alkoksikarbonyyli tai fenyyli-alempi-alkoksikarbonyyli, edullisesti substituoimattomia tai substituoitu yhdellä tai, lisäksi, kahdella mainituista radikaaleista; ja on pääasiassa morfolinyyli, kuten morfolin-4-yyli, alempi-alkyylipiperatsinyyli, erityisesti N-alempi-alkyyli-piperatsinyyli, esimerkiksi 4-alempi-alkyyli-piperatsin-1-yyli, kuten 4-metyyli-piperatsin-1-yyli, tai pyridinyyli, kuten pyridin-3-yyli.

Ary on edullisesti C_{6-14}-aryyli, esimerkiksi fenyyli, naftyyli, kuten 1- tai 2-naftyyli, tai, lisäksi, fluorenyyli, kuten fluoren-9-yyli, ja on substituoimaton tai substituoitu yhdellä tai usealla (edullisesti 1 - 3:lla) radikaalilla, jotka ovat toisistaan riippumatta alempi alkyyli, fenyyli-alempi alkyyli, halogeeni, syaani, hydroksyyli,

alempi-alkoksi, fenyyli-alempi-alkoksi, alempi-alkoksi-alempi-alkoksi, alempi-alkyleenidioksi (liittynyt vastaavan aryylirenkaan kahteen vierekkäiseen hiiliatomiin), pyridyyli-alempi-alkoksi tai fenyyli-alempi-alkaanisulfonyyli, joka on substituoimaton tai on substituoitu fenyyliradikaaliin yhdellä tai usealla radikaalilla, jotka ovat toisistaan riippumatta halogeeni, kuten kloori; ja (vaihtoehtoisesti tai lisäksi) nitro; ja on, erityisesti, fenyyli.

Aryylikarbonyylissä, joka on substituoitu heterosyklyylillä tai heterosyklyyli-alempi alkyylillä, kuten, erityisesti, -metyylillä, tai heterosyklyylikarbonyylissä, joka on substituoitu (samoin yhdellä tai usealla näistä radikaaleista), aryyli ja heterosyklyyli ovat välittömästi edellä määriteltyjä, edullisesti siellä edullisiksi mainittuja; edullisesti läsnä on vain yksi heterosyklyyli- tai heterosyklyyli-alempi alkyyli-substituentti.

Näistä radikaaleista ovat edullisia aryylikarbonyyli, joka on substituoitu kerran heterosyklyyli-alempi alkyylillä, ja heterosyklyylikarbonyyli, joka on substituoitu kerran heterosyklyylillä.

Aryylikarbonyyli, joka on substituoitu heterosyklyyli-alempi alkyylillä, on erityisesti morfolinyyli-alempi-alkyyli-bentsoyyli, kuten 4-(morfolin-4-yylimetyyli)bentsoyyli.

Heterosyklyylikarbonyyli, joka on substituoitu heterosyklyylillä, on erityisesti alempi-alkyylipiperatsinyyli-pyridyylikarbonyyli, kuten N-alempi-alkyylipiperatsinyyli-pyridyylikarbonyyli, erityisesti 4-alempi-alkyyli-piperatsin-1-yyli-pyridyylikarbonyyli, esimerkiksi 2- tai 3-(4-alempi-alkyyli[kuten metyyli]-piperatsin-1-yyli)pyridin-2-yylikarbonyyli tai -3-yylikarbonyyli.

Fenyyli-alempi-alkanoyylissä (tässä yhteydessä käsitteeseen

"fenyyli-alempi-alkanoyyli" luetaan mukaan myös bentsoyyli = fenyylikarbonyyli), joka on substituoitu hydroksyylillä ja alempi-alkyylillä, on edullisesti, kussakin tapauksessa, hydroksyyli- ja alempi alkyyli-substituentti, erityisesti hydroksyyli ja metyyli tai etyyli, fenyylirenkaassa, ja on, erityisesti, vastaavasti substituoitu bentsoyyli, kuten 3-hydroksi-2-metyylibentsoyyli.

Aryylisulfonyyli (= aryyli-SO_2-) sisältää edullisesti, aryylinä, edellä määritellyn radikaalin, erityisesti fenyylin, joka on substituoitu aminolla, nitrolla, aminolla ja alempi-alkyylillä tai nitrolla ja alempi-alkyylillä, ja on pääasiassa 4-nitrobentseenisulfonyyli, 4-aminobentseenisulfonyyli, 2-alempi-alkyyli(erityisesti 2-metyyli)-4-nitrobentseenisulfonyyli tai 4-amino-2-alempi-alkyyli (erityisesti 2-metyyli)-bentseenisulfonyyli.

Vastaavat radikaalit, jotka kuuluvat määritelmään "fenyyli-alempi-alkanoyyli, joka on substituoitu hydroksyylillä ja alempi-alkyylillä" ja "aryylisulfonyyli" R_1, voivat sekä edellä että alla, kaikilla R_1:n määritelmätasoilla, olla myös yksinään, tai ne voidaan jättää pois.

Aminohappotähde, joka on liittynyt karbonyyliryhmän (vastaavassa vapaassa aminohapossa läsnä olevan karboksyyliryhmänsä) kautta kiinnitystyppeen, ts. voidaan saada poistamalla karboksyyliryhmässä (-COOH) olevan OH -ryhmän, on glysiini (H-Gly-OH), alaniini (H-Ala-OH), 2-aminovoihappo, 3-amino-voihappo, 4-aminovoihappo, 3-aminopentaanihappo, 4-aminopentaanihappo, 5-aminopentaanihappo, 3-aminoheksaanihappo, 4-aminoheksaanihappo tai 5-aminoheksaanihappo, valiini (H-Val-OH), norvaliini (α-aminovaleriaanahappo), leusiini (H-Leu-OH), isoleusiini (H-Ile-OH), norleusiini (α-aminoheksaanihappo, H-Nle-OH), seriini (H-Ser-OH), homoseriini (α-amino-γ-hydroksivoihappo), treoniini (H-Thr-OH), metioniini (H-Met-OH), kysteiini (H-Cys-OH), fenyylialaniini (H-Phe-OH), tyrosiini (H-Tyr-OH), 4-aminofenyy-

lialaniini, 4-kloorifenyylialaniini, 4-karboksifenyylialaniini, β-fenyyliseriini (β-hydroksifenyylialaniini), fenyyliglysiini, α-naftyylialaniini (H-Nal-OH), sykloheksyyli-alaniini (H-Cha-OH), sykloheksyyliglysiini, tryptofaani (H-Trp-OH), asparagiinihappo (H-Asp-OH), β-fenyyli-alempi-alkyyli-aspartaatti, kuten β-bentsyyliaspartaatti, asparagiini (H-Asn-OH), aminomalonihappo, aminomalonihappomonoamidi, glutamiinihappo (H- Glu-OH), glutamiini (H-Gln-OH), histidiini (H-His-OH), arginiini (H-Arg-OH), lysiini (H-Lys-OH), δ-hydroksilysiini, ornitiini (α,δ-diaminovaleriaanahappo), 3-aminopropaanihappo, α,γ-diaminovoihappo tai α,β-diaminopropionihappo; ja on edullisesti valiini, norvaliini, leusiini, isoleusiini tai norleusiini, tai, lisäksi, seriini, homoseriini, treoniini, metioniini, kysteiini, fenyylialaniini, tyrosiini, 4-aminofenyylialaniini, 4-kloorifenyylialaniini, 4-karboksifenyylialaniini, β-fenyyliseriini, fenyyliglysiini, α-naftyylialaniini, sykloheksyylialaniini, sykloheksyyliglysiini, tryptofaani, asparagiinihappo, β-fenyyli-alempi-alkyyli-aspartaatti, kuten β-bentsyyliaspartaatti, asparagiini, aminomalonihappomonoamidi, glutamiinihappo, γ-fenyyli-alempi-alkyyli-glutamaatti, kuten γ-bentsyyliglutamaatti, glutamiini, histidiini, arginiini, lysiini, δ-hydroksilysiini tai ornitiini; jolloin erityisen edullisia ovat β-bentsyyliaspartaatti, asparagiinihappo, asparagiini, tai erityisesti valiini; jolloin vastaava(t) aminoryhmä(t) ja muut funktionaaliset ryhmät ovat vapaita tai (mikäli mahdollista) suolamuodossa; ja jolloin mainittujen aminohapporadikaalien asymmetriset hiiliatomit ovat (D)-muodossa, (L)-muodossa tai (D,L)-muodossa, edullisesti (L)-muodossa.

Jonkin viimeksi mainituista aminohapoista tähteessä, joka on liittynyt karbonyyliryhmän kautta ja joka on N-asyloitu aminotyppeen jollain aikaisemmin mainituista asyyliradikaaleista, asyyliradikaaleja ovat: alempi-alkoksi-alempi-alkanoyyli, jossa alempi-alkoksi radikaali on substituoimaton tai substituoitu yhdellä tai usealla radikaalilla,

jotka ovat toisistaan riippumatta halogeeni tai alempi-alkoksi, ja, lisäksi, fenyylillä, tai radikaalilla, joka on piperidinyyli, pyrrolidinyyli, tetrahydropyranyyli, tetrahydrofuranyyli, tiatsolidinyyli, tiatsolyyli, indolyyli tai 4H-1-bentsopyranyyli, jotka ovat substituoimattomia tai substituoitu yhdellä tai usealla radikaalilla, jotka ovat toisistaan riippumatta okso, hydroksyyli, amino, alempi alkyyli, alempi-alkoksikarbonyyli tai fenyyli-alempi-alkoksikarbonyyli; alempi alkanoyyli, joka on substituoimaton tai on substituoitu piperidinyylillä, pyrrolidinyylillä, tetrahydropyranyylillä, tetrahydrofuranyylillä, tiatsolidinyylillä, tiatsolyylillä, indolyylillä, 4H-1-bentsopyranyylillä, piperidinyylioksilla, pyrrolidinyylioksilla, tetrahydropyranyylioksilla, tetrahydrofuranyylioksilla, tiatsolidinyylioksilla, tiatsolyylioksilla, indolyylioksilla tai 4H-1-bentsopyranyylioksilla, jotka ovat kussakin tapauksessa substituoimattomia tai substituoituja yhdellä tai usealla substituentilla, jotka ovat toisistaan riippumatta okso, hydroksyyli, amino, alempi alkyyli, alempi-alkoksikarbonyyli tai fenyyli-alempi-alkoksikarbonyyli; aryylikarbonyyli tai heterosyklyylikarbonyyli, joka on substituoitu heterosyklyylillä tai heterosyklyyli-alempi alkyylillä; (vaihtoehtoisesti tai lisäksi) fenyyli-alempi-alkanoyyli, joka on substituoitu hydroksyylillä ja alempi-alkyylillä; ja (vaihtoehtoisesti tai lisäksi) aryylisulfonyyli; jolloin mainitut asyyliradikaalit ovat edullisesti edellä määritellyt; kun taas aminohappotähde on edellä karbonyyliryhmän kautta liittyneille aminohappotähteille mainittuja tähteitä, erityisesti edellä edullisina mainittuja tähteitä. Erityisen edullinen on alempi-alkoksi-alempi-alkanoyyli-valyyli, kuten alempi-alkoksikarbonyyli-valyyli, esimerkiksi metoksikarbonyyli-valyyli, tai tiatsolidinyyli-valyyli, erityisesti tiatsolidin-4-yyli-valyyli, joka on edullisesti (S)-muodossa, (R,S)-muodossa tai, erityisesti (R)-muodossa (=(L)-muodossa) tiatsolidiinirenkaan 4-hiiliatomissa; jolloin valyylitähde on kussakin tapauksessa edullisesti (L)-muodossa; tai, lisäksi, aspartyyli, N-fenyyli-alempi-

alkoksikarbonyyli-(L)-β-(O-fenyyli-alempi-alkyyli)aspartyyli, kuten N-bentsyylioksikarbonyyli-(L)-β-(O-bentsyyli)-aspartyyli, asparaginyyli tai N-fenyyli-alempi-alkoksikarbonyyli-asparaginyyli, kuten N-bentsyylioksikarbonyyli-asparaginyyli.

R_1 on etupäässä tert-butoksikarbonyyli, 2,2,2-trifluorietoksi-karbonyyli, 2-(metoksi)etoksi-karbonyyli, 5(S)-2-okso-pyrrolidinyyli-metoksikarbonyyli, 1-etoksikarbonyyli-piperidin-4-yylikarbonyyli, trans-(L)-4-hydroksiprolyyli, N-(bentsyylioksikarbonyyli)-trans-(L)-4-hydroksiprolyyli, (L)-tiatsolidin-4-yylikarbonyyli, indol-2-yylikarbonyyli, 4H-1-bentsopyran-2-yylikarbonyyli, N-metyyli-piperidinyylioksikarbonyyli, tetrahydropyran-2(R,S)-yylikarbonyyli, O-(tetrahydropyran-4-yyli)-(L)-laktoyyli (= 2(S)-(tetrahydropyran-4-yylioksi)propionyyli), 3(S)-tetrahydrofuranyylioksikarbonyyli, 2-amino-tiatsol-4-yyliasetyyli, 6-(4-metyyli-piperatsin-1-yyli)-pyridin-3-yylikarbonyyli, 4-(morfolin-4-yylimetyyli)-bentsoyyli, N-metoksikarbonyyli-(L)-valyyli tai N-[(L)-tiatsolidin-4-yylikarbonyyli]-(L)-valyyli, tai, lisäksi, (L)-asparaginyyli, N-bentsyylioksikarbonyyli-(L)-asparaginyyli, (L)-aspartyyli tai N-bentsyylioksikarbonyyli-(L)-β-(O-bentsyyli)-aspartyyli, tai on (vaihtoehtoisesti tai lisäksi) metoksikarbonyyli, 2-metoksi-1(R,S)-metyyli-etoksikarbonyyli, 1,1-dimetyyli-2-metoksietoksikarbonyyli tai 3-hydroksi-2-metyylibentsoyyli.

Sykloheksyyli, sykloheksenyyli, fenyyli, naftyyli (kuten 1- tai 2-naftyyli) tai tetrahydronaftyyli R_2 ja R_3 ovat toisistaan riippumatta substituoimattomia tai ilmoitetulla tavalla substituoituja fenyyli- tai syaanifenyylisubstituenteille muiden mainittujen substituenttien ryhmään vaihtoehtona tai niiden lisäksi; ja jolloin alempi-alkyleenidioksi on liittynyt vastaavan renkaan kahteen, edullisesti vierekkäiseen hiiliatomiin. Edullisesti sykloheksenyyli ja tetrahydronaftyyli ovat substituoimattomia, kun taas sykloheksyyli ja erityisesti fenyyli ja naftyyli ovat substituoi-

mattomia tai ne on substituoitu yhdellä, kahdella tai kolmella radikaalilla, jotka ovat toisistaan riippumatta alempi alkyyli, erityisesti metyyli; fenyyli (vaihtoehtoisesti tai lisäksi); syaanifenyyli, erityisesti 2-syaanifenyyli (vaihtoehtoisesti tai lisäksi); fenyyli-alempi alkyyli, erityisesti 2-fenyylietyyli, halogeeni, erityisesti fluori, syaani, hydroksyyli, alempi-alkoksi, erityisesti metoksi tai, lisäksi, iso-butoksi, alempi-alkoksi-alempi-alkoksi, erityisesti 2-metoksietoksi, alempi-alkyleenidioksi, erityisesti etyleeni-1,2-dioksi tai, erityisesti, metyleenidioksi, joka on liittynyt vastaavan renkaan kahteen vierekkäiseen hiiliatomiin, fenyyli-alempi-alkoksi, erityisesti bentsyylioksi, pyridyyli-alempi-alkoksi, jossa pyridyyli on liittynyt rengashiiliatomin kautta, kuten pyridiini-2-, pyridiini-3- tai, lisäksi, pyridin-4-yylimetoksi, tai fenyyli-alempi-alkaanisulfonyyli (= fenyyli-alempi-alkyyli-$S(=O)_2$-), joka on substituoimaton tai on substituoitu, erityisesti fenyyliradikaaliin, yhdellä tai usealla, erityisesti kahdella radikaalilla, jotka ovat halogeeni, erityisesti kloori, erityisesti dikloorifenyyli-alempi-alkaanisulfonyyli, kuten 2,6-diklooribentsyylisulfonyyli (= 2,6-dikloorifenyylimetaanisulfonyyli), tai, lisäksi, halogeeni-alempi alkyyli, jossa on edullisesti enintään 3 halogeeniatomia, erityisesti fluoriatomia, esimerkiksi trifluorimetyyli, alempi-alkoksikarbonyyli-alempi-alkoksi, kuten etoksikarbonyylimetoksi, karboksi-alempi-alkoksi, kuten karboksimetoksi, hydroksi-alempi-alkoksi, jossa on ainakin kaksi hiiliatomia ja jossa hydroksyyli ei ole liittynyt 1-asemaan, kuten 2-hydroksietoksi, karbamoyyli-alempi-alkoksi, kuten karbamoyylimetoksi (H_2N-C(=O)-CH_2-O-), tai syaani-alempi-alkoksi, kuten syaanimetoksi.

Edullisesti R_2 ja R_3 ovat sykloheksyyli, sykloheksenyyli, kuten sykloheksen-1-yyli, fenyyli, fenyyli-alempi-alkoksifenyyli, erityisesti 4-fenyyli-alempi-alkoksifenyyli, kuten 4-(bentsyylioksi)fenyyli, difluorifenyyli, erityisesti 2,4-difluorifenyyli, syaanifenyyli, erityisesti 4-syaanifenyy-

li, alempi-alkoksifenyyli, kuten 2-, 3- tai 4-alempi-alkoksifenyyli, esimerkiksi 4-isobutyylioksifenyyli tai, erityisesti, 2-, 3- tai, erityisesti, 4-metoksifenyyli, tri-alempi-alkoksi-fenyyli, erityisesti trimetoksifenyyli, jossa esimerkiksi on alempi-alkoksi-substituentit 3,4,5-asemissa, kuten 3,4,5-trimetoksifenyylissä, 2,4,5-asemissa, kuten 2,4,5-trimetoksifenyylissä, 2,4,6-asemissa, kuten 2,4,6-trimetoksifenyylissä, jolloin tri-alempi-alkoksiradikaalit tai metoksiradikaalit on edullisesti liitetty epäsymmetrisesti fenyylirenkaaseen, etupäässä 2,3,4-asemiin, esimerkiksi 2,3,4-trimetoksifenyylissä, alempi-alkoksi-alempi-alkoksi-fenyyli, kuten 4-(alempi-alkoksi-alempi-alkoksi)fenyyli, erityisesti 4-(2-metoksi-etoksi)fenyyli, alempi-alkyleenidioksifenyyli, jossa alempi-alkyleenidioksiradikaali on liitetty kahden happiatominsa kautta fenyylirenkaan kahteen vierekkäiseen hiiliatomiin, esimerkiksi metyleenidioksifenyyli, kuten 3,4-metyleenidioksifenyyli, tai pyridyyli-alempi-alkoksi-fenyyli, kuten 4-(pyridin-2- tai pyridin-3-yyli-alempi-alkoksi)fenyyli, erityisesti pyridin-3-yyli-alempialkoksifenyyli, esimerkiksi pyridin-3-yyli-metoksifenyyli; tai, lisäksi, 4-alempi-alkoksi-2-fluorifenyyli, kuten 4-metoksi-2-fluorifenyyli, 4-fluori-2-alempi-alkoksifenyyli, kuten 4-fluori-2-metoksifenyyli, 4-alempi-alkoksi-2-hydroksifenyyli, kuten 4-metoksi-2-hydroksifenyyli, fenyyli, joka on substituoitu enintään kolmella alemmalla alkyylillä, kuten metyyli, tai alempi-alkoksi, kuten metoksi, kuten 4-alempi-alkoksi-2,3-di-alempi-alkyylifenyyli, esimerkiksi 4-metoksi-2,3-dimetyylifenyyli, fenyyli-alempi-alkyylifenyyli, kuten 4-fenyyli-alempi-alkyylifenyyli, esimerkiksi 4-(2-fenyyli-etyyli)-fenyyli, fluorifenyyli, kuten 2-fluorifenyyli, hydroksifenyyli, kuten 4-hydroksifenyyli, di-alempi-alkoksifenyyli, erityisesti dimetoksifenyyli, esimerkiksi 2,4-di-alempi-alkoksifenyyli, kuten 2,4-dimetoksifenyyli, 3,4-di-alempi-alkoksifenyyli, kuten 3,4-dimetoksifenyyli, 2,5-di-alempi-alkoksifenyyli, kuten 2,5-dimetoksifenyyli, tai 2,6-di-alempi-alkoksifenyyli, kuten 2,6-dimetoksifenyyli, tetrahydronaf-

tyyli, erityisesti 5,6,7,8-tetrahydro-1-naftyyli, halogeeninaftyyli, kuten fluorinaftyyli, erityisesti 4-fluorinaftyyli, syaaninaftyyli, erityisesti 4-syaaninaftyyli, alempi-alkoksinaftyyli, erityisesti 4-alempi-alkoksinaftyyli, kuten 4-metoksi-1-naftyyli, tai dihalogeenifenyyli-alempi-alkaanisulfonyylifenyyli, erityisesti dikloorifenyyli-alempi-alkaanisulfonyylifenyyli, kuten 4-(2,6-dikloori-bentsyylisulfonyyli)fenyyli; tai, vaihtoehtoisesti tai aikaisemmin mainittujen radikaalien lisäksi bifenylyyli, kuten 4-bifenylyyli, tai (syaanifenyyli)fenyyli, kuten 2'-syaanibifenyl-4-yyli.

Erityisen edullisia ovat kaavan I mukaiset yhdisteet, jossa R_3 on 2,3,4-tri-alempi-alkoksifenyyli, erityisesti 2,3,4-trimetoksifenyyli, kunb taas loput radikaalit R_1, R_2, R_4, R_5 ja n ovat edellä tai alla määritellyt.

Edullisia ovat kaavan I mukaiset yhdisteet, jossa on läsnä seuraavat R_2:n ja R_3:n yhdistelmät:

	Radikaali R_2	Radikaali R_3
1)	4-(fenyyli-alempi-alkoksi)-fenyyli, erityisesti 4-(bentsyylioksi)fenyyli	4-(fenyyli-alempi-alkoksi)-fenyyli, erityisesti 4-(bentsyylioksi)fenyyli
2)	Fenyyli	Syaanifenyyli, erityisesti 4-syaanifenyyli
3)	Fenyyli	2-fluorifenyyli
4)	Fenyyli	2,4-difluorifenyyli
5)	Fenyyli	4-fenyyli-alempi-alkyylifenyyli, erityisesti 4-(2-fenyylietyyli)fenyyli

6)	Fenyyli	4-alempi-alkoksifenyyli, erityisesti 4-metoksifenyyli tai, lisäksi, 4-isobutoksifenyyli
7)	Fenyyli	Dikloorifenyyli-alempi-alkaanisulfonyylifenyyli, erityisesti 4-(2,6-diklooribentsyylisulfonyyli)-fenyyli
8)	4-(alempi-alkoksi-alempialkoksi)fenyyli, erityisesti 4-(2-metoksi-etoksi)fenyyli	4-(fenyyli-alempi-alkoksi)fenyyli, erityisesti 4-(bentsyylioksi)fenyyli
9)	4-(alempi-alkoksi-alempialkoksi)fenyyli, erityisesti 4-(2-metoksietoksi)-fenyyli	Hydroksifenyyli, erityisesti 4-hydroksifenyyli
10)	4-(alempi-alkoksi-alempialkoksi)fenyyli, erityisesti 4-(2-metoksi-etoksi)fenyyli	4-(alempi-alkoksi)fenyyli, erityisesti 4-metoksifenyyli
11)	4-(alempi-alkoksi-alempialkoksi)-fenyyli, erityisesti 4-(2-metoksi-etoksi)fenyyli	4-(alempi-alkoksi-alempialkoksi)fenyyli, erityi-4-(2-metoksietoksi)fenyyli
12)	4-(fenyyli-alempi-alkoksi)fenyyli, erityisesti 4-(bentsyylioksi)fenyyli	4-(alempi-alkoksi)fenyyli, erityisesti 4-metoksifenyyli

13)	4-hydroksifenyyli	4-(alempi-alkoksi)- fenyyli, erityisesti 4-metoksifenyyli
14)	4-(alempi-alkoksi)fenyyli, erityisesti 4-metoksifenyyli tai 4-isobutoksifenyyli	4-alempi-alkoksifenyyli, erityisesti 4-metoksifenyyli
15)	4-(alempi-alkoksi)fenyyli, erityisesti 4-metoksifenyyli	Fenyyli
16)	Sykloheksyyli	4-alempi-alkoksifenyyli, erityisesti 4-metoksifenyyli
17)	Fenyyli	4-alempi-alkoksi-2-fluorifenyyli, erityisesti 4-metoksi- 2-fluorifenyyli
18)	Fenyyli	4-fluori-2-alempi-alkoksifenyyli, erityisesti 4-fluori-2-metoksifenyyli
19)	Fenyyli	4-alempi-alkoksi-2-hydroksifenyyli, erityisesti 4-metoksi- 2-hydroksifenyyli
20)	4-alempi-alkoksifenyyli, erityisesti 4-metoksifenyyli	Sykloheksyyli
21)	4-alempi-alkoksifenyyli, erityisesti 4-metoksifenyyli	Sykloheksen-1-yyli

22)	Sykloheksyyli	4-(fenyyli-alempi-alkoksi)fenyyli, erityisesti 4-(bentsyylioksi)fenyyli
23)	Sykloheksyyli	4-hydroksifenyyli
24)	Fenyyli	Fenyyli
25)	Fenyyli	4-(fenyyli-alempi-alkoksi)-fenyyli, erityisesti 4-(bentsyylioksi)fenyyli
26)	Fenyyli	4-((pyridin-2-yyli- tai pyridin-3-yyli)alempi-alkoksi)- fenyyli, erityisesti 4-(pyridin-2-yyli- tai, erityisesti, pyridin-3-yyli)metoksifenyyli
27)	Fenyyli	3,4-alempi-alkyleenidioksifenyyli, erityisesti 3,4-metyleenidioksifenyyli
28)	Fenyyli	3,4-di-alempi-alkoksifenyyli, erityisesti 3,4-dimetoksifenyyli
29)	Fenyyli	3-alempi-alkoksifenyyli, erityisesti 3-metoksifenyyli
30)	Fenyyli	2,3,4-tri-alempi-alkoksifenyyli, erityisesti 2,3,4-trimetoksifenyyli

31)	Fenyyli	3,4,5-tri-alempi-alkoksi-fenyyli, erityisesti 3,4,5-trimetoksifenyyli
32)	Fenyyli	2,4-di-alempi-alkoksi-fenyyli, erityisesti 2,4-dimetoksifenyyli
33)	Fenyyli	2-(alempi-alkoksi)fenyyli, erityisesti 2-metoksifenyyli
34)	Fenyyli	4-alempi-alkoksi-2,3-di-alempi-alkyylifenyyli, erityisesti 4-metoksi-2,3-dimetyylifenyyli
35)	Fenyyli	2,4,5-tri-alempi-alkoksi-fenyyli, erityisesti 2,4,5-trimetoksifenyyli
36)	Fenyyli	2,4,6-tri-alempi-alkoksi-fenyyli, erityisesti 2,4,6-trimetoksifenyyli
37)	Fenyyli	5,6,7,8-tetrahydro-1-naftyyli-
38)	Fenyyli	2,5-di-alempi-alkoksi-fenyyli, erityisesti 2,5-dimetoksifenyyli
39)	Fenyyli	2,6-di-alempi-alkoksi-fenyyli, erityisesti 2,6-dimetoksifenyyli

40)	Fenyyli	Alempi-alkoksi-naftyyli, erityisesti 4-metoksi-1-naftyyli
41)	Fenyyli	Syaaninaftyyli, erityisesti 4-syaani-1-naftyyli
42)	Fenyyli	Fluorinaftyyli, erityisesti 4-fluori-1-naftyyli
43)	Sykloheksyyli	2,3,4-tri-alempi-alkoksi-fenyyli, erityisesti 2,3,4-trimetoksifenyyli
44)	Sykloheksyyli	4-(alempi-alkoksi-alempi-alkoksi)-fenyyli, erityisesti 4-(2-metoksietoksi)-fenyyli
45)	Sykloheksyyli	3,4-alempi-alkyleenidioksifenyyli, erityisesti 3,4-metyleenidioksifenyyli
46)	Sykloheksyyli	3,4-di-alempi-alkoksi-fenyyli, erityisesti 3,4-dimetoksifenyyli
47)	Sykloheksyyli	3-alempi-alkoksifenyyli, erityisesti 3-metoksi-fenyyli
48)	Sykloheksyyli	3,4,5-tri-alempi-alkoksi-fenyyli, erityisesti 3,4,5-trimetoksifenyyli

49)	Sykloheksyyli	2,4-di-alempi-alkoksi-fenyyli, erityisesti 2,4-dimetoksifenyyli
50)	Sykloheksyyli	2-(alempi-alkoksi)fenyyli, erityisesti 2-metoksifenyyli
51)	Sykloheksyyli	4-alempi-alkoksi-2,3-di-alempi-alkyylifenyyli, erityisesti 4-metoksi-2,3-dimetyylifenyyli
52)	Sykloheksyyli	2,4,5-tri-alempi-alkoksi-fenyyli, erityisesti 2,4,5-trimetoksifenyyli
53)	Sykloheksyyli	2,4,6-tri-alempi-alkoksi-fenyyli, erityisesti 2,4,6-trimetoksifenyyli
54)	Sykloheksyyli	5,6,7,8-tetrahydro-1-naftyyli-
55)	Sykloheksyyli	2,5-di-alempi-alkoksi-fenyyli, erityisesti 2,5-dimetoksifenyyli
56)	Sykloheksyyli	2,6-di-alempi-alkoksi-fenyyli, erityisesti 2,6-dimetoksifenyyli
57)	Sykloheksyyli	Alempi-alkoksi-naftyyli, erityisesti 4-metoksi-1-naftyyli

58)	Sykloheksyyli	Syaaninaftyyli, erityisesti 4-syaani-1-naftyyli
59)	Sykloheksyyli	Fluorinaftyyli, erityisesti 4-fluori-1-naftyyli tai vaihtoehtoisesti tai lisäksi:
60)	Fenyyli	Bifenylyyli, erityisesti 4-bifenylyyli
61)	4-(fenyyli-alempi-alkoksi)fenyyli, erityisesti 4-bentsyylioksifenyyli	Bifenylyyli, erityisesti 4-bifenylyyli
62)	4-Hydroksifenyyli	Bifenylyyli, erityisesti 4-bifenylyyli
63)	4-alempi-alkoksifenyyli, erityisesti 4-metoksifenyyli	Bifenylyyli, erityisesti 4-bifenylyyli
64)	Fenyyli	(syaanifenyyli)fenyyli, erityisesti 2'-syaanibifenyyli-4-yyli
65)	4-(fenyyli-alempi-alkoksi)fenyyli, erityisesti 4-bentsyylioksifenyyli	(syaanifenyyli)fenyyli, erityisesti 2'-syaanibifenyyli-4-yyli
66)	4-hydroksifenyyli	(syaanifenyyli)fenyyli, erityisesti 2'-syaanibifenyyli-4-yyli
67)	4-alempi-alkoksifenyyli, erityisesti 4-metoksifenyyli	(syaanifenyyli)fenyyli, erityisesti 2'-syaanibifenyyli-4-yyli

68)	Sykloheksyyli	(syaanifenyyli)fenyyli, erityisesti 2'-syaanibifenyyli-4-yyli
69)	Sykloheksyyli	4-alempi-alkoksifenyyli, erityisesti 4-metoksifenyyli
70)	Fenyyli	4-hydroksifenyyli

Yhdistelmät R_2 ja R_3, jotka ovat aivan erityisen edullisia, ovat välittömästi edellä numeroilla 2), 4), 6), 8), 16), 24), 26), 27), 30) ja 44) esitetyt, erutyisesti kohdassa 6) esitetyt ja, erikoisesti kohdassa 30) esitetyt.

R_4 on edullisesti alempi alkyyli, erityisesti metyyli tai isopropyyli, tai muuten sec-butyyli (= 1-metyylipropyyli).

Alempi alkyyli R_5 on edullisesti metyyli tai muuten etyyli.

Muuttuja n on edullisesti 1.

Kaavan I mukaisten yhdisteiden suolat ovat, erityisesti (kun kaavan I mukaisissa yhdisteissä on läsnä emäksisiä ryhmiä), happoadditiosuoloja, suoloja emästen kanssa (kun kaavan I mukaisissa yhdisteissä on läsnä happamia ryhmiä) tai muuten mahdollisesti sekasuoloja tai sisäisiä suoloja, kun läsnä on useita suolanmuodostusryhmiä.

Suolat ovat etupäässä kaavan I mukaisten yhdisteiden farmaseuttisesti käyttökelpoisia, ei-toksisia suoloja.

Sellaisia suoloja muodostetaan esimerkiksi kaavan I mukaisista yhdisteistä, joissa on hapan ryhmä, esimerkiksi karboksyyliryhmä, sulforyhmä tai fosforyyliryhmä, joka on

substituoitu yhdellä tai kahdella hydroksyyliryhmällä, ja ovat esimerkiksi niiden suoloja sopivien emästen kanssa, kuten ei-toksisia metallisuoloja, jotka ovat peräisin alkuaineiden jaksollisen järjestelmän ryhmien Ia, Ib, IIa ja IIb metalleista, etupäässä sopivia alkalimetallisuoloja, esimerkiksi litium-, natrium- tai kaliumsuoloja, tai maa-alkalimetallisuoloja, esimerkiksi magnesium- tai kalsiumsuoloja, ja myös sinkkisuoloja tai ammoniumsuoloja, ja myös niitä suoloja, jotka on muodostettu orgaanisilla amiineilla, kuten mono-, di- tai trialkylamiineilla, erityisesti mono-, di- tai tri-alempi-alkyyliamiineilla, jotka ovat substituoimattomia tai on substituoitu hydroksyylillä, tai kvaternaarisilla ammoniumyhdisteillä, esimerkiksi N-metyyli-N-etyyliamiinilla, dietyyliamiinilla, trietyyliamiinilla, mono-, bis- tai tris-(2-hydroksi-alempi-alkyyli)amiineilla, kuten mono-, bis- tai tris-(2-hydroksietyyli)amiinilla, 2-hydroksi-tert-butyyliamiinilla tai tris-(hydroksimetyyli)metyyliamiinilla, N,N-di-alempi-alkyyli-N-(hydroksi-alempi-alkyyli)amiineilla, kuten N,N-dimetyyli-N-(2-hydroksietyyli)amiinilla tai tri-(2-hydroksietyyli)amiinilla, N-metyyli-D-glukamiinilla tai kvaternaarisilla ammoniumsuoloilla, kuten tetrabutyyliammoniumsuoloilla.

Kaavan I mukaiset yhdisteet, joissa on emäksinen ryhmä, esimerkiksi aminoryhmä, voivat muodostaa happoadditiosuoloja, esimerkiksi epäorgaanisten happojen kanssa, esimerkiksi vetyhalogenidihapon, kuten suolahapon, rikkihappo tai fosforihapon, tai orgaanisten karboksyyli-, sulfoni-, sulfato- (-O-SO_3H) tai fosfohappojen tai N-substituoitujen sulfamiinihappojen, esimerkiksi etikkahapon, propionihapon, glykolihapon, meripihkahapon, maleiinihapon, hydroksimaleiinihapon, metyylimaleiinihapon, fumaarihapon, omenahapon, viinihapon, glukonihapon, glukaarihapon, glukuronihapon, sitruunahapon, bentsoehapon, kanelihapon, mantelihapon, salisyylihapon, 4-aminosalisyylihapon, 2-fenoksibentsoehapon, 2-asetoksibentsoehapon, embonihapon, nikotiinihapon tai isonikotiinihapon kanssa, ja lisäksi aminohappojen, esimerkiksi edellä mainittujen α-aminohappojen, erityisesti

glutamiinihapon ja asparagiinihapon, ja myös metaanisulfonihapon, etaanisulfonihapon, 2-hydroksietaanisulfonihapon, etaani-1,2-disulfonihapon, bentseenisulfonihapon, 4-metyylibentseenisulfonihapon, naftaleeni-2-sulfonihapon, 2- tai 3-fosfoglyseraatin, glukoosi-6-fosfaatin tai N-sykloheksyylisulfamiinihapon kanssa (syklamaatteja muodostaen), tai muiden happamien orgaanisten yhdisteiden, kuten askorbiinihapon kanssa. Kaavan I mukaiset yhdisteet, joissa on happamia ja emäksisiä ryhmiä, voivat myös muodostaa sisäisiä suoloja.

Myös farmaseuttisesti sopimattomia suoloja, esimerkiksi perkloraatteja tai pikraatteja, voidaan käyttää eristykseen tai puhdistukseen. Vain farmaseuttisesti hyödynnettävät suolat, jotka ovat oikein käytettäessä ei-toksisia, soveltuvat terapeuttiseen käyttöön ja ovat sen vuoksi edullisia.

Kaavan I mukaisilla yhdisteillä on arvokkaita farmakologisia ominaisuuksia. Niillä on anti-retroviraalista aktiivisuutta, erityisesti HIV-1- ja HIV-2-viruksia vastaan, joita pidetään AIDS'ia aiheuttavina aineina, ja hämmästyttävästi niillä on synergistisiä vaikutuksia käytettäessä yhdistelmänä muiden yhdisteiden kanssa, joilla on retroviraalisten aspartaattiproteaasien vastaista aktiivisuutta. Kaavan I mukaiset yhdisteet ovat retroviraalisten aspartaattiproteaasien estäjiä, erityisesti HIV-1:n tai HIV-2:n aspartaattiproteaasin estäjhiä, ja ne ovat sen vuoksi sopivia retroviraalisten sairauksien, kuten AIDS'in tai sen esiasteiden (esimerkiksi ARDS'n) hoitoon. Kaavan I mukaisilla yhdisteillä on myös vaikutusta vastaavia eläinretroviruksia, kuten SIV'iä (apinoilla) tai FIV'iä (kissoilla) vastaan.

Tässä yhteydessä kaavan I mukaisilla yhdisteillä on erityisen edulliset farmakodynaamiset ominaisuudet, esimerkiksi hyvä farmakodynamiikka, kuten korkea hyötyosuus ja/-tai korkeat veritasot (erityisesti oraalisesti annettaessa), ja/tai hyvä siedettävyys.

Kaavan I mukaisten yhdisteiden HIV-1-proteaasin proteolyyttisen aktiivisuuden vastainen estovaikutus voidaan osoittaa esimerkiksi käyttämällä menetelmää, joka on analoginen menetelmäölle, joka kuvataan julkaisussa: A. D. Richards *et al.*; J. Biol. Chem. 265(14), 7733-7736 (1990). Tässä tapauksessa HIV-1-proteaasin (valmistettu tavalla, joka kuvataan julkaisussa: S. Billich *et al.*; J. Biol. Chem. 263(34), 17905-17908 (1990)) vaikutuksen esto mitataan eikosapeptidin RRSNQVSQNYPIVQNIQGRR (HIV-1-proteaasin keinotekoinen substraatti, joka on valmistettu peptidisynteesillä tunnettuja menetelmiä käyttämällä, katso julkaisua: J. Schneider *et al.*; Cell 54, 363-368 (1988)) läsnä ollessa, joka substraattianalogina, käsittää yhden gag-prekursoriproteiinin (HIV-1-proteaasin luonnollisen substraatin) katkaisukohdista. Tämä substraatti ja sen katkaisutuotteet analysoidaan HPLC:llä (high performance liquid chromatography).

Testattava aktiivinen yhdiste liuotetaan dimetyylisulfoksidiin. Entsyymitesti suoritetaan lisäämällä testiseokseen estäjän sopivia laimennoksia 20 mM β-morfolinoetaanisulfonihappo(MES) -puskurissa, pH 6,0. Testiseos koostuu edellä mainitusta eikosapeptidistä (122 μM) 20 mM MES-puskurissa, pH 6,0. Testiseosta kohden käytetään 100 μl. Reaktio käynnistetään lisäämällä 10 μl HIV-1-proteaasiliuosta, ja lopetetaan yhden tunnin 37 °C:ssa inkuboinnin jälkeen lisäämällä 10 μl 0,3 M $HClO_4$:ää. Kun näytettä on sentrifugoitu 5 min ajan nopeudella 10 000 x g, 20 μl tulokseksi saatua supernatanttia lisätään 125 x 4,6 mm ®Nucleosil C18-5μ HPLC-kolonniin (käänteisfaasimateriaalia yhtiöstä Macherey & Nagel, Düren, SLT, joka perustuu silikageeliin, joka on päällystetty C_{18}-alkyyliketjuilla). Katkaisematon eikosapeptidi ja sen katkaisutuotteet eluoidaan kolonnista seuraavaa gradienttia käyttämällä: 100 % eluenttia 1 -> 50 % eluenttia 1 + 50 % eluenttia 2 (eluentti 1: 10 % asetonitriiliä, 90 % H_2O:ta, 0,1 % trifluorietikkahappoa (TFA); eluentti 2: 75 % asetonitriiliä, 25 % H_2O:ta,

0,08 % TFA:ta) 15 min aikana virtausnopeudella 1 ml/min. Eluoidut peptidifragmentit kvantisoidaan mittaamalla katkaisutuotteen huipun korkeuden 215 nm:llä.

Kaavan I mukaisten yhdisteiden estovaikutukset ovat alueella 10^{-1} - 10^{-9} M. Tässä yhteydessä saadaan edullisesti IC_{50}-arvot (IC_{50} = konsentraatio, joka alentaa HIV-1-proteaasin aktiivisuutta 50 %:illa verrattuna kontrollin aktiivisuuteen ilman estäjää) noin 5 x 10^{-5} - 10^{-9} M.

Edelleen eräässä testissä voidaan osoittaa, että kaavan I mukaiset yhdisteet joko suojaavat normaalisti HIV:llä infektoituvia soluja sellaiselta infektiolta tai ainakin hidastavat sellaista infektiota. Tässä testissä käytetään ihmisen T-soluleukemiasolulinjaa MT-2 (Science 229, 563 (1985)), joka on äärimmäisen herkkä HIV:n sytopaattiselle vaikutukselle, koska se tuottaa alituisesti HTLV-1:tä (virusta, joka aiheuttaa leukemiaa). MT-2 -soluja kasvatetaan RPMI 1640 -väliaineessa (Gibco, Skotlanti; RPMI käsittää aminohapposeosta, josta puuttuu glutamiini), jota on täydennetty 10 %:illa lämmössä inaktivoitua naudan sikiön seerumia, glutamiinilla ja standardiantibiooteilla. Solut ovat aina vapaita mykoplasmoista. HIV-1 -virusta (kanta LAV) kasvatetaan A 3.01 -soluissa (NIH, Bethesda, USA), solulinjassa, jota käytetään HIV-1:n kasvatukseen ja joka on peräisin CEM -solulinjasta. Mittaus käänteistranskriptaasille tarkoitetulla testillä (katso alla) osoittaa, että virusvalmisteen tiitteri on 2 x 10^7 IU/ml.

Testiyhdisteiden infektionestotehon mittaamiseksi lisätään 50 µl kulloistakin estiainetta kasvatusväliaineessa ja 100 µl HIV-1:tä kasvatusväliaineessa (800 TCID50/ml, TCID50 = kudosviljelmän infektoiva annos = annos, joka infektoi 50 % MT-2-soluista) 10 x 10^4:ään eksponentiaalisesti kasvavaan MT-2 -soluun, jotka lisätään aluksi 50 µl:aan kasvatusväliainetta 96-kaivoisille mikrotiitterilevyille. 4 päivän inkuboinnin jälkeen kustakin kaivosta poistetaan käänteis-

transkriptaasiaktiivisuuden mittausta varten näyte, joka koostuu 10 µl:sta supernatanttia. Retroviruksille spesifisen käänteistranskriptaasientsyymin tiitteriä käytetään virustiitterin mittana. Tiitterin määrittämiseksi näytteet, jotka on poistettu, lisätään ensin toiselle 96-kaivoiselle mikrotiitterilevylle ja, varastoidaan mittaamiseen asti -20 °C:ssa.

Mittausta suoritettaessa jokaiseen kaivoon lisätään 30 µl käänteistranskriptaasicoctailia. Käänteistranskriptaasicoctailissa on 50 mM Tris'iä (α,α,α-tris(hydroksimetyyli)metyyliamiini, Ultra pur, Merck, Saksa), pH 7,8; 75 mM KCl:ää, 2 mM ditiotreitolia, 5 mM $MgCl_2$:ta; 0,1 % Nonidet P-40:tä (detergentti; Sigma, Sveitsi), 0,8 mM EDTA:ta, 10 µg/ml poly-A:ta (Pharmacia, Uppsala, Ruotsi) ja 0,16 µg/ml oligo(T):tä (= pdT(12-18), Pharmacia, Uppsala, Ruotsi) templaattialukkeena. Seos suodatetaan 0,45-µm Acrodisc-suodattimen (Gelman Sciences Inc., Ann Arbor, USA) läpi ja säilytetään -20 °C:ssa. Ennen testiä liuoksen eriin lisätään 0,1 % (tilavuus/tilavuus) [α-^{32}P]dTTP:tä lopullisen radioaktiivisuuden 370 GBq/ml (10 µCi/ml) tuottamiseksi.

Kun on sekoitettu, levyä inkuboidaan 2 tunnin ajan 37 °C:ssa. 5 µl reaktioseoksesta siirretään sitten DE81-paperiin (Whatinan, yksi suodatin/kaivo). Kuivatut suodattimet pestään kolmesti 5 min ajan 300 mM NaCl:llä/25 mM trinatriumsitraattia ja sitten kerran etanolilla, ja kuivataan vielä kerran ilmassa. Suodattimilla oleva radioaktiivisuus mitataan 96-kaivoisella Packard Matrix -laskulaitteella (Packard, Zürich, Sveitsi). Lasketaan ED90-arvot ja määritellään testiyhdisteiden konsentraatioina, jotka alentavat RT-aktiivisuutta 90 %:illa verrattuna aktiivisuuteen kontrollilla ilman testiyhdistettä.

Kaavan I mukaiset yhdisteet estävät viruksen replikaation tässä testissä edullisesti konsentraatioilla 5×10^{-5} - 10^{-8} M.

Täten kaavan I mukaiset yhdisteet soveltuvat HIV-1:n replikaation aktiiviseen hidastukseen soluviljelmissä.

On myös mahdollista mitata kaavan I mukaisten yhdisteiden veritasot.

Tähän tarkoitukseen tutkitut kaavan I mukaiset yhdisteet liuotetaan esimerkiksi dimetyylisulfoksidiin (DMSO) konsentraatioissa 240 mg/ml. Tulokseksi saadut liuokset laimennetaan 20 %:illa (paino/tilavuus) hydroksipropyyli-β-syklodekstriiniä (HPβCD), jotta saataisiin testiaineen konsentraatio 12 mg/ml. Tätä liuosta annetaan oraalisesti hiirille ruokintaletjulla annoksella 120 mg/kg. Eläimiä tapetaan ajankohtina 30, 60, 90 ja 120 min annon jälkeen, ja veri poistetaan. Kunakin ajankohtana tutkitaan 3 - 4 eläintä. Veri heparinisoidaan ja käsitellään analyysiä varten seuraavalla tavalla: heparinisoituun vereen lisätään sisäistä standardia antamaan lopullisen konsentraation 4 μM. Veri sentrifugoidaan. Otetaan 0,25 ml plasmaa, ja proteiininpoistokäsitellään yhtäsuurella tilavuudella asetonitriiliä. Sentrifugoinnin jälkeen supernatantti kuivataan tyhjössä, ja jäännös suspendoidaan 20 μl:aan 3 M NaCl-liuosta ja 100 μl:aan 0,05 M ftalaattipuskuria, jonka pH-arvo on 3,0. Suspensio uutetaan ensin 1 ml:lla ja sitten 0,2 ml:lla di-isopropyylieetteriä. Di-isopropyylieetteriliuos haihdutetaan kuiviin, ja jäännös liuotetaan 50-%:iseen (tilavuus/tilavuus) asetonitriilin vesiliuokseen. Tämä liuos tutkitaan käänteisfaasi-HPLC:llä.

Käänteisfaasi-HPLC-analyysi suoritetaan käyttämällä 125 x 4,6 mm Nucleosil® C_{18} -kolonnia (käänteisfaasimateriaali yhtiöstä Macherey-Nagel, Düren, SLT, perustuen silikageeliin, joka on derivatisoitu 18 hiiliatomia sisältävillä hiilivetytähteillä),joka tasapainotetaan liikkuvalla faasilla, jossa on 50 % asetonitriiliä vedessä/0,1 % trifluorietikkahappoa. Virtausnopeus on 1 ml/min. Osoitus tapahtuu 215 nm:llä. Yhdisteiden standardit veressä käsitellään

verinäytteiden kanssa analogisesti, ja käytetään standardikäyrien muodosatamiseen, joita sitten käytetään *in vivo* -konsentraatioiden määritykseen.

Nämä ja näihin liittyvät kokeet, ja myös kokeet, joihin liittyy parenteraalinen anto, osoittavat, että kaavan I mukaisia yhdisteitä käyttämällä voidaan saada veritasoja, jotka ovat suurempia kuin ED_{90} edellä mainitussa solumäärityksessä. Tästä syystä tämänluonteiset yhdisteet soveltuvat myös viruksen kasvun estoon *in vivo*.

Aspartaattiproteaasin *in vitro* -eston, virusreplikaation soluviljelmässä eston ja veritasojen jyrsijöillä, kuten rotalla tai hiirellä mittauksen yhdistelmää käytetään aspartaattiproteaasinestäjien kliinisen potentiaalin määritykseen (katso esimerkiksi julkaisua: Roberts, N. A., *et al.*; Biochemical Soc. Transactions 20, 513-516 (1992)).

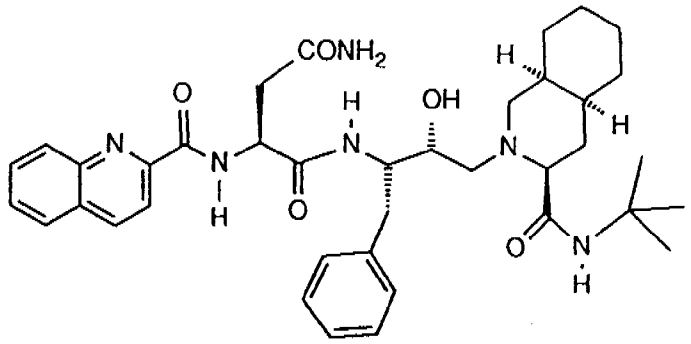
Veritasoja, jotka ovat suuremmat kuin ED_{90} edellä mainitussa solumäärityksessä, voidaan havaita myös, kun kaavan I mukaisia yhdisteitä annetaan (esimerkiksi oraalisesti) koirille. Seurauksena solukokeen, jyrsijöiden veritasojen ja koirien veritasojen tietojen yhdistelmä tekee myös todennäköiseksi mahdollisuuden käyttää yhdisteitä retrovirussairauksien, erityisesti mainittujen sairauksien hoitoon muilla nisäkkäillä, kuten ihmisillä.

Kaavan I mukaisia yhdisteitä voidaan myös käyttää estämään, kontrolloimaan ja hoitamaan retroviruksista, erityisesti HIV:stä, kuten HIV-1:stä tai HIV-2:sta johtuvia infektioita soluviljelmissä, erityisesti nisäkkäistä olevien imusolulinjojen soluviljelmissä, mikä on erityisen edullista hyvin arvokkaiden soluviljelmien tapauksessa, jotka esimerkiksi tuottavat spesifisiä vasta-aineita, rokotteita tai lähettiaineita, kuten interleukiineja ja vastaavia, ja ovat sen vuoksi kaupallisesti hyvin arvokkaita.

Lopuksi kaavan I mukaisia yhdisteitä voidaan käyttää standardeina kokeissa, esimerkiksi HPLC-standardeina tai standardeina eläinmallien vertaamiseksi, suhteessa eri aspartaattiproteaasinestäjiin, esimerkiksi saavutettavissa olevien veritasojen suhteen.

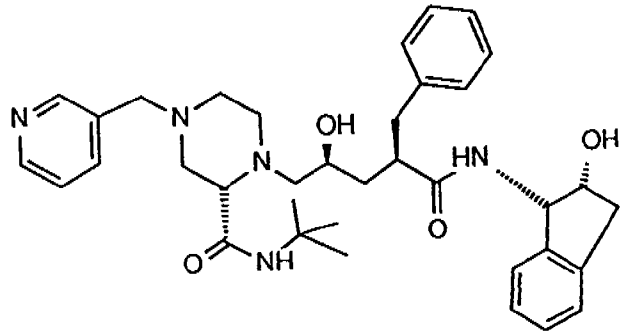
Kaavan I mukaisia yhdisteitä voidaan antaa yksinään tai muuten yhdistelmänä (sopivien valmisteiden kiinteänä yhdistelmänä tai yksittäisten aktiivisten yhdisteiden tai yksittäisten valmisteiden yhdistelmänä annettuna kronologisesti vuorottaisessa jaksossa) muiden aineiden kanssa, jotka ovat aktiivisia retroviruksia, erityisesti HIV:tä, kuten HIV-1:tä tai HIV-2:ta vastaan, tai niiden suoloja, edellyttäen, että läsnä on ainakin yksi suolaa muodostava ryhmä; erityisesti yhdessä käänteistranskriptaasin estäjien, erityisesti nukleosidianalogien, erityisesti 3'-atsido-3'-deoksitymidiinin (= tsidovudiini = ®RETROVIR, Burroughs-Wellcome), 2',3'-dideoksisytidiinin (= tsalkitabiini = ®HIVID, Hoffmann-LaRoche), 2',3'-dideoksi-inosiinin (= didanosiini = ®VIDEX, Bristol-Myers-Squibb) tai (2R,cis)-4-amino-1-(2-hydroksimetyyli-1,3-oksatiolan-5-yyli)-(1H)-pyrimidin-2-onin (= lamivindiinin, Glaxo) tai ei-nukleosidianalogien, kuten 11-syklopropyyli-5,11-dihydro-4-metyyli-(6H)-dipyrido[3,2-b;2',3'-e]-[1,4]diatsepin-6-onin kanssa; ja ensisijassa yhden tai usean (erityisesti yhden tai muuten kahden) muun retrovirusasparaattiproteaasien, erityisesti HIV:stä, kuten HIV-1:stä ja HIV-2:sta olevien aspartaattiproteaasien estäjän, erityisesti yhden tai usean (edullisesti yhden tai kahden), erityisesti

a) yhden kanssa estäjistä, jotka nimetään julkaisuissa EP 0 346 847 (julkaistu 20. joukukuuta 1989) ja EP 0 432 695 (julkaistu 10. kesäkuuta 1991; vastaa julkaisua US 5,196,438, julkaistu 23. maaliskuuta 1993), erityisesti yhdisteen, jolla on nimi Ro 31-8959 (= sakvinaviiri, Hoffmann-LaRoche), ja jolla on kaava



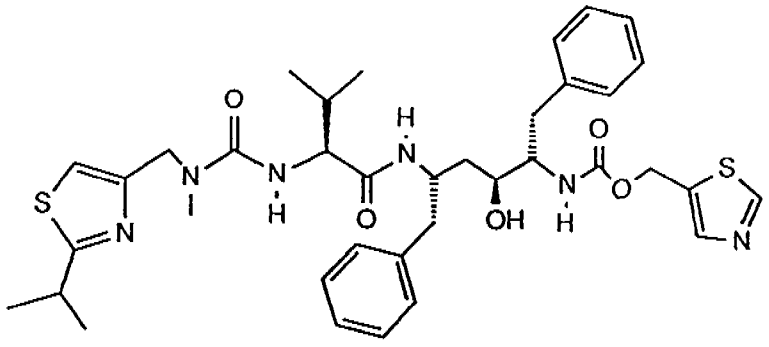
(sakvinaviiri);

b) yhden kanssa estäjistä, jotka nimetään julkaisussa EP 0 541 168 (julkaistu 12. toukokuuta 1993; vastaa julkaisua US 5,413,999), erityisesti yhdisteen, jolla on nimi L-735,524 (= indinaviiri ®CRIXIVAN; Merck & Co., Inc.), ja jolla on kaava



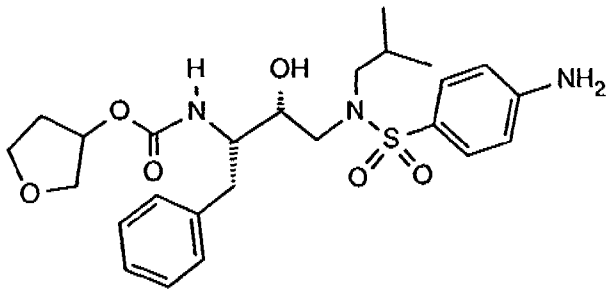
(indinaviiri);

c) yhden kanssa estäjistä, jotka nimetään julkaisussa EP 0 486 948 (julkaistu 27. toukokuuta 1992; vastaa julkaisua US 5,354,866), erityisesti yhdisteen, jolla on nimi ABT-538 (Abbott), ja jolla on kaava



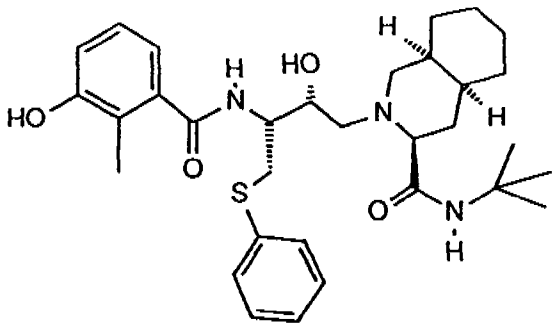
(ABT-538);

d) yhdisteen kanssa, jolla on nimi KVX-478 (eli VX-478 tai 141W94; Glaxo Wellcome, Vertex ja Kissei Pharmaceuticals), ja jolla on kaava



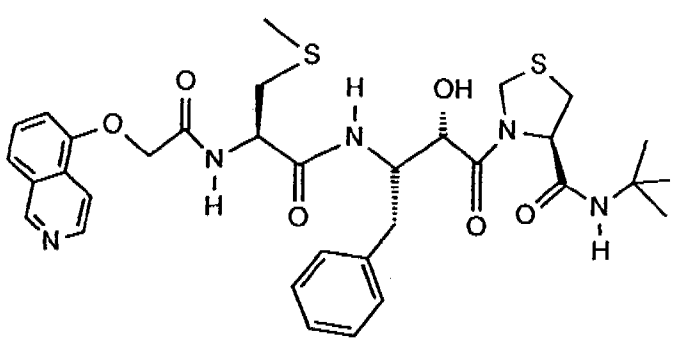
(KVX-478);

e) yhdisteen kanssa, jolla on nimi AG-1343 (Agouron), ja jolla on kaava



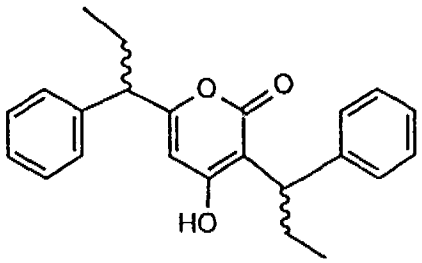
(AG-1343);

f) yhdisteen kanssa, jolla on nimi KNI-272 (Nippon Mining), ja jolla on kaava



(KNI-272);

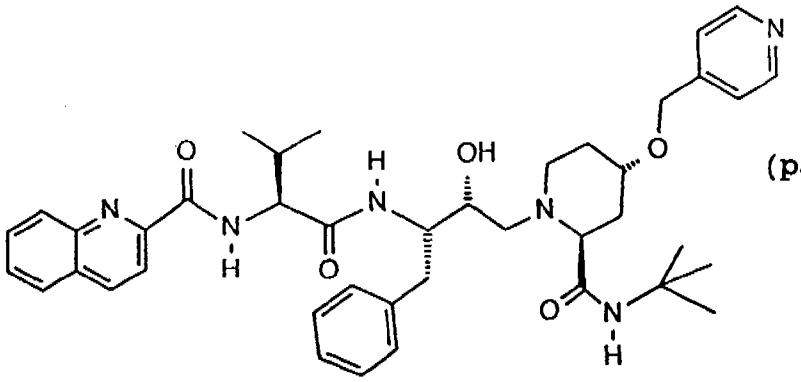
g) yhdisteen kanssa, jolla on nimi U-96988 (Upjohn), ja jolla on kaava



(U-96988);

ja/tai

h) yhdisteen kanssa, jolla on nimi BILA-2011 BS (= palinaviiri; Boehringer-Ingelheim), ja jolla on kaava



(palinaviiri)

tai kussakin tapauksessa niiden suolan kanssa, edellyttäen, että läsnä on suolaa muodostavia ryhmiä.

Erityisesti kun kaavan I mukaista yhdistettä yhdistetään yhden tai usean kanssa mainituista retroviraalisten aspartaattiproteaasien estäjistä, voidaan todellakin havaita synergistisiä vaikutuksia, mikä on hämmästyttävää, koska estäjät vaikuttavat samaan entsyymiin. Sellaisten yhdistelmien erityinen etu perustuu aktiivisten yhdisteiden tällöin vaadittujen annostelumäärien pienenemiseen ja voimakkaampaan anti-retroviraaliseen aktiivisuuteen, joka

voidaan saavuttaa samanaikaisesti yhdistelmänä käytettäessä verrattuna aktiivisuuteen, joka voidaan saavuttaa yksittäisiä aktiivisia yhdisteitä käytettäessä. Tämä antaa etuja yksittäisten yhdisteiden mahdollisten sivuvaikutusten suhteen ja antaa tulokseksi virusten pienentyneen lukumäärän organismissa, niin että mutaation taajuus voi myös alentua ja siten voidaan pienentää resistenssin kehittymisen mahdollisuutta.

Yhdisteiden aktiivisuus, ja erityisesti synergistiset vaikutukset voidaan varmistaa esimerkiksi kokeilla, joissa käytetään solulinjoja ja periferaalisia yksitumaisia verisoluja (imusoluja ja monosyyttejä).

Kokeisiin solulinjoja käyttämällä käytetään esimerkiksi CEM-SS -soluja (katso julkaisuja: Nara, P.L., *et al.*; AIDS Res. Human Retroviruses 3,283-302 (1987); tai Nara, P.L., *et al.*, Nature 332, 469-70 (1988)) ja Gallon pysyvästi infektoitu solulinja H9/HTLV-IIIB NIH 1983 (H9/HIV-1/IIIB-solut) (katso julkaisuja: Popovic, M., *et al.*, Science 224, 497-500 (1984); Popovic, M., *et al.*, Lancet (1984) ii, 1472-3; tai Ratner, L., *et al.*, Nature 313, 277-84 (1985)).

Ääreisiä mononukleaarisia verisoluja käyttäen suoritettavia kokeita varten solut eristetään terveiden HIV-seronegatiivisten ihmiskohteiden verestä käyttämällä leukaforeesin ja vastavirtasentrifugi-"clutriation"-tekniikan yhdistelmää tunnetuilla menetelmillä (katso julkaisua: Alteri, E., *et al.*; Antimicrob. Agent Chemother. 37(10), 2087-92 (1993)).

Viruksena käytetään esimerkiksi lymfosytotrooppista isolaattia HIV-1/LAV (LAV.04/A.301), (katso julkaisua Science 220, 868-71 (1983)).

Testattavat yhdisteet, esimerkiksi kaavan I mukaista yhdistettä ja yhtä edellä mainituista muista retrovirusaspartaattiproteaasien estäjistä, esimerkiksi saquinaviiria

tai indinaviiria, liuotetaan dimetyylisulfoksidiin (= DMSO; 2 mM) tehden edelleenlaimennoksia käyttämällä täydellistä kudosviljelyväliainetta (katso alla). Vapaan DMSO:n lopullinen konsentraatio on alle 0,5 %.

Kokeet antiviraalisen aktiivisuuden testaamiseksi suoritetaan seuraavalla tavalla:

Solulinjoja käytettäessä:

Solulinjoja ylläpidetään täydellisessä kasvatusväliaineessa, jolla on seuraava koostumus: RPMI 1640 (GIBCO, Paisley, Skotlanti), jota on täydennetty 10 %:illa naudan sikiön seerumia (SEROMED, Berliini, Saksa), 10 mM 4-(2-hydroksietyyli)piperatsiini-1-etaanisulfonihapolla (= HEPES) ja 2 mM L-glutamiinilla (AMIMED, Muttenz, Sveitsi). Yhdisteiden antiviraalinen aktiivisuus testataan yhdessäkasvatusjärjestelmässä käyttämällä CEM-SS -soluja ja pysyvästi infektoituja H9/HIV-1/IIIB -soluja. Testiyhdisteet testataan yksittäisinä aineina tai kahden aktyiivisen aineen yhdistelmänä määritellyissä konsentraatiosuhteissa. H9/HIV-1/IIIB -soluja sekoitetaan, kahdesti pesun ja tuoreeseen väliaineeseen suspendoimisen jälkeen, CEM-SS -solujen kanssa suhteessa 1:50. 100 µlsoluseosta jaetaan kuhunkin 96-kaivoisen kudosviljelylevyn kaivoon kaivojen sisältäessä kussakin tapauksessa 400 H9/HIV-1/IIIB -solua ja 2 x 10^4 CEM-SS -solua. Välittömästi solujen jakelun jälkeen lisätään testiyhdisteiden kaksinkertaisia sarjalaimennoksia (100 µl/kaivo) kussakin tapauksessa kuuden ryhminä. Tämän sijasta kuhunkin kaivoon lisätään viruskontrollia (VC) varten 100 µl väliainetta; CEM-SS -soluja sinällään (ilman H9/HIV-1/IIIB -saoluja) käytetään kontrollina (CC). Lopullinen tilavuus on 200 µl/kaivo. Kun on inkuboitu 24 tunnin ajan 37 °C:ssa ja 5 %:issa CO_2:ta, poistetaan 150 µl kutakin supernatanttia, poistamatta lainkaan soluja, ja korvataan 150 µl:lla tuoretta väliainetta, joka sisältää (tai, VC:n tapauksessa ei sisällä) tuoretta testiainetta tai tuoreita testiaineita. 4. päivänä kerätään kasvatussupernatantin 10-

µl:iset näytteet, ja lisätään toiseen 96-kaivoiseen mikrotiitterilevyyn jota säilytetään vaadittaessa -20 °C:ssa. Virustuotanto määritetään käänteistranskriptaasin (RT) virukseen liittyvänä aktiivisuute seuraavalla menetelmällä, joka on jo kuvattu edellä (katso julkaisua: Alteri, E., *et al.*; Antimicrob. Agent Chemother. 37(10), 2087-92 (1993)):

Mittausta suoritettaessa kuhunkin kaivoon lisätään 30 µl käänteistranskriptaasikoktailia. Käänteistranskriptaasikoktail koostuu 50 mM Tris'istä (α,α,α-tris(hydroksimetyyli)metyyliamiini, Ultra pur, Merck, Saksa), pH 7,8; 75 mM:stä KCl:ää, 2 mM:stä ditiotreitolia, 5 mM:stä $MgCl_2$:ta; 0,1 %:ista Nonidet P-40:tä (detergentti; Sigma, Sveitsi), 0,8 mM:stä EDTA:ta, 10 µg:sta/ml poly-A:ta (Pharmacia, Uppsala, Ruotsi) ja 0,16 µg:sta/ml oligo(T):tä (= pdT(12-18), Pharmacia, Uppsala, Ruotsi) templaattialukkeena. Seos suodatetaan 0,45-µm Acrodisc suodattimen (Gelman Sciences Inc., Ann Arbor, USA) läpi ja säilytetään -20 °C:ssa. Ennen testiä liuoksen eriin lisätään 0,1 % (tilavuus/tilavuus) [α-^{32}P]dTTP:tä, jotta saavutettaisiin lopullinen radioaktiivisuus 370 GBq (10 µCi/ml).

Sekoittamisen jälkeen levyä inkuboidaan 1,5 tunnin ajan 37 °C:ssa. 5 µl reaktioseoksesta siirretään DE81-paperiin (Whatman, yksi suodatin/kaivo). Kuivatut suodattimet pestään kolmesti 5 min ajan 300 mM:llä NaCl:ää/25 mM trinatriumsitraattia ja sitten kerran etanolilla, ja kuivataan jälleen kerran ilmassa. Suodattimilla oleva radioaktiivisuus mitataan 96-kaivoisessa Packard Matrix -laskulaitteessa (Packard, Zürich, Sveitsi). Antiretroviraalinen teho esitetään RT-aktiivisuuden prosentuaalisena vähenemisenä VC-arvoihin verrattuna.

Periferaalisia mononukleaarisia verisaoluja käytettäessä: Mononukleaaristen solujen (imusolujen ja monosyyttien) seosta, joka saadaan edellä kuvatulla tavalla, kasvatetaan, kun läsnä on 0,25 µg/ml fytohemagglutiniinia (Wellcome

Diagnostics, Temple Hill, Dartford, Englanti), kahden päivän ajan RPMI-1640:ssä (GIBCO, Paisley, Skotlanti), 50 mU/ml penisilliiniä, 50 µg/ml streptomysiiniä (ANIMED, Muttenz, Sveitsi), 2 mM L-glutamiini (AMIMED, Muttenz, Sveitsi) ja 10 mM HEPES-puskuria (GIBCO, Paisley, Skotlanti). Menestyksekästä aktivointia tarkkaillaan mittaamalla solukoon kasvua (sironnanmittauslaite, FCM-analyysi). Solut suspendoidaan uudelleen täydelliseen väliaineeseen, joka sisältää 10 % ihmis AB-seerumia (Sigma, St. Louis, USA), ja infektoidaan HIV-1:llä 6 tunnin ajan. Virusadsorption jälkeen solut pestään ja suspendoidaan uudelleen täydelliseen väliaineeseen, jota on täydennetty määrällä 100 U/ml ihmisen yhdistelmä-DNA-IL-2:ta (Genzyme, Cambridge, USA). Siirrostetaan 9 x 10^4 solua/kaivo (0,3 ml) 96-kaivoisiin levyihin, joilla on U-muotoiset kaivon pohjat. Antiviraaliset yhdisteet lisätään kussakin tapauksessa joko yksinään tai yhdistelmänä viiden soluviljelmän ryhmiin (pentaplikaatteihin) suoraan infektoinnin jälkeen. Kaksi kolmasosaa kasvatusväliaineesta antiviraalis(t)en yhdiste(id)en kanssa tai ilman korvataan joka kolmas päivä. Testi lopetetaan 13. päivänä infektoinnin jälkeen. Virusinfektion edistyminen mitataan määrittämällä RT-aktiivisuuden edellä solulinjoille kuvatulla tavalla.

Kaavan I mukaisten yhdisteiden edullisissa ryhmissä, jotka mainitaan alla voidaan mielekkäästi käyttää substituenttien määritelmiä edellä mainituista yleisistä määrittelyistä, esimerkiksi korvaamaan yleisempiä määritelmiä spesifisemmillä määritelmillä tai erityisesti niillä määritelmillä, joita luonnehditaan edullisiksi; kussakin tapauksessa ovat edullisia ne määritelmät, joita edellä luonnehditaan edullisiksi tai esimerkeiksi.

Edullinen on kaavan I (erityisesti kaavan I') mukainen yhdiste, jossa:

R_1 on asyyliradikaali, joka on alempi-alkoksi-alempi-al-

kanoyyli, kuten erityisesti alempi-alkoksikarbonyyli, erikoisesti tert-butoksikarbonyyli, etoksikarbonyyli tai metoksikarbonyyli; alempi-alkoksi-alempi-alkanoyyli (erityisesti vastaavasti substituoitu alempi-alkoksikarbonyyli), joka on substituoitu alempi-alkoksiradikaaliin, kerran tai useammin kuin kerran, halogeenilla, erityisesti fluorilla, alempi-alkoksilla tai pyrrolidinyylillä, joka on substituoimaton tai substituoitu oksolla, kuten 2,2,2-trifluorietoksikarbonyyli, 2-metoksietoksikarbonyyli, 2-metoksi-1(R,S)-metyyli-etoksikarbonyyli, 1,1-dimetyyli-2-metoksietoksikarbonyyli tai 2-oksopyrrolidin-5(S)-yylimetoksikarbonyyli; N-alempi-alkoksi-karbonyyli-piperidinyyli-alempi-alkanoyyli, esimerkiksi -karbonyyli, kuten N-etoksikarbonyyli-piperidin-4-yylikarbonyyli; pyrrolidinyyli-alempi-alkanoyyli, kuten -karbonyyli, joka on substituoitu hydroksyylillä hiiliatomiin ja/tai fenyyli-alempi-alkoksikarbonyylillä typpiatomiin, ja joka on edullisesti (R)-muodossa, (R,S)-muodossa tai, erityisesti, (S)-muodossa kiinnityshiiliatomissa, kuten (L)-trans-4-hydroksiprolyyli tai (L)-N-bentsyylioksikarbonyyli-trans-4-hydroksiprolyyli; aminotiatsolidinyyli-alempi-alkanoyyli, esimerkiksi -asetyyli, kuten 2-amino-4-tiatsolyyli-asetyyli; tiatsolyyli-alempi alkanoyyli, esimerkiksi -karbonyyli, kuten tiatsol-2-yylikarbonyyli; indolyyli-alempi-alkanoyyli, esimerkiksi -karbonyyli, kuten indol-2-yylikarbonyyli; 4H-1-bentsopyranyyli-alempi-alkanoyyli, esimerkiksi -karbonyyli, joka on substituoitu oksolla, kuten 4-okso-4H-1-bentsopyran-2-yylikarbonyyli; N-alempi-alkyyli-piperidinyylioksi-alempi-alkanoyyli, esimerkiksi -karbonyyli, kuten N-metyyli-piperidin-4-yylioksikarbonyyli; tetrahydropyranyylioksi-alempi-alkanoyyli, esimerkiksi -propionyyli tai -karbonyyli, kuten 2(S)-(tetrahydropyran-4-yylioksi)propionyyli tai tetrahydropyran-2(R,S)-yylioksikarbonyyli; tetrahydrofuranyylioksi-alempi-alkanoyyli, esimerkiksi -karbonyyli, kuten tetrahydrofuran-3(S)-yylioksikarbonyyli; morfolinyyli-alempi-alkyyli-bentsoyyli, kuten 4-(morfolin-4-yylimetyyli)bentsoyyli; alempi-alkyylipiperatsinyyli-pyridyylikar-

bonyyli, kuten N-alempi-alkyylipiperatsinyyli-pyridyylikarbonyyli, erityisesti 4-alempi-alkyyli-piperatsin-1-yyli-pyridyylikarbonyyli, esimerkiksi 2- tai 3-(4-alempi-alkyyli [kuten metyyli]-piperatsin-1-yyli)-pyridin-2-yylikarbonyyli tai -3-yylikarbonyyli; fenyyli-alempi alkanoyyli, joka on substituoitu hydroksyylillä tai alemmalla alkyylillä, erityisesti metyylillä, jossa on edullisesti kussakin tapauksessa hydroksyylisubstituentti ja alempi alkyylisubstituentti, erityisesti hydroksyyli ja metyyli, fenyylirenkaassa, erityisesti vastaava substituoitu bentsoyyli, kuten 3-hydroksi-2-metyyli-bentsoyyli; tai fenyylisulfonyyli, joka on substituoitu aminolla, nitrolla, aminolla ja alemmalla alkyylillä, kuten metyylillä, tai nitrolla ja alemmalla alkyylillä, kuten metyylillä, kuten 4-nitrobentseenisulfonyyli, 4-aminobentseenisulfonyyli, 2-alempi-alkyyli (erityisesti 2-metyyli)-4-nitrobentseenisulfonyyli tai 4-amino-2-alempi-alkyyli (erityisesti 2-metyyli)-bentseenisulfonyyli;

on tähde, joka on liittynyt aminohapon karboksyyliryhmän kautta, joka aminohappo on valiini, norvaliini, leusiini, isoleusiini tai norleusiini tai, lisäksi, seriini, homoseriini, treoniini, metioniini, kysteiini, fenyylialaniini, tyrosiini, 4-aminofenyylialaniini, 4-kloorifenyylialaniini, 4-karboksifenyylialaniini, β-fenyyliseriini, fenyyliglysiini, α-naftyylialaniini, sykloheksyylialaniini, sykloheksyyliglysiini, tryptofaani, asparagiini, aminomalonihappomonoamidi, glutamiinihappo, glutamiini, histidiini, arginiini, lysiini, β-hydroksilysiini tai ornitiini; jolloin valiini on erityisen edullinen; vastaav(a/ie)n aminoryhm(ä/ie)n ja muiden funktionaalisten ryhmien ollessa vapaita tai (mikäli mahdollista) suolamuodossa; ja mainittujen aminohappotähteiden, joissa on asymmetrisiä hiiliatomeita, ollessa (D)-muodossa, (L)-muodossa tai (D,L)-muodossa, edullisesti (L)-muodossa;

tai on tähde, joka on liittynyt yhden välittömästi edellä

mainituista aminohapoista karbonyyliryhmän kautta, joka tähde on N-asyloitu aminotyppeen yhdellä edellä mainituista asyyliradikaaleista, erityisesti valiinitähteellä, joka on liittynyt karbonyyliryhmän kautta ja joka on N-asyloitu yhdellä edellä mainituista asyyliradikaaleista, erityisesti alempi-alkoksi-alempi-alkanoyyli-valyylillä, kuten alempi-alkoksikarbonyyli-valyylillä, esimerkiksi metoksikarbonyyli-valyylillä, tai tiatsolidinyyli-valyylillä, erityisesti tiatsolidin-4-yyli-valyylillä, joka on edullisesti (S)-muodossa, (R,S)-muodossa tai, erityisesti, (R)-muodossa (= (L)-muoto) tiatsolidiinirenkaan 4-hiiliatomissa; valyylitähteen ollessa kussakin tapauksessa edullisesti (L)-muodossa;

R_2 ja R_3 ovat toisistaan riippumatta sykloheksyyli, sykloheksenyyli, kuten sykloheksen-1-yyli, fenyyli, bifenylyyli, kuten 4-bifenylyyli, (syaanifenyyli)fenyyli, kuten 2'-syaanibifenyyli-4-yyli, fenyyli-alempi-alkoksi-fenyyli, erityisesti 4-fenyyli-alempi-alkoksi-fenyyli, kuten 4-(bentsyylioksi)-fenyyli, difluorifenyyli, erityisesti 2,4-difluorifenyyli, syaanifenyyli, erityisesti 4-syaanifenyyli, alempi-alkoksifenyyli, kuten 2-, 3- tai 4-alempi-alkoksifenyyli, esimerkiksi 4-isobutyylioksifenyyli tai, erityisesti, 2-, 3- tai, erikoisesti, 4-metoksifenyyli, tri-alempi-alkoksi-fenyyli, erityisesti trimetoksifenyyli, jossa on esimerkiksi alempi-alkoksisubstituentteja 3,4,5-asemissa, kuten 3,4,5-trimetoksifenyylissä, 2,4,5-asemissa, kuten 2,4,5-trimetoksifenyylissä, tai 2,4,6-asemissa, kuten 2,4,6-trimetoksifenyylissä, jolloin tri-alempi-alkoksi- tai metoksiradikaalit ovat liittyneet edullisesti asymmetrisesti fenyylirenkaaseen, etupäässä 2,3,4-asemiin, esimerkiksi 2,3,4-trimetoksifenyyli, alempi-alkoksi-alempi-alkoksifenyyli, kuten 4-alempi-alkoksi-alempi-alkoksifenyyli, erikoisesti 4-(2-metoksi-etoksi)-fenyyli, alempi-alkyleenidioksifenyyli, jossa alempi-alkyleenidioksiradikaali on liittynyt kahden happiatominsa kautta fenyylirenkaan kahteen vierekkäiseen hiiliatomiin, esimerkiksi metyleenidiok-

sifenyyli, kuten 3,4-metyleenidioksifenyyli, tai pyridyyli-alempi-alkoksifenyyli, jossa pyridyyli liittynyt rengashiiliatomin kautta, kuten 4-(pyridin-2- tai pyridin-3-yyli-alempi-alkoksi)fenyyli, erityisesti pyridin-3-yyli-alempi-alkoksifenyyli, esimerkiksi pyridin-3-yylimetoksifenyyli; tai, lisäksi, 4-alempi-alkoksi-2-fluorifenyyli, kuten 4-metoksi-2-fluorifenyyli, 4-fluori-2-alempi-alkoksifenyyli, kuten 4-fluori-2-metoksifenyyli, 4-alempi-alkoksi-2-hydroksifenyyli, kuten 4-metoksi-2-hydroksifenyyli, fenyyli, joka on substituoitu enintään kolmella alemmalla alkyylillä, kuten metyylillä, tai alempi-alkoksilla, kuten metoksilla, kuten 4-alempi-alkoksi-2,3-di-alempi-alkyylifenyyli, esimerkiksi 4-metoksi-2,3-dimetyylifenyyli, fenyyli-alempi-alkyylifenyyli, kuten 4-fenyyli-alempi-alkyylifenyyli, esimerkiksi 4-(2-fenyylietyyli)-fenyyli, fluorifenyyli, kuten 2-fluorifenyyli, hydroksifenyyli, kuten 4-hydroksifenyyli, di-alempi-alkoksifenyyli, erityisesti dimetoksifenyyli, esimerkiksi 2,4-di-alempi-alkoksifenyyli, kuten 2,4-dimetoksifenyyli, 3,4-di-alempi-alkoksifenyyli, kuten 3,4-dimetoksifenyyli, 2,5-di-alempi-alkoksifenyyli, kuten 2,5-dimetoksifenyyli, tai 2,6-di-alempi-alkoksifenyyli, kuten 2,6-dimetoksifenyyli, tetrahydronaftyyli, erityisesti 5,6,7,8-tetrahydro-1-naftyyli, halogeeninaftyyli, kuten fluorinaftyyli, erityisesti 4-fluorinaftyyli, syaaninaftyyli, erityisesti 4-syaani-naftyyli, alempi-alkoksinaftyyli, erityisesti 4-alempi-alkoksinaftyyli, kuten 4-metoksi-1-naftyyli, tai dihalogeenifenyyli-alempi-alkaanisulfonyylifenyyli, erityisesti dikloorifenyyli-alempi-alkaanisulfonyylifenyyli, kuten 4-(2,6-diklooribentsyylisulfonyyli)fenyyli; jolloin vastaavat radikaalit ovat edullisesti läsnä yhdistelminä, jotka on määritelty edellä edullisiksi; erityisesti yhdessä yhdistelmistä, jotka on määritelty edellä numeroilla 2), 4), 6), 8), 16), 24), 26), 27), 30) ja 44), ts. R_2 = fenyyli ja R_3 = syaanifenyyli (erityisesti 4-syaanifenyyli); R_2 = fenyyli ja R_3 = 2,4-difluorifenyyli; R_2 = fenyyli ja R_3 = 4-alempi-alkoksifenyyli, erityisesti 4-metoksifenyyli; R_2 = 4-(alempi-alkoksi-alempi-alkoksi)fenyy-

li, erityisesti 4-(2-metoksietoksi)fenyyli ja R_3 = 4-(fenyyli-alempi-alkoksi)fenyyli, erityisesti 4-(bentsyylioksi)-fenyyli; R_2 = sykloheksyyli ja R_3 = 4-alempi-alkoksifenyyli, erityisesti 4-metoksifenyyli; R_2 = fenyyli ja R_3 = fenyyli; R_2 = fenyyli ja R_3 = 4-((pyridin-2-yyli- tai, erityisesti, pyridin-3-yyli)-alempi-alkoksi)fenyyli, kuten -metoksifenyyli; R_2 = fenyyli ja R_3 = 3,4-alempi-alkyleenidioksifenyyli, erityisesti 3,4-metyleenidioksifenyyli; R_2 = sykloheksyyli ja R_3 = 4-(alempi-alkoksi-alempi-alkoksi)fenyyli, erityisesti 4-(2-metoksietoksi)fenyyli; tai, erityisen edullisella tavalla, R_2 = fenyyli ja R_3 = 2,3,4-tri-alempi-alkoksifenyyli, erityisesti 2,3,4-trimetoksifenyyli;

R_4 on alempi alkyyli, edullisesti isopropyyli, tai, lisäksi, sykloheksyyli tai fenyyli;

R_5 on alempi alkyyli, erikoisesti metyyli tai, lisäksi, etyyli tai n-propyyli; ja

n on 2 tai, edullisesti, 1,

tai sen suola, edellyttäen, että läsnä on ainakin yksi suolaa muodostava ryhmä.

Edullisempi on kaavan I mukainen yhdiste, jossa

R_1 on asyyliradikaali, joka on alempi-alkoksi-alempi-alkanoyyli, kuten, erityisesti, alempi-alkoksikarbonyyli, erikoisesti tert-butoksikarbonyyli, etoksikarbonyyli tai metoksikarbonyyli; alempi-alkoksi-alempi-alkanoyyli (erityisesti vastaavasti substituoitu alempi-alkoksikarbonyyli), joka on substituoitu alempi-alkoksiradikaaliin kerran tai useammin kuin kerran halogeenilla, erityisesti fluorilla, alempi-alkoksilla tai pyrrolidinyylillä, joka on substituoimaton tai substituoitu oksolla, kuten 2,2,2-trifluorietoksikarbonyyli, 2-metoksietoksikarbonyyli tai 2-oksopyrrolidin-5(S)-yylimetoksikarbonyyli; N-alempi-alkok-

si-karbonyyli-piperidinyyli-alempi-alkanoyyli, esimerkiksi -karbonyyli, kuten N-etoksikarbonyyli-piperidin-4-yylikarbonyyli; pyrrolidinyyli-alempi-alkanoyyli, kuten -karbonyyli, which on substituoitu hydroksyylillä hiiliatomiin ja/tai fenyyli-alempi-alkoksikarbonyylillä typpiatomiin ja joka on edullisesti (R)-muodossa, (R,S)-muodossa tai, erityisesti, (S)-muodossa kiinnityshiiliatomissa, kuten (L)-trans-4-hydroksiprolyyli tai (L)-N-bentsyylioksikarbonyyli-trans-4-hydroksiprolyyli; aminotiatsolidinyyli-alempi-alkanoyyli, esimerkiksi -asetyyli, kuten 2-amino-4-tiatsolyyli-asetyyli; tiatsolyyli-alempi-alkanoyyli, esimerkiksi -karbonyyli, kuten tiatsol-2-yylikarbonyyli; indolyyli-alempi-alkanoyyli, esimerkiksi -karbonyyli, kuten indol-2-yylikarbonyyli; 4H-1-bentsopyranyyli-alempi-alkanoyyli, esimerkiksi -karbonyyli, joka on substituoitu oksolla, kuten 4-okso-4H-1-bentsopyran-2-yylikarbonyyli; N-alempi-alkyyli-piperidinyylioksi-alempi-alkanoyyli, esimerkiksi -karbonyyli, kuten N-metyylipiperidin-4-yylioksikarbonyyli; tetrahydropyranyylioksi-alempi-alkanoyyli, esimerkiksi -propionyyli tai -karbonyyli, kuten 2(S)-(tetrahydropyran-4-yylioksi)propionyyli tai tetrahydropyran-2(R,S)-yylioksikarbonyyli; tetrahydrofuranyylioksi-alempi-alkanoyyli, esimerkiksi -karbonyyli, kuten tetrahydrofuran-3(S)-yylioksikarbonyyli; morfolinyyli-alempi-alkyyli-bentsoyyli, kuten 4-(morfolin-4-yylimetyyli)-bentsoyyli; tai alempi-alkyylipiperatsinyyli-pyridyylikarbonyyli, kuten N-alempi-alkyylipiperatsinyyli-pyridyylikarbonyyli, erityisesti 4-alempi-alkyyli-piperatsin-1-yyli-pyridyylikarbonyyli, esimerkiksi 2- tai 3-(4-alempi-alkyyli [kuten metyyli]-piperatsin-1-yyli-)-pyridin-2-yylikarbonyyli tai -3-yylikarbonyyli;

on tähde, aminohapon karboksyyliryhmän kautta, joka aminohappo on valiini, norvaliini, leusiini, isoleusiini tai norleusiini tai, lisäksi, seriini, homoseriini, treoniini, metioniini, kysteiini, fenyylialaniini, tyrosiini, 4-aminofenyylialaniini, 4-kloorifenyylialaniini, 4-karboksi-

fenyylialaniini, β-fenyyliseriini, fenyyliglysiini, α-naftyylialaniini, sykloheksyylialaniini, sykloheksyyliglysiini, tryptofaani, asparagiini, aminomalonihappomonoamidi, glutamiinihappo, glutamiini, histidiini, arginiini, lysiini, δ-hydroksilysiini tai ornitiini; jolloin valiini on erityisen edullinen; vastaav(a/ie)n aminoryhm(ä/ie)n ja muiden funktionaalisten ryhmien ollessa vapaita tai (mikäli mahdollista) suolamuodossa; ja jolloin mainitut aminohappotähteet, joissa on asymmetrisiä hiiliatomeja, ovat (D)-muodossa, (L)-muodossa tai (D,L)-muodossa, edullisesti (L)-muodossa;

tai on tähde, joka on liittynyt yhden välittömästi edellä mainituista aminohapoista karbonyyliryhmän kautta, joka tähde on N-asyloitu aminotyppeen yhdellä aikaisemmin mainituista asyyliradikaaleista, erityisesti valiinitähde, joka on liittynyt karbonyyliryhmän kautta ja on N-asyloitu yhdellä aikaisemmin mainituista asyyliradikaaleista, erityisesti alempi-alkoksi-alempi-alkanoyyli-valyyli, kuten alempi-alkoksikarbonyyli-valyyli, esimerkiksi metoksikarbonyyli-valyyli, tai tiatsolidinyyli-valyyli, erityisesti tiatsolidin-4-yyli-valyyli, joka on edullisesti (S)-muodossa, (R,S)-muodossa tai, erityisesti, (R)-muodossa (= (L)-muoto) tiatsolidiinirenkaan 4-hiiliatomissa; valyylitähteen ollessa kussakin tapauksessa edullisesti (L)-muodossa;

R_2 ja R_3 ovat toisistaan riippumatta sykloheksyyli, sykloheksenyyli, kuten sykloheksen-1-yyli, fenyyli, fenyyli-alempi-alkoksi-fenyyli, erityisesti 4-fenyyli-alempi-alkoksifenyyli, kuten 4-(bentsyylioksi)-fenyyli, difluorifenyyli, erityisesti 2,4-difluorifenyyli, syaanifenyyli, erityisesti 4-syaanifenyyli, alempi-alkoksifenyyli, kuten 2-, 3- tai 4-alempi-alkoksifenyyli, esimerkiksi 4-isobutyylioksifenyyli tai erityisesti 2-, 3- tai, erikoisesti, 4-metoksifenyyli, tri-alempi-alkoksi-fenyyli, erityisesti trimetoksifenyyli, jossa on esimerkiksi alempi-alkoksi-

substituentteja 3,4,5-asemissa, kuten 3,4,5-trimetoksifenyylissä, 2,4,5-asemissa, kuten 2,4,5-trimetoksifenyylissä, tai 2,4,6-asemissa, kuten 2,4,6-trimetoksifenyylissä, jolloin tri-alempi-alkoksi- tai metoksiradikaalit ovat edullisesti liittyneet epäsymmetrisesti fenyylirenkaaseen, etupäässä 2,3,4-asemiin, esimerkiksi 2,3,4-trimetoksifenyylissä, alempi-alkoksi-alempi-alkoksifenyyli, kuten 4-alempi-alkoksi-alempi-alkoksifenyyli, erikoisesti 4-(2-metoksietoksi)-fenyyli, alempi-alkyleenidioksifenyyli, jossa alempi-alkyleenidioksiradikaali on liittynyt kahden happiatominsa kautta fenyylirenkaan kahteen viereiseen hiiliatomiin, esimerkiksi metyleenidioksifenyyli, kuten 3,4-metyleenidioksifenyyli, ja pyridyyli-alempi-alkoksifenyyli, jossa pyridyyli on liittynyt rengashiiliatomin kautta, kuten 4-(pyridin-2- tai pyridin-3-yyli-alempi-alkoksi)fenyyli, erityisesti pyridin-3-yyli-alempi-alkoksifenyyli, esimerkiksi pyridin-3-yyli-metoksifenyyli; tai, lisäksi, 4-alempi-alkoksi-2-fluorifenyyli, kuten 4-metoksi-2-fluorifenyyli, 4-fluori-2-alempi-alkoksifenyyli, kuten 4-fluori-2-metoksifenyyli, 4-alempi-alkoksi-2-hydroksifenyyli, kuten 4-metoksi-2-hydroksifenyyli, fenyyli, joka on substituoitu enintään kolmesti alemmalla alkyylillä, kuten metyylillä, ja alempi-alkoksilla, kuten metoksilla, kuten 4-alempi-alkoksi-2,3-di-alempi-alkyylifenyyli, esimerkiksi 4-metoksi-2,3-dimetyylifenyyli, fenyyli-alempi-alkyylifenyyli, kuten 4-fenyyli-alempi-alkyylifenyyli, esimerkiksi 4-(2-fenyylietyyli)fenyyli, fluorifenyyli, kuten 2-fluorifenyyli, hydroksifenyyli, kuten 4-hydroksifenyyli, di-alempi-alkoksifenyyli, erityisesti dimetoksifenyyli, esimerkiksi 2,4-di-alempi-alkoksifenyyli, kuten 2,4-dimetoksifenyyli, 3,4-di-alempi-alkoksifenyyli, kuten 3,4-dimetoksifenyyli, 2,5-di-alempi-alkoksifenyyli, kuten 2,5-dimetoksifenyyli, tai 2,6-di-alempi-alkoksifenyyli, kuten 2,6-dimetoksifenyyli, tetrahydronaftyyli, erityisesti 5,6,7,8-tetrahydro-1-naftyyli, halogeeninaftyyli, kuten fluorinaftyyli, erityisesti 4-fluorinaftyyli, syaaninaftyyli, erityisesti 4-syaaninaftyyli, alempi-alkoksinaftyyli, erityi-

sesti 4-alempi-alkoksinaftyyli, kuten 4-metoksi-1-naftyyli, tai dihalogeenifenyyli-alempi-alkaanisulfonyylifenyyli, erityisesti dikloorifenyyli-alempi-alkaanisulfonyylifenyyli, kuten 4-(2,6-diklooribentsyylisulfonyyli)fenyyli; jolloin vastaavat radikaalit ovat edullisesti läsnä edellä edullisina ilmoitetuissa yhdistelmissä; erityisesti yhdessä yhdistelmistä, jotka määritellään edellä numeroilla 2), 4), 6), 8), 16), 24), 26), 27), 30) ja 44), ts. R_2 = fenyyli ja R_3 = syaanifenyyli (erityisesti 4-syaanifenyyli); R_2 = fenyyli ja R_3 = 2,4-difluorifenyyli; R_2 = fenyyli ja R_3 = 4-alempi-alkoksifenyyli, erityisesti 4-metoksifenyyli; R_2 = 4-(alempi-alkoksi-alempi-alkoksi)fenyyli, erityisesti 4-(2-metoksietoksi)fenyyli, ja R_3 = 4-(fenyyli-alempi-alkoksi)fenyyli, erityisesti 4-(bentsyylioksi)fenyyli; R_2 = sykloheksyyli ja R_3 = 4-alempi-alkoksifenyyli, erityisesti 4-metoksifenyyli; R_2 = fenyyli ja R_3 = fenyyli; R_2 = fenyyli ja R_3 = 4-((pyridin-2-yyli- tai, erityisesti pyridin-3-yyli)-alempi-alkoksi)fenyyli, kuten -metoksifenyyli; R_2 = fenyyli ja R_3 = 3,4-alempi-alkyleenidioksifenyyli, erityisesti 3,4-metyleenidioksifenyyli; R_2 = sykloheksyyli ja R_3 = 4-(alempi-alkoksi-alempi-alkoksi)fenyyli, erityisesti 4-(2-metoksietoksi)fenyyli; tai, erityisen edullisella tavalla, R_2 = fenyyli ja R_3 = 2,3,4-tri-alempi-alkoksifenyyli, erityisesti 2,3,4-trimetoksifenyyli;

R_4 on alempi alkyyli, edullisesti isopropyyli, tai, lisäksi, sykloheksyyli tai fenyyli;

R_5 on alempi alkyyli, erityisesti metyyli; ja

n on 2 tai, edullisesti, 1,

tai sen suola, edellyttäen, että läsnä on ainakin yksi suolaa muodostava ryhmä.

Vielä voimakkaammin edullinen on kaavan I (erityisesti I') mukainen yhdiste, jossa

R_1 on etoksikarbonyyli, tert-butoksikarbonyyli, 2,2,2-trifluorietoksikarbonyyli, 2-(metoksi)etoksikarbonyyli, 2-metoksi-1(R,S)-metyylietoksikarbonyyli, 1,1-dimetyyli-2-metoksietoksikarbonyyli, 5(S)-2-oksopyrrolidinyylimetoksikarbonyyli, 1-etoksikarbonyylipiperidin-4-yylikarbonyyli, trans-(L)-4-hydroksiprolyyli, N-(bentsyylioksikarbonyyli)-trans-(L)-4-hydroksiprolyyli, (L)-tiatsolidin-4-yylikarbonyyli, indol-2-yylikarbonyyli, 4H-1-bentsopyran-2-yylikarbonyyli, N-metyylipiperidinyylioksikarbonyyli, tetrahydropyran-2(R,S)-yylikarbonyyli, O-(tetrahydropyran-4-yyli)-(L)-laktoyyli (= 2(S)-(tetrahydropyran-4-yylioksi)propionyyli), 3(S)-tetrahydrofuranyylioksikarbonyyli, 2-aminotiatsol-4-yyliasetyyli, 6-(4-metyyli-piperatsin-1-yyli)pyridin-3-yylikarbonyyli, 4-(morfolin-4-yylimetyyli)bentsoyyli, N-metoksikarbonyyli-(L)-valyyli, N-[(L)-tiatsolidin-4-yyli-karbonyyli]-(L)-valyyli, 3-hydroksi-2-metyylibentsoyyli, 4-nitrobentseenisulfonyyli, 4-aminobentseenisulfonyyli, 2-metyyli-4-nitrobentseenisulfonyyli tai 4-amino-2-metyylibentseenisulfonyyli; jolloin tert-butoksikarbonyyli on erityisen edullinen;

R_2 ja R_3 ovat sykloheksyyli, sykloheksen-1-yyli, fenyyli, 4-bifenylyyli, 2'-syaanibifenyyli-4-yyli, 4-(bentsyylioksi)-fenyyli, 2,4-difluorifenyyli, 4-syaanifenyyli, 2-, 3- tai 4-metoksifenyyli, 4-isobutyylioksifenyyli, trimetoksifenyyli, jossa on metoksisubstituentit esimerkiksi 3,4,5-asemissa, kuten 3,4,5-trimetoksifenyylissä, 2,4,5-asemissa, kuten 2,4,5-trimetoksifenyylissä, tai 2,4,6-asemissa, kuten 2,4,6-trimetoksifenyylissä, jolloin metoksiradikaalit ovat edullisesti liittyneet epäsymmetrisesti fenyylirenkaaseen, etupäässä 2,3,4-asemiin, esimerkiksi 2,3,4-trimetoksifenyyli, 4-(2-metoksi-etoksi)-fenyyli, 3,4-metyleenidioksifenyyli, tai 4-(pyridin-2- tai, erityisesti, pyridin-3-yyli-metoksi)fenyyli; tai, lisäksi, 4-metoksi-2-fluorifenyyli, 4-fluori-2-metoksifenyyli, 4-metoksi-2-hydroksifenyyli, 4-metoksi-2,3-dimetyylifenyyli, 4-(2-fenyylietyyli)fenyyli, 2-fluorifenyyli, 4-hydroksifenyyli, dimetok-

sifenyyli, 2,4-di-metoksifenyyli, 3,4-dimetoksifenyyli, 2,5-dimetoksifenyyli tai 2,6-dimetoksifenyyli, 5,6,7,8-tetrahydro-1-naftyyli, 4-fluorinaftyyli, 4-syaaninaftyyli, 4-alempi-alkoksinaftyyli ja 4-(2,6-diklooribentsyylisulfonyyli)fenyyli,

jolloin R_2 ja R_3 ovat edullisesti läsnä seuraavina yhdistelminä: R_2 = 4-bentsyylioksifenyyli ja R_3 = 4-bentsyylioksifenyyli; R_2 = fenyyli ja R_3 = 4-syaanifenyyli; R_2 = fenyyli ja R_3 = 2-fluorifenyyli; R_2 = fenyyli ja R_3 = 2,4-difluorifenyyli; R_2 = fenyyli ja R_3 = 4-(2-fenyylietyyli)fenyyli; R_2 = fenyyli ja R_3 = 4-(2,6-diklooribentsyylisulfonyyli)-fenyyli; R_2 = 4-(2-metoksietoksi)fenyyli ja R_3 = 4-bentsyylioksifenyyli; R_2 = 4-(2- metoksietoksi)fenyyli ja R_3 = 4-hydroksifenyyli; R_2 = 4-(2-metoksietoksi)fenyyli ja R_3 = 4-metoksifenyyli; R_2 = 4-(2-metoksietoksi)fenyyli ja R_3 = 4-(2-metoksietoksi)-fenyyli; R_2 = 4-bentsyylioksifenyyli ja R_3 = 4-metoksifenyyli; R_2 = 4-hydroksifenyyli ja R_3 = 4-metoksifenyyli; R_2 = 4-metoksifenyyli ja R_3 = 4-metoksifenyyli; R_2 = 4-isobutyylioksifenyyli ja R_3 = 4-metoksifenyyli; R_2 = 4-metoksifenyyli ja R_3 = fenyyli; R_2 sykloheksyyli ja R_3 = 4-metoksifenyyli; R_2 = fenyyli ja R_3 = 4-metoksi-2-fluorifenyyli; R_2 = fenyyli ja R_3 = 4-fluori-2-metoksifenyyli; R_2 = fenyyli ja R_3 = 4-metoksi-2-hydroksifenyyli; R_2 = 4-metoksifenyyli ja R_3 = sykloheksyyli; R_2 = 4-metoksifenyyli ja R_3 = sykloheksen-1-yyli; R_2 = sykloheksyyli ja R_3 = 4-bentsyylioksifenyyli; R_2 sykloheksyyli ja R_3 = 4-hydroksifenyyli; R_2 = sykloheksyyli ja R_3 = 4-metoksifenyyli; R_2 sykloheksyyli ja R_3 = 4-(2-metoksietoksi)fenyyli; R_2 = fenyyli ja R_3 = fenyyli; R_2 = fenyyli ja R_3 4-bentsyylioksifenyyli; R_2 fenyyli ja R_3 4-hydroksifenyyli; R_2 = fenyyli ja R_3 = 4-isobutoksifenyyli; R_2 fenyyli ja R_3 4-(pyridin-2-yylimetoksi)fenyyli; R_2 = fenyyli ja R_3 = 4-(pyridin-3-yylimetoksi)fenyyli; R_2 = fenyyli ja R_3 = 4-metoksifenyyli; R_2 = fenyyli ja R_3 = 3,4-metyleenidioksifenyyli; R_2 = fenyyli ja R_3 = 3,4-dimetoksifenyyli; R_2 = fenyyli ja R_3 = 3-metoksifenyyli; R_2 = fenyyli ja R_3 = 2,3,4-trimetoksifenyyli; R_2 = fenyyli ja R_3 = 3,4,5-

trimetoksifenyyli; R_2 = fenyyli ja R_3 = 2,4-dimetoksifenyyli; R_2 = fenyyli ja R_3 = 2-metoksifenyyli; R_2 = fenyyli ja R_3 2,3-dimetyyli-4-metoksifenyyli; R_2 = fenyyli ja R_3 = 2,4,5-trimetoksifenyyli; R_2 fenyyli ja R_3 = 2,4,6-trimetoksifenyyli; R_2 = fenyyli ja R_3 = 5,6,7,8-tetrahydro-1-naftyyli; R_2 = fenyyli ja R_3 = 2,5-dimetoksifenyyli; R_2 = fenyyli ja R_3 = 2,6-dimetoksifenyyli; R_2 = fenyyli ja R_3 = 4-metoksi-1-naftyyli; R_2 = fenyyli ja R_3 = 4-syaani-1-naftyyli; R_2 = fenyyli ja R_3 = 4-fluori-1-naftyyli; R_2 = sykloheksyyli ja R_3 = 2,3,4-trimetoksifenyyli; R_2 = sykloheksyyli ja R_3 = 3,4-metyleenidioksifenyyli; R_2 = sykloheksyyli ja R_3 = 3,4-dimetoksifenyyli; R_2 = sykloheksyyli ja R_3 = 3-metoksifenyyli; R_2 = sykloheksyyli ja R_3 = 3,4,5-tdmetoksifenyyli; R_2 = sykloheksyyli ja R_3 = 2,4-dimetoksifenyyli; R_2 = sykloheksyyli ja R_3 = 2-metoksifenyyli; R_2 = sykloheksyyli ja R_3 = 4-metoksi-2,3-dimetyylifenyyli; R_2 = sykloheksyyli ja R_3 = 2,4,5-trimetoksifenyyli; R_2 = sykloheksyyli ja R_3 = 2,4,6-trimetoksifenyyli; R_2 sykloheksyyli ja R_3 = 5,6,7,8-tetrahydro-1-naftyyli; R_2 = sykloheksyyli ja R_3 = 2,5-dimetoksifenyyli; R_2 = sykloheksyyli ja R_3 = 2,6-dimetoksifenyyli; R_2 = sykloheksyyli ja R_3 = 4-metoksi-1-naftyyli; R_2 = sykloheksyyli ja R_3 = 4-syaani-1-naftyyli; R_2 = sykloheksyyli ja R_3 = 4-fluori-1-naftyyli; tai (vaihtoehtoisesti tai lisäksi) R_2 = fenyyli ja R_3 = 4-bifenylyyli; R_2 = 4-bentsyylioksifenyyli ja R_3 = 4-bifenylyyli; R_2 = 4-hydroksifenyyli ja R_3 = 4-bifenylyyli; R_2 = 4-metoksifenyyli ja R_3 = 4-bifenylyyli; R_2 = fenyyli ja R_3 = 2'-syaanibifenyyli-4-yyli; R_2 = 4-bentsyylioksifenyyli ja R_3 = 2'-syaanibifenyyli-4-yyli; R_2 = 4-hydroksifenyyli ja R_3 = 2'-syaanibifenyyli-4-yyli; R_2 4-metoksifenyyli ja R_3 = 2'-syaanibifenyyli-4-yyli; tai R_2 = sykloheksyyli ja R_3 = 2'-syaanibifenyyli-4-yyli; jolloin seuraavat näistä yhdistelmistä ovat aivan erityisen edullisia: R_2 = fenyyli ja R_3 = 2,3,4-trimetoksifenyyli; R_2 = sykloheksyyli ja R_3 = 2,3,4-trimetoksifenyyli; ja, lisäksi, R_2 = fenyyli ja R_3 = 4-metoksifenyyli; tai R_2 sykloheksyyli ja R_3 = 4-metoksifenyyli;

R_4 on isopropyyli tai, lisäksi, sykloheksyyli tai fenyyli;

R_5 on metyyli tai, lisäksi, etyyli tai n-propyyli; ja

n on 2 tai, erityisesti, 1;

tai sen suola, edellyttäen, että läsnä on ainakin yksi suolaa muodostava ryhmä.

Paljon voimakkaammin edullinen on kaavan I mukainen yhdiste, jossa

R_1 on
tert-butoksikarbonyyli, 2,2,2-trifluorietoksi-karbonyyli, 2-(metoksi)etoksikarbonyyli, 5(S)-2-okso-pyrrolidinyylimetoksikarbonyyli, 1-etoksikarbonyyli-piperidin-4-yylikarbonyyli, trans-(L)- 4-hydroksiprolyyli, N-(bentsyylioksikarbonyyli)-trans-(L)-4-hydroksiprolyyli, (L)-tiatsolidin-4-yylikarbonyyli, indol-2-yylikarbonyyli, 4H-1-bentsopyran-2-yylikarbonyyli, N-metyyli-piperidinyylioksikarbonyyli, tetrahydropyran-2(R,S)-yylikarbonyyli, O-(tetrahydropyran-4-yyli)-(L)-laktoyyli (= 2(S)-(tetrahydropyran-4-yylioksi)propionyyli), 3(S)-tetrahydrofuranyylioksikarbonyyli, 2-amino-tiatsol-4-yyliasetyyli, 6-(4-metyyli-piperatsin-1-yyli)-pyridin-3-yylikarbonyyli, 4-(morfolin-4-yylimetyyli)-bentsoyyli, N-metoksikarbonyyli-(L)-valyyli tai N-[(L)-tiatsolidin-4-yyli-karbonyyli]-(L)-valyyli; jolloin tert-butoksikarbonyyli on erityisen edullinen;

R_2 ja R_3 ovat sykloheksyyli, sykloheksen-1-yyli, fenyyli, 4-(bentsyylioksi)-fenyyli, 2,4-difluorifenyyli, 4-syaanifenyyli, 2-, 3- tai 4-metoksifenyyli, 4-isobutyylioksifenyyli, trimetoksifenyyli, jossa metoksisubstituentit ovat esimerkiksi 3,4,5-asemissa, kuten 3,4,5-trimetoksifenyylissä, 2,4,5-asemissa, kuten 2,4,5-trimetoksifenyylissä, tai 2,4,6-asemissa, kuten 2,4,6-trimetoksifenyylissä, jolloin metoksiradikaalit ovat edullisesti liittyneet epäsymmetri-

sesti fenyylirenkaaseen, etupäässä 2,3,4-asemissa, esimerkiksi 2,3,4-trimetoksifenyyli, 4-(2-metoksietoksi)fenyyli, 3,4-metyleenidioksifenyyli, tai 4-(pyridin-2- tai, erityisesti, pyridin-3-yyli-metoksi)fenyyli; tai, lisäksi, 4-metoksi-2-fluorifenyyli, 4-fluori-2-metoksifenyyli, 4-metoksi-2-hydroksifenyyli, 4-metoksi-2,3- dimetyylifenyyli, 4-(2-fenyylietyyli)fenyyli, 2-fluorifenyyli, 4-hydroksifenyyli, dimetoksifenyyli, kuten 2,4-dimetoksifenyyli, 3,4-dimetoksifenyyli, 2,5-dimetoksifenyyli tai 2,6-dimetoksifenyyli, 5,6,7,8-tetrahydro-1-naftyyli, 4-fluorinaftyyli, 4-syaaninaftyyli, 4-alempi-alkoksinaftyyli tai 4-(2,6-diklooribentsyylisulfonyyli)fenyyli, jolloin R_2 ja R_3 ovat edullisesti läsnä seuraavissa yhdistelmissä: R_2 = 4-bentsyylioksifenyyli ja R_3 = 4-bentsyylioksifenyyli; R_2 = fenyyli ja R_3 = 4-syaanifenyyli; R_2 = fenyyli ja R_3 = 2-fluorifenyyli; R_2 = fenyyli ja R_3 = 2,4-difluorifenyyli; R_2 = fenyyli ja R_3 = 4-(2-fenyylietyyli)fenyyli; R_2 = fenyyli ja R_3 = 4-(2,6-diklooribentsyylisulfonyyli)fenyyli; R_2 = 4-(2-metoksietoksi)fenyyli ja R_3 = 4-bentsyylioksifenyyli; R_2 = 4-(2-metoksietoksi)fenyyli ja R_3 = 4-hydroksifenyyli; R_2 = 4-(2-metoksietoksi)fenyyli ja R_3 = 4-metoksifenyyli; R_2 = 4-(2-metoksietoksi)fenyyli ja R_3 = 4-(2-metoksietoksi)- fenyyli; R_2 = 4-bentsyylioksifenyyli ja R_3 = 4-metoksifenyyli; R_2 = 4-hydroksifenyyli ja R_3 = 4-metoksifenyyli; R_2 = 4-metoksifenyyli ja R_3 = 4-metoksifenyyli; R_2 = 4- isobutyylioksifenyyli ja R_3 = 4-metoksifenyyli; R_2 = 4-metoksifenyyli ja R_3 = fenyyli; R_2 = sykloheksyyli ja R_3 = 4-metoksifenyyli; R_2 = fenyyli ja R_3 = 4-metoksi-2-fluorifenyyli; R_2 = fenyyli ja R_3 = 4-fluori-2-metoksifenyyli; R_2 = fenyyli ja R_3 = 4-metoksi-2-hydroksifenyyli; R_2 = 4-metoksifenyyli ja R_3 = sykloheksyyli; R_2 = 4-metoksi-fenyyli ja R_3 = sykloheksen-1-yyli; R_2 = sykloheksyyli ja R_3 = 4-bentsyylioksifenyyli; R_2 = sykloheksyyli ja R_3 = 4-hydroksifenyyli; R_2 = sykloheksyyli ja R_3 = 4-metoksifenyyli; R_2 sykloheksyyli ja R_3 = 4-(2-metoksietoksi)fenyyli; R_2 = fenyyli ja R_3 = fenyyli; R_2 = fenyyli ja R_3 = 4-bentsyylioksifenyyli; R_2 = fenyyli ja R_3 = 4-hydroksi-

fenyyli; R_2 = fenyyli ja R_3 = 4-isobutoksifenyyli; R_2 = fenyyli ja R_3 = 4-(pyridin-2-yylimetoksi)fenyyli; R_2 = fenyyli ja R_3 = 4-(pyridin-3-yylimetoksi)fenyyli; R_2 = fenyyli ja R_3 = 4-metoksifenyyli; R_2 = fenyyli ja R_3 = 3,4-metyleenidioksifenyyli; R_2 = fenyyli ja R_3 = 3,4-dimetoksifenyyli; R_2 = fenyyli ja R_3 = 3-metoksifenyyli; R_2 = fenyyli ja R_3 = 2,3,4-trimetoksifenyyli; R_2 = fenyyli ja R_3 = 3,4,5-trimetoksifenyyli; R_2 = fenyyli ja R_3 = 2,4-dimetoksifenyyli; R_2 = fenyyli ja R_3 = 2-metoksifenyyli; R_2 = fenyyli ja R_3 2,3-dimetyyli-4-metoksifenyyli; R_2 = fenyyli ja R_3 = 2,4,5-trimetoksifenyyli; R_2 fenyyli ja R_3 = 2,4,6-trimetoksifenyyli; R_2 = fenyyli ja R_3 = 5,6,7,8-tetrahydro-1-naftyyli; R_2 = fenyyli ja R_3 = 2,5-dimetoksifenyyli; R_2 = fenyyli ja R_3 = 2,6-dimetoksifenyyli; R_2 = fenyyli ja R_3 = 4-metoksi-1-naftyyli; R_2 = fenyyli ja R_3 = 4-syaani-1-naftyyli; R_2 = fenyyli ja R_3 = 4-fluori-1-naftyyli; R_2 = sykloheksyyli ja R_3 = 3,4-metyleenidioksifenyyli; R_2 = sykloheksyyli ja R_3 = 3,4-dimetoksifenyyli; R_2 = sykloheksyyli ja R_3 = 3-metoksifenyyli; R_2 = sykloheksyyli ja R_3 = 3,4,5- trimetoksifenyyli; R_2 = sykloheksyyli ja R_3 = 2,4-dimetoksifenyyli; R_2 = sykloheksyyli ja R_3 = 2-metoksifenyyli; R_2 = sykloheksyyli ja R_3 = 2,3,4-trimetoksifenyyli; R_2 sykloheksyyli ja R_3 = 2,4,6-trimetoksifenyyli; R_2 = sykloheksyyli ja R_3 = 5,6,7,8-tetrahydro-1-naftyyli; R_2 = sykloheksyyli ja R_3 = 2,5-dimetoksifenyyli; R_2 sykloheksyyli ja R_3 = 2,6-dimetoksifenyyli; R_2 = sykloheksyyli ja R_3 = 4-metoksi-1- naftyyli; R_2 = sykloheksyyli ja R_3 = 4-syaani-1-naftyyli; tai R_2 = sykloheksyyli ja R_3 4-fluori-1-naftyyli; jolloin seuraavat näistä yhdistelmistä ovat aivan erityisen edullisia: R_2 = fenyyli ja R_3 = 2,3,4-trimetoksifenyyli; R_2 = sykloheksyyli ja R_3 = 2,3,4-trimetoksifenyyli; R_2 = fenyyli ja R_3 = 4-metoksifenyyli; tai R_2 = sykloheksyyli ja R_3 = 4-metoksifenyyli; ja, hyvin erityisesti, yhdistelmät R_2 = fenyyli ja R_3 = 2,3,4-trimetoksifenyyli; tai, lisäksi, R_2 = sykloheksyyli ja R_3 = 2,3,4-trimetoksifenyyli;

R_4 on isopropyyli tai, lisäksi, sykloheksyyli tai fenyyli;

R_5 on etyyli tai, erityisesti, metyyli; ja

n on 2 tai, erityisesti, 1;

tai sen suola, edellyttäen, että läsnä on ainakin yksi suolaa muodostava ryhmä.

Erittäin edullinen on kaavan I (erityisesti kaavan I') mukainen yhdiste, jossa

R_1 on alempi-alkoksikarbonyyli tai alempi-alkoksikarbonyyli, joka on substituoitu enintään kolmesti halogeenilla, erityisesti fluorilla, ja on, erityisesti, tert-butoksikarbonyyli tai 2,2,2-trifluorietoksikarbonyyli;

R_2 ja R_3 esiintyvät seuraavina yhdistelminä:

R_2 = fenyyli ja R_3 = syaanifenyyli, erityisesti 4-syaanifenyyli;
R_2 = fenyyli ja R_3 = difluorifenyyli, erityisesti 2,4-difluorifenyyli;
R_2 = fenyyli ja R_3 = 4-alempi-alkoksifenyyli, erityisesti 4-metoksifenyyli;
R_2 = 4-(alempi-alkoksi-alempi-alkoksi)fenyyli, erityisesti 4-(2-metoksietoksi)fenyyli, ja R_3 = 4-fenyyli-alempi-alkoksifenyyli, erityisesti 4-bentsyylioksifenyyli;
R_2 = sykloheksyyli ja R_3 = 4-alempi-alkoksifenyyli, erityisesti 4-metoksifenyyli;
R_2 = fenyyli ja R_3 = fenyyli;
R_2 = fenyyli ja R_3 = 4-fenyyli-alempi-alkoksifenyyli, erityisesti 4-bentsyylioksifenyyli;
R_2 = fenyyli ja R_3 = 4-(pyridin-3-yyli-alempi-alkoksi)fenyyli, erityisesti 4-(pyridin-3-yylimetoksi)fenyyli;
R_2 = fenyyli ja R_3 = 3,4-alempi-alkyleenidioksifenyyli, erityisesti 3,4-metyleenidioksifenyyli;

R_2 = fenyyli ja R_3 = 2,3,4-tri-alempi-alkoksifenyyli (erityisen edullinen), erityisesti 2,3,4-tiimetoksifenyyli (aivan erityisen edullinen); tai, lisäksi,
R_2 = sykloheksyyli ja R_3 = 4-(alempi-alkoksi-alempi-alkoksi)fenyyli, erityisesti 4-(2-metoksietoksi)fenyyli;

R_4 on isopropyyli;

R_5 on metyyli; ja

n on 1.

Aivan erityisen edullinen on kaavan I' mukainen yhdiste, jossa

R_1 on alempi-alkoksikarbonyyli, erityisesti tert-butoksikarbonyyli;

R_2 = fenyyli ja R_3 = 4-alempi-alkoksifenyyli, erityisesti 4-metoksifenyyli, tai, edullisesti, 2,3,4-tri-alempi-alkoksifenyyli, erityisesti 2,3,4-trimetoksikarbonyyli;

R_4 on isopropyyli;

R_5 on metyyli; ja

n on 1.

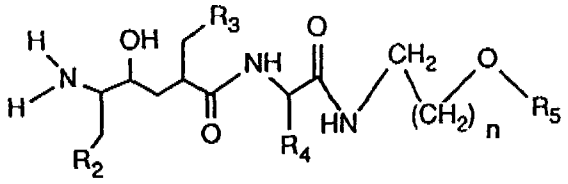
Edullisimpia ovat kaavan I mukaiset yhdisteet, jotka nimetään esimerkeissä, tai niiden farmaseuttisesti hyväksyttävät suolat, edellyttäen, että läsnä on ainakin yksi suolaa muodostava ryhmä.

Kaavan I mukaisia yhdisteitä, tai suoloja sellaisista yhdisteistä, joissa on ainakin yksi suolaa muodostava ryhmä, saadaan sinänsä tunnetuilla menetelmillä, esimerkiksi siten, että

a) kaavan II mukaista happoa

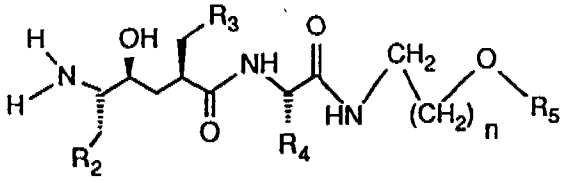
$$R_1\text{-OH} \qquad \text{(II)}$$

tai sen reaktiivista happojohdannaista, jossa R_1:llä on samat merkitykset kuin R_1:llä kaavan I mukaisissa yhdisteissä, kondensoidaan kaavan III mukaisen aminoyhdisteen kanssa



(III)

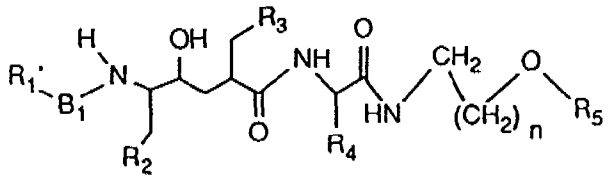
(erityisesti kaavan III' mukaisen



(III'))

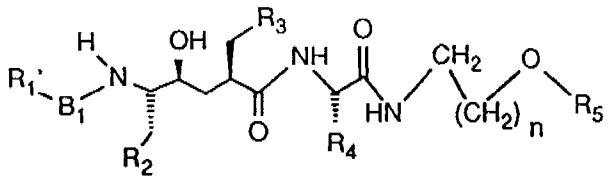
tai sen reaktiivisen johdannaisen, jossa n:llä ja radikaaleilla on kaavan I mukaisille yhdisteille määritellyt merkitykset, jolloin läsnä olevat vapaat funktionaaliset ryhmät, reaktioon osallistuvia lukuun ottamatta, ovat kaavojen II ja III (tai III') mukaisissa lähtöaineissa suojatussa muodossa, ja poistetaan läsnä olevat suojaryhmät, tai

b) kaavan Ia mukaisen yhdisteen valmistamiseksi



(Ia)

(erityisesti kaavan Ia' mukaisen yhdisteen valmistamiseksi

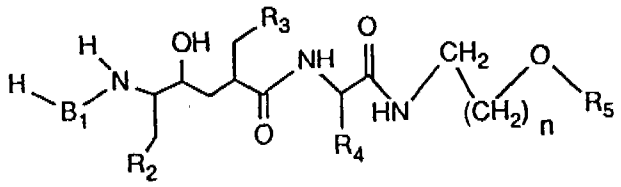


(Ia')),

jossa B_1 on kaavan I alla määritelty kahdenarvoinen aminohappotähde, joka on liittynyt karbonyyliryhmän kautta (kaavassa Ia' esitettyyn kiinnitysatomiin) ja aminoryhmän kautta (R_1':uun), ja R_1' on yksi R_1:lle kaavan I alla määritellyistä radikaaleista, erillään kaavan I alla määritellystä asyloimattomasta tai N-asyloidusta aminohappotähteestä, niin että B_1 ja R_1' yhdessä ovat tähde, joka on liittynyt N-asyloidun aminohapon karbonyyliryhmän kautta, kuten määritellään R_1:lle kaavan I alla, ja n ja lopuilla radikaaleilla on kaavan I mukaisille yhdisteille määritellyt merkitykset, kondensoidaan kaavan IV mukaista karboksyylihappoa

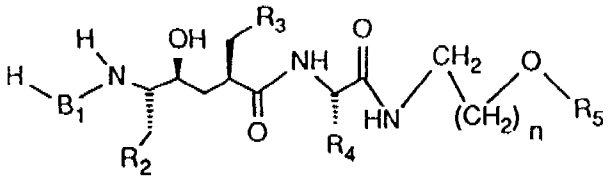
$$R_1'\text{-OH} \qquad \text{(IV)}$$

tai sen reaktiivista happojohdannaista, jossa R_1' voi olla R_1:lle kaavan I mukaisissa yhdisteissä määritelty radikaali, erillään asyloimattoman tai N-asyloidun aminohapon tähteestä, joka on liittynyt karbonyyliryhmänsä kautta, kaavan IIIa mukaisen aminoyhdisteen kanssa



(IIIa)

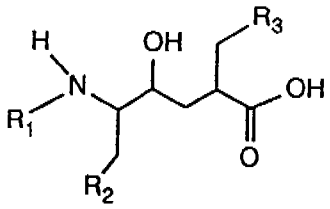
(erityisesti kaavan IIIa' mukaisen



(IIIa')),

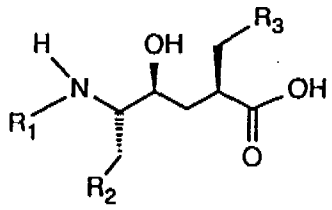
tai sen reaktiivisen johdannaisen kanssa, jossa B_1:llä on välittömästi edellä määritellyt merkitykset ja n ja lopuilla radikaaleilla on kaavan I mukaisille yhdisteille määritellyt merkitykset, jolloin läsnä olevat vapaat funktionaaliset ryhmät, reaktioon osallistuvia lukuun ottamatta, ovat vaadittaessa kaavojen IIIa (tai IIIa') ja IV mukaisissa lähtöaineissa suojatussa muodossa, ja läsnä olevat suojaryhmät poistetaan, tai

c) kaavan V mukainen karboksyylihappo



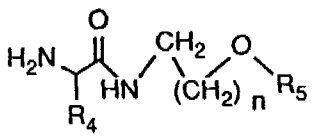
(V)

(erityisesti kaavan V' mukainen



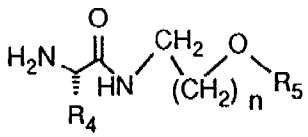
(V')),

tai sen reaktiivinen johdannainen, jossa radikaaleilla on kaavan I mukaisille yhdisteille määritellyt merkitykset, kondensoidaan kaavan VI mukaisen aminoyhdisteen



(VI)

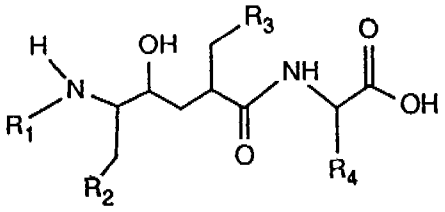
(erityisesti kaavan VI' mukaisen



(VI')),

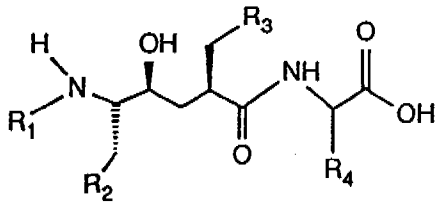
tai sen reaktiivisen johdannaisen kanssa, jossa n:llä ja radikaaleilla on kaavan I mukaisille yhdisteille määritellyt merkitykset, jolloin läsnä olevat vapaat funktionaaliset ryhmät, reaktioon osallistuvia lukuun ottamatta, ovat tarvittaessa läsnä kaavojen V (tai V') ja VI (tai VI') mukaisissa lähtöaineissa suojatussa muodossa, ja läsnä olevat suojaryhmät poistetaan, tai

d) kaavan VII mukaista karboksyylihappoa



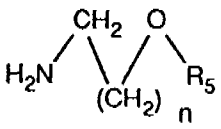
(VII)

(erityisesti kaavan VII' mukaista



(VII'))

tai sen reaktiivista johdannaista, jossa radikaaleilla on kaavan I mukaisille yhdisteille määritellyt merkitykset, kondensoidaan kaavan VIII mukaisen aminoyhdisteen



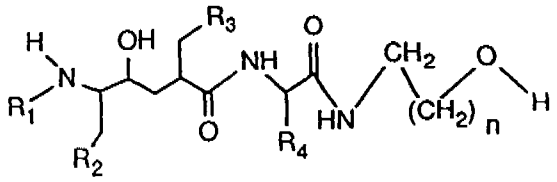
(VIII)

tai sen reaktiivisen johdannaisen kanssa, jossa n:llä ja

R_5:llä on kaavan I mukaisille yhdisteille määritellyt merkitykset, jolloin läsnä olevat vapaat funktionaaliset ryhmät, reaktioon osallistuvia lukuun ottamatta, ovat kaavojen VII (tai VII') ja VIII mukaisissa lähtöaineissa vaadittaessa suojatussa muodossa, ja läsnä olevat suojaryhmät poistetaan haluttaessa, tai

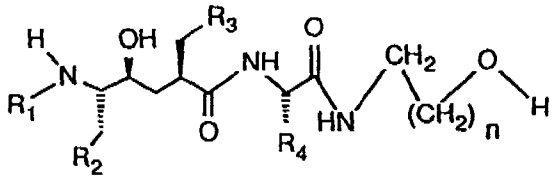
e) joko

(i) eetteröidään kaavan IX mukaista hydroksiyhdistettä



(IX)

(erityisesti kaavan IX' mukaista



(IX')),

tai sen alkoholaattisuolaa, jossa n:llä ja radikaaleilla on kaavan I mukaisille yhdisteille määritellyt merkitykset, kaavan X mukaisella yhdisteellä

$$W_1\text{-}R_6 \qquad (X),$$

jossa R_6:llä on kaavan I mukaisille yhdisteille määritellyt merkitykset ja W_1 on poistuva ryhmä, tai

(ii) eetteröidään kaavan IX (tai IX') mukaisen hydroksiyhdisteen reaktiivista johdannaista kaavan Xa mukaisella yhdisteellä

$HO-R_6$ (Xa),

tai sen alkoholaattisuolalla, jossa R_6 on välittömästi edellä määritelty,

jolloin läsnä olevat vapaat funktionaaliset ryhmät, reaktioon osallistuvia lukuun ottamatta, kaavojen IX (tai IX'), X ja Xa mukaisissa lähtöaineissa ovat vaadittaessa suojatussa muodossa, ja läsnä olevat suojaryhmät poistetaan, tai

f) poistetaan kaavan I (erityisesti I') mukaisessa yhdisteessä läsnä olevat suojaryhmät, jossa substituentit ovat edellä määritellyt, edellyttäen, että kyseisessä kaavan I mukaisessa yhdisteessä ainakin yksi funktionaalinen ryhmä on suojattu suojaryhmillä,

jolloin määritellyissä menetelmävaiheissa a) - f) on mahdollista, ellei jo erityisesti ole mainittu, käyttää lähtöaineita myös suolojen muodossa, edellyttäen, että läsnä on suolaa muodostavia ryhmiä,

ja/tai, haluttaessa, kaavan I (tai I') mukainen yhdiste, joka saadaan yhdellä edellä mainituista menetelmistä a) - f) ja jossa on ainakin yksi suolaa muodostava ryhmä,

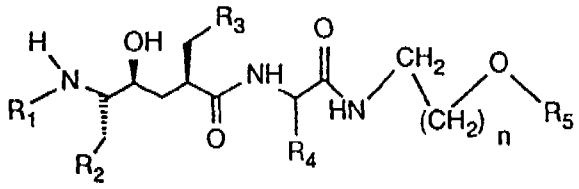
muutetaan suolakseen, ja/tai muutetaan saatavissa oleva suola vapaaksi yhdisteeksi tai toiseksi suolaksi, ja/tai erotetaan kaavan I (tai I') mukaisten yhdisteiden isomeeriseoksia, ja/tai muutetaan kaavan I (tai I') mukainen uusi yhdiste toiseksi kaavan I (tai I') mukaiseksi uudeksi yhdisteeksi.

Edellä määriteltyä menetelmää kuvataan alla yksityiskohtaisemmin:

Radikaaleilla R_1, R_2, R_3, R_4 ja R_5, ja n:llä on vastaavien menetelmävaiheisen kuvauksessa sekä edellä että alla kaavan

I mukaisille yhdisteille määritellyt merkitykset, ellei muuta mainita.

Kussakin tapauksessa on kaavan I' mukaisten yhdisteiden valmistus



(I')

jossa n:llä ja radikaaleilla on kaavan I mukaisille yhdisteille määritellyt merkitykset, on edullista kaavan I mukaisia yhdisteitä valmistettaessa.

Vastaavissa menetelmissä heittomerkillä merkittyjen kaavojen I', Ia', III', IIIa', V', VI', VII' ja IX' mukaiset yhdisteet, joilla on ilmoitettu stereospesifisyys, ovat erityisen edullisia verrattuna vastaaviin yhdisteisiin, jotka ovat ilman ilmoitettua stereospesifisyyttä ja ovat kaavojen I, Ia, III, IIIa, V, VI, VII ja IX mukaisia; vastaavat yhdisteseokset, joissa hiiliatomit (esitetyssä järjestyksessä C(5), C(2) ja C(4)), jotka sisältävät radikaalin R_2-CH_2-, radikaalin R_3-CH_2- ja niiden välissä sijaitsevan OH:n, ovat (2R,4S,5S)-konfiguraatiossa ja (2S,4R,5R)-konfiguraatiossa, ja ovat kussakin tapauksessa vähemmän edullisia kuin yhdisteet, jotka on merkitty heittomerkillä, mutta ovat voimakkaammin edullisia kuin vastaavat yhdisteet ilman mitään ilmaistua stereospesifisyyttä.

Seuraavassa vastaavia yhdisteseoksia, joilla on (2R,4S,5S)-konfiguraatio ja (2S,4R,5R)-konfiguraatio tai, erityisesti yhdisteitä, jotka kussakin tapauksessa vastaavat kaavoja ja jotka on merkitty heittomerkillä, voidaan kussakin tapauksessa edullisesti käyttää kaavojen I, Ia, III, IIIa, V, VI, VII ja IX mukaisten yhdisteiden sijasta, edellyttäen, että tämä on kemiallisesti tarkoituksenmukaista; tämä pätee myös

muiden prosessimenettelytapojen kappaleelle ja lähtöaineille.

Menetelmä a) (amidisidoksen valmistus)

Kaavojen II ja III mukaisissa lähtöaineissa funktionaaliset ryhmät, lukuun ottamatta ryhmiä, jotka osallistuvat reaktioon tai eivät reagoi reaktio-olosuhteissa, ovat toisistaan riippumatta suojaryhmillä suojattuja.

Suojaryhmiin lähtöaineissa olevia funktionaalisia ryhmiä varten, joiden reaktiota on vältettävä, erityisesti karboksyyli-, amino-, hydroksyyli- ja merkaptoryhmiä, luetaan erityisesti ne suojaryhmät (tavanomaiset suojaryhmät), joita tavanomaisesti käytetään peptidiyhdisteiden tai muuten kefalosporiinien ja penisilliinien, ja myös nukleiinihappojohdannaisten ja sokerien synteesissä. Nämä suojaryhmät voivat olla läsnä jo prekursoreissa, ja ne on tarkoitettu suojaamaan kyseessä olevia funktionaalisia ryhmiä ei-toivotuilta sivureaktioilta, kuten asyloinneilta, eetteröinneiltä, esteröinneiltä, hapetuksilta, solvolyysiltä ja vastaavilta. Määrätyissä tapauksissa suojaryhmien vaikutuksena voi tämän lisäksi olla reaktioiden etenemisen selektiiviseksi, esimerkiksi stereoselektiiviseksi. Suojaryhmien ominaispiirre on, että ne ovat helposti irrotettavissa, ts. ilman ei-toivottuja sivureaktioita, esimerkiksi solvolyyttisesti, pelkistämällä, fotolyyttisesti tai muuten entsymaattisesti, esimerkiksi myös fysiologisissa olosuhteissa, ja että niitä ei ole läsnä lopputuotteissa. Kaavan I mukaisilla yhdisteillä, joissa on suojattuja funktionaalisia ryhmiä, joiden suojaryhmät ovat irrotettavissa fysiologisissa olosuhteissa, voi olla korkeampi metabolinen stabiilisuusaste, tai muuten parantuneet farmakodynaamiset ominaisuudet verrattuna vastaaviin yhdisteisiin, joissa on vapaat funktionaaliset ryhmät.

Funktionaalisten ryhmien suojaus sellaisilla suojaryhmillä,

itse suojaryhmät, ja myös reaktiot niiden poistamiseksi, kuvataan esimerkiksi standarditeoksessa, kuten J. F. W. McOmie, "Protecting Groups in Organic Chemistry", Plenum Press, Lontoo ja New York 1973, teoksessa Th. W. Greene, "Protecting Groups in Organic Synthesis", Wiley, New York 1981, teoksessa "The Peptides"; vol. 3 (E. Gross ja J. Meienhofer, toimittajat), Academic Press, Lontoo ja New York 1981, teoksessa "Methoden der organischen Chemie" (Methods of Organic Chemistry), HoubenWeyl, 4. painos, vol. 15/I, Georg Thieme Verlag, Stuttgart 1974, teoksessa H.-D. Jakubke ja H. Jescheit, "Aminosäuren, Peptide, Proteine" (Amino acids, Peptides and Proteins), Verlag Chemie, Weinheim, Deerfield Beach ja Basel 1982, ja teoksessa Jochen Lehmann, "Chemie der Kohlenhydrate: Monosaccharide und Derivate" (Chemistry of the Carbohydrates: Monosaccharides and Derivatives), Georg Thieme Verlag, Stuttgart 1974.

Karboksyyliryhmä suojataan esimerkiksi esteriryhmänä, joka voidaan lohkaista selektiivisesti lievissä olosuhteissa. Karboksyyliryhmä, joka suojataan esteröidyssä muodossa, esteröidään etupäässä alempialkyyliryhmällä, joka on edullisesti haaroittunut alempialkyyliryhmän 1-asemassa tai on substituoitu alempialkyyliryhmän 1- tai 2-asemaan sopivilla substituenteilla.

Suojattu karboksyyliryhmä, joka on esteröity alempialkyyliryhmällä, on esimerkiksi metoksikarbonyyli tai etoksikarbonyyli.

Suojattu karboksyyliryhmä, joka on esteröity alempialkyyliryhmällä, joka on haaroittunut alempialkyyliryhmän 1-asemassa, on esimerkiksi tert-alempi-alkoksikarbonyyli, esimerkiksi tert-butoksikarbonyyli.

Suojattu karboksyyliryhmä, joka on esteröity alempialkyyliryhmällä, joka on substituoitu alempialkyyliryhmän 1- tai 2-asemaan sopivilla substituenteilla, on esimerkiksi 1-

aryyli-alempi-alkoksikarbonyyli, kuten aryylimetoksikarbonyyli, jossa on yksi tai kaksi aryyliradikaalia, jossa aryyli on fenyyli, joka on substituoimaton tai on substituoitu kerran, kahdesti tai kolmesti esimerkiksi alempialkyylillä, esimerkiksi tert-alempialkyylillä, kuten tert-butyylillä, alempi-alkoksilla, esimerkiksi metoksilla, hydroksyylillä, halogeenilla, esimerkiksi kloorilla, ja/tai nitrolla, esimerkiksi bentsyylioksikarbonyyli, bentsyylioksikarbonyyli, joka on substituoitu mainituilla substituenteilla, esimerkiksi 4-nitrobentsyylioksikarbonyyli tai 4-metoksibentsyylioksikarbonyyli, difenyylimetoksikarbonyyli tai difenyylimetoksikarbonyyli, joka on substituoitu mainituilla substituenteilla, esimerkiksi di-(4-metoksifenyyli)-metoksikarbonyyli, tai, lisäksi, karboksyyli, joka on esteröity alempialkyyliryhmällä, jossa alempialkyyliryhmä on substituoitu 1- tai 2-asemaan sopivilla substituenteilla, kuten 1-alempi-alkoksi-alempi-alkoksikarbonyyli, esimerkiksi metoksimetoksikarbonyyli, 1-metoksietoksikarbonyyli tai 1-etoksietoksikarbonyyli, 1-alempi-alkyylitio-alempi-alkoksikarbonyyli, esimerkiksi 1-metyylitiometoksikarbonyyli tai 1-etyylitioetoksikarbonyyli, aroyylimetoksikarbonyyli, jossa aroyyliryhmä on bentsoyyli, joka on substituoimaton tai substituoitu, esimerkiksi, halogeenilla, kuten bromilla, esimerkiksi fenasyylioksikarbonyyli, 2-halogeeni-alempi-alkoksikarbonyyli, esimerkiksi 2,2,2-trikloorietoksikarbonyyli, 2-bromietoksikarbonyyli tai 2-jodietoksikarbonyyli, tai myös 2-(trisubstituoitu silyyli)-alempi-alkoksikarbonyyli, jossa substituentit ovat kussakin tapauksessa toisistaan riippumatta alifaattinen, aralifaattinen, sykloalifaattinen tai aromaattinen hiilivetyradikaali, joka on substituoimaton tai substituoitu esimerkiksi alempialkyylillä, alempi-alkoksilla, aryylillä, halogeenilla ja/tai nitrolla, esimerkiksi alempialkyyli, joka on substituoimaton tai substituoitu kuten edellä, fenyyli-alempi alkyyli, sykloalkyyli tai fenyyli, esimerkiksi 2-tri-alempi-alkyylisilyyli-alempi-alkoksikarbonyyli, kuten 2-tri-alempi-alkyylisilyylietoksikarbonyyli, esimerkiksi 2-

trimetyylisilyylietoksikarbonyyli tai 2-(di-n-butyylimetyylisilyyli)etoksikarbonyyli, tai 2-triaryylisilyylietoksikarbonyyli, kuten trifenyylisilyylietoksikarbonyyli.

Karboksyyliryhmä voi olla suojattu myös orgaanisena silyylioksikarbonyyliryhmänä. Orgaaninen silyylioksikarbonyyliryhmä on esimerkiksi tri-alempi-alkyylisilyylioksikarbonyyliryhmä, esimerkiksi trimetyylisilyylioksikarbonyyli. Silyylioksikarbonyyliryhmän piiatomi voi myös olla substituoitu kahdella alempi alkyyli-, esimerkiksi metyyliryhmillä, ja kaavan I mukaisen toisen molekyylin amino- tai karboksyyliryhmällä. Yhdisteitä, joissa on sellaisia suojaryhmiä, voidaan valmistaa esimerkiksi käyttämällä silyloimistaineina vastaavia tri-alempi-alkyylihalogeenisilaaneja, kuten tert-butyylidimetyylikloorisilaania.

Karboksyyliryhmä suojataan myös sisäisen esterin muodossa molekyylissä sopivalla etäisyydellä, esimerkiksi γ-asemassa karboksyyliryhmään nähden läsnä olevan hydroksyyliryhmän kanssa, ts. laktonin, edullisesti γ-laktonin muodossa.

Suojattu karboksyyliryhmä on edullisesti tert-alempi-alkoksikarbonyyli, esimerkiksi tert-butoksikarbonyyli, bentsyylioksikarbonyyli, 4-nitrobentsyylioksikarbonyyli, 9-fluorenyylimetoksikarbonyyli tai difenyylimetoksikarbonyyli, tai suojattu karboksyyliryhmä laktonin, erityisesti γ-laktonin muodossa.

Suojattu aminoryhmä on suojattu aminosuojaryhmällä, esimerkiksi asyyliamino-, aryylimetyyliamino-, eetteröidyn merkaptoamino-, 2-asyyli-alempi-alk-1-enyyliamino- tai silyyliaminoryhmän muodossa, tai atsidoryhmänä.

Asyyliaminoryhmässä asyyli on esimerkiksi asyyliradikaali orgaanisesta karboksyylihaposta, jossa on esimerkiksi enintään 18 hiiliatomia, erityisesti alempi-alkaanikarboksyylihaposta, joka on substituoimaton tai substituoitu

esimerkiksi halogeenilla tai aryylillä, tai bentsoehaposta, joka on substituoimaton tai substituoitu esimerkiksi halogeenilla, alempi-alkoksilla tai nitrolla, tai edullisesti hiilihappopuoliesteristä. Sellaisia asyyliryhmiä ovat edullisesti alempi alkanoyyli, kuten formyyli, asetyyli, propionyyli tai pivaloyyli, halogeeni-alempi-alkanoyyli, esimerkiksi 2-halogeeniasetyyli, kuten 2-kloori-, 2-bromi-, 2-jodi-, 2,2,2-trifluori- tai 2,2,2-triklooriasetyyli, bentsoyyli, joka on substituoimaton tai substituoitu esimerkiksi halogeenilla, alempi-alkoksilla tai nitrolla, kuten bentsoyyli, 4-klooribentsoyyli, 4-metoksibentsoyyli tai 4-nitrobentsoyyli, alempi-alkoksikarbonyyli, alempi-alkoksikarbonyyli, joka on edullisesti haaroittunut alempi-alkyyliradikaalin 1-asemassa tai on sopivasti substituoitu 1- tai 2-asemaan, esimerkiksi tert-alempi-alkoksikarbonyyli, kuten tert-butoksikarbonyyli, 1-aryyli-alempi-alkoksikarbonyyli, kuten aryylimetoksikarbonyyli, jossa on yksi, kaksi tai kolme aryyliradikaalia, joita ovat fenyyli, joka on substituoimaton tai substituoitu kerran tai useammin kuin kerran esimerkiksi alempi-alkyylillä, erityisesti tert-alempi-alkyylillä, kuten tert-butyylillä, alempi-alkoksilla, kuten metoksilla, hydroksyylillä, halogeenilla, kuten kloorilla, ja/tai nitrolla, esimerkiksi bentsyylioksikarbonyyli, 4-nitrobentsyylioksikarbonyyli, difenyylimetoksikarbonyyli, 9-fiuorenyylimetoksikarbonyyli tai di-(4-metoksifenyyli)metoksikarbonyyli, aroyylimetoksikarbonyyli, jossa aroyyliryhmä on bentsoyyli, joka on substituoimaton tai edullisesti substituoitu esimerkiksi halogeenilla, kuten bromilla, esimerkiksi fenasyylioksikarbonyyli, 2-halogeeni-alempi-alkoksikarbonyyli, esimerkiksi 2,2,2-trikloorietoksikarbonyyli, 2-bromietoksikarbonyyli tai 2-jodietoksikarbonyyli, 2-(tri-substituoitu silyyli)-alempi-alkoksikarbonyyli, esimerkiksi 2-tri-alempi-alkyylisilyyli-alempi-alkoksikarbonyyli kuten 2-trimetyylisilyyli-etoksikarbonyyli tai 2-(di-n-butyylimetyylisilyyli)etoksikarbonyyli, tai triaryylisilyyli-alempi-alkoksikarbonyyli, esimerkiksi 2-trifenyylisilyylietoksikarbonyyli.

Aryylimetyyliaminoryhmässä esimerkiksi mono-, di- tai erityisesti tri-aryylimetyyliaminoryhmässä, aryyliradikaalit ovat erityisesti fenyyliradikaaleja, jotka ovat substituoimattomia tai substituoituja. Esimerkkejä sellaisista ryhmistä ovat bentsyyli-, difenyylimetyyli- tai erityisesti trityyli-amino.

Eetteröidyssä merkaptoaminoryhmässä merkaptoryhmä on etupäässäläsnä substituoituna aryylitiona tai aryyli-alempialkyylitiona, jossa aryyli on esimerkiksi fenyyli, joka on substituoimaton tai substituoitu esimerkiksi alempialkyylillä, kuten metyylillä tai tert-butyylillä, alempi-alkoksilla, kuten metoksilla, halogeenilla, kuten kloorilla, ja/tai nitrolla, esimerkiksi 4-nitrofenyylitio.

2-asyyli-alempi-alk-1-enyyliradikaalissa, jota voidaan käyttää aminosuojaryhmänä, asyyli on esimerkiksi vastaava radikaali alempi-alkaanikarboksyylihaposta, bentsoehaposta, joka on substituoimaton tai substituoitu esimerkiksi alempi-alkyylillä, kuten metyylillä tai tert-butyylillä, alempi-alkoksilla, kuten metoksilla, halogeenilla, kuten kloorilla, ja/tai nitrolla, tai, erityisesti, hiilihappopuoliesteristä, kuten hiilihappo-alempi-alkyylipuoliesteristä. Vastaavia suojaryhmiä ovat etupäässä 1-alempi-alkanoyyli-alempi-alk-1-en-2-yyli, esimerkiksi 1-alempi-alkanoyyli-prop-1-en-2-yyli, kuten 1-asetyyli-prop-1-en-2-yyli, tai alempi-alkoksikarbonyyli-alempi-alk-1-en-2-yyli, esimerkiksi alempi-alkoksikarbonyyli-prop-1-en-2-yyli, kuten 1-etoksikarbonyyli-prop-1-en-2-yyli.

Silyyliaminoryhmä on esimerkiksi, tri-alempi-alkyylisilyyliaminoryhmä, esimerkiksi trimetyylisilyyliamino tai tert-butyylidimetyylisilyyliamino. Silyyliaminoryhmän piiatomi voi myös olla substituoitu vain kahdella alempi-alkyyliryhmällä, esimerkiksi metyyliryhmällä, ja kaavan I mukaisen toisen molekyylin aminoryhmällä tai karboksyyliryhmällä. Yhdisteitä, joissa on sellaisia suojaryhmiä, voidaan val-

mistaa esimerkiksi käyttämällä silylointireagensseina vastaavia kloorisilaaneja, kuten tert-butyylidimetyylikloorisilaania.

Aminoryhmä voidaan myös suojata muuttamalla protonoituun muotoon; sopivia vastaavia anioneja ovat etupäässä vahvojen epäorgaanisten happojen, kuten rikkihapon, fosforihapon tai vetyhalogenidihappojen anionit, esimerkiksi kloori- tai bromianioni, tai orgaanisten sulfonihappojen, kuten p-tolueenisulfonihapon anioni.

Edullisia aminosuojaryhmiä ovat alempi-alkoksikarbonyyli, fenyyli-alempi-alkoksikarbonyyli, fluorenyyli-alempi-alkoksikarbonyyli, 2-alempi-alkanoyyli-alempi-alk-1-en-2-yyli tai alempi-alkoksikarbonyyli-alempi-alk-1-en-2-yyli, erikoisesti tert-butoksikarbonyyli tai bentsyylioksikarbonyyli.

Hydroksyyliryhmä voidaan suojata esimerkiksi asyyliryhmällä, esimerkiksi alempi-alkanoyylillä, joka on substituoimaton tai substituoitu halogeenilla, kuten kloorilla, kuten asetyyli tai 2,2-diklooriasetyyli, tai erityisesti hiilihappopuoliesterin asyyliradikaalilla, joka on spesifinen suojatuille aminoryhmille. Hydroksyyliryhmä voidaan myös suojata tri-alempi-alkyylisilyylillä, esimerkiksi trimetyylisilyylillä, tri-isopropyylisilyylillä tai tert-butyylidimetyylisilyylillä, helposti irrotettavalla eetteröintiryhmällä, esimerkiksi alkyyliryhmällä, kuten tert-alempialkyyli-, esimerkiksi tert-butyyli-, oksa- tai tia-alifaattisella tai -sykloalifaattisella, erityisesti 2-oksa- tai 2-tia-alifaattisella tai -sykloalifaattisella hiilivetyradikaalilla, esimerkiksi 1-alempi-alkoksi-alempi-alkyylillä tai 1-alempi-alkyylitio-alempi alkyylillä, kuten metoksimetyylillä, 1-metoksimetyylillä, 1-etoksimetyylillä, metyylitiometyylillä, 1-metyylitioetyylillä tai 1-etyylitioetyylillä, tai 2-oksa- tai 2-tia-sykloalkyylillä, jossa on 5 - 7 rengasatomia, kuten 2-tetrahydrofuryylillä tai 2-

tetrahydropyranyylillä, tai vastaavalla tia-analogilla, ja myös 1-fenyyli-alempialkyylillä, kuten bentsyylillä, difenyylimetyylillä tai trityylillä, jolloin on mahdollista, että fenyyliradikaalit on substituoitu esimerkiksi halogeenilla, esimerkiksi kloorilla, alempi-alkoksilla, esimerkiksi metoksilla ja/tai nitrolla. Edullinen hydroksyylisuojaryhmä on esimerkiksi 2,2,2-trikloorietoksikarbonyyli, 4-nitrobentsyylioksikarbonyyli, difenyylimetoksikarbonyyli, bentsyyli tai trityyli.

Kaksi hydroksyyliryhmää, erityisesti vierekkäistä hydroksyyliryhmää, jotka ovat läsnä molekyylissä, tai viereinen hydroksyyliryhmä ja aminoryhmä voidaan esimerkiksi suojata kahdenarvoisilla suojaryhmillä, kuten metyleeniryhmällä, joka on edullisesti substituoitu, esimerkiksi yhdellä tai kahdella alempi-alkyyliradikaalilla tai oksolla, esimerkiksi substituoimattomalla tai substituoidulla alkylideenillä, esimerkiksi alempi-alkylideenillä, kuten isopropylideenillä, sykloalkylideenillä, kuten sykloheksylideenillä, karbonyyliryhmällä tai bentsylideenillä.

Hydroksyyliryhmä, joka sijaitsee karboksyyliryhmän vieressä, voidaan suojata muodostamalla sisäisen esterin (laktonin), erityisesti γ-laktonin.

Suojattu hydroksyyliryhmä on edullisesti suojattu tri-alempi-alkyylisilyylillä tai laktonina, erityisesti tert-butyylidimetyylisilyylillä tai γ-laktonina.

Merkaptoryhmä, esimerkiksi kysteiinissä, voidaan suojata, erityisesti S-alkyloimalla substituoimattomilla tai substituoiduilla alkyyliradikaaleilla, silyloinnilla, tioasetaalinmuodostuksella, S-asyloinnilla tai asymmetristen disulfidiryhmien muodostuksella. Edullisia merkaptosuojaryhmiä ovat esimerkiksi bentsyyli, joka on substituoimaton tai substituoitu fenyyliradikaaliin, esimerkiksi metoksilla tai nitrolla, kuten 4-metoksibentsyyli, difenyylimetyyli,

joka on substituoimaton tai substituoitu fenyyliradikaaliin, esimerkiksi metoksilla, kuten di-(4-metoksifenyyli)metyyli, trifenyylimetyyli, pyridyylidifenyylimetyyli, trimetyylisilyyli, bentsyylitiometyyli, tetrahydropyranyyli, asyyliaminometyyli, kuten asetamidometyyli, iso-butyryyliasetamidometyyli tai 2-klooriasetamidometyyli, bentsoyyli, bentsyylioksikarbonyyli tai alkyyli-, erityisesti alempi-alkyyliaminokarbonyyli, kuten etyyliaminokarbonyyli, ja myös alempi-alkyylitio, kuten S-etyylitio tai S-tert-butyylitio, tai S-sulfo.

Tässä patenttihakemuksessa polymeerikantaja, jollainen on sopivaa esimerkiksi Merrifield-synteesiin, ja joka on kiinnittynyt suojattavaan funktionaaliseen ryhmään, esimerkiksi karboksyyliryhmään, helposti irrotettavalla tavalla, ymmärretään myös nimenomaisesti suojaryhmäksi, esimerkiksi karboksyylisuojaryhmäksi. Erästä sopivaa tämänluointeista polymeerikantajaa on erityisesti polystyreenihartsi, joka on heikosti ristiliitetty kopolymeroimalla divinylbentseenin kanssa, ja jossa on reversiibeliin sitoutumiseen sopivia siltajäseniä.

Kaavan II mukaiset hapot ovat karboksyylihappoja tai sulfonihappoja ja joissa on joko vapaa karboksyylihappo- tai vapaa sulforyhmä tai ovat läsnä sen reaktiivisena johdannaisena, esimerkiksi aktivoituna esterinä, joka on johdettu vapaasta karboksi- tai sulfoyhdisteestä, reaktiivisena anhydridinä, tai, lisäksi, reaktiivisena syklisenä amidina. Reaktiivisia johdannaisia voidaan myös muodostaa *in situ*.

Aktivoituja estereitä kaavan II mukaisista yhdisteistä, joissa on karboksyyliryhmä, ovat erityisesti estereitä, jotka ovat tyydyttymättömiä esteröintiradikaalin liittävän hiiliatomin kohdalla, esimerkiksi vinyyliesterityyppiä, kuten vinyyliesteriä (saatavissa esimerkiksi vaihtoesteröimällä vastaavaa esteriä vinyyliasetaatilla; aktivoidun vinyyliesterin menetelmä), karbamoyyliestereitä (saatavissa

esimerkiksi käsittelemällä vastaavaa happoa isoksatsoliumreagenssilla; 1,2-oksatsoliummenetelmä tai Woodward-menetelmä), tai 1-alempi-alkoksivinyyliesteri (saatavissa esimerkiksi käsittelemällä vastaavaa happoa alempi-alkoksiasetyleenillä; etoksiasetyleenimenetelmä), tai amidinotyyppiset esterit, kuten N,N'-disubstituoidut amidinoesterit (saatavissa esimerkiksi käsittelemällä vastaavaa happoa sopivalla N,N'-di-substituoidulla karbodi-imidillä, esimerkiksi N,N'-disykloheksyylikarbodi-imidillä; karbodi-imidimenetelmä), tai N,N-disubstituoidut amidinoesterit (saatavissa esimerkiksi käsittelemällä vastaavaa happoa N,N-disubstituoidulla syaaniamidilla; syaaniamidimenetelmä), sopivat aryyliesterit, erityisesti fenyyliesterit, jotka on substituoitu elektroneja puoleensa vetävillä substituenteilla (saatavissa esimerkiksi käsittelemällä vastaavia happoja sopivasti substituoidulla fenolilla, esimerkiksi 4-nitrofenolilla, 4-metyylisulfonyylifenolilla, 2,4,5-trikloorifenolilla, 2,3,4,5,6-pentakloorifenolilla tai 4-fenyylidiatsofenolilla, kondensointireagenssin kuten N,N'-disykloheksyylikarbodi-imidin läsnä ollessa; aktivoitujen aryyliesterien menetelmä), syaanimetyyliesterit (saatavissa esimerkiksi käsittelemällä vastaavaa happoa klooriasetonitriilillä emäksen läsnä ollessa; syaanimetyyliesterimenetelmä), tioesterit, erityisesti fenyylitioesterit, jotka ovat substituoimattomia tai jotka on substituoitu esimerkiksi nitrolla (saatavissa esimerkiksi käsittelemällä vastaavaa happoa tiofenoleilla, jotka ovat substituoimattomia tai on substituoitu esimerkiksi nitrolla, mm. anhydridimenetelmää tai karbodi-imidimenetelmää käyttämällä; aktivoitujen tioliesterien menetelmä), tai, erityisesti, aminoesterit tai amidoesterit (saatavissa esimerkiksi käsittelemällä vastaavaa happoa N-hydroksiaminoyhdisteellä tai N-hydroksiamidoyhdisteellä, esimerkiksi N-hydroksisukkinimidillä, N-hydroksipiperidiinillä, N-hydroksiftalimidillä, N-hydroksi-5-norborneeni-2,3-dikarboksimidillä, 1-hydroksibentsotriatsolilla tai 3-hydroksi-3,4-dihydro-1,2,3-bentsotriatsin-4-onilla, esimerkiksi anhydridimenetelmän tai karbodi-

imidimenetelmän mukaisesti; aktivoitujen N-hydroksiesterien menetelmä). Voidaan myös käyttää sisäisiä estereitä, esimerkiksi γ-laktoneita.

Happojen anhydridit voivat olla symmetrisiä tai, edullisesti, näiden happojen seka-anhydridejä, esimerkiksi anhydridejä epäorgaanisten happojen kanssa, kuten happohalogenideja, erityisesti happoklorideja (saatavissa esimerkiksi käsittelemällä vastaavaa happoa tionyylikloridilla, fosforipentakloridilla tai oksalyylikloridilla; happokloridimenetelmä), atsideja (saatavissa esimerkiksi vastaavasta happoesteristä vastaavan hydratsidin ja sen typpihapokkeella käsittelyn kautta; atsidimenetelmä), anhydridit hiilihappopuoliesterien kanssa, esimerkiksi hiilihappoalempi-alkyyli-puoliesterit (saatavissa esimerkiksi käsittelemällä vastaavaa happoa alempi-alkyyliklooriformiaateilla, esimerkiksi isobutyyliklooriformiaatilla, tai 1-alempi-alkoksikarbonyyli-2-alempi-alkoksi-1,2-dihydrokinoliinilla; seka-O-alkyyli-hiilihappoanhydridien menetelmä) tai trikloorimetyylikarbonaatit (saatavissa esimerkiksi käsittelemällä vastaavaa happoa bis(trikloorimetyyli)karbonaatilla eetteri/pyridiinissä); anhydridit dihalogenoidun, erityisesti diklooratun fosforihapon kanssa (saatavissa esimerkiksi käsittelemällä vastaavaa happoa fosforioksikloridilla; fosforioksikloridimenetelmä), anhydridit muiden fosforihappojohdannaisten kanssa (esimerkiksi ne, jotka voidaan saada fenyyli-N-fenyylifosforamidokloridaatilla tai alkyylifosforihappoamidien reaktiolla sulfonihappoanhydridien ja/tai rasemisoitumista vähentävien lisäaineiden, kuten N-hydroksibentsotriatsolin läsnä ollessa, tai dietyylisyaanifosfonaattien läsnä ollessa) tai fosforihappojohdannaisten kanssa, tai anhydridejä orgaanisten happojen kanssa, kuten sekahappoanhydridejä orgaanisten karboksyylihappojen kanssa (saatavissa esimerkiksi käsittelemällä vastaavaa happoa alempi-alkaani- tai fenyyli-alempi-alkaanikarbonyylihalogenidilla, joka on substituoimaton tai substituoitu esimerkiksi fenyyliasetyylikloridil-

la, pivaloyylikloridilla tai trifluoriasetyylikloridilla; sekakarboksyylihappoanhydridien menetelmä) tai orgaanisten sulfonihappojen kanssa (saatavissa esimerkiksi käsittelemällä vastaavan hapon suolaa, kuten alkalimetallisuolaa sopivalla orgaanisella sulfonyylihalogenidilla, kuten alempi-alkaani- tai aryyli-, esimerkiksi metaani- tai p-tolueeni-sulfonyylikloridilla; sekasulfonihappoanhydridien menetelmä) ja myös symmetriset anhydridit (saatavissa esimerkiksi kondensoimalla vastaavaa happoa karbodi-imidin tai 1-dietyyliaminopropyynin läsnä ollessa; symmetristen anhydridien menetelmä).

Sopivia syklisiä amideja ovat erityisesti, amidit luonteeltaan aromaattisten viisijäsenisten diatsasyklien kanssa, kuten amidit imidatsolien, esimerkiksi imidatsolin kanssa (saatavissa esimerkiksi käsittelemällä vastaavaa happoa N,N'-karbonyylidi-imidatsolilla; imidatsolimenetelmä), tai pyratsoli, esimerkiksi 3,5-dimetyylipyratsoli (saatavissa esimerkiksi happohydratsidin kautta käsittelemällä asetyyliasetonilla; pyratsolidimenetelmä).

Kuten mainittiin, asylointiaineina käytettäviä karboksyylihappojen johdannaisia voidaan myös muodostaa *in situ*. Täten N,N'-disubstituoituja amidinoestereitä voidaan muodostaa *in situ* saattamalla kaavan III mukaisen lähtöaineen ja asylointireagenssina käytetyn kaavan II mukaisen hapon seoksen reagoimaan sopivan N,N'-disubstituoidun karbodi-imidin, esimerkiksi N,N'-disykloheksyylikarbodi-imidin läsnä ollessa esimerkiksi sopivan emäksen, kuten trietyyliamiinin ja/tai rasemisoitumista vähentävän lisäaineen, kuten N-hydroksibentsotriatsolin läsnä ollessa. Lisäksi asylointireagensseina käytetyt happojen aminoesterit tai amidoesterit voidaan muodostaa kun läsnä on kaavan III mukaista lähtöainetta, joka on määrä asyloida, saattamalla vastaavien happo- ja aminolähtöaineiden seoksen reagoimaan N,N'-disubstituoidun karbodi-imidin, esimerkiksi N,N'-disykloheksyylikarbodi-imidin, ja N-hydroksiamiinin tai N-

hydroksiamidin, esimerkiksi N-hydroksisukkinimidin läsnä ollessa, sopivan emäksen, esimerkiksi 4-dimetyyliaminopyridiinin läsnä ollessa tai puuttuessa. Lisäksi aktivointi voidaan saavuttaa *in situ* saattamalla reagoimaan N,N,N',N'-tetra-alkyyliuroniumyhdisteiden, kuten O-bentsotriatsol-1-yyli-N,N,N',N'-tetrametyyliuroniumheksafluorifosfaatin kanssa (edullisesti tertiaarisen typpiemäksen, erityisesti N-metyylimorfoliinin läsnä ollessa). Kaavan II mukaisten karboksyylihappojen fosforihappoanhydridit voidaan myös valmistaa *in situ* saattamalla alkyylifosforihappoamidia, kuten heksametyylifosforitriamidia reagoimaan sulfonihappoanhydridin, kuten 4-tolueenisulfonihappoanhydridin läsnä ollessa suolan, kuten tetrafluoriboraatin, esimerkiksi natriumtetrafluoriboraatin kanssa, tai heksametyylifosforihappotriamidin toisen johdannaisen, kuten bentsotriatsol-1-yylioksitris(dimetyyliamino)-fosfoniumheksafluoridin kanssa edullisesti rasemisoiutumista vähentävän lisäaineen, kuten N-hydroksibentsotriatsolin läsnä ollessa, ja tertiaarisen typpiatomin, kuten N-metyylimorfoliinin kanssa tai ilman tätä. On myös mahdollista suorittaa reaktio dialempi-alkyylisyaanifosfonaattien, kuten dietyylisyaanifosfonaatin kanssa, tertiaarisen typpiemäksen, kuten trietyyliamiinin läsnä ollessa. Lopuksi kaavan II mukaisten karboksyylihappojen kloorihiilihappojohdannaisia voidaan valmistaa suoraan *in situ* vastaavan alkoholin reaktiolla fosgeenin tai sen analogin, kuten trifosgeenin (= bis(trikloorimetyyli)karbonaatti) kanssa tertiaarisen typpiemäksen, kuten trietyyliamiinin läsnä ollessa tai puuttuessa, ja saattaa seuraavaksi reagoimaan kaavan III mukaisen yhdisteen kanssa.

Kaavan III mukaisten yhdisteiden aminoryhmä, joka osallistuu reaktioon, sisältää edullisesti ainakin yhden reaktiivisen vetyatomin, erityisesti kun sen kanssa reagoiva karboksyyliryhmä on läsnä reaktiivisessa muodossa; se voidaan kuitenkin derivatisoida myös itse, esimerkiksi saattamalla reagoimaan fosfiitin, kuten dietyylikloorifosfiitin, 1,2-

fenyleenikloorifosfiitin, etyylidikloorifosfiitin, etyleenikloorifosfiitin tai tetraetyylipyrofosfiitin kanssa. Sellaisen, aminoryhmän sisältävän yhdisteen johdannainen on myös esimerkiksi karbamoyylihalogenidi, jolloin reaktioon osallistuva aminoryhmä on substituoitu halogeenikarbonyylillä, esimerkiksi kloorikarbonyylillä.

Kondensointi amidisidoksen muodostamiseksi voidaan suorittaa sinänsä tunnetulla tavalla, esimerkiksi tavalla, joka kuvataan standarditeoksissa kuten "Houben-Weyl, Methoden der organischen Chemie" (Methods of Organic Chemistry), 4. painos, vol. 15/II (1974), vol. IX (1955) vol. E 11 (1985), Georg Thieme Verlag, Stuttgart, "The Peptides" (E. Gross ja J. Meienhofer, toimittajat), vol. 1 ja 2, Academic Press, Lontoo ja New York, 1979/1980, tai M. Bodansky, "Principles of Peptide Synthesis", Springer-Verlag, Berliini 1984.

Vapaan karboksyylihapon kondensointi vastaavan amiinin kanssa voidaan edullisesti suorittaa yhden tavanomaisista kondensointireagensseista läsnä ollessa. Esimerkkejä tavanomaisista kondensointireagensseista ovat karbodi-imidit, esimerkiksi dietyyli-, dipropyyli, N- etyyli-N'-(3-dimetyyliaminopropyyli)karbodi-imidi tai, erityisesti, disykloheksyylikarbodi-imidi, ja, lisäksi, sopivat karbonyyliyhdisteet, esimerkiksi karbonyyli-imidatsoli, 1,2-oksatsoliumyhdisteet, esimerkiksi 2-etyyli-5-fenyyli-1,2-oksatsolium-3'-sulfonaatti ja 2-tert-butyyli-5-metyyli-isoksatsoliumperkloraatti, tai sopiva asyyliaminoyhdiste, esimerkiksi 2-etoksi-1-etoksikarbonyyli-1,2-dihydrokinoliini, N,N,N',N'-tetraalkyluronium yhdisteet, kuten O-bentsotriatsol-1-yyli-N,N,N',N'-tetrametyyliuroniumheksafluorifosfaatti, ja, lisäksi, aktivoidut fosforihappojohdannaiset, esimerkiksi difenyylifosforyyliatsidi, dietyylifosforyylisyanidi (= dietyylisyaanifosfonaatti), fenyyli-N-fenyylifosforoamidokloridaatti, bis(2-okso-3-oksatsolidinyyli)fosfiinikloridi tai 1-bentsotriatsolyylioksitris(dimetyyliamino)-fosfoniumheksafluorifosfaatti.

Mikäli välttämätöntä tai toivottavaa, lisätään orgaanista emästä, edullisesti trisubstituoitua typpiemäs, esimerkiksi tri-alempi-alkyyliamiinia, jossa on esimerkiksi kookkaat radikaalit, esimerkiksi etyylidi-isopropylamiini, tai jossa on haaroittumattomat radikaalit, kuten, erityisesti trietyyliamiini, ja/tai heterosyklistä emästä, esimerkiksi pyridiiniä, 4-dimetyyliaminopyridiiniä tai, edullisesti N-metyylimorfoliinia. Emäs voi myös olla kiinnitetty polymeeriseen kantajaan, esimerkiksi polystyreeniin, esimerkiksi "polyhünig-emäksenä" (= di-isopropyyliaminometyylipolystyreeni).

Voidaan myös lisätä rasemisoitumista vähentäviä reagenssseja, kuten N-hydroksibentsotriatsolia, mahdollisesti myös yhdistelmänä välittömästi edellä määriteltyjen orgaanisten emästen kanssa.

Aktivoitujen esterien, reaktiivisten anhydridien tai reaktiivisten syklisten amidien kondensointi vastaavien amiinien kanssa suoritetaan tavanomaisesti orgaanisen emäksen, esimerkiksi yksinkertaisten tri-alempi-alkyyliamiinien, esimerkiksi trietyyliamiinin tai tributyyliamiinin, polyhünig-emäksen tai yhden edellä mainituista orgaanisista emäksistä läsnä ollessa. Haluttaessa on lisäksi mahdollista käyttää myös vapaille karboksyylihapoille kuvattua kondensointireagenssia.

Happoanhydridien kondensointi amiinien kanssa voidaan myös suorittaa esimerkiksi epäorgaanisten karbonaattien, esimerkiksi ammonium- tai alkalimetallikarbonaattien tai vetykarbonaattien, kuten natrium- tai kaliumkarbonaatin tai vetykarbonaatin (tavanomaisesti yhdessä sulfaatin kanssa) läsnä ollessa.

Karbonyylikloridit tai 4-nitrofenyylikarbonaatit, ja myös kloorihiilihappojohdannaiset, jotka on johdettu kaavan II mukaiesta haposta, kondensoidaan edullisesti vastaavien

amiinien kanssa orgaanisen amiinin, esimerkiksi edellä mainittujen tri-alempi-alkyyliamiinien tai heterosyklisten emästen läsnä ollessa, vetysulfaatin läsnä ollessa tai puuttuessa.

Kondensointi suoritetaan edullisesti inerteissä, aproottisissa, edullisesti vedettömissä liuottimissa tai liuotinseoksissa, esimerkiksi karboksamidissa, esimerkiksi formamidissa tai dimetyyliformamidissa, halogenoidussa hiilivedyssä, esimerkiksi metyleenikloridissa, hiilitetrakloridissa tai klooribentseenissä, ketonissa, esimerkiksi asetonissa, syklisessä eetterissä, esimerkiksi tetrahydrofuraanissa, esterissä, esimerkiksi etyyliasetaatissa, ja/tai nitriilissä, esimerkiksi asetonitriilissä, haluttaessa alennetussa tai korotetussa lämpötilassa, esimerkiksi lämpötila-alueella noin -40 - +100 °C, edullisesti noin -20 - +50 °C, ja ilman inerttiä kaasua (= suojakaasua) tai inertissä kaasussa, esimerkiksi typpi- tai argonilmakehässä.

Mahdollisia ovat myös vesipohjaiset, esimerkiksi alkoholiset, liuottimet tai liuotinseokset, esimerkiksi etanoli, tai aromaattiset liuottimet, esimerkiksi bentseeni tai tolueeni. Haluttaessa voidaan lisätä myös alempi-alkanonia, kuten asetonia alkalimetallihydroksidien ollessa läsnä emäksinä.

Kondensointi voidaan myös suorittaa tekniikalla, joka tunnetaan kiintofaasisynteesinä, joka kulkee takaisin R. Merrifield'iin ja on kuvattu esimerkiksi julkaisuissa: Angew. Chem. 97, 801-812 (1985); Naturwissenschaften 71, 252-258 (1984); tai R. A. Houghten, Proc. Natl. Acad. Sci. USA 82, 5131-5135 (1985).

Monia edellä kaavan II mukaisille karboksyylihapoille ja analogisille reaktiivisille sulfonihappojohdannaisille lueteltuja reaktiotyyppejä, myös kaavan II mukaisten yhdisteiden tapauksessa, joissa on määrä liittää sulforyhmä,

voidaan käyttää analogisella tavalla kaavan I, erityisesti kaavan I' mukaisten sulfonamidiyhdisteiden valmistukselle.

Siten voidaan käyttää esimerkiksi aktivoituja sulfonihappoestereitä, esimerkiksi vastaavia aryyliestereitä, jotka on substituoitu, erityisesti, nitroryhmillä, kuten 4-nitrofenyyliestereillä, jolloin on mahdollista käyttää kaavan III mukaista amiinikomponenttia alkalimetalliamidina, esimerkiksi alkalimetalliaryyliamidia, kuten natriumaniliiniamidia, tai typpeä sisältävien heterosyklien alkalimetallisuolana, esimerkiksi kaliumpyrrolidina.

Voidaan myös käyttää reaktiivisia anhydridejä, kuten esimerkiksi vastaavia symmetrisia (jotka voidaan valmistaa esimerkiksi saattamalla alkaanisulfonihopeasuoloja reagoimaan alkaanisulfonyylikloridien kanssa) tai, edullisesti, asymmetristen happoanhydridien kanssa, esimerkiksi anhydridien epäorgaanisten happojen kanssa, kuten sulfonyylihalogenidien, erityisesti sulfonyylikloridien kanssa (saatavissa esimerkiksi saattamalla kaavan II mukaista vastaavaa sulfonihappoa reagoimaan epäorgaanisten happokloridien, esimerkiksi tionyylikloridin tai fosforipentakloridin kanssa), orgaanisten karboksyylihappojen kanssa (saatavissa esimerkiksi käsittelemällä sulfonyylihalogenidia karboksyylihapon suolalla, kuten alkalimetallisuolalla, analogisella tavalla kuin edellä mainitussa sekakarboksyylihappoanhydridien menetelmässä), tai atsidien kanssa (saatavissa esimerkiksi vastaavasta sulfonyylikloridista ja natriumatsidista tai vastaavan hydratsidin ja sen typpihapokkeella käsittelyn kautta edellä mainitun atsidimenetelmän kanssa analogisesti).

Tulokseksi saaduissa, suojattuja funktioita sisältävissä, kaavan I mukaisissa yhdisteissä olevien suojaryhmillä suojattujen funktionaalisten ryhmien vapauttaminen suoritetaan yhtä tai useaa menetelmän f) kohdalla määriteltyä menetelmää käyttämällä.

Menetelmä b) (amidisidoksen valmistus)

Funktionaaliset ryhmät kaavojen IIIA ja IV mukaisissa lähtöaineissa, lukuunottamatta ryhmiä, joiden on määrä osallistua reaktioon tai jotka eivät reagoi reaktio-olosuhteissa, on suojattu toisistaan riippumatta suojaryhmillä.

Suojaryhmät, vapaat karboksyylihapot ja niiden reaktiiviset johdannaiset, vapaat amiinit ja niiden reaktiiviset johdannaiset ja kondensointiin käytetyt menetelmät ovat täysin analogisia menetelmien kanssa, jotka kuvataan menetelmässä a) amidisidoksen valmistukselle kaavojen II ja III mukaisista yhdisteistä edeten, jos siellä käytetään kaavan IV mukaisia karboksyylihappoja kaavan II mukaisten sijasta ja kaavan VI mukaisia aminoyhdisteitä käytetään kaavan III mukaisten sijasta.

Tulokseksi saaduissa, suojattuja funktioita sisältävissä, kaavan I mukaisissa yhdisteissä olevien suojaryhmillä suojattujen funktionaalisten ryhmien vapauttaminen suoritetaan yhtä tai useaa menetelmän f) kohdalla määriteltyä menetelmää käyttämällä.

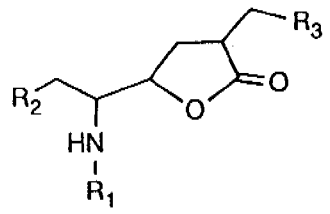
Menetelmä c) (amidisidoksen valmistus)

Funktionaaliset ryhmät ovat kaavojen V ja VI mukaisissa lähtöaineissa, lukuunottamatta ryhmiä, jotka osallistuvat reaktioon tai jotka eivät reagoi reaktio-olosuhteissa, on suojattu toisistaan riippumatta suojaryhmillä.

Suojaryhmät, vapaat karboksyylihapot ja niiden reaktiiviset johdannaiset, vapaat amiinit ja niiden reaktiiviset johdannaiset ja kondensointiin käytetyt menetelmät ovat täysin analogisia menetelmien kanssa, jotka kuvataan menetelmässä e) amidisidoksen muodostukseen edeten kaavojen II ja III mukaisista yhdisteistä, jos siellä käytetään kaavan V mukaisia karboksyylihappoja kaavan II mukaisten sijasta ja

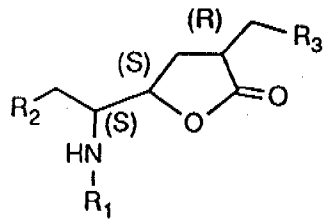
käytetään kaavan VI mukaisia aminoyhdisteitä kaavan III mukaisten sijasta.

Menetelmälle a) analogisten reaktiivisten johdannaisten lisäksi kaavan V mukaisen karboksyylihapon reaktiivinen johdannainen voi myös olla kaavan XXA mukainen vastaava γ-laktoni



(XXA)

(erityisesti kaavan XXA' mukainen)



(XXA'))

jossa radikaaleilla R_1, R_2 ja R_3 on kaavan I mukaisille yhdisteille määritellyt merkitykset. Tällöin reaktio etenee suoraan tuottaen lopputuotteen orgaanisen hapon läsnä ollessa, joka on, jos jokin, heikkoa, esimerkiksi substituoitua tai (edullisesti) substituoimatonta alepi-alkaanihappoa, kuten trihalogeenietikkahappoa, esimerkiksi trikloorietikkahappoa, tai, erityisesti, etikkahappoa, tai muita samanlaisen happamuuden omaavia orgaanisia happoja, esimerkiksi 2-hydroksipyridiiniä, edullisissa lämpötiloissa välillä 10 ja 100 °C, erityisesti välillä 60 ja 100 °C, liuottimien läsnä ollessa tai, edullisesti, puuttuessa, edullisesti sulkien ilmakehän pois, esimerkiksi pommiputkissa. Edullisesti kaavan VI, erityisesti VI' mukaista yhdistettä käytetään tällöin pieni ylimäärä, esimerkiksi 1,01- - 4-kertainen molaarinen ylimäärä suhteessa kaavan

XXA, erityisesti kaavan XXA' mukaiseen yhdisteeseen, jolloin heikkoa, mikäli mitään, orgaanista happoa käytetään toisaalta edullisesti pieni ylimäärä, ekvimolaarinen määrä tai pieni vajaus suhteessa kaavan VI, erityisesti kaavan VI' mukaiseen yhdisteeseen, esimerkiksi 0,3- - 2-kertaisessa molaarisessa suhteessa.

Tulokseksi saaduissa, suojattuja funktioita sisältävissä, kaavan I mukaisissa yhdisteissä olevien suojaryhmillä suojattujen funktionaalisten ryhmien vapauttaminen suoritetaan yhtä tai useaa menetelmän f) kohdalla määriteltyä menetelmää käyttämällä.

Menetelmä d) (amidisidoksen valmistus)

Funktionaaliset ryhmät ovat kaavojen VII ja VIII mukaisissa lähtöaineissa, lukuunottamatta ryhmiä, jotka osallistuvat reaktioon tai jotka eivät reagoi reaktio-olosuhteissa, on suojattu toisistaan riippumatta suojaryhmillä.

Suojaryhmät, vapaat karboksyylihapot ja niiden reaktiiviset johdannaiset, vapaat amiinit ja niiden reaktiiviset johdannaiset ja kondensointiin käytetyt menetelmät ovat täysin analogisia menetelmässä a) amidisidoksen valmistukseen kuvatuille kaavojen II ja III mukaisista yhdisteistä edeten, jos siellä käytetään kaavan VII mukaisia karboksyylihappoja kaavan II mukaisten sijasta ja kaavan VIII mukaisia aminoyhdisteitä käytetään kaavan III mukaisten sijasta.

Tulokseksi saaduissa, suojattuja funktioita sisältävissä, kaavan I mukaisissa yhdisteissä olevien suojaryhmillä suojattujen funktionaalisten ryhmien vapauttaminen suoritetaan yhtä tai useaa menetelmän f) kohdalla määriteltyä menetelmää käyttämällä.

Menetelmä e) (eetterisidoksen valmistus - nukleofiilinen substituutio)

Funktionaaliset ryhmät ovat kaavojen IX, X ja Xa mukaisissa lähtöaineissa, lukuun ottamatta ryhmiä, jotka osallistuvat reaktioon tai jotka eivät reagoi reaktio-olosuhteissa, on suojattu toisistaan riippumatta suojaryhmillä.

Suojaryhmät ja menetelmät niiden lisäämiseksi vastaavat menetelmässä a) määriteltyjä.

Nukleofiilisessä substituutiossa, joko, tapauksessa (i), kaavan IX mukaisessa yhdisteessä on vapaa hydroksyyliryhmä, joka on määrä eetteröidä ja W_1 kaavan X mukaisessa yhdisteessä on poistuva ryhmä, tai, tapauksessa (ii), kaavan IX mukainen yhdiste on reaktiivisen johdannaisen muodossa ja saatetaan reagoimaan eetteröitävän hydroksyyliryhmän kanssa. Tässä yhteydessä vastaavan hydroksyyliyhdisteen hydroksyyliryhmä, joka on määrä saattaa reagoimaan, muutetaan alkoholaattisuolakseen joko *in situ* tai aikaisemmassa, riippumattomassa reaktiossa. Hydroksyyliryhmä (-OH) on läsnä alkoholaattisuolassa anionisessa muodossa ($-O^-$:na), sopivan vastaionin kanssa, joka on pääasiallisesti metallikationi, kuten alkalimetallikationi, esimerkiksi K^+, Cs^+ tai, erityisesti, Na^+.

Poistuva ryhmä W_1 on erityisesti nukleofuginen poistuva ryhmä, joka on hydroksyyli, joka on esteröity vahvalla epäorgaanisella tai orgaanisella hapolla, kuten hydroksyyli, joka on esteröity mineraalihapolla, esimerkiksi vetyhalogenidihapolla, kuten suola-, bromivety- tai jodivetyhapolla, tai vahvalla orgaanisella sulfonihapolla kuten alempi-alkaanisulfonihapolla, joka on substituoimaton tai substituoitu esimerkiksi halogeenilla, kuten fluorilla, tai aromaattisella sulfonihapolla, esimerkiksi bentseenisulfonihapolla, joka on substituoimaton tai substituoitu alempialkyylillä, kuten metyylillä, halogeenilla, kuten bromilla,

ja/tai nitrolla, esimerkiksi metaanisulfoni-, p-bromitolueenisulfoni- tai p-tolueenisulfonihappo, tai hydroksyyli, joka on esteröity typpivetyhapolla. On myös mahdollista valmistaa kyseessä oleva yhdiste *in situ* korvaamalla toisen vastaavan radikaalin W_1, esimerkiksi Cl:n, toisella radikaalilla W_1, esimerkiksi I:llä (edullisesti käyttämällä alkalimetallijodidia, kuten NaI) ja jatkamalla seuraavaksi reaktiolla tulokseksi saadussa reaktioseoksessa.

Kaavan IX mukaisen yhdisteen reaktiivisessa johdannaisessa on hydroksyyliryhmän sijasta läsnä poistuva ryhmä, kuten välittömästi edellä W_1:lle kuvattu.

Eetteröinti tapahtuu edullisesti suhteellisen heikon emäksen, kuten alkalimetallikarbonaatin, esimerkiksi natrium- tai kaliumkarbonaatin läsnä ollessa, vahvan emäksen, esimerkiksi hydroksidin sisältävän emäksen, kuten metallihydroksidin, esimerkiksi alkalimetallihydroksidin, kuten natrium- tai kaliumhydroksidin läsnä ollessa, tai erityisesti käyttämällä vastaavan hydroksiyhdisteen metallialkoholaattia tai sen valmistusta *in situ* vahvan emäksen, esimerkiksi alkalimetallihydridin, kuten natriumhydridin läsnä ollessa, tai alkalimetallin, kuten natriumin läsnä ollessa, sopivien liuottimien tai liuotinseosten, erityisesti aproottisten liuottimien, esimerkiksi DMPU:n, eetterin, kuten dietyylieetterin, dioksaanin tai tetrahydrofuraanin, karboksamidin, kuten dimetyyliformamidin, tai kahden tai useamman näistä liuotimista seoksen puuttuessa tai läsnä ollessa, lämpötiloissa välillä 0 °C ja refluksointilämpötila, erityisesti välillä 20 °C ja refluksointilämpötila, vaadittaessa suojakaasun, kuten typen tai argonin alla.

Substituutio voi reaktio-olosuhteista riippuen edetä ensimmäisen tai toisen kertaluokan nukleofiilisenä substituutiona.

Koska menetelmän e) mukaisessa reaktiossa on mahdollinen

sivureaktioiden sarja (esimerkiksi rasemisoituminen karbanionien ja vastaavien muodostumisen kautta), tämä menetelmä voidaan toisinaan suorittaa vain hyvin täsmällisesti kontrolloiduissa reaktio-olosuhteissa (esimerkiksi mittaamalla käytetyn emäksen tai vastaavan alkoholaatin ja vastaavat hyvin tarkasti). Mahdolliset häiritsevät reaktiot ja sopivat reaktio-olosuhteet ilmenevät ammattimiehelle välittömästi. Tästä syystä menetelmä e) on keksinnön mukaisen menetelmän eräässä edullisessa muunnoksessa kaavan I mukaisten yhdisteiden valmistamiseksi pois suljettu.

Tulokseksi saaduissa, suojattuja funktioita sisältävissä, kaavan I mukaisissa yhdisteissä olevien suojaryhmillä suojattujen funktionaalisten ryhmien vapauttaminen suoritetaan yhtä tai useaa menetelmän f) kohdalla määriteltyä menetelmää käyttämällä.

Menetelmä f) (suojaryhmän irrotus)

Kaavan I mukaisen halutun lopputuotteen komponentteihin kuulumattomien suojaryhmien, esimerkiksi karboksyyli-, amino-, hydroksyyli- ja/tai merkaptosuojaryhmien irrotus suoritetaan sinänsä tunnetulla tavalla, esimerkiksi käyttämällä solvolyysiä, erityisesti hydrolyysiä, alkoholyysiä tai asidolyysiä, tai pelkistämällä, erityisesti hydrogenolyysillä, tai muiden pelkistysreagenssien avulla, ja myös fotolyysillä, kuvatulla tavalla vaiheittain tai samanaikaisesti, jolloin on myös mahdollista käyttää entsymaattisia menetelmiä. Suojaryhmien irrotus kuvataan esimerkiksi standarditeoksissa, jotka mainitaan edellä osassa "suojaryhmät".

Siten esimerkiksi suojattu karboksyyli, esimerkiksi alempi-alkoksikarbonyyli (joka on edullisesti haaroittunut 1-asemassa), kuten tert-alempi-alkoksikarbonyyli, alempi-alkoksikarbonyyli, joka on substituoitu 2-asemaan trisubstituoidulla silyyliryhmällä, tai 1-asemaan alempi-al-

koksilla tai alempi-alkyylitiolla, tai difenyylimetoksikarbonyyli, joka on substituoimaton tai substituoitu, voidaan muuttaa vapaaksi karboksyyliksi käsittelemällä sopivalla hapolla, kuten muurahaishapolla, etikkahapolla, suolahapolla tai trifluorietikkahapolla, haluttaessa nukleofiilistä yhdistettä, kuten fenolia tai anisolia lisäten. Bentsyylioksikarbonyyli, joka on substituoimaton tai substituoitu, voidaan vapauttaa esimerkiksi hydrogenolyysillä, ts. käsittelemällä vedyllä metallisen hydrogenointikatalysaattorin, kuten palladiumkatalysaattorin läsnä ollessa. Lisäksi voidaan sopivasti substituoitu bentsyylioksikarbonyyli, kuten 4-nitrobentsyylioksikarbonyyli, muuttaa vapaaksi karboksyyliksi myös pelkistämällä, esimerkiksi käsittelemällä alkalimetalliditionitilla, kuten natriumditionitilla, tai pelkistävällä metallilla, esimerkiksi sinkillä, tai pelkistävällä metallisuolalla, kuten kromi(II)suolalla, esimerkiksi kromi(II)kloridilla tavanomaisesti vetyä vapauttavan aineen läsnä ollessa, joka voi yhdessä metallin kanssa tuottaa syntymistilassa olevaa vetyä, kuten hapon, etupäässä sopivan karboksyylihapon, kuten alempi-alkaanikarboksyylihapon, joka on substituoimaton tai substituoitu, esimerkiksi, hydroksyylillä, esimerkiksi etikkahapon, muurahaishapon, glykolihapon, difenyyliglykolihapon, maitohapon, mantelihapon, 4-kloorimantelihapon tai viinihapon, tai alkoholin tai tiolin, lisäten edullisesti vettä. Käsittelemällä edellä kuvatulla pelkistävällä metallilla tai metallisuolalla voidaan myös 2-halogeeni-alempi-alkoksikarbonyyli (haluttaessa 2-bromi-alempi-alkoksikarbonyyliryhmän vastaavaksi 2-jodi-alempi-alkoksikarbonyyliryhmäksi muuttamisen jälkeen) tai aroyylimetoksikarbonyyli muuttaa vapaaksi karboksyyliksi. Aroyylimetoksikarbonyyli voidaan lohkaista käsittelemällä nukleofiilillä, edullisesti suolaa muodostavalla reagenssilla, kuten natriumtiofenoksidilla tai natriumjodidilla. Karboksyyliryhmä voidaan vapauttaa myös 1-aryyli-alempi-alkoksikarbonyylistä, esimerkiksi aryylimetoksikarbonyylistä, kuten bentsyylioksikarbonyylistä, hydrolysoimalla

emäksen kuten alkalimetallihydroksidin, esimerkiksi natrium- tai kaliumhydroksidin läsnä ollessa. 2-(tri-substituoitu silyyli)-alempi-alkoksikarbonyyli, kuten 2-tri-alempi-alkyylisilyyli-alempi-alkoksikarbonyyli, voidaan myös muuttaa vapaaksi karboksyyliksi käsittelemällä fluorivetyhapon suolalla, joka tuottaa fluoridianionin, kuten alkalimetallifluoridia, esimerkiksi natrium- tai kaliumfluoridia, makrosyklisen polyeetterin ("kruunueetterin") puuttuessa tai läsnä ollessa, tai orgaanisen kvaternaarisen emäksen fluoridin, kuten tetra-alempi-alkyyliammonium-fluoridin tai tri-alempi-alkyyliaryyli-alempi-alkyyliammoniumfluoridin, esimerkiksi tetraetyyliammoniumfluoridin tai tetrabutyyliammoniumfluoridin puuttuessa tai läsnä ollessa, aproottisen, polaarisen liuottimen, kuten dimetyylisulfoksidin, N,N-dimetyyliformamidin tai N,N-dimetyyliasetamidin läsnä ollessa. Karboksyyli, joka on suojattu orgaanisena silyylioksikarbonyylinä, kuten tri-alempi-alkyylisilyylioksikarbonyylinä, esimerkiksi trimetyylisilyylioksikarbonyylinä, voidaan vapauttaa solvolyyttisesti tavanomaisella tavalla, esimerkiksi käsittelemällä vedellä, alkoholilla tai hapolla, tai lisäksi fluoridilla, kuten edellä kuvattiin. Esteröity karboksyyli voidaan vapauttaa myös entsymaattisesti, esimerkiksi käyttämällä esteraaseja tai sopivia peptidaaseja, esimerkiksi esteröity arginiini tai lysiini, kuten lysiinimetyyliesteri trypsiiniä käyttämällä. Karboksyyli, joka on suojattu sisäisenä esterinä, kuten γ-laktonina, voidaan vapauttaa hydrolyysillä hydroksidipitoisen emäksen, kuten maa-alkalimetallihydroksidin tai, erityisesti, alkalimetallihydroksidin, esimerkiksi NaOH:n, KOH:n tai LiOH:n, erityisesti LiOH:n läsnä ollessa, vastaavan suojatun hydroksyyliryhmän vapautuessa samanaikaisesti.

Suojattu aminoryhmä vapautetaan sinänsä tunnetulla tavalla ja poikkeaa suojaryhmien luonteesta riippuen, edullisesti solvolyysiä tai pelkistystä käyttämällä. Alempi-alkoksikarbonyyliamino, kuten tert-butoksikarbonyyliamino, voidaan

lohkaista happojen, esimerkiksi mineraalihappojen, esimerkiksi vetyhalogenidihapon, kuten suolahapon tai bromivetyhapon, erityisesti bromivetyhapon, tai rikkihapon tai fosforihapon, edullisesti suolahapon, tai suhteellisen vahvojen orgaanisten happojen, kuten muurahaishapon, trikloorietikkahapon tai trifluorietikkahapon läsnä ollessa, polaarisissa liuottimissa, esimerkiksi vedessä tai karboksyylihapossa, kuten etikkahapossa tai muurahaishapossa, halogeenihiilivedyissä, kuten klooratuissa alempi-alkaeneissa, esimerkiksi dikloorimetaanissa tai kloroformissa, tai eettereissä, edullisesti syklisissä eettereissä, kuten dioksaanissa, tai orgaanisissa karboksyylihapoissa, jotka ovat nestemäisiä reaktiolämpötilassa, ilman liuotinta, esimerkiksi muurahaishapossa. 2-halogeeni-alempi-alkoksikarbonyyliamino (haluttaessa sen jälkeen kun 2-bromi-alempi-alkoksikarbonyyliaminoryhmä on muutettu 2-jodi-alempi-alkoksikarbonyyliaminoryhmäksi), aroyylimetoksikarbonyyliamino tai 4-nitrobentsyylioksikarbonyyliamino voidaan lohkaista esimerkiksi käsittelemällä sopivalla pelkistysreagenssilla, kuten sinkillä sopivan karboksyylihapon, kuten etikkahapon vesiliuoksen läsnä ollessa. Aroyylimetoksikarbonyyliamino voidaan myös lohkaista käsittelemällä nukleofiilisellä, edullisesti suolaa muodostavalla, reagenssilla, kuten natriumtiofenoksidilla, ja 4-nitrobentsyylioksikarbonyyliamino myös käsittelemällä alkalimetalliditioniitilla, esimerkiksi natriumditioniitilla. Substituoitu tai substituoimaton difenyylimetoksikarbonyyliamino, tert-alempi-alkoksikarbonyyliamino tai 2-(trisubstituoitu silyyli)-alempi-alkoksikarbonyyliamino, kuten 2-tri-alempi-alkyylisilyyli-alempi-alkoksikarbonyyliamino, voidaan lohkaista käsittelemällä sopivalla hapolla, esimerkiksi muurahais- tai trifluorietikkahapolla, esimerkiksi halogenoidussa hiilivedyssä, kuten metyleenikloridissa tai kloroformissa (erityisesti, jos hydroksyyliä, joka on samanaikaisesti bentsyylillä suojattu, ei ole määrä vapauttaa), 1-aryyli-alempi-alkoksikarbonyyliamino, kuten substituoitu tai substituoimaton bentsyylioksikarbonyyliamino, voidaan

lohkaista esimerkiksi hydrogenolyysillä, ts. käsittelemällä vedyllä sopivan hydrogenointikatalysaattorin, kuten palladiumkatalysaattorin läsnä ollessa, joka on esimerkiksi kiinnitetty kantajamateriaaliin, kuten hiileen, edullisesti polaarisissa liuottimissa, kuten di-alempi-alkyyli-alempi-alkanoyyliamideissa, esimerkiksi dimetyyliformamidissa, eettereissä, kuten syklisissä eettereissä, esimerkiksi dioksaanissa, estereissä, kuten alempi-alkyyli-alempi-alkanoaateissa, esimerkiksi etyyliasetaatissa, tai alkoholeissa, kuten metanolissa, etanolissa tai propanolissa, jolloin metanoli on erityisen edullista, edullisesti esimerkiksi huoneenlämpötilassa, substituoitu tai substituoimaton triaryylimetyyliamino tai formyyliamino voidaan lohkaista esimerkiksi käsittelemällä hapolla, kuten mineraalihapolla, esimerkiksi suolahapolla, tai orgaanisella hapolla, esimerkiksi muurahais-, etikka- tai trifluorietikkahapolla, haluttaessa veden läsnä ollessa, ja trifenyyliaminometyyli voidaan lohkaista erityisesti hydrogenolyysillä käyttämällä katalysaattorina jalometallia tai jalometallikatalysaattoria, kuten platinaa, palladiumia, tai erityisesti palladiumhydroksidia, katalysaattorin ollessa edullisesti kiinnitetty kantajamateriaaliin, kuten hiileen, silikageeliin tai aluminiumoksidiin, inerteissä liuottimissa, kuten esterissä, tai edullisesti alempi-alkyyli-alempi-alkanoaatissa, kuten etyyliasetaatissa, lämpötiloissa 20 - 80 °C, erityisesti 50 - 70 °C, vaadittaessa korotetussa paineessa, esimerkiksi välillä noin 0,1 - 1,0 MPa (1 ja 10 bar), ja aminoryhmä, joka on suojattu silyyliaminona, voidaan vapauttaa esimerkiksi hydrolyysillä tai alkoholyysillä. Aminoryhmä, joka on suojattu 2-halogeeniasetyylillä, esimerkiksi 2-klooriasetyylillä, voidaan vapauttaa käsittelemällä tiourealla emäksen läsnä ollessa, tai tiolaattisuolalla, kuten tiourean alkalimetallitiolaatilla, ja seuraavalla tulokseksi saadun substituutiotuotteen solvolyysillä, kuten alkoholyysillä tai hydrolyysillä. Aminoryhmä, joka on suojattu 2-(trisubstituoitu silyyli)-alempi-alkoksikarbonyylillä, kuten 2-tri-alempi-alkyylisilyyli-

alempi-alkoksikarbonyylillä, voidaan myös muuttaa vapaaksi aminoryhmäksi käsittelemällä fluorivetyhapon fluoridianionia tuottavalla suolalla, kuten ilmaistiin edellä vastaavasti suojatun karboksyyliryhmän vapautuksen yhteydessä. Silyyli, kuten trimetyylisilyyli tai tert-butyylidimetyylisilyyli, joka on kiinnittynyt suoraan heteroatomiin, kuten typpeen, voidaan samoin irrottaa fluoridioneilla, edullisesti käyttämällä orgaanisen, kvaternaarisen typpiemäksen fluoridia, kuten tetra-alempi-alkyyliammoniumfluoridia tai tri-alempi-alkyyliaryyli-alempi-alkyyliammoniumfluoridia, esimerkiksi tetraetyyliammoniumfluoridia tai tetrabutyyliammoniumfluoridia, aproottisen, polaarisen liuottimen, kuten dimetyylisulfoksidin tai N,N-dimetyyliasetamidin, tai erityisesti eetterin, kuten tetrahydrofuraanin läsnä ollessa, lämpötiloissa välillä 0 ja 50 °C, erityisesti esimerkiksi huoneenlämpötilassa.

Amino, joka on suojattu atsidoryhmän muodossa, muutetaan vapaaksi aminoksi esimerkiksi pelkistämällä esimerkiksi katalyyttisellä hydrogenoinnilla vedyllä hydrogenointikatalysaattorin, kuten platinaoksidin, palladiumin tai Raney-nikkelin läsnä ollessa, pelkistämällä merkaptoyhdisteillä, kuten ditiotreitolilla tai merkaptoetanolilla, tai käsittelemällä sinkillä hapon, kuten etikkahapon läsnä ollessa. Katalyyttinen hydrogenointi suoritetaan edullisesti inertissä liuottimessa, kuten halogenoidussa hiilivedyssä, esimerkiksi metyleenikloridissa, tai muuten vedessä tai veden ja orgaanisen liuottimen, kuten alkoholin tai dioksaanin seoksessa, noin 20 - 25 °C:ssa, tai muuten jäähdyttäen tai kuumentaen.

Hydroksyyliryhmä tai merkaptoryhmä, joka on suojattu sopivalla asyyliryhmällä, tri-alempi-alkyylisilyyliryhmällä tai substituoidulla tai substituoimattomalla 1-aryyli(kuten 1-fenyyli)-alempi-alkyylillä, vapautetaan analogisella tavalla kuin vastaavasti suojattu aminoryhmä. Hydroksyyliryhmä tai merkaptoryhmä, joka on suojattu 2,2-diklooriasetyylil-

lä, vapautetaan esimerkiksi emäshydrolyysillä, kun taas hydroksyyliryhmä tai merkaptoryhmä, joka on suojattu tert-alempi-alkyylillä tai 2-oksa- tai 2-tia-alifaattisella tai -sykloalifaattisella hiilivetyradikaalilla, vapautetaan asidolyysillä, esimerkiksi käsittelemällä mineraalihapolla tai vahvalla karboksyylihapolla, esimerkiksi trifluorietikkahapolla. Hydroksyyliryhmä, joka on suojattu bentsyylioksilla, vapautetaan esimerkiksi hydrogenolyysillä, ts. käsittelemällä vedyllä sopivan hydrogenointikatalysaattorin, kuten palladiumkatalysaattorin läsnä ollessa, joka on esimerkiksi kiinnitetty kantajamateriaaliin, kuten aktiivihiileen, edullisesti polaarisissa liuottimissa, kuten di-alempi-alkyyli-alempi-alkanoyyliamideissa, esimerkiksi dimetyyliformamidissa, eettereissä, kuten syklisissä eettereissä, esimerkiksi dioksaanissa, estereissä, kuten alempi-alkyylialkanoaateissa, esimerkiksi etyyliasetaatissa, klooratuissa hiilivedyissä, kuten dikloorimetaanissa, ja/tai alkoholeissa, kuten metanoli, etanoli tai propanoli, jolloin metanoli on erityisen edullista, edullisesti esimerkiksi huoneenlämpötilassa. Merkapto, joka on suojattu pyridyylidifenyylimetyylillä, voidaan vapauttaa esimerkiksi elohopea(II)suoloilla pH-arvossa 2 - 6, tai sinkki/etikkahapolla tai elektrolyyttisellä pelkistyksellä, esimerkiksi asetamidometyyli ja iso-butyryyliamidometyyli saattamalla reagoimaan elohopea(II)suolojen kanssa pH-arvossa 2 - 6, 2-klooriasetamidometyyli esimerkiksi 1-piperidinotiokarboksamidilla, S-etyylitiolla, S-tert-butyylitiolla ja S-sulfolla, esimerkiksi tiolyysillä tiofenolilla, tioglykolihapolla, natriumtiofenoksidilla tai 1,4-ditiotreitolilla. Kaksi hydroksyyliryhmää, tai vierekkäinen aminoryhmä ja hydroksyyliryhmä, jotka on yhdessä suojattu kahdenarvoisen suojaryhmän avulla, edullisesti esimerkiksi metyleeniryhmällä, joka on substituoitu 1 tai 2 alempi-alkyylillä, kuten alempialkylideenillä, esimerkiksi isopropylideenillä, sykloalkylideenillä, esimerkiksi sykloheksylideenillä, tai bentsyylideenillä, voidaan vapauttaa happamalla solvolyysillä, erityisesti mineraalihapon tai vahvan orgaanisen

hapon läsnä ollessa. Tri-alempi-alkyylisilyyliryhmä irrotetaan samoin asidolyysillä, esimerkiksi mineraalihapolla, edullisesti fluorivetyhapolla, tai vahvalla karboksyylihapolla. Hydroksyyli voidaan edullisesti vapauttaa myös tri-alempi-alkyylisilyylioksista käsittelemällä fluorivetyhapon fluoridianionia tuottavalla suolalla, kuten alkalimetallifluoridilla, esimerkiksi natrium- tai kaliumfluoridilla, makrosyklisen polyeetterin ("kruunueetterin") puuttuessa tai läsnä ollessa, tai orgaanisen kvaternaarisen emäksen fluoridilla, kuten tetra-alempi-alkyyliammoniumfluoridilla tai tri-alempi-alkyyliaryyli-alempi-alkyyliammoniumfluoridilla, esimerkiksi tetraetyyliammoniumfluoridilla tai tetrabutyyliammoniumfluoridilla, aproottisen, polaarisen liuottimen, kuten dimetyylisulfoksidin tai N,N-dimetyyliasetamidin läsnä ollessa. 2-Halogeeni-alempi-alkoksikarbonyyli poistetaan edellä mainituilla pelkistysreagensseilla, esimerkiksi pelkistävällä metallilla, kuten sinkillä, pelkistävillä metallisuoloilla, kuten kromi(II)suoloilla, tai rikkiyhdisteillä, esimerkiksi natriumditioniitilla tai, edullisesti, natriumsulfidilla ja rikkihiilellä. Esteröidyt hydroksyyliryhmät, esimerkiksi alempi-alkanoyylioksi, kuten asetyylioksi, voidaan myös vapauttaa esteraaseilla, kun taas asyloitu amino voidaan vapauttaa esimerkiksi sopivia peptidaaseja käyttämällä.

Lämpötilat suojattujen funktionaalisten ryhmien vapautuksessa ovat edullisesti välillä -80 °C ja reaktioseoksen kiehumislämpötila, erityisesti välillä -80 ja 110 °C; erityisesti edullisesti välillä -20 ja 50 °C, esimerkiksi välillä 10 ja 35 °C, kuten esimerkiksi huoneenlämpötilassa, tai 80 °C:sta kyseisen reaktioseoksen kiehumislämpötilaan, esimerkiksi noin 100 °C:ssa.

Kun läsnä on useita suojattuja funktionaalisia ryhmiä, suojaryhmät valitaan haluttaessa siten, että useampi kuin yksi sellainen ryhmä voidaan irrottaa samanaikaisesti, esimerkiksi asidolyyttisesti, kuten käsittelemällä tri-

fluorietikkahapolla, tai vedyllä ja hydrogenointikatalysaattorilla, kuten Pd/C-katalysaattorilla. Käänteisesti, ryhmät voidaan myös valita niin, ettei niitä voida irrottaa samanaikaisesti, vaan sen sijaan halutussa järjestyksessä, jolloin saadaan vastaavat välituotteet.

Lisämenetelmätoimenpiteet

Lisämenetelmätoimenpiteissä, jotka suoritetaan haluttaessa, lähtöaineyhdisteiden funktionaaliset ryhmät, jotka eivät osallistu reaktioon, voivat olla suojaamattomassa tai suojatussa muodossa, esimerkiksi suojattuna yhdellä tai usealla menetelmässä a) määritellyllä suojaryhmällä. Suojaryhmät voidaan irrottaa, kokonaisuudessaan tai osaksi, käyttämällä yhtä menetelmässä f) määritellyistä menetelmistä.

Suoloja kaavan I mukaisista yhdisteistä, joissa on ainakin yksi suolaa muodostava ryhmä, voidaan valmistaa sinänsä tunnetulla tavalla. Täten suoloja kaavan I mukaisista yhdisteistä, joissa on happamia ryhmiä, voidaan muodostaa esimerkiksi käsittelemällä metalliyhdisteillä, kuten sopivien orgaanisten karboksyylihappojen alkalimetallisuoloilla, esimerkiksi 2-etyyliheksaanihapon natriumsuolalla, epäorgaanisilla alkalimetalli- tai maa-alkalimetalliyhdisteillä, kuten vastaavilla hydroksideilla, karbonaateilla tai vetykarbonaateilla, kuten natrium- ja kaliumhydroksidi, -karbonaatti tai -vetykarbonaatti, vastaavilla kalsiumyhdisteillä tai ammoniakilla, tai sopivalla orgaanisella amiinilla, käyttämällä suolaa muodostavan aineen stoikiometrisillä määrillä tai edullisesti vain pientä ylimäärää. Kaavan I mukaisten yhdisteiden happoadditiosuolat saadaan tavanomaisella tavalla, esimerkiksi käsittelemällä hapolla tai sopivalla anioninvaihtoreagenssilla. Sisäisiä suoloja kaavan I mukaisista yhdisteistä, jotka sisältävät happamia ja emäksisiä suolaa muodostavia ryhmiä, esimerkiksi vapaan karboksyyliryhmän ja vapaan aminoryhmän, voidaan muodostaa

esimerkiksi neutraloimalla suoloja, kuten happoadditiosuoloja, isoelektriseen pisteeseen, esimerkiksi käyttämällä heikkoja emäksiä, tai käsittelemällä ioninvaihtimilla.

Suolat voidaan muuttaa vapaiksi yhdisteiksi tavanomaisella tavalla, metallisuolat ja ammoniumsuolat voidaan muuttaa esimerkiksi käsittelemällä sopivilla hapolla tai happamilla ioninvaihtimilla, ja happoadditiosuolat voidaan muuttaa esimerkiksi käsittelemällä sopivalla emäksisellä aineella, erityisesti epäorgaanisilla alkalimetalli- tai maa-alkalimetalliyhdisteillä, kuten vastaavilla hydroksideilla, karbonaateilla tai vetykarbonaateilla, kuten natrium- ja kaliumhydroksidi, -karbonaatti tai -vetykarbonaatti, vastaavilla kalsiumyhdisteillä tai ammoniakilla, tai sopivalla orgaanisella amiinilla, käyttäen suolaa muodostavan aineen stoikiometrisiä määriä tai edullisesti vain pientä ylimäärää, sopivissa liuottimissa, esimerkiksi halohiilivedyissä, kuten dikloorimetaanissa, veden läsnä ollessa tai ilman vettä; tai käsittelemällä emäksisillä ioninvaihtimilla.

Kaavan I mukaisten yhdisteiden stereoisomeeriseokset, ts. diastereomeerien ja/tai enantiomeerien seokset, esimerkiksi raseemiset seokset, voidaan resolvoida sinänsä tunnetulla tavalla sopivia erotusmenetelmiä käyttämällä vastaaviksi isomeereiksi. Täten diastereomeeriseokset, esimerkiksi, voidaan resolvoida yksittäisiksi diastereomeereiksi jaekiteytyksellä, kromatografialla, liuotinjaolla tai muilla sopivilla menetelmillä. Rasemaatit voidaan erottaa toisistaan optisten antipodien diastereomeereiksi muuttamisen jälkeen, esimerkiksi saattamalla reagoimaan optisesti aktiivisten yhdisteiden, esimerkiksi optisesti aktiivisten happojen tai emästen kanssa, kromatografoimalla kolonnimateriaaleilla, jotka on päällystetty optisesti aktiivisilla yhdisteillä, tai entsymaatisilla menetelmillä, esimerkiksi pelkistämällä selektiivisesti vain toisen kahdesta enantiomeeristä. Tämä erotus voidaan suorittaa joko yhden lähtöaineista tai kaavan I mukaisten yhdisteiden

tasolla.

Kaavan I mukaisessa yhdisteessä, jossa yksi radikaaleista R_1, R_2 tai R_3, tai useita näistä radikaaleista, on substituoitu 1-fenyyli-alempi-alkoksilla, kuten bentsyylioksilla, 1-fenyyli-alempi-alkoksiradikaali voidaan irrottaa menetelmässä f) kuvatulla tavalla. Saadaan vastaavia kaavan I mukaisia yhdisteitä, jossa on läsnä hydroksyyli 1-fenyyli-alempi-alkoksin sijasta.

Saatavassa kaavan I mukaisessa yhdisteessä karboksyyliryhmä, joka on läsnä vapaassa muodossa tai reaktiivisessa muodossa, voidaan esteröidä, tai esteröity karboksyyliryhmä voidaan muuttaa vapaaksi karboksyyliryhmäksi.

Kaavan I mukaisessa yhdisteessä olevan karboksyyliryhmän esteröimiseksi voidaan haluttaessa käyttää vapaata happoa, tai vapaa happo voidaan muuttaa yhdeksi menetelmässä a) määritellyistä reaktiivisista johdannaisista ja voidaan saattaa reagoimaan vastaavan alkoholin kanssa, tai, esteröintiä varten, vapaa happo tai reaktiivinen suola, esimerkiksi cesiumsuola, voidaan saattaa reagoimaan alkoholin reaktiivisen johdannaisen kanssa. Esimerkiksi karboksyylihapon cesiumsuola voidaan saattaa reagoimaan alkoholia vastaavan halogenidin tai orgaanisen sulfonihappoesterin kanssa (halogeenin tai orgaanisen sulfonihapon, kuten tolueenisulfonihapon radikaalin kanssa hydroksyyliryhmän sijasta). Karboksyyliryhmän esteröinti voidaan suorittaa myös käyttämällä muita tavanomaisia alkylointireagensseja, esimerkiksi käyttämällä diatsometaania, alempi-alkyylihalogenideja, sulfonihappoestereitä, Meerwein-suoloja tai 1-substituoituja 3-aryylitriatseeneja.

Esteröidyn karboksyyliryhmän muuttamiseksi vapaaksi karboksyyliryhmäksi voidaan käyttää yhtä karboksyylisuojaryhmien irrotuksen yhteydessä kuvatuista menetelmistä tai, haluttaessa, alkalihydrolyysiä tavanomaisissa olosuhteissa,

kuten menetelmän f) kohdalla määritellyissä, edullisesti alkalimetallihydroksidin, kuten LiOH:n läsnä ollessa, sopivissa liuottimissa, kuten alkoholeissa, esimerkiksi metanolissa tai etanolissa ja/tai vedessä.

Alempi-alkoksikarbonyyli-alempi-alkoksiryhmä, joka on läsnä substituenttina, esimerkiksi fenyylin tai naftyylin R_2 ja/tai R_3, voidaan muuttaa pelkistämällä hydroksi-alempi-alkoksiryhmäksi (jossa alempi-alkyyliradikaalissa on ainakin 2 hiiliatomia) esimerkiksi pelkistämällä kompleksihydrideillä, jotka pelkistävät karbonyyliesteriryhmän selektiivisesti sopivissa reaktio-olosuhteissa, esimerkiksi käyttämällä $LiBH_4$:ää 1,2-dimetoksietaanissa lämpötiloissa 0 °C:sta enintään refluksointilämpötilaan, edullisesti noin 15 - 30 °C:ssa.

Kaavan I mukaisessa yhdisteessä vapaa amino- tai iminoryhmä, joka on läsnä, voidaan asyloida esimerkiksi lisäämällä alempi-alkoksikarbonyyliradikaalin piperidinyylikarbonyylin R_1 typpeen. Asylointi suoritetaan analogisesti edellä menetelmässä a) määritellyille menetelmille tai analogisesti yhdelle suojaryhmistä määritellyille menetelmille.

Saatavissa kaavan I mukaisessa yhdisteessä, jossa substituenteilla on mainitut merkitykset ja jossa on ainakin yksi vapaa hydroksyyliryhmä, ja muut funktionaaliset ryhmät ovat, vaadittaessa, läsnä suojatussa muodossa, vapaa hydroksyyliryhmä, esimerkiksi hydroksyyliryhmä fenyylissä tai naftyylissä R_2 ja/tai fenyylissä tai naftyylissä R_3, voi olla eetteröity, joka hydroksyyliryhmä voidaan eetteröidä alempi-alkanolin, fenyyli-alempi-alkanolin, alempi-alkoksikarbonyyli-alempi-alkanolin, karbamoyyli-alempi-alkanolin, pyridyyli-alempi-alkanolin, syaani-alempi-alkanolin tai alempi-alkoksi-alempi-alkanolin radikaalilla, jolloin mainittuja alkoholeja käytetään edullisesti muodossa, jossa on hydroksyyliryhmän sijasta läsnä nukleofuginen poistuva ryhmä, esimerkiksi kaavan X mukaisissa yhdisteissä olevalle

W_1:lle määritelty.

Eetteröinti voidaan suorittaa analogisesti menetelmän e) mukaisille menetelmäolosuhteille, ja suoritetaan edullisesti käyttämällä diatsometaania tai alempi-alkyyli-, fenyyli-alempi-alkyyli-, alempi-alkoksi-alempi-alkyyli-, karbamoyyli-alempi-alkyyli-, pyridyyli-alempi-alkyyli-, syaani-alempi-alkyyli- tai alempi-alkoksi-alempi-alkyyli-halogenideja tai -sulfonihappoestereitä. Reaktio suoritetaan edullisesti käyttämällä sopivia alempi alkyyli-, fenyyli-alempi alkyyli-, alempi-alkoksi-alempi alkyyli-, karbamoyyli-alempi alkyyli-, pyridyyli-alempi alkyyli-, syaani-alempi-alkyyli- tai alempi-alkoksi-alempi-alkyyli-halogenideja, kuten -jodideja, -bromideja tai -klorideja, emästen, edullisesti hydroksyyliemäksen, erityisesti emäksisen metallihydroksidin, kuten natrium- tai kaliumhydroksidin, tai, erikoisesti, metallikarbonaatin tai metallivetykarbonaatin, kuten natrium-, kalium- tai, etupäässä, cesiumkarbonaatin läsnä ollessa sopivissa liuottimissa tai liuotinseoksissa, esimerkiksi N,N-di-alempi-alkyyli-alempi-alkanoyyliamideissa, kuten dimetyyliformamidi tai dimetyyliasetamidi, ketoneissa, kuten alempi-alkanoni, esimerkiksi asetoni, tai eettereissä, kuten dioksaani, tai niiden seoksissa, lämpötiloissa välillä 10 °C:sta refluksointilämpötilaan, edullisesti 0 - 60 °C:ssa, esimerkiksi noin 0 - 50 °C:ssa.

Kaavan I mukaisessa yhdisteessä, ryhmät jotka ovat läsnä ja jotka vastaavat suojaryhmiä, tai, lisäksi, sopivat R_1-radikaalit, vetyä lukuun ottamatta, voidaan irrottaa käyttämällä yhtä menetelmässä f) määritellyistä menetelmistä, erityisesti hydrolyysillä, esimerkiksi emästen, kuten alkalimetalli- tai maa-alkalimetallihydroksidien, esimerkiksi natriumhydroksidin, tai happojen, kuten orgaanisten happojen tai mineraalihappojen, esimerkiksi vetyhalogenidihapon, kuten suolahapon läsnä ollessa. Hydrolyysi suoritetaan tavanomaisissa olosuhteissa, esimerkiksi vesiliuokses-

sa tai vedettömissä liuottimissa, erityisesti eettereissä, kuten dioksaani, lämpötiloissa välillä -50 °C ja vastaavien reaktioseosten refluksointilämpötila, esimerkiksi välillä 0 ja 50 °C, edullisesti suojakaasun, kuten argonin tai typen läsnä ollessa, tai hydrogenolyysillä (esimerkiksi bentsyylioksikarbonyyliradikaalien tapauksessa), edullisesti polaarisissa liuottimissa, kuten alkoholit, esimerkiksi metanoli tai etanoli, tai esterit, kuten alempi-alkyyli-alempi-alkanoaatit, esimerkiksi etyyliasetaatti, edellä mainituissa lämpötiloissa ja sopivien hydrogenointikatalysaattorien, kuten palladiumkatalysaattorin läsnä ollessa, joka on edullisesti kiinnitetty kantajaan, kuten aktiivihiili.

Kaavan I mukaisessa yhdisteessä, jossa ainakin toinen radikaaleista R_2 tai R_3 on fenyyliryhmä ja/tai jossa on läsnä yksi tai useita muita fenyylirenkaita, jolloin on myös mahdollista, että fenyyliradikaalit ovat kussakin tapauksessa substituoituja, edellä kuvatulla tavalla, vastaava(t) fenyyliradikaali(t) voidaan hydrogenoida selektiivisesti vastaavien sykloheksyyliradikaalien muodostamiseksi. Hydrogenointi suoritetaan edullisesti katalysaattorin läsnä ollessa, joka sallii kaksoissidosten selektiivisen hydrogenoinnin amidisidosten läsnä ollessa, erityisesti katalysaattorin, joka koostuu raskasmetallioksideista, kuten Rh(III)/Pt(VI)-oksidikatalysaattorin, joka kuvataan julkaisussa: Nishimura, S.; Bull. Chem. Soc. Japan 33, 566 (1960), sopivissa liuottimissa, erityisesti vedessä, alkoholeissa, kuten metanoli tai etanoli, estereissä, kuten etyyliasetaatti, tai eettereissä, kuten dioksaani, esimerkiksi metanolissa, lämpötiloissa 0 - 150 °C, edullisesti 10 - 50 °C, esimerkiksi huoneenlämpötilassa; vetypaineissa 1 kPa - 5,0 MPa (0,01 - 50 bar), esimerkiksi standardipaineessa tai alhaisessa paineessa.

Kaavan I mukaisessa yhdisteessä, jossa ainakin toinen radikaaleista R_2 ja R_3 on sykloheksenyyli, vastaava syklohek-

senyyliradikaali voidaan hydrogenoida selektiivisesti, jolloin saadaan vastaava sykloheksyyliradikaali, sopivissa liuottimissa tai liuotinseoksissa, edullisesti liuotettuna alkoholiin, kuten metanoli tai etanoli, esteriin, esimerkiksi alempi-alkyyli-alempi-alkanoaattiin, kuten etyyliasetaatti, tai näiden liuottimien seoksessa, katalysaattorin, esimerkiksi palladiumin läsnä ollessa, joka on edullisesti kiinnitetty kantajaan, kuten hiili, edullisesti aktiivihiili, edullisissa lämpötiloissa välillä 10 ja 50 °C, edullisesti huoneenlämpötilassa, hieman korotetussa tai alennetussa paineessa tai, edullisesti, standardipaineessa.

Kaavan I mukaisessa yhdisteessä, jossa nitroryhmät ovat liittyneet aromaattisiin radikaaleihin (aryyliin), erityisesti jos R_1 on aryylisulfonyyli, jossa on yksi tai useita nitrosubstituentteja, kuten 4-nitrobentseenisulfonyyli, nitro voidaan pelkistää aminoksi erityisesti hydrogenoimalla sopivissa liuottimissa tai liuotinseoksissa, edullisesti liuotettuna alkoholiin, kuten metanoli tai etanoli, esteriin, esimerkiksi alempi-alkyyli-alempi-alkanoaattiin, kuten etyyliasetaatti, tai näiden liuottimien seoksessa, katalysaattorin, esimerkiksi runkokatalysaattorin, kuten Raney-nikkelin läsnä ollessa, edullisissa lämpötiloissa välillä 10 ja 50 °C, erityisesti huoneenlämpötilassa, hieman korotetussa tai alennetussa paineessa tai, edullisesti, standardipaineessa.

<u>Farmaseuttiset valmisteet ja menetelmät</u>

Keksintö koskee myös farmaseuttisia valmisteita, jotka käsittävät kaavan I, erityisesti kaavan I' mukaisia yhdisteitä.

Keksinnön mukaisia farmakologisesti käyttökelpoisia yhdisteitä voidaan käyttää esimerkiksi tuottamaan farmaseuttisia valmisteita, jotka sisältävät tehokkaan määrän aktiivista yhdistettä yhdessä, tai seoksena, merkittävän määrän kanssa

epäorgaanisia tai orgaanisia, kiinteitä tai nestemäisiä, farmaseuttisesti käyttökelpoisia väliaineita.

Keksinnön mukaiset farmaseuttiset valmisteet ovat enteraaliseen, kuten nasaaliseen, bukkaaliseen, rektaaliseen tai oraaliseen, tai parenteraaliseen, kuten lihaksensisäiseen tai laskimonsisäiseen antoon nisäkkäille (ihmisille ja eläimille), ja sisältävät tehokkaan annoksen farmakologiset aktiivista yhdistettä sinällään tai yhdessä merkittävän määrän kanssa farmaseuttisesti käyttökelpoista väliainetta.

Aktiivisen yhdisteen annos riippuu nisäkäslajista, kehonpainosta, iästä ja yksilöllisestä tilasta, yksilöllisistä farmakokineettisistä seikoista, hoidettavasta sairaudesta ja antotavasta.

Keksintö koskee myös farmaseuttisia valmisteita ja tapaa hoitaa retrovirusten aiheuttamia sairauksia, esimerkiksi AIDS'ia tai sen esivaiheita, erityisesti kun HIV-2 tai, erikoisesti, HIV-1 aiheuttaa sairauden, tai, lisäksi tapaa hoitaa analogisia sairauksia tai niiden esivaiheita ei-ihmis-nisäkkäillä, joita sairauksia aiheuttavat esimerkiksi, SIV apinoilla tai FIV kissoilla, jolloin kaavan I tai erityisesti I' mukaisen uuden yhdisteen määrä, joka on terapeuttisesti tehokas retrovirussairauksia, kuten AIDS'ia tai sen esiasteita, tai analogsia sairauksia vastaan ei-ihmis-nisäkkäillä, sisältyy edullisesti farmaseuttiseen valmisteeseen, joka soveltuu nisäkkäälle, erityisesti ihmiselle antoon retrovirussairauden, kuten edullisesti AIDS'in tai, lisäksi, analogisten sairauksien hoitamiseksi ei-ihmis-nisäkkäillä, tai jossa terapeuttisesti tehokas määrä kaavan I tai, erityisesti, kaavan I' mukaista uutta yhdistettä annetaan hoitomenetelmän yhteydessä nisäkkäälle, esimerkiksi ihmisille, jotka jonkin mainituista sairauksista, erityisesti AIDS'in tai sen esivaiheiden vuoksi tai, lisäksi, vastaavien sairauksien vuoksi ei-ihmis-nisäkkäillä, vaatii tämänluonteista hoitoa, määrän, joka on tera-

peuttisesti tehokas retrovirussairauksia, kuten AIDS'ia tai sen esivaiheita vastaan, tai, lisäksi, vastaavia sairauksia vastaan ei-ihmis-nisäkkäillä. Annosmäärät, jotoa on annettava nisäkkäille, esimerkiksi ihmisille, joiden kehonpaino on noin 70 kg, ovat välillä noin 3 mg ja 10 g, edullisesti välillä noin 20 mg ja 4 g, esimerkiksi noin 100 mg - 2,5 g/henkilö/päivä, jaettuna, edullisesti, 1 - 3 yksittäiseksi annokseksi, jotka voivat olla esimerkiksi samankokoiset. Tavanmukaisesti lapsille annetaan puolet aikuisille annetusta annoksesta. "Terapeuttisesti tehokas" tarkoittaa, erityisesti, että erityisen sairauden alkamista voidaan hidastaa verrattuna hoitamattomaan potilaaseen, että ainakin yhtä oiretta voidaan viivästyttää tai heikentää, että ainakin yksi solutyyppi (esimerkiksi ihmisen CD4-solut) voidaan täysin tai osaksi suojata sairaudelta, tai että sairaus voidaan jopa täydellisesti parantaa.

Farmaseuttiset valmisteet sisältävät noin 1 - 95 %, edullisesti noin 20 - 90 % aktiivista yhdistettä. Keksinnön mukaiset farmaseuttiset valmisteet voivat olla esimerkiksi annosyksikkömuodossa, kuten ampulleina, lääkepulloina, peräpuikkoina, päällystettyinä tabletteina, tabletteina tai kapseleina.

Keksinnön mukaiset farmaseuttiset valmisteet tuotetaan sinänsä tunnetulla tavalla, esimerkiksi tavanomaisia liukoiseksiteko-, lyofilisointi-, sekoitus-, granulointi- tai päällystysmenetelmiä käyttämällä.

Edullisesti käytetään aktiivisen yhdisteen liuoksia, ja lisäksi myös suspensioita tai dispersioita, erikoisesti, ja erityisesti, isotoonisia vesipohjaisia liuoksia, dispersioita tai suspensioita, jolloin on myös mahdollista, esimerkiksi lyofilisoitujen valmisteiden tapauksessa, jotka sisältävät aktiivista ainetta yksinään tai yhdessä väliaineen, esimerkiksi mannitolin kanssa, että nämä valmistetaan ennen käyttöä. Farmaseuttiset valmisteet voidaan

steriloida ja/tai voivat sisältää apuaineita, esimerkiksi säilöntäaineita, stabilointiaineita, verkkoutusaineita ja/tai emulgoimisaineita, liuotusaineita, suoloja osmoottisen paineen säätelyyn ja/tai puskuroimisaineita, ja ne tuotetaan sinänsä tunnetulla tavalla, esimerkiksi tavanomaisia liuotus- tai lyofilisointimenetelmiä käyttämällä. Mainitut liuokset tai suspensiot voivat sisältää viskositeettia kohottavia aineita, kuten natriumkarboksimetyyliselluloosaa, karboksimetyyliselluloosa, dekstraani, polyvinyylipyrrolidoni tai gelatiini.

Öljypohjaiset suspensiot sisältävät öljykomponenttina, kasvis-, synteettisiä - tai puolisynteettisiä öljyjä, jotka ovat tavanomaisesti injektiotarkoituksiin. Tämänluonteisia öljyjä, jotka on mainittava, ovat erityisesti nestemäiset rasvahappoesterit, jotka sisältävät happokomponenttina pitkäketjuisen rasvahapon, jossa on 8 - 22, erityisesti 12 - 22 hiiliatomia, esimerkiksi lauriinihappoa, tridekaanihappoa, myristiinihappoa, pentadekaanihappoa, palmitiinihappoa, margarinihappoa, steariinihappoa, arakidonihappoa, beheenihappoa, tai vastaavia tyydyttymättömiä happoja, esimerkiksi öljyhappoa, elaidiinihappoa, erukahappoa, brassidiinihappoa tai linolihappoa, lisäten tai lisäämättä hapetuksenestoaineita, esimerkiksi E-vitamiinia, β-karoteenia tai 3,5-di-tert-butyyli-4-hydroksitolueenia. Näiden rasvahappoesterien alkoholikomponentissa on enintään 6 hiiliatomia, ja se on mono- tai polyhydristä, esimerkiksi monohydristä, dihydristä tai trihydristä alkoholia, esimerkiksi metanolia, etanolia, propanolia, butanolia tai pentanolia, tai niiden isomeerejä, erikoisesti kuitenkin glykolia ja glyserolia. Rasvahappoja, jotka on sen vuoksi mainittava esimerkkinä, ovat: etyylioleaatti, isopropyylimyristaatti, isopropyylipalmitaatti, "Labrafil M 2375" (polyoksietyleeniglyserolitrioleaatti yhtiöstä Gattefossé, Pariisi), "Miglyol 812" (tyydyttyneiden C_{8-12}-rasvahappojen triglyseridi yhtiöstä Hüls AG, Saksa), erityisesti, kuitenkin kasvisöljyjä, kuten puuvillansiemenöljy, manteliöljy,

oliiviöljy, risiiniöljy, seesamiöljy, soijaöljy ja, erikoisesti, maapähkinäöljy.

Injektiovalmisteiden valmistus suoritetaan tavanomaisella tavalla steriileissä olosuhteissa, samoin kuin niiden täyttäminen ampulleihin tai näytepulloihin ja astioiden sulkeminen.

Oraaliseen käyttöön tarkoitettuja farmaseuttisia valmisteita voidaan saada yhdistämällä aktiivisen yhdisteen kiinteiden väliaineiden kanssa, haluttaessa granuloimalla saadun seoksen ja, haluttaessa tai mikäli välttämätöntä, sen jälkeen kun on lisätty sopivia apuaineita, käsitellään tableteiksi, päällystetyiksi tablettiytimiksi tai kapseleiksi tai muuten valmistamalla dispersioita, edullisesti fosfolipidien kanssa, jotka täytetään lasisiin lääkepulloihin. Samanaikaisesti aktiiviset yhdisteet voidaan myös sisällyttää synteettisiin kantajiin, jotka vapauttavat ne mitatulla tavalla tai muuten sallivat niiden diffundoitumisen.

Sopivia kantajia ovat erityisesti täyteaineet, kuten sokerit, esimerkiksi laktoosi, sakkaroosi, mannitoli tai sorbitoli, selluloosavalmisteet, ja/tai kalsiumfosfaatit, esimerkiksi trikalsiumfosfaatti tai kalsiumvetyfosfaatti ja, lisäksi, sideaineet, kuten tärkkelystahnat, joissa käytetään esimerkiksi maissitärkkelystä, vehnätärkkelystä, riisitärkkelystä tai perunatärkkelystä, gelatiinia, traganttikumia, metyyliselluloosaa, hydroksipropyylimetyyliselluloosa, natriumkarboksimetyyliselluloosa ja/tai polyvinyylipyrrolidonia, ja/tai, haluttaessa, hajoamista edistäviä aineita, kuten edellä mainittuja tärkkelyksiä, ja, lisäksi, karboksimetyylitärkkelys, verkkoutettua polyvinyylipyrrolidonia, agaria, algiinihappoa tai sen suolaa, kuten natriumalginaattia. Apuaineet ovat etupäässä virtauksensäätöaineita ja voiteluaineita, esimerkiksi piihappoa, talkkia, steariinihappoa tai sen suoloja, kuten mag-

nesium- tai kalsiumstearaattia, ja/tai polyetyleeniglykolia. Päällystetyt tablettiytimet varustetaan sopivilla päällysteillä, jotka kestävät tai eivät kestä mahanesteitä, mm., konsentroiduilla sokeriliuoksilla, jotka sisältävät tai eivät sisällä arabikumia, talkkia, polyvinyylipyrrolidonia, polyetyleeniglykolia ja/tai titaanidioksidia, lakkaliuoksilla sopivissa orgaanisissa liuottimissa tai, mahahappoa kestävien päällysteiden valmistamiseksi, käyttämällä sopivien valmisteiden, kuten etyyliftalaatin tai hydroksipropylmetyyliftalaatin liuoksia.

Kapselit ovat kovakuorisia gelatiinikapseleita ja myös pehmeäkuorisia, suljettuja kapseleita, jotka on tehty gelatiinista ja pehmennysaineesta, kuten glyserolista tai sorbitolista. Kovakuoriset kapselit voivat sisältää aktiivisen yhdisteen granulaatin muodossa, joka sisältää esimerkiksi täyteaineita, kuten laktoosia, sideaineita, kuten tärkkelyksiä, ja/tai liukuaineita, kuten talkkia tai magnesiumstearaattia, ja, haluttaessa, stabilointiaineita. Kapseleissa aktiivinen yhdiste on edullisesti suspendoituna tai liuotettuna sopiviin, öljypohjaisiin apuaineisiin, kuten tavanomaisiin kasvis-, synteettisiin - tai puolisynteettisiin öljyihin. Tämän luonteiset öljyt, jotka on mainittava, ovat erityisesti nestemäisiä rasvaestereitä, jotka sisältävät happokomponenttina pitkäketjuista rasvahappoa, jossa on esimerkiksi 8 - 22, erityisesti 12 - 22 hiiliatomia, esimerkiksi lauriinihappoa, triekaanihappoa, myristiinihappoa, pentadekaanihappoa, palmitiinihappoa, margariinihappoa, steariinihappoa, arakidonihappoa, beheenihappoa, tai vastaavia tyydyttymättömiä happoja, esimerkiksi öljyhappoa, elaidiinihappoa, erukahappoa, brassidiinihappoa tai linolihappoa, lisäten tai lisäämättä hapetiuksenestoaineita, esimerkiksi E-vitamiinia, β-karoteenia tai 3,5-di-tert-butyyli-4-hydroksitolueenia. Näiden rasvahappoesterien alkoholikomponentissa on enintään 6 hiiliatomia, ja se on mono- tai polyhydristä, esimerkiksi monohydristä, dihydristä tai trihydristä alkoholia, esimerkiksi metano-

lia, etanolia, propanolia, butanolia tai pentanolia tai niiden isomeerejä, erikoisesti kuitenkin etyleeniglykolia tai propyleeniglykolia ja glyserolia. Rasvahappoestereitä, jotka on sen vuoksi mainittava esimerkkinä, ovat: etyylioleaatti, isopropyylimyristaatti, isopropyylipalmitaatti, "Labrafil M 2375" (polyoksietyleeniglyserolitrioleaatti yhtiöstä Gattefossé, Pariisi), "Miglyol 812" (tyydyttyneiden C_{8-12}-rasvahappojen triglyseridi yhtiöstä Hüls AG, Saksa), erityisesti kuitenkin kasvisöljyjä, kuten puuvillansiemenöljy, manteliöljy, oliiviöljy, risiiniöljy, maapähkinäöljy, soijaöljy ja, erikoisesti, seesamiöljy. Myös parafiiniöljy on mahdollista. Voidaan lisätä stabilointiaineita, kuten emulgoimisianeita, kostutusaineita tai surfaktantteja, sideaineita, kuten tärkkelystahnoja, joissa käytetään esimerkiksi maissitärkkelystä, vehnätärkkelystä, riisitärkkelystä tai perunatärkkelystä, gelatiinia, traganttikumia, metyyliselluloosaa, hydroksipropylmetyyliselluloosaa (edullisesti), natriumkarboksimetyylisellulloosaa, syklodekstriin(i/ej)ä ja/tai polyvinyylipyrrolidonia, ja/tai antibakteriaalisia aineita. Sopivia emulgoimisaineita ovat erityisesti öljyhappo, rasvahappopolyhydroksialkoholiesterityyppiset ionittomat surfaktantit, kuten sorbitaanimonolauraatti, -oleaatti, -stearaatti tai -palmitaatti, sorbitaanitristearaatti tai -trioleaatti, rasvahappopolyhydroksialkoholiesterien polyoksietyleeniadduktit, kuten polyoxyetyleenisorbitaanimonolauraatti, -oleaatti, -stearaatti, -palmitaatti, -tristearaatti tai -trioleaatti, polyetyleeniglykolirasvahappoesterit, kuten polyoksietyylistearaatti, polyoksietyleeniglykoli-(300 tai 400)-stearaatti, polyetyleeniglykoli-2000-stearaatti, erityisesti etyleeniksidi/propyleenioksidi-blokkipolymeerit, jotka ovat ®Pluronic (Wyandotte Chem. Corp.; BASF'in tavaramerkki, SLT) tai ®Synperonic (ICI)-tyyppiä. Jos aktiivinen aine ei ole mainittuihin öljyihin liukoista, se on edullisesti läsnä suspensiomuodossa, jolloin aktiivisen aineen partikkelikoko on esimerkiksi välillä noin 1 ja 100 µm.

Tabletteihin tai päällystettyjen tablettien päällysteisiin ja kapselikuoriin voidaan lisätä värejä tai pigmenttejä, esimerkiksi aktiivisen yhdisteen eri annosten tunnistamiseksi tai merkitsemiseksi.

Kaavan I mukaiset yhdisteet voivat olla läsnä joko yksinään tai yhdistelmänä muiden yhdisteiden kanssa, jotka ovat tehokkaita retroviruksia vastaan, ja käyttää edellä mainitulla tavalla.

Keksintö koskee myös, vastaavasti, prosessia tai menetelmää retrovirusten aiheuttamien sairauksien hoitamiseksi, esimerkiksi AIDS'in tai sen esivaiheiden, erityisesti kun HIV-2 tai, erikoisesti, HIV-1 aiheuttaa sairauden, tai, lisäksi, analogisten sairauksien, tai niiden esivaiheiden, ei-ihmis-nisäkkäillä, esimerkiksi niiden, joita aiheuttavat SIV apinoilla tai FIV kissoilla, jossa menetelmässä annetaan yhdistelmää, joka on terapeuttisesti tehokasta retrovirussairausia, kuten AIDS'ia tai sen esivaiheita, tai analogisia sairauksia vastaan ei-ihmis-nisäkkäillä, jossa yhdistelmässä on) kaavan I tai erityisesti, I' mukaista uutta yhdistettä (tai muuten useita näistä yhdisteistä) ja b) toista yhdistettä, tai kahta tai useampaa näistä, jo(t)ka on/ovat tehok(as/kai)ta retroviruksia vastaan, erityisesti useita tai, edullisesti, yhtä edellä edullisina mainituista käänteistranskriptaasin tai, erityisesti, retrovirusaspartaattiproteaasien estäjistä (jota on esimerkiksi sisällytetty farmaseuttiseen tuotteeseen tai valmisteeseen, joka on sopivaa annettavaksi nisäkkäälle, erityisesti ihmisille, jotka ovat sellaisen hoidon tarpeessa, retrovirussairauden, kuten edullisesti AIDS'in tai muuten analogisten sairauksien hoitamiseksi ei-ihmis-nisäkkäillä) määrän, joka on terapeuttisesti tehokas retrovirussairauksia, kuten AIDS'ia tai sen esiasteita, tai muuten ei-ihmis-nisäkkäiden vastaavia sairauksia vastaan. Yhdistettyjen yksittäisten aktiivisten yhdisteiden annosmäärät, joita on määrä antaa nisäkkäille, esimerkiksi ihmisille, joiden

kehonpaino on noin 70 kg, ovat välillä noin 3 mg ja 10 g, edullisesti välillä noin 20 mg ja 4 g, esimerkiksi noin 50 mg - 2,5 g/henkilö/päivä, edullisesti jaettuna 1 - 3 yksittäiseen annokseen, jotka voivat olla esimerkiksi yhtäsuuria. Lapsille annetaan tavanomaisesti puolet aikuisille annetusta annoksesta. "Terapeuttisesti tehokas" tarkoittaa erityisesti, että vastaavan sairauden alkamista voidaan hidastaa verrattuna hoitamattomaan potilaaseen, että ainakin yhtä oiretta voidaan viivästyttää tai heikentää, että ainakin yksi solutyyppi (esimerkiksi ihmisen CD4-solut) voidaan suojata sairaudelta täysin tai osaksi, tai että sairaus voidaan jopa täysin parantaa.

Keksintö koskee myös tuotteita, jotka sisältävät a) ainakin, ja edullisesti, yhtä kaavan I mukaista yhdistettä, tai sen suolaa, edellyttäen että läsnä on suolaa muodostava ryhmä, ja b) yhtä, kahta (edullisesti) tai useampaa muuta aktiivista yhdistettä, jotka ovat tehokkaita retroviruksia, erityisesti HIV'tä, kuten HIV-1:tä tai HIV-2:tä vastaan, ja joita ovat erityisesti edellä mainitut käänteistranskriptaasin estäjät tai, erikoisesti, edellä mainitut muut retrovirusaspartaattiproteaasien estäjät (erityisesti estäjät, jotka kuvattiin edellä kussakin tapauksessa edullisiksi), yhden tai usean farmaseuttisesti hyväksyttävän väliaineen läsnä ollessa tai puuttuessa, yhdistelmävalmisteina samanaikaiseen tai kronoloogisesti porrastettuun käyttöön ajanjakson sisällä, joka on riittävän lyhyt, jotta sekä komponentin a) että komponentin b) aktiiviset yhdisteet ovat potilaassa samanaikaisesti läsnä (esimerkiksi veressä), retrovirussairauden hoitamiseksi, jolla sairaudella on vastetta tämän tyyppisille aktiivisille yhdisteille. Taustalla oleva konsepti on, että tällä tavalla voi esiintyä synergiaa.

Keksintö koskee myös farmaseuttisia valmisteita, jotka sisältävät (edullisesti yhdessä) antiretroviraalisesti aktiivisen määrän a) ainakin (ja edullisesti) yhtä kaavan I

mukaista yhdistettä ja b) yhtä tai useaa mainituista aktiivisista yhdisteistä, jotka ovat tehokkaita retroviruksia vastaan, yhden tai usean farmaseuttisesti hyväksyttävän väliaineen kanssa tai ilman, jolloin edullisia ovat aktiiviset yhdisteet, jotka kuvattiin edellä kussakin tapauksessa edullisiksi.

Lisäksi keksintö koskee yhdistelmän käyttöä, jossa on a) kaavan I mukaista yhdistettä ja b) yhtä tai useaa edellä mainituista aktiivisista yhdisteistä, jotka ovat tehokkaita retroviruksia (erityisesti HIV'tä, kuten HIV-1:tä tai HIV-2:ta) vastaan, tuottamaan farmaseuttisia valmisteita käytettäväksi koostumuksina retrovirusinfektioita, erityisesti HIV:'n, kuten HIV-1:n tai HIV-2:n aiheuttamia vastaan; jolloin edullisia ovat yhdisteet, jotka on kussakin tapauksessa mainittu edullisiksi.

Keksintö koskee myös edellä mainitun tuotteen tai yhdisteseoksen aikaansaamista käytettäväksi menetelmässä ihmis- tai eläinkehon terapeuttiseen hoitoon.

Tässä yhteydessä farmaseuttisten valmisteiden koostumus ja tuotanto tuotteen yksittäisiä komponentteja varten porrastettuun tai samanaikaiseen antoon, tai yhdisteseoksia varten, ovat analogiset kaavan I mukaisten yhdisteiden edellä mainittujen farmaseuttisten valmisteiden koostumuksen ja tuotannon kanssa.

Kussakin tapauksessa on erityisen edullista yhdistelmä, joka sisältää a) kaavan I mukaista yhdistettä, joka on nimeltään 5(S)-(Boc-amino)-4(S)-hydroksi-6-fenyyli-2(R)-[(2,3,4-trimetoksifenyyli)metyyli]-heksanoyyli-(L)-Val-N-(2-metoksietyyli)amidi ja b) toista tai molempia aktiivisista yhdisteistä sakvinaviiri tai indinaviiri.

Kaavan I mukaiset aktiiviset yhdisteet ja/tai muut aktiiviset yhdisteet, jotka ovat retroviruksia vastaan tehok-

kaita, voidaan kussakin tapauksessa korvata farmaseuttisestä käyttökelpoisilla suoloillaan.

Lähtöaineet:

Uudet lähtöaineet ja/tai välituotteet, ja myös menetelmät niiden valmistamiseksi ovat samoin keksinnön kohteena. Edullisesti näitä lähtöaineyhdisteitä käytetään, ja reaktio-olosuhteet valitaan siten, että saadaan edullisiksi lueteltuja yhdisteitä.

Kaikki lähtöaineet voidaan edullisesti valmistaa analogisesti menetelmille, jotka määritellään esimerkeissä tai muuten esimerkiksi julkaisuissa EP 0 532 466 (julkaistu 17. maaliskuuta 1993) tai EP 0 618 222 (julkaistu 5. lokakuuta 1994); nämä patenttihakemukset liitetään tähän patenttihakemukseen viitteeksi.

Kaikkien lähtöaineiden valmistuksessa vapaat funktionaaliset ryhmät, jotka eivät osallistu vastaavaan reaktioon, voivat olla suojaamattomia tai, tarvittaessa, olla suojatussa muodossa, esimerkiksi edellä menetelmässä a) mainituilla suojaryhmillä, jotka ryhmät voidaan lisätä sopivissa vaiheissa siellä mainituille menetelmille analogisesti. Suojaryhmät, tai suojatut ryhmät, voidaan vapauttaa sopivina ajankohtina menetelmässä f) kuvatuille menetelmille analogisesti. Lähtöaineet ja välituotteet, joissa on suolaa muodostavia ryhmiä, joidaan kussakin tapauksessa käyttää vapaina yhdisteinä tai suoloina, ja suoloja voidaan kussakin vaiheessa valmistaa tai muuttaa jälleen kerran vapaiksi yhdisteiksi.

Analogisesti menetelmävaiheille, jotka kuvattiin edellä lisämenetelmätoimenpiteille, hydroksyyli-substituoitu fenyyli R_2- ja/tai fenyyli R_3-radikaalit välituotteissa voidaan eetteröidä sopivissa reaktiovaiheissa alemman alkanolin, fenyyli-alempi-alkanolin, alempi-alkoksi-kar-

bonyyli-alempi-alkanolin, karbamoyyli-alempi-alkanolin, pyridyyli-alempi-alkanolin, syaani-alempi-alkanolin tai alempi-alkoksi-alempi-alkanolin radikaalilla. Eetteröinti suoritetaan edullisesti käyttämällä diatsometaania, tai alempi alkyyli-, fenyyli-alempi-alkyyli-, alempi-alkoksi-karbonyyli-alempi-alkyyli-, karbamoyyli-alempi alkyyli-, pyridyyli-alempi alkyyli-, syaani-alempi-alkyyli- tai alempi-alkoksi-alempi-alkyyli-halogenideja tai -sulfonihappoestereitä. Suosio annetaan reaktiolle vastaavien alempi alkyyli-, fenyyli-alempi alkyyli-, alempi-alkoksi-karbonyyli-alempi alkyyli-, karbamoyyli-alempi alkyyli-, pyridyyli-alempi alkyyli-, syaani-alempi-alkyyli- tai alempi-alkoksi-alempi-alkyyli-halogenidien, kuten -jodidien, -bromidien tai -kloridien kanssa, emästen, edullisesti hydroksyyliemäksen, erityisesti emäksisen metallihydroksidin, kuten natrium- tai kaliumhydroksidin, tai, erikoisesti, metallikarbonaatin tai vetykarbonaatin, kuten natrium-, kalium- tai, etupäässä, cesiumkarbonaatin läsnä ollessa, sopivissa liuottimissa tai liuotinseoksissa, esimerkiksi N,N-di-alempi-alkyyli-alempi-alkanoyyliamideissa, kuten dimetyyliformamidissa tai -asetamidissa, ketoneissa, kuten alemmissa alkanoneissa, esimerkiksi asetonissa, ja/tai eettereissä, kuten dioksaani, lämpötiloissa 10 °C:sta refluksointilämpötilaan, edullisesti 0 - 60 °C:ssa, esimerkiksi noin 0 - 50 °C:ssa.

Välituotteissa, joissa ainakin toinen radikaaleista R_2 ja R_3 on fenyyliryhmä ja/tai läsnä on yksi tai useampia muita fenyylirenkaita, jolloin on myös mahdollista, että fenyyliradikaalit on kussakin tapauksessa substituoitu, edellä kuvatulla tavalla, voidaan sopiva fenyyliradikaali pelkistää, ts. hydrogenoida, selektiivisesti vastaaviksi sykloheksyyliradikaaleiksi sopivissa reaktiovaiheissa, analogisesti menetelmävaiheille, jotka kuvataan edellä lisämenetelmätoimenpiteille. Hydrogenointi suoritetaan edullisesti katalysaattorin läsnä ollessa, joka sallii kaksoissidosten selektiivisen hydrogenoinnin peptidisidosten läsnä ollessa,

erityisesti katalysaattorin, joka koostuu raskasmetallioksideista, kuten Rh(III)/Pt(VI)oksidi-katalysaattorin, jonka on kuvannut Nishimura (S. Nishimura, Bull. Chem. Soc. Japan 33, 566 (1960), sopivissa liuottimissa, erityisesti vedessä, alkoholeissa, kuten metanoli tai etanoli, estereissä, kuten etyyliasetaatti, tai eettereissä, kuten dioksaani, esimerkiksi metanolissa, lämpötiloissa 0 - 150 °C, edullisesti 10 - 50 °C, esimerkiksi huoneenlämpötilassa, ja vetypaineissa 1 kPa - 5 MPa (0,01 - 50 bar), esimerkiksi standardipaineessa tai alhaisessa paineessa.

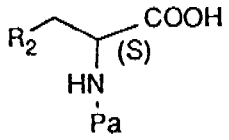
Välituotteissa, joissa ainakin toinen radikaaleista R_2 tai R_3 on sykloheksenyyli, voidaan sopiva sykloheksenyyliradikaali hydrogenoida sopivissa reaktiovaiheissa selektiivisesti vastaavaksi sykloheksyyliradikaaliksi, analogisesti menetelmävaiheille, jotka kuvattiin edelle lisämenetelmätoimenpiteissä, esimerkiksi sopivissa liuottimissa tai liuotinseoksissa, edullisesti liuotettuna alkoholiin, kuten metanoli tai etanoli, ja/tai esteriin, esimerkiksi alempi-alkyyli alempi-alkanolaattiin, kuten etyyliasetaattiin, katalysaattorin läsnä ollessa, esimerkiksi palladiumin, joka on edullisesti kiinnitetty kantajaan, kuten hiileen, edullisesti aktiivihiileen, edullisissa lämpötiloissa välillä 10 ja 50 °C, edullisesti huoneenlämpötilassa hieman korotetussa tai alennetussa paineessa tai, erityisesti, standardipaineessa.

Edellyttäen, että asymmetristen hiiliatomien stereokemiaa ei ole määritelty suoraan vastaavat symbolit valitsemalla, asymmetristen hiiliatomien konfiguraatio, joka on kussakin tapauksessa edullinen, merkitään kaavoissa konfiguraatiomerkinnällä, joka on (S), (R) tai (S,R), joka esitetään kussakin tapauksessa suluissa. Lisäksi näiden sijasta voi läsnä myös muita isomeerejä tai isomeeriseoksia.

Kaavojen II ja IV mukaiset karboksyylihapot, tai niiden reaktiiviset johdannaiset, ovat tunnettuja, ovat kaupalli-

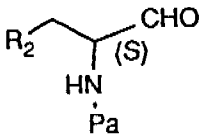
sesti saatavia tai voidaan valmistaa sinänsä tunnetuilla menetelmillä.

Kaavan III ja III' mukaiset yhdisteet ovat tunnettuja tai voidaan valmistaa sinänsä tunnetuilla menetelmillä. Ne voidaan saada esimerkiksi kaavan XI mukaisista yhdisteistä



(XI),

jossa ryhmällä R_2 on kaavan I mukaisille yhdisteille annetut merkitykset, ja Pa on aminosuojaryhmä, erityisesti alempi-alkoksikarbonyyli, kuten tert-butoksikarbonyyli, tai 1-fenyyli-alempi-alkoksikarbonyyli, kuten bentsyylioksikarbonyyli (tai sen analogeja, joissa vety korvaa Pa:n, jotka analogit voidaan sitten suojata seuraavaksi), jotka muutetaan ensimmäisessä vaiheessa pelkistämällä kaavan XII mukaisiksi vastaaviksi yhdisteiksi



(XII)

(tai analogiksi, jossa on vety Pa:n sijasta), jossa radikaalit ovat edellä kuvatut.

Kaavan XI mukaisten aminohappojohdannaisten pelkistys kaavan XII mukaisiksi vastaaviksi aldehydeiksi suoritetaan esimerkiksi pelkistämällä ne vastaaviksi alkoholeiksi, ja hapettamalla sitten viimeksi mainitun, jolloin muodostuu kaavan XII mukaisia aldehydejä.

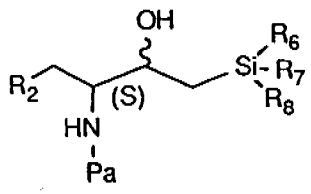
Pelkistys alkoholeiksi suoritetaan erityisesti hydrogenoimalla vastaavia happohalogenideja tai muita aktivoituja karboksyylihappojohdannaisia, jotka määritellään menetelmässä a), tai saattamalla kaavan XI mukaisten yhdisteiden aktivoituja karboksyylihappojohdannaisia, erityisesti anhydridejä orgaanisten karboksyylihappojen kanssa, edullisesti niitä, jotka saadaan halogeenimuurahaishappoesterellä, esimerkiksi isobutyyliklooriformiaattia (jotka saadaan edullisesti saattamalla kaavan XI mukaisia yhdisteitä reagoimaan emäksisten amiinien, esimerkiksi tri-alempi-alkyyliamiinien, kuten trietyyliamiinin läsnä ollessa, orgaanisissa liuottimissa, kuten syklisissä eettereissä, esimerkiksi dioksaanissa, lämpötiloissa välillä -50 ja 80 °C, edullisesti välillä 0 ja 50 °C) kompleksihydridien, kuten alkalimetalliborohydridien, esimerkiksi natriumborohydridin kanssa, vesipohjaisessa liuoksessa viimeksi käytettävien orgaanisten liuottimien läsnä ollessa tai puuttuessa, lämpötiloissa välillä -50 ja 80 °C, edullisesti välillä 0 ja 50 °C. Tulokseksi saatujen alkoholien seuraava hapetus suoritetaan edullisesti käyttämällä niitä hapetusreagensseja, jotka muuttavat hydroksyyliryhmän selektiivisesti aldehydiryhmäksi, esimerkiksi kromihappoa tai sen johdannaisia, kuten pyridiniumkromaattia tai tert-butyylikromaattia, dikromaatti/rikkihappoa, rikkitrioksidia heterosyklisten emästen, kuten pyridiini/SO_3:n (edullisesti liuotettuna di-alempi-alkyylisulfoksideihin, kuten dimetyylisulfoksidiin ja/tai aromaattisiin liuottimiin, kuten tolueeniin), ja myös typpihapon, mangaanidioksidin tai seleenidioksidin läsnä ollessa, vedessä, vesipohjaisissa tai orgaanisissa liuottimissa, kuten halogenoiduissa liuottimissa, esimerkiksi metyleenikloridissa, karboksamideissa, kuten dimetyyliformamidissa, ja/tai syklisissä eettereissä, kuten tetrahydrofuraanissa, emäksisten amiinien, esimerkiksi tri-alempi-alkyyliamiinien, kuten trietyyliamiinin läsnä ollessa tai puuttuessa, lämpötiloissa -70 - 100 °C, edullisesti -70 - 50 °C, tai -10 - 50 °C, esimerkiksi tavalla, joka kuvataan EP-patenttihakemuksessa EP-A-0 236 734, tai

reaktiolla dikarbonyylihalogenidien, kuten oksalyylikloridin, ja di-alempi-alkyylisulfoksidien, kuten dimetyylisulfoksidin kanssa halogenoidussa hiilivedyssä, kuten dikloorimetyleenissä, tertiaarisen typpiemäksen, kuten trietyyliamiinin läsnä ollessa, edullisissa lämpötiloissa noin -70 - 0 °C, esimerkiksi noin -60 °C:ssa.

On myös mahdollista pelkistää kaavan XI mukaiset yhdisteet suoraan aldehydeiksi, esimerkiksi hydrogenoimalla osaksi myrkytetyn palladiumkatalysaattorin läsnä ollessa, tai pelkistämällä vastaavia aminohappoestereitä, esimerkiksi alempi-alkyyliestereitä, kuten etyyliestereitä, kompleksihydrideillä, esimerkiksi borohydrideillä, kuten natriumborohydridillä tai, edullisesti, aluminiumhydrideillä, esimerkiksi litiumaluminiumhydridillä, litium-tri-(tert-butoksi)aluminiumhydridillä tai, erityisesti, di-isobutyylialuminiumhydridillä, poolittomissa liuottimissa, esimerkiksi hiilivedyissä tai aromaattisissa liuottimissa, kuten tolueenissa, -100 - 0 °C:ssa, edullisesti -70 - -30 °C:ssa, ja ensin seuraavaksi muuttamalla tuotteet vastaaviksi semikarbatsoneiksi, esimerkiksi käyttämällä vastaavia semikarbatsonien happosuoloja, kuten semikarbatsidihydrokloridia, vesipohjaisissa liuotinjärjestelmissä, kuten alkoholi/vedessä, esimerkiksi etanoli/vedessä, lämpötiloissa välillä -20 ja 60 °C, edullisesti 10 - 30 °C, ja saattamalla tulokseksi saadun semikarbatsonin sitten reagoimaan reaktiivisen aldehydin, esimerkiksi formaldehydin kanssa, inertissä liuottimessa, esimerkiksi polaarisessa orgaanisessa liuottimessa, esimerkiksi karboksamidissa, kuten dimetyyliformamidissa, lämpötiloissa välillä -30 ja 60 °C, edullisesti 0 - 30 °C, ja saattamalla sitten reagoimaan hapon, esimerkiksi vahvan mineraalihapon, kuten vetyhalogenidihapon kanssa, vesipohjaisessa liuottimessa aikaisemmin käytetyn liuottimen puuttuessa tai läsnä ollessa, lämpötiloissa välillä -40 ja 50 °C, edullisesti välillä -10 ja 30 °C. Vastaavia estereitä saadaan saattamalla aminohapot reagoimaan vastaavien alkoholien, esimerkiksi etanolin

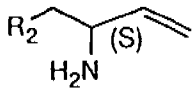
kanssa, analogisesti olosuhteissa, joita käytettiin kondensointiin menetelmässä b), esimerkiksi saattamalla reagoimaan epäorgaanisten happohalogenidien, kuten tionyylikloridin kanssa, orgaanisissa liuotinseoksissa, kuten aromaattisten ja alkoholisten liuotinten, esimerkiksi tolueenin ja etanolin seoksissa, lämpötiloissa välillä -50 ja 50 °C, edullisesti välillä -10 ja 20 °C.

Kaavan III tai III' mukaisten yhdisteiden syntetisoimiseksi kaavan XII mukaiset yhdisteet saatetaan sitten reagoimaan reaktiivisen tetra-alkyylisilaanin, edullisesti halogeenimetyylitri-alempi-alkyylisilaanin, kuten kloorimetyylitrimetyylisilaanin kanssa, inertissä liuottimessa, esimerkiksi eetterissä, kuten dietyylieetteri, syklisessä eetterissä, kuten dioksaani, tai esterissä, kuten etyyliasetaatti, lämpötiloissa välillä -100 ja 50 °C, edullisesti välillä -65 ja 40 °C, jolloin saadaan kaavan XIII mukaisia yhdisteitä



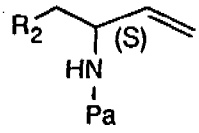
(XIII)

jossa R_6, R_7 ja R_8 ovat alempi alkyyli, esimerkiksi metyyli, ja loput radikaalit ovat edellä määritellyt, tulokseksi saadut yhdisteet muutetaan Lewis-hapon, kuten booritrifluoridietyylieteraatin läsnä ollessa inertissä liuottimessa, erityisesti halogenoidussa hiilivedyssä, kuten metyleenikloridissa tai kloroformissa, seuraavalla jälkikäsittelyllä vesipohjaisella emäksellä, esimerkiksi natriumhydroksidiliuoksella, lämpötiloissa välillä -30 ja 80 °C, erityisesti välillä 0 ja 50 °C, eliminoinnilla ja suojaryhmän poistolla, kaavan XIV mukaisiksi olefiiniyhdisteiksi



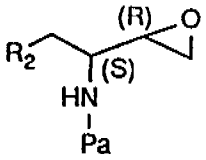
(XIV)

jossa ryhmällä R_2 on kaavan I mukaisille yhdisteille määritellyt merkitykset, aminosuojaryhmä Pa, esimerkiksi tert-butoksikarbonyyli, lisätään jälleen kerran vastaavaan olefiiniin, tavalla, joka kuvataan menetelmässä a) aminosuojaryhmien lisäämiseksi, erityisesti käyttämällä happoanhydridiä klooratussa hiilivedyssä, kuten metyleenikloridissa tai kloroformissa, lämpötiloissa välillä -50 ja 80 °C, erityisesti välillä 0 ja 35 °C, jolloin saadaan kaavan XV mukainen suojattu amino-olefiini



(XV)

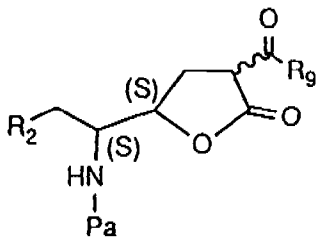
jossa radikaalit ovat edellä määritellyt, kaksoissidos muutetaan oksiraaniksi, edullisesti stereoselektiivisesti käyttämällä peroksideja, erityisesti peroksikarboksyylihappoja, esimerkiksi halogeeniperbentsoehappoa, kuten m-klooriperbentsoehappoa, inertissä orgaanisessa liuottimessa, edullisesti halogenoidussa hiilivedyssä, kuten metyleenikloridissa tai kloroformissa, lämpötiloissa välillä -50 ja 60 °C, erityisesti välillä 10 ja 25 °C, ja, vaadittaessa, suoritetaan diastereomeerierotus, jolloin saadaan kaavan XVI mukaisia epoksideja



(XVI),

jossa radikaalit ovat edellä määritellyt, sopiva malonihappodiesteri, esimerkiksi dimetyylimalonaatti tai dietyylima-

lonaatti, lisätään kyseisiin olefiineihin, esimerkiksi aktivoimalla malonihappodiesterin metyleeniryhmän alkalimetallilla, esimerkiksi natriumilla, polaarisessa, vedettömässä liuottimessa, kuten alkoholissa, esimerkiksi metanolissa tai etanolissa, lämpötiloissa välillä -50 ja 80 °C, erityisesti välillä 0 ja 35 °C, ja liuos käsitellään hapolla, esimerkiksi karboksyylihapolla, kuten sitruunahappo, jolloin saadaan kaavan XVII mukainen laktoni



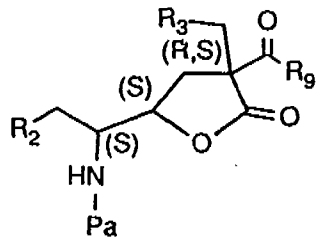
(XVII),

jossa R_9 on alempi-alkoksi, esimerkiksi metoksi tai etoksi, ja loput radikaalit ovat edellä määritellyt, haluttaessa R_2 pelkistetään sykloheksyyliksi niissä yhdisteissä, joissa tämä radikaali on fenyyli, joka on substituoimaton tai on substituoitu kaavan I mukaisille yhdisteille kuvatulla tavalla, erityisesti hydrogenoimalla, edullisesti katalysaattorien, kuten jalometallioksidien, esimerkiksi Rh(II)/Pt(VI)-oksidien seosten (Nishimuran mukaisten) läsnä ollessa, edullisesti polaarisissa liuottimissa, kuten alkoholeissa, esimerkiksi metanolissa, standardipaineessa tai jopa 500 kPa:ssa, edullisesti standardipaineessa, lämpötiloissa -20 - 50 °C, edullisesti 10 - 35 °C:ssa, kaavan XVII mukaiset yhdisteet, jotka saadaan suoraan tai hydrogenoinnin jälkeen, saatetaan reagoimaan reagenssin kanssa, joka lisää radikaalin R_3-CH_2-, esimerkiksi kaavan XVIII mukaisen kanssa

$$R_3\text{-}CH_2\text{-}W \qquad \text{(XVIII)}$$

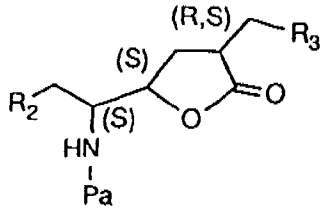
jossa R_3:lla on kaavan I mukaisille yhdisteille määritellyt merkitykset ja W on nukleofuuginen poistuva ryhmä, joka on edullisesti hydroksyyli, joka on esteröity vahvalla epäor-

gaanisella tai orgaanisella hapolla, kuten hydroksyyli, joka on esteröity mineraalihapolla, esimerkiksi vetyhalogenidihapolla, kuten suolahappo, bromivetyhappo tai jodivetyhappo, vahvalla orgaanisella sulfonihapolla, kuten alempi-alkaanisulfonihapolla, joka on substituoimaton tai substituoitu esimerkiksi halogeenilla, kuten fluorilla, tai aromaattinen sulfonihappo, esimerkiksi bentseenisulfonihappo, joka on substituoimaton tai substituoitu alempi-alkyylillä, kuten metyyli, halogeenilla, kuten bromi, ja/tai nitrolla, esimerkiksi metaanisulfoni-, trimetaanisulfoni- tai p-tolueenisulfonihappo, tai hydroksyyli, joka on esteröity typpivetyhapolla, erityisesti bromidilla, vedettömässä poolisessa liuottimessa, esimerkiksi alkoholissa, kuten etanoli, alkalimetallin, esimerkiksi natriumin läsnä ollessa, lämpötiloissa välillä -50 ja 80 °C, edullisesti välillä 0 ja 35 °C, jolloin muodostuu kaavan XIX mukaisia yhdisteitä



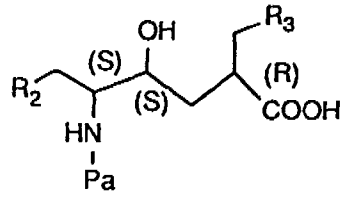
(XIX),

jossa radikaalit ovat edellä määritellyt, kaavan XIX mukaiset yhdisteet hydrolysoidaan ja dekarboksyloidaan, esimerkiksi hydrolyysillä emäksellä, kuten alkalimetallihydroksidilla, esimerkiksi litiumhydroksidilla tai NaOH:lla, lämpötiloissa välillä -50 ja 80 °C, edullisesti välillä noin 0 ja 35 °C, orgaanisessa liuottimessa, esimerkiksi eetterissä, kuten 1,2-dimetoksietaanissa, tai alkoholissa, kuten etanoli, ja seuraavalla dekarboksyloinnilla kuumentamalla inertissä liuottimessa, edullisesti hiilivedyssä, esimerkiksi aromaattisessa hiilivedyssä, kuten tolueeni, lämpötiloissa välillä 40 ja 120 °C, edullisesti välillä 70 ja 120 °C, jolloin saadaan kaavan XX mukainen yhdiste



(XX),

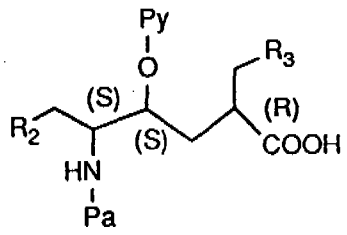
jossa radikaalit ovat edellä määritellyt, tulokseksi saadut (R,S,S)- ja (S,S,S)-isomeerit resolvoidaan pylväskromatografialla, (R,S,S)-isomeeri käytetään uudelleen ja, laktonirenkaan avaamiseksi, saatetaan reagoimaan emäksen, kuten alkalimetallihydroksidin, esimerkiksi litiumhydroksidin tai natriumhydroksidin kanssa, inertissä liuottimessa, kuten eetterissä, esimerkiksi dimetoksietaanissa, tai alkoholissa, kuten etanoli, jolloin muodostuu kaavan XXI mukainen yhdiste



(XXI),

jossa radikaalit ovat edellä määritellyt, tulokseksi saatuun yhdisteeseen lisätään hydroksyylisuojaryhmä Py, esimerkiksi yksi menetelmässä a) määritellyistä hydroksyylisuojaryhmistä, erityisesti tri-alempi-alkyylisilyyliryhmä, siellä määritellyissä olosuhteissa, käyttämällä vastaavaa halogeeni-tri-alempi-alkyylisilaania, esimerkiksi tert-butyylidimetyylikloorisilaania, polaarisessa liuottimessa, kuten di-alempi-alkyyli-alempi-alkanoyyliamidissa, kuten dimetyyliformamidissa, steerisesti estyneen aminoyhdisteen, kuten syklisen amiinin, esimerkiksi imidatsolin läsnä ollessa, lämpötiloissa -50 - 80, edullisesti 0 - 35 °C, ja karboksyyliryhmä, joka myös silyloituu samanaikaisesti, vapautetaan jälleen reaktiolla emäksisen metallisuolan,

erityisesti alkalimetallihydroksidin tai alkalimetallivetykarbonaatin tai, edullisesti, alkalimetallikarbonaatin, kuten kaliumkarbonaatin kanssa, edullisesti alkoholissa kuten metanoli tai etanoli, syklisessä eetterissä, kuten tetrahydrofuraani, vedessä, tai erityisesti seoksessa, jossa on kahta tai kolmea näistä liuottimista, edullisissa lämpötiloissa välillä 0 ja 50 °C, erityisesti 10 - 35 °C, jolloin saadaan kaavan XXII mukainen yhdiste



(XXII),

jossa radikaalit ovat edellä määritellyt, ja kaavan III tai III' mukaiset yhdisteet, joissa on menetelmässä a) esitetyt radikaalit, valmistetaan esimerkiksi jostain kaavan XXII mukaisista yhdisteistä kondensoimalla kaavan VI mukaisen yhdisteen kanssa, jossa radikaaleilla on menetelmässä c) esitetyt merkitykset, olosuhteissa, jotka ovat analogiset menetelmässä a) esitetyille, erityisesti *in situ*-reaktiolla kondensointireagenssin, kuten N,N-disykloheksyylikarbodiimidin, etyylisyaanifosfonaatin, bentsotriatsol-1-yylioksitris(dimetyyliamino)fosfoniumheksafluorifosfaatin tai O-bentsotriatsol-1-yyli-N,N,N',N'-tetrametyyliuroniumheksafluorifosfaatin, steerisesti estyneen amiinin, kuten trietyyliamiinin tai N-metyylimorfoliinin, ja, haluttaessa, rasemisoitumista estävän yhdisteen, kuten 1-hydroksibentsotriatsolin läsnä ollessa, polaarisessa liuottimessa, edullisesti happoamidissa, esimerkiksi di-alempi-alkyyliamino-alempi-alkanoyyliamidissa, kuten dimetyyliformamidi, syklisessä eetterissä, kuten tetrahydrofuraani, tai nitriilissä, kuten asetonitriili, edullisissa lämpötiloissa välillä -50 ja 80 °C, erityisesti välillä 0 ja 35 °C, haluttaessa suojakaasun, kuten argonin tai typen alla, ja erottamalla seuraavaksi suojaryhmän Pa olosuhteissa, jotka ovat

analogiset menetelmässä f) kuvatuille, (edellyttäen, että Pa ei ole radikaali, joka vastaa radikaalia R_1, jolla on edellä kaavan I mukaisille yhdisteille esitetyt merkitykset, mikä johtaisi suoraan kaavan I mukaisiin yhdisteisiin) ja lopuksi, haluttaessa, irrottamalla Py:n ja/tai muut suojaryhmät olosuhteissa, jotka analogiset menetelmässä f) kuvatuille). Kaavan III tai III' mukaisten yhdisteiden valmistamiseksi on myös mahdollista peräkkäin kondensoida kaavan XXII mukaiset yhdisteet yhdisteiden kanssa, jotka lisäävät kaavan III tai III' mukaisen yhdisteen radikaalit $-HN-(CHR_4)-CO-$ (lähtöaine: vastaavat aminohapot $H_2N-(CHR_4)-COOH$) ja $-NH-CH_2-(CH_2)_n-O-R_5$ (lähtöaine: vastaava aminoyhdiste $H_2N-CH_2-(CH_2)_n-O-R_5$), olosuhteissa, jotka ovat analogiset menetelmässä a) määritetyille, edullisesti saattamalla yhdisteen, joka on analoginen kaavan (i) V tai V', (ii) VII tai VII' tai (iii) IX tai IX' mukaiselle yhdisteelle, jossa on läsnä vety ryhmän R_1 sijasta, kaavan (i) VI tai VI' (vastaa kaavan XXII mukaista yhdistettä, jossa Pa = vety), (ii) VIII tai (iii) X mukaisen yhdisteen kanssa, jossa lopuilla radikaaleilla on kussakin tapauksessa määritellyt merkitykset, ja lähtöaineet voivat myös olla läsnä reaktiivisina johdannaisina, analogisesti (i) menetelmässä c), (ii) menetelmässä d) tai (iii) menetelmässä e) määritellyille olosuhteille, jolloin on mahdollista irrottaa suojaryhmä Py kaavan III tai III' mukaisista yhdisteistä yhtä menetelmässä f) määritellyistä menetelmistä käyttämällä.

Voidaan myös suorittaa seuraava reitti kaavan XX mukaisen yhdisteen valmistamiseksi edellä mainitusta kaavan XVII mukaisesta yhdisteestä:

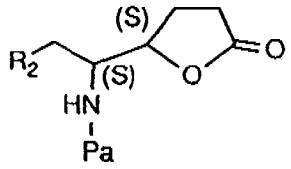
Hydrolysoidaan kaavan XVII mukainen raseeminen yhdiste (joka voidaan valmistaa kaavan XV mukaisen yhdisteen rasemaatista kaavan XVI mukaisen yhdisteen vastaavan rasemaatin kautta) ja dekarboksyloidaan olosuhteissa, jotka ovat analogiset kaavan XIX mukaisten yhdisteiden hydrolyysille ja

dekarboksyloinnille, jolloin saadaan yhdiste, joka on analoginen kaavan XIX mukaiselle yhdisteelle, josta radikaalit R_3-CH_2- ja R_9-(C=O)- kuitenkin puuttuvat (niiden sijasta on molemmissa tapauksissa läsnä vetyatomi) ja joka on läsnä rasemaattina (tai diastereomeeriseoksen edellyttäen, että R_3:ssa ja/tai R_9:ssä on läsnä lisäasymmetriakeskus); tämä viimeksi mainittu yhdiste saatetaan reagoimaan edellä määritellyn kaavan XVIII mukaisen yhdisteen kanssa, jossa W on joku edellä mainituista nukleofuugisista poistuvista ryhmistä, erityisesti halogeeni, kuten jodi tai, edullisesti, bromi tai kloori, deprotonoimalla sen ensin vahvan emäksen, kuten alkalimetallibis(tri-alempi-alkyylisilyyli)-amidin, esimerkiksi litiumbis(trimetyylisilyyli)amidin läsnä ollessa, ja alkyloimalla sen sitten yhdisteellä, jolla on kaava R_3-CH_2-W (jolloin saadaan edullisesti kaavan XX mukaiset [1'(S),3(R)-(R_3-CH_2-),5(S)]- ja [1'(R),3(S)-(R_3-CH_2-),5(R)]-yhdisteet, ts. rasemaattia mainittujen asymmetristen hiiliatomien suhteen).

Edellä mainitut kaavan XIV mukaiset yhdisteet voivat myös olla läsnä (R,S)-konfiguraatiossa ilmaistun (S)-konfiguraation sijaan hiiliatomissa, joka sisältää radikaalin -NH_2, kun taas kaavojen XI, XII ja XIII ja, erityisesti, kaavojen XV, XVI, XVII, XIX, XX, XXI ja/tai XXII mukaiset yhdisteet voivat radikaalin PA-NH- sisältävässä hiiliatomissa olla läsnä myös (R,S)-konfiguraatiossa (S)-konfiguraation sijasta. Edellä mainitut kaavojen XV, XVI ja XVII mukaiset yhdisteet voivat myös olla läsnä rasemaatteina. Myös muut ilmaisteujen kaavojen optisten antipodien seokset ovat mahdollisia. Kaavan V mukaiset vastaavat yhdisteet, esimerkiksi, voidaan saada näistä rasemaateista tai seoksista (esimerkiksi rasemaateista tai antipodiseoksista, jos R_1 ei sisällä mitään asymmetriakeskuksia), niin että tällä tavalla voidaan saada kaavan I tai I' mukaisia yhdisteitä, jossa joko hiiliatomi, joka sisältää radikaalin R_2-CH_2-, on (S)-konfiguraatiossa, hiiliatomi, joka sisältää radikaalin HO-, on (S)-konfiguraatiossa, ja hiiliatomi, joka sisältää

radikaalin R_3-CH_2-, on (R)-konfiguraatiossa (2R,4S,5S), tai mainituilla hiiliatomeilla on vastakkainen konfiguraatio (2S,4R,5R); tai muuten läsnä on seoksia kaavan V ja I mukaisista yhdisteistä, joilla on molempia näistä konfiguraatioista. Vastaavia raseemisia seoksia tai diastereomeeriseoksia voidaan erottaa sopivissa vaiheissa (edullisesti) yksittäisiksi isomeereiksi.

Kaavan XX mukaiset yhdisteet, jossa radikaaleilla on mainitut merkitykset, valmistetaan kaavan XII mukaisista yhdisteistä, jossa radikaaleilla on mainitut merkitykset, saattamalla kaavan XII mukaiset aldehydit reagoimaan 2-halogeenipropionihappoesterien, erityisesti alempi-alkyyli-2-jodipropionaattien, kuten etyyli-2-jodipropionaatin kanssa, jolloin saadaan kaavan XXIII mukaisia yhdisteitä



(XXIII)

jossa radikaaleilla on mainitut merkitykset ja jossa radikaalin PA-NH- sisältävä hiiliatomi voi, vaihtoehtoisesti, olla läsnä, esimerkiksi, (R,S)-konfiguraatiossa.

Reaktio tapahtuu aluksi 2-halogeenipropionihappo-alempi-alkyyli(-, kuten etyyli)esterin homoenolaatin muodostuessa Zn/Cu-seoksen läsnä ollessa di-alempi-alkyyli-alempi-alkanoyyliamidissa, kuten dimetyyliasetamidissa, ja/tai aromaattisen hiilivedyn, kuten tolueenin, lämpötiloissa välillä 0 ja 100 °C, erityisesti välillä 20 ja 80 °C, haluttaessa suojakaasun, kuten argonin tai N_2:n alla. Seuraavassa reaktioseoksessa, sopivaa tetra-alempi-alkyyliortotitanaattia, kuten tetraisopropyyliortotitanaattia, käsitellään edullisesti syojakaasun, kuten typen tai argonin alla, aromaattisessa liuottimessa, kuten tolueeni tai ksyleeni,

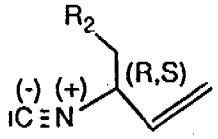
halogoidun hiilivedyn, kuten metyleenikloridin läsnä ollessa, titaniumtetrahalogenidilla, kuten titaniumtetrakloridilla, -50 - 50 °C:ssa, edullisesti -40 - 25 °C:ssa, ja seosta sekoitetaan, jolloin muodostuu vastaavaa dihalogeeni-titaani-di-alempi-alkylaattia tai, edullisesti, trihalogeeni-titaani-alempi-alkylaattia, erityisesti triklloorititaanidi-isopropylaattia. Zn-homoenolaattiliuos lisätään tipoittain viimeksi mainittuun lämpötiloissa välillä -50 ja 0 °C, erityisesti -40 - -25 °C, ja seuraavaksi lisätään tipoittain kaavan XII mukainen aldehydi halogeenihiilivedyssä, esimerkiksi metyleenikloridissa, reaktion tapahtuessa -50 - 30 °C:ssa, edullisesti noin -40 - 5 °C:ssa, jolloin muodostuu kaavan XXIII mukaisen yhdisteen alempi-alkyyli(-, erityisesti etyyli)esteriprekursori, erityisesti etyyliesteri. Sitten tämä esteri hydrolysoidaan ja syklisoidaan, jolloin muodostuu edellä määritelty kaavan XXIII mukainen yhdiste, edullisesti orgaanisessa liuottimessa, kuten aromaattisessa yhdisteessä, esimerkiksi tolueenissa tai ksyleenissä, hapon, kuten karboksyylihapon, esimerkiksi etikkahapon läsnä ollessa, lämpötiloissa välillä 20 °C ja reaktioseoksen kiehumispiste, erityisesti välillä 70 ja 100 °C. Vaadittaessa diastereomeerit erotetaan esimerkiksi kromatografialla, esimerkiksi silikageelillä käyttämällä orgaanista liuotinseosta, kuten alkaanin ja esterin, kuten alempi-alkaanin ja alempi-alkyyli-alempi-alkanoyyliesterin seosta, kuten heksaani/etyyliasetaattia.

Kaavan XX mukainen vastaava yhdiste saadaan sitten kaavan XXIII mukaisesta yhdisteestä deprotonoimalla vahvalla emäksellä, jolloin muodostuu karbanioni laktonin okso-ryhmän viereen α-hiileen, ja W-radikaalin seuraavalla nukleofiilisellä substituutiolla kaavan XVIII mukaisessa yhdisteessä, jossa R_3 ja W on määritelty edellä kaavan XIX mukaisten yhdisteiden valmistuksen yhteydessä (W on, erityisesti, bromi), reaktion johtaessa edullisesti stereoselektiivisesti (R)-konfiguraatioon kaavan XX mukaisen yhdisteen hiiliatomissa, joka sisältää radikaalin R_3-CH_2-. Reaktio

vahvan emäksen, erityisesti alkalimetalli-organopiiamidiyhdisteen, esimerkiksi alkalimetallibis(tri-alempi-alkyylisilyyli)amidin, kuten litiumbis(trimetyylisilyyli)amidin, tai muuten alkalimetallidi-alempi-alkyyliamidin, kuten litiumdi-isopropyyliamidin kanssa suoritetaan edullisesti inertissä orgaanisessa liuottimessa, erityisesti eetterissä, esimerkiksi syklisessä eetterissä, kuten tetrahydrofuraanissa, tai 1,3-dimetyyli-3,4,5,6-tetrahydro-2(1H)-pyrimidinonissa (DMPU), tai näiden liuottimien seoksissa, lämpötiloissa välillä -100 ja 0 °C, edullisesti välillä -78 ja -50 °C, kun taas nukleofiilinen substituutio suoritetaan *in situ* lisäämällä yhdiste, jolla on kaava R_3-CH_2-W samassa liuottimessa ja lämpötiloissa välillä -100 ja 0 °C, edullisesti välillä -60 ja -40 °C.

Kaavan XIV mukainen yhdiste, jossa radikaaleilla on samat merkitykset, ja jossa hiiliatomi, joka sisältää ryhmän $-NH_2$, on edullisesti (R,S)-konfiguraatiossa, voidaan saada myös muuttamalla muurahaishappoesteriä, esimerkiksi alempialkyyliformiaattia, kuten etyyliformiaattia, muurahaishappoallyyliamidiksi saattamalla sen reagoimaan allyyliamiinin kanssa lämpötiloissa välillä 20 ja 70 °C, erityisesti välillä 50 ja 60 °C. Sitten tämä amidi dehydrataan suojakaasun, kuten typen tai argonin alla, käyttämällä edullisesti happohalogenidia, kuten fosforioksikloridia, fosgeenia tai, erityisesti, orgaanista sulfonyylihalogenidia, esimerkiksi aryylisulfonyylikloridia, kuten tolueenisulfonyylikloridia, emäksen, esimerkiksi tri-alempialkyyliamiinin, kuten trietyyliamiinin, tai, erityisesti, mono- tai bi-syklisen amiinin, kuten pyridiinin tai kinoliinin läsnä ollessa, lämpötiloissa välillä 50 ja 100 °C, erityisesti välillä noin 80 ja 100 °C. Tällöin muodostuu tuloksena allyyli-isosyanidia, joka muutetaan vastaavaksi litiumsuolaksi reaktiolla organolitiumsuolan, esimerkiksi alempi-alkyylilitiumin, kuten n-butyylilitiumin kanssa, suorittaen reaktion edullisesti inertissä orgaanisessa liuottimessa, erityisesti eetterissä, kuten dioksaanissa

tai dietyylieetterissä, ja/tai alkaanissa, esimerkiksi heksaanissa, lämpötiloissa -120 - -50, erityisesti noin -100 - -70 °C. Muodostunut litiumsuola saatetaan sitten reagoimaan *in situ* yhdisteen kanssa, jolla on kaava R_2-CH_2-W, jossa R_2:llä on kaavan I mukaisille yhdisteille määritellyt merkitykset ja W:llä on edellä kaavan XVIII mukaisille yhdisteille määritellyt merkitykset, erityisesti bromi, edullisesti lisäämällä R_2-CH_2-W:tä tipoittain orgaanisessa liuottimessa, esimerkiksi eetterissä, kuten tetrahydrofuraanissa, välittömästi edellä mainituissa lämpötiloissa, ja lämmittämällä sitten 0 - 50 °C:seen, edullisesti 20 - 30 °C:seen. Tästä on tuloksena muodostuu kaavan XXIV mukaista isosyanidia



(XXIV),

jossa radikaaleilla on mainitut merkitykset. Seuraavaksi kaavan XXIV mukainen yhdiste hydrolysoidaan, edullisesti vesiliuoksessa, johon lisätään happoa, esimerkiksi vesipohjaista vetyhalogenidihappo, kuten suolahappoa, erityisesti konsentroidussa suolahapossa, lämpötiloissa välillä -20 ja 30 °C, erityisesti välillä noin 0 ja 10 °C, ja saadaan kaavan XIV mukainen yhdiste, jossa radikaalit ovat välittömästi edellä määritellyt ja jossa hiiliatomi, joka sisältää ryhmän $-NH_2$, on edullisesti (R,S)-konfiguraatiossa.

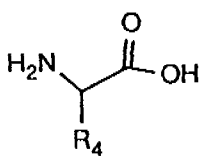
Kaavan IIIa tai IIIa' mukaiset aminoyhdisteet, tai niiden reaktiiviset johdannaiset, ovat tunnettuja tai voidaan valmistaa sinänsä tunnetuilla menetelmillä, esimerkiksi kondensoimalla aminohappoja, joilla on kaava H-B_1-OH, jossa B_1:llä on kaavan III tai III' mukaisille yhdisteille määritellyt merkitykset, tai niiden reaktiivisia johdannaisia, kaavan III tai III' mukaisten aminoyhdisteiden tai niiden

reaktiivisten johdannaisten kanssa, jolloin reaktiiviset johdannaiset ja kondensointiolosuhteet ovat analogiset menetelmässä a) kuvatuille.

Kaavan V tai V' mukaiset yhdisteet valmistetaan esimerkiksi, edellyttäen, että suojaryhmä Pa kaavassa XXI tai XXII ei vastaa suoraan radikaalia R_1, kaavan XXI tai XXII mukaisista aminoyhdisteistä esimerkiksi lisäämällä karboksyylisuojaryhmän, menetelmässä a) kuvatulla tavalla, ja poistamalla suojaryhmän Pa, menetelmässä f) kuvatulla tavalla, kondensoimalla karboksyylihapon kanssa, jolla on kaava R_1-OH, tai sen reaktiivisen johdannaisen kanssa, jossa radikaaleilla on kaavan I mukaisille yhdisteille määritellyt merkitykset, olosuhteissa, jotka ovat analogiset menetelmässä a) määritellyille kondensointiolosuhteille.

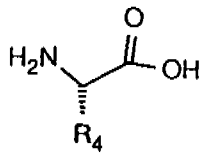
Kaavan XXA tai XXA' mukaiset yhdisteet valmistetaan esimerkiksi, edellyttäen, että suojaryhmä Pa kaavassa XX ei vastaa suoraan radikaalia R_1, kaavan XX mukaisista γ-laktoniyhdisteistä (edullisesti (R,S,S)-isomeeristä), esimerkiksi poistamalla suojaryhmän Pa, menetelmässä f) kuvatulla tavalla, kondensoimalla karboksyylihapon kanssa, jolla on kaava R_1-OH, tai sen reaktiivisen johdannaisen kanssa, jossa radikaaleilla on kaavan I mukaisille yhdisteille määritellyt merkitykset, olosuhteissa, jotka ovat analogiset menetelmässä a) määritellyille kondensointiolosuhteille.

Kaavan VI (tai VI') mukaiset yhdisteet valmistetaan, esimerkiksi kaavan XXV mukaisista vastaavista aminohapoista



(XXV)

(erityisesti kaavan XXV' mukaisista aminohapoista



(XXV')),

jossa radikaaleilla on mainitut merkitykset, tai niiden reaktiivisista happojohdannaisista, ja kaavan VIII mukaisesta aminokomponentista, jossa radikaalit ovat kussakin tapauksessa edellä määritellyt, tai niiden reaktiivisista johdannaisista, kondensoimalla analogisesti menetelmässä a) kuvatulle menetelmälle, ja haluttaessa, analogisia reaktiivisia johdannaisia käyttäen.

Kaavan VII (tai VII') mukaiset yhdisteet voidaan valmistaa, esimerkiksi, kaavan V (tai V') mukaisista yhdisteistä kondensoimalla välittömästi edellä määritellyn kaavan XXV (tai XXV') mukaisen aminohapon kanssa, mikä lisää radikaalin $-NH-CH(R_4)-COOH$. Reaktio suoritetaan analogisesti olosuhteille, jotka kuvataan menetelmässä a) vastaavia vapaita yhdisteitä tai niiden reaktiivisia johdannaisia käyttämällä; tai ne voidaan valmistaa kaavan XXA (tai XXA') mukaisista yhdisteistä kondensoimalla välittömästi edellä määritellyn kaavan XXV (tai XXV') mukaisen aminohapon kanssa, mikä lisää radikaalin $-NH-CH(R_4)-COOH$. Reaktio suoritetaan analogisesti olosuhteille, jotka kuvattiin menetelmässä c) käyttämällä kaavan XXA, erityisesti XXA' mukaisia vastaavia γ-laktoneita.

Kaavan VIII mukainen aminoyhdiste on tunnettu tai valmistetaan sinänsä tunnetuilla menetelmillä.

Kaavan IX (tai IX') mukaiset yhdisteet ovat tunnettuja tai voidaan valmistaa sinänsä tunnetuilla menetelmillä, ja saadaan esimerkiksi kondensoimalla kaavan VII (tai VII') mukaista yhdistettä, jossa radikaaleilla on mainitut merkitykset, ja kaavan XXVI (vaadittaessa hydroksyyli-suojattua) mukaista amiinia

$H_2N-CH_2-(CH_2)_n-OH$ (XXVI),

tai sen reaktiivista johdannaista, jossa n:llä on kaavan I mukaisille yhdisteille annetut merkitykset, reaktio-olosuhteissa, jotka ovat analogiset menetelmässä a) kuvatuille.

Kaavan X tai Xa mukaiset yhdisteet ovat tunnettuja, ovat kaupallisesti saatavia, tai voidaan valmistaa sinänsä tunnetuilla menetelmillä.

Kaavan XVIII ja kaavan R_2-CH_2-W mukaiset yhdisteet ovat tunnettuja tai voidaan valmistaa sinänsä tunnetuilla menetelmillä, tai ne voidaan saada kaupallisesti. Esimerkkinä voidaan mainita kaavan XVIII tai R_2-CH_2-W mukaisen yhdisteen valmistus, jossa W on Br tai I, saattamalla vastaavan prekursorin, jossa W on Cl reagoimaan alkalimetallijodidin tai -bromidin, kuten NaI:n kanssa, esimerkiksi ketoneissa, kuten alempi-alkanonissa, esimerkiksi asetonissa, lämpötiloissa välillä 0 ja 50 °C, erityisesti huoneenlämpötilassa, tai fosforitri- tai -pentajodidin tai -bromidin, kuten PBr_3:n kanssa esimerkiksi hiilivedyissä, esimerkiksi aromaattisessa hiilivedyssä, kuten tolueenissa, edullisissa lämpötiloissa välillä 0 ja 40 °C, esimerkiksi huoneenlämpötilassa. Prekursori (W = Cl) on kaupallisesti saatavissa, on tunnettu tai voidaan valmistaa sinänsä tunnetuilla menetelmillä.

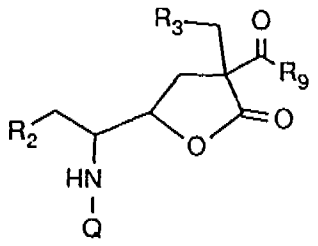
Esimerkiksi prekursori, jossa on läsnä hydroksyyliryhmä Cl:n (= W) sijasta, voidaan muuttaa vastaavaksi klooratuksi yhdisteeksi saattamalla reagoimaan PCl_3:n, PCl_5:n tai, erityisesti, $SOCl_2$:n kanssa, tertiaarisen typpiemäksen, esimerkiksi polyhünigemäksen tai pyridiinin läsnä ollessa, sopivissa liuottimissa, esimerkiksi eetterissä, kuten dietyylieetteri, tai halogenoidussa hiilivedyssä, kuten metyleenikloridi tai kloroformi, edullisissa lämpötiloissa välillä 10 ja 30 °C, edullisesti välillä 0 ja 25 °C. Pre-

kursorit, joissa on läsnä hydroksyyliryhmä W:n sijasta, ovat tunnettuja, voidaan valmistaa sinänsä tunnetuilla menetelmillä, tai ovat kaupallisesti saatavia.

Loput lähtöaineyhdisteet ovat tunnettuja, valmistetaan sinänsä tunnetuilla menetelmillä ja/tai ovat kaupallisesti saatavia.

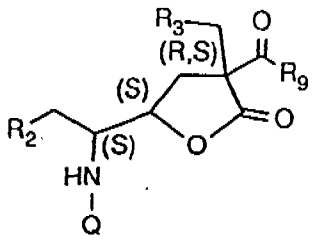
Seuraavat välituotteet, jotka määritellään kohdissa (i) - (iv), ovat erityisesti myös keksinnön eräs edullinen kohde:

(i) kaavan XIXA mukainen yhdiste,



(XIXA)

(erityisesti kaavan XIXA' mukainen yhdiste



(XIXA')),

jossa

Q on vety; aminosuojaryhmä, edullisesti aminosuojaryhmä Pa, joka on määritelty kaavan XI mukaisille yhdisteille (erityisesti yksi menetelmässä a) määritellyistä aminosuojaryhmistä); tai radikaali R_1, joka on kaavan I mukaisille yhdisteille määritelty, erillään niistä radikaaleista, jotka kuuluvat suojaryhmän Pa määritelmään;

R_2:lla on yksi kaavan I mukaisten yhdisteiden määritelmässä määritellyistä merkityksistä;

R_3 on fenyyli, joka on trisubstituoitu radikaaleilla alempi alkyyli, alempi-alkoksi tai halogeeni, tai on alempi-alkyleenidioksifenyyli, erityisesti 2,3,4-tri-alempi-alkoksifenyyli, erikoisesti 2,3,4-trimetoksifenyyli; ja

R_9 on alempi-alkoksi, esimerkiksi metoksi tai etoksi,

tai sen suola, edelltyttäen, että läsnä on suolaa muodostavia ryhmiä.

Erityisen edullinen on kaavan XIXA, erityisesti XIXA' mukainen yhdiste, jossa Q on vety tai, erityisesti, on 1-fenyyli-alempi-alkoksikarbonyyli, erityisesti bentsyylioksikarbonyyli, 1-fenyyli-alempi alkyyli, erityisesti bentsyyli, tai on etupäässä alempi-alkoksikarbonyyli, kuten tert-butoksikarbonyyli;

R_2 on sykloheksyyli tai, erityisesti, fenyyli;

R_3 on 2,3,4-tri-alempi-alkoksifenyyli, erityisesti 2,3,4-trimetoksifenyyli; ja

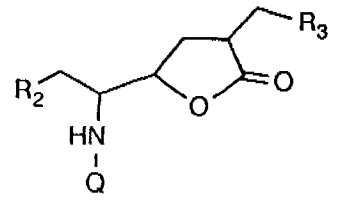
R_9 on alempi-alkoksi, kuten metoksi tai etoksi;

tai sen suola, edellyttäen, että läsnä on suolaa muodostavia ryhmiä.

Kaavan XIXA tai XIXA' mukaiset yhdisteet vastaavat joko suoraan kaavan XIX mukaisia yhdisteitä, kun Q on aminosuojaryhmä Pa, tai ne voidaan valmistaa näistä yhdisteistä suojaryhmänirrotuksella analogisesti menetelmässä f) kuvatuille olosuhteille (jolloin saadaan kaavan XIXA tai XIXA' mukaisia yhdisteitä, jossa Q = H) ja, haluttaessa, lisäämällä radikaalin R_1 kaavan II mukaisella hapolla, joka ku-

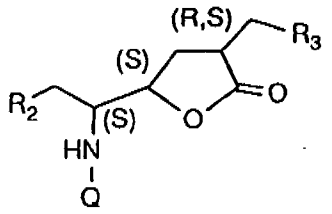
vataan edellä menetelmässä a), menetelmässä a) määritellyille olosuhteille analogisesti.

(ii) Kaavan XXA mukainen yhdiste



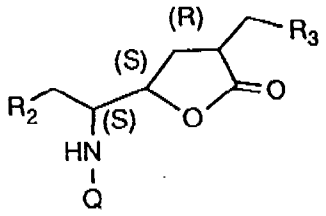
(XXA)

(erityisesti kaavan XXA' mukainen yhdiste



(XXA'),

erikoisesti kaavan XXA" mukainen yhdiste



(XXA''))

jossa

Q on vety; aminosuojaryhmä, edullisesti aminosuojaryhmä Pa, joka on määritelty kaavan XI mukaisille yhdisteille (erityisesti yksi menetelmässä a) määritellyistä aminosuojaryhmistä); tai radikaali R_1, joka on kaavan I mukaisille yhdisteille määritelty, erillään niistä radikaaleista, jotka kuuluvat suojaryhmän Pa määritelmään;

R_2:lla on yksi kaavan I mukaisten yhdisteiden määritelmässä määritellyistä tarkoituksista; ja

R_3 on fenyyli, joka on trisubstituoitu radikaaleilla, joita ovat alempi alkyyli, alempi-alkoksi ja halogeeni, tai on alempi-alkyleenidioksifenyyli, erityisesti 2,3,4-tri-alempi-alkoksifenyyli, erikoisesti 2,3,4-trimetoksifenyyli;

tai sen suola, edellyttäen, että läsnä on suolaa muodostavia ryhmiä.

Erityisen edullinen on kaavan XXA, erityisesti XXA', erikoisesti XXA" mukainen yhdiste, jossa Q on vety tai, erityisesti, on 1-fenyyli-alempi-alkoksikarbonyyli, erityisesti bentsyylioksikarbonyyli, 1-fenyyli-alempi alkyyli, erityisesti bentsyyli, tai on, etupäässä, alempi-alkoksikarbonyyli, kuten tert-butoksikarbonyyli;

R_2 on sykloheksyyli tai, erityisesti, fenyyli; ja

R_3 on 2,3,4-tri-alempi-alkoksifenyyli, erityisesti on 2,3,4-trimetoksifenyyli;

tai sen suola, edellyttäen, että läsnä on suolaa muodostavia ryhmiä.

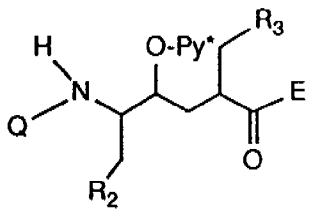
Edullinen on kaavan XXA" mukainen yhdiste, jolla on nimi 5(S)-[1(S)-(Boc-amino)-2-sykloheksyylietyyli]-3(R)-(2,3,4-trimetoksifenyylimetyyli)-dihydrofuran-2-(3H)-oni.

Aivan erityisen edullinen on kaavan XXA" mukainen yhdiste, jolla on nimi 5(S)-[1(S)-(Boc-amino)-2-fenyylietyyli]-3(R)-(2,3,4-trimetoksifenyylimetyyli)-dihydrofuran-2-(3H)-oni.

Kaavan XXA tai XXA' tai XXA" mukaiset yhdisteet voidaan valmistaa kaavan XIX tai XIXA mukaisista yhdisteistä analogisesti tavalle, joka kuvataan edellä kaavan XIX mukaisten yhdisteiden muuttamiselle kaavan XX mukaisiksi; tai ne vastaavat suoraan kaavan XX mukaisia yhdisteitä, kun Q on aminosuojaryhmä Pa, tai ne voidaan valmistaa suoraan näistä

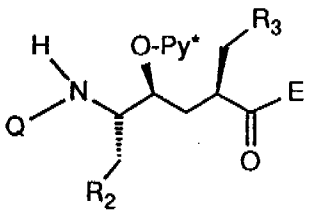
yhdisteistä suojaryhmänpoistolla analogisesti menetelmässä f) määritellyille olosuhteille (jolloin saadaan kaavan XIXA tai XIXA' mukaisia yhdisteitä, jossa Q = H) ja, haluttaessa, lisätään radikaali R_1 edellä menetelmässä a) määritellyn kaavan II mukaisella hapolla, menetelmässä a) määritellyille olosuhteille analogisesti.

iii) Kaavan VA mukainen yhdiste



(VA)

(erityisesti kaavan VA' mukainen yhdiste



(VA'))

jossa

Q on vety; aminosuojaryhmä, edullisesti aminosuojaryhmä Pa, joka on määritelty kaavan XI mukaisille yhdisteille (erityisesti yksi menetelässä a) määritellyistä aminosuojaryhmistä); tai radikaali R_1, joka on määritelty kaavan II mukaisille yhdisteille erillään niistä radikaaleista, jotka kuuluvat suojaryhmän Pa määritelmään;

R_2:lla on joku kaavan I mukaisten yhdisteiden määritelmässä määritellyistä merkityksistä;

R_3 on fenyyli, joka on trisubstituoitu radikaaleilla, joita ovat alempi alkyyli, alempi-alkoksi ja halogeeni, tai on alempi-alkyleenidioksifenyyli, erityisesti on 2,3,4-tri-

alempi-alkoksifenyyli, erikoisesti 2,3,4-trimetoksifenyyli;

Py* on vety tai hydroksyylisuojaryhmä, edullisesti joku menetelmässä a) määritellyistä suojaryhmistä, erityisesti tri-alempi-alkyylisilyyli, kuten tert-butyylidimetyylisilyyli; ja

E on hydroksi tai karboksyylisuojaryhmä, edullisesti menetelmässä a) määritelty, erityisesti alempi-alkoksi, kuten metoksi, etoksi tai tert-butoksi, tai tri-alempi-alkyylisilyylioksi, erityisesti tert-butyylidimetyylisilyylioksi, tai radikaali -(C=O)-E on karboksyyliryhmän reaktiivinen johdannainen, erityisesti on karboksyyliryhmä aktivoidun esterin, reaktiivisen anhydridin, tai muuten reaktiivisen syklisen amidin muodossa, edullisesti analogisesti menetelmässä a) kaavan II mukaisten yhdisteiden reaktiivisille johdannaisille kuvatulla tavalla;

tai sen suola, edellyttäen, että läsnä on suolaa muodostavia ryhmiä.

Erityisen edullinen on kaavan XXA, erityisesti XXA', erikoisesti XXA" mukainen yhdiste, jossa
Q on vety tai, erityisesti, on 1-fenyyli-alempi-alkoksikarbonyyli, erityisesti bentsyylioksikarbonyyli, 1-fenyyli-alempi-alkyyli, erityisesti bentsyyli, tai, etupäässä, on alempi-alkoksikarbonyyli, kuten tert-butoksikarbonyyli;

R_2 on sykloheksyyli tai, erityisesti, fenyyli;

R_3 on 2,3,4-tri-alempi-alkoksifenyyli, erityisesti 2,3,4-trimetoksifenyyli;

Py* on vety tai hydroksyylisuojaryhmä, edullisesti joku menetelmässä a) määritellyistä suojaryhmistä, erityisesti tri-alempi-alkyylisilyyli, kuten tert-butyylidimetyylisilyyli; ja

E on hydroksyyli tai karboksyylisuojaryhmä, edullisesti menetelmässä a) määritelty, erityisesti alempi-alkoksi, kuten metoksi, etoksi tai tert-butoksi, tai tri-alempi-alkyylisilyylioksi, erityisesti tert-butyylidimetyylisilyylioksi, tai radikaali -(C=O)-E on karboksyyliryhmän reaktiivinen johdannainen, on erityisesti karboksyyliryhmä aktivoidun esterin, reaktiivisen anhydridin tai muuten reaktiivisen syklisen amidin muodossa, edullisesti analogisesti menetelmässä a) kaavan II mukaisten yhdisteiden reaktiivisille johdannaisille kuvatulla tavalla; erityisesti on hydroksyyli ja alempi-alkoksi;

tai sen suola, edellyttäen, että läsnä on suolaa muodostavia ryhmiä.

Edullinen on kaavan VA' mukainen yhdiste, jolla on nimi 5(S)-(Boc-amino)-4(S)-hydroksi-6-sykloheksyyli-2(R)-[(2,-3,4-trimetoksifenyyli)metyyli]-heksaanihappo, tai sen suola.

Edullinen on myös kaavan VA' mukainen yhdiste, jolla on nimi 5(S)-(Boc-amino)-4(S)-(tert-butyylidimetyylisilyylioksi)-6-sykloheksyyli-2(R)-[2,3,4-trimetoksifenyyli)metyyli]heksaanihappo tai sen suola.

Aivan erityisen edullinen on kaavan VA' mukainen yhdiste, jolla on nimi 5(S)-(Boc-amino)-4(S)-hydroksi-6-fenyyli-2(R)-[(2,3,4-trimetoksifenyyli)metyyli]heksaanihappo, tai sen suola (erityisesti alkalimetallisuola, esimerkiksi natriumsuola, joka voidaan kiteyttää hyvin tehokkaasti).

Samoin on aivan erityisen edullinen kaavan VA' mukainen yhdiste, jolla on nimi 5(S)-(Boc-amino)-4(S)-(tert-butyylidimetyylisilyylioksi)-6-fenyyli-2(R)-[(2,3,4-trimetoksifenyyli)metyyli]heksaanihappo, tai sen suola.

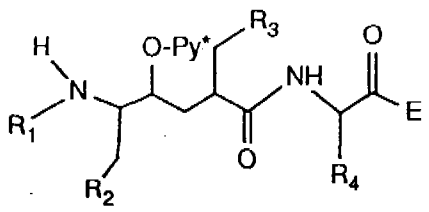
Kaavojen VA ja VA' mukaiset yhdisteet vastaavat kaavan V ja

V' mukaisia yhdisteitä, vastaavasti, joiden valmistus on jo kuvattu edellä.

Kaavan VA ja VA' ja mukaiset yhdisteet vastaavat suoraan kaavan V ja V' mukaisia yhdisteitä, vastaavasti, kun Q aminosuojaryhmä Pa, Py* on vety ja E on hydroksyyli; loput kaavan VA ja VA' mukaiset vastaavat yhdisteet, jossa ainakin toisella radikaaleista Py* ja E on kaavan VA ja VA' mukaisten yhdisteiden määritelmässä määritellyistä merkityksistä, joka on edellä mainituista poikkeava, voidaan saada näistä viimeksi mainituista yhdisteistä lisäämällä suojaryhmän, esimerkiksi tavalla, joka kuvattiin Py:n lisäämisen yhdisteydessä kaavan XXI mukaisissa yhdisteissä kaavan XXII mukaisten yhdisteiden valmistamiseksi, tai menetelmässä a) kuvatulla tavalla, tai valmistamalla reaktiivisia karboksyylihappojohdannaisia menetelmässä a) kuvatulla tavalla. Vastaavia yhdisteitä, joissa Q:lla on muu merkitys kuin Pa, voidaan valmistaa näistä kaavan VA ja VA', tai kaavan V ja V' mukaisista yhdisteistä, suojaryhmänpoistolla analogisesti menetelmässä f) määritetyille olosuhteille (jolloin saadaan kaavan VA ja VA' mukaisia yhdisteitä, jossa Q = H) ja, haluttaessa, lisätään radikaali R_1 edellä menetelmälle a) kuvatun kaavan II mukaisella hapolla, olosuhteissa, jotka ovat analogiset menetelmässä a) määritellyille.

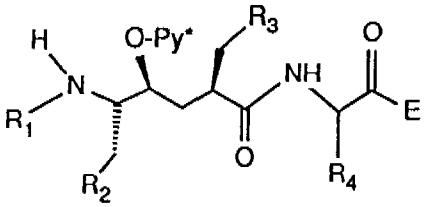
Ja/tai:

(iv) Kaavan VIIA mukainen yhdiste



(VIIA)

(erityisesti kaavan VIIA' mukainen yhdiste)



(VIIA')),

jossa

R_1:llä on kaavan I mukaisille yhdisteille määritellyt merkitykset,

R_2:lla on joku kaavan I mukaisten yhdisteiden määritelmän yhteydessä määritellyistä merkityksistä;

R_3 on fenyyli, joka on trisubstituoitu radikaaleilla, joita ovat alempi alkyyli, alempi-alkoksi ja halogeeni, tai on alempi-alkyleenidioksifenyyli, erityisesti on 2,3,4-tri-alempi-alkoksifenyyli, erikoisesti 2,3,4-trimetoksifenyyli;

Py* on vety tai hydroksyylisuojaryhmä, edullisesti joku menetelmässä a) määritellyistä, erityisesti tri-alempi-alkyylisilyyli, kuten tert-butyylidimetyylisilyyli; ja

E on hydroksyyli tai karboksyylisuojaryhmä, edullisesti menetelmässä a) määritelty, erityisesti alempi-alkoksi, kuten metoksi, etoksi tai tert-butoksi, tai tri-alempi-alkyylisilyylioksi, erityisesti tert-butyylidimetyylisilyylioksi, tai radikaali -(C=O)-E on karboksyyliryhmän reaktiivinen johdannainen, erityisesti on karboksyyliryhmä aktivoidun esterin, reaktiivisen anhydridin tai muuten reaktiivisen syklisen amidin muodossa, edullisesti menetelmässä a) kaavan II mukaisten yhdisteiden reaktiivisille johdannaisille kuvatulle tavalle analogisesti;

tai sen suola, edellyttäen, että läsnä on suolaa muodostavia ryhmiä.

Erityisen edullinen on kaavan VIIA, erityisesti VIIA' kaavan mukainen yhdiste, jossa

R_1 on fenyyli-alempi-alkoksikarbonyyli, erityisesti on

alempi-alkoksikarbonyyli, kuten tert-butoksikarbonyyli;

R_2 on sykloheksyyli tai, erityisesti, fenyyli;

R_3 on 2,3,4-tri-alempi-alkoksifenyyli, erityisesti 2,3,4-trimetoksifenyyli;

Py* on vety tai hydroksyylisuojaryhmä, edullisesti joku menetelmässä a) määritellyistä, erityisesti tri-alempi-alkyylisilyyli, kuten tert-butyylidimetyylisilyyli; ja

E on hydroksyyli tai karboksyylisuojaryhmä, edullisesti menetelmässä a) määritelty, erityisesti alempi-alkoksi, kuten metoksi, etoksi tai tert-butoksi, tai tri-alempi-alkyylisilyylioksi, erityisesti tert-butyylidimetyylisilyylioksi, tai radikaali -(C=O)-E on karboksyyliryhmän reaktiivinen johdannainen, erityisesti on karboksyyliryhmä aktivoidun esterin, reaktiivisen anhydridin tai muuten reaktiivisen syklisen amidin muodossa, edullisesti analogisesti menetelmässä a) kaavan II mukaisten yhdisteiden reaktiivisille johdannaisille kuvatulla tavalla; erityisesti on hydroksyyli ja alempi-alkoksi;

tai sen suola, edellyttäen, että läsnä on suolaa muodostavia ryhmiä.

Erityisen edullinen on kaavan VIIA' mukainen yhdiste, joka on nimeltään 5(S)-(Boc-amino)-4(S)-(tert-butyylidimetyylisilyylioksi)-6-fenyyli-2(R)-[(2,3,4-trimetoksifenyyli)metyyli]heksaanihappo, tai sen suola.

Kaavan VIIA ja VIIA' mukaiset yhdisteet joko vastaavat kaavan VII ja VII' mukaisia yhdisteitä, vastaavasti, ja voidaan valmistaa edellä kuvatulla tavalla (kun Py* = H, ja E = OH), tai voidaan valmistaa (kun Py*:lla on joku muu edellä mainituista merkityksistä kuin vety ja/tai E:llä on joku muu mainituista merkityksistä kuin hydroksyyli) kaavan

VII ja VII' mukaisista yhdisteistä, vastaavasti, suojaryhmän lisäämällä, esimerkiksi tavalla, joka kuvataan Py:n lisäämisen yhteydessä kaavan XXI mukaisissa yhdisteissä kaavan XXII mukaisten yhdisteiden valmistamiseksi, tai menetelmässä a) kuvatulla tavalla, tai valmistamalla reaktiivisia karboksyylihappojohdannaisia, menetelmässä a) kuvatulla tavalla.

Seuraava pätee yleisesti kaikille edellä ja alla mainituille menetelmille:

Kaavan I mukaisten yhdisteiden ja niiden suolojen ja vapaassa muodossa olevien lähtöaineiden (lähtöaineyhdisteiden ja välituotteiden) ja niiden suolojen välisen läheisen suhteen seurauksena vapaat yhdisteet ja/tai niiden suolat on ymmärrettävä, sekä edellä että alla tarkoittamassa, analogisesti ja tarkoituksenmukaisesti, mikäli sopivaa, vastaavia suoloja ja/tai samoin vapaita yhdisteitä.

Kaikki edellä luetellut menetelmävaiheet voidaan suorittaa sinänsä tunnetuissa reaktio-olosuhteissa, edullisesti erityisesti määritellyissä, ilman liuottimia tai laimennusaineita, tai tavanomaisesti liuottimien tai laimennusaineiden läsnä ollessa, edullisesti niiden, jotka ovat käytettyjä reagensseja kohtaan inerttejä ja liuottavat ne, ilman katalysaattoreita, kondensointireagensseja tai neutralointiaineita tai katalysaattorien, kondensointireagenssien tai neutralointiaineiden läsnä ollessa, esimerkiksi ioninvaihtimien, kuten kationinvaihtimien, esimerkiksi H^+-muodossa, kussakin tapauksessa reaktion ja/tai reagenssin luonteesta riippuen, alennetussa, normaalissa tai korotetussa lämpötilassa, esimerkiksi lämpötila-alueella noin -100 - 190 °C, edullisesti noin -80 - 150 °C, esimerkiksi -80 - -60 °C, huoneenlämpötilassa, -20 - 40 °C:ssa, tai refluksointilämpötilassa, ilmakehän paineessa tai suljetussa astiassa, haluttaessa alennetussa tai korotetussa paineessa, inertissä ilmakehässä, esimerkiksi argon- tai typpi-ilmakehässä,

ja/tai valon pois sulkien.

Haluttaessa, isomeeriseokset, jotka syntyvät missä hyvänsä reaktiovaiheista, voidaan resolvoida yksittäisiksi isomeereiksi, esimerkiksi diastereomeereiksi tai enantiomeereiksi, tai mielivaltaisiksi isomeerien seoksiksi, esimerkiksi rasemaateiksi tai diastereomeeriseoksiksi, esimerkiksi analogisesti menetelmille, jotka kuvataan "lisämenetelmätoimenpiteissä".

Määrätyissä tapauksissa, esimerkiksi hydrogenointien tapauksessa, on mahdollista saavuttaa stereoselektiivisiä reaktioita siten, esimerkiksi, helpottaen yksittäisten isomeerien erotusta.

Liuottimiin, jotka ovat sopivia kuhunkin vastaavaan reaktioon, luetaan esimerkiksi vesi, esterit, kuten alempi-alkyyli-alempi-alkanoaatit, esimerkiksi dietyyliasetaatti, eetterit, kuten alifaattinen eetterit, esimerkiksi dietyylieetteri tai 1,2-dimetoksietaani, tai sykliset eetterit, esimerkiksi tetrahydrofuraani, nestemäiset aromaattiset hiilivedyt, kuten bentseeni, tolueeni tai o-, m- tai p-ksyleeni, nestemäiset asykliset hiilivedyt, kuten heksaani tai heptaani, alkoholit, kuten metanoli, etanoli tai 1- tai 2-propanoli, nitriilit, kuten asetonitriili, halogenoidut hiilivedyt, kuten metyleenikloridi tai kloroformi, happoamidit, kuten dimetyyliformamidi tai dimetyyliasetamidi, ketonit, kuten alempi-alkanonit, esimerkiksi asetoni, heterosykliset liuottimet, esimerkiksi emäkset, kuten heterosykliset typpiemäkset, esimerkiksi pyridiini, tai 1,3-dimetyyli-3,4,5,6-tetrahydro-2(1H)-pyrimidoni (DMPU), karboksyylihapot, kuten etikkahappo tai muurahaishappo, karboksyylihappoanhydridit, kuten alempi-alkaanihappoanhydridit, esimerkiksi etikkahappoanhydridi, sykliset, suoraketjuiset tai haaroittuneet hiilivedyt, kuten sykloheksaani, heksaani tai isopentaani, tai näiden liuottimien seokset, esimerkiksi vesipohjaiset liuokset, ellei

menetelmien kuvauksessa muuta mainita. Tämän luonteisia liuotinseoksia voidaan myös käyttää jatkokäsittelyssä, esimerkiksi kromatografoimalla tai jakamalla.

Yhdisteet, mukaan lukien niiden suolat, voidaan myös saada hydraattien muodossa, tai niiden kiteet voivat esimerkiksi sisältää kiteytykseen käytettyä liuotinta.

Jatkokäsittely reaktioiden jälkeen suoritetaan sinänsä tunnetuilla menetelmillä, edullisesti esimerkeissä kuvatuille menetelmille analogisesti.

Keksintö koskee myös niitä menetelmän suoritusmuotoja, joissa yhdistettä, joka on saatavissa välituotteessa mielivaltaisessa menetelmävaiheessa, käytetään lähtöaineena, ja suoritetaan sitten puuttuvat menetelmävaiheet, tai joissa käytetään lähtöaineyhdistettä, joka muodostuu reaktio-olosuhteissa tai on johdannaisen muodossa, esimerkiksi suojatussa muodossa tai suolana, tai yhdiste, joka voidaan saada uuden menetelmän mukaisesti, muodostuu menetelmäolosuhteissa ja alistetaan edelleenkäsittelylle *in situ*. Keksinnön mukaisessa menetelmässä käytetään edullisesti niitä lähtöaineyhdisteitä, jotka johtavat yhdisteisiin, jotka kuvattiin alussa erityisen edullisiksi. Etupäässä ovat edullisia reaktio-olosuhteet, jotka ovat analogisia esimerkeissä määritellyille.

Vaadittaessa tai haluttaessa voidaan kaikissa vaiheissa käyttää suojattuja lähtöaineyhdisteitä, ja suojaryhmät voidaan poistaa sopivissa reaktiovaiheissa.

Suojaryhmät, niiden lisääminen ja niiden vapauttaminen kuvataan menetelmissä a) ja f).

Esimerkit:

Seuraavat esimerkit kuvaavat keksintöä sen suoja-alaa

millään lailla rajoittamatta.

Lämpötilat esitetään yksikössä °C.
Ellei lämpötilaa esitetä, alla mainitut reaktiot tapahtuvat suunnilleen huoneenlämpötilassa. R_f-arvot, jotka ilmaisevat erityisen aineen kulkeman etäisyyden suhteessa eluenttirintaman kulkemaan etäisyyteen, määritetään ohutlevykromatografia(TLC) -silikageeliohutkerroslevyillä (Merck, Darmstadt, SLT) seuraavia liuotinjärjestelmiä käyttämällä:

TLC-eluenttijärjestelmät:

TLC eluenttijärjestelmät:

A	Etyyliasetaatti	9:1
B	Metyleenikloridi/metanoli	9:1
C	Heksaani/etyyliasetaatti	1:1
D	Heksaani/etyyliasetaatti	2:1
E	Heksaani/etyyliasetaatti	3:1
F	Metyleenikloridi/metanoli	12:1
G	Heksaani/etyyliasetaatti	6:1
H	Metyleenikloridi/THF	2:1
I	Metyleenikloridi/eetteri	25:1
J	Heksaani/etyyliasetaatti	1:2
K	Kloroformi/metanoli/vesi/-etikkahappo	85:13:1,5:0,5
L	Metyleenikloridi/metanoli	10:1
M	Metyleenikloridi/metanoli	15:1
N	Etyyliasetaatti/metanoli	9:1
O	Metyleenikloridi/etanoli	10:1
P	Metyleenikloridi/etyyliasetaatti/etanoli	30:20:1
Q	Tolueeni/etyyliasetaatti	9:1
R	Metyleenikloridi/THF	4:1

Lyhenne "R_f(A)" tarkoittaa, esimerkiksi, että R_f-arvo määritettiin liuotinjärjestelmässä A. Liuotimien määrien suhde toisiinsa ilmoitetaan aina tilavuusosina (tilavuus/tila-

vuus). Määräsuhteet esitetään tilavuusosina myös pylväskromatografian liikkuvia liuotinjärjestelmiä määriteltäessä.

Edellä mainittua TLC-eluenttien kirjainkoodiosaa käytetään myös esimerkiksi pylväskromatografian eluenttien ilmaisuun.

Keskinkertaisen paineen kromatografia:
Faasi: LiChroprep® Si 60 (Merck, Dietikon/Sveitsi); paine: 1 - 1,5 MPa (10 - 15 bar).

HPLC-gradientit:

I 20 % → 100 % a):sta b):hen 35 min aikana
II 20 % → 100 % a):sta b):hen 20 min aikana
III 5 % → 40 % a):sta b):hen 15 min aikana

Eluentti a): asetonitriili + 0,05 % TFA; eluentti b): vesi + 0,05 % TFA. Kolonni (250 x 4,6 mm) täytetty C_{18}-Nucleosil® -käänteisfaasimateriaalilla (silikageeli, keskimääräinen partikkelikoko 5 µm, joka on derivatisoitu kovalenttisesti oktadekyylisilaaneilla, Macherey & Nagel, Düren, SLT). Ilmaisu UV-absorptiolla 215 nm:llä. Viipymäajat (t_{Ret}) esitetään yksikössä minuuttia. Virtausnopeus 1 ml/min.

Massaspektroskooppiset mittaukset saadaan tavallisesti fast-atom bombardment -menetelmällä. Ellei muuta mainita, massa-arvot liittyvät protonoituun molekyyli-ioniin $(M+H)^+$.

IR-spektriarvot esitetään yksikössä cm^{-1}, esittäen asiaankuuluvan liuottimen suluissa. Lyhenteitä, jotka ovat peptidikemiassa tavallisia, käytetään luonnollisten α-aminohappojen kahdenarvoisten radikaalien merkitsemiseen. Edellyttäen että konfiguraatio α-hiiliatomissa on tunnettu, se ilmaistaan etuliitteellä (L)- tai (D)-. Glysyyli, joka on liittynyt molekyylin loppuosaan aminotypen ja karboksyylihiilen kautta, ilmaistaan -[(sykloheksyyli)Gly]-, kun se on

substituoitu α-hiiliatomiin sykloheksyyliradikaalilla, ja -[(fenyyli)Gly]-, kun se on substituoitu α-hiiliatomiin fenyyliradikaalilla.

Lyhenteet:

abs.	absoluuttinen (ilmaisee, että liuotin on vedetöntä)
anal. calc.	alkuaineanalyysille laskettu arvo (teoreettinen arvo)
anal. found	alkuaineanalyysille saatu arvo (todellinen arvo)
atm	ilmakehä (1 atm vastaa 101,325 kPa)
Boc	tert-butoksikarbonyyli
BOP	bentsotriatsol-1-yylioksitris(dimetyyliamino)fosfoniumheksafluorifosfaatti
TLC	ohutlevykromatografia
DCC	disykloheksyylikarbodi-imidi
dimetoksietaani	1,2-dimetoksietaani
DIPE	di-isopropyylieetteri
DMF	dimetyyliformamidi
DMPU	1,3-dimetyyli-3,4,5,6-tetrahydro-2(1H)-pyrimidinoni
EDC	N-etyyli-N'-(3-dimetyyliaminopropyyli)-karbodi-imidihydrokloridi
eetteri	dietyylieetteri
sat.	kylläinen
h	tunti(a)
HBTU	O-bentsotriatsol-1-yyli-N,N,N',N'-tetrametyyliuroniumheksafluorifosfaatti
HOBT	1-hydroksibentsotriatsoli
HV	suurtyhjö
min	minuutti(a)
MS	massaspektroskopia
natriumsulfaatti	tarkoittaa dinatriumsulfaattia (Na_2SO_4)

NMM	N-metyylimorfoliini
RT	huoneenlämpötila
RE	kiertohaihdutin
suolaliuos	kylläinen natriumkloridiliuos
THF	tetrahydrofuraani
TBAF	tetrabutyyliammoniumfluoriditrihydraatti
Z	bentsyylioksikarbonyyli

Esimerkki 1: 5(S)-(Boc-amino)-4(S)-hydroksi-6-(p-bentsyylioksifenyyli)-2(R)-[(p-bentsyylioksifenyyli)metyyli]heksanoyyli-(L)-Val-N-(2-metoksietyyli)amidi

95 mg (0,301 mmol) TBAF:ää lisätään, N_2-ilmakehässä, liuokseen, jossa on 135 mg (0,151 mmol) 5(S)-(Boc-amino)-4(S)-(tert-butyylidimetyylisilyylioksi)-6-(p-bentsyylioksifenyyli)-2(R)-[(p-bentsyylioksifenyyli)metyyli]-heksanoyyli-(L)-Val-N-(2-metoksietyyli)amidia 1,3 ml:ssa DMF:ää, ja seosta sekoitetaan huoneenlämpötilassa 16 tunnin ajan. Reaktioseos kaadetaan veteen, ja tämä seos uutetaan 4 erällä etyyliasetaattia. Orgaaniset faasit pestään kylläisellä $NaHCO_3$-liuoksella, vedellä ja suolaliuoksella, kuivataan Na_2SO_4:llä ja haihdutetaan. Uutetaan kahdesti DIPE:n kanssa, jolloin saadaan puhdas otsikkoyhdiste: t_{Ret}(II) = 18,5 min; FAB-MS $(M+H)^+$ = 782.

Lähtöaine valmistetaan seuraavasti:

1a) Z-(L)-Val-N-(2-metoksietyyli)amidi

19,8 g (78,8 mmol) Z-(L)-valiinia 720 ml:ssa 0,25 M NMM/-CH_3CN:ää käsitellään, suojakaasun alla, 7,5 ml:lla (87,3 mmol) 2-metoksi-etyyliamiinia (Fluka; Buchs/Sveitsi). 32,3 g (85,2 mmol) HBTU:ta lisätään paksuun, valkoiseen suspensioon, ja tätä seosta sekoitetaan läpikotaisin huoneenlämpötilassa 24 tunnin ajan. Reaktioseos haihdutetaan suurtyhjössä ja jäännös otetaan etyyliasetaattiin; liuos uutetaan vedellä, 2 x 10-%:isella sitruunahappoliuoksella, vedellä, 2 x kylläisellä $NaHCO_3$-liuoksella ja suolaliuoksella. Vesifaasit uutetaan vielä kahdesti etyyliasetaatilla, ja orgaaniset faasit kuivataan Na_2SO_4:llä ja haihdute-

taan. Kiteytetään etyyliasetaatti/heksaanista 1:1, jolloin saadaan otsikkoyhdiste: TLC R_f(G) = 0,6; t_{Ret}(II) = 11,5 min.

1b) H-(L)-Val-N-(2-metoksietyyli)amidi

Hydrogenoidaan 22,8 g (74 mmol) Z-(L)-Val-N-(2-metoksietyyli)amidia 496 ml:ssa metanolia, huoneenlämpötilassa alhaisessa paineessa ja kun läsnä on 2,3 g 10-%:ista Pd/C:tä, suodatetaan katalysaattori pois, suodos haihdutetaan ja kromatografoidaan pylväällä (SiO_2, metyleenikloridi käyttämällä 2,5 → 5 → 7,5 → 10 % metanolia), jolloin saadaan puhdas otsikkoyhdiste öljynä: TLC R_f(B) = 0,3; FAB-MS $(M+H)^+$ = 175; ^{1}H-NMR (360 MHz, CD_3OD): 0,90 ja 0,95 (2d, J=7 Hz, $(H_3C)_2C$), 1,9 (m, HC-Me_2), 3,05 (d, J=6 Hz, HC_α), 3,32 (s, H_3C-O), 3,37 (m, H_2C), 3,44 (m, H_2C).

1c) 5(S)-(Boc-amino)-4(S)-(tert-butyylidimetyylisilyylioksi)-6-(p-bentsyylioksifenyyli)-2(R)-[(P-bentsyylioksifenyyli)metyyli]-heksanoyyli-(L)-Val-N-(2-metoksietyyli)amidi

N_2-ilmakehässä, 100 mg (0,135 mmol) 5(S)-(Boc-amino)-4(S)-(tert-butyyli-dimetyylisilyylioksi)-6-(p-bentsyylioksifenyyli)-2(R)-[(p-bentsyylioksifenyyli)metyyli]heksaanihappoa [valmistus, katso esimerkkiä 1j)] ja 26 mg (0,148 mmol) H-(L)-Val-N-(2-metoksietyyli)amidia liuotetaan 1,2 ml:aan 0,25 M NMM/CH_3CN:ää, ja liuos käsitellään 56,3 mg:lla (0,148 mmol) HBTU:ta. 18 tunnin jälkeen huoneenlämpötilassa, reaktioseos haihdutetaan, ja jäännös otetaan etyyliasetaattiin; liuos pestään perusteellisesti vedellä, 2 erällä 10-%:ista sitruunahappoliuosta, vedellä, 2 erällä kylläistä $NaHCO_3$-liuosta ja, lopuksi, suolaliuoksella. Epäorgaaniset faasit uutetaan vielä kahdesti etyyliasetaatilla ja orgaaniset faasit kuivataan Na_2SO_4:llä ja haihdutetaan, jolloin saadaan otsikkoyhdistettä: t_{Ret}(II) = 24,4 min; FAB-MS $(M+H)^+$ = 896.

1d) p-bentsyylioksibentsyylijodidi

Liuosta, jossa on 1,0 g (4,3 mmol) 4-bentsyylioksibentsyy-

likloridia (Fluka; Buchs/Sveitsi) 8 ml:ssa asetonia, sekoitetaan huoneenlämpötilassa 3,13 g:n (20,9 mmol) kanssa natriumjodidia. 90 min kuluttua reaktioseoksen kaasukromatogrammi osoittaa, että reaktio on edennyt loppuun; siksi reaktioseos kaadetaan eetteriin, ja tämä seos pestään 10-%:isella natriumtiosulfaattiliuoksella ja suolaliuoksella. Orgaaninen faasi kuivataan Na_2SO_4:llä, ja haihdutetaan, jolloin saadaan otsikkoyhdiste: ^{1}H-NMR (200 MHz, $CDCl_3$: 4,48 (s, 2 H), 5,06 (s, 2 H), 6,85 - 6,95 (m, 2 H), 7,25 - 7,48 (m, 7 H).

1e) (S)-N-Boc-(p-bentsyylioksifenyylialaninoli)

37,1 g (100 mmol) Boc-(L)-(p-bentsyylioksi)fenyylialaniinia (Bachem; Bubendorf/Sveitsi) 116 ml:ssa THF:ää käsitellään, lämpötilassa -5 - -10 °C, 15,33 ml:lla (110 mmol) trietyyliamiinia, ja tähän seokseen lisätään liuos, jossa on 14,36 ml (110 mmol) isobutyyliklooriformiaattia 70 ml:ssa THF:ää. Kun on sekoitettu 0,5 tunnin ajan huoneenlämpötilassa, muodostunut sakka suodatetaan pois imupullolla. Suodatettu reaktioseos lisätään tipoittain 7,57 g:aan (200 mmol) natriumborohydridiä ja 44 ml:aan H_2O:ta (noin 10 - 15 °C), ja tätä seosta sekoitetaan läpikotaisin huoneenlämpötilassa 3,5 tunnin ajan. Seoksen pH säädetään 10-%:ista sitruunahappoliuosta lisäämällä happamaan pH-arvoon 2, ja seos haihdutetaan osaksi kiertohaihduttimella. Jäännös uutetaan 3 erällä etyyliasetaattia, ja orgaaniset faasit pestään 2 x 2 N NaOH:lla, suolaliuoksella, kylläisellä $NaHCO_3$-liuoksella ja suolaliuoksella, kuivataan Na_2SO_4:llä ja haihdutetaan; raakatuote käsitellään (digest) heksaanilla, jolloin saadaan otsikkoyhdistettä: TLC R_f(C) = 0,50; FAB-MS $(M+H)^+$ = 358.

1f) (S)-N-Boc-(p-bentsyylioksifenyylialaninaali)

4,76 g (37,5 mmol) oksalyylikloridia 33,6 ml:ssa metyleenikloridia käsitellään tipoittain, -60 °C:ssa ja N_2-ilmakehässä, liuoksella, jossa on 3,5 ml (49 mmol) DMSO:ta 60 ml:ssa metyleenikloridia. Kun seosta on sekoitettu 15 min

ajan, lisätään 8,94 g (25 mmol) (S)-N-Boc-(p-bentsyylioksifenyylialaninolia) 150 ml:ssa metyleenikloridia, ja tätä seosta sekoitetaan seuraavaksi noin 25 min ajan. Sitten lisätään 14 ml (100 mmol) trietyyliamiinia 30 ml:ssa metyleenikloridia, ja seosta sekoitetaan 30 min ajan. Lisätään 222 ml 20-%:ista $KHSO_4$-liuosta ja 187 ml heksaania, ja seos lämmitetään 0 °C:seen. Vesifaasi erotetaan pois ja uutetaan 2x etyyliasetaatilla. Orgaaniset faasit pestään kylläisellä $NaHCO_3$-liuoksella ja suolaliuos, kuivataan Na_2SO_4:llä ja haihdutetaan, jolloin saadaan otsikkoyhdistettä: TLC R_f(C) = 0,71; ^{1}H-NMR (200 MHz, $CDCl_3$): 1,44 (s, 9H), 3,06 (d, J = 6 Hz, 2H), 4,39 (m, 1H), 5,03 (s + sb, H_2C-O + HN), 6,86 - 6,98 ja 7,03 - 7,15 (2m, kumpikin 2 H), 7,30 - 7,48 (m, 5 H), 9,62 (s, 1H).

1g) <u>5(S)-[1(S)-(Boc-amino)-2-(p-bentsyylioksifenyyli)etyyli]dihydrofuran-2-(3H)-oni</u>

(katso A.E. DeCamp *et al.*, Tetrahedron Lett. 32, 1867 (1991))

6,0 g (91,8 mmol) Zn/Cu:ää (valmistus: katso R.D. Smith, H.E. Simmons, W.E. Parham, M.D. Bhavsar, Org. Synth., Coll. vol 5, 855 (1973)) ja 9,69 ml dimetyyliasetamidia lisätään, N_2-ilmakehässä, liuokseen, jossa on 7,7 ml (57,1 mmol) etyyli 2-jodipropionaattia (esimerkki 1k)) 100 ml:ssa tolueenia, ja tätä seosta sekoitetaan seuraavaksi kiivaasti huoneenlämpötilassa 1 tunnin ajan ja 80 °C:ssa 4 tunnin ajan (⟶ Zn-homoenolaattiliuos). Toisessa laitteessa, liuos, jossa on 4,17 ml (14,2 mmol) tetraisopropyyliortotitanaattia 12 ml:ssa tolueenia ja 69 ml:ssa metyleenikloridia, käsitellään N_2-ilmakehässä ja hieman jäähdyttäen 4,41 ml:lla (40,2 mmol) $TiCl_4$:ää; tätä seosta sekoitetaan 15 min ajan huoneenlämpötilassa (saadaan tulokseksi keltaista liuosta), ja jäähdytetään -40 °C:seen, jolloin saadaan tulokseksi trikloorititaniumisopropoksidia. Zn-homoenolaattiliuos dekantoidaan pois metallisesta kiinteästä aineesta ja siirretään kanyylin avulla trikloorititaniumisopropoksidiin, joka on jäähdytetty -40 °C:seen pitäen lämpötilan

-40 - -30 °C:ssa (syvänpunainen liuos). Liuosta lämmitetään -25 °C:seen 5 min ajan, ja jäähdytetään sitten vielä kerran -40 °C:seen. Sitten lisätään tipoittain liuos, jossa on 9,7 g (27 mmol) (S)-N-Boc-(p-bentsyylioksifenyyli)alaninaalia 24,5 ml:ssa metyleenikloridia, ja seuraavaksi seosta sekoitetaan 15 tunnin ajan noin -20 °C:ssa ja lopuksi 1 tunnin ajan 0 °C:ssa. Reaktioseos kaadetaan 0,4 kg:aan jäävettä ja 0,5 l:aan eetteriä, ja tätä seosta sekoitetaan kiivaasti 10 min ajan. Vesifaasi erotetaan pois ja uutetaan 2 eräällä eetteriä; orgaaniset faasit pestään vedellä, kylläisellä natriumvetykarbonaattiliuoksella, vedellä ja suolaliuoksella, kuivataan natriumsulfaatilla ja haihdutetaan (⟶ kiteinen etyyli-5(S)-(Boc-amino)-4(S)-hydroksi-6-(p-bentsyylioksi-fenyyli)heksanoaatti).

Välittömästi edellä mainittua välituotetta kuumennetaan 2,5 tunnin 100 °C:ssa ajan 220 ml:ssa tolueenia ja 6,73 ml:ssa etikkahappoa. Jäähdytetty reaktioseos käsitellään 0,5 l:lla vettä, ja vesifaasi erotetaan pois ja uutetaan 2 eräällä eetteriä; orgaaniset faasit pestään kylläisellä natriumvetykarbonaattiliuoksella, vedellä ja suolaliuoksella, kuivataan natriumsulfaatilla ja haihdutetaan. Jäännös kiteytetään eetteri/heksaanista, jolloin saadaan puhdas otsikkoyhdiste: TLC R_f(E) = 0,28; t_{Ret}(I) = 23,5 min; ^{1}H-NMR (200 MHz, $CDCl_3$): 1,40 (s, 9H), 2,03 - 2,2 ja 2,44 - 2,64 ja 2,73 - 2,98 (3m, kukin 2 H), 3,95 ja 4,48 (2m, kumpikin 1H), 4,62 (d, J=9 Hz, 1H), 6,87 - 6,97 ja 7,09 - 7,21 (2m, kumpikin 2 H), 7,27 - 7,48 (m, 5H).

1h) <u>5(S)-[1(S)-(Boc-amino)-2-(p-bentsyylioksifenyyli)etyyli]-3(R)-[(p-bentsyylioksifenyyli)metyyli]dihydrofuran-2-(3H)-oni</u>

2,47 g (6,0 mmol) 5(S)-[1(S)-(Boc-amino)-2-(p-bentsyylioksifenyyli)etyyli]dihydro-furan-2-(3H)-onia liuotettuna 12 ml:aan THF:ää ja 1,2 ml:aan 1,3-dimetyyli-3,4,5,6-tetrahydro-2(1H)-pyrimidinonia käsitellään -70 °C:ssa ja suojakaasun alla, 11,73 ml:lla 1 M litium-bis(trimetyylisilyyli)amidiliuosta THF:ssä, ja tätä seosta sekoitetaan 15 min

ajan; sitten se alkyloidaan 1,946 g:lla (6,0 mmol) p-bentsyylioksibentsyylijodidia (esimerkki 1d)) 3 ml:ssa THF:ää (60 min). Hydrolyysiä varten lisätään 2,23 ml propionihappoa ja 2,23 ml vettä, ja seos lämmitetään 0 °C:seen. Reaktioseos kaadetaan 30 ml:aan 10-%:ista sitruunahappoliuosta, ja tämä seos uutetaan kahdesti etyyliasetaatilla; orgaaniset faasit pestään kahdesti kylläisellä $NaHCO_3$-liuoksella, ja lopuksi suolaliuoksella. Orgaaniset faasit kuivataan Na_2SO_4:llä, ja ne haihdutetaan, ja jäännös kromatografoidaan pylväällä (SiO2, heksaani/etyyliasetaatti 4:1), ja kiteytetään seuraavaksi etyyliasetaatti/heksaanista, jolloin saadaan puhdasta otsikkoyhdistettä: TLC RKD) = 0,45; t_{Ret}(I) = 19,9 min; FAB-MS $(M+H)^+$ = 608.

1i) <u>5(S)-(Boc-amino)-4(S)-hydroksi-6-(p-bentsyylioksi-fenyyli)-2(R)-[(p-bentsyylioksi-fenyyli)metyyli]heksaanihappo</u>

2,7 g (4,43 mmol) 5(S)-[1(S)-(Boc-amino)-2-(p-bentsyylioksifenyyli)etyyli]-3(R)-[(p-bentsyylioksifenyyli)metyyli]dihydrofuran-2-(3H)-onia 59 ml:ssa dimetoksietaania ja 31,8 ml:ssa vettä käsitellään, ilman pois sulkien, 14,8 ml:lla 1 M litiumhydroksidiliuosta. Sitten seosta sekoitetaan 3 tunnin ajan huoneenlämpötilassa, ja haihdutetaan osaksi. Jäännös kaadetaan seokseen, jossa on jäätä, 181 ml kylläistä NH_4Cl-liuosta, 16,2 ml 10-%:ista sitruunahappoliuosta ja 400 ml etyyliasetaattia, ja lisätään THF:ää, kunnes saostunut kiinteä aine liukenee. Vesifaasi erotetaan pois ja uutetaan 2 erällä etyyliasetaattia, ja orgaaniset faasit pestään suolaliuoksella, kuivataan Na_2SO_4:llä, haihdutetaan ja käsitellään heksaanilla: TLC R_f(C) = 0,07.

1j) <u>5(S)-(Boc-amino)-4(S)-(tert-butyylidimetyylisilyylioksi)-6-(p-bentsyylioksi-fenyyli)-2(R)-[(p-bentsyylioksi-fenyyli)metyyli]heksaanihappo</u>

2,44 g (3,90 mmol) 5(S)-(Boc-amino)-4(S)-hydroksi-6-(p-bentsyylioksifenyyli)-2(R)-[(p-bentsyylioksifenyyli)metyyli]-heksaanihappoa 14 ml:ssa DMF:ää sekoitetaan N_2-ilmake-

hässä huoneenlämpötilassa 18 tunnin ajan yhdessä 2,70 g:n (17,6 mmol) kanssa tert-butyylidimetyylikloorisilaania ja 2,18 g:n (32 mmol) kanssa imidatsolia. Reaktioseos kaadetaan jääveteen, ja tämä seos uutetaan 3 erällä etyyliasetaattia; orgaaniset faasit pestään 10-%:isella sitruunahappoliuoksella, H_2O:lla ja suolaliuoksella, kuivataan Na_2SO_4:llä ja haihdutetaan. Tulokseksi saatu öljy otetaan 30 ml:aan metanoli/THF/H_2O:ta 3:1:1, ja tämä liuos käsitellään 3,2 g:lla K_2CO_3:a, ja sekoitetaan 1 tunnin ajan huoneenlämpötilassa. Reaktioseos haihdutetaan osaksi, ja vesipohjainen jäännös kaadetaan 10-%:iseen sitruunahappoliuokseen ja jäähän, ja tämä seos uutetaan 3 x etyyliasetaatilla; orgaaniset faasit pestään kahdesti H_2O:lla, ja lopuksi suolaliuoksella, kuivataan Na_2SO_4:llä ja haihdutetaan. Raakatuote kromatografoidaan pylväällä (SiO_2, heksaani/etyyliasetaatti 2:1 → 1:1), jolloin saadaan otsikkoyhdistettä: TLC R_f(C) = 0,53; FAB-MS $(M+H)^+$ = 740.

1k) <u>Etyyli-2-jodipropionaatti</u>

Suspensiota, jossa on 170 ml etyyli-2-bromipropionaattia (Fluka; Buchs/Sveitsi) ja 950 g natriumjodidia 1,8 l:ssa asetonia, sekoitetaan 20 tunnin ajan 60 °C:ssa. Reaktioseos suodatetaan, ja suodos haihdutetaan osittain, kaataen jäännöksen noin 2,5 l:aan eetteriä; tämä seos pestään 1,0 l:lla 1-%:ista natriumtiosulfaattiliuosta ja lopuksi suolaliuoksella, kuivataan natriumsulfaatilla ja haihdutetaan. Tislataan [83 °C, 2 kPa (20 mbar)], jolloin saadaan puhdasta otsikkoyhdistettä: MS $(M)^+$ = 228; ^{1}H-NMR (200 MHz, $CDCl_3$): 4,17 (q, 7 Hz, 2 H), 3,34 ja 2,97 (2t, 7 Hz, 2x 2H), 1,28 (t, 7 Hz, 3 H).

Esimerkki 2: <u>5(S)-(Boc-amino)-4(S)-hydroksi-6-fenyyli-2(R)-[(p-syaanifenyyli)metyyli]-heksanoyyli-(L)-Val-N-(2-metoksietyyli)amidi</u>

Analogisesti esimerkille 1), 2,73 g (3,85 mmol) 5(S)-(Boc-amino)-4(S)-(tert-butyyli-dimetyylisilyylioksi)-6-fenyyli-2(R)-[(p-syaanifenyyli)metyyli]-heksanoyyli-(L)-Val-N-(2-

metoksietyyli)amidia 90,4 ml:ssa DMF:ää desilyloidaan 3,65 g:lla (11,6 mmol) TBAF:ää, ja jatkokäsitellään. Kiteytetään metyleenikloridi/heksaanista, jolloin saadaan otsikkoyhdistettä: t_{Ret}(II) = 14,0 min; FAB-MS $(M+H)^+$ = 595.

Lähtöaine valmistetaan seuraavasti:

2a) 5(S)-(Boc-amino)-4(S)-(tert-butyylidimetyylisilyylioksi)-6-fenyyli-2(R)-[(p-syaanifenyyli)metyyli]-heksanoyyli-(L)-Val-N-(2-metoksietyyli)amidi

2,173 g (3,93 mmol) 5(S)-(Boc-amino)-4(S)-(tert-butyylidimetyylisilyylioksi)-6-fenyyli-2(R)-[(p-syaanifenyyli)metyyli]heksaanihappoa [valmistus, katso esimerkkiä 2e)], 839 mg (4,07 mmol) DCC:tä ja 596 mg (4,41 mmol) HOBT:tä lisätään, ilman pois sulkien, liuokseen, jossa on 753,2 mg (4,32 mmol) H-(L)-Val-N-(2-metoksi-etyyli)amidia (esimerkki 1b) 47 ml:ssa THF:ää. 24 tunnin kuluttua huoneenlämpötilassa, reaktioseos suodatetaan ja suodos haihdutetaan. Jäännös erotetaan kolmesti liuosseoksen avulla, joka sisältää etyyliasetaattia, 10-%:isen sitruunahappoliuoksen, kylläisen $NaHCO_3$-liuoksen ja suolaliuoksen. Orgaaniset faasit kuivataan Na_2SO_4:llä, ne haihdutetaan, ja jäännös sekoitetaan DIPE:ssä, jolloin saadaan otsikkoyhdistettä: t_{Ret}(II) = 20,8 min.

2b) 5(S)-[1(S)-(Boc-amino)-2-fenyylietyyli]dihydrofuran-2-(3H)-oni

(katso myös A.E. DeCamp, A.T. Kawaguchi, R.P. Volante, ja I. Shinkai, Tetrahedron Lett. 32, 1867 (1991)). 8,03 g Zn/Cu:ta (valmistus: R.D. Smith, H.E. Simmons, W.E. Parhain, M.D. Bhavsar, Org. Synth., Coll. vol 5. 855 (1973)), ja lisätään 12,96 ml dimetyyliasetamidia, N_2-ilmakehässä, liuokseen, jossa on 17,4 g etyyli-2-jodipropionaattia (esimerkki 1k)) 130 ml:ssa tolueenia, ja seosta sekoitetaan sitten voimakkaasti huoneenlämpötilassa 1 tunnin ajan ja 4 tunnin ajan 80 °C:ssa (→ Zn-homoenolaattiliuos). Toisessa laitteessa (N_2-ilmakehä), liuosta, jossa on 5,58 ml (18,9 mmol) tetraisopropyyliortotitanaattia 16,4 ml:ssa tolueenia

ja 91,8 ml:ssa metyleenikloridia, käsitellään hieman jäähdyttäen 5,90 ml:lla (53,8 mmol) titaanitetrakloridia, ja tätä seosta sekoitetaan 15 min ajan huoneenlämpötilassa (→ keltainen liuos) ja jäähdytetään -40 °C:seen (→ trikloori-titaani-isopropoksidin posittainen kiteytyminen). Zn-homoenolaattiliuos, joka on jäähdytetty huoneenlämpötilaan, dekantoidaan kanyyliä käyttämällä metallisesta kiinteästä aineesta, ja lisätään sitten tipoittain trikloorititaani-isopropoksidiin pitäen lämpötilan -40 - -30 °C:ssa (→ syvänpunainen liuos); seos lämmitetään -25 °C:seen 5 min ajaksi, ja jäähdytetään sitten jälleen -40 °C:seen. Seuraavaksi lisätään tipoittain liuos, jossa on 9,0 g (S)-N-Boc-fenyylialaninaalia (valmistus: katso D.J. Kempf, J. Org. Chem. 51, 3921 (1986)) 32,8 ml:ssa metyleenikloridia, ja tätä seosta sekoitetaan 15 tunnin ajan noin -20 °C:ssa, ja lopuksi 1 tunnin ajan 0 °C:ssa. Reaktioseos kaadetaan 0,5 kg:aan jäävettä ja 0,5 l:aan eetteriär, ja tätä seosta sekoitetaan voimaakkaasti 10 min ajan. Vesifaasi erotetaan pois ja uutetaan 2 erällä eetteriä; orgaaniset faasit pestään 2 erällä vettä, kylläisellä natriumvetykarbonaattiliuoksella ja suolaliuoksella, kuivataan natriumsulfaatilla ja haihdutetaan, jolloin saadaan välituotteena kiteistä etyyli-5(S)-(Boc-amino)-4(S)-hydroksi-6-fenyyliheksanoaattia. Tätä välituotetta kuumennetaan 2,5 tunnin ajan 80 °C:ssa 295 ml:ssa tolueenia ja 9 ml:ssa etikkahappoa. Reaktioseos käsitellään 0,5 l:lla vettä, ja vesifaasi erotetaan pois ja uutetaan 2 erällä eetteriä, orgaaniset faasit pestään kylläisellä natriumvetykarbonaattiliuoksella, vedellä ja suolaliuoksella, ja kuivataan natriumsulfaatilla. Orgaaniset faasit haihdutetaan osittain, ja käsitellään heksaanilla, jolloin saadaan kiteine otsikkoyhdiste, josta noin 10 % koostuu analyysin mukaan, (5R)-epimeeristä (TLC R_f(E) = 0,08). Kromatografoidaan pylväällä (SiO_2, heksaani/etyyliasetaatti 2: 1), jolloin saadaan puhdas otsikkoyhdiste: TLC R_f(E) = 0,14; $[\alpha]^D$ = 17,7° (c = 1; etanoli).

2c) 5(S)-[1(S)-(Boc-amino)-2-fenyylietyyli]-3(R)-[(p-syaanifenyyli)metyyli]dihydrofuran-2-(3H)-oni

Analogisesti esimerkille 1h), 1,5 g 5(S)-[1(S)-(Boc-amino)-2-fenyylietyyli]dihydrofuran-2-(3H)-onia liuotettuna 32 ml:aan THF:ää deprotonoidaan 9,8 ml:lla 1 M litiumbis(trimetyylisilyyli)amidiliuosta THF:ssä, ja alkyloidaan 1,0 g:lla 4-bromimetyylibentsonitriiliä (Fluka; Buchs/Sveitsi) liuotettuna 3 ml:aan THF:ää. Kromatografoidaan pylväällä (SiO_2, heksaani/etyyliasetaatti 1:1), jolloin saadaan puhdas otsikkoyhdiste: TLC R_f(D) = 0,33.

2d) 5(S)-(Boc-amino)-4(S)-hydroksi-6-fenyyli-2(R)-[(p-syaanifenyyli)metyyli]heksaanihappo

Analogisesti esimerkille 1i), 0,50 g 5(S)-[1(S)-(Boc-amino)-2-fenyylietyyli]-3(R)-[(p-syaanifenyyli)metyyli]dihydrofuran-2-(3H)-onia 19 ml:ssa dimetoksietaania ja 10 ml:ssa vettä hydrolysoidaan 4,8 ml:lla 1 M litiumhydroksidiliuosta, jolloin muodostuu otsikkoyhdistettä: TLC R_f(B) = 0,3.

2e) 5(S)-(Boc-amino)-4(S)-(tert-butyylidimetyylisilyylioksi)-6-fenyyli-2(R)-[(p-syaani-fenyyli)metyyli]heksaanihappo

Analogisesti esimerkille 1j), 0,62 g 5(S)-(Boc-amino)-4(S)-hydroksi-6-fenyyli-2(R)-[(p-syaani-fenyyli)metyyli]heksaanihappoa 6,2 ml:ssa DMF:ää silyloidaan 0,98 g:lla tert-butyylidimetyyliklooorisilaania ja 0,79 g:lla imidatsolia. Silyyliesterifunktio hydrolysoidaan 1,2 g:lla kaliumkarbonaattia 31 ml:ssa metanoli/THF/vettä, 3:1:1, säädetään happamaan pH-arvoon sitruunahappoliuoksella ja uutetaan etyyliasetaatilla, jolloin saadaan otsikkoyhdiste: TLC R_f(D) = 0,29; FAB-MS $(M+H)^+$ = 553.

Esimerkki 3: 5(S)-(Boc-amino)-4(S)-hydroksi-6-fenyyli-2(R)-[(o-fluorifenyyli)metyyli]-heksanoyyli-(L)-Val-N-(2-metoksietyyli)amidi

Analogisesti esimerkille 1), 184,9 mg (0,263 mmol) 5(S)-(Boc-amino)-4(S)-(tert-butyylidimetyylisilyylioksi)-6-fenyyli-2(R)-[(o-fluorifenyyli)metyyli]-heksanoyyli-(L)-Val-

N-(2-metoksietyyli)amidia 5 ml:ssa DMF:ää desilyloidaan 249,3 mg:lla (0,79 mmol) TBAF:ää, ja jatkokäsitellään. Sekoitetaan DIPE:llä, jolloin saadaan otsikkoyhdiste: t_{Ret}(II) = 14,8 min; FAB-MS $(M+H)^+$ = 588.

Lähtöaine valmistetaan seuraavasti:

3a) 5(S)-(Boc-amino)-4(S)-(tert-butyylidimetyylisilyylioksi)-6-fenyyli-2(R)-[(o-fluori-fenyyli)metyyli]heksanoyyli-(L)-Val-N-(2-metoksietyyli)amidi

168,9 mg (0,309 mmol) 5(S)-(Boc-amino)-4(S)-(tert-butyylidimetyylisilyylioksi)-6-fenyyli-2(R)-[(o-fluorifenyyli)metyyli]-heksaanihappoa [valmistus, katso esimerkkiä 3d)], 77,1 mg (0,374 mmol) DCC:tä ja 45,5 mg (0,337 mmol) HOBT:tä lisätään suojakaasun alla liuokseen, jossa on 59,3 mg (0,34 mmol) H-(L)-Val-N-(2-metoksietyyli)amidia (esimerkki 1b) 3,5 ml:ssa THF:ää. 24 tunnin kuluttua huoneenlämpötilassa reaktioseos suodatetaan, ja suodos haihdutetaan. Jäännös jaetaan 3 etyyliasetaattiosan, 10-%:isen sitruunahappoliuoksen, kylläisen $NaHCO_3$-liuoksen ja suolaliuoksen välillä, orgaaniset faasit kuivataan Na_2SO_4:llä, ja ne haihdutetaan, jolloin saadaan otsikkoyhdiste: t_{Ret}(II) = 22,3 min.

3b) 5(S)-[1(S)-(Boc-amino)-2-fenyylietyyli]-3(R)-[(o-fluorifenyyli)metyyli]dihydrofuran-2-(3H)-oni

Analogisesti esimerkille 1h), 5,0 g (16,37 mmol) 5(S)-[1(S)-(Boc-amino)-2-fenyyli-etyyli]dihydrofuran-2-(3H)-onia [esimerkki 2b)] liuotettuna 75 ml:aan THF:ssä deprotonoidaan -75 °C:ssa 32,7 ml:lla 1 M litiumbis(trimetyylisilyyli)amidiliuosta THF:ssä, ja alkyloidaan 2,1 ml:lla (18,0 mmol) o-fluoribentsyylibromidia (Fluka; Buchs/Sveitsi) aluksi -75 °C:ssa (kuumennetaan enintään -60 °C:seen 60 min aikana). Kromatografoidaan pylväällä (SiO_2, heksaani/etyyliasetaatti, 3:1), jolloin saadaan otsikkoyhdiste: TLC R_f(D) = 0,61.

3c) 5(S)-(Boc-amino)-4(S)-hydroksi-6-fenyyli-2(R)-[(o-fluorifenyyli)metyyli]heksaanihappo

Analogisesti esimerkille 1i), 4,5 g (10,8 mmol) 5(S)-[1(S)-(Boc-amino)-2-fenyyli-etyyli]-3(R)-[(o-fluorifenyyli)metyyli]dihydrofuran-2-(3H)-onia 170 ml:ssa dimetoksietaania hydrolysoidaan 43,5 ml:lla 1 M litiumhydroksidiliuosta. Reaktioseoksen haihdutusjäännös kaadetaan seokseen, jossa on jäätä, 120 ml kylläistä ammoniumkloridiliuosta ja 240 ml 10-%:ista sitruunahappoliuosta, ja sitten tämä seos uutetaan 3 erällä metyleenikloridia. Orgaaniset faasit pestään vedellä ja suolaliuoksella, kuivataan Na_2SO_4:llä ja haihdutetaan: t_{Ret}(II) = 14,5 min.

3d) <u>5(S)-(Boc-amino)-4(S)-(tert-butyylidimetyylisilyylioksi)-6-fenyyli-2(R)-[(o-fluorifenyyli)metyyli]heksaanihappo</u>

Analogisesti esimerkille 1j), 1,5 g (3,47 mmol) 5(S)-(Boc-amino)-4(S)-hydroksi-6-fenyyli-2(R)-[(o-fluorifenyyli)metyyli]heksaanihappoa 15 ml:ssa DMF:ää silyloidaan 2,4 g:lla (16 mmol) tert-butyylidimetyylikloorisilaania ja 1,95 g:lla (28,5 mmol) imidatsolia. Silyyliesterifunktio hydrolysoidaan 2,8 g:lla kaliumkarbonaattia 50 ml:ssa metanoli/THF/-vettä, 4:1:1, kromatografoidaan pylväässä (SiO_2, heksaani/etyyliasetaatti, 2:1), jolloin saadaan otsikkoyhdiste: TLC R_f(D) = 0,33; t_{Ret}(II) = 20,7 min.

Esimerkki 4: <u>5(S)-(Boc-amino)-4(S)-hydroksi-6-fenyyli-2(R)-[(2,4-difluorifenyyli)-metyyli]heksanoyyli-(L)-Val-N-(2-metoksietyyli)amidi</u>

Analogisesti esimerkille 1), 197 mg (0,274 mmol) 5(S)-(Boc-amino)-4(S)-(tert-butyyli-dimetyylisilyylioksi)-6-fenyyli-2(R)-[(2,4-difluorifenyyli)metyyli]heksanoyyli-(L)-Val-N-(2-metoksietyyli)amidia 5 ml:ssa DMF:ää desilyloidaan 173 mg:lla (0,548 mmol) TBAF:ää, ja jatkokäsitellään. Saostetaan DIPE:llä konsentroidusta metyleenikloridiliuoksesta, jolloin saadaan otsikkoyhdiste: TLC R_f(A) = 0,71; t_{Ret}(II) = 14,9 min; FAB-MS $(M+H)^+$ = 606.

Lähtöaine valmistetaan seuraavasti:

4a) <u>5(S)-(Boc-amino)-4(S)-(tert-butyylidimetyylisilyylioksi-</u>

si)-6-fenyyli-2(R)-[(2,4-difluorifenyyli)metyyli]heksanoyyli-(L)-Val-N-(2-metoksietyyli)amidi

68 mg (0,39 mmol) H-(L)-Val-N-(2-metoksietyyli)amidia (esimerkki 1b), 80,5 mg (0,39 mmol) DCC:tä ja 57,5 mg (0,426 mmol) HOBT:tä lisätään N_2-ilmakehässä 200 mg:aan (0,354 mmol) 5(S)-(Boc-amino)-4(S)-(tert-butyylidimetyylisilyylioksi)-6-fenyyli-2(R)-[(2,4-difluorifenyyli)metyyli]heksaanihappoa [valmistus, katso esimerkkiä 4d)] 4,6 ml:ssa THF:ää. 19 tunnin kuluttua huoneenlämpötilassa seos jatkokäsitellään analogisesti esimerkille 3a), jolloin saadaan otsikkoyhdistettä: TLC R_f(D) = 0,14; t_{Rt}(II) = 21,7 min.

4b) 5(S)-[I(S)-(Boc-amino)-2-fenyylietyyli]-3(R)-[(2,4-difluorifenyyli)metyyli]-dihydrofuran-2-(3H)-oni

Analogisesti esimerkille 1h), 5,0 g (16,37 mmol) 5(S)-[1(S)-(Boc-amino)-2-fenyylietyyli]dihydrofuran-2-(3H)-onia [esimerkki 2b)] liuotettuna 100 ml:aan THF:ää deprotonoidaan -75 °C:ssa 32,7 ml:lla 1 M litiumbis(trimetyylisilyyli)amidin liuosta THF:ssä, ja alkyloidaan 2,51 ml:lla (19,6 mmol) 2,4-difluoribentsyylibromidia (Aldrich; Milwaukee/-USA) aluksi -75 °C:ssa (kuumennus enintään -60 °C:seen 2 tunnin aikana). Kromatografoidaan pylväällä (SiO_2, heksaani/etyyliasetaatti, 2:1), jolloin saadaan otsikkoyhdiste: TLC R_f(D) = 0,5; t_{Rt}(II) = 17,2 min.

4c) 5(S)-(Boc-amino)-4(S)-hydroksi-6-fenyyli-2(R)-[(2,4-difluorifenyyli)metyyli]-heksaanihappo

Analogisesti esimerkille 1i), 3,1 g (7,18 mmol) 5(S)-[1(S)-(Boc-amino)-2-fenyyli-etyyli]-3(R)-[(2,4-difluorifenyyli)-metyyli]dihydrofuran-2-(3H)-onia 77 ml:ssa dimetoksietaania ja 19 ml:ssa vettä hydrolysoidaan 28,7 ml:lla 1 M litiumhydroksidiliuosta (19 tuntia huoneenlämpötilassa), jolloin saadaan otsikkoyhdistettä: t_{Rt}(II) = 14,7 min.

4d) 5(S)-(Boc-amino)-4(S)-(tert-butyylidimetyylisilyylioksi)-6-fenyyli-2(R)-[(2,4-difluorifenyyli)metyyli]hek-

saanihappo

Analogisesti esimerkille 1j), 3,2 g (7,12 mmol) 5(S)-(Boc-amino)-4(S)-hydroksi-6-fenyyli-2(R)-[(2,4-difluorifenyyli)metyyli]heksaanihappoa 67 ml:ssa DMF:ää silyloidaan 4,93 g:lla (32,7 mmol) tert-butyylidimetyylikloorisilaania ja 3,97 g:lla (58,4 mmol) imidatsolia. Silyyliesterifunktio hydrolysoidaan 5,9 g:lla kaliumkarbonaattia 77 ml:ssa metanolia, 20 ml:ssa THF:ää ja 20 ml:lla vettä, kromatografoidaan pylväässä (SiO_2, heksaani/etyyliasetaatti, 2:1), jolloin saadaan otsikkoyhdiste: TLC R_f(D) = 0,22; t_{Ret}(II) = 20,8 min.

Esimerkki 5: 5(S)-(Boc-amino)-4(S)-hydroksi-6-fenyyli-2(R)-{[p-(2-fenyyli-etyyli)fenyyli]metyyli}-heksanoyyli-(L)-Val-N-(2-metoksietyyli)amidi

Analogisesti esimerkille 1), 115 mg (0,146 mmol) 5(S)-(Boc-amino)-4(S)-(tert-butyylidimetyylisilyylioksi)-6-fenyyli-2(R)-{[p-(2-fenyylietyyli)fenyyli]-metyyli}-heksanoyyli-(L)-Val-N-(2-metoksietyyli)amidia 2,1 ml:ssa DMF:ää desilyloidaan 92 mg:lla (0,292 mmol) TBAF:ää, ja uutetaan: TLC R_f(A) = 0,58; t_{Ret}(II) = 18,1 min.

Lähtöaineet valmistetaan seuraavasti:

5a) 5(S)-(Boc-amino)-4(S)-(tert-butyylidimetyylisilyylioksi)-6-fenyyli-2(R)-{[p-(2-fenyylietyyli)fenyyli]metyyli}heksanoyyli-(L)-Val-N-(2-metoksietyyli)amidi

100 mg (0,158 mmol) 5(S)-(Boc-amino)-4(S)-(tert-butyylidimetyylisilyylioksi)-6-fenyyli-2(R)-{[p-(2-fenyylietyyli)-fenyyli]metyyli}-heksaanihappoa (esimerkki 5f)) ja 30 mg (0,174 mmol) H-(L)-Val-N-(2-metoksietyyli)amidia (esimerkki 1b) liuotetaan N_2-ilmakehässä 1,52 ml:aan 0,25 M NMM/CH_3CN:ää, ja tämä liuos käsitellään 66 mg:lla (0,174 mmol) HBTU:ta. 18 tunnin kuluttua huoneenlämpötilassa reaktioseos kaadetaan veteen, ja tämä seos uutetaan 3 erällä etyyliasetaattia. Orgaaniset faasit pestään 10-%:isella sitruunahappoliuoksella, vedellä, kylläisellä $NaHCO_3$-liuoksella, vedellä ja suolaliuoksella, kuivataan

Na_2SO_4:llä ja haihdutetaan: t_{Ret}(II) = 24,4 min.

5b) p-(2-fenyylietyyli)bentsyylialkoholi

Hydrogenoidaan 10 g (48 mmol) 4-stilbeenimetanolia (Aldrich; Milwaukee/USA) 100 ml:ssa THF:ää, kun läsnä on 0,5 g 5-%:ista Pd/C:tä alhaisessa paineessa ja huoneenlämpötilassa, suodatetaan ®Celite'n läpi (piimaahan perustuva suodatusapuaine; Johns-Manville Corp., saatavissa yhtiöstä Fluka, Buchs, Sveitsi), ja suodos haihdutetaan, jolloin saadaan otsikkoyhdistettä, josta ^{1}H-NMR-spektrin mukaan noin 15 % koostuu p-(2-fenyylietyyli)tolueenista: TLC R_f(A) = 0,62; ^{1}H-NMR (200 MHz, $CDCl_3$): 2,92 (s, 4 H), 4,68 (s, 2 H), 7,15 - 7,35 (m, 9 H).

5c) p-(2-fenyylietyyli)bentsyylibromidi

3,14 ml (33,4 mmol) fosforitribromidia 11 ml:ssa tolueenia lisätään tipoittain jäähdyttäen ja N_2-ilmakehässä 8,36 g:aan (85-%; 33,4 mmol) p-(2-fenyylietyyli)bentsyylialkoholia 100 ml:ssa tolueenia. 2 tunnin kuluttua huoneenlämpötilassa seos kaadetaan jääveteen, ja orgaaninen faasi erotetaan pois, pestään kylläisellä $NaHCO_3$-liuoksella, vedellä ja suolaliuoksella. Vesifaasit uutetaan 2 x eetterillä, ja yhdistetyt orgaaniset faasit kuivataan Na_2SO_4:llä ja haihdutetaan: TLC R_f(A) = 0,77; ^{1}H-NMR (200 MHz, $CDCl_3$): 2,92 (s, 4 H), 4,50 (s, 2 H), 7,15 - 7,35 (m, 9 H); muita signaaleja noin 20 %:ista p-(2-fenyylietyyli)tolueenia.

5d) 5(S)-[1(S)-(Boc-amino)-2-fenyylietyyli]-3(R)-{[p-(2-fenyylietyyli)fenyyli]metyyli}-dihydrofuran-2-(3H)-oni

Liuosta, jossa on 4,4 g (14,53 mmol) 5(S)-[1(S)-(Boc-amino)-2-fenyylietyyli]dihydrofuran-2-(3H)-onia [valmistus, katso esimerkkiä 2b)] 21,4 ml:ssa absoluuttista THF:ää ja 2,4 ml:ssa DMPU:ta, käsitellään -75 °C:ssa ja N_2-ilmakehässä 28 ml:lla 1 M litiumbis(trimetyylisilyyli)amidin liuosta THF:ssä (Aldrich, Steinheim, SLT), ja seuraavaksi seosta sekoitetaan tässä lämpötilassa 15 min ajan. Sitten lisätään tipoittain liuos, jossa on 6,0 g (noin 80-%, 17,5 mmol) p-

(2-fenyylietyyli)bentsyylibromidia 5,4 ml:ssa absoluuttista THF:ää, ja tätä seosta sekoitetaan perusteellisesti -70 °C:ssa 30 min ajan. Sitten lisätään 5,4 ml propionihappoa -75 °C:ssa, sen jälkeen 5,4 ml vettä. Seos lämmitetään 0 °C:seen ja laimennetaan 150 ml:lla etyyliasetaattia; sitten tämä seos pestään 80 ml:lla 10-%:ista sitruunahappoliuosta, kylläisellä natriumbikarbonaattiliuoksella ja suolaliuoksella. Vesifaasit uutetaan uudelleen 2x etyyliasetaatilla, ja orgaaniset faasit kuivataan natriumsulfaatilla ja haihdutetaan. Kromatografoidaan pylväällä (SiO_2, heksaani/etyyliasetaatti, 3:1), jolloin saadaan puhdas otsikkoyhdiste: TLC R_f(E) = 0,27; t_{Ret}(II) = 20,8 min; FAB-MS $(M\text{-Buten}+H)^+$ = 444.

5e) <u>5(S)-(Boc-amino)-4(S)-hydroksi-6-fenyyli-2(R)-{[p-(2-fenyylietyyli)fenyyli]-metyyli}heksaanihappo</u>

5,15 g (10,31 mmol) of 5(S)-[1(S)-(Boc-amino)-2-fenyylietyyli]-3(R)-([p-(2-fenyylietyyli)-fenyyli]metyyli}dihydrofuran-2-(3H)-onia 166 ml:ssa dimetoksietaania ja 85 ml:ssa vettä hydrolysoidaan suojakaasun alla 41 ml:lla 1 M litiumhydroksidiliuosta. 3 tunnin kuluttua dimetoksietaani haihdutetaan pois kiertohaihduttimella, ja jäännös käsitellään jääkylmällä seoksella, jossa on 506 ml kylläistä NH_4Cl-liuosta, 42 ml 10-%:ista sitruunahappoliuosta ja 207 ml metyleenikloridia. Lisätään metanolia tuotteen täydellisesti liuottamiseksi. Vesifaasi erotetaan pois ja uutetaan kahdesti metyleenikloridi/metanolilla, 10:1. Orgaaniset faasit pestään suolaliuoksella, kuivataan Na_2SO_4:llä ja haihdutetaan: t_{Ret}(II) = 17,8 min.

5f) <u>5(S)-(Boc-amino)-4(S)-(tert-butyylidimetyylisilyylioksi)-6-fenyyli-2(R)-{[p-(2-fenyylietyyli)fenyyli]metyyli}heksaanihappo</u>

5,08 g (9,81 mmol) 5(S)-(Boc-amino)-4(S)-hydroksi-6-fenyyli-2(R)-{[p-(2-fenyylietyyli)fenyyli]metyyli}heksaanihappoa 22 ml:ssa DMF:ää silyloidaan suojakaasun alla 6,80 g:lla (45,1 mmol) tert-butyylidimetyyliklooorisilaania ja 5,48

g:lla (80,4 mmol) imidatsolia huoneenlämpötilassa 20 tunnin ajan. Reaktioseos kaadetaan 500 ml:aan jäävettä, ja tämä seos uutetaan 3x etyyliasetaatilla. Orgaaniset faasit pestään 10-%:isella sitruunahappoliuoksella, 2x vedellä ja suolaliuoksella, kuivataan Na_2SO_4:llä ja haihdutetaan. Jäännös liuotetaan 119 ml:aan metanolia ja 46 ml:aan THF:ää, ja tämä liuos käsitellään 8,1 g:lla kaliumkarbonaattia ja 46 ml:lla vettä, ja sekoitetaan sitten 17 tunnin ajan huoneenlämpötilassa. Seuraavaksi reaktioseos kaadetaan jääkylmään 10-%:iseen sitruunahappoliuokseen, ja tämä seos uutetaan 3x etyyliasetaatilla. Orgaaniset faasit pestään 2 erällä vettä ja suolaliuoksella, kuivataan Na_2SO_4:llä ja haihdutetaan. Kromatografoidaan pylväällä (SiO_2, heksaani/etyyliasetaatti 2:1 → 1:1 → etyyliasetaatti), jolloin saadaan puhdas otsikkoyhdiste: TLC R_f(D) = 0,22; $t_{R\alpha}$(II) = 23,3 min.

Esimerkki 6: <u>5(S)-(Boc-amino)-4(S)-hydroksi-6-fenyyli-2(R)-{[P-(2,6-diklooribentsyylisulfonyyli)fenyyli]metyyli}heksanoyyli-(L)-Val-N-(2-metoksietyyli)amidi</u>

Analogisesti esimerkille 1), 241 mg:sta (0,27 mmol) 5(S)-(Boc-amino)-4(S)-(tert-butyylidimetyylisilyylioksi)-6-fenyyli-2(R)-{[p-(2,6-diklooribentsyylisulfonyyli)fenyyli]metyyli}heksanoyyli-(L)-Val-N-(2-metoksietyyli)amidia poistetaan suojaus 170 mg:lla (0,54 mmol) TBAF:ää 3,6 ml:ssa DMF:ää 17 tunnin aikana. Sekoitetaan pienen etyyliasetaattimäärän kanssa, lisätään DIPE:ä ja suodatetaan, jolloin saadaan puhdasta otsikkoyhdistettä: TLC R_f(B) = 0,67; $t_{R\alpha}$(II) = 16,1 min; FAB-MS $(M+H)^+$ = 792.

Lähtöaine valmistetaan seuraavasti:

6a) <u>5(S)-[1(S)-(Boc-amino)-2-fenyylietyyli]-3(R)-{[p-(2,6-diklooribentsyylisulfonyyli)fenyyli]metyyli}dihydrofuran-2-(3H)-oni</u>

Analogisesti esimerkille 5d), 5,0 g (16,34 mmol) 5(S)-[1(S)-(Boc-amino)-2-fenyylietyyli]dihydrofuran-2-(3H)-onia liuotettuna 24 ml:aan absoluuttista THF:ää ja 2,7 ml:aan

DMPU:ta deprotonoidaan -75 °C:ssa 32,7 ml:lla 1 M litium-bis(trimetyylisilyyli)amidiliuosta THF:ssä, ja alkyloidaan -75 °C:ssa 9,67 g:lla (24,5 mmol) p-(2,6-diklooribentsyylisulfonyyli)bentsyylibromidia (Maybridge; Tintagel/UK) 50 ml:ssa absoluuttista THF:ää. Protonoidaan -75 °C:ssa 6,1 ml:lla (81,7 mmol) propionihappoa ja 6,1 ml:lla vettä, uutetaan ja raakatuote kromatografoidaan pylväällä (SiO_2, heksaani/etyyliasetaatti, 2:1), ja kiteytetään DIPE:stä, jolloin saadaan otsikkoyhdiste: TLC R_f(D) = 0,30; t_{Ret}(II) = 17,3 min.

6b) <u>5(S)-(Boc-amino)-4(S)-hydroksi-6-fenyyli-2(R)-{[p-(2,6-diklooribentsyylisulfonyyli)-fenyyli]metyyli}heksaanihappo</u>
Analogisesti esimerkille 5c), 6,7 g (10,83 mmol) 5(S)-[1(S)-(Boc-amino)-2-fenyylietyyli]-3(R)-([p-(2,6-diklooribentsyylisulfonyyli)fenyyli]metyyli}dihydrofuran-2-(3H)-onia 170 ml:ssa dimetoksietaania hydrolysoidaan 43,3 ml:lla 1 M litiumhydroksidiliuosta (huoneenlämpötila, 17 tuntia). Jaetaan 3x metyleenikloridin, NH_4Cl/sitruunahappoliuoksen ja suolaliuoksen välillä, ja raakatuotetta sekoitetaan eetterissä, jolloin saadaan otsikkoyhdiste: t_{Ret}(II) = 15,5 min.

6c) <u>5(S)-(Boc-amino)-4(S)-(tert-butyylidimetyylisilyylioksi)-6-fenyyli-2(R)-{[p-(2,6-diklooribentsyylisulfonyyli)fenyyli]metyyli}heksaanihappo</u>
Analogisesti esimerkille 5f), 5,0 g (7,85 mmol) 5(S)-(Boc-amino)-4(S)-hydroksi-6-fenyyli-2(R)-{[p-(2,6-diklooribentsyylisulfonyyli)fenyyli]metyyli}heksaanihappoa 74 ml:ssa DMF:ää silyloidaan 5,4 g:lla (36,1 mmol) tert-butyylidimetyyliklooorisilaania ja 4,4 g:lla (64,4 mmol) imidatsolia. Silyyliesterifunktio hydrolysoidaan 6,5 g:lla kaliumkarbonaattia 85 ml:ssa metanolia, 22 ml:ssa THF:ää ja 22 ml:ssa vettä, kromatografoidaan pylväässä (SiO_2, heksaani/etyyliasetaatti, 1:1) ja sekoitetaan DIPE:n kanssa, jolloin saadaan otsikkoyhdiste: TLC R_f(C) = 0,5; t_{Ret}(II) = 21,0 min.

6d) 5(S)-(Boc-amino)-4(S)-(tert-butyylidimetyylisilyylioksi)-6-fenyyli-2(R)-{[p-(2,6-diklooribentsyylisulfonyyli)fenyyli]metyyli}heksanoyyli-(L)-Val-N-(2-metoksietyyli)amidi

200 mg (0,27 mmol) 5(S)-(Boc-amino)-4(S)-(tert-butyylidimetyylisilyylioksi)-6-fenyyli-2(R)-([p-(2,6-diklooribentsyylisulfonyyli)fenyyli]-metyyli}heksaanihappoa ja 51,7 mg (0,297 mmol) H-(L)-Val-N-(2-metoksietyyli)amidia (esimerkki 1b) liuotettuna 2,6 ml:aan 0,25 M NMM/CH_3CN-liuosta saatetaan reagoimaan huoneenlämpötilassa 18 tunnin ajan typpi-ilmakehässä 112,6 mg:n (0,297 mmol) kanssa HBTU:ta, ja jatkokäsitellään seuraavaksi esimerkille 5a analogisesti), jolloin saadaan otsikkoyhdistettä: TLC $t_{R\alpha}$(D) = 0,21; $t_{R\alpha}$(II) = 21,9 min.

Esimerkki 7: 5(S)-(Boc-amino)-4(S)-hydroksi-6-(p-bentsyylioksifenyyli)-2(R)-[(p-metoksifenyyli)metyyli]heksanoyyli-(L)-Val-N-(2-metoksietyyli)amidi

1,11 g (1,35 mmol) 5(S)-(Boc-amino)-4(S)-(tert-butyylidimetyylisilyylioksi)-6-(p-bentsyylioksi-fenyyli)-2(R)-[(p-metoksifenyyli)metyyli]heksanoyyli-(L)-Val-N-(2-metoksietyyli)amidia 15 ml:ssa DMF:ää desilyloidaan N_2-ilmakehässä 0,85 g:lla (2,70 mmol) TBAF:ää. 18 tunnin kuluttua huoneenlämpötilassa reaktioseos kaadetaan veteen, ja tämä seos uutetaan metyleenikloridilla. Orgaaniset faasit pestään kylläisellä $NaHCO_3$-liuoksella ja suolaliuoksella, kuivataan Na_2SO_4:llä ja haihdutetaan. Sekoitetaan DEPE:ssä, jolloin saadaan otsikkoyhdiste: TLC R_f(B) = 0,6; $t_{R\alpha}$(II) = 16,6 min; FAB-MS $(M+H)^+$ = 706.

7a) 5(S)-[1(S)-(Boc-amino)-2-(p-bentsyylioksifenyyli)etyyli]-3(R)-[(p-metoksifenyyli)-metyyli]dihydrofuran-2-(3H)-oni

Analogisesti esimerkille 5d), 2,9 g (7,04 mmol) 5(S)-[1(S)-(Boc-amino)-2-(p-bentsyylioksi-fenyyli)etyyli]dihydrofuran-2-(3H)-onia [valmistus, katso esimerkkiä 1g)] liuotettuna 10,3 ml:aan THF:ää ja 1,2 ml:aan DMPU:ta deprotonoidaan -70

°C:ssa 14,1 ml:lla 1 M litiumbis(trimetyylisilyyli)amidiliuosta THF:ssä, ja alkyloidaan (-75 - -50 °C:ssa) 2,6 g:lla (10,57 mmol) p-metoksibentsyylijodidia [valmistus, katso esimerkkiä 7e)] 10 ml:ssa THF:ää. Protonoidaan -75 °C:ssa 2,6 ml:lla (35,2 mmol) propionihappoa ja 2,6 ml:lla vettä, uutetaan ja kromatografoidaan pylväällä (SiO_2, heksaani/etyyliasetaatti, 2:1), jolloin saadaan otsikkoyhdiste: TLC R_f(D) = 0,48; $t_{Rα}$(II) = 18,8 min.

7b) <u>5(S)-(Boc-amino)-4(S)-hydroksi-6-(p-bentsyylioksifenyyli)-2(R)-[(p-metoksifenyyli)-metyyli]heksaanihappo</u>

2,6 g (4,89 mmol) 5(S)-[1(S)-(Boc-amino)-2-(p-bentsyylioksi-fenyyli)-etyyli]-3(R)-[(p-metoksifenyyli)metyyli]dihydrofuran-2-(3H)-onia 50 ml:ssa dimetoksietaania hydrolysoidaan N_2-ilmakehässä 19,6 ml:lla 1 M litiumhydroksidiliuosta vedessä. 25 tunnin kuluttua huoneenlämpötilassa dimetoksietaani haihdutetaan pois kiertohaihduttimella, ja jäännös käsitellään jääkylmällä seoksella, jossa on 150 ml kylläistä NH_4Cl-liuosta, 25 ml 10-%:ista sitruunahappoliuosta ja metyleenikloridia. Vesifaasi erotetaan pois, ja uutetaan kahdesti metyleenikloridilla. Orgaaniset faasit pestään suolaliuoksella, kuivataan Na_2SO_4:llä ja haihdutetaan, jolloin saadaan otsikkoyhdistettä: TLC R_f(B) = 0,28; $t_{Rα}$(II) = 16,4 min.

7c) <u>5(S)-(Boc-amino)-4(S)-(tert-butyylidimetyylisilyylioksi)-6-(p-bentsyylioksifenyyli)-2(R)-[(p-metoksifenyyli)metyyli]heksaanihappo</u>

2,5 g (4,54 mmol) 5(S)-(Boc-amino)-4(S)-hydroksi-6-(p-bentsyylioksi-fenyyli)-2(R)-[(p-metoksifenyyli)metyyli]-heksaanihappoa 42 ml:ssa DMF:ää silyloidaan suojakaasun alla 3,15 g:lla (20,9 mmol) tert-butyylidimetyylikloorisilaania ja 2,53 g:lla (37,3 mmol) imidatsolia huoneenlämpötilassa 20 tunnin ajan. Reaktioseos laimennetaan etyyliasetaatilla, ja tämä seos pestään kylläisellä $NaHCO_3$-liuoksella, vedellä ja suolaliuoksella. Vesifaasit uutetaan 2x etyyliasetaatilla, ja orgaaniset faasit kuivataan

Na_2SO_4:llä ja haihdutetaan. Jäännös liuotetaan 50 ml:aan metanolia ja 13 ml:aan THF:ää, ja tämä liuos käsitellään 3,8 g:lla kaliumkarbonaattia ja 13 ml:lla vettä, ja sekoitetaan 1 tunnin ajan huoneenlämpötilassa. Seuraavaksi reaktioseos haihdutetaan osaksi, ja jäännös laimennetaan jääkylmällä 10-%:isella sitruunahappoliuoksella; sitten tämä seos uutetaan 3x etyyliasetaatilla. Orgaaniset faasit pestään 2 erällä vettä ja suolaliuosta, kuivataan Na_2SO_4:llä ja haihdutetaan. Kromatografoidaan pylväällä (SiO_2, heksaani/etyyliasetaatti, 2:1), jolloin saadaan puhdasta otsikkoyhdistettä: TLC R_f(C)=0,13; t_{Ret}(II) = 21,7 min.

7d) <u>5(S)-(Boc-amino)-4(S)-(tert-butyylidimetyylisilyylioksi)-6-(p-bentsyylioksifenyyli)-2(R)-[(p-metoksifenyyli)metyyli]heksanoyyli-(L)-Val-N-(2-metoksietyyli)amidi</u>

960 mg (1,44 mmol) 5(S)-(Boc-amino)-4(S)-(tert-butyylidimetyylisilyylioksi)-6-(p-bentsyylioksi-fenyyli)-2(R)-[(p-metoksifenyyli)metyyli]heksaanihappoa ja 290 mg (1,66 mmol) H-(L)-Val-N-(2-metoksietyyli)amidia (esimerkki 1b) 14,5 ml:ssa 0,25 M NMM/CH_3CN:ää saatetaan reagoimaan huoneenlämpötilassa 20 tunnin ajan ja N_2-ilmakehässä 630 mg:n (1,66 mmol) kanssa HBTU:ta. Seos haihdutetaan, ja jäännös otetaan etyyliasetaattiin; liuos pestään peräkkäin vedellä, 2x 10-%:isella sitruunahappoliuoksella, jälleen kerran vedellä, 2x kylläisellä $NaHCO_3$-liuoksella, vedellä ja suolaliuoksella. Vesifaasit uutetaan vielä kahdesti etyyliasetaatilla, ja orgaaniset faasit kuivataan Na_2SO_4:llä ja haihdutetaan. Raakatuote käsitellään heksaanilla, jolloin saadaan otsikkoyhdiste: TLC R_f(B) = 0,70; t_{Ret}(II) = 22,5 min.

7e) <u>p-metoksibentsyylijodidi</u>

Liuosta, jossa on 1,7 ml (12,8 mmol) 4-metoksibentsyylikloridia (Fluka; Buchs/Sveitsi) 25 ml:ssa asetonia, sekoitetaan huoneenlämpötilassa yhdessä 9,4 g:n (62,6 mmol) kanssa natriumjodidia. Reaktioseoksen kaasukromatogrammi 90 min kuluttua ilmaisee, että reaktio on edennyt loppuun; siksi reaktioseos kaadetaan eetteriin, ja tämä seos pestään

10-%:isella natriumtiosulfaattiliuoksella ja suolaliuoksella. Orgaaninen faasi kuivataan Na_2SO_4:llä, ja haihdutetaan, jolloin saadaan otsikkoyhdiste: ^{1}H-NMR (200 MHz, CD_3OD: 3,78 (s, 3 H), 4,54 (s, 2 H), 6,8 - 6,95 ja 7,2 - 7,4 (2m, kumpikin 2 H).

Esimerkki 8: 5(S)-(Boc-amino)-4(S)-hydroksi-6-(p-hydroksi-fenyyli)-2(R)-[(p-metoksifenyyli)metyyli]heksanoyyli-(L)-Val-N-(2-metoksietyyli)amidi

500 mg (0,708 mmol) 5(S)-(Boc-amino)-4(S)-hydroksi-6-(p-bentsyylioksifenyyli)-2(R)-[(p-metoksifenyyli)metyyli]heksanoyyli-(L)-Val-N-(2-metoksietyyli)amidia (esimerkki 7) hydrogenoidaan alhaisessa paineessa 33 ml:ssa metanolia, kun läsnä on 0,11 g 10-%:ista Pd/C:tä, suodatetaan, suodos haihdutetaan ja käsitellään DIPE:llä, jolloin saadaan otsikkoyhdiste: TLC R_f(B) = 0,53; t_{Ret}(II) = 12,2 min; FAB-MS $(M+H)^+$ = 616.

Esimerkki 9: 5(S)-(Boc-amino)-4(S)-hydroksi-6-(p-metoksi-fenyyli)-2(R)-[(p-metoksifenyyli)metyyli]heksanoyyli-(L)-Val-N-(2-metoksietyyli)amidi

100 mg (0,162 mmol) 5(S)-(Boc-amino)-4(S)-hydroksi-6-(p-hydroksi-fenyyli)-2(R)-[(p-metoksifenyyli)metyyli]heksanoyyli-(L)-Val-N-(2-metoksietyyli)amidia (esimerkki 8) 3 ml:ssa DMF/dioksaania, 1:1, käsitellään 0 °C:ssa ja N_2-ilmakehässä 105 mg:lla (0,324 mmol) Cs_2CO_3:a ja 10,1 µl:lla (0,162 mmol) metyylijodidia, ja seosta sekoitetaan 20 tunnin ajan huoneenlämpötilassa. Reaktioseos kaadetaan jatkokäsittelyä varten veteen, ja tämä seos uutetaan 3 erällä metyleenikloridia. Orgaaniset faasit pestään vedellä ja suolaliuoksella, kuivataan Na_2SO_4:llä ja haihdutetaan. Sekoitetaan DIPE:ssä ultraäänihauteessa, jolloin saadaan otsikkoyhdiste: TLC R_f(B) = 0,62; t_{Ret}(II) = 14,2 min; FAB-MS $(M+H)^+$ = 630.

Esimerkki 10: 5(S)-(Boc-amino)-4(S)-hydroksi-6-(p-(isobutoksi)-fenyyli)-2(R)-[(p-metoksifenyyli)metyyli]heksanoyyli-(L)-Val-N-(2-metoksietyyli)amidi

100 mg (0,162 mmol) 5(S)-(Boc-amino)-4(S)-hydroksi-6-(p-hydroksifenyyli)-2(R)-[(p-metoksifenyyli)metyyli]heksanoyyli-(L)-Val-N-(2-metoksietyyli)amidia (esimerkki 8) 3 ml:ssa DMF/dioksaania, 1:1, käsitellään 0 °C:ssa ja suojakaasun alla 105 mg:lla (0,324 mmol) Cs_2CO_3:a ja 18,7 µl:lla (0,162 mmol) isobutyylijodidia, ja tätä seosta sekoitetaan 16 tunnin ajan 50 °C:ssa. Koska HPLC ilmaisee, että lähtöainetta on edelleen jäljellä, lisätään erissä 5 ekvivalenttia isobutyylijodidia ja 10 ekvivalenttia Cs_2CO_3:a. Kunkin erän jälkeen seosta sekoitetaan 50 °C:ssa 1 päivän ajan, kunnes HPLC ilmaisee, että kaikki 5(S)-(Boc-amino)-4(S)-hydroksi-6-(p-hydroksifenyyli)-2(R)-[(p-metoksifenyyli)metyyli]-heksanoyyli-(L)-Val-N-(2-metoksietyyli)amidi on reagoinut. Jatkokäsitellään analogisesti esimerkille 9, jolloin saadaan otsikkoyhdiste: TLC R_f(B) = 0,76; t_{Ret}(II) = 16,8 min; FAB-MS $(M+H)^+$ = 672.

Esimerkki 11: 5(S)-(Boc-amino)-4(S)-hydroksi-6-(p-metoksifenyyli)-2(R)-(fenyylimetyyli)heksanoyyli-(L)-Val-N-(2-metoksietyyli)amidi

2,07 g (2,90 mmol) 5(S)-(Boc-amino)-4(S)-(tert-butyylidimetyylisilyylioksi)-6-(p-metoksifenyyli)-2(R)-(fenyylimetyyli)heksanoyyli-(L)-Val-N-(2-metoksietyyli)amidia 50 ml:ssa DMF:ää desilyloidaan N_2-ilmakehässä 1,83 g:lla (5,80 mmol) TBAF:ää. 18 tunnin kuluttua reaktioseos kaadetaan veteen, ja tämä seos uutetaan 4 erällä etyyliasetaattia. Orgaaniset faasit pestään kylläisellä $NaHCO_3$-liuoksella, vedellä ja suolaliuoksella, kuivataan Na_2SO_4:llä ja haihdutetaan. Käsitellään kahdesti DIPE:llä, jolloin saadaan otsikkoyhdiste: t_{Ret}(II) = 14,2 min; FAB-MS $(M+H)^+$ = 600.

Lähtöaine valmistetaan seuraavasti:

11a) 5(S)-[1(S)-(Boc-amino)-2-(p-metoksifenyyli)etyyli]dihydrofuran-2-(3H)-oni

Suspensio, jossa on 4,00 g (12,44 mmol) 5(S)-[1(S)-(Boc-amino)-2-(p-hydroksifenyyli)-etyyli]dihydrofuran-2-(3H)-onia (esimerkki 11f)) 240 ml:ssa DMF/dioksaania, 1:1, saatetaan reagoimaan N_2-ilmakehässä 8,1 g:n (24,88 mmol) kanssa Cs_2CO_3:a ja 0,77 ml:n (12,44 mmol) kanssa metyylijodidia. 18 tunnin kuluttua reaktioseos kaadetaan 190 ml:aan jäävettä, ja tämä seos uutetaan 3x metyleenikloridilla. Orgaaniset faasit pestään vedellä ja suolaliuoksella, kuivataan Na_2SO_4:llä ja haihdutetaan. Sekoitetaan heksaanin kanssa ultraäänihauteessa, jolloin saadaan otsikkoyhdiste: TLC R_f(C) = 0,43; t_{Ret}(II) = 13,5 min; FAB-MS $(M+H)^+$ = 336.

11b) 5(S)-[1(S)-(Boc-amino)-2-(p-metoksifenyyli)etyyli]-3(R)-(fenyylimetyyli)-dihydrofuran-2-(3H)-oni

Analogisesti esimerkille 5d), 4,17 g (12,44 mmol) 5(S)-[1(S)-(Boc-amino)-2-(p-metoksifenyyli)etyyli]dihydrofuran-2-(3H)-onia liuotettuna 22,4 ml:aan THF:ää ja 2,5 ml:aan DMPU:ta deprotonoidaan -70 °C:ssa 24 ml:lla 1 M litium-bis(trimetyylisilyyli)amidin liuosta THF:ssä, ja alkyloidaan (-75 °C, 1 tunti) 1,5 ml:lla (12,44 mmol) bentsyylibromidia. Protonoidaan -75 °C:ssa 4,6 ml:lla propionihappoa ja 4,6 ml:lla vettä, uutetaan ja kromatografoidaan pylväällä (SiO_2, metyleenikloridi/eetteri 25:1), jolloin saadaan otsikkoyhdiste: TLC R_f(C) = 0,74; t_{Ret}(II) = 16,6 min; FAB-MS $(M+H)^+$ = 426.

11c) 5(S)-(Boc-amino)-4(S)-hydroksi-6-(p-metoksifenyyli)-2(R)-(fenyylimetyyli)heksaanihappo

3,00 g (7,05 mmol) 5(S)-[1(S)-(Boc-amino)-2-(p-metoksifenyyli)-etyyli]-3(R)-(fenyylimetyyli)dihydrofuran-2-(3H)-onia 112 ml:ssa dimetoksietaania ja 57 ml:ssa vettä hydrolysoidaan suojakaasun alla 28 ml:lla 1 M litiumhydroksidiliuosta. 20 tunnin kuluttua huoneenlämpötilassa reaktioseos kaadetaan jääkylmään seokseen, jossa on 340 ml kylläistä NH_4Cl-liuosta, 28 ml 10-%:ista sitruunahappoliuosta ja 140

ml metyleenikloridia. Lisätään metanolia tuotteen täysin liuottamiseksi. Vesifaasi erotetaan pois ja uutetaan kahdesti metyleenikloridilla. Orgaaniset faasit pestään suolaliuoksella, kuivataan Na_2SO_4:llä ja haihdutetaan, jolloin saadaan otsikkoyhdiste: t_{Ret}(II) = 14,0 min; FAB-MS $(M+H)^+$ = 444.

11d) 5(S)-(Boc-amino)-4(S)-(tert-butyylidimetyylisilyylioksi)-6-(p-metoksifenyyli)-2(R)-(fenyylimetyyli)heksaanihappo

2,9 g (6,54 mmol) 5(S)-(Boc-amino)-4(S)-hydroksi-6-(p-metoksifenyyli)-2(R)-(fenyylimetyyli)heksaanihappoa 7 ml:ssa DMF:ää silyloidaan huoneenlämpötilassa 20 tunnin ajan ja N_2-ilmakehässä 4,5 g:lla (30 mmol) tert-butyylidimetyylikloorisilaania ja 3,65 g:lla (53,6 mmol) imidatsolia. Reaktioseos kaadetaan 500 ml:aan jäävettä, ja tämä seos uutetaan 3x etyyliasetaatilla. Orgaaniset faasit pestään 10-%:isella sitruunahappoliuoksella, 2x vedellä ja suolaliuoksella, kuivataan Na_2SO_4:llä ja haihdutetaan. Jäännös hydrolysoidaan 80 ml:ssa metanolia ja 30 ml:ssa THF:ää 5,4 g:lla kaliumkarbonaattia ja 30 ml:lla vettä, jatkokäsitellen 3 tunnin kuluttua analogisesti esimerkille 7c), ja kromatografoidaan pylväällä (SiO_2, heksaani/etyyliasetaatti, 2:1), jolloin saadaan otsikkoyhdiste: TLC R_f(D) = 0,13; t_{Ret}(II) = 20,3 min.

11e) 5(S)-(Boc-amino)-4(S)-(tert-butyylidimetyylisilyylioksi)-6-(p-metoksifenyyli)-2(R)-(fenyylimetyyli)heksanoyyli-(L)-Val-N-(2-metoksietyyli)amidi

1,56 g (2,8 mmol) 5(S)-(Boc-amino)-4(S)-(tert-butyylidimetyylisilyylioksi)-6-(p-metoksifenyyli)-2(R)-(fenyylimetyyli)heksaanihappoa ja 538 mg (3,09 mmol) H-(L)-Val-N-(2-metoksietyyli)amidia (esimerkki 1b) 27 ml:ssa 0,25 M NMM/CH_3CN:ää saatetaan reagoimaan 20 tunnin ajan huoneenlämpötilassa ja N_2-ilmakehässä 1,17 g:n (3,09 mmol) kanssa HBTU:ta. Jatkokäsitellään analogisesti esimerkille 5a), jolloin saadaan otsikkoyhdiste: t_{Ret}(II) = 21,1 min; FAB-MS

$(M+H)^+$ = 714.

11f) 5(S)-[1(S)-(Boc-amino)-2-(p-hydroksifenyyli)etyyli]dihydrofuran-2-(3H)-oni

3,0 g (7,29 mmol) 5(S)-[1(S)-(Boc-amino)-2-(p-bentsyylioksifenyyli)etyyli]dihydrofuran-2-(3H)-onia [valmistus, katso esimerkkiä 1g)] hydrogenoidaan 100 ml:ssa metanolia 0,6 g:lla 10-%:ista Pd/C:tä, katalysaattori suodatetaan pois ja suodos haihdutetaan, jolloin saadaan otsikkoyhdiste: $t_{R\alpha}$(II) = 10,6 min.

Esimerkki 12: 5(S)-(Boc-amino)-4(S)-hydroksi-6-syklohek-syyli-2(R)-[(p-metoksifenyyli)metyyli]heksanoyyli-(L)-Val-N-(2-metoksietyyli)amidi

115,6 g (160,5 mmol) 5(S)-(Boc-amino)-4(S)-(tert-butyylidimetyylisilyylioksi)-6-sykloheksyyli-2(R)-[(p-metoksifenyyli)metyyli]heksanoyyli-(L)-Val-N-(2-metoksietyyli)-amidia liuotetaan 650 ml:aan DMF:ää argonilmakehässä, ja tämä liuos käsitellään 101,3 g:lla (321 mmol) TBAF:ää. 20 tunnin kuluttua huoneenlämpötilassa, reaktioseos kaadetaan 1 kg:aan jäätä ja 500 ml:aan etyyliasetaattia, ja vesifaasi erotetaan pois ja uutetaan edelleen 2x kummallakin kerralla 500 ml:lla etyyliasetaattia. Orgaaniset faasit pestään 2x 500 ml:lla vettä, 500 ml:lla kylläistä $NaHCO_3$-liuosta, 500 ml:lla vettä ja 500 ml:lla suolaliuosta. Kuivataan Na_2SO_4:lla, haihdutetaan, sekoitetaan 2 l:aan eetteri/heksaania, 1:1, ja suodatetaan pois, jolloin saadaan otsikkoyhdiste: TLC R_f(A) = 0,35; $t_{R\alpha}$(II) = 17,1 min; FAB-MS $(M+H)^+$ = 606; IR (KBr): mm., 3328s, 2922s, 1685s, 1650s, 1622s, 1531s, 1512s, 1448m, 1390m, 1365m, 1246s, 1174s.

Lähtöaine valmistetaan seuraavasti:

12a) 5(S)-[1(S)-(Boc-amino)-2-sykloheksyylietyyli]dihydrofuran-2-(3H)-oni

Liuosta, jossa on 122,2 g (400 mmol) 5(S)-[1(S)-(Boc-amino)-2-fenyylietyyli]dihydrofuran-2-(3H)-onia [valmistus, katso esimerkkiä 2b)] 1500 ml:ssa metanolia, hydrogenoidaan

huoneenlämpötilassa ja alhaisessa paineessa, kun läsnä on 4,0 g Nishimurakatalysaattoria [Rh(III)- ja Pt(IV)-oksidimonohydraatti, Degussa]. Katalysaattori suodatetaan pois, ja suodos haihdutetaan, jolloin saadaan otsikkoyhdiste: TLC R_f(D) = 0,54; FAB-MS $(M+H)^+$ = 312.

12b) 5(S)-[1(S)-(Boc-amino)-2-sykloheksyylietyyli]-3(R)-[(p-metoksifenyyli)metyyli]-dihydrofuran-2-(3H)-oni

880 ml 1 M litiumbis(trimetyylisilyyli)amidin liuosta THF:ssä lisätään tipoittain -70 °C:ssa argonilmakehässä ja 20 min sisällä 130 g:aan (400 mmol) 5(S)-[1(S)-(Boc-amino)-2-sykloheksyylietyyli]dihydrofuran-2-(3H)-onia, joka on liuotettu 1000 ml:aan absoluuttista THF:ää ja 108 ml:aan DMPU:ta. 20 min kuluttua lisätään tipoittain liuos, jossa on 110 g (443 mmol) p-metoksibentsyylijodidia [valmistus, katso esimerkkiä 7e)] 60 ml:ssa absoluuttista THF:ää, ja tätä seosta sekoitetaan perusteellisesti -75 °C:ssa 2 tunnin ajan. Seuraavaksi seos protonoidaan -70 °C:ssa 152 ml:lla propionihappoa, sen jälkeen 250 ml:lla vettä (lämpötila kohoaa -20 °C:seen); sitten lisätään 1 l etyyliasetaattia, ja reaktioseos kaadetaan 2 l:aan 15-%:ista $NaHCO_3$-liuosta. Vesifaasi erotetaan pois ja uutetaan 1 l:lla etyyliasetaattia. Orgaaniset faasit pestään 2x kylläisellä $NaHCO_3$-liuoksella, vedellä ja suolaliuoksella, kuivataan Na_2SO_4:llä ja haihdutetaan. Kromatografoidaan pylväällä (SiO_2, heksaani/etyyliasetaatti, 9:1) ja kiteytetään heksaanista, jolloin saadaan puhdas otsikkoyhdiste: TLC R_f(E) = 0,45; t_{Ret}(II) = 18,6 min; FAB-MS $(M+H)^+$ = 432.

12c) 5(S)-(Boc-amino)-4(S)-hydroksi-6-sykloheksyyli-2(R)-[(p-metoksifenyyli)metyyli]heksaanihappo

1000 ml 1 M LiOH:n vesiliuosta lisätään suojakaasun alla liuokseen, jossa on 103 g (239 mmol) 5(S)-[1(S)-(Boc-amino)-2-sykloheksyylietyyli]-3(R)-[(p-metoksifenyyli)metyyli]dihydrofuran-2-(3H)-onia 800 ml:ssa 1,2-dimetoksietaania. 3 tunnin kuluttua huoneenlämpötilassa reaktioliuos kaadetaan jääkylmään seokseen, jossa on 1,5 l kylläistä

NH_4Cl-liuosta, 1 l 10-%:ista sitruunahappoliuosta ja 2 l eetteriä. Vesifaasi erotetaan pois ja uutetaan 2x kummassakin tapauksessa 1 l:lla eetteriä. Orgaaniset faasit pestään 4x jäävedellä ja lopuksi suolaliuoksella. Kuivataan natriumsulfaatilla ja haihdutetaan, jolloin saadaan otsikkoyhdiste orgaanisista faaseista: t_{Ret}(II) = 16,0 min; FAB-MS $(M+H)^+$ = 450.

12d) 5(S)-(Boc-amino)-4(S)-(tert-butyylidimetyylisilyyli-oksi)-6-sykloheksyyli-2(R)-[(p-metoksifenyyli)metyyli]heksaanihappo

133 g (1,95 mol) imidatsolia ja 164 g (1,09 mol) tert-butyylidimetyylikloorisilaania lisätään argonilmakehässä jääkylmään liuokseen, jossa on 124 g (238 mmol) 5(S)-(Boc-amino)-4(S)-hydroksi-6-sykloheksyyli-2(R)-[(p-metoksifenyyli)metyyli]heksaanihappoa 800 ml:ssa DMF:ää. 17 tunnin kuluttua huoneenlämpötilassa reaktioseos kaadetaan 1,9 l:aan jäävettä, ja uutetaan 3 x kussakin tapauksessa 0,8 l:lla etyyliasetaattia. Orgaaniset faasit pestään vedellä, kylläisellä $NaHCO_3$-liuoksella, vedellä, 10-%:isella sitruunahappoliuoksella, vedellä, ja lopuksi suolaliuoksella, kuivataan Na_2SO_4:llä ja haihdutetaan. Jäännös liuotetaan 700 ml:aan metanolia ja 175 ml:aan THF:ää, ja tähän liuokseen lisätään 175 g K_2CO_3:a 820 ml:ssa vettä, sitten sekoitetaan 1 tunnin ajan huoneenlämpötilassa. Tulokseksi saatu emulsio haihdutetaan osaksi kiertohaihduttimella, ja jäännös laimennetaan jäävedellä, ja tämä seos säädetään 10-%:isella sitruunahappoliuoksella happamaan pH-arvoon 4 sekoittaen voimakkaasti. Seos uutetaan 3x etyyliasetaatilla, ja orgaaniset faasit pestään vedellä ja suolaliuoksella, kuivataan Na_2SO_4:llä ja haihdutetaan. Kromatografoidaan pylväällä (SiO_2, heksaani → heksaani/etyyliasetaatti 95:5 → 9:1 → 2:1 → 1:1), jolloin saadaan otsikkoyhdiste: TLC R_f(E) = 0,15; t_{Ret}(II) = 22,7 min.

12e) 5(S)-(Boc-amino)-4(S)-(tert-butyylidimetyylisilyy-lioksi)-6-sykloheksyyli-2(R)-[(p-metoksifenyyli)metyy-li]heksanoyyli-(L)-Val-N-(2-metoksietyyli)amidi

33,2 g (190 mmol) H-(L)-Val-N-(2-metoksietyyli)amidia (esimerkki 1b) 100 ml:ssa DMF:ää lisätään liuokseen, jossa on 97,6 g (173,1 mmol) 5(S)-(Boc-amino)-4(S)-(tert-butyylidimetyylisilyylioksi)-6-sykloheksyyli-2(R)-[(p-metoksifenyyli)metyyli]heksaanihappoa 600 ml:ssa DMF:ää, ja seos jäähdytetään 10 °C:seen. Sitten lisätään 31,1 ml (93-% puhdasta, 190 mmol) dietyylisyaanifosfonaattia (Aldrich, Milwaukee/USA) ja 60,4 ml (432 mmol) trietyyliamiinia. 1 tunnin kuluttua huoneenlämpötilassa, reaktioseos kaadetaan 1,5 l:aan jäävettä, ja tämä seos uutetaan 3x kulloinkin 0,5 l:lla etyyliasetaattia. Etyyliasetaattifaasit pestään 2x vedellä, 10-%:isella sitruunahappoliuoksella, vedellä, kylläisellä $NaHCO_3$-liuoksella, vedellä ja suolaliuoksella, kuivataan Na_2SO_4:llä ja haihdutetaan. Sekoitetaan 2 l:aan heksaania 50 °C:ssa, jäähdytetään 5 °C:seen ja suodatetaan pois, jolloin saadaan puhdas otsikkoyhdiste: TLC R_f(A) = 0,7; TLC R_f(J) = 0,2; t_{Ret}(II) = 23,8 min; FAB-MS $(M+H)^+$ = 720.

Esimerkki 13: 5(S)-{[(1-etoksikarbonyylipiperidin-4-yyli)karbonyylilamino}-4(S)-hydroksi-6-sykloheksyyli-2(R)-[(p-metoksifenyyli)metyyli]heksanoyyli-(L)-Val-N-(2-metoksietyyli)amidi

Jääkylmää liuosta, jossa on 250 mg (0,461 mmol) 5(S)-amino-4(S)-hydroksi-6-sykloheksyyli-2(R)-[(p-metoksifenyyli)metyyli]heksanoyyli-(L)-Val-N-(2-metoksietyyli)amidia (hydrokloridisuolaa) 3,5 ml:ssa THF:ää, käsitellään N_2-ilmakehässä 212 µl:lla (1,15 mmol) trietyyliamiinia ja liuoksella, jossa on 101 mg (0,461 mmol) (1-etoksi-karbonyylipiperidin-4-yyli)karbonyylikloridia (katso esimerkkiä 13b), ja tämä seos lämmitetään huoneenlämpötilaan. 2 tunnin kuluttua reaktioseos kaadetaan veteen, ja tämä seos uutetaan 3x etyyliasetaatilla. Orgaaniset faasit pestään vedellä, kylläisellä $NaHCO_3$-liuoksella ja suolaliuoksella, kuivataan

Na_2SO_4:llä ja haihdutetaan; jäännös käsitellään DIPE:llä, jolloin saadaan otsikkoyhdistettä: TLC R_f(B) = 0,39; t_{Ret}(II) = 14,4 min; FAB-MS $(M+H)^+$ = 689.

Lähtöaine valmistetaan seuraavasti:

13a) 5(S)-amino-4(S)-hydroksi-6-sykloheksyyli-2(R)-[(p-metoksifenyyli)metyyli]heksanoyyli-(L)-Val-N-(2-metoksietyyli)amidi (hydrokloridisuola)

43,8 g (72,3 mmol) 5(S)-(Boc-amino)-4(S)-hydroksi)-6-sykloheksyyli-2(R)-[(p-metoksifenyyli)metyyli]heksanoyyli-(L)-Val-N-(2-metoksietyyli)amidia (esimerkki 12) käsitellään kosteuden pois sulkien ja jäällä jäähdyttäen 250 ml:lla 3,8 M HCl/dioksaania, ja tätä seosta sekoitetaan 2 tunnin ajan. Seuraavaksi reaktioseos haihdutetaan kiertohaihduttimella, ja jäännös otetaan 600 ml:aan dioksaania, ja tämä liuos lyofilisoidaan. Lyofilisaatti sekoitetaan 1 l:aan eetteriä, suodatetaan pois, ja sekoitetaan jälleen kerran 0,7 l:aan etyyliasetaattia ja suodatetaan pois, jolloin saadaan otsikkoyhdiste: t_{Ret}(II) = 10,1 min; FAB-MS $(M+H)^+$ = 506; alkuaineanalyysi laskettu: C 60,94 %, H 8,96 %, N 7,61 %, Cl 6,42 %, H_2O 1,76 %; saatu C 60,7 %, H 9,0 %, N 7,7%, Cl 6,8 %, H_2O 1,76%. Toinen suodos (etyyliasetaatti) haihdutetaan, ja jäännös otetaan etyyliasetaattiin; tämä liuos pestään kylläisellä $NaHCO_3$-liuoksella, vedellä ja suolaliuoksella, kuivataan Na_2SO_4:llä ja haihdutetaan. Jäännös kromatografoidaan pylväällä (SiO_2, etyyliasetaatti), jolloin saadaan 5(S)-[1(S)-amino-2-sykloheksyylietyyli]-3(R)-[(p-metoksifenyyli)metyyli]dihydrofuran-2-(3H)-onia: t_{Ret}(II) = 11,3 min; FAB-MS $(M+H)^+$ = 332; IR (CH_2Cl_2): mm. 3390wb, 2930s, 2855m, 1763s, 1612m, 1515s, 1245s, 1180s, 1037m.

13b) 4-kloorikarbonyyli-1-etoksikarbonyylipiperidiini

Liuosta, jossa on 578,2 g 4-karboksi-1-etoksikarbonyylipiperidiiniä 1200 ml:ssa tolueenia, käsitellään ensin 1,0 g:lla N,N-dimetyyliformamidia ja sitten 68 - 70 °C:ssa ja 2 tunnin aikana 369,0 g:lla tionyylikloridia. Seuraavaksi seosta sekoitetaan vielä 30 min ajan 70 °C:ssa, minkä jäl-

keen tolueeni tislataan pois tyhjössä, ja jäännöstä kaasunpoistoistokäsitellään sitten huoneenlämpötilassa noin 30 min ajan suurtyhjössä, jolloin saadaan otsikkoyhdiste heikosti kellertävän öljyn muodossa [IR (Film): 2960, 2870, 1790, 1695, 1470, 1435, 1300, 1230, 1130, 960, 765 cm^{-1}]. Tuote tislautuu hajoamatta sulamispisteessä 96 - 98 °C [10,7 - 12,0 Pa (0,08 - 0,09 torr)].

13c) 4-karboksi-1-etoksikarbonyylipiperidiini

4-karboksi-1-etoksikarbonyylipiperidiinia valmistetaan piperidiini-4-karboksyylihaposta (Aldrich, Steinheim, FRG) esimerkiksisaattamalla piperidiini-4-karboksyylihappoa reagoimaan etyyliklooriformiaatin kanssa natriumhydroksidin vesiliuoksessa 2 tunnin ajan 0 - 5 °C:ssa. Otsikkoyhdiste uutetaan vesifaasista ravistelemalla tolueenin kanssa. Tolueenifaasi, joka sisältää liuenneen otsikkoyhdisteen, kuivataan Na_2SO_4:llä ja käytetään suoraan edelleen.

Esimerkki 14: Seuraavat yhdisteet valmistetaan analogisesti jollekin edellä tai alla olevista esimerkeistä:

I) 5(S)-(Boc-amino)-4(S)-hydroksi-6-fenyyli-2(R)-[(o-fluori-p-metoksifenyyli)-metyyli]heksanoyyli-(L)-Val-N-(2-metoksietyyli)amidi

II) 5(S)-(Boc-amino)-4(S)-hydroksi-6-fenyyli-2(R)-[(p-fluori-o-metoksifenyyli)metyyli]heksanoyyli-(L)-Val-N-(2-metoksietyyli)amidi

III) 5(S)-(Boc-amino)-4(S)-hydroksi-6-fenyyli-2(R)-[(o-hydroksi-p-metoksifenyyli)metyyli]heksanoyyli-(L)-Val-N-(2-metoksietyyli)amidi

IV) 5(S)-(Boc-amino)-4(S)-hydroksi-6-(p-metoksifenyyli)-2(R)-(sykloheksyylimetyyli)heksanoyyli-(L)-Val-N-(2-metoksietyyli)amidi

80 mg (0,132 mmol) 5(S)-(Boc-amino)-4(S)-hydroksi-6-(p-

metoksifenyyli)-2(R)-[(sykloheksen-1-yyli)-metyyli]heksanoyyli-(L)-Val-N-(2-metoksietyyli)amidia (esimerkki 14 V)) 4 ml:ssa etanoli/etyyliasetaattia, 3:1, hydrogenoidaan kun läsnä on 40 mg 5-%:ista Pd/C:tä ja standardipaineessa. Katalysaattori suodatetaan pois, jäännös pestään metyleenikloridi/metanolilla, ja suodos haihdutetaan, jolloin saadaan suhteellisen suuri määrä kiteistä raakatuotetta. Tämä liuotetaan metyleenikloridi/metanoliin, käsitellään silikageelillä ja kuivataan. Jauhe lisätään silikageelipylvääseen, ja eluoidaan metyleenikloridi/etyyliasetaatti/etanolilla, 30:20:1, jolloin saadaan otsikkoyhdiste: TLC R_f(P) = 0,28; t_{Ret}(H) = 15,9 min; FAB-MS $(M+H)^+$ = 606.

V) <u>5(S)-(Boc-amino)-4(S)-hydroksi-6-(4-metoksifenyyli)-2(R)-[sykloheksen-1-yyli-metyyli]heksanoyyli-(L)-Val-N-(2-metoksietyyli)amidi</u>

344 mg (0,479 mmol) 5(S)-(Boc-amino)-4(S)-(tert-butyylidimetyylisilyylioksi)-6-(p-metoksifenyyli)-2(R)-[(sykloheksen-1-yyli)metyyli]heksanoyyli-(L)-Val-N-(2-metoksietyyli)amidia liuotetaan suojakaasun alla 9,9 ml:aan DMF:ää, ja tämä liuos käsitellään 302 mg:lla (0,958 mmol) TBAF:ää. 15 tunnin kuluttua huoneenlämpötilassa reaktioseos kaadetaan 160 ml:aan vettä, ja tämä seos uutetaan 3 erällä etyyliasetaattia. Orgaaniset faasit pestään 2x kylläisellä $NaHCO_3$-liuoksella ja suolaliuoksella, kuivataan Na_2SO_4:llä ja haihdutetaan. Käsitellään DIPE:llä, jolloin saadaan otsikkoyhdiste: TLC R_f(O) = 0,56; TLC R_f(P) = 0,28; t_{Ret}(II) = 15,4 min; FAB-MS $(M+H)^+$ = 604.

Lähtöaine valmistetaan seuraavasti:

14 Va) <u>Sykloheksen-1-yylimetanoli</u>

Liuosta, jossa on 8,0 g (55,3 mmol) 1-syklohekseenikarbonyylikloridia (Pfaltz & Bauer, Waterbury/USA) 168 ml:ssa eetteriä. jäähdytetään suojakaasun alla -20 °C:seen, ja käsitellään 2,35 g:lla (62 mmol) litiumaluminiumhydridiä. Kun seosta on sekoitettu 1 tunnin ajan 16 °C:ssa, lisätään tipoittain 256 ml etyyliasetaattia (eksoterminen), sen

jälkeen 76 ml 2 N NaOH-liuosta. Seosta sekoitetaan huoneenlämpötilassa 30 min ajan, lisätään 160 g Na_2SO_4:ää, ja sitten tämä seos suodatetaan. Suodokseen lisätään jälleen kerran Na_2SO_4:ää, ja sitten suodos suodatetaan. Suodos haihdutetaan lievissä olosuhteissa [2 kPa (20 mbar), 35 °C], jolloin saadaan otsikkoyhdiste: ^{1}H-NMR (200 MHz, $CDCl_3$): 1,60 (m, 5 H), 2,00 (m, 2 $H_2C^{allyyli}$), 3,97 (s, H_2C-OH), 5,66 (m, $HC^{olefiini}$).

14 Vb) Sykloheksen-1-yyli-metyylibromidi

Liuosta, jossa on 6,2 g (55,3 mmol) sykloheksen-1-yylimetanolia 800 ml:ssa metyleenikloridia, käsitellään 0 °C:ssa 27,5 g:lla (83 mmol) tetrabromimetaania ja 21,7 g:lla (83 mmol) trifenyylifosfiinia. 35 min kuluttua seos haihdutetaan kiertohaihduttimella lievissä olosuhteissa. Jäännös pestään 5 erällä pentaania, jotka ovat kukin 40 ml. Yhdistetyt pentaanifaasit haihdutetaan ja tislataan kugelrohr-laitteella [140 - 160 °C, ~2 kPa (20 mbar], jolloin saadaan otsikkoyhdiste: ^{1}H-NMR (200 MHz, $CDCl_3$): 1,6 (m, 2 H_2C), 2,1 (m, 2 $H_2C^{allyyli}$), 3,93 (s, H_2C-Br), 5,88 (m, $HC^{olefiini}$); ^{13}C-NMR ($CDCl_3$): 22,3, 22,9, 25,9 26,8 (4 CH_2), 40,4 (CH_2-Br), 128,6, 135,1 (2 $C^{olefiini}$).

14 Vc) 5(S)-[1(S)-(Boc-amino)-2-(p-metoksifenyyli)etyyli]-3(R)-[(sykloheksen-1-yyli)-metyyli]dihydrofuran-2-(3H)-oni

Liuosta, jossa on 6,36 g (18,9 mmol) 5(S)-[1(S)-(Boc-amino)-2-(p-metoksifenyyli)etyyli]-dihydrofuran-2-(3H)-onia (valmistus, katso esimerkkiä 11a) 34 ml:ssa absoluuttista THF:ää ja 3,8 ml:ssa DMPU:ta, käsitellään -75 °C:ssa ja N_2-ilmakehässä 36,5 ml:lla 1 M litiumbis(trimetyylisilyyli)-amidiliuosta THF:ssä (Aldrich). 15 min kuluttua lisätään tipoittain liuos, jossa on 3,3 g (18,9 mmol) sykloheksen-1-yylimetyylibromidia pienessä määrässä absoluuttista THF:ää, ja sitten tätä seosta sekoitetaan perusteellisesti 1 tunnin ajan -70 °C:ssa. Seuraavaksi lisätään 7 ml propionihappoa, ja sitten 7 ml vettä -75 °C:ssa. Reaktioseos lämmitetään 0 °C:seen ja kaadetaan 190 ml:aan etyyliasetaattia ja 100

ml:aan 10-%:ista sitruunahappoliuosta, ja sitten tätä seosta sekoitetaan 5 min ajan; orgaaninen faasi erotetaan ja washed kylläisellä natriumbikarbonaattiliuoksella ja suolaliuoksella. Vesifaasit uutetaan uudelleen 2x etyyliasetaatilla, ja orgaaniset faasit kuivataan natriumsulfaatilla ja haihdutetaan. Kromatografoidaan pylväällä (SiO_2, heksaani/etyyliasetaatti, 4:1 → 3:1), jolloin saadaan puhdas otsikkoyhdiste: TLC R_f(D) = 0,54; t_{Ret}(II) = 18,7 min; FAB-MS $(M\text{-buten}+H)^+$ = 430.

14 Vd) 5(S)-(Boc-amino)-4(S)-hydroksi-6-(p-metoksifenyyli)-2(R)-[(sykloheksen-1-yyli)-metyyli]heksaanihappo

1,25 g (2,91 mmol) 5(S)-[1(S)-(Boc-amino)-2-(p-metoksifenyyli)etyyli]-3(R)-[(sykloheksen-1-yyli)metyyli]dihydrofuran-2-(3H)-onia 43,4 ml:ssa dimetoksietaania ja 22,1 ml:ssa vettä hydrolysoidaan suojakaasun alla 10,8 ml:lla 1 M litiumhydroksidiliuosta. 15 tunnin kuluttua reaktioseos kaadetaan jääkylmään seokseen, jossa on 140 ml kylläistä NH_4Cl-liuosta, 12 ml 10-%:ista sitruunahappoliuosta ja 58 ml metyleenikloridia. Vesifaasi erotetaan pois ja uutetaan kahdesti metyleenikloridilla. Orgaaniset faasit pestään suolaliuoksella, kuivataan Na_2SO_4:llä ja haihdutetaan: t_{Ret}(II) = 15,6 min; FAB-MS $(M\text{-buten}+H)^+$ = 448.

14 Ve) 5(S)-(Boc-amino)-4(S)-(tert-butyylidimetyylisilyylioksi)-6-(p-metoksifenyyli)-2(R)-[(sykloheksen-1-yyli)-metyyli]heksaanihappo

1,19 g (2,66 mmol) 5(S)-(Boc-amino)-4(S)-hydroksi)-6-(p-metoksifenyyli)-2(R)-[(sykloheksen-1-yyli)metyyli]heksaanihappoa liuotetaan suojakaasun alla 2,9 ml:aan DMF:ää, ja tämä liuos käsitellään 1,84 g:lla (12,2 mmol) tert-butyylidimetyyliklоorisilaania ja 1,48 g:lla (21,8 mmol) imidatsolia. 16 tunnin kuluttua huoneenlämpötilassa reaktioseos kaadetaan 200 ml:aan jäävettä, ja tämä seos uutetaan 3x etyyliasetaatilla. Orgaaniset faasit pestään 10-%:isella sitruunahappoliuoksella, 2x vedellä ja suolaliuoksella, kuivataan Na_2SO_4:llä ja haihdutetaan. Jäännös otetaan

32 ml:aan metanolia ja 12 ml:aan THF:ää, ja tämä liuos käsitellään liuoksella, jossa on 2,2 g kaliumkarbonaattia 12 ml:ssa vettä, ja seosta sekoitetaan 3 tunnin ajan huoneenlämpötilassa. Seuraavaksi reaktioseos haihdutetaan osaksi kiertohaihduttimella, ja jäännös kaadetaan jääkylmään 10-%:iseen sitruunahappoliuokseen, ja tämä seos uutetaan 3x etyyliasetaatilla. Orgaaniset faasit pestään 2 erällä vettä ja suolaliuosta, kuivataan Na_2SO_4:llä ja haihdutetaan, jolloin saadaan otsikkoyhdiste: TLC R_f(D) = 0,37; t_{Ret}(II) = 22,8 min.

14 Vf) <u>5(S)-(Boc-amino)-4(S)-(tert-butyylidimetyylisilyylioksi)-6-(p-metoksifenyyli)-2(R)-[(sykloheksen-1-yyli)metyyli]heksanoyyli-(L)-Val-N-(2-metoksietyyli)amidi</u>

300 mg (0,613 mmol) 5(S)-(Boc-amino)-4(S)-(tert-butyylidimetyylisilyylioksi)-6-(p-metoksifenyyli)-2(R)-[(sykloheksen-1-yyli)metyyli]heksaanihappoa ja 117 mg (0,674 mmol) H-(L)-Val-N-(2-metoksietyyli)amidia (esimerkki 1b)) liuotetaan N_2-ilmakehässä 6,0 ml:aan 0,25 M NMN/CH_3CN:ää, ja tähän liuokseen lisätään 255,5 mg (0,674 mmol) HBTU:ta. 17 tunnin kuluttua huoneenlämpötilassa reaktioseos haihdutetaan suurtyhjössä, ja jäännös otetaan etyyliasetaattiin; tämä liuos pestään vedellä, 2x 10-%:isella sitruunahappoliuoksella, 2x kylläisellä $NaHCO_3$-liuoksella ja suolaliuoksella. Vesifaasit uutetaan edelleen 2x etyyliasetaatilla, ja yhdistetyt orgaaniset faasit kuivataan Na_2SO_4:llä, jolloin saadaan otsikkoyhdistettä: t_{Ret}(II) = 23,3 min.

Esimerkki 15: <u>5(S)-(Boc-amino)-4(S)-hydroksi-6-syklohek-syyli-2(R)-[(4-bentsyylioksi-fenyyli)metyyli]heksanoyyli-(L)-Val-N-(2-metoksietyyli)amidi</u>

Analogisesti esimerkille 1, 0,35 g (0,44 mmol) 5(S)-(Boc-amino)-4(S)-(tert-butyyli-dimetyylisilyylioksi)-6-syklo-heksyyli-2(R)-[(4-bentsyylioksi-fenyyli)-metyyli]-heksanoyyli-(L)-Val-N-(2-metoksietyyli)amidia 3 ml:ssa DMF:ää saatetaan reagoimaan 0,278 g:n (0,88 mmol) kanssa TBAF·trihydraattia, jolloin saadaan otsikkoyhdistettä. Jatkokä-

sitellään, sekoitetaan dietyylieetterin kanssa, ja suohatetaan, jolloin saadaan puhdas otsikkoyhdiste. TLC R_f(B) = 0,52; t_{Ret}(II) = 18,06 min; FAB-MS ($M+H^+$) = 682.

15a) 3(R)-[(4-bentsyylioksifenyyli)metyyli]-5(S)-[1(S)-(Boc-amino)-2-sykloheksyylietyyli]-dihydrofuran-2-oni

Analogisesti esimerkille 5d), 5,2 g (16,7 mmol) 5(S)-[1(S)-(Boc-amino)-2-sykloheksyyli-etyyli]-dihydrofuran-2-onia [(valmistus, katso esimerkkiä 12a)] liuotettuna 50 ml:aan THF:ää deprotonoidaan -70 °C:ssa 33,4 ml:lla 1 M litium-bis(trimetyylisilyyli)amidiliuosta THF:ssä, ja alkyloidaan -75 °C:ssa 1 tunnin ajan 5,2 g:lla (16,07 mmol) 4-bentsyylioksibentsyylijodidia [valmistus, katso esimerkkiä 1d)] 15 ml:ssa THF:ää. Käsitellään -75 °C:ssa 6,2 ml:lla (83,02 mmol) propionihappoa ja vettä, ja jatkokäsitellään edelleen, kromatografoidaan pylväällä (SiO_2, heksaani/etyyliasetaatti: 4/1), jolloin saadaan otsikkoyhdiste. TLC R_f(heksaani/etyyliasetaatti: 4/1) = 0,27; t_{Ret}(II) = 20,41 min.

15b) 5(S)-(Boc-amino)-4(S)-hydroksi-6-sykloheksyyli-2(R)-[(4-bentsyylioksifenyyli)metyyli]-heksaanihappo

2,4 g (4,728 mmol) 3(R)-[(4-bentsyylioksifenyyli)metyyli]-5(S)-[1(S)-(Boc-amino)-2-sykloheksyylietyyli]dihydrofuran-2-onia 10 ml:ssa dimetoksietaania hydrolysoidaan suojakaasun alla 9,45 ml:lla 1 M litiumhydroksidiliuosta. 17 tunnin kuluttua huoneenlämpötilassa, reaktioseos käsitellään jääkylmällä seoksella, jossa on 324 ml kylläistä NH_4Cl-liuosta, 27 ml 10-%:ista sitruunahappoliuosta ja 134 ml metyleenikloridia. Lisätään metanolia tuotteen liuottamiseksi täydellisesti. Vesifaasi erotetaan pois, ja uutetaan kahdesti metyleenikloridilla. Orgaaniset faasit pestään suolaliuoksella, kuivataan Na_2SO_4:llä ja haihdutetaan. Raakatuote puhdistetaan pylväskromatografialla (SiO_2, eluentti C), jolloin saadaan otsikkoyhdiste. TLC R_f(C) = 0,35; t_{Ret}(II) = 17,88 min. FAB-MS ($M+H^+$) = 526.

15c) 5(S)-(Boc-amino)-4(S)-(tert-butyylidimetyylisilyy-lioksi)-6-sykloheksyyli-2(R)-[(4-bentsyylioksifenyyli)metyyli]heksaanihappo

Analogisesti esimerkille 5f), 28,8 g (54,8 mmol) 5(S)-(Boc-amino)-4(S)-hydroksi-6-sykloheksyyli-2(R)-[(4-bentsyylioksifenyyli)metyyli]heksaanihappoa 288 ml:ssa DMF:ää muutetaan otsikkoyhdisteeksi käyttämällä 35,8 g (237,6 mmol) tert-butyylidimetyylikloorisilaania ja 30 g (440 mmol) imidatsolia. Otsikkoyhdiste puhdistetaan pylväskromatografialla (SiO_2, heksaani/etyyliasetaatti: 4/1 → 1/1); TLC R_f(E) = 0,34; t_{Ret}(gradientti 75 → 100 % (a):ta (b):ssä 20 min aikana) = 25,06 min; FAB-MS ($M+H^+$) = 526.

15d) 5(S)-(Boc-amino)-4(S)-(tert-butyylidimetyylisilyy-lioksi)-6-sykloheksyyli-2(R)-[(4-bentsyylioksifenyyli)metyyli]heksanoyyli-(L)-Val-N-(2-metoksietyyli)amidi

Analogisesti esimerkille 12e, liuos, jossa on 3 g (18,7 mmol) H-(L)-Val-N-(2-metoksietyyli)amidia ja 10 g (15,6 mmol) 5(S)-(Boc-amino)-4(S)-(tert-butyylidimetyylisilyy-lioksi)-6-sykloheksyyli-2(R)-[(4-bentsyylioksi-fenyyli)metyyli]heksaanihappoa 50 ml:ssa DMF:ää, jäähdytetään 5 °C:seen jäähauteella, ja käsitellään 2,9 ml:lla (17,2 ml) dietyylisyaanifosfonaattia ja, sen jälkeen, 5,5 ml:lla trietyyliamiinia. Kun on sekoitettu huoneenlämpötilassa, seos kaadetaan veteen, ja tämä seos uutetaan kolmesti etyyliasetaatilla. Yhdistetyt orgaaniset faasit pestään vedellä, kylläisellä natriumbikarbonaattiliuoksella (kahdesti) ja suolaliuoksella, kuivataan natriumsulfaatilla, ja konsentroidaan alennetussa paineessa. Otsikkoyhdiste puhdistetaan pylväskromatografialla (SiO_2, C); TLC R_f(A) = 0,56; t_{Ret}(B) = 24,82 min FAB-MS ($M+H^+$) = 796.

Esimerkki 16: 5(S)-(Boc-amino)-4(S)-(hydroksi)-6-sykloheksyyli-2(R)-[(4-hydroksifenyyli)metyyli]heksanoyyli-(L)-Val-N-(2-metoksietyyli)amidi

Analogisesti esimerkille 1, 0,547 g (0,775 mmol) 5(S)-(Boc-amino)-4(S)-(tert-butyylidimetyylisilyylioksi)-6-syklohek-

syyli-2(R)-[(4-hydroksifenyyli)metyyli]heksanoyyli-(L)-Val-N-(2-metoksietyyli)amidia 5 ml:ssa DMF:ää saatteaan reagoimaan 0,488 g:n (1,549 mmol) kanssa TBAF·trihydraattia, jolloin saadaan otsikkoyhdistettä. Jatkokäsitellään ja sekoitetaan dietyylieetterin kanssa ja suodatetaan, jolloin saadaan puhdas otsikkoyhdiste. TLC R_f(B) = 0,37; $t_{R\alpha}$(II) = 14,44 min; FAB-MS ($M+H^+$) = 592.

Lähtöaineyhdiste saadaan seuraavalla tavalla:

16a) 5(S)-(Boc-amino)-4(S)-(tert-butyylidimetyylisilyylioksi)-6-sykloheksyyli-2(R)-[(4-hydroksifenyyli)metyyli]heksanoyyli-(L)-Val-N-(2-metoksietyyli)amidi

0,64 g (0,804 mmol) 5(S)-(Boc-amino)-4(S)-(tert-butyylidimetyylisilyylioksi)-6-sykloheksyyli-2(R)-[4-(bentsyylioksi)fenyylimetyyli]heksanoyyli-(L)-Val-N-(2-metoksietyyli)amidia 20 ml:ssa metanolia hydrogenoidaan, kun läsnä on 0,32 g 10-%:ista Pd/C:tä. Katalysaattori suodatetaan pois ja suodos haihdutetaan, minkä jälkeen saatu otsikkoyhdiste alistetaan edelleen reaktiolle enempää puhdistamatta; TLC R_f(C) = 0,18; $t_{R\alpha}$(II) = 21,81 min; FAB-MS ($M+H^+$) = 706.

Esimerkki 17: 5(S)-(Boc-amino)-4(S)-(hydroksi)-6-syklohek-syyli-2(R)-[(4-metoksifenyyli)metyyli]heksanoyyli-(L)-Val-N-(2-metoksietyyli)amidi

Analogisesti esimerkille 1, 0,6 g (0,833 mmol) 5(S)-(Boc-amino)-4(S)-(tert-butyylidimetyylisilyylioksi)-6-syklohek-syyli-2(R)-[4-metoksifenyylimetyyli]heksanoyyli-(L)-Val-N-(2-metoksietyyli)amidia 5 ml:ssa DMF:ää saatetaan reagoimaan 0,526 g:n (1,67 mmol) kanssa TBAF·trihydraattia, jolloin saadaan otsikkoyhdistettä. Jatkokäsitellään, sekoitetaan dietyylieetterin kanssa ja suodatetaan, jolloin saadaan puhdas otsikkoyhdiste. TLC R_f(A) = 0,45; $t_{R\alpha}$(II) = 16,14 min; FAB-MS ($M+H^+$) = 606.

Lähtöaineyhdiste valmistetaan seuraavalla tavalla:

17a) 5(S)-(Boc-amino)-4(S)-(tert-butyylidimetyylisilyylioksi)-6-sykloheksyyli-2(R)-[(4-metoksifenyyli)metyyli]heksanoyyli-(L)-Val-N-(2-metoksietyyli)amidi

Liuosta, jossa on 0,75 g (1,06 mmol) 5(S)-(Boc-amino)-4(S)-(tert-butyylidimetyylisilyylioksi)-6-sykloheksyyli-2(R)-[(4-hydroksifenyyli)metyyli]heksanoyyli-(L)-Val-N-(2-metoksietyyli)amidia 25 ml:ssa dioksaania, käsitellään 1,384 g:lla (4,25 mmol) cesiumkarbonaattia ja, 1 tunnin kuluttua, 2,07 ml:lla (21,24 mmol) metyylijodidia. Kun on sekoitettu huoneenlämpötilassa 16 tunnin ajan, kiinteä aine suodatetaan pois ja pestään etyyliasetaatilla. Suodos pestään, peräkkäin, vedellä, kylläisellä natriumbikarbonaatin vesiliuoksella ja suolaliuoksella. Kuivataan natriumsulfaatilla ja haihdutetaan alennetussa paineessa, tulokseksi saatu jäännös sekoitetaan heksaanin kanssa ja suodatetaan, jolloin saadaan otsikkoyhdiste. TLC R_f(J) = 0,6; t_{Ret}(II) = 23,65 min; FAB-MS ($M+H^+$) = 720.

Esimerkki 18: 5(S)-(2,2,2-trifluorietoksikarbonyyliamino)-4(S)-(hydroksi)-6-sykloheksyyli-2(R)-[(4-metoksifenyyli)metyyli]heksanoyyli-(L)-Val-N-(2-metoksietyyli)amidi

400 mg (0,791 mmol) 5(S)-amino-4(S)-(hydroksi)-6-sykloheksyyli-2-(R)-[4-metoksifenyylimetyyli]heksanoyyli-(L)-Val-N-(2-metoksietyyli)amidia 5 ml:ssa DMF:ää käsitellään 0 °C:ssa ja peräkkäin 0,276 ml:lla (1,97 mmol) trietyyliamiinia ja 0,193 g:lla (1,186 mmol) trifluorietyylikloriformiaattia (US-patenttijulkaisu 3,852,464). Kun on sekoitettu 10 min ajan, reaktioseos kaadetaan veteen, ja tämä seos uutetaan kolmesti etyyliasetaatilla. Yhdistetyt uutteet pestään, peräkkäin, kylläisellä natriumbikarbonaatin vesiliuoksella ja suolaliuoksella, kuivataan natriumsulfaatilla, ja konsentroidaan alennetussa paineessa. Jäännös kiteytetään etyyliasetaatti/dietyylieetteristä, jolloin saadaan otsikkoyhdiste. TLC R_f(B) = 0,78; t_{Ret}(II) = 15,36 min; FAB-MS ($M+H^+$) = 632.

Lähtöaineyhdiste valmistetaan seuraavalla tavalla:

18a) 5(S)-amino-4(S)-(hydroksi)-6-sykloheksyyli-2(R)-[(4-metoksifenyyli)metyyli]-heksanoyyli-(L)-Val-N-(2-metoksietyyli)amidi

2,27 g (3,747 mmol) 5(S)-(Boc-amino)-4(S)-(hydroksi)-6-sykloheksyyli-2(R)-[(4-metoksifenyyli)metyyli]heksanoyyli-(L)-Val-N-(2-metoksietyyli)amidia (esimerkki 17) 20 ml:ssa metyleenikloridia käsitellään 20 ml:lla trifluorietikkahappoa 0 °C:ssa. Sekoitetaan 2 tuntia huoneenlämpötilassa, reaktioseos haihdutetaan ja jaetaan kylläisen natriumbikarbonaatin vesiliuoksen ja etyyliasetaatin välillä. Orgaaninen faasi pestään vielä kerran kylläisellä natriumbikarbonaatin vesiliuoksella ja suolaliuoksella, ja haihdutetaan kuiviin. Jäännös käsitellään eetterillä ja kromatografoidaan seuraavaksi (SiO_2, metyleenikloridi/metanoli: 9/1 → 1/1), jolloin saadaan otsikkoyhdiste. TLC R_f(B) = 0,43; t_{Ret}(II) = 10,23 min; FAB-MS ($M+H^+$) = 506.

Esimerkki 19: 5(S)-(Boc-amino)-4(S)-hydroksi-6-fenyyli-2(R)-(fenyylimetyyli)-heksanoyyli-(L)-Val-N-(2-metoksietyyli)amidi

Analogisesti esimerkille 1, 0,82 g (1,19 mmol) 5(S)-(Boc-amino)-4(S)-(tert-butyylidimetyylisilyylioksi)-6-fenyyli-2(R)-fenyylimetyyliheksanoyyli-(L)-Val-N-(2-metoksietyyli)amidia 12 ml:ssa DMF:ää saatetaan reagoimaan 0,756 g:n (2,38 mmol) kanssa TBAF·trihydraattia, jolloin saadaan otsikkoyhdistettä. Sekoitetaan dietyylieetterin kanssa, suodatetaan, jatkokäsitellään, jolloin saadaan puhdas otsikkoyhdiste. TLC R_f(A) = 0,37; t_{Ret}(II) = 14,58 min; FAB-MS ($M+H^+$) = 570.

Lähtöaineyhdiste valmistetaan seuraavalla tavalla:

19a) 5(S)-[1(S)-(Boc-amino)-2-fenyylietyyli]dihydrofuran-2-(3H)-oni (katso esimerkkiä 2c)) (katso myös A.E. DeCamp, A.T. Kawaguchi, R.P. Volante, ja I. Shinkai, Tetrahedron Lett. 32, 1867 (1991)).

173 g Zn/Cu:ta (valmistus: katso R.D. Smith, H.E. Simmons, W.E. Parham, M.D. Bhavsar, Org. Synth., Coll. vol. 5, 855

(1973)) ja 280 ml dimetyyliasetamidia lisätään N_2-ilmakehässä liuokseen, jossa on 375 g (1,65 mol) etyyli-2-jodipropionaattia (esimerkki 1k)) 1 700 ml:ssa tolueenia, ja tätä seosta sekoitetaan seuraavaksi kiivaasti huoneenlämpötilassa 1 tunnin ajan ja 4 tunnin ajan 80 °C:ssa (→ Zn-homoenolaattiliuos). Toisessa laitteessa (N_2-ilmakehä) liuosta, jossa on 122 ml (0,40 mol) tetraisopropyyliortotitanaattia 350 ml:ssa tolueenia ja 1 900 ml:ssa metyleenikloridia, käsitellään hieman jäähdyttäen sisäisessä lämpötilassa 15 - 25 °C 127 ml:lla (1,14 mol) titaanitetrakloridia, ja tätä seosta sekoitetaan 15 min ajan huoneenlämpötilassa (→ keltainen liuos), ja jäähdytetään -40 °C:seen (→ trikloorititaani-isopropoksidin osittainen kiteytyminen). Zn-homoenolaattiliuos, joka on jäähdytetty huoneenlämpötilaan, suodatetaan argonilmakehässä G3-huokoslasisuodattimen läpi, ja lisätään tipoittain trikloorititaani-isopropoksidiin pitäen lämpötilan -30 - -25 °C:ssa (→ syvänpunainen liuos), minkä jälkeen seosta sekoitetaan 5 min ajan -25 °C:ssa, ja jäähdytetään sitten -40 °C:seen. Seuraavaksi lisätään tipoittain liuos, jossa on 233 g (0,85 mol) (S)-N-Boc-fenyylialaninaalia (valmistus: katso D.J. Kempf, J. Org. Chem. 51, 3921 (1986), sitten kiteytetään heksaanista (0 °C, noin 18 tuntia), pestään kylmällä heksaanilla, ja kuivataan) 1 500 ml:ssa metyleenikloridia, ja sitten seosta sekoitetaan 15 tunnin ajan -22 - -18 °C:ssa ja, lopuksi, 1 tunnin ajan 0 °C:ssa. Reaktioseos otetaan 10 l:aan jäävettä ja 12 l:aan tert-butyylimetyylieetteriä, ja tätä seosta sekoitetaan kiivaasti 7 - 10 min ajan. Vesifaasi erotetaan pois, se uutetaan 2x 10 l:lla eetteriä; orgaaniset faasit pestään 8 l:lla vettä, 8 l:lla natriumvetykarbonaatin kylläistä vesiliuosta, 8 l:lla vettä ja 5 l:lla suolaliuosta; ne kuivataan natriumsulfaatilla ja haihdutetaan (→ kiteinen etyyli-5(S)-(Boc-amino)-4(S)-hydroksi-6-fenyyliheksanoaatti).

Edellä olevaa välituotetta kuumennetaan 2,5 tunnin ajan 100 °C:ssa 6 500 ml:ssa tolueenia ja 230 ml:ssa etikkahappoa ja argonilmakehässä. Kun se on jäähtynyt, reaktioseos kaade-

taan sekoittaen 6 l:aan jäävettä, ja vesifaasi erotetaan pois ja uutetaan 2x 2 000 ml:lla tolueenia; orgaaniset faasit pestään 5 l:lla kylläistä natriumvetykarbonaattiliuosta, 5 l:lla 40-%:ista natriumvetysulfiittiliuosta, 4 l:lla vettä ja 4 l:lla suolaliuosta, ja kuivataan natriumsulfaatilla. Orgaaniset faasit haihdutetaan noin 300-g:iseksi jäännökseksi, ja käsitellään 800 ml:lla heksaania (sekoittaen perusteellisesti useiden tuntien ajan), jolloin saadaan kiteinen laktoni, jonka HPLC osoittaa sisältävän noin 10 % (5R)-epimeeriä (TLC R_f(E) = 0,08; t_{Ret}(II) = 18,8 min). Tätä materiaalia käytetään seuraavassa vaiheessa. Puhdas otsikkoyhdiste voidaan saada pylväskromatografian jälkeen (SiO_2, heksaani/etyyliasetaatti, 2:1): TLC R_f(E) = 0,14; t_{Ret}(II) = 19,2 min; $[\alpha]^D$ = 17,71 (c = 1; etanoli).

19b) <u>5(S)-[1(S)-(Boc-amino)-2-fenyylietyyli]-3(R)-fenyylimetyylidihydro-furan-2-(3H)-oni</u>

(katso myös A.K. Ghosh, S.P. McKee, ja W.J. Thompson; J. Org. Chem. 56, 6500 (1991)).

Liuos, jossa on 1943 g (6,32 mol) 5(S)-[1(S)-(Boc-amino)-2-fenyylietyyli]dihydrofuran-2-(3H)-onia 12,0 l:ssa THF:ää ja 1,9 l:ssa 1,3-dimetyyli-3,4,5,6-tetrahydro-2(1H)-pyrimidinonia N_2-ilmakehässä, jäähdytetään -75 °C:seen, ja käsitellään sisäisessä lämpötilassa alle -70 °C 14 000 ml:lla 1 M litiumbis(trimetyylisilyyli)amidiliuosta THF:ssä (Aldrich), ja tätä seosta sekoitetaan seuraavaksi 20 min ajan -75 °C:ssa. Siihen lisätään tipoittain 835 ml (7,00 mol) bentsyylibromidia 1 tunnin aikana, minkä aikana sisälämpötila ei saa kohota yli -70 °C:seen, ja sitten seosta sekoitetaan läpikotaisin -75 °C:ssa 30 min ajan. Seuraavaksi kirkkaaseen liuokseen lisätään 2 320 ml propionihappoa (90 min) ja siten 2 320 ml vettä (1 tunti) antaen lämpötilan kohota -10 °C:seen. Reaktioseos kaadetaan 30 l:aan etyyliasetaattia ja 35 l:aan 10-%:ista sitruunahappoliuosta, ja vesifaasi erotetaan pois ja uutetaan uudelleen 2x 10 l:lla etyyliasetaattia. Orgaaniset faasit pestään 3x 12 l:lla kylläistä natriumbikarbonaattiliuosta, 20 l:lla suolaliuosta ja 2x 20

1:lla vettä, ja konsentroidaan sitten. Öljymäinen jäännös otetaan 10 l:aan tolueenia, ja tämä seos haihdutetaan jäännöstilavuuteen noin 5 l. Haihdutusjäännös suodatetaan 4 kg:n läpi Merck-silikageeliä (0,063- - 0,200-mm) pesten tolueenilla, ja raakatuote kiteytetään heksaanista (4 l heksaania/kg raakatuotetta), jolloin saadaan otsikkoyhdiste: TLC R_f(D) = 0,54; FAB-MS $(M+H)^+$ = 414.

19c) 5(S)-(Boc-amino)-4(S)-hydroksi-6-fenyyli-2(R)-fenyylimetyyliheksaanihappo

Liuosta, jossa on 17,6 g 5(S)-[1(S)-(Boc-amino)-2-fenyylietyyli]-3(R)-fenyylimetyyli-dihydrofuran-2-(3H)onia 710 ml:ssa etyleeniglykolidimetyylieetteriä ja 352 ml:ssa vettä, käsitellään tipoittain 20 °C:ssa ja 10 min kuluessa 176 ml:lla 1 M litiumhydroksidiliuosta. Tämän jälkeen reaktioseosta sekoitetaan huoneenlämpötilassa 1,5 tunnin ajan, ja sitten liuotin haihdutetaan pois. Jäännös kaadetaan 1 l:aan kylmää 10-%:iata sitruunahappoa, ja tämä hapan liuos uutetaan kolmesti kulloinkin 800 ml:lla etyyliasetaattia. Yhdistetyt uutteet pestään ensin 800 ml:lla vettä ja sitten 800 ml:lla suolaliuosta. Kun orgaaninen liuos on kuivattu natriumsulfaatilla, liuotin tislataan pois. Raakaa otsikkoyhdistettä käytetään seuraavassa vaiheessa enempää puhdistamatta. FAB-MS $(M+H)^+$ = 414.

19d) 5(S)-(Boc-amino)-4(S)-(tert-butyylidimetyylisilyylioksi)-6-fenyyli-2(R)-fenyyli-metyyliheksaanihappo

Liuosta, jossa on 6,35 g 5(S)-(Boc-amino)-4(S)-hydroksi-6-fenyyli-2(R)-fenyylimetyyli-heksaanihappoa 90 ml:ssa DMF:ää, käsitellään sekoittaen 8 g:lla imidatsolia ja 10 g:lla t-butyylidimetyylikloorisilaania. Kun on sekoitettu huoneenlämpötilassa 18 tunnin ajan, keltainen, kirkas liuos kaadetaan jääveteen, ja tämä seos uutetaan kolmesti kulloinkin 250 ml:lla etyyliasetaattia. Yhdistetyt uutteet pestään, peräkkäin, kolmesti 10-%:isella sitruunahapolla, kerran vedellä, kolmesti natriumbikarbonaatin kylläisellä vesiliuoksella, kerran vedellä, ja lopuksi suolaliuoksella.

Kun on kuivattu natriumsulfaatilla, liuotin haihdutetaan, ja tulokseksi saatu tert-butyylidimetyylisilyylieetteri (13,5 g) liuotetaan 53 ml:aan THF:ää, ja käsitellään 53 ml:lla etikkahappoa ja 20 ml:lla vettä. Kun on sekoitettu 3 tunnin ajan huoneenlämpötilassa, seos kaadetaan veteen, ja tämä seos uutetaan kolmesti eetterillä. Kerätyt eetteriuutteet pestään kahdesti vedellä ja kerran suolaliuoksella, ja kuivataan natriumsulfaatilla. Konsentroidaan, ja raakatuote puhdistetaan pylväskromatografialla (SiO_2, heksaani/etyyliasetaatti: 3,5/1,5), jolloin saadaan otsikkoyhdiste. TLC $R_f(D) = 0,37$; FAB-MS $(M+H)^+ = 528$.

19e) 5(S)-(Boc-amino)-4(S)-(tert-butyylidimetyylisilyylioksi)-6-fenyyli-2(R)-(fenyyli-metyyli)heksanoyyli-(L)-Val-N-(2-metoksietyyli)amidi

Liuosta, jossa on 1,25 g (2 mmol) 5(S)-(Boc-amino)-4(S)-(tert-butyylidimetyylisilyylioksi)-6-fenyyli-2(R)-(fenyylimetyyli)heksaanihappoa, 0,98 g (2,21 mmol) BOP:tä, 0,3 g (2,21 mmol) HOBT:tä ja 0,55 ml (4,98 mmol) N-metyylimorfoliinia 15 ml:ssa DMF:ää, sekoitetaan huoneenlämpötilassa 30 min ajan, ja käsitellään 0,208 ml:lla (2,42 mmol) (L)-Val-N-(2-metoksietyyli)amidia. Sekoitetaan huoneenlämpötilassa 5,5 tunnin ajan, seos kaadetaan 300 ml:aan vettä, ja tämä seos uutetaan kolmesti etyyliasetaatilla. Yhdistetyt orgaaniset faasit pestään vedellä, kylläisellä natriumbikarbonaattiliuoksella (kahdesti) ja suolaliuoksella, kuivataan natriumsulfaatilla, ja konsentroidaan alennetussa paineessa. Otsikkoyhdiste puhdistetaan pylväskromatografialla (SiO_2, D to A); TLC $R_f(C) = 0,23$.

Esimerkki 20: 5(S)-(Boc-amino)-4(S)-hydroksi-6-fenyyli-2(R)-(fenyylimetyyli)-heksanoyyli-(L)-[(sykloheksyyli)Gly]-N-(2-metoksietyyli)amidi

Analogisesti esimerkille 1, 0,96 g (1,33 mmol) 5(S)-(Boc-amino)-4(S)-(tert-butyylidimetyylisilyylioksi)-6-fenyyli-2(R)-(fenyylimetyyli)heksanoyyli-(L)-(sykloheksyyli)Gly-N-(2-metoksietyyli)amidia 33 ml:ssa DMF:ää saatetaan reagoi-

maan 0,836 g:n (2,66 mmol) kanssa TBAF·trihydraattia, jolloin saadaan otsikkoyhdiste. Jatkokäsitellään ja kromatografoidaan pylväällä (SiO_2, D → A), jolloin saadaan puhdas otsikkoyhdiste. TLC R_f(A) = 0,5; t_{Ret}(II) = 15,92 min; FAB-MS ($M+H^+$) = 610.

Lähtöaineyhdiste valmistetaan seuraavalla tavalla:

20a) N-Boc-(L)-(sykloheksyyli)glysiini

2,51 g (10 mmol) Boc-(L)-fenyyliglysiiniä (Fluka, Buchs, Sveitsi) hydrogenoidaan 1 tunnin ajan huoneenlämpötilassa standardipaineessa 50 ml:ssa metanolia ja kun läsnä on 250 mg Nishimura-katalysaattoria. Sitten katalysaattori suodatetaan pois ja pestään metanolilla. Suodos haihdutetaan, ja tulokseksi saatua otsikkoyhdistettä käytetään seuraavassa vaiheessa enempää puhdistamatta. TLC R_f(A) = 0,41.

20b) Boc-(L)-[(sykloheksyyli)Gly]-N-(2-metoksietyyli)amidi

Liuosta, jossa on 0,515 g (2 mmol) N-Boc-(L)-(sykloheksyyli)glysiiniä 10 ml:ssa metyleenikloridia, käsitellään peräkkäin, 0 °C:seen jäähdyttämisen jälkeen, 0,413 g:lla (2 mmol) DCC:tä ja 0,297 g:lla (2,2 mmol) HOBT:tä. 20 min kuluttua seos käsitellään 15 min aikana liuoksella, jossa on 0,172 ml (2 mmol) 2-metoksietyyliamiinia (Aldrich, Buchs, Sveitsi) 8 ml:ssa metyleenikloridia. Kun seosta on sekoitettu perusteellisesti huoneenlämpötilassa 19,5 tunnin ajan, kiinteä aine suodatetaan pois. Suodos pestään peräkkäin vedellä ja suolaliuoksella, ja kuivataan natriumsulfaatilla. Kun on konsentroitu alennetussa paineessa, raakatuote puhdistetaan pylväskromatografialla (SiO_2, eluentti J), jolloin saadaan otsikkoyhdiste. TLC R_f(A) = 0,56.

20c) H-(L)-[(sykloheksyyli)Gly]-N-(2-metoksietyyli)amidi

0,52 g (1,65 mmol) Boc-(L)-[(sykloheksyyli)Gly]-N-(2-metoksietyyli)amidia sekoitetaan 2 tunnin ajan 8,7 ml:ssa muurahaishappoa. Tämän jälkeen seos haihdutetaan kiertohaihduttimella, ja jäljelle jäänyt muurahaishappo poistetaan tyhjössä. Jäännös otetaan natriumbikarbonaatin kyl-

läiseen vesiliuokseen, ja tämä seos uutetaan neljästi metyleenikloridilla. Yhdistetyt orgaaniset uutteet pestään vedellä ja suolaliuoksella, kuivataan natriumsulfaatilla ja konsentroidaan. Raaka otsikkoyhdiste puhdistetaan pylväskromatografialla (SiO_2, eluentti B). TLC R_f(A) = 0,6.

20d) 5(S)-(Boc-amino)-4(S)-(tert-butyylidimetyylisilyylioksi)-6-fenyyli-2(R)-(fenyylimetyyli)heksanoyyli-(L)-[(sykloheksyyli)Gly]-N-(2-metoksietyyli)amidi

Liuosta, jossa on 0,817 g (1,55 mmol) 5(S)-(Boc-amino)-4(S)-(tert-butyylidimetyylisilyylioksi)-6-fenyyli-2(R)-(fenyylimetyyli)]heksaanihappoa (esimerkki 19e)), 0,365 g (1,7 mmol) H-(L)-[(sykloheksyyli)Gly]-N-(2-metoksietyyli)amidia, 0,645 g (1,7 mmol) HBTU:ta ja 0,4 ml (3,72 mmol) N-metyylimorfoliinia 15 ml:ssa asetonitriiliä, sekoitetaan huoneenlämpötilassa 16 tunnin ajan. Sitten reaktioseos konsentroidaan, ja jäännös otetaan etyyliasetaattiin. Tämä liuos pestään vedellä, 10-%:isella sitruunahapolla, vedellä, natriumbikarbonaatin kylläisellä vesiliuoksella ja suolaliuoksella, minkä jälkeen se kuivataan natriumsulfaatilla. Konsentroidaan, minkä jälkeen raakatuote puhdistetaan pylväskromatografialla (SiO_2, C), jolloin saadaan otsikkoyhdiste. TLC R_f(A) = 0,53.

Esimerkki 21: 5(S)-(Boc-amino)-4(S)-hydroksi-6-fenyyli-2(R)-(fenyylimetyyli)heksanoyyli-(L)-[(fenyyli)Gly]-N-(2-metoksietyyli)amidi

Analogisesti esimerkille 1, 1,15 g (1,6 mmol) 5(S)-(Boc-amino)-4(S)-(tert-butyylidimetyylisilyylioksi)-6-fenyyli-2(R)-(fenyylimetyyli)heksanoyyli-(L)-[(fenyyli)Gly]-N-(2-metoksi-etyyli)amidia 37 ml:ssa DMF:ää saatetaan reagoimaan 1,01 g:n (3,2 mmol) kanssa TBAF·trihydraattia, jolloin saadaan otsikkoyhdistettä. Jatkokäsitellään ja kromatografoidaan pylväässä (SiO_2, D → A), minkä jälkeen saadaan puhdas otsikkoyhdiste. TLC R_f(A) = 0,47; t_{Ret}(II) = 15,15 min; FAB-MS ($M+H^+$)= 604.

Lähtöaineyhdiste valmistetaan seuraavalla tavalla:

21a) Boc-(L)-(fenyyli)Gly-N-(2-metoksietyyli)amidi

Analogisesti esimerkille 20b), liuos, jossa on 0,503 g (2 mmol) N-Boc-(L)-(fenyyli)glysiiniä 10 ml:ssa metyleenikloridia, käsitellään peräkkäin, 0 °C:seen jäähdyttämisen jälkeen, 0,413 g:lla (2 mmol) DCC:tä ja 0,297 g:lla (2,2 mmol) HOBT:tä. 20 min kuluttua seosta käsitellään 15 min ajan liuoksella, jossa on 0,172 ml (2 mmol) 2-metoksietyyliamiinia 8 ml:ssa metyleenikloridia. Sekoitetaan perusteellisesti huoneenlämpötilassa ja jatkokäsitellään, minkä jälkeen raakatuote puhdistetaan sekoittamalla eetterissä. TLC R_f(A) = 0,5.

21b) H-(L)-[(fenyyli)Gly]-N-(2-metoksietyyli)amidi

Analogisesti esimerkille 20c), 0,61 g (1,98 mmol) Boc-(L)-[(fenyyli)Gly]-N-(2-metoksietyyli)amidia sekoitetaan 2 tunnin ajan 10,4 ml:ssa muurahaishappoa. Jatkokäsitellään, jolloin saadaan otsikkoyhdiste, jota käytetään edelleen enempää puhdistamatta. TLC R_f(B) = 0,3.

21c) 5(S)-(Boc-amino)-4(S)-(tert-butyylidimetyylisilyyli-oksi)-6-fenyyli-2(R)-(fenyylimetyyli)heksanoyyli-(L)-[(fenyyli)Gly]-N-(2-metoksietyyli)amidi

Analogisesti esimerkille 20d), liuos, jossa on 0,921 g (1,75 mmol) 5(S)-(Boc-amino)-4(S)-(tert-butyylidimetyylisilyylioksi)-6-fenyyli-2(R)-(fenyylimetyyli)heksaanihappoa, 0,4 g (1,92 mmol) H-(L)-[(fenyyli)Gly]-N-(2-metoksietyyli)amidia, 0,728 g (1,92 mmol) HBTU:ta ja 17,4 ml (4,2 mmol) 0,25 M N-metyylimorfoliiniliuosta asetonitriilissä, sekoitetaan 22 tunnin ajan huoneenlämpötilassa. Jatkokäsitellään, ja kromatografoidaan seuraavaksi pylväällä (SiO_2, etyyliasetaatti/heksaani: 1/1 → 3/1), jolloin saadaan otsikkoyhdiste. TLC R_f(A) = 0,63.

Esimerkki 22: 5(S)-[(1-metyyli-4-piperidinyylioksikarbonyyli)amino]-4(S)-hydroksi-6-sykloheksyyli-2(R)-[(p-metoksifenyyli)metyyli]heksanoyyli-(L)-Val-N-(2-metoksietyyli)amidi

Liuosta, jossa on 346 mg (3 mmol) 1-metyyli-4-piperidinolia (Fluka, Buchs, Sveitsi) 2 ml:ssa THF:ää, injisoidaan liuokseen, jossa on 217 mg (0,73 mmol) trifosgeenia 20 ml:ssa THF:ää. Tulokseksi saatu suspensio jäähdytetään jäähauteella ja käsitellään sitten 1,16 ml:lla (8,3 mmol) trietyyliamiinia, ja tulokseksi saatua seosta sekoitetaan seuraavaksi huoneenlämpötilassa 30 min ajan. Tämä suspensio lisätään suspensioon, jossa on 500 mg (0,92 mmol) 5(S)-amino-4(S)-hydroksi-6-sykloheksyyli-2(R)-[(p-metoksifenyyli)metyyli]-heksanoyyli-(L)-Val-N-(2-metoksi-etyyli)amidia 20 ml:ssa THF:ää, ja tätä seosta sekoitetaan 2 tunnin ajan argonilmakehässä. Reaktioseos kaadetaan jääveteen, ja tämä seos uutetaan 2x etyyliasetaatilla. Orgaaniset uutteet pestään, peräkkäin, vedellä, kylläisellä natriumbikarbonaattiliuoksella, vedellä ja suolaliuoksella, ja haihdutetaan. Raakatuote käsitellään eetterillä, liukenemattomat ainekset suodatetaan pois imupullolla, ja jäännös pestään eetterillä, jolloin saadaan otsikkoyhdiste. TLC R_f(K) = 0,60; t_{ret}(I) = 10,8 min; FAB MS $(M+H)^+$ = 647.

Lähtöaine valmistetaan seuraavasti:

22a) 5(S)-amino-4(S)-hydroksi-6-sykloheksyyli-2(R)-[(p-metoksifenyyli)metyyli]-heksanoyyli-(L)-Val-N-(2-metoksietyyli)amidi

Liuosta, jossa on 5 g (8,25 mmol) 5(S)-(Boc-amino)-4(S)-hydroksi-6-sykloheksyyli-2(R)-[(p-metoksifenyyli)metyyli]heksanoyyli-(L)-Val-N-(2-metoksietyyli)amidia esimerkistä 12 40 ml:ssa 4 N suolahappoa, sekoitetaan 2 tunnin ajan dioksaanissa jäähauteella. Seuraavaksi reaktioseos haihdutetaan tyhjössä, ja jäännös lyofilisoidaan dioksaanista, jolloin saadaan otsikkoyhdiste. TLC R_f(B) = 0,18; t_{ret}(I) = 11,3 min; FAB MS $(M+H)^+$ = 506.

Esimerkki 23: 5(S)-(3(S)-tetrahydrofuryylioksikarbonyyliamino)-4(S)-hydroksi-6-sykloheksyyli-2(R)-[(p-metoksifenyyli)metyyli]heksanoyyli-(L)-Val-N-(2-metoksietyyli)amidi

Suspensiota, jossa on 1,0 g (1,84 mmol) 5(S)-amino-4(S)-hydroksi-6-sykloheksyyli-2(R)-[(p-metoksifenyyli)metyyli]heksanoyyli-(L)-Val-N-(2-metoksietyyli)amidia esimerkistä 22a) 30 ml:ssa THF:ää, käsitellään -5 °C:ssa 1,28 ml:lla trietyyliamiinia, ja seuraavaksi 694 mg:lla (4,61 mmol) 3(S)-tetrahydrofuryylioksikarbonyylikloridia (katso J. Chromatography 506, 598 (1990)), ja tätä seosta sekoitetaan 1 tunnin ajan huoneenlämpötilassa argonilmakehässä. Reaktioseos kaadetaan jääveteen, ja tämä seos uutetaan 3x etyyliasetaatilla. Orgaaniset uutteet pestään peräkkäin vedellä, kylläisellä natriumbikarbonaattiliuoksella, vedellä ja suolaliuoksella, ja haihdutetaan. Raakatuote käsitellään etyyliasetaatilla, liukenemattomat ainekset suodatetaan pois imupullolla, ja jäännös pestään etyyliasetaatilla ja eetterillä, jolloin saadaan otsikkoyhdiste. TLC R_f(B) = 0,74; t_{ret}(I) = 14,0 min; FAB MS $(M+H)^+$ = 620.

Esimerkki 24: 5(S)-(2(R,S)-tetrahydropyranyylimetoksikarbonyyliamino)-4(S)-hydroksi-6-sykloheksyyli-2(R)-[(p-metoksifenyyli)metyyli]heksanoyyli-(L)-Val-N-(2-metoksietyyli)amidi

Analogisesti esimerkille 23, otsikkoyhdiste saadaan 2 epimeerin seoksena, joita ei voida erottaa HPLC:llä, lähtien 1,0 g:sta (1,84 mmol) 5(S)-amino-4(S)-hydroksi-6-sykloheksyyli-2(R)-[(p-metoksifenyyli)metyyli]-heksanoyyli-(L)-Val-N-(2-metoksietyyli)amidia esimerkistä 22a), 660 mg:sta (3,68 mmol) raseemista tetrahydropyranyylimetoksikarbonyylikloridia (katso Carbohydrate Res. 4(4), 343 (1967)) ja 0,909 ml:sta (6,45 mmol) trietyyliamiinia. TLC R_f(B) = 0,69; t_{ret}(I) = 15,5 min; FAB MS $(M+H)^+$ = 648.

Esimerkki 25: 5(S)-(5(S)-2-oksopyrrolidinyylimetoksikarbonyyliamino)-4(S)-hydroksi-6-sykloheksyyli-2(R)-[(p-metoksifenyyli)metyyli]heksanoyyli-(L)-Val-N-(2-metoksietyyli)amidi

Analogisesti esimerkille 22, lähdetään 542 mg:sta (1,0 mmol) 5(S)-amino-4(S)-hydroksi-6-sykloheksyyli-2(R)-[(p-metoksifenyyli)metyyli]-heksanoyyli-(L)-Val-N-(2-metoksietyyli)amidia esimerkistä 22a), 345 mg:sta (3 mmol) 5-(S)-hydroksimetyyli-2-pyrrolidonia (= (L)-pyroglutaminoli - Fluka, Buchs, Sveitsi), 297 mg:sta (1 mmol) trifosgeenia ja 1,25 ml:sta (9 mmol) trietyyliamiinia, puhdistetaan kromatografoimalla silikageelillä käyttämällä eluenttijärjestelmää K, jolloin saadaan otsikkoyhdiste. TLC R_f(K) = 0,50; t_{ret}(I) = 12,6 min; FAB MS $(M+H)^+$ = 647.

Esimerkki 26: 5(S)-(2-metoksietoksikarbonyyliamino)-4(S)-hydroksi-6-sykloheksyyli-2(R)-[(p-metoksifenyyli)metyyli]heksanoyyli-(L)-Val-N-(2-metoksietyyli)amidi

Analogisesti esimerkille 23, lähdetään 1,0 g:sta (1,84 mmol) 5(S)-amino-4(S)-hydroksi-6-sykloheksyyli-2(R)-[(p-metoksifenyyli)metyyli]-heksanoyyli-(L)-Val-N-(2-metoksietyyli)amidia esimerkistä 22a), 511 mg:sta (3,70 mmol) 2-metoksietoksikarbonyylikloridia ja 0,909 ml:sta (6,45 mmol) trietyyliamiinia, jolloin saadaan otsikkoyhdiste. TLC R_f(B) = 0,63; t_{ret}(I) = 13,9 min; FAB MS $(M+H)^+$ = 608.

Lähtöaine valmistetaan seuraavasti:

26a) 2-metoksietoksikarbonyylikloridi (= 2-metoksietyyliklooriformiaatti)

13,3 ml (168 mmol) 2-metoksietanolia (Fluka, Buchs, Sveitsi) lisätään tipoittain 0 - 5 °C:ssa ja typpi-ilmakehässä 100 ml:aan (202 mmol) 20-%:ista fosgeenin liuosta tolueenissa, ja tätä seosta sekoitetaan perusteellisesti 90 min ajan 0 °C:ssa ja 18 tunnin ajan huoneenlämpötilassa. Reaktioseos uutetaan vedellä, ja orgaaninen faasi suodatetaan vanun läpi ja haihdutetaan: IR (CH_2Cl_2): mm. 3055w, 2995w, 2935w, 2895w, 2825w, 1775s, 1167s, 1127s; ^{1}H-NMR (200 MHz,

$CDCl_3$): 3,38 (s, 3 H), 3,64 ja 4,44 (2t, J=5 Hz, kumpikin 2 H).

Esimerkki 27: 5(S)-((L)-tiatsolidin-4-yylikarbonyyliamino)-4(S)-hydroksi-6-sykloheksyyli-2(R)-[(p-metoksifenyyli)metyyli]heksanoyyli-(L)-Val-N-(2-metoksietyyli)amidi

Liuosta, jossa on 1,0 g (1,84 mmol) 5(S)-amino-4(S)-hydroksi-6-sykloheksyyli-2(R)-[(p-metoksifenyyli)metyyli]heksanoyyli-(L)-Val-N-(2-metoksietyyli)amidia esimerkistä 22a) 12 ml:ssa DMF:ää, käsitellään huoneenlämpötilassa peräkkäin 270 mg:lla (2,02 mmol) (L)-tiatsolidiini-4-karboksyylihappoa (= (L)-tiaproliini; Sigma, Buchs, Sveitsi), 0,33 ml:lla (2,02 mmol) dietyylisyaanifosfonaattia ja 0,91 ml:ssa (6,52 mmol) trietyyliamiinia, ja tulokseksi saatua suspensiota sekoitetaan 1 tunti argonilmakehässä. Suspensio laimennetaan 40 ml:lla etyyliasetaattia, ja suodatetaan. Jäännös liuotetaan 9:1 metyleenikloridin ja metanolin seokseen, ja sitten tämä seos haihdutetaan kuiviin. Jäännös käsitellään etyyliasetaatilla, jolloin otsikkoyhdiste saadaan valkoisena kiinteänä aineena. TLC R_f(B) = 0,72; t_{ret}(I) = 10,5 min; FAB MS $(M+H)^+$ = 621.

Esimerkki 28: 5(S)-(4-okso-4H-1-bentsopyran-2-yylikarbonyyliamino)-4(S)-hydroksi-6-sykloheksyyli-2(R)-[(p-metoksifenyyli)metyyli]heksanoyyli-(L)-Val-N-(2-metoksietyyli)amidi

Liuosta, jossa on 1,0 g (1,84 mmol) 5(S)-amino-4(S)-hydroksi-6-sykloheksyyli-2(R)-[(p-metoksifenyyli)metyyli]heksanoyyli-(L)-Val-N-(2-metoksietyyli)amidia esimerkistä 22a) 18 ml:ssa DMF:ää käsitellään huoneenlämpötilassa ja peräkkäin 470 mg:lla (2,40 mmol) 4-okso-4H-1-bentsopyran-2-karboksyylihappoa (Aldrich, Steinheim, SLT), 0,59 ml:lla (3,90 mmol) dietyylisyaanifosfonaattia ja 0,90 ml:lla (6,45 mmol) trietyyliamiinia, ja seosta sekoitetaan 5 tunnin ajan argonilmakehässä. Reaktioseos kaadetaan jatkokäsittelyä varten jääveteen, ja tämä seos uutetaan 2x etyyliasetaatilla. Orgaaniset uutteet pestään peräkkäin vedellä, kylläi-

sellä natriumbikarbonaatilla, vedellä ja suolaliuoksella, ja haihdutetaan sitten kuiviin. Puhdistetaan kromatografisesti silikageelillä käyttämällä metyleenikloridi/metanolia (98:2) ja käsittelemällä dietyylieetterillä, jolloin saadaan otsikkoyhdiste valkoisena kiinteänä aineena. TLC R_f(B) = 0,63; t_{ret}(I) = 15,4 min; FAB MS $(M+H)^+$ = 678.

Esimerkki 29: 5(S)-(indolyyli-2-karbonyyliamino)-4(S)-hydroksi-6-sykloheksyyli-2(R)-[(p-metoksifenyyli)metyyli]heksanoyyli-(L)-Val-N-(2-metoksietyyli)amidi

Analogisesti esimerkille 28, lähdetään 1,0 g:sta (1,84 mmol) 5(S)-amino-4(S)-hydroksi-6-sykloheksyyli-2(R)-[(p-metoksifenyyli)metyyli]heksanoyyli-(L)-Val-N-(2-metoksietyyli)amidia esimerkistä 22a), 331 mg:sta (2,03 mmol) indoli-2-karboksyylihappoa (Fluka, Buchs, Sveitsi), 0,331 ml:sta (2,03 mmol) dietyylisyaanifosfonaattia ja 0,90 ml (6,45 mmol) trietyyliamiinia ja käsitellään dietyylieetterillä, jolloin saadaan otsikkoyhdiste valkoisena kiinteänä aineena. TLC R_f(B) = 0,75; t_{ret}(I)= 14,4 min; FAB MS $(M+H)^+$ = 651.

Esimerkki 30: 5(S)-(metoksikarbonyyli-(L)-Val-amino)-4(S)-hydroksi-6-sykloheksyyli-2R-[(p-metoksifenyyli)metyyli]heksanoyyli-(L)-Val-N-(2-metoksietyyli)amidi

Analogisesti esimerkille 28, lähdetään 1,0 g:sta (1,84 mmol) 5(S)-amino-4(S)-hydroksi-6-sykloheksyyli-2(R)-[(p-metoksifenyyli)metyyli]heksanoyyli-(L)-Val-N-(2-metoksietyyli)amidia esimerkistä 22a), 462 mg:sta (2,63 mmol) metoksikarbonyyli-(L)-valiinia, 0,43 ml:sta (2,83 mmol) dietyylisyaanifosfonaattia ja 1,34 ml:sta (9,61 mmol) trietyyliamiinia, ja käsitellään dietyylieetterillä, jolloin saadaan otsikkoyhdiste valkoisena kiinteänä aineena. TLC R_f(B) = 0,61; t_{ret}(I) = 14,2 min; FAB MS $(M+H)^+$ = 663.

Lähtöaine valmistetaan seuraavasti:

30a) N-(metoksikarbonyyli)-(L)-valiini

5,67 g (60 mmol) metyyliklooriformiaattia (Fluka, Buchs,

Sveitsi) lisätään 7,0 g:aan (60 mmol) L-valiinia 100 ml:ssa 2 N NaOH:ta ja 30 ml:ssa dioksaania (⟶ eksoterminen reaktio), ja tätä seosta sekoitetaan seuraavaksi huoneenlämpötilassa 18 tunnin ajan. Reaktioseos uutetaan metyleenikloridilla, ja vesifaasi säädetään happamaan pH-arvoon 27 ml:lla 4 N HCl:ää, ja uutetaan vielä kerran metyleenikloridilla. Viimeksi mainittu metyleenikloridifaasi kuivataan ja haihdutetaan, jolloin saadaan otsikkoyhdiste: t_{Ret}(I) = 7,2 min; ^{1}H-NMR (200 MHz, CD_3OD): 0,96 (t, J=7 Hz, 6 H), 2,16 (m, 1H), 3,67 (s, 3H), 4,06 (m, 1H), 7,07 (d, J=8 Hz, $HN_{osaksi\ vaihtunut}$).

Esimerkki 31: 5(S)-([N-((L)-tiatsolidin-4-yylikarbonyyli)-(L)-Val]-amino)-4(S)-hydroksi-6-sykloheksyyli-2(R)-[(p-metoksifenyyli)metyyli]heksanoyyli-(L)-Val-N-(2-metoksietyyli)amidi

Analogisesti esimerkille 28, lähdetään 0,60 g:sta (1,11 mmol) 5(S)-amino-4(S)-hydroksi-6-sykloheksyyli-2(R)-[(p-metoksifenyyli)metyyli]heksanoyyli-(L)-Val-N-(2-metoksietyyli)amidia esimerkistä 22a), 311 mg:sta (1,33 mmol) N-[(L)-tiatsolidin-4-yyli- karbonyyli]-(L)-valiinia (= (L)-tiaprolyyli-(L)-valiini), 0,25 ml:sta (1,63 mmol) dietyylisyaanifosfonaattia ja 0,55 ml:sta (3,91 mmol) trietyyliamiinia, ja käsitellään dietyylieetterillä, jolloin sadaan otsikkoyhdiste valkoisena kiinteänä aineena. TLC R_f(K) = 0,54; t_{ret}(I) = 11,0 min; FAB MS $(M+H)^+$ = 720.

31a) H-(L)-tiaprolyyli-(L)-valiini

Analogisesti esimerkille 28, (L)-tiaprolyyli-(L)-valiinibentsyyliesteri saadaan lähtemällä 3,99 g:sta (10,5 mmol) (L)-valiinibentsyyliesteri-4-tolueenisulfonaattia (Fluka, Buchs, Sveitsi), 1,33 g:sta (10,0 mmol) (L)-tiatsolidiini-4-karboksyylihappoa (=(L)-tiaproliini; Sigma, Buchs, Sveitsi), 1,8 ml:sta (11,0 mmol) dietyylisyaanifosfonaattia ja 5,6 ml:sta (40,0 mmol) trietyyliamiinia. Liuos, jossa on 1,37 g tätä raakatuotetta 15 ml:ssa metanolia, käsitellään 8,5 ml:lla 1 N natriumhydroksidiliuosta,

ja tätä seosta sekoitetaan 2 tunnin ajan huoneenlämpötilassa. Reaktioliuos haidutetaan tyhjössä puoleen tilavuuteensa, ja pestään etyyliasetaatilla. Vesifaasi säädetään happamaan pH-arvoon 1 N suolahapolla, kyllästetään natriumkloridilla, ja uutetaan neljästi etyyliasetaatilla. Orgaaniset uutteet haihdutetaan, ja jäännös käsitellään eetterillä, jolloin saadaan otsikkoyhdiste. TLC R_f(K) = 0,54; t_{ret}(III) = 12,2 min; FAB MS $(M+H)^+$ = 233.

Esimerkki 32: 5(S)-(bentsyylioksikarbonyyli-(L)-4-[trans-hydroksiprolyylilamino)-4(S)-hydroksi-6-sykloheksyyli-2(R)-[(p-metoksifenyyli)metyyli]heksanoyyli-(L)-Val-N-(2-metoksietyyli)amidi

Analogisesti esimerkille 28, lähdetään 0,84 g:sta (1,55 mmol) 5(S)-amino-4(S)-hydroksi-6-sykloheksyyli-2(R)-[(p-metoksifenyyli)metyyli]heksanoyyli-(L)-Val-N-(2-metoksietyyli)amidia esimerkistä 22a, 412 mg:sta (1,55 mmol) trans-bentsyylioksikarbonyyli-(L)-4-hydroksiproliinia (Bachem, Bubendorf, Sveitsi), 0,26 ml:sta (1,63 mmol) dietyylisyaanifosfonaattia ja 0,5 ml:sta (3,6 mmol) trietyyliamiinia, minkä jälkeen puhdistetaan silikageelillä kromatografoimalla käyttämällä järjestelmää K ja käsitellään dietyylieetterillä, jolloin saadaan otsikkoyhdiste valkoisena kiinteänä aineena. TLC R_f(K) = 0,50; t_{ret}(I) = 13,8 min; FAB MS $(M+H)^+$ = 753.

Esimerkki 33: 5(S)-((L)-[trans-4-hydroksiprolyylilamino)-4(S)-hydroksi-6-sykloheksyyli-2(R)-[(p-metoksifenyyli)metyyli]heksanoyyli-(L)-Val-N-(2-metoksietyyli)amidi

Liuosta, jossa on 700 mg (0,93 mmol) 5(S)-(bentsyylioksikarbonyyli-(L)-4-[trans-hydroksiprolyyli]amino)-4(S)-hydroksi-6-sykloheksyyli-2(R)-[(p-metoksifenyyli)metyyli]heksanoyyli-(L)-Val-N-(2-metoksietyyli)amidia esimerkistä 32 90 ml:ssa metanolia, hydrogenoidaan huoneenlämpötilassa 2,5 tunnin ajan, kun läsnä on 140 mg 10-%:ista Pd/C:tä vetypaineessa 101 kPa (1 atm). Katalysaattori suodatetaan pois, suodos haihdutetaan kuiviin, ja käsitellään dietyylieet-

terillä, jolloin otsikkoyhdiste saadaan valkoisena kiinteänä aineena. TLC R_f(K) = 0,18; t_{ret}(I)= 9,9 min; FAB MS $(M+H)^+$ = 619.

Esimerkki 34: 5(S)-(2-amino-4-tiatsolyyliasetyyliamino)-4(S)-hydroksi-6-sykloheksyyli-2(R)-[(P-metoksifenyyli)metyyli]heksanoyyli-(L)-Val-N-(2-metoksietyyli)amidi

Analogisesti esimerkille 28, lähdetään 0,60 g:sta (1,11 mmol) 5(S)-amino-4(S)-hydroksi-6-sykloheksyyli-2(R)-[(p-metoksifenyyli)metyyli]heksanoyyli-(L)-Val-N-(2-metoksietyyli)amidia esimerkistä 22a), 211 mg:sta (1,33 mmol) 2-amino-4-tiatsolietikkahappoa (Aldrich, Steinheim, SLT), 0,25 ml:sta (1,63 mmol) dietyylisyaanifosfonaattia ja 0,55 ml:sta (3,91 mmol) trietyyliamiinia, ja käsitellään dietyylieetterillä, jolloin saadaan otsikkoyhdiste valkoisena kiinteänä aineena. TLC R_f(B) = 0,50; t_{ret}(I) = 10,8 min; FAB MS $(M+H)^+$ = 646.

Esimerkki 35: 5(S)-(6-(4-metyyli-1-piperatsinyyli)-3-pyridyylikarbonyyliamino)-4(S)-hydroksi-6-sykloheksyyli-2(R)-[(p-metoksifenyyli)metyyli)heksanoyyli-(L)-Val-N-(2-metoksietyyli)amidi

Analogisesti esimerkille 28, lähdetään 0,60 g:sta (1,11 mmol) 5(S)-amino-4(S)-hydroksi-6-sykloheksyyli-2(R)-[(p-metoksifenyyli)metyyli]heksanoyyli-(L)-Val-N-(2-metoksietyyli)amidia esimerkistä 22a), 246 mg:sta (1,12 mmol) 6-(4-metyyli-1-piperatsinyyli)-3-pyridiinikarboksyylihappoa (valmistus, katso EP 0 385 351 A1), 0,2 ml:sta (1,22 mmol) dietyylisyaanifosfonaattia ja 0,55 ml:sta (3,91 mmol) trietyyliamiinia, ja käsitellään etyyliasetaatilla, jolloin saadaan otsikkoyhdiste valkoisena kiinteänä aineena. TLC R_f(B) = 0,28; t_{ret}(I) = 10,7 min; FAB MS $(M+H)^+$ = 709.

Esimerkki 36: 5(S)-(4-(4-morfolinyylimetyyli)bentsoyyliamino)-4(S)-hydroksi-6-sykloheksyyli-2(R)-[(p-metoksifenyyli)metyyli]heksanoyyli-(L)-Val-N-(2-metoksietyyli)amidi

Analogisesti esimerkille 28, lähdetään 1,0 g:sta (1,84 mmol) 5(S)-amino-4(S)-hydroksi-6-sykloheksyyli-2(R)-[(p-metoksifenyyli)metyyli]heksanoyyli-(L)-Val-N-(2-metoksietyyli)amidia esimerkistä 22a), 523 mg:sta (2,03 mmol) 4-(4-morfolinyylimetyyli)bentsoehappohydrokloridia (valmistus, katso Tet. Lett. 32, 7385 (1991)), 0,33 ml:sta (2,02 mmol) dietyylisyaanifosfonaattia ja 1,29 ml:sta (9,22 mmol) trietyyliamiinia, ja käsitellään dietyylieetterillä, jolloin saadaan otsikkoyhdiste valkoisena kiinteänä aineena. TLC R_f(B) = 0,60; t_{ret}(I) = 11,1 min; FAB MS $(M+H)^+$ = 709.

Esimerkki 37: 5(S)-(O-[4-tetrahydropyranyyli]-(L)-laktoyyliamino)-4(S)-hydroksi-6-sykloheksyyli-2(R)-[(p-metoksifenyyli)metyyli]heksanoyyli-(L)-Val-N-(2-metoksietyyli)amidi

Analogisesti esimerkille 28, lähdetään 1,0 g:sta (1,84 mmol) 5(S)-amino-4(S)-hydroksi-6-sykloheksyyli-2(R)-[(p-metoksifenyyli)metyyli]heksanoyyli-(L)-Val-N-(2-metoksietyyli)amidia esimerkistä 22a), 321 mg:sta (1,88 mmol) O-[4-tetrahydropyranyyli]-(L)-maitohappoa, 0,33 ml:sta (2,02 mmol) dietyylisyaanifosfonaattia ja 1,03 ml:sta (7,38 mmol) trietyyliamiinia, ja käsitellään etyyliasetaatilla, jolloin saadaan otsikkoyhdiste valkoisena kiinteänä aineena. TLC R_f(B) = 0,72; t_{ret}(I) = 14,0 min; FAB MS $(M+H)^+$ = 662.

Lähtöaine valmistetaan seuraavalla tavalla:

37a) O-[4-tetrahydropyranyyli]-(L)-maitohappo (= 2(S)-(tetrahydropyran-4-yylioksi)-propaanihappo)

Liuosta, jossa on 1,021 g (0,951 ml, d = 1,074; 10 mmol) tetrahydro-2H-pyran-4-olia (Fluka, Buchs, Sveitsi) absoluuttisessa 1,4-dioksaanissa, käsitellään 65 °C:ssa 1,6 g:lla (40 mmol) 60-%:ista natriumhydridiä öljyssä (Fluka, Buchs, Sveitsi). Tulokseksi saatua, harmaata suspensiota sekoitetaan 2 tunnin ajan refluksoiden, ja annetaan sitten jäähtyä takaisin 65 °C:seen, minkä jälkeen lisätään 8 min aikana tipoittain liuos, jossa on 1,08 g (0,863 ml, d = 1,258; 10 mmol) R(+)-2-kloori-propionihappoa (Fluka, Buchs,

Sveitsi; puriss.) absoluuttisessa 1,4-dioksaanissa. Tulokseksi saatu ruskea suspensio laimennetaan dioksaanilla niin, että reaktioseos sisältää lopussa 55 ml dioksaania, ja sitten tätä seosta kuumennetaan 3 tunnin ajan refluksoiden ja sekoittaen. Seuraavaksi seosta sekoitetaan edelleen 14 tunnin ajan huoneenlämpötilassa. Täten saatu ruskea suspensio käsitellään nyt tipoittain 40 ml:lla vettä 2 min aikana, ja tulokseksi saatu keltainen liuos haihdutetaan kuiviin suurtyhjössä. Jäännös otetaan 200 ml:aan vettä, ja vesiliuos uutetaan kerran, kussakin tapauksessa, 250 ml:lla ja 150 ml:lla etyyliasetaattia. Orgaaniset faasit pestään kerran 100 ml:lla vettä. Vesifaasit yhdistetään ja säädetään sitten happamaan pH-arvoon (pH 1) 4 N suolahapolla. Täten saatu liuos kyllästetään natriumkloridilla ja uutetaan kahdesti kummassakin tapauksessa 300 ml:lla etyyliasetaattia. Orgaaniset faasit pestään kolmesti kussakin tapauksessa 150 ml:lla natriumkloridin kylläistä liuosta. Seuraavaksi kaikki etyyliasetaattiuutteet yhdistetään, kuivataan magnesiumsulfaatilla, suodatetaan ja haihdutetaan kuiviin suurtyhjössä ja 30 °C:ssa. Jäännös (keltaista öljyä) puhdistetaan tislaamalla kugelrohr-laitteella [kp. noin 160 °C 106 Pa (0,8 mmHg)]. Otsikkoyhdiste saadaan värittömänä öljynä, joika seisoessaan kiinteytyy, jolloin muodostuu värittömiä kiteitä, jotka sulavat välillä 33,7 ja 67,6 °C, ja sisältävät yhä 0,13 mol (1,30 %) vettä, $[\alpha]_D^{20}$ = -46,7 ± 1,0 ° (c = 1,035; $CHCl_3$).

Esimerkki 38: <u>5(S)-(Boc-amino)-4(S)-hydroksi-6-fenyyli-2(R)-[(p-bentsyylioksifenyyli)-metyyli]heksanoyyli-(L)-Val-N-(2-metoksietyyli)amidi</u>

Analogisesti esimerkille 1, lähdetään 1,29 g:sta (1,63 mmol) 5(S)-(Boc-amino)-4(S)-(tert-butyylidimetyylisilyylioksi)-6-fenyyli-2(R)-[(p-bentsyylioksifenyyli)metyyli]heksanoyyli-(L)-Val-N-(2-metoksietyyli)amidia ja 1,03 g:sta (3,26 mmol) TBAF·trihydraattia, jolloin saadaan otsikkoyhdiste. TLC R_f(M) = 0,58; t_{ret}(I) = 16,9 min.

Lähtöaine valmistetaan seuraavasti:

38a) 5(S)-(Boc-amino)-4(S)-(tert-butyylidimetyylisilyy-lioksi)-6-fenyyli-2(R)-[(p-bentsyylioksifenyyli)metyy-li]heksanoyyli-(L)-Val-N-(2-metoksietyyli)amidi

Analogisesti esimerkille 1c), lähdetään 1,14 g:sta (1,8 mmol) 5(S)-(Boc-amino)-4(S)-(tert-butyylidimetyylisilyy-lioksi)-6-fenyyli-2(R)-[(p-bentsyylioksifenyyli)metyy-li]heksaanihappoa, 313 mg:sta (1,8 mmol) H-(L)-Val-N-(2-metoksietyyli)amidia (valmistus, esimerkki 1b)) ja 751 mg:sta (1,98 mmol) HBTU:ta 18 ml:ssa 0,25 M NMM:n liuosta asetonitriilissä, ja puhdistetaan kromatografisesti silikageelillä käyttämällä eluenttina heksaani/etyyliasetaattia (1:1), jolloin otsikkoyhdiste saadaan värittömänä hartsina. TLC R_f(heksaani/etyyliasetaatti (1:1)) = 0,19; t_{ret}(I) = 23,3 min; FAB MS $(M+H)^+$ = 790.

38b) 5(S)-[1(S)-(Boc-amino)-2-fenyylietyyli]-3(R)-[(p-bentsyylioksifenyyli)metyyli]-dihydrofuran-2-(3H)-oni

Analogisesti esimerkille 1h), 1,13 g (3,70 mmol) 5(S)-[1(S)-(Boc-amino)-2-fenyylietyyli]dihydrofuran-2-(3H)-onia [esimerkki 2b)] liuotettuna 4,8 ml:aan THF:ää ja 0,75 ml:aan 1,3-dimetyyli-3,4,5,6-tetrahydro-2(1H)-pyrimidinonia deprotonoidaan -75 °C:ssa 7,25 ml:lla 1 M litiumbis(trimetyylisilyyli)amidin liuoksella THF:ssä, ja alkyloidaan (15 min) 1,2 g:lla (3,7 mmol) p-bentsyylioksibentsyylijodidia (esimerkki 1d)) 2 ml:ssa THF:ää. Kromatografoidaan pylväällä (SiO_2, heksaani/etyyliasetaatti, 2:1), jolloin saadaan puhdas otsikkoyhdiste: TLC R_f(D) = 0,30; t_{Ret}(I) = 28,2 min; FAB-MS $(M+H)^+$ = 502.

38c) 5(S)-(Boc-amino)-4(S)-hydroksi-6-fenyyli-2(R)-[(p-bentsyylioksifenyyli)metyyli]-heksaanihappo

Analogisesti esimerkille 1i), 1,4 g (2,79 mmol) 5(S)-[1(S)-(Boc-amino)-2-fenyyli-etyyli]-3(R)-[(p-bentsyylioksifenyy-li)metyyli]dihydrofuran-2-(3H)-onia 45 ml:ssa dimetoksi-etaania ja 23 ml:ssa vettä hydrolysoidaan 11 ml:lla 1 M litiumhydroksidiliuosta. Reaktioseos, joka on osaksi haih-

dutettu, kaadetaan seokseen, jossa on jäätä, 137 ml kylläistä NH_4Cl-liuosta, 11 ml 10-%:ista sitruunahappoliuosta ja 56 ml metyleenikloridia, ja lisätään metanolia, kunnes saostunut kiinteä aine liukenee. Vesifaasi uutetaan 2 erällä metyleenikloridi/metanolia, noin 10:1, ja orgaaniset faasit pestään suolaliuoksella, kuivataan Na_2SO_4:llä ja haihdutetaan: t_{Ret}(I) = 24,0 min; FAB-MS $(M+H)^+$ = 520.

38d) 5(S)-(Boc-amino)-4(S)-(tert-butyylidimetyylisilyylioksi)-6-fenyyli-2(R)-[(p-bentsyylioksifenyyli)metyyli]heksaanihappo

1,4 g (2,69 mmol) 5(S)-(Boc-amino)-4(S)-hydroksi-6-fenyyli-2(R)-[(p-bentsyylioksifenyyli)metyyli]-heksaanihappoa 2,9 ml:ssa DMF:ää sekoitetaan 18 tunnin ajan huoneenlämpötilassa yhdessä 1,87 g:n (12,4 mmol) kanssa tert-butyylidimetyylikloorisilaania ja 1,5 g:n (22 mmol) kanssa imidatsolia. Sitten reaktioseos kaadetaan jääveteen, ja tämä seos uutetaan 3 yyliasetaattia; yhdistetyt orgaaniset faasit pestään 10-%:isella sitruunahappoliuoksella, vedellä ja suolaliuoksella, kuivataan natriumsulfaatilla ja haihdutetaan. Saadaan öljyä. Tämän jälkeen seuraa öljyn silyyliesterifunktion hydrolyysi huoneenlämpötilassa, käyttämällä 2,2 g kaliumkarbonaattia 63 ml:ssa metanoli/vesi/THF:ää, 3:1:1, ja haihdutetaan osittain huoneenlämpötilassa. Vesipohjainen jäännös kaadetaan 10-%:iseen sitruunahappoliuokseen ja jäähän, ja tämä seos uutetaan kolmesti etyyliasetaatilla; orgaaniset faasit pestään kahdesti vedellä ja suolaliuoksella, kuivataan natriumsulfaatilla ja haihdutetaan. Raakatuote kromatografoidaan pylväällä (SiO_2, D), jolloin saadaan otsikkoyhdiste: TLC R_f(D) = 0,17; t_{Ret}(I) = 33,7 min; FAB-NS $(M+H)^+$ = 634.

Esimerkki 39: 5(S)-(Boc-amino)-4(S)-hydroksi-6-fenyyli-2(R)-[(p-hydroksifenyyli)-metyyli]heksanoyyli-(L)-Val-N-(2-metoksietyyli)amidi

Liuosta, jossa on 718 mg (1,06 mmol) 5(S)-(Boc-amino)-4(S)-hydroksi-6-fenyyli-2(R)-[(p-bentsyylioksifenyyli)metyyli]-

heksanoyyli-(L)-Val-N-(2-metoksietyyli)amidia esimerkistä 38 50 ml:ssa metanolia, hydrogenoidaan huoneenlämpötilassa 3 tunnin ajan, kun läsnä on 150 mg 10-%:ista Pd/C:tä ja vetypaineessa 101 kPa (1 atm). Katalysaattori suodatetaan pois, ja suodos haihdutetaan, jolloin saadaan otsikkoyhdiste amorfisena kiinteänä aineena. TLC R_f(heksaani/etyyliasetaatti (2:1))= 0,29; t_{ret}(I) = 12,8 min; FAB MS $(M+H)^+$ = 586.

Esimerkki 40: <u>(S)-(Boc-amino)-4(S)-hydroksi-6-fenyyli-2(R)-[(p-isobutoksifenyyli)metyyli]-heksanoyyli-(L)-Val-N-(2-metoksietyyli)amidi</u>

Suspensiota, jossa on 585 mg (1 mmol) 5(S)-(Boc-amino)-4(S)-hydroksi-6-fenyyli-2(R)-[(p-hydroksifenyyli)metyyli]heksanoyyli-(L)-Val-N-(2-metoksietyyli)amidia esimerkistä 39 ja 1,22 g cesiumkarbonaattia 50 ml:ssa dioksaania, sekoitetaan huoneenlämpötilassa 16 tunnin ajan typpi-ilmakehässä; sitten käsitellään 2,7 ml:lla isobutyylijodidia (Fluka, Buchs, Sveitsi) ja kuumennetaan 3 tunnin ajan 80 °C:ssa, kunnes TLC-seurannalla ei enää voida havaita lainkaan lähtöaineita. Lopuksi seos laimennetaan metyleenikloridilla, ja sakka suodatetaan pois. Suodos haihdutetaan, puhdistetaan kromatografisesti silikageelillä käyttäen metyleenikloridi/metanolia (95:5) eluenttina, ja kiteytetään etyyliasetaatti/heksaanista, jolloin saadaan otsikkoyhdiste. TLC R_f(L) = 0,5; t_{ret}(I)= 17,1 min; FAB MS $(M+H)^+$ = 642.

Esimerkki 41: <u>5(S)-(Boc-amino)-4(S)-hydroksi-6-fenyyli-2(R)-[(p-(2-pyridyylimetoksi)-fenyyli)metyyli]heksanoyyli-(L)-Val-N-(2-metoksietyyli)amidi</u>

Analogisesti esimerkille 40, lähdetään 65 mg:sta 5(S)-(Boc-amino)-4(S)-hydroksi-6-fenyyli-2(R)-[(p-hydroksifenyyli)-metyyli]-heksanoyyli-(L)-Val-N-(2-metoksietyyli)amidia esimerkistä 39, 137 mg:sta cesiumkarbonaattia ja 3 ml:sta 2-pikolyylikloridia (vapautettu HCl-suolasta (Fluka, Buchs, Sveitsi) $NaHCO_3$-liuoksella), puhdistetaan kromatografisesti

silikageelillä käyttämällä metyleenikloridi/metanolia (97:3) eluenttina, ja kiteytetään etyyliasetaatista, jolloin saadaan otsikkoyhdiste. TLC R_f(L) = 0,4; t_{ret}(I) = 11,7 min; FAB MS $(M+H)^+$ = 677.

Esimerkki 42: 5(S)-(Boc-amino)-4(S)-hydroksi-6-fenyyli-2(R)-[(p-(3-pyridyylimetoksi)-fenyyli)metyyli]heksanoyyli-(L)-Val-N-(2-metoksietyyli)amidi

Suspensiota, jossa on 585 mg (1 mmol) 5(S)-(Boc-amino)-4(S)-hydroksi-6- fenyyli-2(R)-[(p-hydroksifenyyli)metyyli]heksanoyyli-(L)-Val-N-(2-metoksietyyli)amidia esimerkistä 39 ja 1,22 g cesiumkarbonaattia, sekoitetaan yön yli huoneenlämpötilassa ja typpi-ilmakehässä; sitten se käsitellään 4,0 g:lla 3-pikolyylikloridia (vapautettu HCl-suolasta (Fluka, Buchs, Sveitsi) $NaHCO_3$-liuoksella), ja kuumennetaan 6 tuntia 85 °C:ssa. Lisätään 100 mg natriumjodidia ja 500 mg cesiumkarbonaattia, ja sitä kuumennetaan vielä 18 tunnin ajan. Jatkokäsittelynä seos eluoidaan metyleenikloridilla ja sakka suodatetaan pois. Suodos haihdutetaan, puhdistetaan kromatografisesti metyleenikloridi/THF:ää (2:1) käyttämällä, ja lyofilisoidaan dioksaanista, jolloin saadaan otsikkoyhdiste amorfisena kiinteänä aineena. TLC R_f(L) = 0,5; t_{ret}(I) = 11,5 min; FAB MS $(M+H)^+$ = 677.

Esimerkki 43: 5(S)-(Boc-amino)-4(S)-hydroksi-6-fenyyli-2(R)-[(p-metoksifenyyli)-metyyli]heksanoyyli-(L)-Val-N-(2-metoksietyyli)amidi

Liuosta, jossa on 90 mg (0,154 mmol) 5(S)-(Boc-amino)-4(S)-hydroksi-6-fenyyli-2(R)-[(p-hydroksifenyyli)metyyli]heksanoyyli-(L)-Val-N-(2-metoksietyyli)amidia esimerkistä 39 5 ml:ssa dioksaani/DMF:ää (1:1), käsitellään 0 °C:ssa 100 mg:lla (0,31 mmol) cesiumkarbonaattia ja sitten 0,01 ml:lla (0,15 mmol) metyylijodidia. Sekoitetaan 14 tuntia huoneenlämpötilassa, reaktioseos kaadetaan jääveteen, ja tätä seosta uutetaan metyleenikloridilla. Orgaaniset uutteet pestään kylläisellä natriumbikarbonaattiliuoksella ja

suolaliuoksella, suodatetaan vanun läpi ja haihdutetaan. Puhdistetaan kromatografisesti silikageelillä metyleenikloridi/metanolia (19:1) käyttämällä ja lyofilisoidaan dioksaanista, jolloin saadaan otsikkoyhdiste. TLC R_f(metyleenikloridi/metanoli (19:1)) = 0,27; t_{ret}(I) = 14,6 min; FAB MS $(M+H)^+$ = 600.

Esimerkki 44: 5(S)-(Boc-amino)-4(S)-hydroksi-6-fenyyli-2(R)-[(3,4-metyleenidioksi-fenyyli)metyyli]heksanoyyli-(L)-Val-N-(2-metoksietyyli)amidi

Liuos, jossa on 165 mg 5(S)-(Boc-amino)-4(S)-(tert-butyylidimetyylisilyylioksi)-6-fenyyli-2(R)-[(3,4-metyleenidioksifenyyli)metyyli]heksanoyyli-(L)-Val-N-(2-metoksietyyli)amidia 4,04 ml:ssa absoluuttista DMF:ää, käsitellään 127,4 mg:lla TBAF:ää, ja reaktioseosta sekoitetaan 21 tuntia huoneenlämpötilassa. Hieman samea, kellertävä liuos kaadetaan 30 ml:aan vettä, ja tämä seos uutetaan etyyliasetaatilla. Orgaaninen faasi pestään neutraaliin pH-arvoon, peräkkäin, kylläisellä natriumbikarbonaattiliuoksella ja suolaliuoksella, ja kuivataan natriumsulfaatilla. Otsikkoyhdiste liuotetaan metyleenikloridiin ja saostetaan heksaanilla. TLC R_f(A) = 0,42; FAB-MS $(M+H)^+$ = 614.

Lähtöaine valmistetaan seuraavasti:

44a) 3,4-metyleenidioksibentsyylikloridi

15,04 ml tionyylikloridia lisätään tipoittain 0 °C:ssa 25 min aikana ja argonissa 10,82 g:aan 3,4-metyleenidioksibentsyylialkoholia (Fluka, Buchs, Sveitsi) ja 48 g:aan di-isopropyyliaminometyylipolystyreeniä (polyhünigemäs: polystyreeni, joka verkkoutettu 2 %:illa divinyylibentseeniä, di-isopropyyliaminometyloitu; Fluka, Buchs, Sveitsi) 200 ml:ssa absoluuttista eetteriä. Sekoitetaan edelleen 1,5 tunnin ajan 0 °C:ssa, seos suodatetaan imupullolla, ja suodos konsentroidaan kiertohaihduttimella ja sitten suurtyhjössä. Jäännös puhdistetaan kromatografoimalla silikageelillä (eluentti: C), jolloin saadaan otsikkoyhdiste. TLC R_f(heksaani:etyyliasetaatti, 4:1) = 0,47; ^{1}H-NMR (200 MHz,

$CDCl_3$): 6,95 - 6,7 (m, 3H), 5,97 (s, 2H), 4,53 (s, 2H).

44b) 3,4-metyleenidioksibentsyylijodidi

11,65 g 3,4-metyleenidioksibentsyylikloridia 128 ml:ssa absoluuttista asetonia käsitellään 49,7 g:lla natriumjodidia, ja tätä seosta sekoitetaan 2,5 tunnin ajan huoneenlämpötilassa argonin alla ja valon pois sulkien. Reaktioseos laimennetaan 1,5 l:lla eetteriä, ja tämä seos pestään 10-%:isella natriumtiosulfaattiliuoksella (600 ml) ja suolaliuoksella. Kuivataan natriumsulfaatilla ja poistetaan liuotin. Uudelleenkiteytetään eetteri/heksaanista, jolloin saadaan otsikkoyhdiste, sp.: 51 °C. TLC R_f(heksaani:etyyliasetaatti, 4:1) = 0,43. ^{1}H-NMR (360 MHz, $CDCl_3$): 6,93 - 6,77 (m, 2H), 6,77 - 6,64 (m, 1H), 5,95 (s, 2H), 4,44 (s, 2H).

44c) 5(S)-[1(S)-(Boc-amino)-2-fenyylietyyli]-3(R)-[(3,4-metyleenidioksifenyyli)-metyyli]dihydrofuran-2-(3H)-oni

Liuos, jossa on 500 mg 5(S)-[1(S)-(Boc-amino)-2-fenyylietyyli]-dihydrofuran-2-(3H)-onia [esimerkki 2b)] 2 ml:ssa absoluuttista THF:ää ja 0,33 ml:ssa 1,3-metyyli-3,4,5,6-tetrahydro-2(1H)-pyrimidonia (DMPU) N_2-ilmakehässä, jäähdytetään -75 °C:seen, ja käsitellään sisäisessä lämpötilassa alle -70 °C 3,21 ml:lla 1 M litiumbis(trimetyylisilyyli)amidin liuosta THF:ssä (Aldrich, Steinheim, SLT), ja sitten tätä seosta sekoitetaan 20 min ajan -75 °C:ssa. Reaktioliuokseen lisätään tipoittain 429 mg 3,4-metyleenidioksibentsyylijodidia 1 ml:ssa absoluuttista THF:ää ruiskulla 10 min aikana, minkä aikana sisälämpötilan ei anneta kohota yli -70 °C:seen, ja sitten tätä seosta sekoitetaan perusteellisesti -75 °C:ssa 1 tunnin ajan. Sitten kirkkaaseen liuokseen lisätään 0,611 ml propionihappoa -75 - -70 °C:ssa käyttämällä ruiskua, ja sen jälkeen 0,611 ml vettä. Tämän menettelytavan aikana lämpötila kohoaa -30 °C:seen. Tämän jälkeen reaktioseos laimennetaan 35 ml:lla etyyliasetaattia, ja koko seosta sekoitetaan 5 min ajan kylmässä (jää/vesi-jäähdytys) 10 ml:n kanssa 10-%:ista sitruunahappoliuosta. Vesifaasi erotetaan pois, ja orgaaninen faasi

pestään, peräkkäin, suolaliuoksella, kylläisellä natriumbikarbonaattiliuoksella, ja jälleen kerran suolaliuoksella. Yhdistetyt vesifaasit uutetaan uudelleen kahdesti etyyliasetaatilla. Yhdistetyt orgaaniset faasit kuivataan natriumsulfaatilla ja konsentroidaan. Otsikkoyhdiste saadaan ruskehtavana öljynä. Puhdistus suoritetaan kromatografoimalla silikageelillä (eluentti D). TLC R_f(D) = 0,38; FAB-MS $(M+H)^+$ = 440.

44d) 5(S)-(Boc-amino)-4(S)-hydroksi-6-fenyyli-2(R)-[(3,4-metyleenidioksifenyyli)-metyyli]heksaanihappo

Liuosta, jossa on 278 mg 5(S)-[1(S)-(Boc-amino)-2-fenyylietyyli]-3(R)-[(3,4-metyleenidioksifenyyli)metyyli]dihydrofuran-2-(3H)-onia 10,25 ml:ssa etyleeniglykolidimetyylieetteriä ja 5,15 ml:ssa vettä, käsitellään tipoittain huoneenlämpötilassa 2,53 ml:lla 1 M litiumhydroksidiliuosta. Tämän jälkeen reaktioseosta sekoitetaan 3 tunnin ajan huoneenlämpötilassa, laimennetaan etyyliasetaatilla ja THF:llä, ja pestään erotussuppilossa neutraaliin pH-arvoon seoksella, jossa on 31 ml kylläistä ammoniumkloridiliuosta ja 2,6 ml:lla 10-%:ista sitruunahappoliuosta, sen jälkeen suolaliuoksella ja vedellä. Kuivataan natriumsulfaatilla ja liuotin poistetaan, jolloin saadaan otsikkoyhdiste, joka käytetään edelleen enempää puhdistamatta. FAB-MS $(M+H)^+$ = 458.

44e) 5(S)-(Boc-amino)-4(S)-(tert-butyylidimetyylisilyylioksi)-6-fenyyli-2(R)-[(3,4-metyleenidioksifenyyli)metyyli]heksaanihappo

Liuosta, jossa on 271 mg 5(S)-(Boc-amino)-4(S)-hydroksi-6-fenyyli-2(R)-[(3,4-metyleenidioksifenyyli)metyyli]heksaanihappoa 2,13 ml:ssa DMF:ää, käsitellään sekoittaen 338 mg:lla imidatsolia ja 415 mg:lla tert-butyylidimetyylikloorisilaania. Sekoitetaan huoneenlämpötilassa 20 tunnin ajan, reaktioliuos kaadetaan jääveteen, ja tämä seos uutetaan etyyliasetaatilla. Orgaaninen faasi pestään 10-%:isella sitruunahappoliuoksella ja suolaliuoksella. Saa-

daan raakatuotetta, joka liuotetaan 7,13 ml:aan metanolia ja 2,75 ml:aan THF:ää, sitten tämä liuos käsitellään huoneenlämpötilassa liuoksella, jossa on 485 mg kaliumkarbonaattia 2,75 ml:ssa vettä. Reaktioseosta sekoitetaan 2 tunnin ajan huoneenlämpötilassa, konsentroidaan noin puoleen tilavuuteensa, ja kaadetaan 10-%:iseen sitruunahappoliuokseen ja jäähän; sitten tämä seos uutetaan etyyliasetaatilla. Orgaaninen faasi pestään (kylmällä) suolaliuoksella. Kuivataan natriumsulfaatilla, liuotin haihdutetaan, ja jäännös kromatografoidaan silikageelillä (eluentti C), jolloin saadaan otsikkoyhdiste. TLC R_f(C) = 0,27. FAB-MS $(M+H)^+$ = 572.

44f) <u>5(S)-(Boc-amino)-4(S)-(tert-butyylidimetyylisilyylioksi)-6-fenyyli-2(R)-[(3,4-metyleenidioksifenyyli)metyyli]heksanoyyli-(L)-Val-N-(2-metoksietyyli)amidi</u>

Seosta, jossa on 120 mg 5(S)-(Boc-amino)-4(S)-(tert-butyylidimetyylisilyylioksi)-6-fenyyli-2(R)-[(3,4-metyleenidioksifenyyli)metyyli]heksaanihappoa, 87,6 mg HBTU:ta ja 40,2 mg H-(L)-Val-N-(2-metoksietyyli)amidia [valmistus, katso esimerkkiä 1b)] 1,97 ml:ssa 0,25 M NMM:n liuosta asetonitriilissä, sekoitetaan 19 tunnin ajan huoneenlämpötilassa argonissa. Liuos konsentroidaan puoleen tilavuuteensa kiertohaihduttimella, laimennetaan kylmällä etyyliasetaatilla, ja pestään peräkkäin 10-%:isella sitruunahapolla, vedellä, kylläisellä natriumbikarbonaattiliuoksella ja suolaliuoksella. Kuivataan natriumsulfaatilla, ja liuotin poistetaan, jolloin sadaaan otsikkoyhdiste, jota käytetään edelleen enempää puhdistamatta. TLC R_f(D) = 0,21. FAB-MS $(M+H)^+$ = 728.

Esimerkki 45: <u>5(S)-(Boc-amino)-4(S)-hydroksi-6-fenyyli-2(R)-[(3,4-dimetoksifenyyli)metyyli]heksanoyyli-(L)-Val-N-(2-metoksietyyli)amidi</u>

Analogisesti esimerkille 44, 136 mg 5(S)-(Boc-amino)-4(S)-(tert-butyylidimetyylisilyylioksi)-6-fenyyli-2(R)-[(3,4-dimetoksifenyyli)metyyli]heksanoyyli-(L)-Val-N-(2-metok-

sietyyli)amidia 3,38 ml:ssa absoluuttista DMF:ää desilyloidaan 113,6 mg:lla TBAF:ää, jolloin saadaan otsikkoyhdistettä. Puhdistetaan kromatografoimalla kahdesti silikageelillä (eluentti A, THF ja metanoli). Otsikkoyhdiste uudelleenkiteytetään metyleenikloridi/heksaanista. TLC R_f(A) = 0,37. FAB-MS $(M+H)^+$ = 630.

45a) 3,4-dimetoksibentsyylikloridi

Analogisesti esimerkille 44a), otsikkoyhdiste saadaan 10 g:sta 3,4-dimetoksibentsyylialkoholia (Fluka, Buchs, Sveitsi), 46,2 g:sta di-isopropyyliaminometyylipolystyreeniä (polyhünigemäs) ja 4,62 ml:sta tionyylikloridia 200 ml:ssa absoluuttista eetteriä. TLC R_f(heksaani:etyyliasetaatti 4:1) = 0,31. ^{1}H-NMR (200 MHz, $CDCl_3$): 7,0 - 6,87 (m, 2H); 6,82 (d, 1H); 4,56 (s, 2H); 3,9 (s, 3H); 3,87 (s, 3H).

45b) 3,4-dimetoksibentsyylijodidi

Analogisesti esimerkille 44b), otsikkoyhdiste saadaan 6,185 g:sta 3,4-dimetoksibentsyylikloridi ja 24,19 g:sta natriumjodidia 62 ml:ssa absoluuttista asetonia. TLC R_f(heksaani: etyyliasetaatti 4:1) = 0,40. ^{1}H-NMR (200 MHz, $CDCl_3$): 6,95 (dxd, 1H); 6,88 (d, 1H); 6,75 (d, 1H); 4,47 (s, 2H); 3,87 (s, 3H); 3,86 (s, 3H).

45c) 5(S)-[1(S)-(Boc-amino)-2-fenyylietyyli]-3(R)-[(3,4-dimetoksifenyyli)metyyli]-dihydrofuran-2-(3H)-oni

Analogisesti esimerkille 44c), 1 g 5(S)-[1(S)-(Boc-amino)-2-fenyylietyyli]dihydrofuran-2-(3H)-onia [esimerkki 2b)] 4 ml:ssa absoluuttista THF:ää deprotonoidaan (-75 °C) 6,42 ml:lla 1 M litiumbis(trimetyylisilyyli)amidin liuosta THF:stä, lisäten 0,66 ml DMPU:ta, ja alkyloidaan 911 mg:lla 3,4-dimetoksibentsyylijodidia. Kromatografia silikageelillä (eluentit D, C ja J), jolloin saadaan puhdas otsikkoyhdiste. TLC R_f(C) = 0,42. MS M^+ = 455.

45d) 5(S)-(Boc-amino)-4(S)-hydroksi-6-fenyyli-2(R)-[(3,4-dimetoksifenyyli)metyyli]-heksaanihappo

Analogisesti esimerkille 44d), 778 mg 5(S)-[1(S)-(Boc-amino)-2-fenyylietyyli]-3(R)-[(3,4-dimetoksifenyyli)metyyli]-dihydrofuran-2-(3H)-onia 27,67 ml:ssa dimetoksietaania ja 13,91 ml:ssa vettä hydrolysoidaan 6,83 ml:lla 1 M litiumhydroksidiliuosta, jolloin saadaan otsikkoyhdistettä, joka alistetaan suoraan edelleen käsittelylle. TLC R_f(C) = 0,07.

45e) 5(S)-(Boc-amino)-4(S)-(tert-butyylidimetyylisilyylioksi)-6-fenyyli-2(R)-[(3,4-dimetoksifenyyli)metyyli]heksaanihappo

Analogisesti esimerkille 44e), 804 mg 5(S)-(Boc-amino)-4(S)-hydroksi-6-fenyyli-2(R)-[(3,4-dimetoksifenyyli)metyyli]heksaanihappoa 5,94 ml:ssa DMF:ää silyloidaan 1,162 g:lla tert-butyylidimetyylikloorisilaania ja 946,6 mg:lla imidatsolia. Raakatuotteen silyyliesteri lohkaistaan huoneenlämpötilassa 2 tunnin aikana seoksessa, jossa on 19,61 ml metanolia, 7,56 ml THF:ää, 7,56 ml vettä ja 1,334 g kaliumkarbonaattia. Otsikkoyhdiste puhdistetaan kromatografoimalla kahdesti silikageelillä (eluentit: D, C, J ja B). TLC R_f(C) = 0,27. MS M^+ =557.

45f) 5(S)-(Boc-amino)-4(S)-(tert-butyylidimetyylisilyylioksi)-6-fenyyli-2(R)-[(3,4-dimetoksifenyyli)metyyli]heksanoyyli-(L)-Val-N-(2-metoksietyyli)amidi

Analogisesti esimerkille 44f), 109,9 mg 5(S)-(Boc-amino)-4(S)-(tert-butyylidimetyylisilyylioksi)-6-fenyyli-2(R)-[(3,4-dimetoksifenyyli)metyyli]heksaanihappoa, 78,1 mg HBTU:ta ja 35,9 mg H-(L)-Val-N-(2-metoksietyyli)amidia [esimerkki 1b)] 1,75 ml:ssa 0,25 M NMM/CH_3CN:ää saatetaan reagoimaan, jolloin saadaan otsikkoyhdiste. TLC R_f(A) = 0,39. FAB-MS $(M+H)^+$ = 744.

Esimerkki 46: 5(S)-(Boc-amino)-4(S)-hydroksi-6-fenyyli-2(R)-[(3-metoksifenyyli)-metyyli]heksanoyyli-(L)-Val-N-(2-metoksietyyli)amidi

Analogisesti esimerkille 44, 300 mg 5(S)-(Boc-amino)-4(S)-(tert-butyylidimetyylisilyylioksi)-6-fenyyli-2(R)-[(3-me-

toksifenyyli)metyyli]heksanoyyli-(L)-Val-N-(2-metoksietyyli)amidia 6,63 ml:ssa absoluuttista DMF:ää desilyloidaan 217,7 mg:lla TBAF:ää, jolloin saadaan otsikkoyhdistettä. Puhdistus suoritetaan kromatografoimalla silikageelillä (eluentti A ja metanoli), tai saostamalla aineen kylmästä etyyliasetaatista. TLC R_f(A) = 0,32. FAB-MS $(M+H)^+$ = 600.

46a) 3-metoksibentsyylijodidi

Analogisesti esimerkille 44b), otsikkoyhdiste saadaan 2 ml:sta 3-metoksibentsyylikloridia (Fluka, Buchs, Sveitsi) ja 9,72 g:sta natriumjodidia 23 ml:ssa absoluuttista asetonia. TLC R_f(heksaani/etyyliasetaatti, 2,5:1) = 0,71. ^{1}H-NMR (200 MHz, $CDCl_3$): 7,20 (m, 1H); 7,0 - 6,87 (m, 2H); 6,78 (dxd, 1H); 4,42 (s, 2H); 3,8 (s, 3H).

46b) 5(S)-[1(S)-(Boc-amino)-2-fenyylietyyli]-3(R)-[(3-metoksifenyyli)metyyli]-dihydrofuran-2-(3H)-oni

Analogisesti esimerkille 44c), 1,5 g 5(S)-[1(S)-(Boc-amino)-2-fenyylietyyli]-dihydrofuran-2-(3H)-onia [esimerkki 2b)] 3 ml:ssa absoluuttista THF:ää deprotonoidaan (-75 °C) 9,62 ml:lla 1 M litiumbis(trimetyylisilyyli)amidin liuosta THF:ssä ja lisäten 0,998 ml DMPU:ta, ja alkyloidaan 1,22 g:lla 3-metoksibentsyylijodidia. Kromatografoidaan silikageelillä (eluentti E), jolloin saadaan puhdas otsikkoyhdiste. TLC R_f(heksaani/etyyliasetaatti, 2,5:1) = 0,32. FAB-MS $(M+H)^+$ = 426.

46c) 5(S)-(Boc-amino)-4(S)-hydroksi-6-fenyyli-2(R)-[(3-metoksifenyyli)metyyli]-heksaanihappo

Analogisesti esimerkille 44d), 1,315 g 5(S)-[1(S)-(Boc-amino)-2-fenyylietyyli]-3(R)-[(3-metoksifenyyli)metyyli]dihydrofuran-2-(3H)-onia 49,9 ml:ssa dimetoksietaania ja 25,16 ml:ssa vettä hydrolysoidaan 12,36 ml:lla 1 M litiumhydroksidiliuosta, jolloin saadaan otsikkoyhdistettä, jota käytetään suoraan edelleen. TLC R_f(C) = 0,09. FAB-MS $(M+H)^+$ = 444.

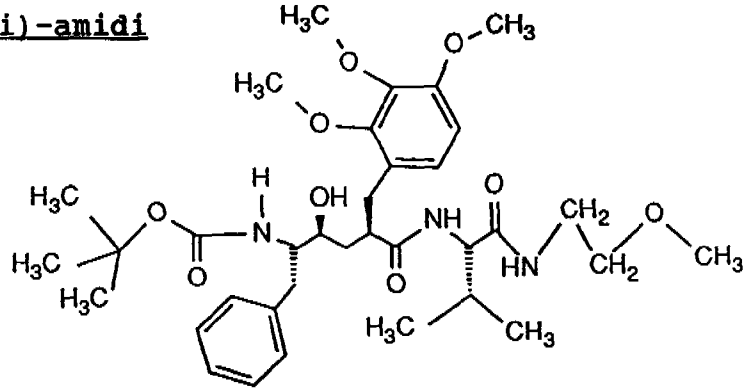
46d) 5(S)-(Boc-amino)-4(S)-(tert-butyylidimetyylisilyylioksi)-6-fenyyli-2(R)-[(3-metoksifenyyli)metyyli]heksaanihappo

Analogisesti esimerkille 44e), 1,3 g 5(S)-(Boc-amino)-4(S)-hydroksi-6-fenyyli-2(R)-[(3-metoksifenyyli)metyyli]heksaanihappoa 13 ml:ssa DMF:ää silyloidaan 1,987 g:lla tert-butyylidimetyyliklоorisilaania ja 1,646 g:lla imidatsolia. Raakatuotteen silyyliesteriryhmä irrotetaan huoneenlämpötilassa 2 tunnin aikana seoksessa, jossa on 38,94 ml metanolia, 13,34 ml THF:ää, 13,34 ml vettä ja 2,35 g kaliumkarbonaattia. Kromatografoidaan silikageelillä (eluentit: E, D ja C), jolloin saadaan puhdas otsikkoyhdiste. TLC R_f(D) = 0,06. FAB-MS $(M+H)^+$ = 558.

46e) 5(S)-(Boc-amino)-4(S)-(tert-butyylidimetyylisilyylioksi)-6-fenyyli-2(R)-[(3-metoksifenyyli)metyyli]heksanoyyli-(L)-Val-N-(2-metoksietyyli)amidi

Analogisesti esimerkille 44f), 200 mg 5(S)-(Boc-amino)-4(S)-(tert-butyylidimetyylisilyylioksi)-6-fenyyli-2(R)-[(3-metoksifenyyli)metyyli]heksaanihappoa ja 68,6 mg H-(L)-Val-N-(2-metoksietyyli)amidia [esimerkki 1b)] 3,36 ml:ssa 0,25 M NMM/CH_3CN:ää saatetaan reagoimaan 149,4 mg:n kanssa HBTU:ta, jolloin saadaan otsikkoyhdiste. TLC R_f(C) = 0,20. FAB-MS $(M+H)^+$ = 714.

Esimerkki 47: 5(S)-(Boc-amino)-4(S)-hydroksi-6-fenyyli-2(R)-[(2,3,4-trimetoksifenyyli)metyyli]heksanoyyli-(L)-Val-N-(2-metoksietyyli)-amidi

(kaava: )

(0,379 mmol) 5(S)-(Boc-amino)-4(S)-(tert-butyylidimetyylisilyylioksi)-6-fenyyli-2(R)-[(2,3,4-trimetoksifenyy-

li)metyyli]heksanoyyli-(L)-Val-N-(2-metoksietyyli)amidia 7,28 ml:ssa absoluuttista DMF:ää käsitellään 244 mg:lla (0,758 mmol) TBAF:ää, ja tätä seosta sekoitetaan 20 tunnin ajan huoneenlämpötilassa argonissa. Reaktioseos laimennetaan noin 50 ml:lla etyyliasetaattia, ja tämä seos pestään, peräkkäin, vedellä, kylläisellä natriumbikarbonaattiliuoksella ja suolaliuoksella. Yhdistetyt vesifaasit uutetaan uudelleen etyyliasetaatilla. Yhdistetyt orgaaniset faasit kuivataan natriumsulfaatilla ja konsentroidaan noin 30 °C:ssa. Jäännös liuotetaan pieneen määrään etyyliasetaattia. Lisätään heksaania, jolloin haluttu otsikkoyhdiste kiteytyy. Lisää tuotetta saadaan puhdistamalla emäliuosta silikageelillä (eluentti, etyyliasetaatti:metanoli, 9:1). sp.: 141 - 143 °C. TLC R_f(etyyliasetaatti) = 0,16. FAB-MS $(M+H)^+$ = 660. HPLC t_{Ret} = 14,59 min (gradientti II). IR (KBr) = mm., 1687, 1651, 1622, 1525, 1495 ja 1172 cm^{-1}. ^{1}H-NMR (CD_3OD) = mm. 7,30 - 7,10/m (5H); 6,78 ja 6,63/kumpikin d (kumpikin 1 H); 4,03/d (1H); 3,85, 3,81 ja 3,80/kumpikin s (kumpikin 3 H); 1,32 ja 1,26/kumpikin s (yhteensä 9H Boc:stä); 0,82/pseudo t (6H).

Lähtöaine valmistetaan seuraavasti:

47a) <u>2,3,4-trimetoksibentsyylikloridi</u>

5 g (24,47 mmol) 2,3,4-trimetoksibentsyylialkoholia (Aldrich, Steinheim, FRG) liuotetaan argonissa 13,9 ml:aan absoluuttista metyleenikloridia, ja tämä liuos käsitellään 0,278 ml:lla pyridiiniä. Tähän liuokseen lisätään tipoittain 20 min aikana 3,05 ml tionyylikloridia 6,94 ml:ssa absoluuttista metyleenikloridia jäähdyttäen hieman (jää/-vesi). Tämän menettelytavan aikana sisälämpötila kohoaa noin 18 - 23 °C:seen. Seuraavaksi aeoksen annetaan reagoida 45 min ajan, ja sitten hieman keltainen liuos kaadetaan jää/veteen. Kun faasit on erotettu, orgaaninen faasi pestään kerran sekä 1 N rikkihapolla että vedellä. Kuivataan Na_2SO_4:llä, liuotin poistetaan, ja öljymäinen jäännös tislataan suurtyhjössä [kp.: 93 - 95 °C/9,3 Pa (0,07 torr)], jolloin saadaan otsikkoyhdiste. ^{1}H-NMR (220 MHz, $CDCl_3$):

7,05 (d, 1H); 6,65 (d, 1H); 4,61 (s, 2H); 3,97 (s, 3H); 3,85 (s, 3H). HPLC: t_{Ret} = 8,1 min (gradientti II).

47b) 2,3,4-trimetoksibentsyylijodidi

46,64 g (215,2 mmol) 2,3,4-trimetoksibentsyylikloridia 466 ml:ssa absoluuttista asetonia käsitellään 156,7 g:lla (4,86 ekvivalenttia) natriumjodidia, ja tätä seosta sekoitetaan 2,75 tuntia huoneenlämpötilassa valon pois sulkien. Reaktioseos käsitellään noin 3 l:lla (kylmää) eetteriä, ja orgaaninen faasi pestään kerran 10-%:isella natriumtiofosfaattiliuoksella ja kahdesti suolaliuoksella (molempien liuostyyppien ollessa kylmiä). Yhdistetyt vesifaasit uutetaan uudelleen eetterillä. Yhdistetyt orgaaniset faasit kuivataan Na_2SO_4:llä ja haihdutetaan kiertohaihduttimella noin 30 °C:ssa. Jäännös, joka on haluttua otsikkoyhdistettä, kuivataan jälleen suurtyhjössä, ja alistetaan edelleen käsittelylle raakatuotteena. ^{1}H-NMR (200 MHz, $CDCl_3$): 7,03 ja 6,59 (kumpikin d; kumpikin 1H); 4,47 (s, 2H); 4,05, 3,85 ja 3,84 (kumpikin s, kumpikin 3H).

47c) 5(S)-[1(S)-(Boc-amino)-2-fenyylietyyli]-3(R)-[(2,3,4-trimetoksifenyyli)metyyli]-dihydrofuran-2-(3H)-oni

Liuos, jossa on 1,368 g (4,48 mmol) 5(S)-[1(S)-(Boc-amino)-2-fenyylietyyli]dihydrofuran-2-(3H)-onia [esimerkki 2b)] 5 ml:ssa absoluuttista THF:ää ja 0,91 ml (1,67 ekvivalenttia) DMPU:ta, jäähdytetään -75 °C:seen, argonissa, ja käsitellään tipoittain sisäisessä lämpötilassa alle -70 °C ja noin 20 min aikana 8,78 ml:lla 1 M litiumbis(trimetyylisilyyli)-amidin liuosta THF:ssä (Aldrich). Edelleen 15 min kuluttua tähän seokseen lisätään tipoittain noin 15 min aikana liuos, jossa on 1,38 g (1 ekvivalentti) 2,3,4-trimetoksibentsyylijodidia 2,5 ml:ssa absoluuttista THF:ää, ja seoksen annetaan reagoida -75 °C:ssa vielä 2,25 tunnin ajan. Jatkokäsittelemiseksi reaktioseos käsitellään 1,67 ml:lla propionihappoa ja 1,67 ml:lla vettä, ja lämpötilan annetaan kohota 0 °C:seen. Seos kaadetaan 20 ml:aan (kylmää) 10-%:ista sitruunahappoa, ja tähän seokseen lisätään

noin 50 ml (kylmää) etyyliasetaattia. Kun on sekoitettu vielä 5 min ajan, faasit erotetaan. Orgaaninen faasi pestään, peräkkäin, suolaliuoksella, kylläisellä natriumbikarbonaattiliuoksella ja vielä kerran suolaliuoksella. Yhdistetyt vesifaasit uutetaan uudelleen kahdesti etyyliasetaatilla. Yhdistetyt orgaaniset faasit kuivataan Na_2SO_4:llä ja konsentroidaan. Liuottimen poiston jälkeen jäävä jäännös kromatografoidaan silikageelillä (heksaani:etyyliasetaatti, 3:1), jolloin saadaan otsikkoyhdiste. HPLC t_{ret} = 16,49 min (gradientti II). FAB-MS $(M+H)^+$ = 486 ja M^+ = 485. IR(KBr) = mm., 3312, 1759, 1686, 1603, 1537, 1165 ja 1104 cm^{-1}. ^1H-NMR (CD_3OD) = mm., 7,30 - 7,10 (m, 5H); 6,84 ja 6,66 (kumpikin d, kumpikin 1H); 3,85, 3,82 ja 3,87 (kumpikin s, kumpikin 3H); 1,30 (s, 9H).

47d) <u>5(S)-(Boc-amino)-4(S)-hydroksi-6-fenyyli-2(R)-[(2,3,4-trimetoksifenyyli)-metyyli]heksaanihappo</u>

Liuosta, jossa on 1,354 g (2,685 mmol) 5(S)-[1(S)-(Boc-amino)-2-fenyylietyyli]-3(R)-[(2,3,4-trimetoksifenyyli)metyyli]dihydrofuran-2-(3H)-onia 43,36 ml:ssa dimetoksietaania ja 21,86 ml:ssa vettä, käsitellään huoneenlämpötilassa 10,74 ml:lla 1 M litiumhydroksidin vesiliuosta, ja tätä reaktioseosta sekoitetaan 2 tunnin ajan. Sitten se siirretään erotussuppiloon, laimennetaan 132 ml:lla kylläistä ammoniumkloridiliuosta ja 11 ml:lla 10-%:ista sitruunahappoliuosta (molemmat kylmiä), ja sitten tämä seos uutetaan etyyliasetaatilla ja pienellä määrällä THF:ää. Orgaaninen faasi pestään (kylmällä) suolaliuoksella ja kuivataan natriumsulfaatilla, jolloin saadaan otsikkoyhdiste, joka kuivataan syyrtyhjössä ja alistetaan edelleen käsittelylle puhdistamatta. TLC R_f(C) = 0,03. MS $(M-H_2O)^+$ = 485.

47e) <u>5(S)-(Boc-amino)-4(S)-(tert-butyylidimetyylisilyylioksi)-6-fenyyli-2(R)-[(2,3,4-trimetoksifenyyli)metyyli]heksaanihappo</u>

Liuosta, jossa on 1,308 g (2,597 mmol) 5(S)-(Boc-amino)-4(S)-hydroksi-6-fenyyli-2(R)-[(2,3,4-trimetoksifenyyli)me-

tyyli]heksaanihappoa, 1,443 g (20,776 mmol) imidatsolia ja 1,816 g (11,686 mmol) tert-butyylidimetyylikloorisilaania 13 ml:ssa absoluuttista DMF:ää, sekoitetaan huoneenlämpötilassa 17 tunnin ajan argonissa. Tämän jälkeen reaktioseos kaadetaan jääveteen, ja tämä seos uutetaan etyyliasetaatilla. Orgaaninen faasi pestään kylmällä 10-%:isella sitruunahappoliuoksella ja suolaliuoksella. Yhdistetyt vesifaasit uutetaan uudelleen etyyliasetaatilla. Yhdistetyt orgaaniset faasit kuivataan natriumsulfaatilla ja haihdutetaan kiertohaihduttimella noin 30 °C:ssa. Tulokseksi saatu tuote liuotetaan 34,51 ml:aan metanolia ja 11,82 ml:aan THF:ää, ja tämä liuos käsitellään huoneenlämpötilassa 2,08 g:lla kaliumkarbonaattia 11,82 ml:ssa vettä. Sekoitetaan 2,5 tunnin ajan, reaktioseos konsentroidaan noin 30 °C:ssa puoleen tilavuuteensa, ja käsitellään etyyliasetaatilla ja 10-%:isella (kylmällä) sitruunahappoliuoksella, ja faasit erotetaan. Orgaaninen faasi pestään edelleen kahdesti (kylmällä) suolaliuoksella. Yhdistetyt vesifaasit uutetaan uudelleen etyyliasetaatilla. Yhdistetyt orgaaniset faasit kuivataan Na_2SO_4:llä ja konsentroidaan. Jäännös puhdistetaan kromatografoimalla silikageelillä (heksaani:etyyliasetaatti, 1:1, ja sitten 1:1,5), jolloin saadaan otsikkoyhdiste. TLC R_f(J) = 0,02. FAB-MS $(M+H)^+$ = 618 IR(KBr) mm.: 1712, 1495, 1366, 1101 ja 836 cm-1. 1H-NMR (CD_3OD) mm.: 7,30 - 7,10 (m, 5H); 6,84 ja 6,67 (kumpikin d, kumpikin 1H); 6,23 ja 5,55 (kumpikin d, yhteensä 1H NH:sta); 3,86, 3,81 ja 3,80 (kukin s, kukin 3H); 1,31 ja 1,20 (kumpikin s, yhteensä 9H Boc:stä); 0,93 (s, 9H); 0,14 ja 0,11 (kumpikin s, kumpikin 3H).

47f) <u>5(S)-(Boc-amino)-4(S)-(tert-butyylidimetyylisilyylioksi)-6-fenyyli-2(R)-[(2,3,4-trimetoksifenyyli)metyyli]heksanoyyli-(L)-Val-N-(2-metoksietyyli)amidi</u>

Seosta, jossa on 250 mg (0,405 mmol) 5(S)-(Boc-amino)-4(S)-(tert-butyylidimetyylisilyylioksi)-6-fenyyli-2(R)-[(2,3,4-trimetoksifenyyli)metyyli]heksaanihappoa, 168,8 mg (0,445 mmol) HBTU:ta ja 77,55 mg (0,445 mmol) H-(L)-Val-N-(2-

metoksietyyli)amidia [esimerkki 1b)] 3,8 ml:ssa 0,25 M NMM-liuosta asetonitriilissä (2,35 ekvivalenttia), sekoitetaan 21 tunnin ajan argonissa ja huoneenlämpötilassa. Tämän jälkeen reaktioseos konsentroidaan kiertohaihduttimella noin 30 °C:ssa, ja jäännös otetaan etyyliasetaattiin; tämä liuos pestään, peräkkäin, 10-%:isella sitruunahappoliuoksella, vedellä, kylläisellä natriumbikarbonaattiliuoksella ja suolaliuoksella (jotka kaikki ovat kylmiä). Yhdistetyt vesifaasit uutetaan uudelleen etyyliasetaatilla. Yhdistetyt orgaaniset faasit kuivataan Na_2SO_4:llä ja konsentroidaan. Raakatuotetta (otsikkoyhdistettä) käytetään edelleen enempää puhdistamatta. TLC R_f(A) = 0,57. FAB-MS $(M+H)^+$ = 774. HPLC t_{Ret} = 21,68 min (gradientti II). IR (KBr) = mm. 1711, 1653, 1495, 1468, 1100 ja 836 cm^{-1}. ^{1}H-NMR (CD_3OD) = mm., 7,3 - 7,1 (m, 5H); 6,79 ja 6,65 (kumpikin d, kumpikin 1H); 5,93 ja 5,57 (kumpikin d, yhteensä 1H NH:sta); 3,87, 3,83 ja 3,80 (kukin s, kukin 3H); 3,35 (s, 2H); 1,30 ja 1,20 (kumpikin s, yhteensä 9H Boc:stä); 0,96 (s, 9H); 0,90 ja 0,87 (kumpikin 3H); 0,18 ja 0,16 (kumpikin s, kumpikin 3H).

Vaihtoehtoisesti esimerkissä 47 kuvattu yhdiste voidaan saada helposti myös seuraavalla tavalla [katso tässä yhteydessä julkaisua J. Med. Chem. 37, 2991 (1994)]:

47g) <u>5(S)-(Boc-amino)-4(S)-hydroksi-6-fenyyli-2(R)-[(2,3,4-trimetoksifenyyli)-metyyli]heksanoyyli-(L)-Val-N-(2-metoksietyyli)amidi</u>

1 g (2,06 mmol) 5(S)-[1(S)-(Boc-amino)-2-fenyylietyyli]-3(R)-[(2,3,4-trimetoksifenyyli)metyyli]dihydrofuran-2-(3H)-onia [valmistettu esimerkin 47c) mukaan] ja 2,51 g (7 ekvivalenttia) H-(L)-Val-N-(2-metoksietyyli)amidia [valmistettu esimerkin 1b) mukaan] saatetaan reagoimaan 70 °C:ssa 18 tunnin ajan 0,354 ml:n (3 ekvivalenttia) kanssa etikkahappoa pommiputkessa. Seoksen annetaan jäähtyä, ja jäännös otetaan etyyliasetaattiin, ja orgaaninen faasi pestään, peräkkäin, 1 N suolahapolla, vedellä ja suolaliuoksella. Kuivataan natriumsulfaatilla ja liuotin poiste-

taan, ja jäännös uudelleenkiteytetään etanoli/vedestä. Tulokseksi saatu yhdiste on identtinen esimerkissä 47 kuvatun otsikkoyhdisteen kanssa.

Eräs toinen vaihtoehtoinen menetelmä esimerkin 47 otsikkoyhdisteen valmistamiseksi:

47h) 5(S)-(Boc-amino)-4(S)-hydroksi-6-fenyyli-2(R)-[(2,3,4-trimetoksifenyyli)-metyyli]heksanoyyli-(L)-Val-N-(2-metoksietyyli)amidi

500 mg (1,03 mmol) 5(S)-[1(S)-(Boc-amino)-2-fenyylietyyli]-3(R)-[(2,3,4-trimetoksifenyyli)metyyli]dihydrofuran-2-(3H)-onia [valmistettu esimerkin 47c) mukaan] ja 538,5 mg (3 ekvivalenttia) H-(L)-Val-N-(2-metoksietyyli)amidia [valmistettu esimerkin 1b) mukaan] saatetaan reagoimaan 90 °C:ssa 40 tunnin ajan 101 mg:n (1 ekvivalentti) kanssa 2-hydroksipyridiiniä pommiputkessa. Jäännös otetaan 4 ml:aan etanolia ja kaadetaan 50 ml:aan vettä, ja tätä seosta sekoitetaan 2 tunnin ajan. Kiteinen sakka suodatetaan pois imupullolla, pestään vedellä ja kuivataan. Tulokseksi saatu yhdiste on identtinen esimerkissä 47 kuvatun otsikkoyhdisteen kanssa.

Vaihtoehtoisesti, ja analogisesti esimerkissä 47c) esitetylle tavalle, tuossa esimerkissä kuvattu otsikkoyhdiste voidaan valmistaa myös käyttämällä 2,3,4-trimetoksibentsyylibromidia (2,3,4-trimetoksibentsyylijodidin sijasta). 2,3,4-trimetoksibentsyylibromidi valmistetaan seuraavalla tavalla:

47i) 2,3,4-trimetoksibentsyylibromidi

2,04 g (10 mmol) 2,3,4-trimetoksibentsyylialkoholia 30 ml:ssa absoluuttista tolueenia käsitellään 0,258 ml:lla (0,32 ekvivalenttia) pyridiiniä, ja liuos jäähdytetään noin 4 °C:seen jäävettä käyttämällä. Tähän liuokseen lisätään tässä lämpötilassa tipoittain ja 30 min aikana 0,951 ml fosforitribromidia 5 ml:ssa absoluuttista tolueenia, ja

liuoksen annetaan sekoittua tässä lämpötilassa vielä 45 min ajan. Reaktioseos laimennetaan eetterillä, ja kokonaisuus kaadetaan jääveteen, sekoittaen tätä seosta sitten 5 min ajan. Faasit erotetaan, orgaaninen faasi pestään, peräkäin, vedellä, suolaliuoksella, kylläisellä natriumbikarbonaattiliuoksella ja vielä kerran suolaliuoksella (jotka ovat kaikki kylmiä). Orgaaninen faasi kuivataan natriumsulfaatilla, konsentroidaan, ja liuotinjäämät poistetaan jäännöksestä suurtyhjössä 1 tunnin aikana. Tulokseksi saatu otsikkoyhdiste alistetaan edelleen käsittelylle enempää puhdistamatta. ^{1}H-NMR (200 MHz; $CDCl_3$) = 7,05/d (1H); 6,65/d (1H); 4,55/s (2H); 4,07, 3,88 ja 3,85/kumpikin s (kumpikin 3H).

Esimerkki 48: 5(S)-(Boc-amino)-4(S)-hydroksi-6-fenyyli-2(R)-[(3,4,5-trimetoksifenyyli)metyyli]heksanoyyli-(L)-Val-N-(2-metoksietyyli)amidi

Analogisesti esimerkille 44, 191 mg 5(S)-(Boc-amino)-4(S)-(tert-butyylidimetyylisilyylioksi)-6-fenyyli-2(R)-[(3,4,5-trimetoksifenyyli)metyyli]heksanoyyli-(L)-Val-N-(2-metoksietyyli)amidia 4,6 ml:ssa absoluuttista DMF:ää desilyloidaan 159 mg:lla TBAF:ää, jolloin saadaan otsikkoyhdistettä. Raakatuote puhdistetaan kromatografoimalla silikageelillä (eluentti A), liuotetaan dioksaaniin ja lyofilisoidaan. TLC R_f(A) = 0,26. FAB-MS $(M+H)^+$ = 660.

Lähtöaine valmistetaan seuraavasti:

48a) 3,4,5-trimetoksibentsyylijodidi

Analogisesti esimerkille 44b), otsikkoyhdiste saadaan 5 g:sta 3,4,5-trimetoksibentsyylikloridia (Fluka, Buchs, Sveitsi) ja 16,89 g:sta natriumjodidia 40 ml:ssa absoluuttista asetonia. TLC R_f(heksaani:etyyliasetaatti, 4:1) = 0,27. ^{1}H-NMR (360 MHz, $CDCl_3$): 6,60 (s, 2H); 4,44 (s, 2H); 3,86 (s, 6H); 3,83 (s, 3H).

48b) 5(S)-[1(S)-(Boc-amino)-2-fenyylietyyli]-3(R)-[(3,4,5-trimetoksifenyyli)metyyli]-dihydrofuran-2-(3H)-oni

Analogisesti esimerkille 44c), 1 g 5(S)-[1(S)-(Boc-amino)-2-fenyylietyyli]-dihydrofuran-2-(3H)-onia [esimerkki 2b)] 4 ml:ssa absoluuttista THF:ää deprotonoidaan (-75 °C) 6,42 ml:lla 1 M litiumbis(trimetyylisilyyli)amidin liuosta THF:ssä ja lisäten 0,66 ml DMPU:ta, ja alkyloidaan 1,008 g:lla 3,4,5-trimetoksibentsyylijodidia. Kromatografoidaan silikageelillä (eluentti, heksaani/asetoni 3:1), jolloin saadaan otsikkoyhdiste. TLC R_f(heksaani/asetoni, 3:1) = 0,22. FAB-MS M^+ = 485.

48c) 5(S)-(Boc-amino)-4(S)-hydroksi-6-fenyyli-2(R)-[(3,4,5-trimetoksifenyyli)-metyyli]heksaanihappo

Analogisesti esimerkille 44d), 1,097 g 5(S)-[1(S)-(Boc-amino)-2-fenyylietyyli]-3(R)-[(3,4,5-trimetoksifenyyli)metyyli]dihydrofuran-2-(3H)-onia 36,48 ml:ssa dimetoksietaania ja 18,39 ml:ssa vettä hydrolysoidaan 9,03 ml:lla 1 M litiumhydroksidiliuosta, jolloin saadaan otsikkoyhdistettä, joka alistetaan edelleen käsittelylle enempää puhdistamatta.

48d) 5(S)-(Boc-amino)-4(S)-(tert-butyylidimetyylisilyylioksi)-6-fenyyli-2(R)-[(3,4,5-trimetoksifenyyli)metyyli]heksaanihappo

Analogisesti esimerkille 44c), 1,526 g 5(S)-(Boc-amino)-4(S)-hydroksi-6-fenyyli-2(R)-[(3,4,5-trimetoksifenyyli)metyyli]heksaanihappoa 15,16 ml:ssa DMF:ää silyloidaan 2,11 g:lla tert-butyylidimetyylikloorisilaania ja 1,683 g:lla imidatsolia. Raakatuotteen silyyliesteriryhmä irrotetaan huoneenlämpötilassa 2,5 tunnin aikana seoksessa, jossa on 40,3 ml metanolia, 13,8 ml THF:ää, 13,8 ml vettä ja 2,42 g kaliumkarbonaattia. Otsikkoyhdiste puhdistetaan kromatografoimalla kahdesti silikageelillä (liuottimet: heksaani, C ja J). TLC R_f(A) = 0,39. FAB-MS $(M+H)^+$ = 618.

48e) 5(S)-(Boc-amino)-4(S)-(tert-butyylidimetyylisilyylioksi)-6-fenyyli-2(R)-[(3,4,5-trimetoksifenyyli)metyyli]heksanoyyli-(L)-Val-N-(2-metoksietyyli)amidi

Analogisesti esimerkille 44f), 202 mg 5(S)-(Boc-amino)-4(S)-(tert-butyylidimetyylisilyylioksi)-6-fenyyli-2(R)-[(3,4,5-trimetoksifenyyli)metyyli]heksaanihappoa ja 62,6 mg H-(L)-Val-N-(2-metoksietyyli)amidia [valmistettu esimerkin 1b) mukaan] 3,07 ml:ssa 0,25 M NMM/CH_3CN:ää saatetaan reagoimaan 20 tunnin ajan 136,4 mg:n kanssa HBTU:ta, ja edelleen 24,8 mg:n kanssa HBTU:ta, jolloin muodostuu otsikkoyhdistettä, joka alistetaan puhdistamatta edelleen käsittelylle. TLC R_f(A) = 0,32. FAB-MS $(M+H)^+$ = 774.

Esimerkki 49: <u>5(S)-(Boc-amino)-4(S)-hydroksi-6-fenyyli-2(R)-[(2,4-dimetoksifenyyli)metyyli]heksanoyyli-(L)-Val-N-(2-metoksietyyli)amidi</u>

599 mg (0,805 mmol) 5(S)-(Boc-amino)-4(S)-(tert-butyylidimetyylisilyylioksi)-6-fenyyli-2(R)-[(2,4-dimetoksifenyyli)metyyli]heksanoyyli-(L)-Val-N-(2-metoksietyyli)amidia 15,5 ml:ssa absoluuttista DMF:ää käsitellään 508 mg:lla (1,61 mmol) TBAF:ää, ja reaktioseosta sekoitetaan huoneenlämpötilassa 20 tunnin ajan argonissa. Sitten se laimennetaan noin 80 ml:lla etyyliasetaattia, ja kokonaisuus pestään, peräkkäin, vedellä, kylläisellä natriumbikarbonaattiliuoksella ja suolaliuoksella. Yhdistetyt vesifaasit uutetaan uudelleen etyyliasetaatilla. Yhdistetyt orgaaniset faasit kuivataan Na_2SO_4:llä, ja konsentroidaan noin 30 ml:aan kiertohaihduttimella. Tämän menettelytavan aikana otsikkoyhdiste saostuu puhtaassa muodossa. Viimeksi mainittu suodatetaan pois imupullolla, pestään heksaanilla ja kuivataan vakiopainoon. TLC R_f(A) = 0,28. FAB-MS $(M+H)^+$ = 630. HPLC t_{ret} = 14,79 min (gradientti II). IR (KBr) = mm. 3463, 3340, 3305, 1685, 1648, 1620 ja 1524 cm^{-1}. ^{1}H-NMR (CD_3OD) = mm. 7,29 - 7,09/m (5H); 6,90/d (1H); 6,46/d (1H); 6,35/dxd (1H); 4,01/d (1H); 3,80 ja 3,75/kumpikin s (kumpikin 3H); 3,30/s (3H); 1,35/s (9H); 0,83/pseudo t (6H).

Lähtöaine valmistetaan seuraavasti:

49a) <u>2,4-dimetoksibentsyylibromidi</u>

2 g (11,77 mmol) 2,4-dimetoksibentsyylialkoholia (Aldrich,

Steinheim, SLT) liuotetaan 30 ml:aan absoluuttista tolueenia, ja tämä liuos käsitellään 0,3 ml:lla pyridiiniä. Kirkas liuos jäähdytetään noin 4 °C:seen ja siihen lisätään tipoittain 30 min aikana 1,12 ml (0,992 ekvivalenttia) PBr_3:a 6 ml:ssa absoluuttista tolueenia. Edelleen 45 min kuluttua reaktioliuos kaadetaan jääveteen, ja kokonaisuus uutetaan eetterillä. Orgaaninen faasi pestään, peräkkäin, vedellä, kylläisellä natriumbikarbonaattiliuoksella ja suolaliuoksella (jotka kaikki ovat kylmiä). Yhdistetyt vesifaasit uutetaan uudelleen eetterillä. Yhdistetyt orgaaniset faasit kuivataan Na_2SO_4:llä, ja eetteri poistetaan kiertohaihduttimella noin 30 °C:ssa. Tolueeniliuos, joka jää jäljelle ja sisältää otsikkoyhdisteen, alistetaan välittömästi edelleen käsittelylle. TLC (heksaani:etyyliasetaatti, 1:1): hajoaa.

49b) <u>5(S)-[1(S)-(Boc-amino)-2-fenyylietyyli]-3(R)-[(2,4-dimetoksifenyyli)metyyli]-dihydrofuran-2-(3H)-oni</u>

Liuosta, jossa on 3,57 g (11,7 mmol) 5(S)-[1(S)-(Boc-amino)-2-fenyylietyyli]dihydrofuran-2-(3H)-onia [esimerkki 2b)] 12 ml:ssa absoluuttista THF:ää ja 2,35 ml:ssa DMPU:ta (1,65 ekvivalenttia), jäähdytetään argonissa -75 °C:seen, ja käsitellään tipoittain sisäisessä lämpötilassa alle -70 °C ja 30 min aikana 22,9 ml:lla (1,96 ekvivalenttia) 1 M litiumbis(trimetyylisilyyli)amidin liuosta THF:ssä (Aldrich, Steinheim, SLT). Edelleen 15 min kuluttua tähän seokseen lisätään tipoittain 20 min aikana 25 ml tolueeniliuosta, joka sisältää noin 1 ekvivalentin 2,4-dimetoksibentsyylibromidia, ja tämän seoksen annetaan reagoida 2 tunnin ajan -70 °C:ssa. Sitten tähän liuokseen lisätään 4,36 ml propionihappoa ja 4,36 ml vettä, ja lämpötilan annetaan kohota 0 °C:seen. Reaktioseos laimennetaan 200 ml:lla (kylmää) etyyliasetaattia, ja sekoitetaan 5 min ajan 60 ml:lla (kylmää) 10-%:ista sitruunahappoa. Tämän jälkeen faasit erotetaan. Orgaaninen faasi pestään, peräkkäin, suolaliuoksella, kylläisellä natriumbikarbonaattiliuoksella ja jälleen kerran suolaliuoksella, kuivataan Na_2SO_4:llä ja

konsentroidaan. Otsikkoyhdiste eristetään flash-kromatografialla silikageelillä (E). TLC R_f(E) = 0,24. FAB-MS $(M+H)^+$ = 455. HPLC t_{ret} = 16,85 min (gradientti II). IR (CH_2Cl_2) = mm. 3429, 1769, 1712, 1613 ja 1506 cm^{-1}. ^{1}H-NMR ($CDCl_3$) = mm. 7,34-7,10/m (5H); 6,98/d (1H); 6,45-6,29/m (2H); 4,31/txd (1H); 3,78 ja 3,71/kumpikin s (kumpikin 3 H); 3,08 ja 2,66/kumpikin dxd (kumpikin 1H); 1,35/s (9H).

49c) 5(S)-(Boc-amino)-4(S)-hydroksi-6-fenyyli-2(R)-[(2,4-dimetoksifenyyli)metyyli]-heksaanihappo

Liuosta, jossa on 1,58 g (3,47 mmol) 5(S)-[1(S)-(Boc-amino)-2-fenyylietyyli]-3(R)-[(2,4-dimetoksifenyyli)metyyli]dihydrofuran-2-(3H)-onia 56 ml:ssa etyleeniglykolidimetyylieetteriä ja 28,2 ml:ssa vettä, käsitellään huoneenlämpötilassa 13,87 ml:lla 1 M LiOH:n vesiliuosta, ja tätä seosta sekoitetaan 1,75 tunnin ajan. Tämän jälkeen reaktioseos laimennetaan etyyliasetaatilla ja pienellä määrällä THF:ää, ja kokonaisuus pestään ensin seoksella, jossa on 170,6 ml kylläistä ammoniumkloridiliuosta ja 14,25 ml 10-%:ista sitruunahappoliuosta (jotka molemmat ovat kylmiä) ja sitten suolaliuoksella. Yhdistetyt vesifaasit uutetaan uudelleen etyyliasetaatilla. Yhdistetyt orgaaniset faasit kuivataan Na_2SO_4:llä ja haihdutetaan kiertohaihduttimella noin 30 °C:ssa. Jäännös, joka on otsikkoyhdiste, trituroidaan heksaanilla ja suodatetaan pois imupullolla. Sp.: 144 - 145 °C. TLC R_f(D) = lähdössä. FAB-MS $(M+H)^+$ = 474. HPLC t_{ret} = 14,34 min (gradientti II). IR (KBr) = mm. 3420, 3350, 2818, 1686, 1518 ja 1508 cm^{-1}. ^{1}H-NMR (CD_3OD) = mm. 7,30-7,09/m (SH); 6,94/d (1H); 6,47/d (1H); 6,37/dxd (1H); 3,78 ja 3,75/kumpikin s (kumpikin 3H); 1,33/S (9H).

49d) 5(S)-(Boc-amino)-4(S)-(tert-butyylidimetyylisilyyli oksi)-6-fenyyli-2(R)-[(2,4-dimetoksifenyyli)metyyli]heksaanihappo

Liuosta, jossa on 1,5 g (3,17 mmol) 5(S)-(Boc-amino)-4(S)-hydroksi-6-fenyyli-2(R)-[(2,4-dimetoksifenyyli)metyyli]-heksaanihappoa, 1,76 g (25,36 mmol) imidatsolia ja 2,22 g

(14,26 mmol) tert-butyylidimetyylikloorisilaania 16 ml:ssa absoluuttista DMF:ää, sekoitetaan huoneenlämpötilassa 20 tunnin ajan argonissa. Tämän jälkeen reaktioseos kaadetaan jääveteen, ja kokonaisuus uutetaan etyyliasetaatilla. Orgaaninen faasi pestään kylmällä 10-%:isella sitruunahappoliuoksella ja suolaliuoksella. Yhdistetyt vesifaasit uutetaan uudelleen etyyliasetaatilla. Yhdistetyt orgaaniset faasit kuivataan Na_2SO_4:llä, ja liuotin poistetaan kiertohaihduttimella noin 30 °C:ssa. Saadaan öljyä, joka liuotetaan 42,1 ml:aan metanolia ja 14,4 ml:aan THF:ää, ja tämä liuos käsitellään sitten huoneenlämpötilassa 2,5 g:lla kaliumkarbonaattia 14,4 ml:ssa vettä. Reaktioseosta sekoitetaan 2 tunnin ajan huoneenlämpötilassa, se konsentroidaan puoleen tilavuuteensa noin 30 °C:ssa, ja jäännös laimennetaan etyyliasetaatilla; sitten kokonaisuus pestään 10-%:isella sitruunahappoliuoksella ja suolaliuoksella (jotka ovat molemmat kylmiä). Yhdistetyt vesifaasit uutetaan uudelleen etyyliasetaatilla. Yhdistetyt orgaaniset faasit kuivataan Na_2SO_4:llä ja haihdutetaan. Kromatografoidaan silikageelillä (D), jolloin saadaan puhdas otsikkoyhdiste. TLC R_f(C) = 0,34. FAB-MS $(M+H)^+$ = 588. HPLC t_{ret} = 20,24 min (gradientti II). IR (KBr) = mm. 1712, 1654, 1614, 1588 ja 1507 cm^{-1}. ^{1}H-NMR (CD_3OD) = mm. 7,30 - 7,10/m (5H); 6,98/d (1H); 6,50/d (1H); 6,40/dxd (1H); 3,80 ja 3,76/kumpikin s (kumpikin 3H); 1,31/s (9H); 0,93/s (9H); 0,14 ja 0,11/kumpikin s (kumpikin 3H).

49e) <u>5(S)-(Boc-amino)-4(S)-(tert-butyylidimetyylisilyylioksi)-6-fenyyli-2(R)-[(2,4-dimetoksifenyyli)metyyli]heksanoyyli-(L)-Val-N-(2-metoksietyyli)amidi</u>

Seosta, jossa on 497 mg (0,845 mmol) 5(S)-(Boc-amino)-4(S)-(tert-butyylidimetyylisilyylioksi)-6-fenyyli-2(R)-[(2,4-dimetoksifenyyli)metyyli]heksaanihappoa, 352 mg (0,929 mmol) HBTU:ta ja 162 mg (0,929 mmol) H-(L)-Val-N-(2-metoksietyyli)amidia [esimerkki 1b)] 7,94 ml:ssa 0,25 M NMM:n liuosta asetonitriilissä (2,35 ekvivalenttia), sekoitetaan 20tunnin ajan huoneenlämpötilassa argonissa. Tämän jälkeen

reaktioseos konsentroidaan kiertohaihduttimella noin 30 °C:ssa, ja jäännös otetaan etyyliasetaattiin, tämä liuos pestään kylläisellä natriumbikarbonaattiliuoksella ja suolaliuoksella. Yhdistetyt vesifaasit uutetaan uudelleen etyyliasetaatilla. Yhdistetyt orgaaniset faasit kuivataan Na_2SO_4:llä, ja liuotin poistetaan kiertohaihduttimella. Jäännös koostuu otsikkoyhdisteestä, joka on käytännöllisesti katsoen puhtaassa muodossa. TLC R_f(J) = 0,25. FAB-MS $(M+H)^+$ = 744. HPLC t_{ret} = 21,55 min (gradientti II). IR (CH_2Cl_2) = mm. 3434,1703, 1667, 1506 ja 838 cm^{-1}. ^{1}H-NMR (CD_3OD) mm. 7,31 - 7,11/m (5H); 6,91/d (1H); 6,50/d (1H); 6,37/dxd (1H); 3,84 ja 3,76/kumpikin s (kumpikin 3H); 3,31/s (3H); 1,30/s (9H); 0,94/s (9H); 0,85 ja 0,83/kumpikin d (kumpikin 3H); 0,16 ja 0,15/kumpikin s (kumpikin 3H).

Esimerkki 50: <u>5(S)-(Boc-amino)-4(S)-hydroksi-6-fenyyli-2(R)-[(2-metoksifenyyli)metyyli]heksanoyyli-(L)-Val-N-(2-metoksietyyli)amidi</u>

311 mg (0,436 mmol) 5(S)-(Boc-amino)-4(S)-(tert-butyylidimetyylisilyylioksi)-6-fenyyli-2(R)-[(2-metoksifenyyli)metyyli]heksanoyyli-(L)-Val-N-(2-metoksietyyli)amidia 8,4 ml:ssa absoluuttista DMF:ää käsitellään 275 mg:lla (0,871 mmol) TBAF:ää, ja tätä reaktioseosta sekoitetaan 21 tunnin ajan huoneenlämpötilassa. Sitten se laimennetaan noin 60 ml:lla etyyliasetaattia, ja kokonaisuus pestään, peräkkäin, vedellä, kylläisellä natriumbikarbonaattiliuoksella ja suolaliuoksella. Yhdistetyt vesifaasit uutetaan uudelleen etyyliasetaatilla. Yhdistetyt orgaaniset faasit kuivataan Na_2SO_4:llä ja konsentroidaan 10 ml:ksi kiertohaihduttimella noin 30 °C:ssa. Tämän menettelytavan aikana otsikkoyhdiste saostuu puhtaassa muodossa. Se suodatetaan pois imupullolla, pestään heksaanilla, ja kuivataan yön yli suurtyhjössä. TLC R_f(etyyliasetaatti) = 0,38. FAB-MS $(M+H)^+$ = 600. HPLC t_{ret} = 14,78 min (gradientti II). IR (KBr) = mm. 3335, 1685, 1653, 1619, ja 1526 cm^{-1}. ^{1}H-NMR (CD_3OD) = mm. 7,28 - 7,06/m (6H); 7,00/d (1H); 6,88/d (1H); 6,76/t (1H); 3,81/s (3 H);

3,48/s (3H); 1,33/s (9H); 0,81/pseudo t (6H).

Lähtöaine valmistetaan seuraavasti:

50a) 2-metoksibentsyylikloridi

16,8 ml tionyylikloridia lisätään tipoittain noin 30 min aikana 10 ml:aan 2-metoksibentsyylialkoholia (Fluka, Buchs, Sveitsi) ja 53,76 g:aan di-isopropyyliaminometyylipolystyreeniä (polyhünigemäs, katso esimerkkiä 44a)) 200 ml:ssa absoluuttista eetteriä. Kun seosta on sekoitettu edelleen 1,5 tunnin ajan 0 °C:ssa, se suodatetaan imupullolla, ja suodos konsentroidaan kiertohaihduttimella ja suurtyhjössä. Jäännös puhdistetaan kromatografoimalla silikageelillä (eluentti: heksaani/etyyliasetaatti, 6:1). TLC R_f(heksaani:etyyliasetaatti = 4:1) = 0,5. ^{1}H-NMR (200 MHz, $CDCl_3$): 7,42 - 7,24 (m, 2H); 7,0 - 6,84 (m, 2H); 4,68 (s, 2H); 3,9 (s, 3H).

50b) 2-metoksibentsyylijodidi

2 g 2-metoksibentsyylikloridi 22 ml:ssa absoluuttista asetonia käsitellään 9,3 g:lla natriumjodidia, ja reaktioseosta sekoitetaan huoneenlämpötilassa yön yli. Sitten se laimennetaan 250 ml:lla eetteriä, ja kokonaisuus pestään 10-%:isella natriumtiosulfaattiliuolsella ja suolaliuoksella. Kuivataan natriumsulfaatilla ja poistetaan liuotin, jolloin saadaan otsikkoyhdiste, joka alistetaan ilman puhdistusta edelleen käsittelylle. TLC R_f(heksaani:etyyliasetaatti = 4:1) = 0,46. ^{1}H-NMR (200 MHz, $CDCl_3$): 7,36 - 7,2 (m, 2H); 6,92 - 6,8 (m, 2H); 4,48 (s, 2H); 3,91 (s, 3H).

50c) 5(S)-[1(S)-(Boc-amino)-2-fenyylietyyli]-3(R)-[(2-metoksifenyyli)metyyli]dihydrofuran-2-(3H)-oni

Liuosta, jossa on 1 g (3,275 mmol) 5(S)-[1(S)-(Boc-amino)-2-fenyylietyyli]dihydrofuran-2-(3H)-onia [esimerkki 2b)] 4 ml:ssa absoluuttista THF:ää ja 0,66 ml DMPU:ta (1,67 ekvivalenttia), jäähdytetään argonissa -75 °C:seen, ja käsitellään tipoittain 30 min aikana sisäisessä lämpötilassa

alle -70 °C 6,42 ml:lla (1,96 ekvivalenttia) 1 M litium-bis(trimetyylisilyyli)amidin liuoksella THF:ssä (Aldrich, Steinheim, SLT). Edelleen 15 min kuluttua tähän seokseen lisätään tipoittain 10 min aikana 812 mg (3,275 mmol) 2-metoksibentsyylijodidia liuotettuna 2 ml:aan THF:ää, ja kokonaisuuden annetaan reagoida 2 tunnin ajan -70 °C:ssa. Seuraavaksi tähän liuokseen lisätään 1,22 ml propionihappoa ja 1,22 ml vettä, ja lämpötilan annetaan kohota 0 °C:seen. Reaktioseos laimennetaan 50 ml:lla (kylmää) etyyliasetaattia, ja sekoitetaan 5 min ajan 20 ml:lla (kylmää) 10-%:ista sitruunahappoa, ja tämän jälkeen faasit erotetaan. Orgaaninen faasi pestään, peräkkäin, suolaliuoksella, kylläisellä natriumbikarbonaattiliuoksella ja jälleen kerran suolaliuoksella, kuivataan Na_2SO_4:llä ja konsentroidaan. Otsikkoyhdiste eristetään flash-kromatografialla silikageelillä (heksaani:etyyliasetaatti = 3:1). TLC R_f(heksaani:etyyliasetaatti = 3:1) = 0,54. MS M^+ = 455. HPLC t_{ret} = 17,09 min (gradientti II). IR (CH_2Cl_2) = mm. 3429, 1769, 1712, ja 1495 cm^{-1}. ^{1}H-NMR ($CDCl_3$) = mm. 7,38 - 7,13/m (5H); 7,20/d (1H); 7,08/d (1H); 6,87/t (1H); 6,81/d (1H); 3,74/s (3 H); 1,34/s (9H).

50d) <u>5(S)-(Boc-amino)-4(S)-hydroksi-6-fenyyli-2(R)-[(2-metoksifenyyli)metyyli]heksaanihappo</u>

Liuosta, jossa on 474 mg 5(S)-[1(S)-(Boc-amino)-2-fenyylietyyli]-3(R)-[(2-metoksifenyyli)metyyli]dihydrofuran-2-(3H)-onia 18 ml:ssa dimetoksietaania ja 9,07 ml:ssa vettä käsitellään tipoittain huoneenlämpötilassa 4,45 ml:lla 1 M litiumhydroksidiliuosta. Tämän jälkeen reaktioseosta sekoitetaan 3 tunnin ajan huoneenlämpötilassa ja laimennetaan etyyliasetaatilla ja THF:llä, ja kokonaisuus pestään erotussuppilossa neutraaliin pH-arvoon seoksella, jossa on 54,78 ml kylläistä ammoniumkloridiliuosta ja 4,58 ml 10-%:ista sitruunahappoliuosta, sen jälkeen suolaliuoksella ja vedellä. Kuivataan natriumsulfaatilla ja liuotin poistetaan, jolloin saadaan otsikkoyhdistettä, joka alistetaan edelleen käsittelylle enempää puhdistamatta. TLC R_f(heksaa-

ni/etyyliasetaatti 2,5:1) = 0,15.

50e) 5(S)-(Boc-amino)-4(S)-(tert-butyylidimetyylisilyylioksi)-6-fenyyli-2(R)-[(2-metoksifenyyli)metyyli]heksaanihappo

Liuosta, jossa on 500 mg 5(S)-(Boc-amino)-4(S)-hydroksi-6-fenyyli-2(R)-[(2-metoksifenyyli)metyyli]heksaanihappoa 5 ml:ssa DMF:ää, käsitellään sekoittaen 614 mg:lla imidatsolia ja 796 mg:lla tert-butyylidimetyylikloorisilaania. Sitä sekoitetaan 20 tunnin ajan huoneenlämpötilassa, reaktioliuos kaadetaan jääveteen, ja kokonaisuus uutetaan etyyliasetaatilla. Orgaaninen faasi pestään 10-%:isella sitruunahappoliuoksella ja suolaliuoksella. Raakatuotteen silyyliesteriryhmä irrotetaan 2 tunnin aikana huoneenlämpötilassa seoksessa, jossa on 13,29 ml metanolia, 5,13 ml THF:ää, 5,13 ml vettä ja 904 mg kaliumkarbonaattia. Seos konsentroidaan kiertohaihduttimella puoleen tilavuuteensa noin 30 °C:ssa, ja jäännös laimennetaan etyyliasetaatilla, ja orgaaninen faasi pestään 10-%:isella sitruunahapolla ja suolaliuoksella (jotka ovat kaikki kylmiä). Yhdistetyt vesifaasit uutetaan uudelleen etyyliasetaatilla. Yhdistetyt orgaaniset faasit kuivataan natriumsulfaatilla, ja jäännös kromatografoidaan silikageelillä (eluentti, heksaani:etyyliasetaatti, 3:1 ja 1:1), jolloin saadaan otsikkoyhdiste. TLC R_f (heksaani/etyyliasetaatti 2,5:1) = 0,12. FAB-MS $(M+H)^+$ = 558.

50f) 5(S)-(Boc-amino)-4(S)-(tert-butyylidimetyylisilyylioksi)-6-fenyyli-2(R)-[(2-metoksifenyyli)metyyli]heksanoyyli-(L)-Val-N-(2-metoksietyyli)amidi

Seosta, jossa on 250 mg (0,448 mmol) 5(S)-(Boc-amino)-4(S)-(tert-butyylidimetyylisilyylioksi)-6-fenyyli-2(R)-[(2-metoksifenyyli)metyyli]heksaanihappoa, 187 mg (0,493 mmol) HBTU:ta ja 86 mg (0,493 mmol) H-(L)-Val-N-(2-metoksietyyli)amidia [esimerkki 1b)] 4,2 ml:ssa 0,25 M NMM-liuosta asetonitriilissä (2,35 ekvivalenttia), sekoitetaan 20 tunnin ajan huoneenlämpötilassa argonissa. Tämän jälkeen

reaktioseos konsentroidaan kiertohaihduttimella noin 30 °C:ssa, ja jäännös otetaan etyyliasetaattiin, ja kokonaisuus pestään, peräkkäin, 10-%:isella sitruunahappoliuoksella, kylläisellä natriumbikarbonaattiliuoksella ja suolaliuoksella (jotka ovat kaikki kylmiä). Yhdistetyt vesifaasit uutetaan uudelleen etyyliasetaatilla. Yhdistetyt orgaaniset faasit kuivataan Na_2SO_4:llä, ja liuotin poistetaan kiertohaihduttimella. Jäännös koostuu oleellisen puhtaassa muodossa olevasta otsikkoyhdisteestä. TLC R_f(heksaani:etyyliasetaatti 1:2) = 0,29. FAB-MS $(M+H)^+$ = 714. HPLC t_{ret} = 21,66 min (gradientti II). IR (CH_2Cl_2) = mm. 3435, 1704, 1667, 1495 ja 836 cm^{-1}. ^{1}H-NMR (CD_3OD) = mm. 7,29-7,10/m (6H); 7,02/d (1H); 6,91/d (1H); 6,80/t (1H); 3,86/s (3H); 3,30/s (3H); 1,31/s (9H); 0,93/s (9H); 0,85/d (6H); 0,16 ja 0,15/kumpikin s (kumpikin 3H).

Esimerkki 51: <u>5(S)-(Boc-amino)-4(S)-hydroksi-6-fenyyli-2(R)-[(2,3-dimetyyli-4-metoksifenyyli)metyyli]heksanoyyli-(L)-Val-N-(2-metoksietyyli)amidi</u>

323,5 mg (0,436 mmol) 5(S)-(Boc-amino)-4(S)-(tert-butyylidimetyylisilyylioksi)-6-fenyyli-2(R)-[(2,3-dimetyyli-4-metoksifenyyli)metyyli]heksanoyyli-(L)-Val-N-(2-metoksietyyli)-amidia 8,4 ml:ssa absoluuttista DMF:ää käsitellään 280,7 mg:lla (0,872 mmol) TBAF:ää, ja tätä reaktioseosta sekoitetaan 20 tunnin ajan huoneenlämpötilassa argonissa. Sitten se laimennetaan noin 80 ml:lla etyyliasetaattia, ja kokonaisuus pestään, peräkkäin, vedellä, kylläisellä natriumkarbonaattiliuoksella ja suolaliuoksella. Yhdistetyt vesifaasit uutetaan uudelleen etyyliasetaatilla. Yhdistetyt orgaaniset faasit kuivataan natriumsulfaatilla ja konsentroidaan. Tulokseksi saatu geelimäinen tuote kromatografoidaan silikageelillä (heksaani:etyyliasetaatti, 1:2). Tuotteen sisältävät fraktiot yhdistetään ja konsentroidaan. Jäännös liuotetaan dioksaaniin, ja lyofilisoidaan, jolloin saadaan otsikkoyhdiste. TLC R_f(heksaani:etyyliasetaatti 1:2) = 0,18. FAB-MS $(M+H)^+$ = 628. HPLC t_{Ret} = 15,52 min (gradientti II). IR (KBr) = mm. 1688, 1650, 1619, 1519 ja 1261 cm^{-1}.

^{1}H-NMR (CD_3OD) = mm. 7,31 - 7,10 (m, 5H); 6,87 ja 6,63 (kumpikin d, kumpikin 1H); 4,03 (d, 1H); 3,75, 2,20 ja 2,11 (kukin s, kukin 3H); 1,35 (s, 3H); 0,83 (pseudo t, 6H).

Lähtöaine valmistetaan seuraavasti:

51a) 2,3-dimetyyli-4-metoksibentsyylikloridi

1 g (6,016 mmol) 2,3-dimetyyli-4-metoksibentsyylialkoholia (Aldrich, Steinheim, SLT) ja 4,8 g di-isopropyyliaminometyylipolystyreeniä (polyhünigemäs, katso esimerkkiä 44a) 21 ml:ssa absoluuttista eetteriä käsitellään tipoittain, 0 - 5 °C:ssa ja noin 25 min aikana 0,482 ml:lla tionyylikloridia. Reaktion edettyä loppuun seos suodatetaan imupullolla, ja liuotin ja ylimääräinen reagenssi poistetaan. Jäännös, joka on haluttua otsikkoyhdistettä, alistetaan puhdistamatta edelleen käsittelylle. TLC R_f(heksaani:etyyliasetaatti 4:1) = 0,59. IR (CH_2Cl_2) mm.: 1599, 1485, 1466 ja 1107 cm^{-1}. ^{1}H-NMR (200 MHz, $CDCl_3$): 7,14 (d, 1H); 6,69 (d, 1H); 4,64 (s, 2H); 3,82, 2,34 ja 2,18 (kukin s, kukin 3H).

51 b) 2,3-dimetyyli-4-metoksibentsyylijodidi

838,6 mg (4,54 mmol) 2,3-dimetyyli-4-metoksibentsyylikloridia 8,5 ml:ssa absoluuttista asetoni käsitellään 3,328 g:lla (22,1 mmol) natriumjodidia, ja tätä seosta sekoitetaan huoneenlämpötilassa 15 tunnin ajan valon pois sulkien. Saadaan tummanruskeaa suspensiota, joka otetaan jatkokäsittelyä varten 100 ml:aan dietyylieetteriä pesten tämän liuoksen 10-%:isella natriumtiosulfaattiliuoksella. Kuivataan natriumsulfaatilla ja liuotin poistetaan, jolloin saadaan haluttu otsikkoyhdiste kellertävänä kiinteänä aineena, joka alistetaan, puhdistamatta, edelleen käsittelylle. TLC R_f(heksaani:etyyliasetaatti 4:1) = 0,63. IR (CH_2Cl_2) mm.: 1610, 1495, 1120 ja 820 cm^{-1}. ^{1}H-NMR (200 MHz, $CDCl_3$): 7,17 ja 6,65 (kumpikin d, kumpikin 1H); 4,52 (s, 2H); 3,82, 2,23 ja 2,18 (kukin s, kukin 3H).

51c) 5(S)-[1(S)-(Boc-amino)-2-fenyylietyyli]-3(R)-[(2,3-dimetyyli-4-metoksifenyyli)-metyyli]dihydrofuran-2(3H)-oni

Liuosta, jossa on 1,248 g (4,087 mmol) 5(S)-[1(S)-(Boc-amino)-2-fenyylietyyli]dihydrofuran-2-(3H)-onia (esimerkki 2b)) 5 ml:ssa absoluuttista THF:ää ja 0,823 ml (6,825 mmol) DMPU:ta, jäähdytetään argonissa -75 °C:seen, ja käsitellään tipoittain sisäisessä lämpötilassa alle -70 °C ja noin 17 min aikana 8 ml:lla 1 M litiumbis(trimetyylisilyyli)amidin liuosta THF:ssä (Aldrich). Edelleen 15 min kuluttua tähän seokseen lisätään tipoittain 10 min aikana liuos, jossa on 1,128 g (4,087 mmol) 2,3-dimetyyli-4-metoksibentsyylijodidia 3 ml:ssa absoluuttista THF:ää, ja kokonaisuuden annetaan reagoida -75 °C:ssa edelleen 2 tunnin ajan. Jatkokäsittelyä varten reaktioseos käsitellään 1,5 ml:lla propionihappoa ja 1,5 ml:lla vettä, ja lämpötilan annetaan kohota 0 °C:seen. Seos kaadetaan 35 ml:aan (kylmää) 10-%:ista sitruunahappoliuosta, ja tähän seokseen lisätään noin 70 ml (kylmää) etyyliasetaattia. Sekoitetaan edelleen 5 min ajan, ja faasit erotetaan. Orgaaninen faasi pestään, peräkkäin, suolaliuoksella, kylläisellä natriumbikarbonaattiliuoksella ja jälleen kerran suolaliuoksella, kuivataan Na_2SO_4:llä ja konsentroidaan. Jäännös, joka jää jäljelle liuottimen poistamisen jälkeen, kromatografoidaan silikageelillä (heksaani:etyyliasetaatti, 2:1). Otsikkoyhdiste saadaan värittömänä vaahtona. TLC R_f(heksaani:etyyliasetaatti 2:1) = 0,37. HPLC t_{Ret}=17,83 min (gradientti II). FAB-MS $(M+H)^+$ = 453. IR (CH_2Cl_2) = mm. 3428, 1769, 1712 ja 1495 cm^{-1}. ^{1}H-NMR ($CDCl_3$) = mm. 7,38 - 7,08 (m, 5H); 6,86 ja 6,62 (kumpikin d, kumpikin 1H); 3,78 (3H); 3,21 ja 2,16 (kumpikin dxd, kumpikin 1H); 2,19 ja 2,13 (kumpikin s, kumpikin 3H); ja 1,35 (s, 9H).

51d) <u>5(S)-(Boc-amino)-4(S)-hydroksi-6-fenyyli-2(R)-[(2,3-dimetyyli-4-metoksifenyyli)-metyyli]heksaanihappo</u>

Liuosta, jossa on 1,001 g (2,2 mmol) 5(S)-[1(S)-(Boc-amino)-2-fenyylietyyli]-3(R)-[(2,3-dimetyyli-4-metoksifenyyli)metyyli]dihydrofuran-2-(3H)-onia 35,8 ml:ssa dimetoksietaania ja 18 ml vettä, käsitellään huoneenlämpötilassa 8,8 ml:lla 1 M litiumhydroksidin vesiliuosta, ja tätä

reaktioseosta sekoitetaan 2,5 tunnin ajan. Sitten se siirretään erotussuppiloon ja laimennetaan 108,5 ml:lla kylläistä ammoniumkloridiliuosta ja 9 ml:lla 10-%:ista sitruunahappoliuosta (jotka ovat molemmat kylmiä); sitten kokonaisuus uutetaan etyyliasetaatilla ja pienellä määrällä THF:ää. Orgaaninen faasi pestään (kylmällä) suolaliuoksella ja kuivataan natriumsulfaatilla, jolloin saadaan otsikkoyhdiste, joka alistetaan edelleen käsittelylle puhdistamatta. TLC R_f(heksaani:etyyliasetaatti 1:1) = at the start. FAB-MS $(M+H)^+$ = 472; IR (KBr) mm.: 1724, 1666, 1527 ja 1169 cm^{-1}. ^{1}H-NMR (CD_3OD) mm.: 7,31-7,11 (m, 5H); 6,93 ja 6,68 (kumpikin d, kumpikin 1H); 3,76 (s, 3H); 3,23 ja 2,59 (kumpikin dxd, kumpikin 1H); 2,21 ja 2,12 (kumpikin s, kumpikin 3H); 1,27 (s, 9H).

51e) <u>5(S)-(Boc-amino)-4(S)-(tert-butyylidimetyylisilyylioksi)-6-fenyyli-2(R)-[(2,3-dimetyyli-4-metoksifenyyli)metyyli]heksaanihappo</u>

Liuosta, jossa on 1,153 g (2,445 mmol) 5(S)-(Boc-amino)-4(S)-hydroksi-6-fenyyli-2(R)-[(2,3-dimetyyli-4-metoksifenyyli)metyyli]heksaanihappoa, 1,372 g (20,05 mmol) imidatsolia ja 1,709 g (11,0 mmol) tert-butyylidimetyylikloorisilaania 8,7 ml:ssa absoluuttista DMF:ää, sekoitetaan 18 tunnin ajan huoneenlämpötilassa argonissa. Tämän jälkeen reaktioseos kaadetaan jääveteen, ja kokonaisuus uutetaan etyyliasetaatilla. Orgaaninen faasi pestään kylmällä 10-%:isella sitruunahappoliuoksella ja suolaliuoksella. Yhdistetyt vesifaasit uutetaan uudelleen etyyliasetaatilla. Yhdistetyt orgaaniset faasit kuivataan natriumsulfaatilla ja haihdutetaan kiertohaihduttimella noin 30 °C:ssa. Tulokseksi saatu tuote liuotetaan 28,8 ml:aan metanolia ja 11,2 ml:aan THF:ää, ja tämä liuos käsitellään, huoneenlämpötilassa, 1,962 g:lla kaliumkarbonaattia 11,2 ml:ssa vettä. Sekoitetaan 2,25 tunnin ajan, reaktioseos konsentroidaan puoleen tilavuuteensa noin 30 °C:ssa, ja jäännös käsitellään etyyliasetaatilla ja (kylmällä) 10-%:isella sitruunahappoliuoksella, ja faasit erotetaan. Orgaaninen faasi

pestään vielä kahdesti suolaliuoksella. Yhdistetyt vesifaasit uutetaan uudelleen etyyliasetaatilla. Yhdistetyt orgaaniset faasit kuivataan natriumsulfaatilla ja konsentroidaan. Jäännös puhdistetaan kromatografoimalla kahdesti silikageelillä (heksaani:etyyliasetaatti, 1:1 ja sitten 3:1), jolloin saadaan otsikkoyhdiste. TLC R_f(heksaani:etyyliasetaatti, 1:1) = 0,42. FAB-MS $(M+H)^+$ = 586. IR (KBr) mm.: 1711, 1485, 1260 ja 1107 cm^{-1}. ^{1}H-NMR (CD_3OD) mm.: 7,30 - 7,06 (m, 5H); 6,91 ja 6,65 (kumpikin d, kumpikin 1H); 6,00 ja 5,41 (kumpikin d, yhteensä 1H NH:sta); 3,75 (s, 3H); 2,21 ja 2,12 (kumpikin s, kumpikin 3H); 1,31 ja 1,21 (kumpikin s, yhteensä 9H Boc:stä); 0,89 (s, 9H); 0,12 ja 0,08 (kumpikin s, kumpikin 3H).

51f) <u>5(S)-(Boc-amino)-4(S)-(tert-butyylidimetyylisilyylioksi)-6-fenyyli-2(R)-[(2,3-dimetyyli-4-metoksifenyyli)metyyli]heksanoyyli-(L)-Val-N-(2-metoksiietyyli)amidi</u>

Seosta, jossa on 319,6 mg (0,546 mmol) 5(S)-(Boc-amino)-4(S)-(tert-butyylidimetyylisilyylioksi)-6-fenyyli-2(R)-[(2,3-dimetyyli-4-metoksifenyyli)metyyli]heksaanihappoa, 232,5 mg (0,613 mmol) HBTU:ta ja 106,8 mg (0,613 mmol) H-(L)-Val-N-(2-metoksietyyli)amidia (valmistus, katso esimerkkiä 1b)) 5,3 ml:ssa 0,25 M NMM-liuosta asetonitriilissä (2,4 ekvivalenttia) sekoitetaan 2,25 tunnin ajan huoneenlämpötilassa argonissa. Tämän jälkeen reaktioseos konsentroidaan kiertohaihduttimella noin 30 °C:ssa, ja jäännös otetaan etyyliasetaattiin; sitten tämä liuos pestään, peräkkäin, 10-%:isella sitruunahapolla, kylläisellä natriumbikarbonaattiliuoksella ja suolaliuoksella (jotka ovat kaikki kylmiä). Yhdistetyt vesifaasit uutetaan uudelleen etyyliasetaatilla. Yhdistetyt orgaaniset faasit kuivataan Na_2SO_4:llä ja konsentroidaan. Raakatuote kromatografoidaan kahdesti silikageelillä (heksaani:etyyliasetaatti, 1:2 ja 1:1), jolloin saadaan otsikkoyhdiste. TLC R_f(heksaani:etyyliasetaatti, 1:1) = 0,16. FAB-MS $(M+H)^+$ = 742. HPLC t_{Ret} = 22,41 min (gradientti II). IR (CH_2Cl_2) = mm. 3434, 1701, 1667, 1499 ja 1165 cm^{-1}. ^{1}H-NMR (CD_3OD) = mm. 7,3 - 7,1 (m,

5H); 6,85 ja 6,64 (kumpikin d, kumpikin 1H); 5,59 ja 5,61 (kumpikin d, yhteensä 1H NH:sta); 3,75 (s, 3H); 2,16 ja 2,02 (kumpikin s, kumpikin 3H); 1,31 ja 1,20 (kumpikin s, yhteensä 9H Boc:stä); 0,95 (s, 9H); 0,68 ja 0,66 (kumpikin d, kumpikin 3H); 0,17 ja 0,16 (kumpikin s, kumpikin 3H).

Esimerkki 52: 5(S)-(Boc-amino)-4(S)-hydroksi-6-fenyyli-2(R)-[(2,4,5-trimetoksifenyyli)metyyli]heksanoyyli-(L)-Val-N-(2-metoksietyyli)amidi

Analogisesti esimerkille 44, otsikkoyhdiste saadaan 5(S)-(Boc-amino)-4(S)-(tert-butyylidimetyylisilyylioksi)-6-fenyyli-2(R)-[(2,4,5-trimetoksifenyyli)metyyli]-heksanoyyli-(L)-Val-N-(2-metoksietyyli)amidista absoluuttisessa DMF:ssä TBAF:ää käyttämällä. [Lähtöaineyhdiste 2,4,5-trimetoksibentsyylisubstituenttia varten voidaan ostaa yhtiöstä Fluka, Buchs, Sveitsi, 2,4,5-trimetoksibentsaldehydinä, josta saadaan vastaava alkoholi välituotteena natriumborohydridillä pelkistämällä].

Esimerkki 53: 5(S)-(Boc-amino)-4(S)-hydroksi-6-fenyyli-2(R)-[(2,4,6-trimetoksifenyyli)metyyli]heksanoyyli-(L)-Val-N-(2-metoksietyyli)amidi

Analogisesti esimerkille 44, otsikkoyhdiste saadaan 5(S)-(Boc-amino)-4(S)-(tert-butyylidimetyylisilyylioksi)-6-fenyyli-2(R)-[(2,4,6-trimetoksifenyyli)metyyli]-heksanoyyli-(L)-Val-N-(2-metoksietyyli)amidista absoluuttisessa DMF:ssä TBAF:ää käyttämällä. [Lähtöaineyhdiste 2,4,6-trimetoksibentsyylisubstituenttia varten voidaan ostaa yhtiöstä Fluka, Buchs, Sveitsi, 2,4,6-trimetoksibentsaldehydinä, josta saadaan vastaava alkoholi välituotteena natriumborohydridillä pelkistämällä].

Esimerkki 54: 5(S)-(Boc-amino)-4(S)-hydroksi-6-fenyyli-2(R)-[(5,6,7,8-tetrahydro-1-naftyyli)metyyli]heksanoyyli-(L)-Val-N-(2-metoksietyyli)amidi

Analogisesti esimerkille 44, otsikkoyhdiste saadaan 5(S)-(Boc-amino)-4(S)-(tert-butyylidimetyylisilyylioksi)-6-fe-

nyyli-2(R)-[(5,6,7,8-tetrahydro-1-naftyyli)-metyyli]heksanoyyli-(L)-Val-N-(2-metoksietyyli)amidista absoluuttisessa DMF:ssä TBAF:ää käyttämällä.
[Lähtöaineyhdiste tetrahydronaftyylisubstituentin valmistamiseksi saadaan tetraliinista kloorimetyloimalla, katso ohjeita varten myös julkaisua: J. Org. Chem. 43, 2167 (1978)].

Esimerkki 55: 5(S)-(Boc-amino)-4(S)-hydroksi-6-fenyyli-2(R)-[(2,5-dimetoksifenyyli)-metyyli]heksanoyyli-(L)-Val-N-(2-metoksietyyli)amidi
Analogisesti esimerkille 44, otsikkoyhdiste saadaan 5(S)-(Boc-amino)-4(S)-(tert-butyylidimetyylisilyylioksi)-6-fenyyli-2(R)-[(2,5-dimetoksifenyyli)metyyli]-heksanoyyli-(L)-Val-N-(2-metoksietyyli)amidista absoluuttisessa DMF:ssä TBAF:ää käyttämällä.
[Lähtöaineyhdiste 2,5-dimetoksibentsyylisubstituenttia varten voidaan ostaa yhtiöstä Fluka, Buchs, Sveitsi, 2,5-dimetoksibentsyylialkoholina].

Esimerkki 56: 5(S)-(Boc-amino)-4(S)-hydroksi-6-fenyyli-2(R)-[(2,6-dimetoksifenyyli)-metyyli]heksanoyyli-(L)-Val-N-(2-metoksietyyli)amidi
Analogisesti esimerkille 44, otsikkoyhdiste saadaan 5(S)-(Boc-amino)-4(S)-(tert-butyylidimetyylisilyylioksi)-6-fenyyli-2(R)-[(2,6-dimetoksifenyyli)metyyli]heksanoyyli-(L)-Val-N-(2-metoksietyyli)amidista absoluuttisessa DMF:ssä TBAF:ää käyttämällä.
[Lähtöaineyhdiste 2,6-dimetoksibentsyylisubstituenttia varten, 2,6-dimetoksibentsyylialkoholi, valmistetaan metyyli-2,6-dimetoksibentsoaatista pelkistämällä litiumaluminiumhydridillä absoluuttisessa THF:ssä. Metyyli-2,6-dimetoksibentsoaatti saadaan 2,6-dimetoksibentsoehaposta (Fluka, Buchs, Sveitsi) reaktiolla dimetyylisulfaatin kanssa asetonissa ja kaliumkarbonaatin läsnä ollessa (katso ohjeita julkaisusta: Chem. Letters, 1990, 389)].

Esimerkki 57: 5(S)-(Boc-amino)-4(S)-hydroksi-6-fenyyli-2(R)-[(4-metoksi-1-naftyyli)metyyli]heksanoyyli-(L)-Val-N-(2-metoksietyyli)amidi

Analogisesti esimerkille 44, otsikkoyhdiste saadaan 5(S)-(Boc-amino)-4(S)-(tert-butyylidimetyylisilyylioksi)-6-fenyyli-2(R)-[(4-metoksi-1-naftyyli)-metyyli]heksanoyyli-(L)-Val-N-(2-metoksietyyli)amidista absoluuttisessa DMF:ssä TBAF:ää käyttämällä.

[Lähtöaineyhdiste naftyylimetyylisubstituentin valmistamiseksi, 1-bromimetyyli-4-metoksinaftaleeni, saadaan 1-metoksinaftaleenista (Fluka, Buchs, Sveitsi) bromaamalla I_2/Br_2:lla $CHCl_3$:ssa, saattamalla tulokseksi saadun bromidin reagoimaan Grignard-reaktion avulla ja käsittelemällä CO_2:lla vastaavan hapon muodostamiseksi; saattamalla viimeksi mainitun reagoimaan litiumaluminiumhydridin kanssa, jolloin muodostuu 1-hydroksimetyyli-4-metoksinaftaleeni (pelkistys); ja saattamalla viimeksi mainitun reagoimaan PBr_3:n kanssa, jolloin saadaan haluttu lähtöaine (katso julkaisua Can. J. Chem. 59, 2629 (1981))].

Esimerkki 58: 5(S)-(Boc-amino)-4(S)-hydroksi-6-fenyyli-2(R)-[(4-syaani-1-naftyyli)-metyyli]heksanoyyli-(L)-Val-N-(2-metoksietyyli)amidi

Analogisesti esimerkille 44, otsikkoyhdiste saadaan 5(S)-(Boc-amino)-4(S)-(tert-butyylidimetyylisilyylioksi)-6-fenyyli-2(R)-[(4-syaani-1-naftyyli)-metyyli]heksanoyyli-(L)-Val-N-(2-metoksietyyli)amidista absoluuttisessa DMF:ssä TBAF:ää käyttämällä.

[1-bromimetyyli-4-syaaninaftaleeni, 4-syaaninaftyylimetyylisivuketjun lähtöaineyhdiste, saadaan Friedel-Crafts -asyloimalla 1-brominaftaleenia (Fluka, Buchs, Sveitsi), sen jälkeen hypokloriittihapettamalla tulokseksi saadun bromiasetofenonin, jolloin saadaan brominaftoehappo, jonka pelkistys johtaa karbinoliin, joska valmistetaan vastaava syaaniyhdiste käyttämällä kupari(I)syanidia, saaden 1-bromimetyyli-4-syaaninaftaleenisivuketjuprekursorin tästä syaaniyhdisteestä tavallisella tavalla PBr_3:a käyttämällä

(katso Can. J. Chem. 59, 2629 (1981))].

Esimerkki 59: 5(S)-(Boc-amino)-4(S)-hydroksi-6-fenyyli-2(R)-[(4-fluori-1-naftyyli)-metyyli]heksanoyyli-(L)-Val-N-(2-metoksietyyli)amidi

Analogisesti esimerkille 44, otsikkoyhdiste saadaan 5(S)-(Boc-amino)-4(S)-(tert-butyylidimetyylisilyylioksi)-6-fenyyli-2(R)-[(4-fluori-1-naftyyli)-metyyli]heksanoyyli-(L)-Val-N-(2-metoksietyyli)amidista absoluuttisessa DMF:ssä TBAF:ää käyttämällä.

[Lähtöaineyhdiste 4-fluorinaftyylimetyylisivuketjun valmistamiseksi, 1-bromimetyyli-4-fluorinaftaleeni, valmistetaan pelkistämällä 4-fluori-1-naftoehappoa (Aldrich, Steinheim, SLT) litiumaluminiumhydridillä ja saattamalla sen jälkeen reagoimaan PBr_3:n kanssa (katso Can. J. Chem. 59, 2629 (1981))].

Esimerkki 60: 5(S)-(Boc-amino)-4(S)-hydroksi-6-syklohek-syyli-2(R)-[(2,3,4-trimetoksifenyyli)metyyli]heksanoyyli-(L)-Val-N-(2-metoksietyyli)amidi

Liuosta, jossa on 178 mg (0,204 mmol) 5(S)-(Boc-amino)-4(S)-(tert-butyylidimetyylisilyylioksi)-6-sykloheksyyli-2(R)-[(2,3,4-trimetoksifenyyli)metyyli]heksanoyyli-(L)-Val-N-(2-metoksietyyli)amidia 4 ml:ssa absoluuttista DMF:ää, käsitellään 131 mg:lla (0,408 mmol) TBAF:ää, ja reaktioseosta sekoitetaan huoneenlämpötilassa 21 tunnin ajan. Jatkokäsittelyä varten liuos laimennetaan noin 30 ml:lla etyyliasetaattia, ja kokonaisuus pestään peräkkäin vedellä, kylläisellä natriumbikarbonaattiliuoksella ja suolaliuoksella. Yhdistetyt vesifaasit uutetaan uudelleen etyyliasetaatilla. Yhdistetyt orgaaniset faasit kuivataan natriumsulfaatilla ja konsentroidaan. Jäännös kromatografoidaan silikageelillä (etyyliasetaatti). Tuotetta sisältävät fraktiot yhdistetään, konsentroidaan, liuotetaan vielä kerran pieneen määrään dioksaania ja lyofilisoidaan, jolloin saadaan otsikkoyhdiste. IR (CH_2Cl_2) mm.: 3432, 1708, 1681, 1670, 1495, 1167 ja 1099 cm^{-1}. FAB-MS $(M+H)^+$ = 666.

HPLC t_{Ret} = 16,49 min (gradientti II). ^{1}H-NMR (CD_3OD) mm.: 6,80 ja 6,63 (kumpikin d, kumpikin 1H); 4,09 (d, 1H); 3,86 (s, 3H); 3,80 (2xs, 6H); 3,31 (s, 3H); 1,42 (s, 9H); 0,90 (d, 6H).

Lähtöaine valmistetaan seuraavasti:

60a) 5(S)-[1(S)-(Boc-amino)-2-sykloheksyylietyyli]dihydrofuran-2-(3H)-oni

15 g (49,12 mmol) 5(S)-[1(S)-(Boc-amino)-2-fenyylietyyli]dihydrofuran-2-(3H)-onia [Esimerkki 2b)] liuotetaan 150 ml:aan metanolia, ja tämä liuos käsitellään 0,75 g:lla Nishimura-katalysaattoria ja hydrogenoidaan (huoneenlämpötila, standardipaine), kunnes vetyä ei enää oteta vastaan. Katalysaattori suodatetaan pois, liuotin poistetaan, ja jäännös kromatografoidaan silikageelillä (tolueeni/etyyliasetaatti, 5:1). Otsikkoyhdiste saadaan paksuna, viskoosina öljynä. IR (CH_2Cl_2) mm.: 3431, 1774, 1711, 1501 ja 1170 cm^{-1}. FAB-MS $(M+1)^+$ = 312. ^{1}H-NMR (DMSO-d_6) mm.: 6,80 (d, 1H); 4,40 (m, 1H); 3,66 (m, 1H); 2,58 - 2,43 (m, 2H); 2,37 (dxq, 1H); 2,14 (m, 1H) ja 1,39 (s, 9H).

60b) 5(S)-[1(S)-(Boc-amino)-2-sykloheksyylietyyli]-3(R)-[(2,3,4-trimetoksifenyyli)-metyyli]dihydrofuran-2-(3H)-oni

Liuosta, jossa on 1,47 g (4,72 mmol) 5(S)-[1(S)-(Boc-amino)-2-sykloheksyylietyyli]dihydrofuran-2-(3H)-onia 6 ml:ssa absoluuttista THF:ää ja 1 ml:ssa (1,65 ekvivalenttia) DMPU:ta, jäähdytetään -75 °C:seen, argonissa, ja käsitellään tipoittain sisäisessä lämpötilassa alle -70 °C ja noin 20 min aikana 9,44 ml:lla 1 M litiumbis(trimetyylisilyyli)-amidiliuosta THF:ssä (Aldrich). Edelleen 20 min kuluttua -75 °C:ssa tähän seokseen lisätään tipoittain noin 10 min aikana liuos, jossa on 1,45 g (4,72 mmol) 2,3,4-trimetoksibentsyylijodidia [Esimerkki 47b)] 3 ml:ssa absoluuttista THF:ää, ja tämän seoksen annetaan reagoida -75 °C:ssa vielä 2,5 tunnin ajan. Jatkokäsittelyä varten reaktioseos käsitellään 1,76 ml:lla propionihappoa, sitten 1,76 ml:lla vettä, ja lämpötilan annetaan kohota 0 °C:seen. Reaktioseos

laimennetaan noin 70 ml:lla etyyliasetaattia ja sekoitetaan 30 ml;n kanssa (kylmää) 10-%:ista sitruunahappoa. Vesifaasi erotetaan pois, ja orgaaninen faasi pestään peräkkäin suolaliuoksella, kylläisellä natriumbikarbonaattiliuoksella ja vielä kerran suolaliuoksella. Yhdistetyt vesifaasit uutetaan uudelleen kahdesti etyyliasetaatilla. Yhdistetyt orgaaniset faasit kuivataan natriumsulfaatilla ja konsentroidaan. Liuottimen poistamisen jälkeen jäljelle jäävä jäännös kromatografoidaan silikageelillä (tolueeni:etyyliasetaatti, 5:1). HPLC t_{ret} = 19,13 min (gradientti II). FAB-MS $(M+H)^+$ = 491. IR (CH_2Cl_2) = mm. 3429, 1766, 1711, 1602, 1495, 1165 ja 1100 cm^{-1}. ^1H-NMR (CD_3OD) = mm. 6,86 (d, 1H); 6,70 (d, 1H); 4,37 (m, 1H); 3,87, 3,82 ja 3,81 (kumpikin s, kumpikin 3H); 3,37 (m, 1H); 3,13 (dxd, 1H); 2,94 (m, 1H); 2,59 (dxd, 1H) ja 1,40 (s, 9H).

60c) 5(S)-(Boc-amino)-4(S)-hydroksi-6-sykloheksyyli-2(R)-[(2,3,4-trimetoksifenyyli)-metyyli]heksaanihappo

Liuosta, jossa on 600 mg (1,22 mmol) 5(S)-[1(S)-(Boc-amino)-2-sykloheksyylietyyli]-3(R)-[(2,3,4-trimetoksifenyyli)metyyli]dihydrofuran-2-(3H)-onia 20 ml:ssa dimetoksietaania ja 9,9 ml:ssa vettä, käsitellään huoneenlämpötilassa 4,9 ml:lla 1 M litiumhydroksidin vesiliuosta, ja tätä reaktioseosta sekoitetaan 2 tunnin ajan. Sitten se siirretään erotussuppiloon ja laimennetaan 60 ml:lla kylläistä ammoniumkloridiliuosta ja 5 ml:lla 10-%:ista sitruunahappoliuosta (jotka ovat molemmat kylmiä); sitten tämä seos uutetaan etyyliasetaatilla ja pienellä määrällä THF:ää. Orgaaninen faasi pestään (kylmällä) suolaliuoksella ja kuivataan natriumsulfaatilla, ja kuivataan suurtyhjössä, jolloin saadaan otsikkoyhdiste, joka edelleen käsittelylle puhdistamatta. IR (CH_2Cl_2) mm.: 3431, 1710, 1602, 1495, 1165 ja 1100 cm^{-1}. FAB-MS $(M+H)^+$ = 510. HPLC t_{ret} = 16,13 min (gradientti II).

60d) 5(S)-(Boc-amino)-4(S)-(tert-butyylidimetyylisilyylioksi)-6-sykloheksyyli-2(R)-[(2,3,4-trimetoksifenyyli)metyy-

li]heksaanihappo

Liuosta, jossa on 598 mg (1,175 mmol) 5(S)-(Boc-amino)-4(S)-hydroksi-6-sykloheksyyli-2(R)-[(2,3,4-trimetoksifenyyli)metyyli]heksaanihappoa 6 ml:ssa DMF:ää, käsitellään sekoittaen 653 mg:lla (9,4 mmol) imidatsolia ja 822 mg:lla (5,287 mmol) t-butyylidimetyylikloorisilaania. Sekoitetaan 17 tunnin ajan huoneenlämpötilassa ja argonissa, minkä jälkeen reaktioliuos kaadetaan jääveteen, ja kokonaisuus uutetaan etyyliasetaatilla. Orgaaninen faasi pestään 10-%:isella sitruunahappoliuoksella ja suolaliuoksella (kylmällä). Yhdistetyt vesifaasit uutetaan uudelleen etyyliasetaatilla. Yhdistetyt orgaaniset faasit kuivataan Na_2SO_4:llä ja haihdutetaan. Raakatuotetta kuivataan noin 2 tunnin ajan suurtyhjössä, ja liuotetaan tämän jälkeen 15,6 ml:aan metanolia ja 5,3 ml:aan TBIF:ää, ja tämä liuos käsitellään 941 mg:lla kaliumkarbonaattia 5,3 ml:ssa vettä. Tätä reaktioseosta sekoitetaan huoneenlämpötilassa noin 3 tunnin ajan, sitten konsentroidaan noin 30 °C:ssa puoleen tilavuuteen, ja laimennetaan etyyliasetaatilla; orgaaninen faasi pestään 10-%:isella sitruunahapolla ja suolaliuoksella (jotka ovat molemmat kylmiä). Yhdistetyt vesifaasit uutetaan uudelleen etyyliasetaatilla. Yhdistetyt orgaaniset faasit kuivataan Na_2SO_4:llä ja haihdutetaan. Raakatuote kromatografoidaan silikageelillä (heksaani:etyyliasetaatti, 2:1), jolloin saadaan otsikkoyhdiste. IR (CH_2Cl_2) mm.: 3436, 1708, 1603, 1494, 1166, 1100 ja 837 cm^{-1}. FAB-MS $(M+H)^+$ = 624. HPLC t_{Ret} = 23,14 min (gradientti II). ^1H-NMR (CD_3OD) mm.: 6,76 (d, 1H); 6,59 (d, 1H); 6,07 ja 5,50 (kumpikin d, yhteensä 1H, NH:n rotameerejä), 3,86, 3,82 ja 3,81 (kumpikin s, kumpikin 3H); 3,75 - 3,57 (m, 2H); 2,93 - 2,75 (m, 2H); 2,70 (m, 1H); 1,42 (s, 9H); 0,87 (s, 6H); 0,11 ja 0,08 (kumpikin s, kumpikin 3H).

60e) 5(S)-(Boc-amino)-4(S)-(tert-butyylidimetyylisilyylioksi)-6-sykloheksyyli-2(R)-[(2,3,4-trimetoksifenyyli)metyyli]heksanoyyli-(L)-Val-N-(2-metoksietyyli)amidi

Seosta, jossa on 135 mg (0,265 mmol) 5(S)-(Boc-amino)-4(S)-

(tert-butyylidimetyylisilyylioksi)-6-sykloheksyyli-2(R)-[(2,3,4-trimetoksifenyyli)metyyli]heksaanihappoa, 100 mg (0,265 mmol) HBTU:ta ja 51 mg (0,291 mmol) H-(L)-Val-N-(2-metoksietyyli)amidia [valmistus, katso esimerkkiä 1b)] 2,5 ml:ssa 0,25 M NMM:n asetonitriililiuosta, sekoitetaan 21 tunnin ajan huoneenlämpötilassa argonissa. Liuos konsentroidaan puoleen tilavuuteen kiertohaihduttimella noin 30 °C:ssa, ja laimennetaan kylmällä etyyliasetaatilla; sitten tämä liuos pestään peräkkäin 10-%:isella sitruunahapolla, vedellä, kylläisellä natriumbikarbonaattiliuoksella ja suolaliuoksella. Kuivataan natriumsulfaatilla, ja poistetaan liuotin, jolloin saadaan otsikkoyhdiste, joka alistetaan edelleen käsittelylle puhdistamatta. IR (CH_2Cl_2) mm.: 3434, 1667, 1495, 1166, 1097 ja 838 cm^{-1}. FAB-MS $(M+H)^+$ = 780. HPLC t_{Ret} = 24,79 min (gradientti II). 1H-NMR (CD_3OD) mm.: 6,80 ja 6,64 (kumpikin d, kumpikin 1H); 5,85 (d, 1H); 3,88, 3,83 ja 3,81 (kukin s, kukin 3H); 3,32 (s, 3H); 1,43 (s, 9H); 0,90 (s, 9H); 0,13 (d, 6H).

Esimerkki 61: <u>5(S)-(Boc-amino)-4(S)-hydroksi-6-sykloheksyyli-2(R)-[(p-metoksifenyyli)-metyyli]heksanoyyli-(L)-Ala-N-(2-metoksietyyli)amidi</u>

Analogisesti esimerkille 1), 115 mg (0,17 mmol) 5(S)-(Boc-amino)-4(S)-(tert-butyyli-dimetyylisilyylioksi)-6-sykloheksyyli-2(R)-[(p-metoksifenyyli)metyyli]heksanoyyli-(L)-Ala-N-(2-metoksietyyli)amidia 5 ml:ssa DMF:ää desilyloidaan 114 mg:lla (0,36 mmol) TBAF:ää ja jatkokäsitellään. Kromatografoidaan pylväällä (SiO_2, etyyliasetaatti/heksaani, 2:1 -> 3:1 100 % etyyliasetaatti), jolloin saadaan otsikkoyhdiste: TLC R_f(A) = 0,42; t_{Ret}(II) = 15,4 min; FAB-MS $(M+H)^+$ = 578.

Lähtöaine valmistetaan seuraavasti:

61a) <u>Z-(L)-Ala-N-(2-metoksietyyli)amidi</u>

Jääkylmää liuosta, jossa on 5,0 g (28,5 mmol) Z-(L)-alaniinia 125 ml:ssa metyleenikloridia, aktivoidaan suojakaasun alla 6,48 g:lla (31,4 mmol) DCC:tä ja 4,24 g:lla

(31,4 mmol) HOBT:tä. Seuraavaksi tulokseksi saatuuni suspensioon lisätään tipoittain 2,45 ml (28,5 mmol) 2-metoksietyyliamiinia (Fluka, Buchs, Sveitsi), ja tätä reaktioseosta sekoitetaan perusteellisesti huoneenlämpötilassa 60 tunnin ajan. Sitten se suodatetaan, ja suodos pestään kylläisellä $NaHCO_3$-liuoksella ja suolaliuoksella, kuivataan Na_2SO_4:llä ja haihdutetaan. Raakatuote käsitellään DIPE:llä ja kromatografoidaan keskinkertaisen paineen kromatografialla [(®LiChroprep Si 60; keskinkertaisen paineen kromatografiaan tarkoitettua silikageeliä; Merck, Darmstadt, SLT), lisäten liuoksena metyleenikloridi/metanolissa; eluoiden metyleenikloridilla → metyleenikloridi/metanolilla 19:1 → 92:8)], jolloin saadaan otsikkoyhdiste: TLC R_f(B) = 0,56; t_{Ret}(II) = 9,5 min.

61b) H-(L)-Ala-N-(2-metoksietyyli)amidi

4,6 g (16,4 mmol) Z-(L)-Ala-N-(2-metoksietyyli)amidia 100 ml:ssa metanolia hydrogenoidaan huoneenlämpötilassa alhaisessa paineessa ja kun läsnä on 1 g 10-%:ista Pd/C:tä, suodatetaan katalysaattori pois, suodos haihdutetaan, ja raakatuotteen liuos metyleenikloridissa suodatetaan silikageelin läpi 10-%:isella metanolilla metyleenikloridissa, jolloin saadaan otsikkoyhdiste: FAB-MS $(M+H)^+$ = 147; ^{1}H-NMR (200 MHz, CD_3OD): 1,25 (d, J=7 Hz, H_3C), 3,33 (s, H_3C-O), 3,3 - 3,5 (m, HC^α, H_2C-CH_2).

61c) 5(S)-(Boc-amino)-4(S)-(tert-butyylidimetyylisilyylioksi)-6-sykloheksyyli-2(R)-[(p-metoksifenyyli)metyyli]heksanoyyli-(L)-Ala-N-(2-metoksietyyli)amidi

150 mg (0,27 mmol) 5(S)-(Boc-amino)-4(S)-(tert-butyylidimetyylisilyylioksi)-6-sykloheksyyli-2(R)-[(p-metoksifenyyli)metyyli]heksaanihappoa (Esimerkki 12d)] ja 42,8 mg (0,29 mmol) H-(L)-Ala-N-(2-metoksietyyli)amidia liuotetaan N_2-ilmakehässä 2,6 ml:aan 0,25 M NMM/CH_3CN:ää, ja tämä liuos käsitellään 111 mg:lla (0,29 mmol) HBTU:ta. Koska HPLC ilmaisee, että lähtöainetta on edelleen läsnä 18 tunnin jälkeen huoneenlämpötilassa, lisätään edelleen 1,1 ekviva-

lenttia HBTU:ta. Yhteensä 48 tunnin kuluttua reaktioseos haihdutetaan, ja jäännös otetaan etyyliasetaattiin; tämä liuos pestään vedellä, 2 erällä 10-%:ista sitruunahappoliuosta, vedellä, 2 erällä kylläistä $NaHCO_3$-liuosta, ja lopuksi suolaliuoksella. Epäorgaaniset faasit uutetaan edelleen 2x etyyliasetaatilla, ja orgaaniset faasit kuivataan Na_2SO_4:llä ja haihdutetaan. Kromatografoidaan pylväällä (SiO_2, heksaani/etyyliasetaatti, 2:1 → 1:1), jolloin saadaan otsikkoyhdiste: TLC R_f(C) = 0,14; t_{Ret}(II) = 22,6 min.

Esimerkki 62: 5(S)-(Boc-amino)-4(S)-hydroksi-6-[p-(2-metoksietoksi)fenyyli]-2(R)-[(p-bentsyylioksifenyyli)metyyli]heksanoyyli-(L)-Val-N-(2-metoksietyyli)amidi

1,21 g (1,41 mmol) 5(S)-(Boc-amino)-4(S)-(tert-butyylidimetyylisilyylioksi)-6-[p-(2-metoksietoksi)fenyyli]-2(R)-[(p-bentsyylioksifenyyli)metyyli]-heksanoyyli-(L)-Val-N-(2-metoksietyyli)amidia (esimerkki 62f)) 31 ml:ssa DMF:ää desilyloidaan 890 mg:lla (2,82 mmol) TBAF:ää N_2-ilmakehässä. 18 tunnin kuluttua huoneenlämpötilassa seos kaadetaan 430 ml:aan vettä, ja kokonaisuus uutetaan 3 erällä etyyliasetaatti/metanolia, 10:1. Orgaaniset faasit pestään kahdesti kylläisellä $NaHCO_3$-liuoksella ja suolaliuoksella, kuivataan Na_2SO_4:llä ja haihdutetaan, jolloin saadaan otsikkoyhdistettä: TLC R_f(F) = 0,38; t_{Ret}(II) = 16,4 min; FAB-MS $(M+H)^+$ = 750.

Lähtöaine valmistetaan seuraavasti:

62a) 5(S)-[1(S)-(Boc-amino)-2-(p-hydroksifenyyli)etyyli]-dihydrofuran-2-(3H)-oni

3,0 g (7,29 mmol) 5(S)-[1(S)-(Boc-amino)-2-(p-bentsyylioksifenyyli)-etyyli]dihydrofuran-2-(3H)-onia [valmistus, katso esimerkkiä 1g)] 100 ml:ssa metanolia hydrogenoidaan 0,6 g:lla 10-%:ista Pd/C:tä, katalysaattori suodatetaan pois ja suodos haihdutetaan, jolloin saadaan otsikkoyhdiste: t_{Ret}(II) = 10,6 min.

62b) 5(S)-[1(S)-(Boc-amino)-2-[p-(2-metoksietoksi)fenyy-

li]etyyli]dihydrofuran-2-(3H)-oni

3,17 g (9,86 mmol) 5(S)-[1(S)-(Boc-amino)-2-(p-hydroksifenyyli)etyyli]dihydrofuran-2-(3H)-onia 190 ml:ssa DMF/-dioksaania, 1:1, käsitellään N_2-ilmakehässä 6,4 g:lla (19,7 mmol) Cs_2CO_3:a ja 2,0 g:lla (9,86 mmol) 2-metoksietyylijodidia. Koska HPLC ilmaisee, että läsnä on yhä reagoimatonta 5(S)-[1(S)-(Boc-amino)-2-(p-hydroksifenyyli)etyyli]-dihydrofuran-2-(3H)-onia 18 tunnin kuluttua huoneenlämpötilassa, lisätään vielä 1,2 g 2-metoksietyylijodidia erissä. Heti kun HPLC osoittaa, että reaktio on edennyt loppuun, reaktioseos kaadetaan 190 ml:aan jäävettä, ja kokonaisuus uutetaan 3x metyleenikloridilla. Orgaaniset faasit pestään vedellä ja suolaliuoksella, kuivataan Na_2SO_4:llä ja haihdutetaan. Jäännös sekoitetaan heksaanin kanssa ultraäänihauteessa, jolloin saadaan otsikkoyhdiste: TLC R_f(D) = 0,08; FAB-MS $(M+H)^+$ = 380.

62b') 2-metoksietyylijodidi

Liuosta, jossa on 10 ml (109 mmol) 2-kloorietyylimetyylieetteriä 205 ml:ssa asetonia, käsitellään erissä 80,1 g:lla (534 mmol) NaI:tä, ja seosta keitetään refluksoiden 20 tunnin ajan. Reaktioseos jaetaan 2 erän välillä eetteriä ja suolaliuosta, orgaaniset faasit kuivataan Na_2SO_4 ja haihdutetaan [huoneenlämpötila, 30 kPa (300 mbar)], jolloin saadaan otsikkoyhdiste: ^{1}H-NMR (200 MHz, $CDCl_3$): 3,25 (t, J=7 Hz, 2H), 3,39 (s, 3H), 3,65 (t, J= 7 Hz, 2H).

62c) 5(S)-[1(S)-(Boc-amino)-2-[p-(2-metoksietoksi)fenyyli]etyyli]-3(R)-[(p-bentsyylioksifenyyli)metyyli]dihydrofuran-2-(3H)-oni

3,6 g (9,48 mmol) 5(S)-[1(S)-(Boc-amino)-2-[p-(2-metoksietoksi)fenyyli]etyyli]dihydrofuran-2-(3H)-onia liuotettuna 17,3 ml:aan THF:ää ja 1,9 ml:aan DMPU N_2-ilmakehässä deprotonoidaan -70 °C:ssa 18,58 ml:lla 1 M litiumbis(trimetyylisilyyli)amidiliuosta THF:ssä, ja alkyloidaan 15 min kuluttua 3,07 g:lla (9,48 mmol) p-bentsyylioksibentsyylijodidia (esimerkki 1d)) 6 ml:ssa THF:ää. 30 min kuluttua

-75 °C:ssa seos protonoidaan 3,53 ml:Lla (47,4 mmol) propionihappoa ja 3,53 ml:lla vettä, ja lämmitetään 0 °C:seen. Reaktioseos laimennetaan 95 ml:lla etyyliasetaattia, ja kokonaisuus pestään 10-%:isella sitruunahappoliuoksella, kylläisellä $NaHCO_3$-liuoksella ja suolaliuoksella. Vesifaasit uutetaan 2 erällä etyyliasetaattia. Orgaaniset faasit kuivataan Na_2SO_4:llä ja haihdutetaan. Kromatografoidaan pylväällä (SiO_2, heksaani/etyyliasetaatti, 1:1) ja kiteytetään etyyliasetaatti/heksaanista, jolloin saadaan puhdas otsikkoyhdiste: TLC R_f(C) = 0,38; t_{Ret}(II) = 18,0 min; FAB-MS $(M+H)^+$ = 576.

62d) <u>5(S)-(Boc-amino)-4(S)-hydroksi-6-[p-(2-metoksietoksi)fenyyli]-2(R)-[(p-bentsyylioksifenyyli)metyyli]heksaanihappo</u>

3,85 g (6,68 mmol) 5(S)-[1(S)-(Boc-amino)-2-[p-(2-metoksietoksi)fenyyli]etyyli]-3(R)-[(p-bentsyylioksifenyyli)metyyli]dihydrofuran-2-(3H)-onia 107 ml:ssa dimetoksietaania ja 54 ml:ssa vettä hydrolysoidaan suojakaasun alla 26,5 ml:lla 1 M litiumhydroksidiliuosta. 17 tunnin kuluttua huoneenlämpötilassa reaktioseos käsitellään jääkylmällä seoksella, jossa on 324 ml kylläistä NH_4Cl-liuosta, 27 ml 10-%:ista sitruunahappoliuosta ja 134 ml metyleenikloridia. Lisätään metanolia tuotteen liuottamiseksi täysin. Vesifaasi erotetaan pois ja uutetaan kahdesti metyleenikloridilla. Orgaaniset faasit pestään suolaliuoksella, kuivataan Na_2SO_4:llä ja haihdutetaan: t_{Ret}(II) = 15,8 min; FAB-MS $(M+H)^+$ =594.

62e) <u>5(S)-(Boc-amino)-4(S)-(tert-butyylidimetyylisilyylioksi)-6-[p-(2-metoksietoksi)-fenyyli]-2(R)-[(p-bentsyylioksifenyyli)metyyli]heksaanihappo</u>

3,85 g (6,48 mmol) 5(S)-(Boc-amino)-4(S)-hydroksi-6-[p-(2-metoksietoksi)-fenyyli]-2(R)-[(p-bentsyylioksifenyyli)metyyli]heksaanihappoa 11 ml:ssa DMF:ää silyloidaan 16 tunnin ajan huoneenlämpötilassa ja suojakaasun alla 4,49 g:lla (29,8 mmol) tert-butyyli-dimetyylikloorisilaania ja 3,6

g:lla (53,1 mmol) imidatsolia. Reaktioseos kaadetaan jäävedeen, ja kokonaisuus uutetaan kolmesti etyyliasetaatilla. Orgaaniset faasit pestään 10-%:isella sitruunahappoliuoksella, kahdesti vedellä ja suolaliuoksella, kuivataan Na_2SO_4:llä ja haihdutetaan. Jäännös liuotetaan 79 ml:aan metanolia ja 30 ml:aan THF:ää, ja tämä liuos käsitellään 5,37 g:lla kaliumkarbonaattia ja 30 ml:lla vettä, ja sekoitetaan 3 tunnin ajan huoneenlämpötilassa. Seuraavaksi reaktioseos kaadetaan jääkylmään 10-%:iseen sitruunahappoliuokseen, ja tämä seos uutetaan kolmesti etyyliasetaatilla. Orgaaniset faasit pestään 2 erällä H_2O:ta ja suolaliuosta, kuivataan Na_2SO_4:llä ja haihdutetaan. Kromatografoidaan pylväällä (SiO_2, heksaani/etyyliasetaatti, 1:1), jolloin saadaan otsikkoyhdiste: TLC R_f(C) = 0,28; t_{Ret}(II) = 20,9 min.

62f) <u>5(S)-(Boc-amino)-4(S)-(tert-butyylidimetyylisilyylioksi)-6-[p-(2-metoksietoksilfenyyli]-2(R)-[(p-bentsyylioksifenyyli)metyyli]heksanoyyli-(L)-Val-N-(2-metoksietyyli)-amidi</u>

1,00 g (1,41 mmol) 5(S)-(Boc-amino)-4(S)-(tert-butyylidimetyylisilyylioksi)-6-[p-(2-metoksietoksi)fenyyli]-2(R)-[(p-bentsyylioksifenyyli)metyyli]heksaanihappoa ja 270 mg (1,55 mmol) H-(L)-Val-N-(2-metoksietyyli)amidia (esimerkki 1b)) 13,5 ml:ssa 0,25 M NMM/CH_3CN:ää saatetaan suojakaasun alla reagoimaan 588 mg:n (1,55 mmol) kanssa HBTU:ta. 18 tunnin kuluttua huoneenlämpötilassa seos haihdutetaan lopulta. Jäännös otetaan etyyliasetaattiin, ja liuos pestään vedellä, 2x 10-%:isella sitruunahappoliuoksella, vedellä, 2x kylläisellä $NaHCO_3$-liuoksella, 1x vedellä ja 1x suolaliuoksella. Vesifaasit uutetaan edelleen 2x etyyliasetaatilla, ja orgaaniset faasit kuivataan natriumsulfaatilla ja haihdutetaan, jolloin saadaan otsikkoyhdiste: t_{Ret}(II) = 22,7 min; FAB-MS $(M+H)^+$ = 864.

Esimerkki 63: <u>5(S)-(Boc-amino)-4(S)-hydroksi-6-[p-(2-metoksietoksi)fenyyli]-2(R)-[(p-hydroksifenyyli)metyyli]hek-</u>

sanoyyli-(L)-Val-N-(2-metoksietyyli)amidi

Liuosta, jossa on 600 mg (0,80 mmol) 5(S)-(Boc-amino)-4(S)-hydroksi-6-[p-(2-metoksietoksi)fenyyli]-2(R)-[(p-bentsyylioksifenyyli)metyyli]heksanoyyli-(L)-Val-N-(2-metoksietyyli)amidia (esimerkki 62) 20 ml:ssa metanolia, hydrogenoidaan, kun läsnä on 200 mg 10-%:ista Pd/C:tä, seos suodatetaan ja haihdutetaan, jolloin saadaan otsikkoyhdiste: TLC R_f(F) = 0,19; t_{Ret}(II) = 12,3 min; FAB-MS $(M+H)^+$ = 660.

Esimerkki 64: 5(S)-(Boc-amino)-4(S)-hydroksi-6-[p-(2-metoksietoksi)fenyyli]-2(R)-[(p-metoksifenyyli)metyyli]heksanoyyli-(L)-Val-N-(2-metoksietyyli)amidi

100 mg (0,152 mmol) 5(S)-(Boc-amino)-4(S)-hydroksi-6-[p-(2-metoksietoksi)fenyyli]-2(R)-[(p-hydroksifenyyli)metyyli]-heksanoyyli-(L)-Val-N-(2-metoksietyyli)amidia (esimerkki 63) 3 ml:ssa DMF/dioksaania, 1:1, käsitellään 0 °C:ssa N_2-ilmakehässä 98,7 mg:lla (0,303 mmol) Cs_2CO_3:a ja 9,4 µl:lla (0,152 mmol) metyylijodidia, ja seosta sekoitetaan huoneenlämpötilassa 24 tunnin ajan. Koska HPLC ilmaisee, että lähtöainetta on edelleen läsnä, lisätään vielä 6 µl metyylijodidia. Edelleen 20 tunnin kuluttua huoneenlämpötilassa reaktioseos kaadetaan veteen, ja kokonaisuus uutetaan 3 erällä metyleenikloridia. Orgaaniset faasit pestään vedellä ja suolaliuoksella, kuivataan Na_2SO_4:llä ja haihdutetaan. Uudelleenkiteytetään metyleenikloridista, pienestä määrästä metanolia ja DIPE:tä, jolloin saadaan otsikkoyhdiste: TLC R_f(H) = 0,47; t_{Ret}(II) = 14,0 min; FAB-MS $(M+H)^+$ = 674.

Esimerkki 65: 5(S)-(Boc-amino)-4(S)-hydroksi-6-[p-(2-metoksietoksi)fenyyli]-2(R)-{[p-(2-metoksietoksi)fenyyli]metyyli}-heksanoyyli-(L)-Val-N-(2-metoksietyyli)amidi

100 mg (0,152 mmol) 5(S)-(Boc-amino)-4(S)-hydroksi-6-[p-(2-metoksietoksi)fenyyli]-2(R)-{[(p-hydroksifenyyli)metyyli]heksanoyyli-(L)-Val-N-(2-metoksietyyli)amidia (esimerkki 63) 3 ml:ssa DMT/dioksaania, 1:1, käsitellään 0 °C:ssa N_2-ilmakehässä 98,7 mg:lla (0,303 mmol) Cs_2CO_3:a ja 40 mg:lla (0,152 mmol) 2-metoksietyylijodidia (esimerkki 62b'), ja

seosta sekoitetaan huoneenlämpötilassa 24 tunnin ajan. Koska HPLC ilmaisee, että lähtöainetta on edelleen läsnä, lisätään vielä 60 mg 2-metoksietyylijodidia 3 erässä sekoittaen seosta joka kerta huoneenlämpötilassa muutaman tunnin ajan. Reaktioseos saostetaan 4 ml:lla jäävettä, suodatetaan, kromatografoidaan pylväällä (SiO_2, metyleenikloridi/THF, 3:1), ja käsitellään heksaanilla, jolloin saadaan puhdasta otsikkoyhdistettä: TLC R_f(H) = 0,59; t_{Ret}(II) = 13,9 min; FAB-MS $(M+H)^+$ = 718.

Esimerkki 66: 5(S)-(Boc-amino)-4(S)-hydroksi-6-syklohek-syyli-2(R)-[4-{2-(metoksi)-etoksi}fenyylimetyyli]heksano-yyli-(L)-Val-N-(2-metoksietyyli)amidi

Analogisesti esimerkille 1, 3,7 g (4,84 mmol) 5(S)-(Boc-amino)-4(S)-(tert-butyylidimetyylisilyylioksi)-6-syklohek-syyli-2(R)-[4-{2-(metoksi)etoksi}fenyylimetyyli]-heksano-yyli-(L)-Val-N-(2-metoksietyyli)amidia (esimerkki 66f)) 15 ml:ssa DMF:ää saatetaan reagoimaan 3,09 g:n (9,78 mmol) kanssa TBAF·trihydraattia, jolloin saadaan otsikkoyhdistettä. Reaktioseos kaadetaan veteen, ja kokonaisuus uutetaan 4 erällä etyyliasetaattia. Orgaaniset faasit pestään kylläisellä $NaHCO_3$-liuoksella, vedellä ja suolaliuoksella, kuivataan Na_2SO_4:llä ja haihdutetaan. Sekoitetaan dietyylieetterin kanssa ja sekoitetaan, jolloin saadaan puhdas otsikkoyhdiste. TLC R_f(A) = 0,4; t_{Ret}(II) = 15,97 min; FAB-MS $(M+H^+)$ = 650.

Lähtöaineyhdiste valmistetaan seuraavalla tavalla:

66a) 3(R)-[(4-bentsyylioksifenyyli)metyyli]-5(S)-[1(S)-(Boc-amino)-2-sykloheksyylietyyli]-dihydrofuran-2-oni

Analogisesti esimerkille 1h), 5,2 g (16,7 mmol) 5(S)-[1(S)-(Boc-amino)-2-sykloheksyylietyyli]dihydrofuran-2-onia (esimerkki 12a)) liuotettuna 50 ml:aan THF:ää deprotonoidaan -70 °C:ssa 33,4 ml:lla 1 M litiumbis(trimetyylisilyyli)amidiliuosta THF:ssä, ja alkyloidaan (-75 °C:ssa 1 tunnin ajan) 5,2 g:lla (16,07 mmol) p-bentsyylioksibentsyylijodidia [valmistus, katso esimerkkiä 1d)] 15 ml:ssa

THF:ää. LIsätään 6,2 ml (83,02 mmol) propionihappoa ja vettä -75 °C:ssa, ja jatkokäsitellään, jolloin saadaan otsikkoyhdistettä pylväskromatografian jälkeen (SiO_2, heksaani/etyyliasetaatti: 4:1). TLC R_f(heksaani/etyyliasetaatti: 4:1) 0,27; t_{Ret}(II) = 20,41 min.

66b) 5(S)-(Boc-amino)-4(S)-hydroksi-6-sykloheksyyli-2(R)-[(4-bentsyylioksifenyyli)-metyyli]heksaanihappo

2,4 g (4,728 mmol) 3(R)-[(4-bentsyylioksifenyyli)-metyyli]-5(S)-[1(S)-(Boc-amino)-2-sykloheksyylietyyli]dihydrofuran-2-onia 10 ml:ssa dimetoksietaania hydrolysoidaan suojakaasun alla 9,45 ml:lla 1 M litiumhydroksidiliuosta. 17 tunnin kuluttua huoneenlämpötilassa, reaktioseos käsitellään jääkylmällä seoksella, jossa on 324 ml kylläistä NH_4Cl-liuosta, 27 ml 10-%:ista sitruunahappoliuosta ja 134 ml metyleenikloridia. Lisätään metanolia tuotteen täysin liuottamiseksi. Vesifaasi erotetaan pois ja uutetaan kahdesti metyleenikloridilla. Orgaaniset faasit pestään suolaliuoksella, kuivataan Na_2SO_4:llä ja haihdutetaan. Raakatuote puhdistetaan pylväskromatografialla (SiO_2, eluentti C), jolloin saadaan otsikkoyhdiste. TLC R_f(C) = 0,35; t_{Ret}(II) = 17,88 min FAB-MS ($M+H^+$) = 526.

66c) 5(S)-(Boc-amino)-4(S)-(tert-butyylidimetyylisilyylioksi)-6-sykloheksyyli-2(R)-[(4-bentsyylioksifenyyli)metyyli]heksaanihappo

Analogisesti esimerkille 1j), 28,8 g (54,8 mmol) 5(S)-(Boc-amino)-4(S)-hydroksi-6-sykloheksyyli-2(R)-[(4-bentsyylioksifenyyli)metyyli]heksaanihappoa 288 ml:ssa DMF:ää muutetaan otsikkoyhdisteeksi 35,8 g:lla (237,6 mmol) tert-butyylidimetyylikloorisilaania ja 30 g:lla (440 mmol) imidatsolia. Otsikkoyhdiste puhdistetaan pylväskromatografialla (SiO_2, heksaani/etyyliasetaatti: 4:1 to 1:1); TLC R_f(E) = 0,34; t_{Ret} (gradientti 75 → 100 % (a):ta (b):ssä 20 min aikana) = 25,06 min; FAB-MS ($M+H^+$) = 526.

66d) 5(S)-(Boc-amino)-4(S)-(tert-butyylidimetyylisilyy-

lioksi)-6-sykloheksyyli-2(R)-[(4-bentsyylioksifenyyli)metyyli]heksanoyyli-(L)-Val-N-(2-metoksietyyli)amidi

Liuosta, jossa on 3 g (18,7 mmol) H-(L)-Val-N-(2-metoksietyyli)amidia ja 10 g (15,6 mmol) 5(S)-(Boc-amino)-4(S)-(tert-butyylidimetyylisilyylioksi)-6-sykloheksyyli-2(R)-[(4-bentsyylioksifenyyli)metyyli]heksaanihappoa 50 ml:ssa DMF:ää, jäähdytetään 5 °C:seen jäähauteella ja käsitellään 2,9 ml:lla (17,2 ml) dietyylisyaanifosfonaattia (Aldrich, Milwaukee, USA) ja tämän jälkeen 5,5 ml:lla trietyyliamiinia. Kun seosta on sekoitettu huoneenlämpötilassa, se kaadetaan veteen, ja kokonaisuus uutetaan 3 kertaa etyyliasetaatilla. Yhdistetyt orgaaniset faasit pestään vedellä, kylläisellä natriumbikarbonaattiliuoksella (kahdesti) ja suolaliuoksella, kuivataan natriumsulfaatilla, ja konsentroidaan alennetussa paineessa. Otsikkoyhdiste puhdistetaan pylväskromatografialla (SiO_2, eluent C); TLC R_f(A) = 0,56; t_{Ret}(B) = 24,82 min. FAB-MS ($M+H^+$) = 796.

66e) 5(S)-(Boc-amino)-4(S)-(tert-butyylidimetyylisilyylioksi)-6-sykloheksyyli-2(R)-[(4-hydroksifenyyli)metyyli]heksanoyyli-(L)-Val-N-(2-metoksietyyli)amidi

0,64 g (0,804 mmol) 5(S)-(Boc-amino)-4(S)-(tert-butyylidimetyylisilyylioksi)-6-sykloheksyyli-2(R)-[(4-bentsyylioksifenyyli)metyyli]heksanoyyli-(L)-Val-N-(2-metoksi-etyyli)amidia 20 ml:ssa metanolia hydrogenoidaan kun läsnä on 0,32 g 10-%:ista Pd/C:tä. Katalysaattori suodatetaan pois ja suodos haihdutetaan, jolloin saadaan otsikkoyhdiste, joka saatetaan reagoimaan edelleen enempää puhdistamatta; TLC R_f(C) = 0,18; t_{Ret}(II) = 21,81 min; FAB-MS ($M+H^+$) = 706.

66f) 5(S)-(Boc-amino)-4(S)-(tert-butyylidimetyylisilyylioksi)-6-sykloheksyyli-2(R)-[(4-{2-(metoksi)etoksi}fenyyli)metyyli]heksanoyyli-(L)-Val-N-(2-metoksietyyli)amidi

Liuosta, jossa on 0,75 g (1,06 mmol) 5(S)-(Boc-amino)-4(S)-(tert-butyylidimetyylisilyylioksi)-6-sykloheksyyli-2(R)-[(4-hydroksifenyyli)metyyli]heksanoyyli-(L)-Val-N-(2-metoksi-etyyli)amidia 10 ml:ssa dioksaania, käsitellään 1,384

g:lla (4,25 mmol) cesiumkarbonaattia ja, 4 tunnin kuluttua, 0,79 g:lla (4,25 mmol) 2-metoksietyylijodidia (esimerkki 62b')). Kun on sekoitettu 80 °C:ssa 24 tunnin ajan, reaktioseos kaadetaan veteen ja etyyliasetaattiin. Orgaaninen faasi erotetaan pois, vesiliuos pestään edelleen kolmesti etyyliasetaatilla. Yhdistetyt uutteet pestään peräkkäin vedellä, kylläisellä natriumbikarbonaatin vesiliuoksella ja suolaliuoksella. Kuivataan natriumsulfaatilla ja haihdutetaan alennetussa paineessa, tulokseksi saatu jäännös sekoitetaan heksaanin kanssa ja suodatetaan pois. Kromatografoidaan pylväällä (SiO_2, heksaani/asetoni: 2:1), jolloin saadaan puhdas otsikkoyhdiste. TLC R_f(C) = 0,2; t_{Ret}(II) = 21,9 min; FAB-MS ($M+H^+$) = 764.

Esimerkki 67: <u>5(S)-(2,2,2-trifluorietoksikarbonyyliamino)-4(S)-hydroksi-6-sykloheksyyli-2(R)-[(4-{2-(metoksi)etoksi}fenyyli)metyyli]heksanoyyli-(L)-Val-N-(2-metoksietyyli)amidi</u>

500 mg (0,909 mmol) 5(S)-amino-4(S)-hydroksi-6-syklohek-syyli-2(R)-[(4-{2-(metoksi)-etoksi}-fenyyli)metyyli]heksanoyyli-(L)-Val-N-(2-metoksietyyli)amidia 5 ml:ssa DMF:ää käsitellään 0 °C:ssa ja peräkkäin 0,51 ml:lla (3,65 mmol) trietyyliamiinia ja 0,34 g:lla (2,09 mmol) trifluorietyyliklooriformiaattia (US-patentti 3,852,464). Kun on sekoitettu 10 min, reaktioseos kaadetaan veteen ja koko seos uutetaan 3x etyyliasetaatilla. Yhdistetyt uutteet pestään peräkkäin natriumbikarbonaatin kyllästetyllä vesiliuoksella ja suolaliuoksella, ja kun on kuivattu natriumsulfaatilla, konsentroidaan alennetussa paineessa. Otsikkoyhdiste saadaan jäännöksestä käsittelemällä tämä etyyliasetaatilla. TLC R_f(B) = 0,77; t_{Ret}(II)= 15,26 min; FAB-MS ($M+H^+$) = 676.

Lähtöaineyhdiste valmistetaan seuraavalla tavalla:

67a) <u>5(S)-amino-4(S)-hydroksi-6-sykloheksyyli-2(R)-[(4-{2-(metoksi)etoksi}fenyyli)-metyyli]heksanoyyli-(L)-Val-N-(2-metoksietyyli)amidi</u>

2,3 g (3,54 mmol) 5(S)-(Boc-amino)-4(S)-hydroksi-6-syklo-

heksyyli-2(R)-[(4-{2-(metoksi)etoksi}fenyyli)metyyli]heksanoyyli-(L)-Val-N-(2-metoksietyyli)amidia (esimerkki 66) 25 ml:ssa metyleenikloridia käsitellään 0 °C:ssa 25 ml:lla trifluorietikkahappoa. Sekoitetaan huoneenlämpötilassa 2 tunnin ajan, reaktioseos haihdutetaan, ja jäännös jaetaan natriumbikarbonaatin kylläisen vesiliuoksen ja etyyliasetaatin välillä. Orgaaninen faasi pestään vielä kerran natriumbikarbonaatin kylläisellä vesiliuoksella ja suolaliuoksella, ja haihdutetaan kuiviin. Kuiva jäännös käsitellään 100 ml:lla dietyylieetteria ultraäänihauteessa, minkä jälkeen se suodatetaan pois imupullolla ja pestään. Suodatusjäännös kuivataan huoneenlämpötilassa suurtyhjössä, jolloin saadaan otsikkoyhdiste: TLC R_f(B) = 0,4; t_{Ret}(II) = 10,2 min; FAB-MS ($M+H^+$) = 550.

Esimerkki 68: <u>5(S)-(Boc-amino)-4(S)-hydroksi-6-syklohek-syyli-2(R)-[(3,4-metyleeni-dioksifenyyli)metyyli]heksanoyyli-(L)-Val-N-(2-metoksietyyli)amidi</u>

Analogisesti esimerkille 60, otsikkoyhdiste saadaan 5(S)-(Boc-amino)-4(S)-(tert-butyylidimetyylisilyylioksi)-6-syklohekSyyli-2(R)-[(3,4-metyleeni-dioksifenyyli)metyyli]heksanoyyli-(L)-Val-N-(2-metoksietyyli)amidista käyttämällä TBAF:ää absoluuttisessa DMF:ssä.

Esimerkki 69: <u>5(S)-(Boc-amino)-4(S)-hydroksi-6-syklohek-syyli-2(R)-[(3,4-dimetoksifenyyli)metyyli]heksanoyyli-(L)-Val-N-(2-metoksietyyli)amidi</u>

Analogisesti esimerkille 60, otsikkoyhdiste saadaan 5(S)-(Boc-amino)-4(S)-(tert-butyylidimetyylisilyylioksi)-6-syklohekSyyli-2(R)-[(3,4-dimetoksifenyyli)metyyli]heksanoyyli-(L)-Val-N-(2-metoksietyyli)amidista käyttämällä TBAF:ää absoluuttisessa DMF:ssä.

Esimerkki 70: <u>5(S)-(Boc-amino)-4(S)-hydroksi-6-syklohek-syyli-2(R)-[(3-metoksifenyyli)-metyyli]heksanoyyli-(L)-Val-N-(2-metoksietyyli)amidi</u>

Analogisesti esimerkille 60, otsikkoyhdiste saadaan 5(S)-

(Boc-amino)-4(S)-(tert-butyylidimetyylisilyylioksi)-6-syk-loheksyyli-2(R)-[(3-metoksifenyyli)metyyli]heksanoyyli-(L)-Val-N-(2-metoksietyyli)amidista käyttämällä TBAF:ää absoluuttisessa DMF:ssä.

Esimerkki 71: 5(S)-(Boc-amino)-4(S)-hydroksi-6-syklohek-syyli-2(R)-[(3,4,5-trimetoksifenyyli)metyyli]heksanoyyli-(L)-Val-N-(2-metoksietyyli)amidi

Analogisesti esimerkille 60, otsikkoyhdiste saadaan 5(S)-(Boc-amino)-4(S)-(tert-butyylidimetyylisilyylioksi)-6-syk-loheksyyli-2(R)-[(3,4,5-trimetoksifenyyli)metyyli]heksano-yyli-(L)-Val-N-(2-metoksietyyli)amidista käyttämällä TBAF:ää absoluuttisessa DMF:ssä.

Esimerkki 72: 5(S)-(Boc-amino)-4(S)-hydroksi-6-syklohek-syyli-2(R)-[(2,4-dimetoksifenyyli)metyyli]heksanoyyli-(L)-Val-N-(2-metoksietyyli)amidi

Analogisesti esimerkille 60, otsikkoyhdiste saadaan 5(S)-(Boc-amino)-4(S)-(tert-butyylidimetyylisilyylioksi)-6-syk-loheksyyli-2(R)-[(2,4-dimetoksifenyyli)metyyli]heksanoyyli-(L)-Val-N-(2-metoksietyyli)amidista käyttämällä TBAF:ää absoluuttisessa DMF:ssä.

Esimerkki 73: 5(S)-(Boc-amino)-4(S)-hydroksi-6-syklohek-syyli-2(R)-[(2-metoksifenyyli)metyyli]heksanoyyli-(L)-Val-N-(2-metoksietyyli)amidi

Analogisesti esimerkille 60, otsikkoyhdiste saadaan 5(S)-(Boc-amino)-4(S)-(tert-butyylidimetyylisilyylioksi)-6-syk-loheksyyli-2(R)-[(2-metoksifenyyli)metyyli]heksanoyyli-(L)-Val-N-(2-metoksietyyli)amidista käyttämällä TBAF:ää ab-soluuttisessa DMF:ssä.

Esimerkki 74: 5(S)-(Boc-amino)-4(S)-hydroksi-6-syklohek-syyli-2(R)-[(2,3-dimetyyli-4-metoksifenyyli)metyyli]hek-sanoyyli-(L)-Val-N-(2-metoksietyyli)amidi

Analogisesti esimerkille 60, otsikkoyhdiste saadaan 5(S)-(Boc-amino)-4(S)-(tert-butyylidimetyylisilyylioksi)-6-syk-

loheksyyli-2(R)-[(2,3-dimetyyli-4-metoksifenyyli)metyyli]heksanoyyli-(L)-Val-N-(2-metoksi-etyyli)amidista käyttämällä TBAF:ää absoluuttisessa DMF:ssä.

Esimerkki 75: 5(S)-(Boc-amino)-4(S)-hydroksi-6-syklohek-syyli-2(R)-[(2,4,5-trimetoksifenyyli)metyyli]heksanoyyli-(L)-Val-N-(2-metoksietyyli)amidi

Analogisesti esimerkille 60, otsikkoyhdiste saadaan 5(S)-(Boc-amino)-4(S)-(tert-butyylidimetyylisilyylioksi)-6-syk-loheksyyli-2(R)-[(2,4,5-trimetoksifenyyli)metyyli]heksanoyyli-(L)-Val-N-(2-metoksietyyli)amidista käyttämällä TBAF:ää absoluuttisessa DMF:ssä.

Esimerkki 76: 5(S)-(Boc-amino)-4(S)-hydroksi-6-syklohek-syyli-2(R)-[(2,4,6-trimetoksifenyyli)metyyli]heksanoyyli-(L)-Val-N-(2-metoksietyyli)amidi

Analogisesti esimerkille 60, otsikkoyhdiste saadaan 5(S)-(Boc-amino)-4(S)-(tert-butyylidimetyylisilyylioksi)-6-syk-loheksyyli-2(R)-[(2,4,6-trimetoksifenyyli)metyyli]heksanoyyli-(L)-Val-N-(2-metoksietyyli)amidista käyttämällä TBAF:ää absoluuttisessa DMF:ssä.

Esimerkki 77: 5(S)-(Boc-amino)-4(S)-hydroksi-6-syklohek-syyli-2(R)-[(5,6,7,8-tetrahydro-1-metyyli)naftyyli]hek-sanoyyli-(L)-Val-N-(2-metoksietyyli)amidi

Analogisesti esimerkille 60, otsikkoyhdiste saadaan 5(S)-(Boc-amino)-4(S)-(tert-butyylidimetyylisilyylioksi)-6-syk-loheksyyli-2(R)-[(5,6,7,8-tetrahydro-1-metyyli)naftyyli]-heksanoyyli-(L)-Val-N-(2-metoksietyyli)amidista käyttämällä TBAF:ää absoluuttisessa DMF:ssä.

Esimerkki 78: 5(S)-(Boc-amino)-4(S)-hydroksi-6-syklohek-syyli-2(R)-[(2,5-dimetoksifenyyli)metyyli]heksanoyyli-(L)-Val-N-(2-metoksietyyli)amidi

Analogisesti esimerkille 60, otsikkoyhdiste saadaan 5(S)-(Boc-amino)-4(S)-(tert-butyylidimetyylisilyylioksi)-6-syk-loheksyyli-2(R)-[(2,5-dimetoksifenyyli)metyyli]heksanoyyli-

(L)-Val-N-(2-metoksietyyli)amidista käyttämällä TBAF:ää absoluuttisessa DMF:ssä.

Esimerkki 79: 5(S)-(Boc-amino)-4(S)-hydroksi-6-syklohek-syyli-2(R)-[(2,6-dimetoksifenyyli)metyyli]heksanoyyli-(L)-Val-N-(2-metoksietyyli)amidi

Analogisesti esimerkille 60, otsikkoyhdiste saadaan 5(S)-(Boc-amino)-4(S)-(tert-butyylidimetyylisilyylioksi)-6-syk-loheksyyli-2(R)-[(2,6-dimetoksifenyyli)metyyli]heksanoyyli-(L)-Val-N-(2-metoksietyyli)amidista käyttämällä TBAF:ää absoluuttisessa DMF:ssä.

Esimerkki 80: 5(S)-(Boc-amino)-4(S)-hydroksi-6-syklohek-syyli-2(R)-[(4-metoksi-1-naftyyli)metyyli]heksanoyyli-(L)-Val-N-(2-metoksietyyli)amidi

Analogisesti esimerkille 60, otsikkoyhdiste saadaan 5(S)-(Boc-amino)-4(S)-(tert-butyylidimetyylisilyylioksi)-6-syk-loheksyyli-2(R)-[(4-metoksi-1-naftyyli)metyyli]heksanoyyli-(L)-Val-N-(2-metoksietyyli)amidista käyttämällä TBAF:ää absoluuttisessa DMF:ssä.

Esimerkki 81: 5(S)-(Boc-amino)-4(S)-hydroksi-6-syklohek-syyli-2(R)-[(4-syaani-1-naftyyli)metyyli]heksanoyyli-(L)-Val-N-(2-metoksietyyli)amidi

Analogisesti esimerkille 60, otsikkoyhdiste saadaan 5(S)-(Boc-amino)-4(S)-(tert-butyylidimetyylisilyylioksi)-6-syk-loheksyyli-2(R)-[(4-syaani-1-naftyyli)metyyli]heksanoyyli-(L)-Val-N-(2-metoksietyyli)amidista käyttämällä TBAF:ää absoluuttisessa DMF:ssä.

Esimerkki 82: 5(S)-(Boc-amino)-4(S)-hydroksi-6-syklohek-syyli-2(R)-[(4- fluori-1-naftyyli)metyyli]heksanoyyli-(L)-Val-N-(2-metoksietyyli)amidi

Analogisesti esimerkille 60, otsikkoyhdiste saadaan 5(S)-(Boc-amino)-4(S)-(tert-butyylidimetyylisilyylioksi)-6-syk-loheksyyli-2(R)-[(4-fluori-1-naftyyli)metyyli]heksanoyyli-(L)-Val-N-(2-metoksietyyli)amidista käyttämällä TBAF:ää

absoluuttisessa DMF:ssä.

Esimerkki 83: 5(S)-(3-hydroksi-2-metyylifenyylikarbonyyliamino)-4(S)-hydroksi-6-fenyyli-2(R)-[(2,3,4-trimetoksifenyyli)metyyli]heksanoyyli-(L)-Val-N-(2-metoksietyyli)amidi

150 mg (0,251 mmol) 5(S)-amino-4(S)-hydroksi-6-fenyyli-2(R)-[(2,3,4-trimetoksifenyyli)metyyli]heksanoyyli-(L)-Val-N-(2-metoksietyyli)amidia (hydrokloridisuolaa) liuotetaan dikloorimetaaniin, ja orgaaninen faasi pestään kylläisellä natriumbikarbonaattiliuoksella, kuivataan natriumsulfaatilla ja konsentroidaan. Vapautunutta amiinia sekoitetaan 16 tunnin ajan huoneenlämpötilassa 2,36 ml:ssa (0,25 M) NMM:n asetonitriililiuosta yhdessä 105 mg:n kanssa HBTU:ta (1,1 ekvivalenttia) ja 42 mg:n (1,1 ekvivalenttia) kanssa 3-hydroksi-2-metyylibentsoehappoa [valmistettu tavalla, joka kuvataan julkaisussa: F. Fringuelli, V. Mancini ja A. Taticchi; Tetrahedron 25, 4249 (1969)]. Reaktioseos otetaan kylmään etyyliasetaatti/THF -seokseen, ja kokonaisuus pestään peräkkäin 10-%:isella sitruunahapolla, vedellä, kylläisellä natriumbikarbonaattiliuoksella ja suolaliuoksella. Seos kuivataan natriumsulfaatilla, liuotin poistetaan, ja jäännös käsitellään kahdesti dietyylieetterillä. Kiinteä sakka suodatetaan pois imupullolla, pestään dietyylieetterillä ja kuivataan, jolloin saadaan otsikkoyhdiste: FAB-MS $(M+H)^+$ = 694; t_{Ret}(II) = 9,08 min.

Lähtöaine valmistetaan seuraavasti:

83a) 5(S)-amino-4(S)-hydroksi-6-fenyyli-2(R)-[(2,3,4-trimetoksifenyyli)metyyli]-heksanoyyli-(L)-Val-N-(2-metoksietyyli)amidi (hydrokloridisuola)

1,5 g (2,27 mmol) 5(S)-(Boc-amino)-4(S)-hydroksi-6-fenyyli-2(R)-[(2,3,4-trimetoksifenyyli)metyyli]heksanoyyli-(L)-Val-N-(2-metoksietyyli)amidia (esim. 47) lisätään argonissa ja erissä 10 ml:aan jääkylmää 4 N kloorivetyä dioksaanissa, ja seosta sekoitetaan 3,5 tunnin ajan jäähdyttäen jäällä. Reaktioliuos käsitellään lyhyesti tyhjössä ylimääräisen

kloorivedyn poistamiseksi, ja sitten pakastetaan ja lyofilisoidaan. Lyofilisaattia sekoitetaan vielä 1 tunnin ajan asetonissa, ja suodatetaan sitten pois imupullolla, pestään heksaanilla ja kuivataan, jolloin saadaan otsikkoyhdiste: FAB-MS $(M+H)^+$ = 560; t_{Ret}(II) = 7,30 min.

Esimerkki 84: 5(S)-(2-metoksi-1(R,S)-metyylietoksikarbonyyliamino)-4(S)-hydroksi-6-sykloheksyyli-2(R)-[(p-metoksifenyyli)metyyli]heksanoyyli-(L)-Val-N-(2-metoksietyyli)amidi

1 g (1,84 mmol) 5(S)-amino-4(S)-hydroksi-6-sykloheksyyli-2(R)-[(p-metoksifenyyli)metyyli]heksanoyyli-(L)-Val-N-(2-metoksietyyli)amidia [valmistettu esimerkin mukaan 22a)] 30 ml:ssa THF:ää jäähdytetään noin 7 °C:seen jäävettä käyttämällä, ja käsitellään 0,909 ml:lla (3,5 ekvivalenttia) trietyyliamiinia, sen jälkeen 563 mg:lla (2 ekvivalenttia) 2-metoksi-1(R,S)-metyylietyylikloorifor miaattia. Jäähdytyshaude poistetaan, ja seuraavaksi seosta sekoitetaan huoneenlämpötilassa vielä 1 tunnin ajan. Reaktioseos kaadetaan veteen, ja kokonaisuus uutetaan etyyliasetaatilla. Orgaaninen faasi pestään peräkkäin vedellä, kylläisellä natriumbikarbonaattiliuoksella, vedellä ja suolaliuoksella. Kuivataan natriumsulfaatilla, ja liuotin poistetaan, jäännös käsitellään eetterillä, sakka suodatetaan pois ja kuivataan, jolloin saadaan otsikkoyhdiste: FAB-MS $(M+H)^+$ = 622; t_{Ret}(I) = 14,55 ja 14,70 min (diastereomeeriseos).

Lähtöaine valmistetaan seuraavalla tavalla:

84a) 2-metoksi-1(R,S)-metyylietyylikloorifor miaatti

1 ml (10,2 mmol) 1-metoksi-2-propanolia (Fluka, Buchs, Sveitsi) injisoidaan ruiskua käyttäen hitaasti jääkylmään liuokseen, jossa on 916 mg (1,1 ekvivalenttia) bis(trikloorimetyyli)karbonaattia (trifosgeeni; Fluka, Buchs, Sveitsi) 35 ml:ssa eetteriä. Samanaikaisesti lisätään tipoittain 1 ml (1,2 ekvivalenttia) pyridiiniä 5 ml:ssa eetteriä tiputussuppilosta. Kun liusäys on suoritettu loppuun, seos jätetään sekoittumaan huoneenlämpötilassa edelleen 60

min ajan. Reaktioseos suodatetaan vanun läpi, ja liuotin haihdutetaan varovasti (35 °C vesihaude). Öljymäinen jäännös (otsikkoyhdiste) alistetaan edelleen käsittelylle lainkaan puhdistamatta. ^{1}H-NMR (200 MHz; $CDCl_3$) = mm. 5,05/m (1H); 3,30/s (3H); 1,27/d (3H).

Esimerkki 85: 5(S)-(Boc-amino)-4(S)-hydroksi-6-syklohek-syyli-2(R)-[(p-metoksifenyyli)-metyyli]heksanoyyli-(L)-[(sykloheksyyli)Gly]-N-(2-metoksietyyli)amidi

Analogisesti esimerkille 12, otsikkoyhdiste saadaan 5(S)-(Boc-amino)-4(S)-(tert-butyylidimetyylisilyylioksi)-6-sykloheksyyli-2(R)-[(p-metoksifenyyli)metyyli]heksanoyyli-(L)-[(sykloheksyyli)Gly]-N-(2-metoksietyyli)amidista käyttämällä TBAF:ää DMF:ssä. FAB-MS $(M+H)^+$ = 646; t_{Ret}(I) = 17,46 min.

Lähtöaine valmistetaan seuraavasti:

85a) 5(S)-(Boc-amino)-4(S)-(tert-butyylidimetyylisilyy-lioksi)-6-sykloheksyyli-2(R)-[(p-metoksifenyyli)metyy-li]heksanoyyli-(L)-[(sykloheksyyli)Gly]-N-(2-metoksietyy-li)amidi

Analogisesti esimerkille 12e), otsikkoyhdiste saadaan 1,128 g:sta (2 mmol) 5(S)-(Boc-amino)-4(S)-(tert-butyylidimetyy-lisilyylioksi)-6-sykloheksyyli-2(R)-[(p-metoksifenyyli)me-tyyli]heksaanihappoa [valmistettu esimerkin mukaan 12d)], 472 mg:sta (1,1 ekvivalenttia) H-(L)-[(sykloheksyyli)Gly]-N-(2-metoksietyyli)amidia [valmistettu esimerkin mukaan 20c)], 0,36 ml:sta (1,1 ekvivalenttia) dietyylisyaanifos-fonaattia (Aldrich, Milwaukee/USA) ja 0,7 ml:sta (2,5 ekvivalenttia) trietyyliamiinia 10 ml:ssa DMF:ää. FAB-MS $(M+H)^+$ = 760; t_{Ret}(I) = 24,73 min.

Esimerkki 86: 5(S)-(etoksikarbonyyli-(L)-Val-amino)-4(S)-hydroksi-6-sykloheksyyli-2(R)-[(p-metoksifenyyli)metyy-li]heksanoyyli-(L)-Val-N-(2-metoksietyyli)amidi

Analogisesti esimerkille 27, lähdetään 1 g:sta (1,844 mmol) 5(S)-amino-4(S)-hydroksi-6-sykloheksyyli-2(R)-[(p-metok-sifenyyli)metyyli]-heksanoyyli-(L)-Val-N-(2-metok-

sietyyli)amidia [valmistettu esimerkin 22a) mukaan], 500 mg:sta (1,4 ekvivalenttia) etoksikarbonyyli-(L)-valiinia, 0,43 ml:sta (1,5 ekvivalenttia) dietyylisyaanifosfonaattia ja 1,34 ml:sta (9,61 mmol) trietyyliamiinia 40 ml:ssa DMF:ää, ja käsitellään eetterillä, jolloin otsikkoyhdiste saadaan värittömänä kiinteänä aineena. FAB-MS $(M+H)^+$ = 677; t_{Ret}(I) = 14,68 min.

Lähtöaine valmistetaan seuraavalla tavalla:

86a) N-(etoksikarbonyyli)-(L)-valiini

Otsikkoyhdiste valmistetaan, analogisesti esimerkille 30a), L-valiinista 2 N NaOH:ssa ja dioksaanissa käyttämällä etyyliklooriformiaattia (Fluka, Buchs, Sveitsi), ja alistetaan edelleen käsittelylle puhdistamatta.

Esimerkki 87: 5(S)-(1,1-dimetyyli-2-metoksietoksikarbonyyliamino)-4(S)-hydroksi-6-sykloheksyyli-2(R)-[(p-metoksifenyyli)metyyli]-heksanoyyli-(L)-Val-N-(2-metoksietyyli)amidi

Analogisesti esimerkille 26, otsikkoyhdiste saadaan 813 mg:sta (1,5 mmol) 5(S)-amino)-4(S)-hydroksi-6-sykloheksyyli-2(R)-[(p-metoksifenyyli)metyyli]-heksanoyyli-(L)-Val-N-(2-metoksietyyli)amidia [valmistettu esimerkin 22a) mukaan], 490 mg:sta (2 ekvivalenttia) (1,1-dimetyyli-2-metoksi)etyyliklooriformiaattia ja 0,6 ml:sta (2,9 ekvivalenttia) trietyyliamiinia. Puhdistus suoritetaan kromatografoimalla silikageelillä (eluentti: heksaani/asetoni, 2:1). FAB-MS $(M+H)^+$ = 636; t_{Ret}(I) = 15,45 min.

Lähtöaine valmistetaan seuraavasti:

87a) 1-metoksi-2-metyyli-2-propanoli

10,8 g (0,1 mol) 1-kloori-2-metyyli-2-propanolia (Lancaster Synthesis, Bischheim, Ranska) 30 ml:ssa metanolia käsitellään argonissa 20,4 ml:lla liuosta, jossa on natriummetoksidia (110 mmol; 1,1 ekvivalenttia) metanolissa, ja seosta keitetään refluksoiden 2,5 tunnin ajan. Reaktion edettyä loppuun sakka suodatetaan pois, ja liuotin tislataan pois

Vigreux-kolonnin kautta, ja jäännös tislataan standardipaineessa, jolloin saadaan otsikkoyhdiste: ^{1}H-NMR (200 MHz; $CDCl_3$) = 3,33/s (3H); 3,15/s (2H); 1,13/s (6H). FAB-MS $(M+H)^+$ = 105. [katso myös Amer., Soc. 75, 155 (1953)].

87b) (1,1-dimetyyli-2-metoksi)etyylikloorifor miaatti

770 mg (2,59 mmol) bis(trikloorimetyyli)karbonaattia (trifosgeeni; Fluka, Buchs, Sveitsi) liuotetaan huoneenlämpötilassa 25 ml:aan eetteriä, ja tämä liuos käsitellään 737 mg:lla (7,07 mmol) 1-metoksi-2-metyyli-2-propanolia liuotettuna pieneen määrään eetteriä. Liuos jäähdytetään jäähauteella, ja käsitellään hitaasti 0,67 ml:lla (8,48 mmol) pyridiiniä 3 ml:ssa eetteriä. Lisäyksen loppuun suorittamisen jälkeen jäähaude poistetaan, ja seosta sekoitetaan seuraavaksi 1 tunnin ajan huoneenlämpötilassa. Reaktioseos suodatetaan vanun läpi, ja liuotin haihdutetaan pois huoneenlämpötilassa. Raakatuote (otsikkoyhdiste) alistetaan edelleen käsittelylle ilman puhdistusta. IR (CH_2Cl_2): mm.: 1780, 1210, 1198, 1145 ja 1120 cm^{-1}.

Esimerkki 88: 5(S)-(Boc-amino)-4(S)-hydroksi-6-fenyyli-2(R)-[(4-bifenylyyli)metyyli]-heksanoyyli-(L)-Val-N-(2-metoksietyyli)amidi

0,21 g (0,276 mmol) 5(S)-(Boc-amino)-4(S)-(tert-butyylidimetyylisilyylioksi)-6-fenyyli-2(R)-[(4-bifenylyyli)metyyli]heksanoyyli-(L)-Val-N-(2-metoksietyyli)amidia 4 ml:ssa DMF:ää desilyloidaan N_2-ilmakehässä 0,174 g:lla (0,55 mmol) TBAF:ää. 18 tunnin jälkeen huoneenlämpötilassa reaktioseos kaadetaan veteen, ja kokonaisuus uutetaan 3 erällä etyyliasetaattia. Orgaaniset faasit pestään kylläisellä $NaHCO_3$-liuoksella ja suolaliuoksella, kuivataan Na_2SO_4:llä ja haihdutetaan. Sekoitetaan DIPE:ssä, jolloin saadaan otsikkoyhdiste: TLC R_f(B) = 0,55; t_{Ret}(II) = 16,5 min; FAB-MS $(M+H)^+$ = 646.

Lähtöaine valmistetaan seuraavalla tavalla:

88a) 5(S)-[1(S)-(Boc-amino)-2-fenyylietyyli]-3(R)-[(4-bi-

fenyyli)metyyli]dihydrofuran-2-(3H)-oni

Analogisesti esimerkille 5d), 5,0 g (16,37 mmol) 5(S)-[1(S)-(Boc-amino)-2-fenyylietyyli]dihydrofuran-2-(3H)-onia liuotettuna 24 ml:aan THF:ää ja 2,8 ml:aan DMPU:ta deprotonoidaan -70 °C:ssa 32,7 ml:lla 1 M litiumbis(trimetyylisilyyli)amidiliuosta THF:ssä, ja alkyloidaan (-75 - -50 °C:ssa) 6,07 g:lla (24,6 mmol) 4-bifenylyylimetyylibromidia (Salor, Milwaukee/USA) 20 ml:ssa THF:ää. Protonoidaan 6,1 ml:lla (81,9 mmol) propionihappoa ja 6,1 ml:lla vettä -75 °C:ssa, uutetaan ja kromatografoidaan keskinkertaisen paineen kromatografialla (gradientti: 0 - 1 % etyyliasetaattia tolueenissa), jolloin saadaan otsikkoyhdiste: TLC R_f(D) = 0,57; t_{Ret}(II) = 18,8 min.

88b) 5(S)-(Boc-amino)-4(S)-hydroksi-6-fenyyli-2(R)-[(4-bifenylyyli)metyyli]heksaanihappo

1,3 g (2,76 mmol) 5(S)-[1(S)-(Boc-amino)-2-fenyylietyyli]-3(R)-[(4-bifenylyyli)metyyli]-dihydrofuran-2-(3H)-onia hydrolysoidaan 28 ml:ssa dimetoksietaania 11 ml:lla 1 M litiumhydroksidin vesiliuosta. 16 tunnin kuluttua huoneenlämpötilassa dimetoksietaani haihdutetaan pois kiertohaihduttimella, ja jäännös käsitellään jääkylmällä seoksella, jossa on 15 ml kylläistä NH_4Cl-liuosta, 80 ml 10-%:ista sitruunahappoliuosta ja metyleenikloridia. Vesifaasi erotetaan pois ja uutetaan kahdesti metyleenikloridilla. Orgaaniset faasit pestään suolaliuoksella, kuivataan Na_2SO_4:llä ja haihdutetaan, jolloin saadaan otsikkoyhdistettä: TLC R_f(B) = 0,4; t_{Ret}(II) = 16,4 min.

88c) 5(S)-(Boc-amino-4(S)-(tert-butyylidimetyylisilyylioksi)-6-fenyyli-2(R)-[(4-bifenylyyli)metyyli]heksaanihappo

1,23 g (2,51 mmol) 5(S)-(Boc-amino)-4(S)-hydroksi-6-fenyyli)-2(R)-[(4-bifenylyyli)metyyli]heksaanihappoa 25 ml:ssa DMF:ää silyloidaan huoneenlämpötilassa suojakaasun alla ja 20 tunnin ajan 1,74 g:lla (11,5 mmol) tert-butyylidimetyylikloorisilaania ja 1,40 g:lla (20,6 mmol) imidatsolia. Reaktioseos haihdutetaan, ja jäännös otetaan etyyliasetaat-

tiin, tämä liuos pestään kylläisellä $NaHCO_3$-liuoksella, vedellä ja suolaliuoksella. Vesifaasit uutetaan 2x etyyliasetaatilla, ja orgaaniset faasit kuivataan Na_2SO_4:llä ja haihdutetaan. Jäännös liuotetaan 30 ml:aan metanolia ja 7 ml:aan THF:ää, ja tämä liuos käsitellään 2,0 g:lla kaliumkarbonaattia ja 7 ml:lla vettä, ja sekoitetaan huoneenlämpötilassa 1 tunnin ajan. Sitten reaktioseos haihduettaan osaksi, ja jäännös laimennetaan jääkylmällä 10-%:isella sitruunahappoliuoksella, ja kokonaisuus uutetaan 3x etyyliasetaatilla. Orgaaniset faasit pestään 2 erällä vettä ja suolaliuoksella, kuivataan Na_2SO_4:llä ja haihdutetaan. Kromatografoidaan keskinkertaisen paineen kromatografialla (gradientti: 0 - 50 % etyyliasetaattia heksaanissa), jolloin saadaan otsikkoyhdiste: TLC R_f(C) = 0,56; t_{Ret}(II) = 22,1 min.

88d) <u>5(S)-(Boc-Amino)-4(S)-(tert-butyylidimetyylisilyylioksi)-6-fenyyli-2(R)-[(4-bifenylyyli)metyyli]heksanoyyli-(L)-Val-N-(2-metoksietyyli)amidi</u>

280 mg (0,46 mmol) 5(S)-(Boc-amino)-4(S)-(tert-butyylidimetyylisilyylioksi)-6-fenyyli-2(R)-[(4-bifenylyyli)metyyli]heksaanihappoa 4,44 ml:ssa 0,25 M NMM/CH_3CN:ää aktivoidaan N_2-ilmakehässä 193 mg:lla (0,51 mmol) HBTU:ta. 5 min kuluttua lisätään 90 mg (0,51 mmol) H-(L)-Val-N-(2-metoksietyyli)amidia (esimerkki 1b)), ja seosta sekoitetaan perusteellisesti huoneenlämpötilassa 20 tunnin ajan. Jatkokäsitellään analogisesti esimerkin 1c) kanssa, ja käsitellään raakatuote heksaanilla, jolloin saadaan otsikkoyhdiste: TLC R_f(D) = 0,2; t_{Ret}(II) = 22,7 min.

Esimerkki 89: <u>5(S)-(Boc-amino)-4(S)-hydroksi-6-(p-bentsyylioksifenyyli)-2(R)-[(4-bifenylyyli)metyyli]heksanoyyli-(L)-Val-N-(2-metoksietyyli)amidi</u>

1,4 g (1,6 mmol) 5(S)-(Boc-amino)-4(S)-(tert-butyyli-dimetyylisilyylioksi)-6-(p-bentsyylioksifenyyli)-2(R)-[(4-bifenylyyli)metyyli]heksanoyyli-(L)-Val-N-(2-metoksietyyli)amidia 30 ml:ssa DMF:ää desilyloidaan suojakaasun alla

1,0 g:lla (3,2 mmol) TBAF:ää, ja käsitellään 20 tunnin kuluttua analogisesti esimerkille 88. Kromatografoidaan pylväällä (silikageeli, metyleenikloridi → metyleenikloridi/metanoli 9:1) ja sekoitetaan DIPE:ssä, jolloin saadaan otsikkoyhdiste: t_{Ret}(II) = 18,0 min; FAB-MS $(M+H)^+$ = 752.

Lähtöaine valmistetaan seuraavalla tavalla:

89a) 5(S)-[1(S)-(Boc-amino)-2-(p-bentsyylioksifenyyli)-etyyli]-3(R)-[(4-bifenylyyli)-metyyli]dibydrofuran-2-(3H)-oni

Analogisesti esimerkille 5d), 5,55 g (13,5 mmol) 5(S)-[1(S)-(Boc-amino)-2-(p-bentsyylioksifenyyli)etyyli]dihydrofuran-2-(3H)-onia [valmistus, katso esimerkkiä 1g)] liuotettuna 20 ml:aan THF:ää ja 2,3 ml:aan DMPU:ta deprotonoidaan -70 °C:ssa 27 ml:lla 1 M litiumbis(trimetyylisilyyli)amidiliuosta THF:ssä, ja alkyloidaan (1 tunnin ajan) 5,0 g:lla (20,2 mmol) 4-bifenylyylimetyylibromidia (Salor, Milwaukee, USA) 16 ml:ssa THF:ää. Protonoidaan -75 °C:ssa 5 ml:lla (67,4 mmol) propionihappoa ja 5 ml:lla vettä, uutetaan ja kromatografoidaan keskinkertaisen paineen kromatografialla (gradientti: 30 - 50 % etyyliasetaattia tolueenissa), jolloin saadaan otsikkoyhdiste: TLC R_f(Q) = 0,15; t_{Ret}(II) = 20,0 min.

89b) 5(S)-(Boc-amino)-4(S)-hydroksi-6-(p-bentsyylioksifenyyli)-2(R)-[(4-bifenylyylimetyyli]heksaanihappo

4,56 g (7,9 mmol) 5(S)-[1(S)-(Boc-amino)-2-(p-bentsyylioksifenyyli)etyyli]-3(R)-[(4-bifenylyyli)metyyli]dihydrofuran-2-(3H)-onia hydrolysoidaan 80 ml:ssa dimetoksietaania, 31,6 ml:n kanssa 1 M litiumhydroksidin vesiliuosta vedessä. 18 tunnin kulutua huoneenlämpötilassa dimetoksietaani haihdutetaan pois kiertohaihduttimella, ja jäännös käsitellään jääkylmällä seoksella, jossa on 43 ml kylläistä NH_4Cl-liuosta, 229 ml 10-%:ista sitruunahappoliuosta ja metyleenikloridi. Vesifaasi erotetaan pois ja uutetaan kahdesti metyleenikloridilla. Orgaaniset faasit pestään suolaliuoksella, kuivataan Na_2SO_4:llä ja haihdutetaan. Ki-

teytetään DIPE:stä, jolloin saadaan otsikkoyhdiste: t_{Ret}(II) = 17,9 min.

89c) 5(S)-(Boc-amino)-4(S)-(tert-butyylidimetyylisilyy-lioksi)-6-(p-bentsyylioksifenyyli)-2(R)-[(4-bifenylyy-li)metyyli]heksaanihappo

3,19 g (5,4 mmol) 5(S)-(Boc-amino)-4(S)-hydroksi-6-(p-bentsyylioksifenyyli)-2(R)-[(4-bifenylyyli)metyyli]heksaanihappoa 55 ml:ssa DMF:ää silyloidaan huoneenlämpötilassa 20 tunnin ajan ja suojakaasun alla 3,71 g:lla (24,6 mmol) tert-butyylidimetyyliklоorisilaania ja 3,0 g:lla (44 mmol) imidatsolia. Reaktioseos haihdutetaan, ja jäännös otetaan etyyliasetaattiin; sitten tämä liuos pestään kylläisellä $NaHCO_3$-liuoksella, vedellä ja suolaliuoksella. Vesifaasit uutetaan 2x etyyliasetaatilla ja orgaaniset faasit kuivataan Na_2SO_4:llä ja haihdutetaan. Jäännös liuotetaan 64 ml:aan metanolia ja 15 ml:aan THF:ää, ja tämä liuos käsitellään 4,5 g:lla kaliumkarbonaattia ja 15 ml:lla vettä, ja sekoitetaan 1 tunnin ajan huoneenlämpötilassa. Käsitellään analogisesti esimerkille 88c), ja kromatografoidaan keskinkertaisen paineen kromatografialla (gradientti: 0 - 10 % metanolia metyleenikloridissa), jolloin saadaan otsikkoyhdiste: TLC R_f(B) = 0,7; t_{Ret}(II) = 22,7 min.

89d) 5(S)-(Boc-amino)-4(S)-(tert-butyylidimetyylisilyy-lioksi)-6-(p-bentsyylioksifenyyli)-2(R)-[(4-bifenylyy-li)metyyli]heksanoyyli-(L)-Val-N-(2-metoksietyyli)amidi

1000 mg (1,44 mmol) 5(S)-(Boc-amino)-4(S)-(tert-butyylidimetyylisilyylioksi)-6-(p-bentsyylioksifenyyli)-2(R)-[(4-bifenylyyli)metyyli]heksaanihappoa 13,8 ml:ssa 0,25 M NMM/CH_3CN:ää aktivoidaan N_2-ilmakehässä 601 mg:lla (1,58 mmol) HBTU:ta. 5 min kuluttua lisätään määrä 276 mg (1,58 mmol) H-(L)-Val-N-(2-metoksietyyli)amidia (Esimerkki 1b), ja seosta sekoitetaan perusteellisesti huoneenlämpötilassa 20 tunnin ajan. Käsitellään analogisesti esimerkille 1c), ja kromatografoidaan keskinkertaisen paineen kromatografialla (gradientti: 40 - 60 % etyyliasetaattia heksaani),

jolloin saadaan otsikkoyhdiste: TLC R_f(C) = 0,33; t_{Ret}(II) = 23,5 min.

Esimerkki 90: 5(S)-(Boc-amino)-4(S)-hydroksi-6-(p-hydroksifenyyli)-2(R)-[(4-bifenylyyli)metyyli]heksanoyyli-(L)-Val-N-(2-metoksietyyli)amidi

200 mg (0,265 mmol) 5(S)-(Boc-amino)-4(S)-hydroksi-6-(p-bentsyylioksifenyyli)-2(R)-[(4-bifenylyyli)metyyli]heksanoyyli-(L)-Val-N-(2-metoksi-etyyli)amidia (Esimerkki 89) 20 ml:ssa metanoli/metyleenikloridia, 1:1, hydrogenoidaan kun läsnä on 0,1 g 10-%:ista Pd/C:tä, katalysaattori suodatetaan pois ja haihdutetaan, jolloin saadaan otsikkoyhdiste: t_{Ret}(II) = 14,5 min; FAB-MS $(M+H)^+$ = 662.

Esimerkki 91: 5(S)-(Boc-amino)-4(S)-hydroksi-6-(p-metoksifenyyli)-2(R)-[(4-bifenylyyli)metyyli]heksanoyyli-(L)-Val-N-(2-metoksietyyli)amidi

Liuosta, jossa on 173 mg (0,26 mmol) 5(S)-(Boc-amino)-4(S)-hydroksi-6-(p-hydroksifenyyli)-2(R)-[(4-bifenylyyli)metyyli]heksanoyyli-(L)-Val-N-(2-metoksietyyli)amidia (Esimerkki 90) 5 ml:ssa DMF/dioksaania, 1:1, käsitellään N_2-ilmakehässä ja jäällä jäähdyttäen 170 mg:lla (0,52 mmol) Cs_2CO_3:a ja 16 µl:lla (0,26 mmol) metyylijodidia. Kun seosta on sekoitettu huoneenlämpötilassa 20 tunnin ajan, lisätään 4,5 ml jäävettä, ja lopuksi seos laimennetaan vedellä ja metyleenikloridilla. Vesifaasi erotetaan pois ja uutetaan kahdesti metyleenikloridilla. Orgaaniset faasit pestään vedellä ja suolaliuoksella, kuivataan Na_2SO_4:llä ja haihdutetaan. Jäännös sekoitetaan heksaaniin, jolloin saadaan otsikkoyhdiste: t_{Ret}(II) = 16,2 min; FAB-MS $(M+H)^+$ = 676.

Esimerkki 92: 5(S)-(Boc-amino)-4(S)-hydroksi-6-(p-bentsyylioksifenyyli)-2(R)-[({21'-syaanibifenyyli}-4-yyli)metyyli]heksanoyyli-(L)-Val-N-(2-metoksietyyli)amidi

2,11 g (2,36 mmol) 5(S)-(Boc-amino)-4(S)-(tert-butyylidimetyylisilyylioksi)-6-(p-bentsyylioksifenyyli)-2(R)-[({2'-syaanibifenyyli}-4-yyli)-metyyli]heksanoyyli-(L)-Val-

N-(2-metoksietyyli)amidia 49 ml:ssa DMF:ää N_2-ilmakehässä desilyloidaan 1,49 g:lla (4,7 mmol) TBAF:ää, ja käsitellään 20 tunnin kuluttua analogisesti esimerkille 88). Sekoitetaan heksaaniin, jolloin saadaan otsikkoyhdiste: t_{Ret}(II) = 17,4 min; FAB-MS $(M+H)^+$ = 777.

Lähtöaine valmistetaan seuraavalla tavalla:

92a) 5(S)-[1(S)-(Boc-amino)-2-(p-bentsyylioksifenyyli)etyyli]-3(R)-[({2'-syaanibifenyyli}-4-yyli)metyyli]dihydrofuran-2-(3H)-oni

Analogisesti esimerkille 5d), 5,00 g (12,1 mmol) 5(S)-[1(S)-(Boc-amino)-2-(p-bentsyylioksifenyyli)etyyli]dihydrofuran-2-(3H)-onia [valmistus, katso esimerkkiä 1g)] liuotettuna 22 ml:aan THF:ää ja 2,4 ml:aan DMPU:ta deprotonoidaan -70 °C:ssa 23,5 ml:lla 1 M litiumbis(trimetyylisilyyli)amidiliuosta THF:ssä, ja alkyloidaan (2 tuntia) 3,43 g:lla (12,1 mmol) 4-(bromimetyyli)-2'-syaanibifenyyliä [96 %; katso valmistusta varten esimerkiksi: J. Med. Chem. 34, 2525 (1991)]. Protonoidaan 4,5 ml:lla propionihappoa ja 4,5 ml:lla vettä, -75 °C:ssa, uutetaan, kromatografoidaan pylväässä (silikageeli, heksaani/etyyliasetaatti, 2:1) ja uudelleenkiteytetään kuumasta etyyliasetaatti/heksaanista, jolloin saadaan otsikkoyhdiste: TLC R_f(D) = 0,3; t_{Ret}(II) = 19,0 min; FAB-MS $(M+H)^+$ = 603.

92b) 5(S)-(Boc-amino)-4(S)-hydroksi-6-(p-bentsyylioksipheny1)-2(R)-[({2 syaani-bifenyyli}-4-yyli)metyyli]heksaanihappo (litiumsuola)

4,59 g (7,6 mmol) 5(S)-[1(S)-(Boc-amino)-2-(p-bentsyylioksifenyyli)etyyli]-3(R)-[({2'-syaanibifenyyli}-4-yyli)metyyli]dihydrofuran-2-(3H)-onia 120 ml:ssa dimetoksietaania ja 61 ml:ssa vettä sekoitetaan yhdessä 30 ml:n kanssa 1 M litiumhydroksidiliuosta vedessä, jolloin muodostuu valkoista suspensiota. 16 tunnin kuluttua huoneenlämpötilassa kiteet suodatetaan pois imupullolla ja pestään dimetoksietaanilla (→ otsikkoyhdisteen litiumsuola):

Alkuaineanalyysi laskettu $C_{38}H_{39}N_2O_6Li$ x $2H_2O$:lle: C 68,87 %, H

6,54 %, N 4,23 %, H_2O 5,44; saatu: C 68,4 %, H 6,5 %, N 4,2 %, H_2O 5,23; t_{Ret}(II) = 17,2 min; FAB-MS $(M+H)^+$ = 627. Emäliuos haihdutetaan osaksi ja jäännös käsitellään jääkylmällä seoksella, jossa on 340 ml kylläistä NH_4Cl-liuosta, 30 ml 10-%:ista sitruunahappoliuosta ja metyleenikloridia. Vesifaasi erotetaan pois ja uutetaan kahdesti metyleenikloridilla. Orgaaniset faasit pestään suolaliuoksella, kuivataan Na_2SO_4:llä ja haihdutetaan, jolloin saadaan otsikkoyhdiste vapaana happona.

92c) <u>5(S)-(Boc-amino)-4(S)-(tert-butyylidimetyylisilyylioksi)-6-(p-bentsyylioksifenyyli)-2(R)-[({2'-syaanibifenyyli]-4-yyli)metyyli]heksaanihappo</u>

4,7 g (7,5 mmol) 5(S)-(Boc-amino)-4(S)-hydroksi-6-(p-bentsyylioksifenyyli)-2(R)-[((2'-syaanibifenyyli]-4-yyli)metyyli]heksaanihappoa (litiumsuolaa) 8,1 ml:ssa DMF:ää sekoitetaan huoneenlämpötilassa 20 tunnin ajan yhdessä 5,2 g:n (34,6 mmol) kanssa tert-butyylidimetyylikloorisilaania ja 4,18 g:n (61,4 mmol) kanssa imidatsolia kosteuden pois sulkien. Koska HPLC ilmaisee, että lähtöainetta on yhä jäljellä, lisätään vielä 1,02 g imidatsolia ja 1,13 g tert-butyylidimetyylikloorisilaania. 2 päivän kuluttua reaktioseos kaadetaan jääveteen, ja kokonaisuus uutetaan 3x etyyliasetaatilla. Orgaaniset faasit pestään 10-%:isella sitruunahappoliuoksella, vedellä ja suolaliuoksella, kuivataan Na_2SO_4:llä ja haihdutetaan. Jäännös otetaan 91 ml:aan metanolia ja 34 ml:aan THF:ää, ja tämä liuos käsitellään 6,2 g:lla kaliumkarbonaattia ja 34 ml:lla vettä, ja sekoitetaan huoneenlämpötilassa 1,5 tunnin ajan. Seuraavaksi reaktioseos haihdutetaan osaksi, ja jäännös laimennetaan jääkylmällä 10-%:isella sitruunahappoliuoksella, ja kokonaisuus uutetaan 3x etyyliasetaatilla. Orgaaniset faasit pestään 2 erällä vettä ja suolaliuoksella, kuivataan Na_2SO_4:llä ja haihdutetaan. Kromatografoidaan pylväällä (silikageeli, heksaani/etyyliasetaatti, 1:1), jolloin saadaan otsikkoyhdiste: TLC R_f(C) = 0,21; t_{Ret}(II) = 22,0 min.

92d) 5(S)-(Boc-amino)-4(S)-(tert-butyylidimetyylisilyy-lioksi)-6-(p-bentsyylioksifenyyli)-2(R)-[({2'-syaanibi-fenyyli}-4-yyli)metyyli]heksanoyyli-(L)-Val-N-(2-metoksi-etyyli)amidi

2,00 g (2,72 mmol) 5(S)-(Boc-amino)-4(S)-(tert-butyylidi-metyylisilyylioksi)-6-(p-bentsyylioksifenyyli)-2(R)-[({2'-syaanibifenyyli}-4-yyli)metyyli]heksaanihappoa, 652 mg (4,83 mmol) HOBT:tä, 1,54 g (8,05 mmol) EDC:tä ja 1,17 ml (8,37 mmol) trietyyliamiinia lisätään aluksi 24 ml:aan DMF:ää N_2-ilmakehässä. Tähän seokseen lisätään 674 mg (3,87 mmol) H-(L)-Val-N-(2-metoksietyyli)amidia (Esimerkki 1b), ja kokonaisuutta sekoitetaan perusteellisesti huoneenlämpötilassa yön yli. Reaktioseos haihdutetaan suurtyhjössä. Jäännös jaetaan kolmen metyleenikloridierän, 10-%:isen sitruunahappoliuoksen, kylläisen $NaHCO_3$-liuoksen ja suolaliuoksen välillä. Orgaaniset faasit kuivataan Na_2SO_4:llä, haihdutetaan, ja jäännös uudelleenkiteytetään kuumasta etyyliasetaatti/heksaanista, jolloin saadaan otsikkoyhdiste: t_{Ret}(II) = 22,7 min; FAB-MS $(M+H)^+$ = 891.

Esimerkki 93: 5(S)-(Boc-amino)-4(S)-hydroksi-6-(p-hydroksifenyyli)-2(R)- [({2'-syaanibipheny]}-4-yyli)metyyli]heksanoyyli-(L)-Val-N-(2-metoksietyyli)amidi

1,20 g (1,54 mmol) 5(S)-(Boc-amino)-4(S)-hydroksi-6-(p-bentsyylioksi-fenyyli)-2(R)-[({2'-syaanibifenyyli}-4-yyli)metyyli]heksanoyyli-(L)-Val-N-(2-metoksi- etyyli)amidia (esimerkki 92) hydratoidaan 40 ml:ssa metanolia ja 15 ml:ssa THF:ää, kun läsnä on 0,24 g 10-%:ista Pd/C:tä, katalysaattori suodatetaan pois, haihdutetaan, ja saostetaan DIPE:llä konsentroidusta metanoliliuoksesta, jolloin saadaan otsikkoyhdiste: t_{Ret}(II) = 13,7 min; FAB-MS $(M+H)^+$ = 687.

Esimerkki 94: 5(S)-(Boc-amino)-4(S)-hydroksi-6-(p-metoksi-fenyyli)-2(R)-[({2'-syaani-bifenyyli}-4-yyli)metyyli]heksanoyyli-(L)-Val-N-(2-metoksietyyli)amidi

Liuosta, jossa on 100 mg (0,145 mmol) 5(S)-(Boc-amino)-

4(S)-hydroksi-6-(p-hydroksi-fenyyli)-2(R)-[((2'-syaanibifenyyli}-4-yyli)metyyli]heksanoyyli-(L)-Val-N-(2-metoksietyyli)amidia (Esimerkki 93) 3 ml:ssa DMF/dioksaania, 1:1 käsitellään N_2-ilmakehässä ja jäällä jäähdyttäen 94,6 mg:lla (0,29 mmol) Cs_2CO_3:a ja 9 µl:lla (0,145 mmol) metyylijodidia. Kun seosta on sekoitettu huoneenlämpötilassa 20 tunnin ajan, HPLC ilmaisee, että läsnä on edelleen lähtöainetta; sen vuoksi lisätään vielä kerran samat määrät Cs_2CO_3:a ja metyylijodidia, ja seosta sekoitetaan vielä yön yli. Reaktioseokseen lisätään 2,5 ml jäävettä, ja suspensio laimennetaan vedellä ja metyleenikloridilla. Vesifaasi erotetaan pois ja uutetaan kahdesti metyleenikloridilla. Orgaaniset faasit pestään vedellä ja suolaliuoksella, kuivataan Na_2SO_4:llä ja haihdutetaan. Kromatografoidaan pylväällä (silikageeli, metyleenikloridi/THF 15:1 → 4:1) ja jäännös sekoitetaan heksaaniin, jolloin saadaan otsikkoyhdiste: TLC $R_f(R) = 0,1$; $t_{Ret}(II) = 15,5$ min; FAB-MS $(M+H)^+ = 701$.

Esimerkki 95: <u>5(S)-(Boc-amino)-4(S)-hydroksi-6-fenyyli-2(R)-[(2,3,4-trimetoksifenyyli)metyyli]heksanoyyli-(L)-Val-N-(2-etoksietyyli)amidi</u>

1120 mg (1,42 mmol) 5(S)-(Boc-amino)-4(S)-(tert-butyylidimetyylisilyylioksi)-6-fenyyli-2(R)-[(2,3,4-trimetoksifenyyli)metyyli]heksanoyyli-(L)-Val-N-(2-etoksi-etyyli)amidia 14 ml:ssa absoluuttista DMF:ää käsitellään 920 mg:lla (2,84 mmol) TBAF:ää, ja reaktioseosta sekoitetaan huoneenlämpötilassa 21 tunnin ajan argonissa. Sitten se kaadetaan kylmään suolaliuokseen, ja kiintoaine suodatetaan. Tämä kiinteä aine liuotetaan etyyliasetaattiin, ja liuos pestään peräkkäin vedellä, kylläisellä natriumbikarbonaattiliuoksella ja suolaliuoksella. Yhdistetyt vesifaasit uutetaan uudelleen etyyliasetaatilla. Yhdistetyt orgaaniset faasit kuivataan natriumsulfaatilla ja konsentroidaan noin 30 °C:ssa. Jäännös käsitellään di-isopropyylieetterillä ja suodatetaan pois. Suodattamisen jälkeen otsikkoyhdiste pestään heksaanilla ja kuivataan seuraavaksi alennetussa paineessa. sp.: 117 °C. TLC $R_f(A) = 0,28$. FAB-MS $(M+H)^+ =$

674. HPLC t_{Ret} = 15,19 min (gradientti II); IR (metyleenikloridi) = mm. 3431, 2967, 1680, 1494, 1467, 1367, 1275 ja 1166 cm^{-1}; ^{1}H-NMR (CD_3OD) = mm. 7,30 - 7,10/m (5H); 6,78 ja 6,61/kumpikin d (kumpikin 1H); 4,03/d (1H); 3,85, 3,81 ja 3,80/kukin s (kukin 3H); 3,46/q (2H), 1,32 ja 1,26/kumpikin s (yhteensä 9H Boc:stä), 1,15/t (3H); 0,82/pseudo t (6H).

Lähtöaine valmistetaan seuraavalla tavalla:

95a) 5(S)-(Boc-amino)-4(S)-(tert-butyylidimetyylisilyylioksi)-6-fenyyli-2(R)-[(2,3,4-trimetoksifenyyli]metyyli)heksanoyyli-(L)-Val-N-(2-etoksietyyli)amidi

Analogisesti esimerkille 1c), 1,27 g (2,05 mmol) 5(S)-(Boc-amino)-4(S)-(tert-butyyli-dimetyylisilyylioksi)-6-fenyyli-2(R)-[(2,3,4-trimetoksifenyyli)metyyli]heksaanihappoa (Esimerkki 47e)) ja 460 mg H-(L)-Val-N-(2-etoksietyyli)-amidia 19,2 ml:ssa 0,25 M NMM/CH_3CN:ää saatetaan reagoimaan 860 mg:n kanssa HBTU:ta, reaktioajan 20 tuntia, jolloin muodostuu otsikkoyhdistettä. Viimeksi mainittu liuotetaan etyyliasetaattiin, ja tämä liuos pestään peräkkäin 10-%:isella kylmällä sitruunahapolla, vedellä, kylläisellä natriumbikarbonaattiliuoksella ja suolaliuoksella (2x). Kun orgaaninen faasi on kuivattu natriumsulfaatilla, se suodatetaan ja konsentroidaan alennetussa paineessa. Otsikkoyhdiste puhdistetaan keskinkertaisen paineen kromatografialla [800 kPa (8 bar), metyleenikloridi/metanoli]. TLC R_f(A) = 0,5; FAB-MS $(M+H)^+$ = 788; IR (metyleenikloridi) = mm. 3436, 2932, 1666, 1602, 1495, 1467, 1367, 1249 ja 1164 cm^{-1}.

95b) H-(L)-Val-N-(2-etoksietyyli)amidi

Analogisesti esimerkille 1b), 6,12 g (19,59 mmol) Z-(L)-Val-N-(2-etoksietyyli)amidia 120 ml:ssa metanolia hydrogenoidaan huoneenlämpötilassa alhaisessa paineessa ja kun läsnä on 0,61 g 10-%:ista Pd/C:tä, katalysaattori suodatetaan pois ja suodos haihdutetaan, jolloin puhdas otsikkoyhdiste saadaan öljynä: ^{1}H-NMR (200 MHz, $CDCl_3$): 0,80 ja 0,95 (2d, 6H), 1,2 (t, 3H), 1,35 (b, 2H), 2,25 (m, 1H), 3,2 (d, 1H), 3,45 (t, 2H), 3,47 (m, 4H), 7,5 (b, 1H).

95c) Z-(L)-Val-N-(2-etoksietyyli)amidi

5,025 g (20 mmol) Z-(L)-valiinia liuotetaan 20 ml:aan metyleenikloridia, ja tämä liuos käsitellään -10 - -15 °C:ssa 2,68 ml:lla (20,4 mmol) isobutyylikloorifor miaattia (Fluka, Buchs, Sveitsi) ja 22,2 ml:lla (20 mmol) NMM:ää. Kun seosta on sekoitettu 15 min ajan, lisätään suojakaasun alla 2,064 g (23,2 mmol) 2-etoksietyyliamiinia (Pfaltz & Bauer, Waterbury, USA). Beigenvärinen suspensio lämmitetään huoneenlämpötilaan ja käsitellään 100 ml:lla etyyliasetaattia ja 40 ml:lla vettä. Orgaaninen faasi erotetaan pois ja pestään 40 ml:lla 1 N natriumhydroksidiliuosta ja suolaliuoksella (3x). Liuos kuivataan natriumsulfaatilla, ja haihdutetaan seuraavaksi suurtyhjössä. Jäännös käsitellään heksaanilla ja suodatetaan pois imupullolla. Näin saatu otsikkoyhdiste saatetaan reagoimaan edelleen enempää puhdistamatta. TLC R_f(A) = 0,4; ^{1}H-NMR (200 MHz, $CDCl_3$): 0,95 (2d, 6H), 1,2 (t, 3H), 2,1 (m, 1H), 3,4 - 3,55 (m, 6H), 3,97 (dd, 1H), 5,2 (s, 2H), 5,4 (b, 1H), 6,2 (b, 1H), 7,35 (s, 5H).

Esimerkki 96: 5(S)-(Boc-amino)-4(S)-hydroksi-6-fenyyli-2(R)-[(2,3,4-trimetoksifenyyli)metyyli]heksanoyyli-(L)-Val-N-(3-metoksipropyyli)amidi

1,19 g (1,51 mmol) 5(S)-(Boc-amino)-4(S)-(tert-butyylidimetyylisilyylioksi-6-fenyyli-2(R)-[(2,3,4-trimetoksifenyyli)metyyli]-heksanoyyli-(L)-Val-N-(3-metoksipropyyli)amidia 14,5 ml:ssa absoluuttista DMF:ää käsitellään 980 mg:lla (3,02 mmol) TBAF:ää, ja reaktioseosta sekoitetaan huoneenlämpötilassa 22 tunnin ajan argonissa. Sitten se kaadetaan kylmään suolaliuokseen, ja kiinteä aine suodatetaan pois. Tämä kiinteä aine liuotetaan etyyliasetaattiin, ja liuos pestään peräkkäin vedellä, kylläisellä natriumbikarbonaattiliuoksella ja suolaliuoksella. Yhdistetyt vesifaasit uutetaan uudelleen etyyliasetaatilla. Yhdistetyt orgaaniset faasit kuivataan natriumsulfaatilla ja konsentroidaan noin 30 °C:ssa. Jäännös käsitellään di-isopropyylieetterillä ja suodatetaan pois. Otsikkoyhdiste suodatetaan pois ja kuivataan alennetussa paineessa. sp.: 131 - 132 °C; TLC R_f(A) =

0,23; FAB-MS $(M+H)^+$ = 674. HPLC t_{Ret} = 14,88 min (gradientti II). IR (metyleenikloridi) = mm. 3430, 2966, 1665, 1494, 1467, 1367, 1275 ja 1167 cm^{-1}; ^1H-NMR (CD_3OD) = mm. 7,30-7,20/m (5H); 6,78 ja 6,61/kumpikin d (kumpikin 1H); 4,03/d (1H); 3,85, 3,81 ja 3,80/kukin s (kukin 3H); 3,7 (m, 1H), 3,53 (m, 1H), 3,39 (t, 2H), 3,29 (s, 3H), 1,32 ja 1,26/-kumpikin s (yhteensä 9H Boc:stä), 0,85/pseudo t (6H).

Lähtöaine valmistetaan seuraavalla tavalla:

96a) 5(S)-(Boc-amino)-4(S)-(tert-butyylidimetyylisilyy-lioksi)-6-fenyyli-2(R)-[(2,3,4-tri-metoksifenyyli)metyy-li]heksanoyyli-(L)-Val-N-(3-metoksipropyyli)amidi

Analogisesti esimerkille 1c), 2,47 g (4 mmol) 5(S)-(Boc-amino)-4(S)-(tert-butyyli-dimetyylisilyylioksi)-6-fenyyli-2(R)-[(2,3,4-trimetoksifenyyli)metyyli]heksaanihappoa (Esimerkki 47e)) ja 830 mg (4,4 mmol) H-(L)-Val-N-(3-metoksipropyyli)amidia 37,6 ml:ssa 0,25 M NMM/CH_3CN:ää saatetaan reagoimaan 1,67 g:n kanssa HBTU:ta reaktioajan 22 tuntia, jolloin muodostuu otsikkoyhdistettä. Tämä liuotetaan etyyliasetaattiin, ja tämä liuos pestään peräkkäin 10-%:isella kylmällä sitruunahapolla, vedellä, kylläisellä natriumbikarbonaattiliuoksella ja suolaliuoksella (2x). Orgaaninen faasi kuivataan natriumsulfaatilla, suodatetaan, ja konsentroidaan alennetussa paineessa. Otsikkoyhdiste puhdistetaan keskinkertaisen paineen pylväskromatografialla [800 kPa (8 bar), metyleenikloridi/metanoli]. TLC R_f(A) = 0,35; FAB-MS $(M+H)^+$ = 788; IR (metyleenikloridi) = mm. 3436, 2932, 1665, 1602, 1494, 1468, 1390, 1367, 1250 ja 1165 cm^{-1}.

96b) H-(L)-Val-N-(3-metoksipropyyli)amidi

Analogisesti esimerkille 1b), 22,26 g (69,044 mmol) Z-(L)-Val-N-(3-metoksipropyyli)amidia 463,3 ml:ssa metanolia hydrogenoidaan huoneenlämpötilassa alhaisessa paineessa ja kun läsnä on 2,226 g 10-%:ista Pd/C:tä, katalysaattori suodatetaan pois ja suodos haihdutetaan, jolloin puhdas otsikkoyhdiste saadaan öljynä: FAB-MS $(M+H)^+$ = 189; ^1H-NMR

(360 MHz, DMSO-d_6): 0,76 ja 0,87 (2d, 6H), 1,6 (b, 2H), 1,63 (m, 2H), 1,84 (m, 1H), 2,9 (m, 1H), 3,1 (m, 2H), 3,22 (s, 3H), 3,31 (m, 2H), 7,82 (b, 1H).

96c) Z-(L)-Val-N-(3-metoksipropyyli)amidi

Analogisesti esimerkille 1a), 20 g (79,6 mmol) Z-(L)-valiinia 250 ml:ssa CH_3CN:ää ja 20,5 ml:ssa 95-%:ista NMM:ää (175,1 mmol) käsitellään 9 ml:lla (87,55 mmol) 3-metoksipropylamiinia (Fluka, Buchs, Sveitsi). Paksuun suspensioon lisätään 33,2 g (87,55 mmol) HBTU:ta, ja kokonaisuutta sekoitetaan perusteellisesti huoneenlämpötilassa 22 tunnin ajan. Reaktioseos haihdutetaan suurtyhjössä, ja jäännös otetaan etyyliasetaattiin, tämä liuos uutetaan vedellä, 2x 10-%:isella sitruunahappoliuoksella, vedellä, 2x kylläisellä $NaHCO_3$-liuoksella ja suolaliuoksella. Vesifaasit uutetaan vielä 2x etyyliasetaatilla, ja orgaaniset faasit kuivataan Na_2SO_4:llä ja haihdutetaan. Kiteytetään etyyliasetaatti/heksaanista, jolloin saadaan otsikkoyhdiste: TLC R_f(G) = 0,41; t_{Ret}(II)= 11,86 min; FAB-MS $(M+H)^+$ = 323.

Esimerkki 97: 5(S)-(Boc-amino)-4(S)-hydroksi-6-fenyyli-2(R)-[(2,3,4-trimetoksifenyyli)metyyli]heksanoyyli-(L)-Val-N-(3-etoksipropyyli)amidi

0,97 g (1,57 mmol) 5(S)-(Boc-amino)-4(S)-(tert-butyylidimetyylisilyylioksi)-6-fenyyli-2(R)-[(2,3,4-trimetoksifenyyli)metyyli]heksanoyyli-(L)-Val-N-(3-etoksipropyyli)amidia 11 ml:ssa absoluuttista DMF:ää käsitellään 814 mg:lla TBAF:ää, ja reaktioseosta sekoitetaan huoneenlämpötilassa 18 tunnin ajan argonissa. Sitten se liuotetaan etyyliasetaattiin, ja tämä liuos pestään peräkkäin vedellä kylläisellä natriumbikarbonaattiliuoksella ja suolaliuoksella. Yhdistetyt vesifaasit uutetaan uudelleen etyyliasetaatilla. Yhdistetyt orgaaniset faasit kuivataan natriumsulfaatilla ja konsentroidaan noin 30 °C:ssa. Jäännös puhdistetaan pylväskromatografialla (silikageeli, C). TLC R_f(A) = 0,44; FAB-MS $(M+H)^+$ = 688; HPLC t_{Ret} = 15,43 min (gradientti II); ^{1}H-NMR (CD_3OD) = mm. 7,30-7,10/m (5H); 6,78 ja 6,61/kumpikin

d (kumpikin 1H); 4,0 (d, 1H); 3,85, 3,81 ja 3,80/kukin s (kukin 3H); 3,7 (m, 1H), 3,53 (m, 1H), 3,45 (q, 2H) ja (m, 2H), 3,17 (m, 2H), 2,85-2,7 (2m, 5H), 1,93 - 1,6 (m, 5H), 1,32 ja 1,26/kumpikin s (yhteensä 9H Boc:stä), 0,85/pseudo-t (6H).

Lähtöaine valmistetaan seuraavalla tavalla:

97a) 5(S)-(Boc-amino)-4(S)-(tert-butyylidimetyylisilyy-lioksi)-6-fenyyli-2(R)-[(2,3,4-trimetoksifenyyli)metyy-li]heksanoyyli-(L)-Val-N-(3-etoksipropyyli)amidi

Analogisesti esimerkille 1c), 1,235 g (2 mmol) 5(S)-(Boc-amino)-4(S)-(tert-butyylidimetyylisilyylioksi)-6-fenyyli-2(R)-[(2,3,4-trimetoksifenyyli)metyyli]heksaanihappoa (Esimerkki 47e)) ja 445 mg (2,2 mmol) H-(L)-Val-N-(3-etoksipropyyli)amidia 18,8 ml:ssa 0,25 M NMM/CH_3CN:ää saatetaan reagoimaan 0,835 g:n kanssa HBTU:ta reaktioajan 22 tuntia, jolloin muodostuu otsikkoyhdistettä. Suspensio konsentroidaan, liuotetaan etyyliasetaattiin, ja tämä liuos pestään peräkkäin 10-%:isella kylmällä sitruunahapolla, vedellä, kylläisellä natriumbikarbonaattiliuoksella ja suolaliuoksella (2x). Orgaaninen faasi kuivataan natriumsulfaatilla, suodatetaan ja konsentroidaan alennetussa paineessa. Otsikkoyhdiste puhdistetaan pylväskromatografialla (silikageeli, metyleenikloridi/metanoli: 99/1). TLC R_fC) = 0,32; t_{Ret}(II) = 22,58 min; FAB-MS $(M+H)^+$ = 802.

97b) H-(L)-Val-N-(3-etoksipropyyli)amidi

Analogisesti esimerkille 1b), 6,2 g (18,4 mmol) Z-(L)-Val-N-(3-etoksipropyyli)amidia 120 ml:ssa metanolia hydrogenoidaan huoneenlämpötilassa alhaisessa paineessa ja kun läsnä on 0,62 g 10-%:ista Pd/C:tä, katalysaattori suodatetaan pois ja suodos haihdutetaan, jolloin saadaan puhdas otsikkoyhdiste öljynä: ^{1}H-NMR (200 MHz, $CDCl_3$): 0,8 ja 0,97 (2d, 6H), 1,2 (t, 3H), 1,3 (b, 2H), 1,8 (m, 2H), 2,25 (m, 1H), 3,2 (d, 1H), 3,38 (m, 2H), 3,45 (m, 4H), 7,55 (b, 1H).

97c) Z-(L)-Val-N-(3-etoksipropyyli)amidi

5,025 g (20 mmol) Z-(L)-valiinia liuotetaan 20 ml:aan metyleenikloridia, ja tämä liuos käsitellään 10 - 15 °C:ssa 2,68 m:lla (20,4 mmol) isobutyyliklooriformiaattia ja 2,2 ml:lla (20 mmol) NMM:ää. Kun seosta on sekoitettu 15 min ajan, lisätään suojakaasun alla 2,78 ml (23,2 mmol) 3-etoksipropylamiinia. Beigenvärinen suspensio lämmitetään huoneenlämpötilaan ja käsitellään 100 ml:lla etyyliasetaattia ja 40 ml:lla vettä. Orgaaninen faasi erotetaan, pestään 40 ml:lla 1 N natriumhydroksidiliuosta ja suolaliuoksella (3x). Liuos kuivataan natriumsulfaatilla ja haihdutetaan sitten suurtyhjössä. Jäännös käsitellään heksaanilla ja suodatetaan pois imupullolla. Täten saatu otsikkoyhdiste saatetaan reagoimaan edelleen enempää puhdistamatta. TLC R_f(C) = 0,35; ^{1}H-NMR (200 MHz, $CDCl_3$): 0,95 (2d, 6H), 1,2 (t, 3H), 1,75 (m, 2H), 2,1 (m, 1H), 3,3 - 3,55 (m, 7H), 3,93 (dd, 1H), 5,1 (s, 2H), 5,4 (b, 1H), 6,55 (b, 1H), 7,35 (s, 5H).

Esimerkki 98: <u>5(S)-(Boc-amino)-4(S)-hydroksi-6-fenyyli-2(R)-[(2,3,4-trimetoksifenyyli)metyyli]heksanoyyli-(L)-Val-N-(3-(n-propyylioksi)propyyli)amidi</u>

1,4 g (1,71 mmol) 5(S)-(Boc-amino)-4(S)-(tert-butyylidimetyylisilyylioksi)-6-fenyyli-2(R)-[(2,3,4-trimetoksifenyyli)metyyli]heksanoyyli-(L)-Val-N-(3-(n-propyylioksi)propyyli)amidia 16 ml:ssa absoluuttista DMF käsitellään 1,17 g:lla TBAF:ää, ja reaktioseosta sekoitetaan huoneenlämpötilassa 18 tunnin ajan argonissa. Sitten se kaadetaan suolaliuos/jäähän, ja liukenematon materiaali suodatetaan pois. Jäännös liuotetaan etyyliasetaattiin, ja tämä liuos pestään peräkkäin vedellä, kylläisellä natriumbikarbonaattiliuoksella ja suolaliuoksella. Yhdistetyt vesifaasit uutetaan uudelleen etyyliasetaatilla. Yhdistetyt orgaaniset faasit kuivataan natriumsulfaatilla ja konsentroidaan noin 30 °C:ssa. Jäännös kiteytetään di-isopropyylieetteristä, pienestä määrästä etyyliasetaattia ja heksaanista. TLC R_f(A) = 0,53; FAB-MS $(M+H)^+$ = 702; HPLC T_{Ret} = 16,31 min (gradientti II); ^{1}H-NMR (CD_3OD) = mm. 7,30 - 7,10/ (m, 5H); 6,78 ja

6,61/kumpikin d (kumpikin 1H); 4,0 (d, 1H); 3,85, 3,81 ja 3,80 (kukin s, kukin 3H); 3,7 (m, 1H), 3,54 (m, 1H), 3,43 (t, 2H) 3,37 (t, 2H), 3,15 (m, 2H), 2,9 - 2,63 (2m, 5H), 1,93 (m, 1H), 1,82 - 1,5 (m, 6H), 1,32 ja 1,26/kumpikin s (yhteensä 9H Boc:stä), 0,85/pseudo t (6H).

Lähtöaine valmistetaan seuraavalla tavalla:

98a) 5(S)-(Boc-amino)-4(S)-(tert-butyylidimetyylisilyyylioksi)-6-fenyyli-2(R)-[(2,3,4-trimetoksifenyyli)metyyli]heksanoyyli-(L)-Val-N-(3-(n-propyylioksi)-propyyli)amidi

Analogisesti esimerkille 1c), 1,235 g (2 mmol) 5(S)-(Boc-amino)-4(S)-(tert-butyylidimetyylisilyylioksi)-6-fenyyli-2(R)-[(2,3,4-trimetoksifenyyli)metyyli]heksaanihappoa (Esimerkki 47e)) ja 497 mg (2,3 mmol) H-(L)-Val-N-(3-(n-propyylioksi)propyyli)amidia 18,8 ml:ssa 0,25 M NMM/CH_3CN;ää saatetaan reagoimaan 0,835 g:n kanssa HBTU:ta reaktioajan 22 tuntia, jolloin muodostuu otsikkoyhdistettä. Suspensio konsentroidaan, liuotetaan kylmään etyyliasetaattiin, ja tämä liuos pestään peräkkäin 10-%:isella kylmällä sitruunahapolla, vedellä, kylläisellä natriumbikarbonaattiliuoksella ja suolaliuoksella (2x). Kun orgaaninen faasi on kuivattu natriumsulfaatilla, se suodatetaan ja konsentroidaan alennetussa paineessa. Otsikkoyhdiste puhdistetaan pylväskromatografialla (silikageeli, metyleenikloridi/metanoli: 99/1). TLC R_f(C) = 0,27; t_{Ret}(II) = 23,09 min; FAB-MS $(M+H)^+$ = 816.

98b) H-(L)-Val-N-(3-(n-propyylioksi)propyyli)amidi

Analogisesti esimerkille 1b), 6,3 g (17,48 mmol) Z-(L)-Val-N-(3-(n-propyylioksi)propyyli)amidia 120 ml:ssa metanolia hydrogenoidaan huoneenlämpötilassa alhaisessa paineessa ja kun läsnä on 0,63 g 10-%:ista Pd/C:tä, katalysaattori suodatetaan pois ja suodos haihdutetaan, jolloin puhdas otsikkoyhdiste saadaan öljynä: ^{1}H-NMR (200 MHz, $CDCl_3$): 0,8 (d, 3H), 0,9 ja 0,97 (2d, 6H), 1,25 (b, 2H), 1,4 (m, 2H), 1,78 (m, 2H), 2,25 (m, 1H), 3,2 (d, 1H), 3,38 (m, 4H), 3,5 (m, 2H), 7,5 (b, 1H).

98c) Z-(L)-Val-N-(3-(n-propyylioksi)propyyli)amidi

5,025 g (20 mmol) Z-(L)-valiinia liuotetaan 20 ml:aan metyleenikloridia, ja tämä liuos käsitellään -10 - -15 °C:ssa 2,68 ml:lla (20,4 mmol) isobutyyliklooriformiaattia ja 2,2 ml:lla (20 mmol) NMM:ää. Kun seosta on sekoitettu 15 min ajan, lisätään suojakaasun alla 2,72 ml (23,2 mmol) 3-(n-propyylioksi)propylamiinia (Tokyo Kasei Organic Chemicals, Tokio, Japani). Beigenvärinen suspensio lämmitetään huoneenlämpötilaan ja käsitellään 100 ml:lla etyyliasetaattia ja 40 ml:lla vettä. Orgaaninen faasi erotetaan pois, pestään 40 ml:lla 1 N natriumhydroksidiliuosta ja suolaliuoksella (3x). Liuos kuivataan natriumsulfaatilla ja haihdutetaan sitten suurtyhjössä. Jäännös käsitellään heksaanilla ja suodatetaan pois imupullolla. Täten saatu otsikkoyhdiste saatetaan reagoimaan edelleen enempää puhdistamatta. TLC R_f(C) = 0,6; ^{1}H-NMR (200 MHz, $CDCl_3$): 0,92 (m, 9H), 1,6 (m, 2H), 1,75 (m, 2H), 2,1 (m, 1H), 3,35 (m, 4H), 3,5 (m, 2H), 3,93 (dd, 1H), 5,1 (s, 2H), 5,4 (b, 1H), 6,5 (b, 1H), 7,35 (s, 5H).

Esimerkki 99: 5(S)-(3-hydroksi-2-metyylifenyylikarboksiamino)-4(S)-hydroksi-6-(p-metoksifenyyli)-2(R)-[({2'-syaanibifenyyli}-4-yyli)metyyli]heksanoyyli-(L)-Val-N-(2-metoksietyyli)amidi

Otsikkoyhdiste valmistetaan analogisesti jollekin edellä olevissa esimerkeissä kuvatuista menetelmistä.

Esimerkki 100: 5(S)-(Boc-amino)-4(S)-hydroksi-6-fenyyli-2(R)-[({2'-syaanibifenyyli}-4-yyli)metyyli]heksanoyyli-(L)-Val-N-(2-metoksietyyli)amidi

Otsikkoyhdiste valmistetaan analogisesti jollekin edellä olevissa esimerkeissä kuvatuista menetelmistä.

Esimerkki 101: 5(S)-(Boc-amino)-4(S)-hydroksi-6-sykloheksyyli-2(R)-[({2'-syaani-bifenyyli}-4-yyli)metyyli]heksanoyyli-(L)-Val-N-(2-metoksietyyli)amidi

Otsikkoyhdiste valmistetaan analogisesti jollekin edellä

olevissa esimerkeissä kuvatuista menetelmistä.

Esimerkki 102: 5(S)-(p-nitrobentseenisulfonyyliamino)-4(S)-hydroksi-6-fenyyli-2(R)-[(2,3,4-trimetoksifenyyli)metyyli]-heksanoyyli-(L)-Val-N-(2-metoksietyyli)amidi

1,00 g (1,67 mmol) 5(S)-amino-4(S)-hydroksi-6-fenyyli-2(R)-[(2,3,4-trimetoksifenyyli)metyyli]heksanoyyli-(L)-Val-N-(2-metoksietyyli)amidia (hydrokloridisuolaa) (Esimerkki 83a)) liuotetaan dikloorimetaaniin, ja orgaaninen faasi pestään kylläisellä natriumbikarbonaattiliuoksella, kuivataan natriumsulfaatilla ja konsentroidaan. Vapautunutta amiinia sekoitetaan 17 tunnin ajan 0 °C:ssa 25 ml:ssa pyridiiniä yhdessä 475 mg:n (1,25 ekvivalenttia) kanssa 4-nitrobentseenisulfonyylikloridia (Fluka, Buchs, Sveitsi). Kun on lisätty vielä 285 mg (0,75 ekvivalenttia) 4-nitrobentseenisulfonyylikloridia, seoksen annetaan reagoida huoneenlämpötilassa vielä 3 tunnion ajan. Reaktioseos konsentroidaan. Öljymäinen jäännös otetaan kylmään etyyliasetaattiin, ja tämä liuos pestään peräkkäin 10-%:isella sitruunahappoliuoksella, suolaliuoksella, kylläisellä natriumbikarbonaattiliuoksella ja suolaliuoksella. Kuivataan natriumsulfaatilla, ja liuotin poistetaan. Tulokseksi saatu kiteinen jäännös kiteytetään etyyliasetaatti/heksaanista, suodatetaan pois imupullolla, pestään heksaanilla ja kuivataan, jolloin saadaan otsikkoyhdiste: FAB-MS $(M+H)^+$ = 745; sp.: 195 - 198 °C; t_{Ret}(II) = 10,45 min.

Esimerkki 103: 5(S)-(p-aminobentseenisulfonyyliamino)-4(S)-hydroksi-6-fenyyli- 2(R)-[(2,3,4-trimetoksifenyylimetyyli]-heksanoyyli-(L)-Val-N-(2-metoksietyyli)amidi

200 mg (0,268 mmol) 5(S)-(p-nitrobentseenisulfonyyliamino)-4(S)-hydroksi-6-fenyyli-2(R)-[(2,3,4-trimetoksifenyyli)metyyli]heksanoyyli-(L)-Val-N-(2-metoksietyyli)amidia (Esimerkki 102) liuotetaan 6 ml:aan metanolia ja 1 ekvivalenttiin etikkahappoa. Lisätään 50 mg Raney-nikkeliä (etanolissa), ja seosta hydrogenoidaan huoneenlämpötilassa ja standardipaineessa. Kun hydrogenointi on edennyt loppuun,

reaktioliuos erotetaan ®Hyflo Super Cel:in läpi (piimaahan (kieselguhr) perustuva suodatusapuaine); Fluka, Buchs, Sveitsi). Liuos konsentroidaan. Tulokseksi saatu kiteinen tuote uudelleenkiteytetään metanoli/heksaanista. Jäännös suodatetaan ja pestään heksaanilla, jolloin saadaan otsikkoyhdiste: FAB-MS $(M+H)^+$ =715; sp.: 200 - 206 °C; t_{Ret}(II) = 9,14 min.

Esimerkki 104: 5(S)-[(o-metyyli-p-nitrobentseenisulfonyyli)amino]-4(S)-hydroksi-6-fenyyli-2(R)-[(2,3,4-trimetoksifenyyli)metyyli]heksanoyyli-(L)-Val-N-(2-metoksietyyli)amidi

Otsikkoyhdiste valmistetaan analogisesti jollekin edellä olevissa esimerkeissä kuvatuista menetelmistä.

Esimerkki 105: 5(S)-[(o-metyyli-p-aminobentseenisulfonyyli)amino]-4(S)-hydroksi-6-fenyyli-2(R)-[(2,3,4-trimetoksifenyyli)metyyli]heksanoyyli-(L)-Val-N-(2-metoksietyyli)amidi

Otsikkoyhdiste valmistetaan analogisesti jollekin edellä olevissa esimerkeissä kuvatuista menetelmistä.

Esimerkki 106: Kapselit (I)

Kiteistä 5(S)-(Boc-amino)-4(S)-hydroksi-6-fenyyli-2(R)-(2,3,4-trimetoksifenyylimetyyli)-heksanoyyli-(L)-Val-N-(2-metoksi-etyyli)amidia (aktiivinen aine) mikronisoidaan (partikkelikoko noin 1 - 100 µm) tavanomaisella veitsisekoittimella (esimerkiksi Turmix). Samoin ®Pluronic F 68:aa (blokkipolymeeriä, joka koostuu polyetyleenistä ja polypropyleeniglykolista; Wyandotte Chem. Corp., Michigan, USA; myös saatavissa yhtiöstä Emkalyx, Ranska; BASF tavaramerkki) mikronisoidaan tavanomaisella sekoittimella, ja hienojakoinen fraktio erotetaan seulomalla verkkoa (0,5-mm) käyttämällä, ja käytetään edelleen alla kuvatulla tavalla. 16,00 g seesamiöljyä lisätään aluksi astiaan, ja lisätään 1,20 g mikronisoitua aktiivista ainetta, 1,20 g ®Pluronic F 68:n hienojakoista fraktiota ja 1,20 g hydroksipropyylime-

tyyliselluloosaa (HP-M-603 yhtiöstä Shin-Etsu Chemicals Ltd., Tokio, Japani) sekoittaen sekoittimella (IKA-Werk, SLT), joka on yhdistetty hammastettuun sekoittimeen (cogged stirrer) (halkaisija: 46 mm) (sekoitusnopeus: 2000 r/min). Sekoitetaan 20 min ajan mainitulla nopeudella, jolloin muodostuu suspensiota, jolla on tahnamainen rakenne, ja jota käytetään kovakuoristen gelatiinikapselien (20 x 40 mm; R. P. Scherer AG, Eberbach, SLT) täyttämiseen.

Esimerkki 107: Kapselit (II):

Seuraavat ainesosat käsitellään seuraavasti 10 000 kapselin valmistamiseksi, jotka sisältävät 100 mg aktiivista yhdistettä (esimerkiksi 5(S)-(Boc-amino)-4(S)-hydroksi-6-fenyyli-2(R)-(2,3,4-trimetoksifenyylimetyyli)-heksanoyyli-(L)-Val-N-(2-metoksietyyli)amidia) kapselia kohden:

Aktiivinen yhdiste	1 000 g
®Pluronic F 68	1 000 g
Hydroksipropyylimetyyliselluloosa	1 000 g
Seesamiöljy	1 000 g

(ainesosien alkuperä: katso esimerkkiä 106)

Seesamiöljy lisätään aluksi kuumennettavassa astiassa (Fryma), ja Pluronic F 68 suihkutetaan sekaan. Astia sekoitetaan 60 °C:seen, ja Pluronic F 68 jaetaan sekoittamalla seosta (kesto noin 2 tuntia). Seos jäähdytetään noin 30 °C:seen sekoittaen ja homogenoidaan. Hydroksipropyylimetyyliselluloosa ja aktiivinen yhdiste suihkutetaan sekaan ja jaetaan öljymäiseen massaan sekoittaen ja homogenisoiden (noin 1 tunti). Suspensiota, jolla on tahnamainen rakenne, käytetään kovakuoristen gelatiinikapselien (koko 0; saatavissa, esimerkiksi yhtiöstä Elanco tai Parke-Davies (Caprogel)) tai pehmeäkuoristen gelatiinikapselien (20 mm pitkulaisten; R.P. Scherer AG, Eberbach, SLT) täyttämiseen tavanomaisen laitteiston avulla.

Esimerkki 108: Gelatiiniliuos:

Vesiliuos, joka on steriilisuodatettu ja joka sisältää aktiivisena yhdisteenä jotain edellä olevissa esimerkeissä mainituista kaavan I mukaisista yhdisteistä, yhdessä 20 %:in kanssa syklodekstriinejä liuotusaineina, sekoitetaan aseptisissa olosuhteissa ja kuumentaen steriilin gelatiiniliuoksen kanssa, joka sisältää säilöntäaineena fenolia siten, että 1,0 ml:lla liuosta on seuraava koostumus:

Aktiivinen yhdiste	3 mg
Gelatiini	150,0 mg
Fenoli	4,7 mg
Tislattu vesi, joka sisältää 20 % syklodekstriinejä liuotusaineina	1,0 ml

Esimerkki 108: <u>Injektioon tarkoitettu steriili kuiva aine:</u>
5 mg jotain edellä olevissa esimerkeissä mainituista kaavan I mukaisista yhdisteistä, aktiivisena yhdisteenä, liuotetaan 1 ml:aan vesiliuosta, joka sisältää 20 mg mannitolia ja 20 % syklodekstriinejä liuotusaineina. Liuos steriilisuodatetaan, ja sitä käytetään aseptisissa olosuhteissa 2-ml ampullin täyttämiseen, minkä jälkeen se pakastetaan ja lyofilisoidaan. Lyofilisaatti liuotetaan ennen käyttöä 1 ml:aan tislattua vettä tai 1 ml:aan fysiologista natriumkloridiliuosta. Liuosta käytetään lihaksensisäiseen tai laskimonsisäiseen antoon. Tätä formulaatiota voidaan myös käyttää kaksikammioisten kertakäyttöruiskujen täyttämiseen.

Esimerkki 109: <u>Nenäsuihke:</u>
500 mg hienoksi jauhettua (<5,0 µm) jauhetta jostain edellä olevissa esimerkeissä mainituista kaavan I mukaisista yhdisteistä, aktiivisena yhdisteenä, suspendoidaan seokseen, jossa on 3,5 ml Myglyol 812®:ää ja 0,08 g bentsyylialkoholia. Tätä suspensiota lisätään astiaan, jossa on annosteluventtiili. Astiaan lisätään 5,0 g Freon 12®:ää, joka on venttiilin vuoksi paineen alaista. "Freon" liuotetaan Myglyol/bentsyylialkoholi -seokseen ravistelemalla. Tämä suihkeastia sisältää noin 100 yksittäistä annosta,

jotka voidaan antaa yksittäin.

Esimerkki 110: Lakkatabletit

Seuraavat ainesosat käsitellään valmistettaessa 10 000 tablettia, jotka sisältävät kukin 100 mg aktiivista yhdistettä:

Aktiivinen yhdiste	1 000 g
Maissitärkkelys	680 g
Kolloidinen piihappo	200 g
Magnesiumstearaatti	20 g
Stearііnihappo	50 g
Natrium karboksimetyylitärkkelys	250 g
Vettä	tarpeen mukaan

Seos, jossa on jotain edellä olevissa esimerkeissä mainituista kaavan I mukaisista yhdisteistä, aktiivisena yhdisteenä, 50 g maissitärkkelystä ja kolloidista piihappoa, käsitellään kostean tahnan muodostamiseksi yhdessä tärkkelystahnan kanssa, joka koostuu 250 g:sta maissitärkkelystä ja 2,2 kg:sta demineralisoitua vettä. Tämä pakotetaan seulan läpi, jonka silmäkoko on 3 mm, ja kuivataan leijupetikuivurissa 45 °C:ssa 30 min ajan. Kuivattu granulaatti puristetaan verkon läpi, jonka silmäkoko on 1 mm, sekoitetaan aikaisemmin seulotun seoksen kanssa (1-mm verkko), jossa on 330 g maissitärkkelystä, magnesiumstearaatti, stearііnihappo ja natriumkarboksimetyylitärkkelys, ja puristetaan hieman kuperiksi tableteiksi.

Esimerkki 111: Farmakokinetiikka koirissa

Formulaatio: Kapselit esimerkistä 106

Kokeen suoritus: Käytetään kahta naaraspuolista beaglekoiraa (Ciba Geigy, Sisseln). Nartut saavat kokeen aikana vapaasti vettä, ja ne saavat viimeisen ateriansa noin 16 tuntia ennen kokeen alkua. Ruokaa tarjotaan vielä kohdalla

8 tuntia kokeen aloituksen jälkeen. Kummallekin nartulle annetaan 2 kapselia määriteltyä formulaatiota, jotka kapselit sisältävät yhteensä 1,2 g 5(S)-(Boc-amino)-4(S)-hydroksi-6-fenyyli-2(R)-(2,3,4-trimetoksifenyylimetyyli)heksanoyyli-(L)-Val-N-(2-metoksietyyli)amidia (aktiivinen aine), vastaten keskimääräistä annosta noin 100 mg/kg kehonpainoa. Kerätään verta alaraajan iholaskimosta heparinisoituihin putkiin eri ajankohtina annon jälkeen.

Plasmakonsentraation analysoimiseksi, heparinisoitu veri sentrifugoidaan (4 000 x g, 20 min) ja plasma poistetaan ja sekoitetaan yhtäsuuren tilavuuden kanssa asetonitriiliä. Seos pidetään jäässä 30 min ajan. Proteiinisakka poistetaan sentrifugoimalla (10 000 x g, 5 min) ja supernatantti sentrifugoidaan vielä kerran. Aktiivisen aineen konsentraatio saadussa lopullisessa supernatantissa määritetään käänteisfaasi-HPLC:llä: HPLC-analyysi suoritetaan analyyttisellä 125 x 4,6 mm Nucleosil C18 (5 µm) -kolonnilla (Macherey & Nagel, Düren, SLT), joka on tasapainotettu liikkuvalla faasilla, jossa on 50 % asetonitriiliä ja 0,1 % trifluorietikkahappoa vedessä. Virtausnopeus on 1 ml/min. Näissä olosuhteissa detektioraja on 0,1 µM. Aktiivinen aine detektoidaan UV-absorptiolla 215 nm:llä. Konsentraatiot määritetään ulkoisen standardin menetelmällä; huippujen korkeuksia käytetään konsentraatioiden määritykseen standardikäyrien kanssa vertaamalla. Standardikäyrät saadaan HPLC-analyysillä koiraplasmoista, jotka sisältävät tunnetut lisätyt konsentraatiot aktiivista ainetta käsitellen itse plasmat analogisella tavalla näytteiden kanssa edellä mainittujen vaiheiden avulla.

Tulokset:

Arvojen taulukko

	Arvot ovat yksikössä ng/ml	
Aika (h)	Narttu 1	Narttu 2
2	7592	13947
4	4688	4570
6	616	192
8	44	18
12	11	<0,1
24	14	<0,1
Käyrän alainen alue (AUC) ajanjaksolle 0 - 24 tuntia (ng x h/ml)	26101	37473

Esimerkki 112: Synergistinen vaikutus, joka syntyy yhdistettäessä 5(S)-(Boc-amino)-4(S)-hydroksi-6-fenyyli-2(R)-[(2,3,4-trimetoksifenyylimetyyli]heksanoyyli-(L)-Val-N-(2-metoksietyyli)amidin (yhdiste esimerkistä 47) indinaviirin tai sakvinaviirin kanssa kokeessa, jossa käytetään solulinjoja:

Otsikossa mainittujen yksittäisten yhdisteiden ja yhdistelmien aktiivisuudet CEM-SS -solulinjan ja pysyvästi infektoidun solulinjan H9/HIV-1/IIIB yhteisviljelmässä määritetään käyttämällä menetelmää, joka kuvattiin edellä farmakologisten ominaisuuksien kuvauksen yhteydessä. Mittaustulos ilmaistaan käänteistranskriptaasi(RT) -aktiivisuuden prosentuaalisena alenemisena. Tulokset esitetään seuraavassa taulukossa; mittaustulokset, jotka varmistavat synergian esiintymisen, korostetaan alleviivaamalla:

a) Yhdistelmä sakvinaviirin kanssa:

Aktiivisen yhdisteen konsentraatio		RT-aktiivisuuden esto-%		
Esimerkin 47 otsikkoyhdiste (nM)	Sakvinaviiri (nM)	Esimerkin 47 otsikkoyhdisteellä yksinään	Sakvinaviirilla yksinään	Esimerkin 47 ja sakvinaviirin yhdistelmällä
3,125	0,78	2,7 %	6,6 %	24,2 %
	1,56	-	14,7 %	23,7 %
	3,125	-	39,3 %	83,7 %
6,25	1,56	1,3 %	14,7 %	58,0 %
	3,125	-	39,3 %	90,5 %
	6,26	-	93,8 %	96,6 %

b) Yhdistelmä indinaviirin kanssa:

Aktiivisen yhdisteen konsentraatio		RT-aktiivisuuden esto-%		
Esimerkin 47 otsikkoyhdiste (nM)	Indinaviiri (nM)	Esimerkin 47 otsikkoyhdisteellä yksinään	Indinaviirilla yksinään	Esimerkin 47 ja sakvinaviirin yhdistelmällä
6,25	12,5	1,3 %	3,2 %	39,1 %
12,5	12,5	52,0 %	3,2 %	76,6 %
	25	-	59,7 %	90,7 %

Seurauksena, yhteisviljelmässä voidaan nähdä synergistisen vaikutuksen lisäys.

Esimerkki 113: Synergistine vaikutus, joka on tuotettu yhdistämällä 5(S)-(Boc-amino)-4(S)-hydroksi-6-fenyyli-2(R)-[(2,3,4-trimetoksifenyyli)-metyyli]heksanoyyli-(L)-Val-N-(2-metoksietyyli)amidia (yhdiste esimerkistä 47) indinaviirin tai sakvinaviirin kanssa kokeessa, jossa käytetään periferaalisia mononukleaarisia verisoluja:

Otsikossa määriteltyjen yksittäisten yhdisteiden ja yhdis-

telmien aktiivisuudet ääreisen mononukleaarisen verisolun viljelmässä määritetään käyttämällä menetelmää, joka kuvattiin edellä farmakologisten ominaisuuksien kuvauksen yhteydessä. Mittaustulos ilmaistaan käänteistranskriptaasin (RT) kumulatiivisena aktiivisuutena yksikössä cpm/1,25 µl (mitattujen ^{32}P-hajoamisten lukumäärä/1,25 µl testiseosta ja minuutissa) päivänä 17 infektion jälkeen. Tulokset esitetään seuraavassa taulukossa; mittaustulokset, jotka varmistavat synergian esiintymisen, on korostettu alleviivaamalla. Testiyhdiste(et) lisätään uudelleen kunkin väliainevaihdon yhteydessä (päivinä 0, 3, 6, 10 ja 13):

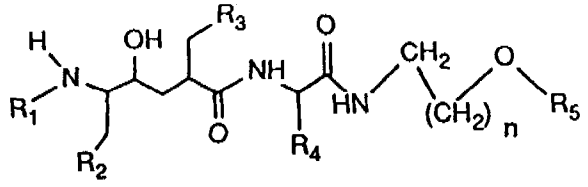
Kumulatiivinen RT-aktiivisuus (cpm/µl) 17. päivänä infektion jälkeen

	Sakvinaviirin konsentraatio (nM)					
Esimerkin 47 otsikkoyhdisteen konsentraatio	0	7,5	15	30	60	120
0	7505	9411	10299	111	64	47
7,5	7909	8724	541	57	64	57
15	9132	5381	120	61	58	50
30	8457	255	63	51	59	53
60	1823	91	59	45	57	43
120	49	60	50	70	63	63

Seurauksena synergistinen vaikutus voidaan havaita myös kokeessa, jossa käytetään ihmisen periferaalisia mononukleaarisia verisoluja.

Patenttivaatimukset

1. Kaavan (I) mukainen yhdiste,



(I)

jossa

R_1 on asyyliradikaali, joka on alempi-alkoksi-alempi alkanoyyli (mukaan luettuna alempi-alkoksikarbonyyli), jossa alempi-alkoksiradikaali on substituoimaton tai substituoitu yhdellä tai usealla radikaalilla, jotka ovat toisistaan riippumatta halogeeni, fenyyli tai alempi-alkoksi, tai radikaalilla, joka on piperidinyyli, pyrrolidinyyli, tetrahydropyranyyli, tetrahydrofuranyyli, tiatsolidinyyli, tiatsolyyli, indolyyli tai 4H-1-bentsopyranyyli, jotka ovat substituoimattomia tai substituoitu yhdellä tai usealla radikaalilla, jotka ovat toisistaan riippumatta okso, hydroksyyli, amino, alempi alkyyli, alempi-alkoksikarbonyyli tai fenyyli-alempi-alkoksikarbonyyli; alempi alkanoyyli, joka on substituoimaton tai on substituoitu piperidinyylillä, pyrrolidinyylillä, tetrahydropyranyylillä, tetrahydrofuranyylillä, tiatsolidinyylillä, tiatsolyylillä, indolyylillä, 4H-1-bentsopyranyylillä, piperidinyylioksilla, pyrrolidinyylioksilla, tetrahydropyranyylioksilla, tetrahydrofuranyylioksilla, tiatsolidinyylioksilla, tiatsolyylioksilla, indolyylioksilla tai 4H-1-bentsopyranyylioksilla, jotka ovat kussakin tapauksessa substituoimattomia tai on substituoitu yhdellä tai usealla substituentilla, jotka ovat toisistaan riippumatta okso, hydroksyyli, amino, alempi alkyyli, alempi-alkoksikarbonyyli tai fenyyli-alempi-alkoksikarbonyyli; aryylikarbonyyli tai heterosyklyylikarbonyyli, joka on substituoitu heterosyklyylillä tai heterosyklyyli-alempi-alkyylillä; fenyyli-alempi-alkanoyyli, joka on substituoitu hydroksyylillä ja alempi-alkyylil-

lä; tai aryylisulfonyyli;

tähde, joka on liitetty aminohapon karbonyyliryhmän kautta, joka aminohappo on glysiini, alaniini, 3-aminopropaanihappo, 2-aminovoihappo, 3-aminovoihappo, 4-aminovoihappo, 3-aminopentaanihappo, 4-aminopentaanihappo, 5-aminopentaanihappo, 3-aminoheksaanihappo, 4-aminoheksaanihappo, 5-aminoheksaanihappo, valiini, norvaliini, leusiini, isoleusiini, norleusiini, seriini, homoseriini, treoniini, metioniini, kysteiini, fenyylialaniini, tyrosiini, 4-aminofenyylialaniini, 4-kloorifenyylialaniini, 4-karboksifenyylialaniini, β-fenyyliseriini, fenyyliglysiini, α-naftyylialaniini, sykloheksyylialaniini, sykloheksyyliglysiini, tryptofaani, asparagiinihappo, β-fenyyli-alempi-alkyyliaspartaatti, asparagiini, aminomalonihappo, aminomalonihappomonoamidi, glutamiinihappo, γ-fenyyli-alempi-alkyyliglutamaatti, glutamiini, histidiini, arginiini, lysiini, δ-hydroksilysiini, ornitiini, α,γ-diaminovoihappo tai α,β-diaminopropionihappo;

tai tähde, joka on liittynyt karbonyyliryhmän kautta, joka on jossakin viimeksi mainituista aminohapoista, joka on N-asyloitu aminotyppeen jollakin aikaisemmin mainituista asyyliradikaaleista,

R_2 ja R_3 ovat toisistaan riippumatta sykloheksyyli, sykloheksenyyli, fenyyli, naftyyli tai tetrahydronaftyyli, jotka ovat substituoimattomia tai on substituoitu yhdellä tai usealla radikaalilla, jotka ovat toisistaan riippumatta alempi alkyyli, fenyyli, syaanifenyyli, fenyyli-alempi alkyyli, halogeeni, halogeeni-alempi alkyyli, syaani, hydroksyyli, alempi-alkoksi, fenyyli-alempi-alkoksil, pyridyyli-alempi-alkoksi, jossa pyridyyli on liittynyt rengashiiliatomin kautta, alempi-alkoksi-alempi-alkoksi, alempi-alkoksikarbonyyli-alempi-alkoksi, karboksyyli-alempi-alkoksi, hydroksyyli-alempi-alkoksi, jossa on ainakin kaksi hiiliatomia, jossa hydroksyyli ei ole liittynyt 1-

asemaan, karbamoyyli-alempi-alkoksi, syaani-alempi-alkoksi, alempi alkyleenidioksi, tai fenyyli-alempi-alkaanisulfonyyli, joka on substituoimaton tai on substituoitu fenyyliradikaaliin yhdellä tai usealla radikaalilla, jotka ovat toisistaan riippumatta halogeeni,

R_4 on alempi alkyyli, sykloheksyyli tai fenyyli,

R_5 on alempi alkyyli, ja

n on 1 tai 2,

tai sen suolat, edellyttäen, että läsnä on ainakin yksi suolaa muodostava ryhmä.

2. Patenttivaatimuksen 1 kaavan (I) mukainen yhdiste, jossa
R_1 on asyyliradikaali, joka on alempi-alkoksi-alempi-alkanoyyli (mukaan lukien alempi-alkoksikarbonyyli), jossa alempi-alkoksiradikaali on substituoimaton tai substituoitu yhdellä tai usealla radikaalilla, jotka ovat toisistaan riippumatta halogeeni, fenyyli tai alempi-alkoksi, tai radikaalilla, joka on piperidinyyli, pyrrolidinyyli, tetrahydropyranyyli, tetrahydrofuranyyli, tiatsolidinyyli, tiatsolyyli, indolyyli tai 4H-1-bentsopyranyyli, jotka ovat substituoimattomia tai on substituoitu yhdellä tai usealla radikaalilla, jotka ovat toisistaan riippumatta okso, hydroksyyli, amino, alempi alkyyli, alempi-alkoksikarbonyyli ja fenyyli-alempi-alkoksikarbonyyli; alempi alkanoyyli, joka on substituoimaton tai on substituoitu piperidinyyli, pyrrolidinyyli, tetrahydropyranyyli, tetrahydrofuranyyli, tiatsolidinyyli, tiatsolyyli, indolyyli, 4H-1-bentsopyranyyli, piperidinyylioksi, pyrrolidinyylioksi, tetrahydropyranyylioksi, tetrahydrofuranyylioksi, tiatsolidinyylioksi, tiatsolyylioksi, indolyylioksi tai 4H-1-bentsopyranyylioksi, jotka ovat kussakin tapauksessa substituoimattomia tai substituoituja yhdellä tai usealla substituentilla,

jotka ovat toisistaan riippumatta okso, hydroksyyli, amino, alempi alkyyli, alempi-alkoksikarbonyyli ja fenyyli-alempi-alkoksikarbonyyli; ja aryylikarbonyyli tai heterosyklyyli-karbonyyli, joka on substituoitu heterosyklyylillä tai heterosyklyyli-alempi-alkyylillä;

tähde, joka on liittynyt aminohapon karbonyyliryhmän kautta, joka aminohappo on glysiini, alaniini, 3-aminopropaanihappo, 2-aminovoihappo, 3-aminovoihappo, 4-aminovoihappo, 3-aminopentaanihappo, 4-aminopentaanihappo, 5-aminopentaanihappo, 3-aminoheksaanihappo, 4-aminoheksaanihappo, 5-aminoheksaanihappo, valiini, norvaliini, leusiini, isoleusiini, norleusiini, seriini, homoseriini, treoniini, metioniini, kysteiini, fenyylialaniini, tyrosiini, 4-aminofenyylialaniini, 4-kloorifenyylialaniini, 4-karboksifenyylialaniini, β-fenyyliseriini, fenyyliglysiini, α-naftyylialaniini, sykloheksyylialaniini, sykloheksyyliglysiini, tryptofaani, asparagiinihappo, asparagiini, aminomalonihappo, aminomalonihappomonoamidi, glutamiinihappo, glutamiini, histidiini, arginiini, lysiini, δ-hydroksilysiini, ornitiini, α,γ-diaminovoihappo tai α,β-diaminopropionihappo;

tai tähde, joka on liittynyt karbonyyliryhmän kautta, joka on jossakin välittömästi edellä mainituista aminohapoista, joka tähde on N-asyloitu aminotyppeen jollakin edellä mainituista asyyliradikaaleista,

R_2 ja R_3 ovat toisistaan riippumatta sykloheksyyli, sykloheksenyyli, fenyyli, naftyyli tai tetrahydronaftyyli, jotka ovat substituoimattomia tai on substituoitu yhdellä tai usealla radikaalilla, jotka ovat toisistaan riippumatta alempi alkyyli, fenyyli-alempi alkyyli, halogeeni, halogeeni-alempi alkyyli, syaani, hydroksyyli, alempi-alkoksi, fenyyli-alempi-alkoksi, pyridyyli-alempi-alkoksi, alempi-alkoksi-alempi-alkoksi, alempi-alkoksikarbonyyli-alempi-alkoksi, karboksi-alempi-alkoksi, hydroksi-alempi-alkoksi,

jossa on ainakin 2 hiiliatomia, jossa hydroksyyli ei ole liittynyt 1-asemaan, karbamoyyli-alempi-alkoksi, syaani-alempi-alkoksi, alempi-alkyleenidioksi, tai fenyyli-alempi-alkaanisulfonyyli, joka on substituoimaton tai on substituoitu fenyyliradikaaliin yhdellä tai usealla radikaalilla, jotka ovat toisistaan riippumatta halogeeni,

R_4 on alempi alkyyli, sykloheksyyli tai fenyyli,

R_5 on alempi alkyyli, ja

n on 1 tai 2,

tai sen suolat, edellyttäen, että läsnä on ainakin yksi suolaa muodostava ryhmä.

3. Patenttivaatimuksen 1 tai 2 kaavan (I) mukainen yhdiste, jossa R_1, R_2, R_4, R_5, R_6 ja n ovat jossakin patenttivaatimuksista 1 - 4 määriteltyjä ja R_3 on 2,3,4-alempi-alkoksifenyyli, tai sen suola, edellyttäen että läsnä on ainakin yksi suolaa muodostava ryhmä.

4. Patenttivaatimuksen 1 kaavan (I) mukainen yhdiste, jossa

R_1 on
tert-butoksikarbonyyli, 2,2,2-trifluorietoksikarbonyyli, 2-(metoksi)etoksikarbonyyli, 5(S)-2-okso-pyrrolidinyylimetoksikarbonyyli, 1-etoksikarbonyylipiperidin-4-yylikarbonyyli, trans-(L)-4-hydroksiprolyyli, N-(bentsyylioksikarbonyyli)-trans-(L)-4-hydroksiprolyyli, (L)-tiatsolidin-4-yylikarbonyyli, indol-2-yylikarbonyyli, 4H-1-bentsopyran-2-yylikarbonyyli, N-metyylipiperidinyylioksikarbonyyli, tetrahydropyran-2(R,S)-yylikarbonyyli, O-(tetrahydropyran-4-yyli)-(L)-laktoyyli (= 2(S)-(tetrahydropyran-4-yylioksi)propionyyli), 3(S)-tetrahydrofuranyylioksikarbonyyli, 2-aminotiatsol-4-yyliasetyyli, 6-(4-metyylipiperatsin-1-yyli)pyridin-3-yylikarbonyyli, 4-(morfolin-4-yylimetyy-

li)bentsoyyli, N-metoksikarbonyyli-(L)-valyyli tai N-[(L)-tiatsolidin-4-yyli-karbonyyli]-(L)-valyyli;

R_2 ja R_3 ovat sykloheksyyli, sykloheksen-1-yyli, fenyyli, 4-(bentsyylioksi)fenyyli, 2,4-difluorifenyyli, 4-syaanifenyyli, 2-, 3- tai 4-metoksifenyyli, 4-isobutyylioksifenyyli, trimetoksifenyyli, 4-(2-metoksietoksi)fenyyli, 3,4-metyleenidioksifenyyli, 4-(pyridin-2- tai pyridin-3-yylimetoksi)fenyyli; 4-metoksi-2-fluorifenyyli, 4-fluori-2-metoksifenyyli, 4-metoksi-2-hydroksifenyyli, 4-metoksi-2,3-dimetyylifenyyli, 4-(2-fenyylietyyli)fenyyli, 2-fluorifenyyli, 4-hydroksifenyyli, dimetoksifenyyli, 5,6,7,8-tetrahydro-1-naftyyli, 4-fluorinaftyyli, 4-syaaninaftyyli, 4-alempi-alkoksinaftyyli tai 4-(2,6-diklooribentsyylisulfonyyli)fenyyli,

R_4 on isopropyyli, sykloheksyyli tai fenyyli;

R_5 on etyyli tai metyyli; ja

n on 2 tai on 1;

tai sen suola, edellyttäen, että läsnä on ainakin yksi suolaa muodostava ryhmä.

5. Patenttivaatimuksen 1 kaavan (I) mukainen yhdiste, jossa

R_1 on alempi-alkoksikarbonyyli tai alempi-alkoksikarbonyyli, joka on substituoitu enintään kolmella halogeenilla,

R_2 ja R_3 esiintyvät seuraavina yhdistelminä:
R_2 = fenyyli ja R_3 = syaanifenyyli;
R_2 = fenyyli ja R_3 = difluorifenyyli;
R_2 = fenyyli ja R_3 = 4-alempi-alkoksifenyyli;
R_2 = 4-(alempi-alkoksi-alempi-alkoksi)fenyyli ja R_3 = 4-fenyyli-alempi-alkoksifenyyli;
R_2 = sykloheksyyli ja R_3 = 4-alempi-alkoksifenyyli;

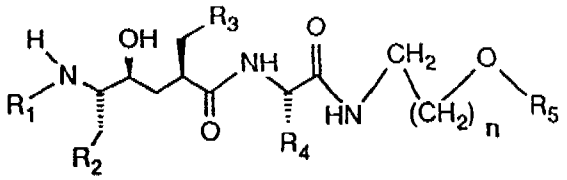
R_2 = fenyyli ja R_3 = fenyyli;
R_2 = fenyyli ja R_3 = 4-fenyyli-alempi-alkoksifenyyli;
R_2 = fenyyli ja R_3 = 4-(pyridin-3-yyli-alempi-alkoksi)fenyyli;
R_2 = fenyyli ja R_3 = 3,4-alempi-alkyleenidioksifenyyli;
R_2 = fenyyli ja R_3 = 2,3,4-tri-alempi-alkoksifenyyli; tai
R_2 = sykloheksyyli ja R_3 = 4-(alempi-alkoksi-alempi-alkoksi)fenyyli;

R_4 on isopropyyli;

R_5 on metyyli; ja

n on 1.

6. Jonkin patenttivaatimuksista 1 - 5 mukainen yhdiste, joka on kaavan (I') mukainen, joka kuuluu kaavaan (I),



(I')

jossa radikaaleilla on kussakin tapauksessa kaavan (I) mukaisille yhdisteille määritellyt merkitykset.

7. Patenttivaatimuksen 12 kaavan (I') mukainen yhdiste, jossa

R_1 on alempi-alkoksikarbonyyli;

R_2 on fenyyli ja R_3 on 4-alempi-alkoksifenyyli tai 2,3,4-tri-alempi-alkoksifenyyli;

R_4 on isopropyyli;

R_5 on metyyli; ja

n on 1.

8. Patenttivaatimuksen 1 kaavan (I) mukainen yhdiste, jolla on nimi 5(S)-(Boc-amino)-4(S)-hydroksi-6-fenyyli-2(R)-[(2,3,4-trimetoksifenyyli)metyyli]-heksanoyyli-(L)-Val-N-(2-metoksietyyli)amidi.

9. Farmaseuttinen valmiste, t u n n e t t u siitä, että se sisältää jonkin patenttivaatimuksista 1 - 8 kaavan (I) mukaista yhdistettä tai sen farmaseuttisesti käyttökelpoista suolaa yhdessä farmaseuttisesti käyttökelpoisen väliaineen kanssa.

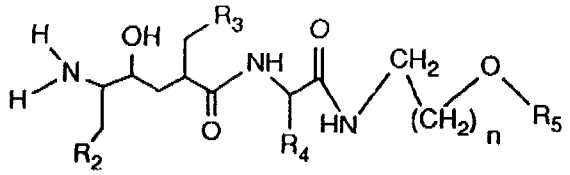
10. Jonkin patenttivaatimuksista 1 - 8 kaavan (I) mukaisen yhdisteen tai sen farmaseuttisesti käyttökelpoisen suolan käyttö retrovirussairauden ennaltaestoon tai hoitoon tarkoitetun farmaseuttisen valmisteen valmistuksessa.

11. Menetelmä patenttivaatimuksen 1 kaavan (I) mukaisen yhdisteen valmistamiseksi, t u n n e t t u siitä, että

a) kaavan (II) mukaista happoa

$$R_1\text{-OH} \qquad \text{(II)}$$

tai sen reaktiivista happojohdannaista, jossa R_1 on sama kuin R_1 kaavan (I) mukaisissa yhdisteissä, kondensoidaan kaavan (III) mukaisen aminoyhdisteen kanssa

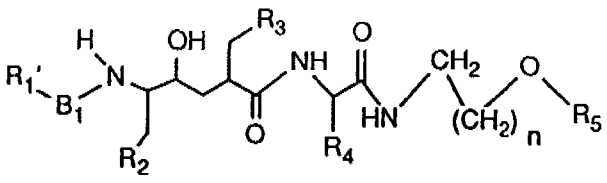


(III)

tai sen reaktiivisen johdannaisen kanssa, jossa n ja radikaalit ovat kaavan I mukaisille yhdisteille määritellyt,

jolloin läsnä olevat vapaat funktionaaliset ryhmät, reaktioon osallistuvia lukuun ottamatta, ovat vaadittaessa suojatussa muodossa kaavojen (II) ja (III) mukaisissa lähtöaineissa, ja poistetaan läsnä olevat suojaryhmät, tai

b) kaavan (Ia) mukaisen yhdisteen valmistamiseksi

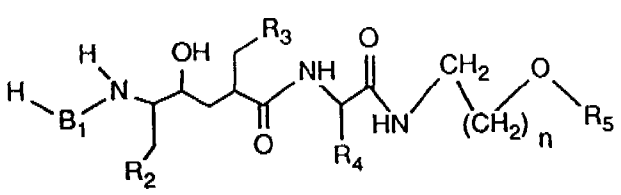


(Ia)

jossa B_1 on kaavassa (I) määritelty aminohapon kahdenarvoinen tähde, joka on liittynyt karbonyyliryhmän ja aminoryhmän kautta, ja R_1' on yksi R_1:lle kaavasssa (I) määritellyistä radikaaleista, lukuunottamatta kaavassa (I) määriteltyä asyloimatonta tai N-asyloitua aminohappotähdettä, siten että B_1 ja R_1' yhdessä ovat kaavan (I) R_1:ksi määritelty tähde, joka on liittynyt N-asyloidun aminohapon karbonyyliryhmän kautta, ja n:llä ja lopuilla radikaaleilla on kaavan (I) mukaisille yhdisteille määritellyt merkitykset, kaavan (IV) mukainen karboksyylihappo

$$R_1'\text{-OH} \qquad \text{(IV)}$$

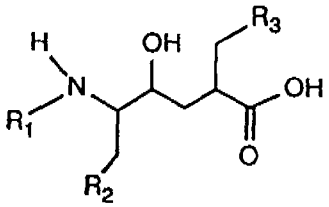
tai sen reaktiivinen happojohdannainen, jossa R_1' voi olla kaavan (I) mukaisissa yhdisteissä R_1:lle määritelty radikaali, lukuun ottamatta karbonyyliryhmänsä kautta liittynyttä asyloimattoman tai N-asyloidun aminohapon tähdettä, kondensoidaan kaavan (IIIa) mukaisen aminoyhdisteen



(IIIa)

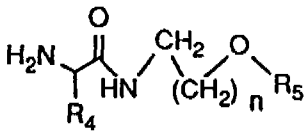
tai sen reaktiivisen johdannaisen kanssa, jossa B_1:llä on välittömästi edellä määritellyt merkitykset, ja n:llä ja lopuilla radikaaleilla on kaavan I mukaisille yhdisteille määritellyt merkitykset, jolloin läsnä olevat vapaat funktionaaliset ryhmät, reaktioon osallistuvia lukuun ottamatta, ovat vaadittaessa suojatussa muodossa kaavojen (IIIa) ja (IV) mukaisissa lähtöaineissa, ja läsnä olevat suojaryhmät poistetaan, tai

c) kaavan (V) mukainen karboksyylihappo



(V)

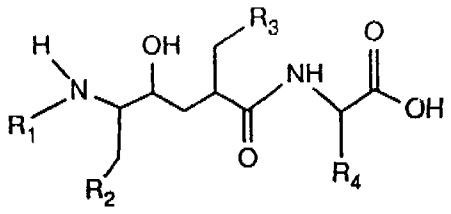
tai sen reaktiivinen johdannainen, jossa radikaaleilla on kaavan (I) mukaisille yhdisteille määritellyt merkitykset, kondensoidaan kaavan (VI) mukaisen aminoyhdisteen



(VI)

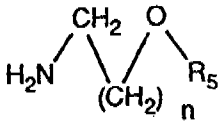
tai sen reaktiivisen johdannaisen kanssa, jossa n ja radikaalit ovat kaavan (I) mukaisille yhdisteille määritellyt, jolloin läsnä olevat vapaat funktionaaliset ryhmät, reaktioon osallistuvia lukuun ottamatta, ovat vaadittaessa kaavojen (V) ja (VI) mukaisissa lähtöaineissa suojatussa muodossa, ja läsnä olevat suojaryhmät poistetaan, tai

d) kaavan (VII) mukainen karboksyylihappo



(VII)

tai sen reaktiivinen johdannainen, jossa radikaalit ovat kaavan (I) mukaisille yhdisteille määritellyt, kondensoidaan kaavan (VIII) mukaisen aminoyhdisteen

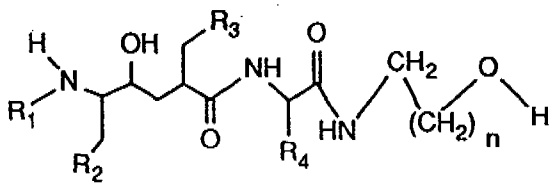


(VIII)

tai sen reaktiivisen johdannaisen kanssa, jossa n ja R_5 ovat kaavan (I) mukaisille yhdisteille määritellyt, jolloin läsnä olevat vapaat funktionaaliset ryhmät, reaktioon osallistuvia lukuun ottamatta, ovat vaadittaessa kaavojen (VII) ja (VIII) mukaisissa lähtöaineissa suojatussa muodossa, ja läsnä olevat suojaryhmät poistetaan haluttaessa, tai

e) joko

(i) eetteröidään kaavan (IX) mukainen hydroksiyhdiste



(IX)

tai sen alkoholaattisuola, jossa n ja radikaalit ovat kaavan (I) mukaisille yhdisteille määritellyt, kaavan (X) mukaisella yhdisteellä

$$W_1\text{-}R_6 \qquad (X),$$

jossa R_6 on kaavan (I) mukaisille yhdisteille määritelty ja W_1 on poistuva ryhmä, tai

(ii) eetteröidään kaavan (IX) mukaisen hydroksiyhdisteen reaktiivinen johdannainen kaavan (Xa) mukaisella yhdisteellä

$$HO\text{-}R_6 \qquad (Xa),$$

tai sen alkoholaattisuolalla, jossa R_6 on välittömästi edellä määritelty, jolloin läsnä olevat vapaat funktionaaliset ryhmät, reaktioon osallistuvia lukuun ottamatta, ovat vaadittaessa suojatussa muodossa kaavojen (IX), (X) ja (Xa) mukaisissa lähtöaineissa, ja läsnä olevat suojaryhmät poistetaan, tai

f) poistetaan suojaryhmät, jotka ovat läsnä kaavan (I) mukaisessa yhdisteessä, jossa substituentit ovat edellä määritellyt, sillä ehdolla, että ainakin yksi funktionaalinen ryhmä on suojattu suojaryhmillä kyseisessä kaavan (I) mukaisessa yhdisteessä,

jolloin on mahdollista, että määritellyissä menetelmävaiheissa a) - f), ellei jo ole nimenomaisesti mainittu, lähtöaineita voidaan käyttää myös suolojen muodossa, edellyttäen, että läsnä on suolaa muodostavia ryhmiä,

ja/tai haluttaessa, kaavan (I) mukainen yhdiste, joka on saatu jollakin edellä mainituista menetelmistä a) - f) ja jossa on ainakin yksi suolaa muodostava ryhmä, muutetaan suolakseen, ja/tai muutetaan saatavissa oleva suola vapaaksi yhdisteeksi tai toiseksi suolaksi, ja/tai erotetaan saatavissa olevia kaavan (I) mukaisten yhdisteiden isomeeriseoksia, ja/tai muutetaan kaavan (I) mukainen uusi yhdiste toiseksi kaavan (I) mukaiseksi uudeksi yhdisteeksi.

PATENTTI- JA REKISTERIHALLITUS
Patentti- ja innovaatiolinja
PL 1160
00101 Helsinki

TUTKIMUSRAPORTTI

PATENTTIHAKEMUS NRO	LUOKITUS, IPC7
954913	

TUTKITUT PATENTTILUOKAT (luokitusjärjestelmät ja luokkatiedot)

TUTKIMUKSESSA KÄYTETYT TIETOKANNAT

VIITEJULKAISUT

Kategoria*)	Julkaisun tunnistetiedot ja tiedot sen olennaisista kohdista	Koskee vaatimuksia
X	Journal of Medicinal Chemistry, vol. 34, 1991, no 9, S. J. deSolms et al., s. 2852-2857	
X	EP 618222 A3	
X	EP 337714 A3	

Jatkuu seuraavalla sivulla ☐

*) X Julkaisu, jonka perusteella keksintö ei ole uusi tai ei eroa olennaisesti ennestään tunnetusta tekniikasta.
Y Julkaisu, jonka perusteella keksintö ei eroa olennaisesti ennestään tunnetusta tekniikasta, kun otetaan huomioon tämä ja yksi tai useampi samaan kategoriaan kuuluva julkaisu yhdessä.
A Yleistä tekniikan tasoa edustava julkaisu.

O Tullut julkiseksi esitelmän välityksellä, hyväksikäyttämällä tai muutoin muun kuin kirjoituksen avulla.
P Julkaistu ennen hakemuksen tekemispäivää mutta ei ennen aikaisinta etuoikeuspäivää.
T Julkaistu hakemuksen tekemispäivän tai etuoikeuspäivän jälkeen ja valaisee keksinnön periaatetta tai teoreettista taustaa.
E Aikaisempi suomalainen tai Suomea koskeva patentti- tai hyödyllisyysmallihakemus, joka on tullut julkiseksi hakemuksen tekemispäivänä (etuoikeuspäivänä) tai sen jälkeen.
D Julkaisu, joka on mainittu hakemuksessa.
L Julkaisu, joka kyseenalaistaa etuoikeuden, osoittaa toisen julkaisun julkaisupäivämäärän tai johon viitataan jostakin muusta syystä.

& Samaan patenttiperheeseen kuuluva julkaisu.

Lisätietoja liitteessä ☐

Päiväys	Tutkijainsinööri
7.4.2005	EY