



SUOMI—FINLAND

(FI)

Patentti- ja rekisterihallitus
Patent- och registerstyrelsen

[B] (11) KUULUTUSJULKAISU UTLÄGGNINGSSKRIFT 66183

- C (45) Patentti myönnetty 10 09 1984
Patent meddelat
(51) Kv.kk. /Int.Cl.³ C 07 D 401/12 // C 07 D 211/60,
215/36
- | | |
|---|----------|
| (21) Patentihakemus — Patensöknings | 792637 |
| (22) Hakemispäivä — Ansökningsdag | 23.08.79 |
| (23) Aikupäivä — Giltighetsdag | 23.08.79 |
| (41) Tulut julkaistui — Bivitt offentlig | 01.03.80 |
| (44) Nähtävöityksen ja kuuljulkaisun pvm. —
Ansökan utlagd och utskriften publicerad | 31.05.84 |
| (32)(33)(31) Pyydetty etuoikeus — Begärd prioritet | 31.08.78 |
- 22.05.79 USA(US) 938711, 41419

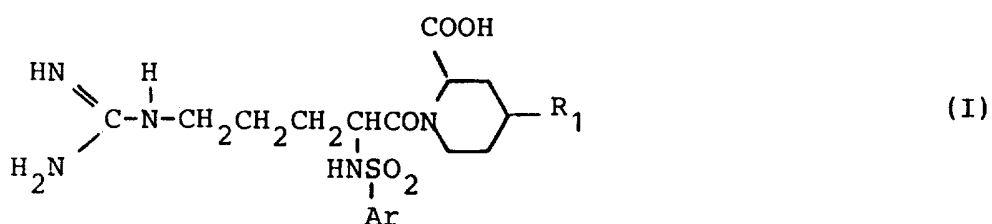
- (71) Mitsubishi Chemical Industries Limited, 5-2, Marunouchi 2-chome, Chiyoda-ku, Tokyo, Shosuke Okamoto, 15-18, Asahigaoka 3-chome, Tarumi-ku, Kobe-shi, Hyogo, Japani-Japan(JP)
- (72) Shosuke Okamoto, Kobe-shi, Hyogo, Ryoji Kikumoto, Machida-shi, Tokyo, Yoshikuni Tamao, Machida-shi, Tokyo, Kazuo Ohkubo, Komae-shi, Tokyo, Shinji Tonomura, Machida-shi, Tokyo, Akiko Hijikata, Kobe-shi, Hyogo, Japani-Japan(JP), Tohru Tezuka, Mamaroneck, New York, USA(US)
- (74) Berggren Oy Ab
- (54) Menetelmä farmaseuttisesti aktiivisten N²-aryylisulfonyyli-L-arginiini-amidien ja niiden farmaseuttisesti hyväksyttävien suolojen valmistamiseksi - Förfarande för framställning av farmaceutiskt aktiva N²-arylsulfonyl-L-argininamider och deras farmaceutiskt godtagbara salter
- Tämä keksintö koskee tiettyjen uusien ja hyödyllisten N²-aryyli-sulfonyyli-L-arginiiniamidien ja niiden farmaseuttisesti hyväksyttävien suolojen valmistamista, joilla on erityistä arvoa niiden erinomaisten verisuonitukoksia estävien ominaisuuksien ja alhaisten myrkyllisyyksien suhteen.

Aikaisemmin on useasti yritetty saada aikaan uusia ja parannettuja aineita verisuonitukoksen hoitamiseksi. N²-(p-tolyylisulfonyyli)-L-arginiiniestereiden on havaittu olevan eräs tyyppi aineita, joita voidaan käyttää ja näiden on havaittu olevan tehokkaita liuottamaan verihyytymiä. (US-patentti n:o 3 622 615). Eräs yhdisteiden luokka, jonka on havaittu olevan erityisen hyödyllinen veritulpan erittäin spesifisinä ehkäisijöinä verisuonitukoksen hillinnässä, on N²-dansyyli-L-arginiiniesteri tai -amidi (US-patentti n:o 3 978 045). On kuitenkin olemassa jatkuva tarve veritulpan erittäin spesifisestä ehkäisijästä verisuonitukoksen hillitsemiseksi, jolla on alhainen myrkyllisyys.

Nyt on havaittu, että N^2 -aryylisulfonyyli-L-arginiiniamideilla on verisuonitukosta estävää aktiivisuutta ja jopa alhaisemmat myrkyllisyystasot samoilla suhteellisilla vahvuuksilla kuin N^2 -dansyyli-L-arginiiniesterillä tai -amidilla.

Tämä keksintö tarjoaa käytettäväksi:

N^2 -aryylisulfonyyli-L-arginiiniamidin, jolla on kaava (I):

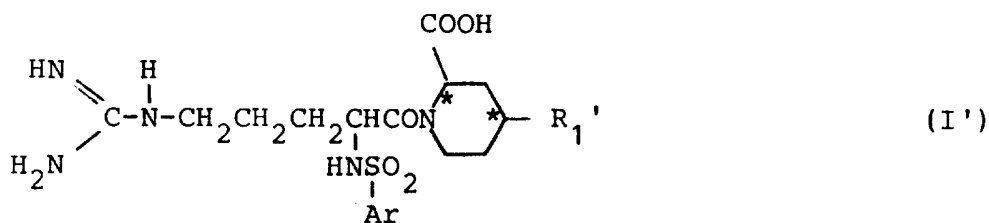


jossa R_1 on vety tai C_1 - C_5 -alkyyli, ja

Ar on 1,2,3,4-tetrahydro-8-kinolyyli, joka mahdollisesti on

substituoitu ainakin yhdellä C_1 - C_5 -alkyyllillä, tai

(2R,4R)-1-(N^2 -aryylisulfonyyli-L-arginyyli)-4-alkyyli-2-piperidiinikarboksyylihapon, jolla on kaava (I'):



jossa Ar tarkoittaa samaa kuin kaavassa (I), R_1' on C_1 - C_5 -alkyyli

ja * tarkoittaa epäsymmetristä hiiliatomia, tai

näiden farmaseuttisesti hyväksyttävät suolat.

Tyypillisiä yhdisteitä ovat:

1- $\overline{N^2}$ -1,2,3,4-tetrahydro-8-kinoliinisulfonyyli)-L-arginyyli-7-4-metyyli-2-piperidiinikarboksyylihappo,

1- $\overline{N^2}$ -(1,2,3,4-tetrahydro-8-kinoliinisulfonyyli)-L-arginyyli-7-4-etyyli-2-piperidiinikarboksyylihappo,

1- $\overline{N^2}$ -(3-metyyli-1,2,3,4-tetrahydro-8-kinoliinisulfonyyli)-L-arginyyli-7-4-metyyli-2-piperidiinikarboksyylihappo,

1- $\overline{N^2}$ -(3-metyyli-1,2,3,4-tetrahydro-8-kinoliinisulfonyyli)-L-arginyyli-7-4-etyyli-2-piperidiinikarboksyylihappo,

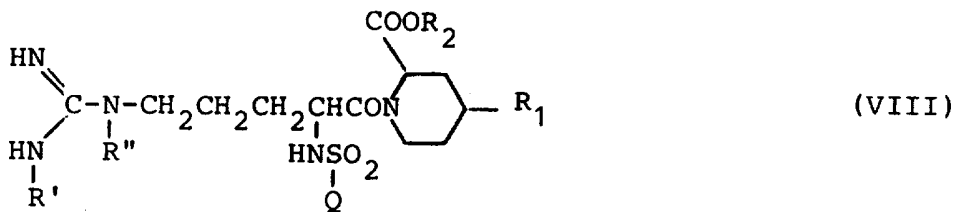
1- $\overline{N^2}$ -(3-etyyli-1,2,3,4-tetrahydro-8-kinoliinisulfonyyli)-L-argi-

nyyli $\bar{7}$ -4-metyyli-2-piperidiinikarboksylihappo,
 1- \bar{N}^2 -(3-etyyli-1,2,3,4-tetrahydro-8-kinoliinisulfonyyli)-L-argi-
 nyyli $\bar{7}$ -4-etyyli-2-piperidiinikarboksylihappo, ja
 (2R,4R)-1- \bar{N}^2 -(3-metyyli-1,2,3,4-tetrahydro-8-kinoliinisulfonyyli)-
 L-arginyyli $\bar{7}$ -4-metyyli-2-piperidiinikarboksylihappo.

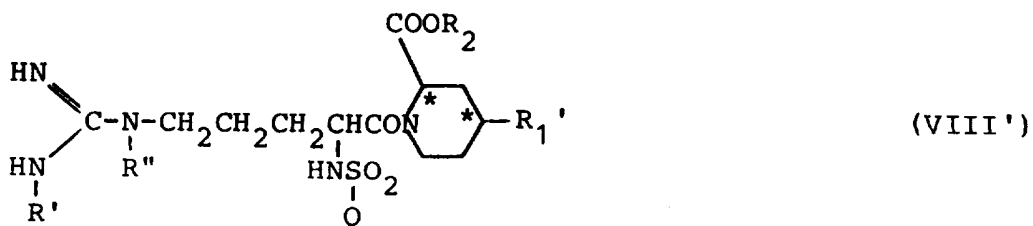
Suosittelavia yhdisteistä ovat ne, joissa on (2R,4R)-4-alkyyli-
 2-karboksi-1-piperidinoryhmä sanotun alkyyli-ryhmän ollessa C₁-C₅-
 alkyyli-*radikaali* ja Ar on 3-alkyyli-1,2,3,4-tetrahydro-8-kinol-
 iiniryhmä, sanotun alkyyli-ryhmän ollessa C₁-C₃-alkyyli-*radikaali*.

Keksinnön mukainen menetelmä näiden yhdisteiden valmistamiseksi
 on

a) N^G-substituoitu-N²-kinoliinisulfonyyli-L-arginiiniamidista,
 jolla on kaava (VIII):

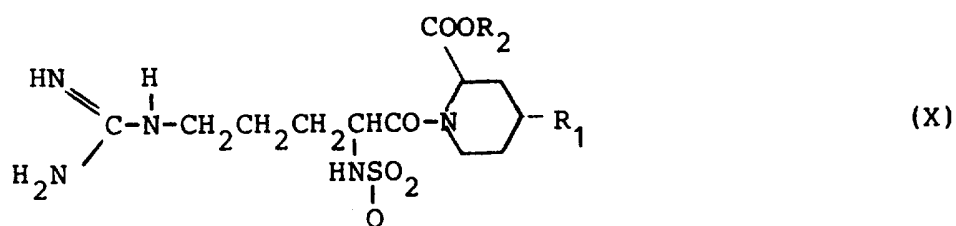


jossa R₁ tarkoittaa samaa kuin kaavassa (I), R' ja R'' ovat vety
 tai guanidinoryhmän suojaryhmiä, jolloin ainakin toinen ryhmistä
 R' ja R'' on guanidinoryhmän suojaryhmä, R₂ on vety, alempi alkyy-
 li tai aralkyyli, ja Q on 8-kinolyyli, joka mahdollisesti on subs-
 tituoitu ainakin yhdellä C₁-C₅-alkyyllillä ja joka vastaa Ar, tai
 (2R,4R)-1-(N^G-substituoitu-N²-kinoliinisulfonyyli-L-arginyyli)-
 4-alkyyli-2-piperidiinikarboksylihapposta tai sen esteristä,
 jolla on kaava (VIII'):



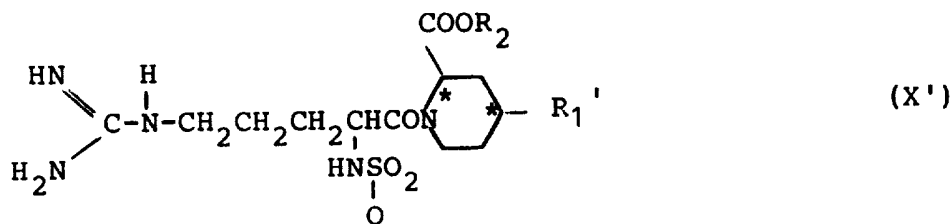
jossa R', R'' ja Q tarkoittavat samaa kuin kaavassa (VIII) ja * ja R₁' tarkoittavat samaa kuin kaavassa (I'), poistetaan N^G-substituentti, ja kun R₂ on aralkyyli, tämä aralkyyyliryhmä hydrogenolyysilla, ja samalla hydrataan kinolyyliryhmä vastaavaksi 1,2,3,4-tetrahydrokinolyyliryhmäksi ja, kun R₂ on alkyyliryhmä, hydrolysoidaan piperidiinirenkaan 2-aseman esteriryhmä, tai

b) N²-kinoliinisulfonyyli-L-arginiiniamidin, jolla on kaava (X):



jossa R₁ tarkoittaa samaa kuin kaavassa (I), R₂ on vety, alempi alkyyliryhmä tai aralkyyli, ja Q on 8-kinolyyli, joka mahdollisesti on substituoitu ainakin yhdellä C₁-C₅-alkyyylillä ja joka vastaa Ar, tai

(2R,4R)-1-(N²-kinoliinisulfonyyli-L-arginiini)-4-alkyyli-2-piperidiinikarboksyylihapon tai sen esterin, jolla on kaava (X'):



jossa R₂ ja Q tarkoittavat samaa kuin kaavassa (X) ja * ja R₁' tarkoittavat samaa kuin kaavassa (I'),

kinolyyliryhmä hydrataan vastaavaksi 1,2,3,4-tetrahydrokinolyyliryhmäksi, ja samalla, kun R₂ on aralkyyli, poistetaan tämä aralkyyyliryhmä hydrogenolyysilla, ja kun R₂ on alkyyliryhmä, hydrolysoidaan alkyyliesteri.

Menetelmä vaihtoehdossa a) nitror ryhmän ja oksikarbonyyliryhmän, esim. bentsyylioksikarbonyyli- ja p-nitrobentsyylioksikarbonyyli-ryhmän poisto, jotka ovat guanidinoryhmän suojarahminä, sekä aralkyyli-ryhmän poisto esteriryhmän alkoholiosana toteutetaan helposti hydrogenolyysilla.

Hydrogenolyysi ja hydraus suoritetaan samanaikaisesti inertissä liuottimessa, esim. alkoholeissa, kuten metanolissa, etanolissa tms; tai eetterissä, kuten tetrahydrofuraanissa, dioksaanissa tms. vetyä aktivoivan katalyytin, esim. Raney-niknelin, koboltin tai jalometallikatalyytin, kuten palladiumin, platinan, ruteenin, rodiumin ja mieluummin jalometallikatalyytin läsnäollessa vetyatmosfäärissä 0-200°C:ssa ja mieluummin 30-150°C:n lämpötilassa. Reaktioaika vaihtelee katalyytin, vetypaineen ja reaktiolämpötilan mukaan ja on yleensä 30 minuutista 120 tuntiin.

Yleensä vetypaine on välillä 1-200 kg/cm² ja mieluummin välillä 1-100 kg/cm². On välttämätöntä jatkaa hydrogenolyysiä ja hydrausta, kunnes stökiometrinen määrä vetyä on absorboitunut.

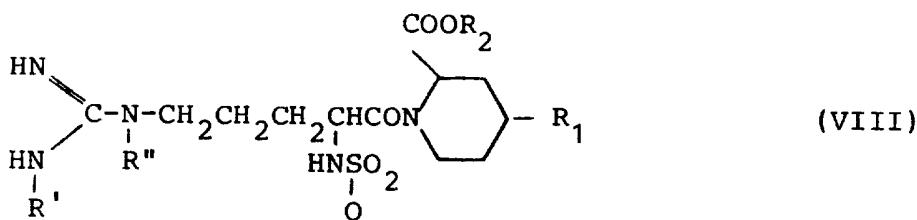
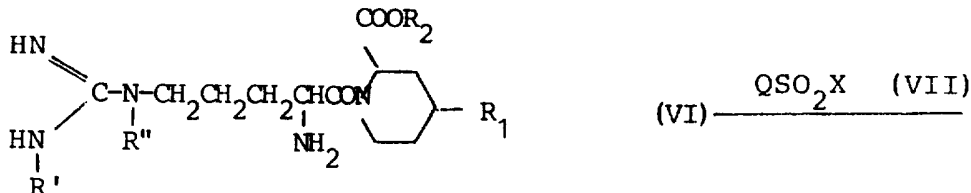
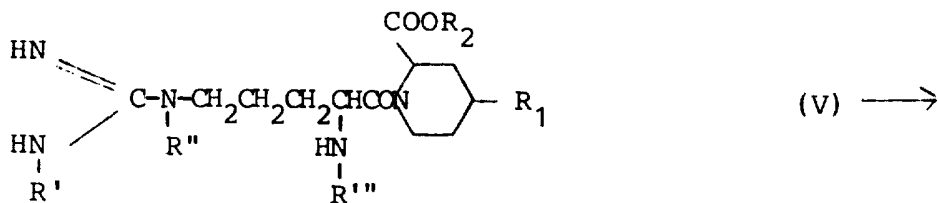
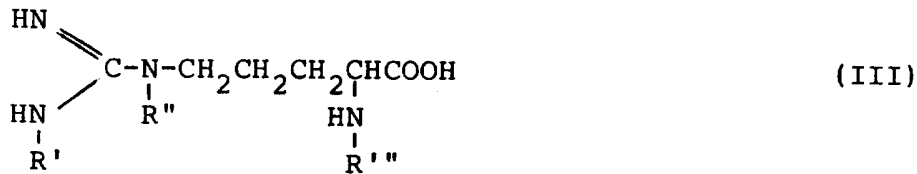
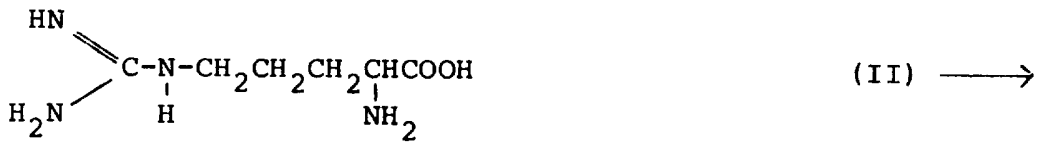
Orgaanisen hapon, esim. etikkahapon, propionihapon tai epäorgaanisen hapon, esim. kloorivetyhapon lisäys kiihdyttää reaktiota. Orgaanista happoa, kuten etikkahappoa voidaan käyttää myös yksin liuottimena.

Hydrolyysi voidaan suorittaa milloin tahansa, ts. ennen hydrogenolyysiä ja hydrausta, niiden aikana tai niiden jälkeen. Sen esteriryhmän hydrolyysi, jossa R₂ on alkyyl- tai aralkyyli-ryhmä (vain tapauksessa, jossa hydrolyysi suoritetaan ennen hydrogenolyysiä ja hydrausta) suoritetaan tavanomaisella menetelmällä käyttäen happoa, kuten mineraalihappoa (kloorivetyhappoa, rikkihappoa tms) tai emästä, kuten epäorgaanista emästä (natriumhydroksidi, kaliumhydroksidi, bariumhydroksidi, kaliumkarbonaatti).

Alkalinen hydrolyysi suoritetaan normaalista vedessä tai inertissä orgaanisessa liuottimessa, joka sisältää vettä (esim. alkoholissa, tetrahydrofuraanissa, dioksaanissa) 20-150°C:n lämpötilassa. Reaktioaika vaihtelee reaktio-olosuhteiden mukaan ja on normaalisti 5 minuutista 20 tuntiin.

Hapan hydrolyysi suoritetaan pelkässä vedessä tai inertissä orgaanisessa liuottimessa, joka sisältää vettä (esim. alkoholeissa, tetrahydrofuraanissa, dioksaanissa) lämpötilassa välillä 20-150°C aika, joka vaihtelee 30 minuutista 50 tuntiin.

Lähtöaineena käytetty 1-(N^G-substituoitu-N²-kinolyylisulfonyyli-L-arginyyli)-piperidiinikarboksyylihappo tai 1-(N^G-substituoitu-N²-kinolyylisulfonyyli-L-arginyyli)-2-piperidiinikarbosylaatti (VIII) voidaan valmistaa seuraavan reaktiokaavion mukaisesti.

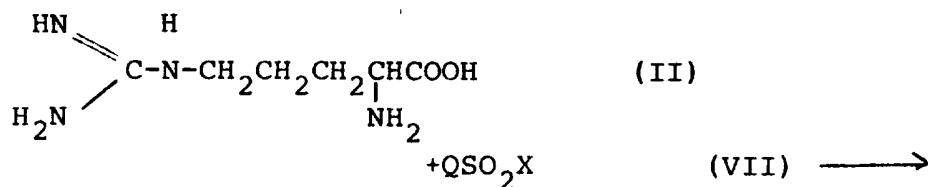


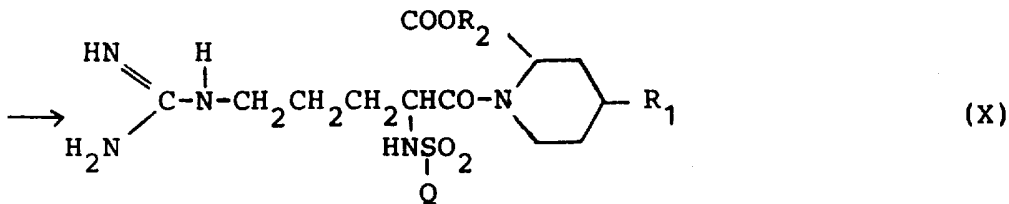
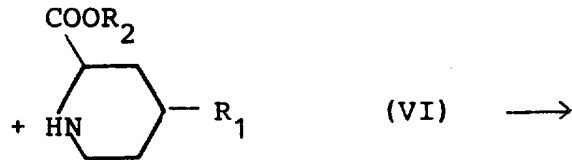
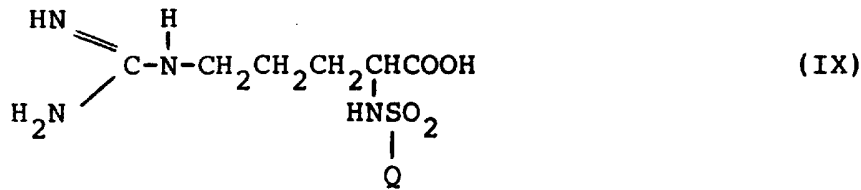
Yllä olevissa kaavoissa Ar, R₁, R₂, R', R" ja Q ovat samoja kuin yllä määriteltiin, X on halogeeniatomi ja R'" on α-aminoryhmän suojaryhmä, kuten bentsyylioksidikarbonyyli- tai tert.-butoksidikarbonyyliryhmä. Kun R' ja/tai R" ovat guanidinoryhmän suojarhmiä, ne voivat olla nitro-, tosyyli-, trityyli-, oksikarbonyyliryhmä yms. Kun R₂ on alempi alkyyliryhmä, tämä voi normaalisti sisältää 1-10 hiiliatomia, kuten metyyli- ja etyyli- ja kun R₂ on aral-kyyliryhmä, tämä voi normaalisti sisältää 7-15 hiiliatomia, kuten bentsyyli- ja fenetyyliryhmä.

N^G-substituoitu-N²-substituoitu-L-arginiini (III) (yleensä N^G-substituentti on nitro- tai asyyli- ja N²-substituentti on aminoryhmän suojaryhmä, kuten bentsyylioksidikarbonyyli-, tert.-butoksidikarbonyyliryhmä tms.) tai sen reaktiokykyinen johdannainen, kuten happohalidi, happoatsidi, aktivoitu esteri tai sekahiilihappoanhydridi ja vastaava aminohappojohdannainen (IV) tai sen reaktiokykyinen johdannainen, kuten mono- tai disilyyli-johdannainen kondensoidaan tarvittaessa kondensointiaineen, kuten karbodiimidin läsnäollessa, poistetaan selektiivisesti vain N^G-substituoitu-N²-substituoitu-L-arginiiniamidin (V) N²-substituentti katalyyttisen hydrogenolyysin tai happolyysin avulla ja kondensoidaan sitten näin saatu N^G-substituoitu-L-arginiiniamidi (VI) kinoliinisulfonyylihalidin (VII), mieluummin kloridin kanssa emäksen läsnäollessa liuotuksessa.

Menetelmävaihtoehdossa b) olosuhteet, joissa hydraus ja hydrogenolyysi suoritetaan, ovat oleellisesti samat kuin ne, joita kuvataan 1-(N^G-substituoitu N²-kinoliinisulfonyyli-L-arginyyli)-2-piperidiinikarboksyylihappojen tai niiden esterien (VIII) hyd-rauksessa ja hydrogenolyysissä.

Lähtöaineena käytetty N²-kinoliinisulfonyyli-L-arginiiniamidi (X) voidaan valmistaa seuraavan reaktiokaavion mukaisesti.





Yllä olevissa kaavoissa R_1 , R_2 , Q ja X ovat samoja kuin yllä määriteltiin.

N^2 -kinoliinisulfonyyli-L-arginiini (IX) tai sen reaktiokykyinen johdannainen, kuten happohalidi, happoatsidi, aktivoitu esteri (esim. p-nitrofenyyliesteri) tai sekahiilihappoanhydridi ja vastaava aminohappojohdannainen (IV) tai sen reaktiokykyinen johdannainen kuten mono- tai disilyyli johdannainen kondensoidaan, tarvittaessa kondensointiaineen, kuten karbodiimidin (esim. 1,3-disykloheksyylikarbodiimidin) läsnäollessa.

Usein on vaivattomampaa ja käytännöllisempää käyttää N^2 -kinolyyli-sulfonyyli-L-arginiinin (IX) reaktiokykyistä johdannaista liuoksen muodossa, jossa ne valmistetaan. Olosuhteet, joissa kondensaatio suoritettaisiin, ovat alaan perehtyneille ilmeisiä.

N^2 -kinoliinisulfonyyli-L-arginiini (IX) voidaan valmistaa kondensoimalla L-arginiinia (II) oleellisesti ekvimolaarisen määrän kanssa kinoliinisulfonyylihalidia (VII), mieluummin kloridia emäksen läsnäollessa liuottimessa.

Näin saadut N^2 -aryylisulfonyyli-L-arginiiniamidit (I) eristetään ja puhdistetaan tavanomaisin keinoin. Ne eristetään esimerkiksi suodattamalla katalyytti ja haihduttamalla sen jälkeen liuotin ja puhdistetaan sitten hiertämällä tai kiteyttämällä uudelleen sopivasta liuottimesta, kuten dietyylieetteri-tetrahydrofuraanista, dietyylieetteri-metanolista ja vesi-metanolista tai se voidaan kromatografoida pihappogeelillä tai alumiinioksidilla.

Lähtien (2R,4R)-4-alkyyli-2-piperidiinikarboksyylihapoista tai niiden estereistä (2R,4R)-1-(N^2 -1,2,3,4-tetrahydro-8-kinoliini-sulfonyyli-L-arginyyli)-4-alkyyli-2-piperidiinikarboksyylihapot voidaan valmistaa yllä kuvatuilla menetelmillä.

Tämän keksinnön N^2 -aryylisulfonyyli-L-arginiiniamidi (I) muodostaa happoadditiosuoloja minkä tahansa kanssa joukosta epäorgaanisia ja orgaanisia happoja. Ne muodostavat suoloja myös minkä tahansa kanssa joukosta epäorgaanisia ja orgaanisia emäksiä.

Yllä kuvattujen reaktioiden tuote voidaan eristää vapaassa muodossa tai suolojen muodossa. Lisäksi tuote voidaan saada farmaseuttisesti hyväksyttävänä happolisäyssuoloina antamalla yhden vapaista emäksistä reagoida hapon, kuten kloorivety-, bromivety-, jodivety-, typpi-, rikki-, fosfori-, etikka-, sitruuna-, maleiini-, meripihka-, maito-, viini-, glukoni-, betsoe-, metaanisulfony-, etaanisulfony-, bentseenisulfony-, p-tolu-eenisulfonyhapon tms. kanssa. Samalla tavoin tuote voidaan saada farmaseuttisesti hyväksyttävänä suoloina antamalla jonkin vapaista karboksyylihapoista reagoida emäksen, kuten natriumhydroksidin, kaliumhydroksidin, ammoniumhydroksidin, trietyyliamiinin, prokaiinin, dibentsyyliamiinin, 1-efenamiinin- N,N' -dibentsyylietyleenidiamiinin, N -etyylipiperidiinin tms. kanssa.

Samalla tavoin suolojen käsittely emäksellä tai hapolla johtaa vapaan amidin regeneroitumiseen.

Kuten yllä mainittiin tämän keksinnön N^2 -aryylisulfonyyli-L-arginiiniamideille ja näiden suoloille on luonteenomaista niiden erittäin spesifinen hillitsevä aktiivisuus nisäkkäillä veritulppaa vastaan sekä niiden oleellinen myrkyttömyys ja tämän vuoksi nämä yhdisteet ovat hyödyllisiä veressä olevan hyytymän määrityksessä diagnostisina reagensseina ja/tai verisuonten tukkeutumisen lääkinnällisessä hillinnässä tai estämisessä.

Tämän keksinnön yhdisteet ovat hyödyllisiä myös hiutalekasautumien estäjinä.

Tämän keksinnön N^2 -aryylisulfonyyli-L-arginiiniamidin veritulppaa vastustavaa aktiivisuutta verrattiin tunnetun veritulppaa vastustavan aineen, N^2 -(p-tolyylisulfonyyli)-L-arginiinimetyyliesterin aktiivisuuden määrittämällä fibrinogeenin koaguloitumisaika. Fibrinogeenin koaguloitumisajan mittaus suoritettiin seuraavasti:

0,8 ml:n jae fibrinogeeniliuosta, joka oli valmistettu liuottamalla 150 mg fibrinogeenia (Cohn-jae I), toimittaja Armour Inc., 40 ml:an boraattisuolapuskuria (pH 7,4) sekoitettiin 0,1 ml:an boraattisuolapuskuria, pH 7,4 (vertailu) tai näyteliuosta samassa puskurissa ja 0,1 ml veritulppaliuosta (5 yksikköä/ml), toimittaja Mochida Pharmaceutical Co. Ltd. lisättiin liuoksiin jäähautteella.

Välittömästi sekoituksen jälkeen reaktioseos siirrettiin jäähautteelta hauteelle, jota pidettiin 25°C :ssa. Koaguloitumisajoiksi otettiin ajanjakso 25°C :n hauteeseen siirtämishetken ja sen hetken välillä, kun ensimmäiset fibriinilangat ilmestyivät näkyviin. Tapauksissa, joissa mitään lääkeainenäytteitä ei lisätty, koaguloitumisaika oli 50-55 sekuntia.

Koetulokset on koottu taulukkoon 1. Sanonta "väkevyys, joka vaaditaan koaguloitumisajan pidentämiseen kertoimella kaksi" on aktiivisen aineosan väkevyys, joka vaaditaan pidentämään normaali koaguloitumisaika 50-55 sekuntia 100-110 sekuntiin.

Väkevyys, joka vaadittiin koaguloitumisajan pidentämiseen kertoimella kaksi tunnetulla verisuonten tukkeutumista estävällä aineella, N^2 -(p-tolyylisulfonyyli)-L-arginiinimetyyliesterillä, oli 1100 μmol . Inhibiittorit esitetään taulukossa 1 ilmoittamalla R ja Ar kaavassa (I) ja lisäosa.

Kun liuosta, joka sisälsi tämän keksinnön N^2 -aryylisulfonyyli-L-arginiiniamidia annettiin suonensisäisesti eläinruumiisiin, suuri verisuonten tukkeutumista vastustava aktiivisuus kiertävässä veressä säilyi 1-3 tuntia. Tämän keksinnön verisuonten tukkeutumista vastustavien yhdisteiden hajaantumisen puoliintumisajan kiertävässä veressä osoitettiin olevan suunnilleen 60 minuuttia; isäntäeläinten (rottien, kaniinin, koiran ja simpanssin) fysiologiset olosuhteet säilyivät hyvin. Fibrinogeenin kokeellinen väheneminen eläimillä, joka aiheutettiin ruiskuttamalla hyytymää, hallittiin tyydyttävästi ruiskuttamalla samanaikaisesti tämän keksinnön yhdisteitä.

Akuutit myrkyllisyysarvot (LD_{50}), jotka määritettiin antamalla suonensisäisesti kaavan I aineita hiirille (koiras 20 g) vaihtelevat välillä n. 1-0-500 mg/kg ruumiinpainoa.

Edustavat LD_{50} -arvot $1-\sqrt{N}^2$ -(1,2,3,4-tetrahydro-8-kinoliinisulfonyyli)-L-arginyyli-7-4-metyyli-2-piperidiinikarboksylihapolle, $1-\sqrt{N}^2$ -(3-metyyli-1,2,3,4-tetrahydro-8-kinoliinisulfonyyli)-L-arginyyli-7-4-metyyli-2-piperidiinikarboksylihapolle, $1-\sqrt{N}^2$ -(3-etyyli-1,2,3,4-tetrahydro-8-kinoliinisulfonyyli)-L-arginyyli-7-4-metyyli-2-piperidiinikarboksylihapolle, $1-\sqrt{N}^2$ -(1,2,3,4-tetrahydro-8-kinoliinisulfonyyli)-L-arginyyli-7-4-etyyli-2-piperidiinikarboksylihapolle ja (2R,4R)- $1-N^2$ -(3-metyyli-1,2,3,4-tetrahydro-8-kinoliinisulfonyyli)-L-arginyyli-4-metyyli-2-piperidiinikarboksylihapolle ovat 191, 264, 322, 132 ja 210 mg/kg samassa järjestyksessä.

Toisaalta LD_{50} -arvot N^2 -dansyyli-N-butylyli-L-arginiiniamidille ja N^2 -dansyyli-N-metyyli-N-butylyli-L-arginiiniamidille ovat 10 ja 5 mg/kg samassa järjestyksessä.

Suun kautta annettujen N^2 -substituoitujen L-arginiiniamidijohdannaisten vaikutus etikkahappokäsittelyllä aiheutettuun tukosten muodostumiseen kaneissa tutkittiin.

Uroskanien, joiden paino oli 2,6-2,9 kg, molemminpuolinen yhteinen päävaltimo paljastettiin varovasti ympäröivästä kudoksesta

ainakin 20 mm:n pituudelta. Paljastetun päävaltimon ympärille sovitettiin hylsyssä olevaa absorboivaa pumpulia. Sitten pumpuli kyllästettiin 90 %:sella etikkahapolla. Kolmen tunnin kuluttua kyllästämisestä päävaltimon palat katkaistiin ainakin 5 mm:n päässä hylsyn kummastakin päästä, leikattiin pituussuunnassa auki ja kiinnitettiin neuloilla pieneen levyyn. Tukosten muodostumisaste todettiin mikroskoopilla ja luokiteltiin sen mukaan kuinka suuri prosentuaalinen alue etikkahapolla vaurioitetun päävaltimon kokonaispinta-alasta oli tukosten peittämä seuraavasti: yli 70 %: suuri tukos, 31-69 %: keskikokoinen tukos, alle 30 %: pieni tukos ja 0 %: ei tukosta.

Näiden yhdisteiden hapanta liuosta, jotka oli tehty liukoiseksi lisäämällä tipottain 1 M HCl, annettiin suun kautta kaneille, jotka olivat paastonneet kaksi päivää, ja 30 min myöhemmin käsiteltiin päävaltimoita 90 %:sella etikkahapolla.

Tulokset on esitetty jäljempänä taulukossa 2. Tutkituista yhdisteistä vain N^2 -(3-metyyli-1,2,3,4-tetrahydro-8-kinoliini-sulfonyyli)-L-arginiinijohdannaiset osoittivat tukosten muodostumista ehkäisevää vaikutusta 10 tai 40 mg/kg annoksina. Stereoisomeeri, jonka karboksamidiosassa oli (2R,4R) 4-metyyli-2-pipekoliinihappo, oli tehokkaampi kuin neljän isomeerin seos, sillä ensinmainitun teho 10 mg/kg:n annoksena oli selvempi kuin jälkimmäisen. Kaikki muut yhdisteet eivät osoittaneet merkittävää vaikutusta 40 mg/kg:n annoksena. Täten N^2 -(1,2,3,4-tetrahydro-8-kinoliini-sulfonyyli)-L-arginiinijohdannaiset olivat tehokkaampia suun kautta annettuina kuin N^2 -(8-kinoliinisulfonyyli)-L-arginiinijohdannaiset ja muut yhdisteet.

Tämän keksinnön terapeuttisia aineita voidaan antaa nisäkkäille ihminen mukaanluettuna yksin tai yhdessä farmaseuttisesti hyväksyttävien kantoaineiden kanssa, joiden suhteen määräävät yhdisteen liukoisuus ja kemiallinen luonne, valittu antotapa ja standardi farmaseuttinen käytäntö.

Yhdisteet voidaan esimerkiksi ruiskuttaa ruoansulatuskanavan ulkopuolisesti, ts. lihaksensisäisesti, suonensisäisesti tai ihonalaisesti. Ruoansulatuskanavan ulkopuolisesti annettaessa yhdisteitä voidaan

käyttää steriilien liuosten muodossa, jotka sisältävät muita liuotteita, esimerkiksi riittävästi suolaa tai glukoosia liuoksen tekemiseksi isotoniseksi. Yhdisteitä voidaan antaa oraalisesti tablettien, kapseleiden tai rakeiden muodossa, jotka sisältävät sopivia apuaineita, kuten tärkkelystä, laktoosia, valkosokeria yms.

Yhdisteitä voidaan antaa kielenalaisesti keila- tai vinoneliötablettien muodossa, joissa aktiivinen aineosa on sekoitettu sokeriin tai maissisiirappeihin, mauste- ja väriaineisiin ja kuivattu sitten riittävästi seoksen tekemiseksi sopivaksi puristettavaksi kiinteään muotoon. Yhdisteitä voidaan antaa oraalisesti liuosten muodossa, jotka voivat sisältää värjäys- ja mausteaineita. Lääkärit määräävät näiden terapeuttisten aineiden annoksen, joka on sopivin ihmisille ja annokset vaihtelevat valitun antotavan ja kulloisenkin yhdisteen mukaan. Lisäksi annos vaihtelee kulloinkin hoidossa olevan potilaan mukaan.

Kun seosta annetaan oraalisesti, tarvitaan suurempi määrä aktiivista ainetta aikaansaamaan sama vaikutus kuin ruoansulatuskanavan ulkopuolisesti annettu pienempi määrä aiheuttaa.

Terapeuttinen annos on yleensä 10-50 mg/kg aktiivista aineosaa ruoansulatuskanavan ulkopuolisesti ja 10-500 mg/kg oraalisesti päivässä.

Kun keksintöä on kuvattu nyt yleisesti, voidaan täydellisempi ymmärtämys saavuttaa viittaamalla tiettyihin tyypillisiin esimerkkeihin, jotka on liitetty mukaan.

Esimerkki 1

(A) Etyyli-1- \overline{N}^G -nitro- N^2 -(tert.-butoksykarbonyyli)-L-arginyyli-7-4-metyyli-2-piperidiinikarboksyylaatti

Sekoitettuun liuokseen, jossa oli 28,3 g \overline{N}^G -nitro- N^2 -(tert.-butoksykarbonyyli)-L-arginiinia 450 ml:ssa kuivaa tetrahydrofuraania, li-

sättiin vuorollaan 9,0 g trietyyliamiinia ja 12,2 g isobutyliklooriformaattia pitäen samalla lämpötila -20°C :ssa. 10 minuutin kuluttua lisättiin 15,2 g 4-metyyli-2-piperidiinikarboksyylihaptoetyyliesteriä ja seosta hämmennettiin 10 minuuttia -20°C :ssa. Tämän ajan päätyttyä reaktioseos lämmitettiin huoneenlämpötilaan. Liuotin haihdutettiin ja jäännös liuotettiin 400 ml:aan etyyliasetaattia ja pestiin peräkkäin 200 ml:lla vettä, 100 ml:lla 5 %:sta natriumbikarbonaattiliuosta, 100 ml:lla 10 %:sta sitruunahappoliuosta ja 200 ml:lla vettä. Etyyliasetattiliuos kuivattiin vedettömällä natriumsulfaatilla. Liuos haihdutettiin, jolloin saatiin 31,5 g (75 %) etyyli-1- $\bar{\text{N}}^{\text{G}}$ -nitro- N^2 -(tert.-butyylikarbonyyli)-L-arginyyli-7-4-metyyli-2-piperidiinikarboksylaattia siirapin muodossa. IR (KBr): 3300, 1730, 1680 cm^{-1} .

(B) Etyyli-1-(N^{G} -nitro-L-arginyyli)-4-metyyli-2-piperidiinikarboksylaatin hydrokloridi

Sekoitettuun liuokseen, jossa oli 30 g etyyli-1- $\bar{\text{N}}^{\text{G}}$ -nitro- N^2 -(tert.-butoksykarbonyyli)-L-arginyyli-7-4-metyyli-2-piperidiinikarboksylaattia 50 ml:ssa etyyliasetaattia, lisättiin 80 ml 10 %:sta kuivaa HCl-etyyliasetaattia 0°C :ssa. Kolmen tunnin kuluttua tähän liuokseen lisättiin 200 ml kuivaa etyylietteriä viskoosin öljymäisen tuotteen saostamiseksi.

Tämä suodatettiin ja pestiin kuivalla etyylietterillä, jolloin saatiin etyyli-1-(N^{G} -nitro-L-arginyyli)-4-metyyli-2-piperidiinikarboksylaatin hydrokloridia amorfisena kiinteänä aineena.

(C) Etyyli-1- $\bar{\text{N}}^{\text{G}}$ -nitro- N^2 -(3-metyyli-8-kinolyyliisulfonyyli)-L-arginyyli-7-4-metyyli-2-piperidiinikarboksylaatti

Sekoitettuun liuokseen, jossa oli 25 g etyyli-1-(N^{G} -nitro-L-arginyyli)-4-metyyli-2-piperidiinikarboksylaatin hydrokloridia 200 ml:ssa kloroformia, lisättiin vuorollaan 18,5 g trietyyliamiinia ja 14,7 g 3-metyyli-8-kinoliinisulfonyylikloridia 5°C :ssa ja sekoitusta jatkettiin 3 tuntia huoneenlämmössä. Tämän ajan kuluttua liuos pestiin kahdesti 50 ml:lla vettä.

Kloroformiliuos kuivattiin vedettömällä natriumsulfaatilla. Kun liuotin oli haihdutettu, jäännös kromatografoitiin 50 g:lla piihappogeeliä pakattuna kloroformiin, pestiin kloroformilla ja eluoitiin 3 %:sella metanoli-kloroformilla. Jae, joka eluoitiin 3 %:sta metanoli-kloroformista, haihdutettiin, jolloin saatiin 32,1 g (91 %) etyyli-1- $\bar{\text{N}}^{\text{G}}$ -nitro- N^2 -(3-metyyli-8-kinoliinisulfonyyli)-L-arginyy-

1-4-metyyli-2-piperidiinikarboksyylaattia amorfisen kiinteän aineen muodossa.

IR (KBr): 3250, 1725, 1640 cm^{-1} .

(D) 1- $\overline{\text{N}}^{\text{G}}$ -nitro- N^2 -(3-metyyli-8-kinoliinisulfonyyli)-L-arginyyli-7-4-metyyli-2-piperidiinikarboksyylihappo

Liuosta, jossa oli 30 g etyyli-1- $\overline{\text{N}}^{\text{G}}$ -nitro- N^2 -(3-metyyli-8-kinoliinisulfonyyli)-L-arginyyli-7-4-metyyli-2-piperidiinikarboksyylaattia 100 ml:ssa etanolia ja 100 ml:ssa 1-N natriumhydroksidiliuosta, sekoitettiin 24 tuntia huoneenlämpötilassa. Tämän ajan kuluttua liuos neutraloitiin 1-N kloorivetyhapolla ja väkevöitiin sitten 70 ml:ksi.

Liuos säädettiin pH-arvoon 11 1-N natriumhydroksidiliuoksella, pestiin kolme kertaa 100 ml:lla etyyliasetaattia, hapotettiin 1-N kloorivetyhapolla ja uutettiin sitten kolme kertaa 100 ml:lla kloroformia. Yhdistetyt kloroformiliuokset kuivattiin vedettömällä natriumsulfaattilla ja haihdutettiin, jolloin saatiin 28,0 g (97 %) 1- $\overline{\text{N}}^{\text{G}}$ -nitro- N^2 -(3-metyyli-8-kinoliinisulfonyyli)-L-arginyyli-7-4-metyyli-2-piperidiinikarboksyylihappoa amorfisena kiinteänä aineena.

IR (KBr): 3300, 1720, 1630 cm^{-1} .

Analyysi: laskemalla kaavasta $\text{C}_{23}\text{H}_{31}\text{N}_7\text{O}_7\text{S}$ (%): C 50,26; H 5,69; N 17,84
Kokeellisesti: (%) C 50,00; H 5,50; N 17,49.

(E) 1- $\overline{\text{N}}^2$ -(3-metyyli-1,2,3,4-tetrahydro-8-kinoliinisulfonyyli)-L-arginyyli-7-4-metyyli-2-piperidiinikarboksyylihappo

Liuokseen, jossa oli 3,00 g 1- $\overline{\text{N}}^{\text{G}}$ -nitro- N^2 -(3-metyyli-8-kinoliinisulfonyyli)-L-arginyyli-7-4-metyyli-2-piperidiinikarboksyylihappoa 50 ml:ssa etanolia, lisättiin 0,5 g palladiummustaa ja seosta ravisteltiin sitten 10 kg/cm^2 :n vetypaineessa 100°C:ssa 8 tuntia. Tämän ajan kuluttua etanoliliuos suodatettiin katalyytin poistamiseksi ja haihdutettiin, jolloin saatiin 2,50 g (90 %) 1- $\overline{\text{N}}$ -(3-metyyli-1,2,3,4-tetrahydro-8-kinoliinisulfonyyli)-L-arginyyli-7-4-metyyli-2-piperidiinikarboksyylihappoa amorfisena kiinteänä aineena.

IR (KBr): 3400, 1620, 1460, 1380 cm^{-1} .

NMR: 100 MHz CD_3OD :ssa: δ -arvo: 6,5 (tripletti 1H) 7,1 (dupletti 1H), 7,4 (dupletti 1H).

Analyysi, laskemalla kaavasta $\text{C}_{23}\text{H}_{36}\text{N}_6\text{O}_5\text{S}$ (%):

C 54,31; H 7,13; N 16,52

kokeellisesti (%): C 54,01; H 6,98; N 16,61.

Esimerkki 2Valmistus

Etyyli-(2R,4R)-4-metyyli-2-piperidiinikarboksylaatti

1. Etyyli-4-metyyli-2-piperidiinikarboksylaatin trans- ja cis-
muotojen fraktiointi

Etyyli-4-metyyli-2-piperidiinikarboksylaatin trans- ja cis-muodot fraktioitiin tislaamalla tyhjössä. Trans-muoto: kp. 83-85°C/7 mm Hg:
Cis-muoto: kp. 107-108°C/5 mm Hg.

2. Trans-muodon optinen resoluutio

Raseeminen etyyli-4-metyyli-2-piperidiinikarboksylaatti (trans-muoto) hydrolysoitiin keittämällä ylimäärin olevalla väkevällä HCl:lla 4 tuntia, jolloin saatiin 4-metyyli-2-piperidiinikarboksyylihappo·HCl. Aminohappo·HCl suolan poisto suoritettiin kromatograafisesti käyttäen H-muodossa olevaa ioninvaihtohartsia (Diaion SK-112, valmistaja Mitsubishi Chemical Industries Limited) tavallisella menetelmällä, jolloin saatiin raseemista 4-metyyli-2-piperidiinikarboksyylihappoa. Raseemisen aminohapon (143,2 g) liuokseen kiehu- vassa 95 %:sessa etyylialkoholissa (2900 ml) lisättiin L-viinihappoa (150 g). Jäähtymisen jälkeen saostunut suola (145,9 g) kerättiin talteen suodattamalla. Epäpuhtaat kiteet kiteytettiin uudelleen 90 %:sesta etyylialkoholista (1000 ml), jolloin saatiin (2R,4R)-4-metyyli-2-piperidiinikarboksyylihappo-L-viinihappoa, sp. 183,9-185,0°C, $[\alpha]_D^{26} = +4,4$ (C = 10 H₂O:ssa).

Analyysi, laskemalla kaavasta C₁₁H₁₉NO₈ (%):

C 45,05; H 6,53; N 4,77

kokeellisesti (%): C 45,12; H 6,48; N 4,70.

Molekyylin absoluuttinen konfiguraatio todettiin kiteen röntgensädeanalyysillä, joka on molekyylin ja L-viinihapon 1:1-kompleksi. Tuote kromatografoitiin 2000 ml:lla Diaion SK-112 ioninvaihtohartsia, joka oli pakattu veteen, pestiin vedellä ja eluoitiin 3 %:sella ammoniumhydroksidiliuoksella. Jae, joka eluoitiin 4 %:sesta ammoniumhydroksidiliuoksesta, haihdutettiin kuiviin, jolloin saatiin (2R,4R)-4-metyyli-2-piperidiinikarboksyylihappoa (63,0 g) jauhemaisena kiteenä. Tuotteen uudelleenkiteytys EtOH-H₂O:sta tuotti vastavaa aminohappoa (2R,4R)-4-metyyli-2-piperidiinikarboksyylihappoa, sp. 275,0-277,8°C, $[\alpha]_D^{18} = -18,0$ (C = 10 2-N HCl).

Analyysi, laskemalla kaavasta $C_7H_{13}NO_2$ (%):

C 58,72; H 9,15; N 9,78.

Kokeellisesti: C 58,80; H 9,09; N 9,71.

3. Etyyli-(2R,4R)-4-metyyli-2-piperidiinikarboksylaatin valmistus
Tionyylikloridia (128,6 g) lisättiin tipottain sekoitettuun suspensioon, jossa oli (2R,4R)-4-metyyli-2-piperidiinikarboksyylihappoa (51,6 g) absoluuttisessa etyylialkoholissa (690 ml) alle 30°C:ssa ja sekoitusta jatkettiin 1 tunti huoneenlämpötilassa ja sitten 1 tunti refluksoiden. Kun liuotin oli haihdutettu, jäännös liuotettiin bentseeniin (500 ml), pestiin 5 %:sella K_2CO_3 -liuoksella (100 ml) ja kyllästetyllä NaCl-liuoksella (200 ml) ja kuivattiin vedettömällä Na_2SO_4 :lla. Kun bentseeni oli haihdutettu, jäännös tislattiin tyhjössä, jolloin saatiin etyyli-(2R,4R)-4-metyyli-2-piperidiinikarboksylaattia (57,4 g), kp. 83-85°C/7 mm Hg, $[\alpha]_D^{22} = -24,0$ (C = 5 EtOH:ssa).

Analyysi laskemalla kaavasta $C_{19}H_{17}NO_2$ (%):

C 63,13; H 10,00; N 8,18.

kokeellisesti (%): C 63,20; H 9,96; N 8,12.

(A) Etyyli-(2R,4R)-1- \overline{N}^G -nitro- N^2 -(tert.-butoksykarbonyyli)-L-arginyyli-7-4-metyyli-2-piperidiinikarboksylaatti

Sekoitettuun liuokseen, jossa oli 28,3 g \overline{N}^G -nitro- N^2 -(tert.-butoksykarbonyyli)-L-arginiinia 450 ml:ssa kuivaa tetrahydrofuraania, lisättiin vuorollaan 9,0 g trietyyliamiinia ja 12,2 g isobutyryliklooriformaattia pitäen samalla lämpötila -20°C:ssa. 10 minuutin kuluttua tähän lisättiin 15,2 g etyyli-(2R,4R)-4-metyyli-2-piperidiinikarboksylaattia ja seosta sekoitettiin 10 minuuttia -20°C:ssa. Tämän ajan kuluttua reaktioseos lämmitettiin huoneenlämpötilaan. Liuotin haihdutettiin ja jäännös liuotettiin 400 ml:an etyyliasetaattia ja pestiin peräkkäin 200 ml:lla vettä, 100 ml:lla 5 %:sta natriumbikarbonaattiliuosta, 100 ml:lla 10 %:sta sirtuunahappoliuosta ja 200 ml:lla vettä. Etyyliasetaattiliuos kuivattiin vedettömällä natriumsulfaattilla.

Liuos haihdutettiin, jolloin saatiin 31,3 g (74,5 %) etyyli-(2R,4R)-1- \overline{N}^G -nitro- N^2 -(tert.-butoksykarbonyyli)-L-arginyyli-7-4-metyyli-2-piperidiinikarboksylaattia siirapin muodossa.

IR (KBr): 3300, 1730, 1680 cm^{-1} .

(B) Etyyli-(2R,4R)-1-(N^G-nitro-L-arginyyli)-4-metyyli-2-piperidii-nikarboksyylaatin hydrokloridi

Sekoitettuun liuokseen, jossa oli 30 g etyyli(2R,4R)-1- \overline{N}^G -nitro-N²-(tert.-butoksykarbonyyli)-L-arginyyli-4-metyyli-2-piperidiinikarboksyylaattia 50 ml:ssa etyyliasetaattia, lisättiin 80 ml 10 %:sta kuivaa HCl-etyyliasetaattia 0°C:ssa. Kolmen tunnin kuluttua tähän liuokseen lisättiin 200 ml kuivaa etyylietteriä viskoosin, öljymäisen tuotteen saostamiseksi.

Tämä suodatettiin ja pestiin kuivalla etyylietterillä, jolloin saatiin etyyli-(2R,4R)-1-(N^G-nitro-L-arginyyli)-4-metyyli-2-piperidii-nikarboksyylaatin hydrokloridia amorfisena kiinteänä aineena.

(C) Etyyli-(2R,4R)-1- \overline{N}^G -nitro-N²-(3-metyyli-8-kinoliinisulfonyyli)-L-arginyyli-4-metyyli-2-piperidiinikarboksyylaatti

Sekoitettuun liuokseen, jossa oli 25 g etyyli-(2R,4R)-1-(N^G-nitro-L-arginyyli)-4-metyyli-2-piperidiinikarboksyylaatin hydrokloridia 200 ml:ssa kloroformia, lisättiin vuorollaan 18,5 g trietyyliamiinia ja 14,7 g 3-metyyli-8-kinoliinisulfonyylikloridia 5°C:ssa ja sekoitusta jatkettiin 3 tuntia huoneenlämpötilassa. Tämän ajan kuluttua liuos pestiin kahdesti 50 ml:lla vettä.

Kloroformiliuos kuivattiin vedettömällä natriumsulfaattilla. Kun liuos oli haihdutettu, jäännös kromatografoitiin 50 g:lla piihappogeeliä, joka oli pakattu kloroformiin, pestiin kloroformilla ja eluoitiin 3 %:sella metanoli-kloroformilla. Jae, joka eluoitiin 3 %:sesta metanoli-kloroformista, haihdutettiin, jolloin saatiin 32,5 g (92,1 %) etyyli-(2R,4R)-1- \overline{N}^G -nitro-N²-(3-metyyli-8-kinoliinisulfonyyli)-L-arginyyli-4-metyyli-2-piperidiinikarboksyylaattia amorfisen kiinteän aineen muodossa.

IR (KBr): 3250, 1725, 1640 cm⁻¹.

(D) (2R,4R)-1- \overline{N}^G -nitro-N²-(3-metyyli-8-kinoliinisulfonyyli)-L-arginyyli-4-metyyli-2-piperidiinikarboksyyliahappo

Liuosta, jossa oli 30 g etyyli-(2R,4R)-1- \overline{N}^G -nitro-N²-(3-metyyli-8-kinoliinisulfonyyli)-L-arginyyli-4-metyyli-2-piperidiinikarboksyylaattia 100 ml:ssa etanolia ja 100 ml:ssa 1-N natriumhydroksidiliuosta, sekoitettiin 24 tuntia huoneenlämpötilassa. Tämän ajan kuluttua liuos neutraloitiin 1-N kloorivetyhapossa ja väkevöitiin sitten 70 ml:ksi.

Liuos säädettiin pH-arvoon 11 1-N natriumhydroksidiliuoksella, pestiin 100 ml:lla etyyliasettaattia ja sitten 100 ml:lla kloroformia, joka oli hapotettu 1-N kloorivetyhapolla.

Saatu sakka suodatettiin ja pestiin 20 ml:lla vettä, jolloin saatiin 27 g (95 %:n saalis) (2R,4R)-1- \overline{N}^G -nitro- N^2 -(3-metyyli-8-kinoliinisulfonyyli)-L-arginyyli $\overline{7}$ -4-metyyli-2-piperidiinikarboksyylihappoa, sp. 211-213°C.

IR (KBr): 3280, 1720, 1620 cm^{-1} .

Analyysi, laskemalla kaavasta $\text{C}_{23}\text{H}_{31}\text{N}_7\text{O}_7\text{S}$ (%):

C 50,26; H 5,69; N 17,84

kokeellisesti (%): C 50,05; H 5,45; N 17,45.

(E) (2R,4R)-1- \overline{N}^2 -(3-metyyli-1,2,3,4-tetrahydro-8-kinoliinisulfonyyli)-L-arginyyli $\overline{7}$ -4-metyyli-2-piperidiinikarboksyylihappo

Liuokseen, jossa oli 3,00 g (2R,4R)-1- \overline{N}^G -nitro- N^2 -(3-metyyli-8-kinoliinisulfonyyli)-L-arginyyli $\overline{7}$ -4-metyyli-2-piperidiinikarboksyylihappoa 40 ml:ssa etanolia ja 10 ml:ssa etikkahappoa, lisättiin 0,3 g 5 %:sta palladium-hiilikatalyyttiä ja seosta ravisteltiin sitten 50 kg/cm^2 :n vetypaineessa 80°C:ssa 4 tuntia. Tämän ajan kuluessa liuos suodatettiin katalyytin poistamiseksi ja haihdutettiin.

Jäljelle jäänyttä viskoosia öljyä ravisteltiin seoksen kanssa, jossa oli 30 ml kyllästettyä natriumbikarbonaattiliuosta. Kloroformikerros pestiin 30 ml:lla vettä ja haihdutettiin. Saadut epäpuhtaat kiteet kiteytettiin uudelleen etanolista, jolloin saatiin 2,6 g (94 %:a saalis) (2R,4R)-1- \overline{N}^2 -(3-metyyli-1,2,3,4-tetrahydro-8-kinoliinisulfonyyli)-L-arginyyli $\overline{7}$ -4-metyyli-2-piperidiinikarboksyylihappoa, sp. 188-191°C.

IR (KBr): 3400, 1620, 1460, 1360 cm^{-1} .

NMR: 100 MHz CD_3OD :ssa δ -arvo: 6,5 (tripletti 1H), 7,1 (dupletti 1H), 7,4 (dupletti 1H).

Analyysi, laskemalla kaavasta $\text{C}_{23}\text{H}_{36}\text{N}_6\text{O}_5\text{S}$ (%):

C 54,31; H 7,13; N 16,52

kokeellisesti (%): C 54,05; H 6,94; N 16,65.

Esimerkki 3

(2R,4R)-1- \overline{N}^2 -(3-metyyli-1,2,3,4-tetrahydro-8-kinoliinisulfonyyli)-L-arginyyli $\overline{7}$ -4-metyyli-2-piperidiinikarboksyylihappo

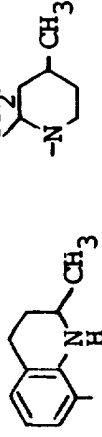
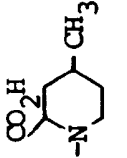
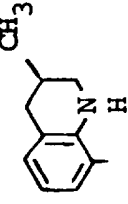
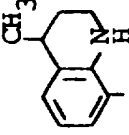
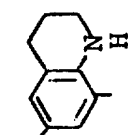
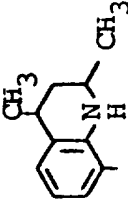
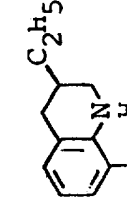
Lähtien etyyli-(2R,4R)-1- \overline{N}^G -nitro- N^2 -(3-metyyli-8-kinoliinisulfo-

nyyli)-L-arginyyli-4-metyyli-2-piperidiinikarboksylaatista, joka valmistettiin esimerkissä 2 (C), valmistettiin etyyli-(2R,4R)-1- \overline{N}^2 -(3-metyyli-1,2,3,4-tetrahydro-8-kinoliinisulfonyyli)-L-arginyyli-4-metyyli-2-piperidiinikarboksylaattia menettelyn mukaisesti, joka oli samanlainen kuin esimerkissä 2 (E) kuvattu.

Seosta, jossa oli 5 g etyyli-(2R,4R)-1- \overline{N}^2 -(3-metyyli-1,2,3,4-tetrahydro-8-kinoliinisulfonyyli)-L-arginyyli-4-metyyli-2-piperidiinikarboksylaattia, 50 ml etanolia ja 50 ml 1-N NaOH:n vesiliuosta, sekoitettiin huoneenlämpötilassa 24 tuntia. Tämän ajan kuluttua reaktioseos neutraloitiin 1-N HCl:n vesiliuoksella ja sen jälkeen etanoli tislattiin pois. Jäännös uutettiin 50 ml:lla $CHCl_3$:a ja pestiin vedellä. Kun liuotin oli haihdutettu, saatu sakka suodatettiin ja kiteytettiin uudelleen etanolista, jolloin saatiin 4,0 g (93 %:n saalis) (2R,4R)-1- \overline{N}^2 -(3-metyyli-1,2,3,4-tetrahydro-8-kinoliinisulfonyyli)-L-arginyyli-4-metyyli-2-piperidiinikarboksyli-happoa, sp. 188-191°C.

Erilaisia muita N^2 -aryylisulfonyyli-L-arginiiniamideja syntetisoitiin yllä olevien esimerkkien menettelyn mukaisesti ja koetulokset on koottu taulukkoon 1.

Taulukko 1

Näyte n:o	$\begin{array}{c} \text{H} \\ \\ \text{H}_2\text{N}=\text{C}-\text{N}-\text{CH}_2\text{CH}_2\text{CH}_2\text{CHO} \\ \\ \text{H}_2\text{N} \end{array}$	R	Väkevyytys, joka vaaditaan koa- guloitumisajan pidentämiseen kertoimella kaksi (μM)	Fysikaal- liset omi- naisuudet	Alkuaineanalyysi			N.M.R. δ -arvo (ppm) (CD_3OD)		
					Ylempi: laskettu	I.R. (KBr) (cm^{-1})	N.M.R. δ -arvo (ppm) (CD_3OD)			
		Ar	C	H	N					
1			0,45	jauhe	54,31	7,13	16,52	3380	1620	6,5 (t, 1H) 7,1 (d, 1H)
2		"	0,08	"	54,01	6,98	16,61	1460	1380	7,1 (d, 1H) 7,4 (d, 1H)
3		"	0,2	"	54,31	7,13	16,52	3380	1620	6,5 (t, 1H) 7,2 (d, 1H)
4		"	1,8	"	54,31	7,13	16,52	3380	1620	6,9 (s, 1H) 7,4 (d, 1H)
5		"	5,5	"	54,28	7,13	16,40	1380	1285	7,3 (s, 1H) 6,5 (t, 1H) 7,1 (t, 1H)
6		"	0,06	"	55,15	7,33	16,08	3350	1620	6,6 (t, 1H) 7,2 (d, 1H) 7,4 (d, 1H)

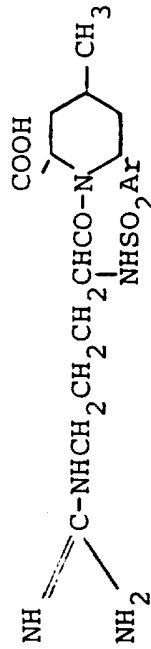
Taulukko 1 (jatkoa)

Näyte n:o	$\begin{array}{c} \text{HN} \\ \text{H}_2\text{N} \end{array} \text{C} = \text{N} - \text{CH}_2 - \text{CH}_2 - \text{CH}_2 - \text{CH}_2 - \text{COOR}$ $\text{H-N-SO}_2\text{Ar}$	Ar	R	Väkevyyys, joka vaaditaan koa- guloitumisajan pidentämiseen kertoimella kaksi (μM)	Fysikaa- liset omi- naisuudet	Alkuaineanalyysi			I.R. (KBr) (cm^{-1})	N.M.R. δ -arvo (ppm) (CD_3OD)	
						Ylempi: laskettu	C	H			N
7				0,45	jauhe	53,42	6,93	16,99	3380	1620	6,6 (d, 1H)
8				0,45	"	54,31	7,13	16,52	3380	1620	6,6 (d, 1H)
9				"	"	54,20	7,19	16,41	1460	1380	7,1 (d, 1H)
10				"	"	55,15	7,33	16,08	3380	1620	6,5 (t, 1H)
11				"	"	55,07	7,03	16,38	1460	1380	7,2 (d, 1H)
12				0,02	s.p. 188-191°C	55,95	7,51	15,66	3380	1620	6,5 (t, 1H)
					"	55,69	7,28	15,51	1460	1380	7,2 (d, 1H)
					"	53,42	6,93	16,99	3380	1620	6,6 (d, 1H)
					"	53,28	6,63	16,69	1460	1380	7,1 (d, 1H)
					"	54,31	7,13	16,52	3400	1620	6,5 (t, 1H)
					"	54,05	6,94	16,65	1460	1380	7,1 (d, 1H)
					"						7,4 (d, 1H)

* edustaa asymmetrista hiiliatomia

Taulukko 2

Suun kautta annettujen N²-substituoitujen L-arginyyli-4-metyyli-2-piperidiinikarboksyylilihappojohdannaisten vaikutus etikkahappokäsittelyllä aiheutettuun tukosten muodostumiseen kaneissa



No	Ar	Annos mg/kg	Kaniin lukumäärä	Tukoksen koko*			N	
				O	L	M		
1		10 40	5 5	1 0	4 1	2 2	3 7	0 0
2		10 40	5 5	0 0	2 0	4 2	4 6	0 2
3		40	5	1	6	2	1	0
4		40	5	0	8	2	0	0
5		40	5	1	6	3	0	0
6		40	5	1	5	3	1	0
7		0	44	8	56	21	3	0

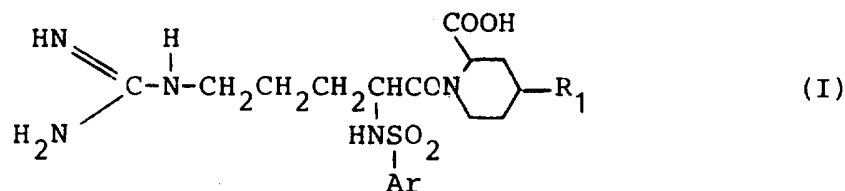
Vertailu

*: O: Tukkeava, L: Suuri, M: Keskikokoinen, S: Pieni, N: Ei tukosta.

** : (2R,4R) 4-metyyli-2-piperidiinikarboksyyliliippo karboksiamidiosassa.

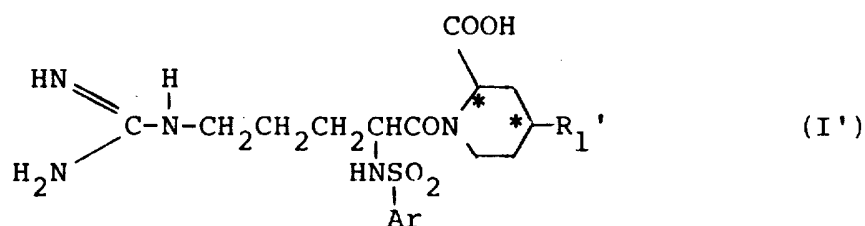
Patenttivaatimus

Menetelmä farmaseuttisesti aktiivisen N^2 -aryylisulfonyyli-L-arginiiniamidin, jolla on kaava (I):

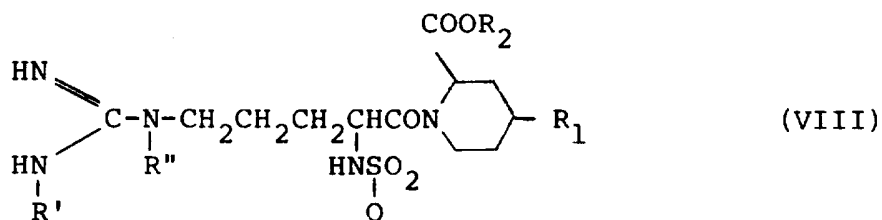


jossa R_1 on vety tai C_1 - C_5 -alkyyli, ja

Ar on 1,2,3,4-tetrahydro-8-kinolyyli, joka mahdollisesti on substituoitu ainakin yhdellä C_1 - C_5 -alkyyllillä, tai (2R,4R)-1-(N^2 -aryylisulfonyyli-L-arginyyli)-4-alkyyli-2-piperidiinikarboksyylihapon, jolla on kaava (I'):

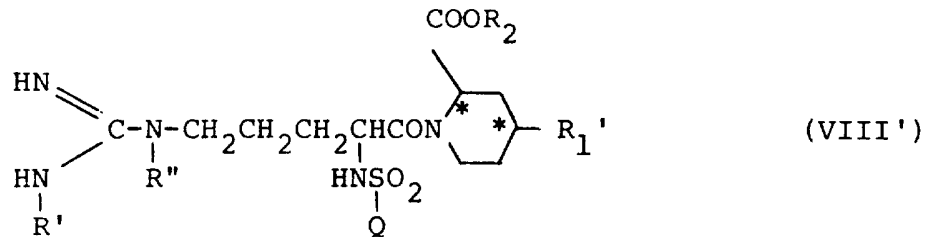


jossa Ar tarkoittaa samaa kuin kaavassa (I), R_1' on C_1 - C_5 -alkyyli ja * tarkoittaa epäsymmetristä hiiliatomia, tai näiden farmaseuttisesti hyväksyttävän suolan valmistamiseksi, t u n n e t t u siitä, että N^G -substituoitu- N^2 -kinoliinisulfonyyli-L-arginiiniamidista, jolla on kaava (VIII):

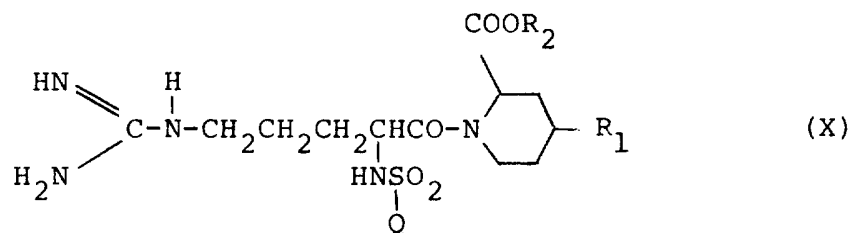


jossa R_1 tarkoittaa samaa kuin kaavassa (I), R' ja R'' ovat vety tai guanidinoryhmän suojaryhmiä, jolloin ainakin toinen ryhmistä R' ja R'' on guanidinoryhmän suojaryhmä, R_2 on vety, alempi alkyyli tai aralkyyli, ja Q on 8-kinolyyli, joka mahdollisesti on substituoitu ainakin yhdellä C_1 - C_5 -alkyyllillä ja joka vastaa Ar, tai

(2R,4R)-1-(N^G-substituoitu-N²-kinoliinisulfonyyli-L-arginyyli)-4-alkyyli-2-piperidiinikarboksyylihaposta tai sen esteristä, jolla on kaava (VIII'):

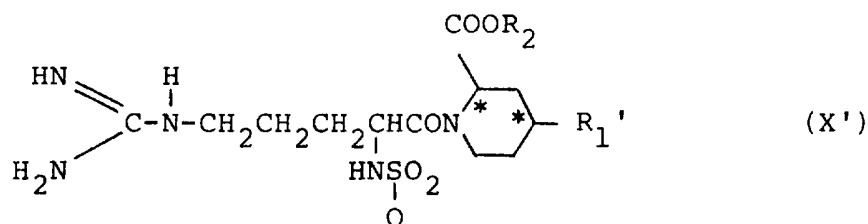


jossa R', R'' ja Q tarkoittavat samaa kuin kaavassa (VIII) ja * ja R₁' tarkoittavat samaa kuin kaavassa (I'), poistetaan N^G-substituentti ja, kun R₂ on aralkyyli, tämä aralkyyli-ryhmä hydrogenolyysillä, ja samalla hydrataan kinolyyli-ryhmä vastaavaksi 1,2,3,4-tetrahydrokinolyyli-ryhmäksi ja, kun R₂ on alkyyli, hydrolysoidaan piperidiinirenkaan 2-aseman esteriryhmä, tai N²-kinoliinisulfonyyli-L-arginiiniamidin, jolla on kaava (X):



jossa R₁ tarkoittaa samaa kuin kaavassa (I), R₂ on vety, alempi alkyyli tai aralkyyli, ja Q on 8-kinolyyli, joka mahdollisesti on substituoitu ainakin yhdellä C₁-C₅-alkyyllillä ja joka vastaa Ar, tai

(2R,4R)-1-(N²-kinoliinisulfonyyli-L-arginyyli)-4-alkyyli-2-piperidiinikarboksyylihapon tai sen esterin, jolla on kaava (X'):

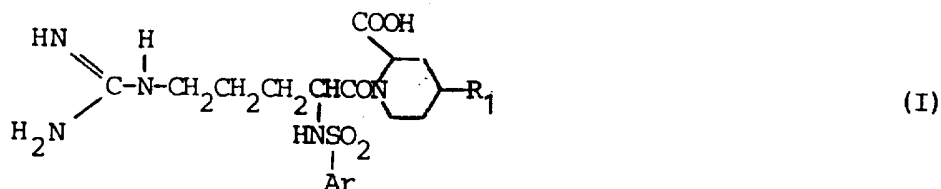


jossa R₂ ja Q tarkoittavat samaa kuin kaavassa (X) ja * ja R₁' tarkoittavat samaa kuin kaavassa (I'), kinolyyli-ryhmä hydrataan vastaavaksi 1,2,3,4-tetrahydrokinolyyli-ryhmäksi, ja samalla, kun R₂ on aralkyyli, poistetaan tämä aralkyyli-ryhmä hydrogenolyysillä, ja kun R₂ on alkyyli, hydrolysoidaan alkyylilesteri.

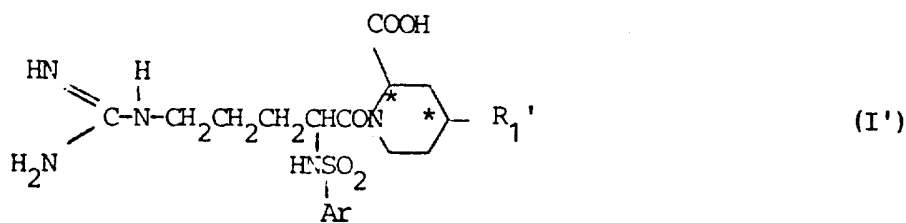
66183

Patentkrav

1. Förfarande för framställning av en farmaceutiskt aktiv N^2 -arylsulfonyl-L-argininamid med formeln (I):

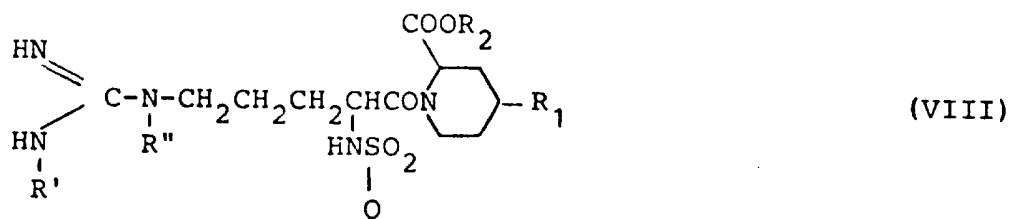


vari R_1 är väte eller C_{1-5} -alkyl, och Ar är 1,2,3,4-tetrahydro-8-kinolyl, som eventuellt är substituerad med minst en C_{1-5} -alkyl, eller av en (2R,4R)-1-(N^2 -arylsulfonyl-L-arginyl)-4-alkyl-2-piperidinkarboxylsyra med formeln (I'):



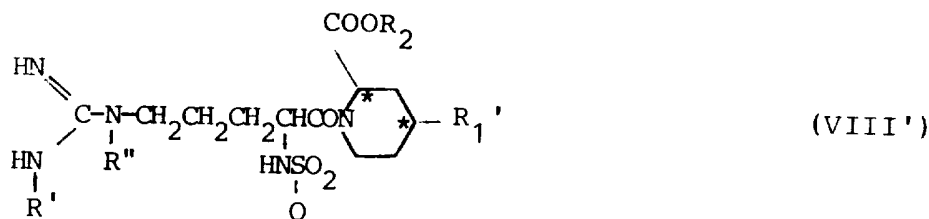
vari Ar har samma betydelse som i formel (I), R_1' är C_{1-5} -alkyl och * betecknar en asymmetrisk kolatom, eller av ett farmaceutiskt acceptabelt salt av dessa, k ä n n e t e c k - n a t av att

a) från en N^G -substituerad- N^2 -kinolinsulfonyl-L-argininamid med formeln (VIII):



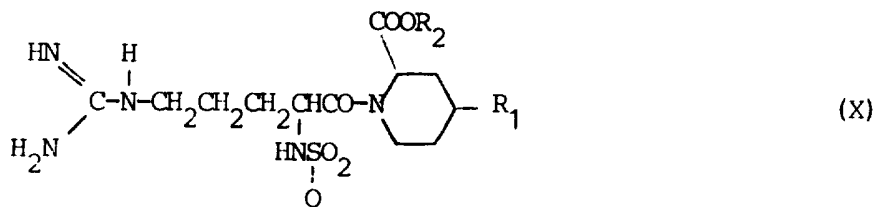
vari R_1 har samma betydelse som i formel (I), R' och R'' är väte eller skyddsgrupper för guanidinogruppen, varvid åtminstone den ena av grupperna R' och R'' är en skyddsgrupp för guanidinogruppen, R_2 är väte, lägre alkyl eller aralkyl, och Q är 8-kinolyl, som eventuellt är substituerad med minst en C_{1-5} -alkyl och som mot-

svarar Ar, eller från en (2R,4R)-1-(N^G-substituerad-N²-kinolinsulfonyl-L-arginyl)-4-alkyl-2-piperidinkarboxylsyra eller en ester därav med formeln (VIII'):

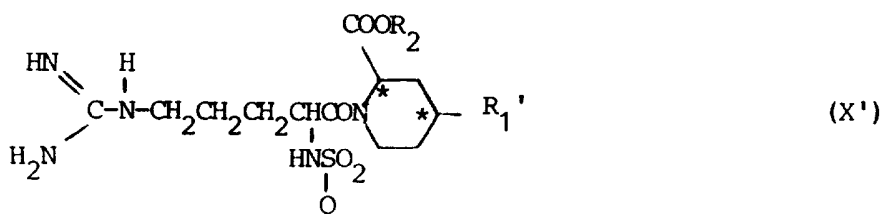


R', R'' och Q har samma betydelser som i formel (VIII) och * R₁' har samma betydelser som i formel (I'), avlägsnas N^G-substituenten och, då R₂ är aralkyl, denna aralkylgrupp genom hydrogenolys, och samtidigt hydreras kinolylgruppen till motsvarande 1,2,3,4-tetrahydrokinolylgrupp och, då R₂ är alkyl, hydrolyseras estergruppen i piperidinringens 2-ställning, eller

b) hydrolyseras kinolylgruppen i en N²-kinolinsulfonyl-L-argininamid med formeln (X):



vari R₁ har samma betydelse som i formel (I), R₂ är väte, lägre alkyl eller aralkyl, och Q är 8-kinolyl, som eventuellt är substituerad med minst en C₁₋₅-alkyl och som motsvarar Ar, eller i en (2R,4R)-(N²-kinolinsulfonyl-L-arginyl)-4-alkyl-2-piperidinkarboxylsyra eller en ester därav med formeln (X'):



vari R_2 och Q har samma betydelser som i formel (X) och * R_1' har samma betydelser som i formel (I'), till motsvarande 1,2,3,4-tetrahydrokinolingrupp och samtidigt, då R_2 är aralkyl, avlägsnas denna aralkylgrupp genom hydrogenolys, och då R_2 är alkyl, hydrolyseras alkylestern.

Viitejulkaisuja-Anförda publikationer

Julkisia suomalaisia patenttihakemuksia:-Offentliga finska patentansökningar:
763528, 780073.