



PATENTDIREKTORATET
TAASTRUP



(21) Patentansøgning nr.: 3098/79

(22) Indleveringsdag: 23 jul 1979

(41) Alm. tilgængelig: 28 feb 1980

(44) Fremlagt: 02 jan 1990

(86) International ansøgning nr.: -

(30) Prioritet: 24 jul 1978 US 927212 22 jun 1979 US 050233

(71) Ansøger: *MERCK & CO., IN C.; Rahway; New Jersey, US

(72) Opfinder: Donald W. *Graham; US, Edward F. *Rogers; US, Frederick M. *Kahan; US

(51) Int.Cl.⁵ C 07 C 233/49
C 07 C 233/63
C 07 C 257/12
C 07 C 279/14
C 07 C 317/50
C 07 C 323/57
C 07 D 307/16

(74) Fuldmægtig: Hofman-Bang & Boutard A/S

(54) **Analogifremgangsmåde til fremstilling af alfa-acylamino-alfa,beta-umættede carboxylsyrederivater i Z-stereokonfiguration**

(56) Fremdragne publikationer

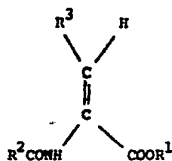
kylamino, herunder kvarternære nitrogengrupper; eller alternativt substitueret med carboxylsyrer, phosphorsyrer eller sulfonsyrer eller estere eller amider deraf eller med cyano; eller kombinationer deraf; og R¹ er hydrogen, alkyl, dialkylaminoalkyl eller en kation, fremstilles på flere forskellige måder.

(57) Sammendrag:

Forbindelserne I inhiberer selektivt metabolismen af dipeptidase og er derfor nyttige tilsætningsstoffer for antibakterielle midler.

3098-79

Z-2-acylamino-3-monosubstituerede propenoater med formlen:



hvor R² og R³ er carbonhydridgrupper, eventuelt substituerede med halogen, oxygen, eventuelt oxideret svovl; R³ kan desuden være substitueret med eventuelt acyleret eller carbamoyleret hydroxyl eller thiol; eller substitueret med en aminogruppe, eventuelt på derivatform som acylamino, ureido, amidino, guanidino, alkyl- eller substitueret al-

Der er for nylig blevet beskrevet en hidtil ukendt klasse antibiotica med kondenseret ring- β -lactam, herunder thienamycin og halvsyntetiske derivater deraf, epithienamyciner og olivansyrer. Disse forbindelser vil blive

5 beskrevet nærmere i det følgende og benævnes herefter som forbindelser af thienamycinklassen. Disse forbindelser har en høj antibakteriel virkning, men underkastes i høj grad metabolisme af pattedyrarter. Nyrerne er identificeret som det primære sæde for metabolisme, og der

10 er fra renalekstrakter oprenset et enzym, som katalyserer inaktiveringen af thienamycin ved hydrolyse af β -lactamen. Ved sådanne kriterier som cytologisk lokalisering, substratspecificitet og påvirkelighed over for enzyminhibitorer er dette enzym meget lig med om ikke identisk

15 med en i høj grad undersøgt renal dipeptidase (E.C.3.4.13.11), der i litteraturen også kaldes dehydropeptidase-I (CDHP). β -lactamaseaktiviteten udvises imidlertid kun over for forbindelser af thienamycinklassen. Der forefindes faktisk intet forudgående eksempel på pattedyrmetabolisme via β -lactamspaltning af nogen repræsentanter for de klassiske β -lactam-antibiotica, penicillinerne og cephalosporinerne. Carbapenemer er derimod

20 enestående derved, at de i alt væsentligt undergår β -lactamspaltning med renal dipeptidase i pattedyrsystemet.

25 met.

Den foreliggende opfindelse angår en analogifremgangsmåde til fremstilling af hidtil ukendte α -acylamino- α,β umættede carboxylsyrederivater i Z-stereokonfiguration med

den i kravet angivne almene formel I eller et farmaceutisk

30 acceptabelt syreadditionssalt deraf, hvori R^1 , R^2 og R^3 har den der angivne betydning.

Fremgangsmåden ifølge opfindelsen er ejendommelig ved det i kravets kendetegnende del anførte.

De ved fremgangsmåden ifølge opfindelsen fremstillede

forbindelser inhiberer selektivt metabolismen af peptidasen [E.C.3.4.13.11] og kaldes også dipeptidaseinhibitorer.

R^2 er foretrukket er forgrenet alkyl- eller cycloalkyl-gruppe med 3-10 carbonatomer, med den begrænsning, at det i forhold til carbonylgruppen nabostillede carbonatom ikke kan være tertiært. R^1 er hydrogen, alkyl med 1-6 carbonatomer eller dialkylaminoalkyl, f. eks. $-\text{CH}_2-\text{CH}_2-\text{N}(\text{C}_2\text{H}_5)_2$, $-\text{CH}_2\text{CH}(\text{CH}_3)\text{N}(\text{CH}_3)_2$.

Nogle af forbindelserne med formlen I har asymmetriske former. Racemisk Z-2-(2,2-dimethyl-cyclopropanecarboxamido)-2-octenosyre er blevet opspaltet. Aktiviteten ligger i den dextro-drejende isomere, som har S-konfiguration.

Under definitionen af R^2 omfattes følgende undergruppe:



hvor R^4 er en ligekædet, forgrenet eller cyclisk alkylgruppe med 3-10 carbonatomer, som kan være substitueret som angivet i det foregående under definitionen af R^2 ;



hvor R^5 er cycloalkyl med 3-6 carbonatomer, og R^6 er enten en eller to alkylsubstituent, som kan være knyttet sammen til dannelse af endnu en ring på cycloalkylgruppen, eller R^5 eller R^6 kan være substitueret som angivet i det foregående under definitionen af R^2 ;



hvor R^7 er en alkylgruppe med 1-3 carbonatomer, og R^8 er cycloalkyl med 3-6 carbonatomer, som kan være substitueret som angivet i det foregående under definitionerne for R^2 og R^3 .

Følgende specielle forbindelser er omfattet af disse undergrupper:

- I A: Z-2-isovaleramido-2-pentensyre, smp. 128,5-129,5 °C; methyl-Z-2-isovaleramido-2-butenat, smp. 64-65,5 °C; Z-2-isovaleramido-2-butensyre, smp. 176 °C; Z-2-(3,5-trimethylhexanamido)-2-butensyre, smp. 136-138 °C; Z-2-cyclobutancarboxamido-2-butensyre, smp. 153-155 °C; Z-2-cyclopropancarboxamido-2-butensyre, smp. 212-213 °C; Z-2-(3-methylvaleramido)-2-butensyre, smp. 168-169,5 °C; Z-2-cycloheptancarboxamido-2-butensyre, smp. 206-207 °C; Z-2-nonanamido-2-butensyre, smp. 145-147 °C; Z-2-cyclohexancarboxamido-2-butensyre, smp. 208-209 °C; Z-2-(4-methylvaleramido)-2-butensyre, smp. 164-166 °C; Z-2-t-butylacetamido-2-butensyre, smp. 191-192 °C; Z-2-octanamido-2-butensyre, smp. 141-142 °C; Z-2-butyramido-2-butensyre, smp. 141-142 °C; Z-2-valeramido-2-butensyre, smp. 153-154 °C; Z-2-cyclopentancarboxamido-2-butensyre, smp. 205,5-206 °C; Z-2-(6-methylheptanamido)-2-butensyre, smp. 146,5-147 °C; Z-2-hexanamido-2-butensyre, smp. 141-142 °C; Z-2-(3,7-dimethyloctanamido)-2-butensyre, smp. 144-145 °C; Z-2-(5-chlorvaleramido)-2-butensyre, smp. 128-130 °C; Z-2-(3-chlorbenzoylamido)-2-butensyre, smp. 188-190 °C; Z-2-(2-chlorbenzamid)-2-butensyre, smp. 207-209 °C; Z-2-(6-bromhexanamido)-2-buten-syre, smp. 132-135 °C; Z-2-(3,3-dimethylpropenamido)-2-buten-syre, smp. 143-145 °C; Z-2-isovaleramido-2-octensyre, smp. 126-128 °C; Z-2-isovaleramido-2-hexendisyre, smp. 127-128 °C; Z-2-cyclopropancarboxamido-2-hexendisyre, smp. 119-120 °C; Z-2-(5-methoxy-3-methylvaleramido)-3-butensyre, smp. 105-107 °C; Z-2-ethylthioacetamido-2-butensyre, smp. 114-115 °C; Z-2-(2,2-dichlorcyclopropancarboxamido)-2-butensyre, smp. 188-189,5 °C; Z-2-(2-ethylhexamamido)-2-butensyre, smp. 158-160 °C; Z-2-di-n-propylacetamido-2-butensyre, smp. 185-186 °C;
- I B: Z-2-(2,2-dimethylcyclopropancarboxamido)-2-butensyre, smp. 142-143,5 °C; (+)-Z-2-(2,2-dimethylcyclopropancarboxamido)-2-butensyre, smp. 145,5-146,5 °C; Z-2-(2,2-dimethylcyclopropancarboxamido)-2-pentensyre, smp. 154,5-155,5 °C; Z-2-(2,2-dimethylcyclopropancarboxamido)-2-octensyre, smp.

104-105 °C; Z-2-(2,2-dimethylcyclopropancarboxamido)-2-hexen-
disyre, smp. 122-123 °C; Z-2-(2,2-dimethylcyclopropancarbox-
amido)-2-kannelsyre, smp. 167-168 °C; Z-2-(2,2-dimethylcyclo-
propancarboxamido)-2-hexendisyre, smp. 163-165 °C; Z-2-(2-
5 ethylcyclopropancarboxamido)-2-butensyre, smp. 184 °C; Z-2-
(2,2-diethylcyclopropancarboxamido)-2-butensyre, smp. 128-
130 °C; Z-2-(2-isopropyl-2-methylcyclopropancarboxamido)-2-
smp. 183-184 °C; Z-5-cyano-2-(2,2-dimethylcyclopropancarbox-
amido)-2-pentensyre, smp. 150 °C; Z-2-(2,2-dimethylcyclopro-
10 pancarboxamido)-5-methansulfonyl-2-pentensyre, smp. 148-149
°C; Z-2-methylcyclopropancarboxamido)-2-butensyre, smp. 108-
109 °C; Z-2-(2,3-dimethylcyclopropancarboxamido)-2-butensy-
re, smp. 238 °C; Z-2-(3,3-dimethylcyclobutancarboxamido)-2-
butensyre, smp. 171-172 °C; Z-2-(2-spirocyclopentancarbox-
15 amido)-2-butensyre, smp. 189-190,5 °C; Z-2-(2-t-butyl-3,3-di-
methylcyclopropancarboxamido)-2-butensyre, smp. 140-142 °C;
Z-2-(2,2-dimethylcyclopropancarboxamido)-4-methyl-2-penten-
syre, smp. 164-166 °C; Z-2-(2-t-butylcyclopropancarboxamido)-
2-butensyre, smp. 189-190 °C; Z-2-phenylcycloprocarboxamido)-
20 2-butensyre, smp. 196-197,5; Z-3-cyclohexyl-2-(2,2-dimethyl-
cyclopropancarboxamido)propensyre, smp. 149-150,5 °C; Z-3-
cyclopropyl-2-(2,2-dimethylcyclopropancarboxamido)propensyre,
smp. 158-159 °C; Z-2-(2,2-dimethylcyclopropancarboxamido)-5-
methylthio-2-pentensyre, smp. 65-67 °C; Z-2-(2,2-dimethyl-
25 cyclopropancarboxamido)-2-heptensyre, smp. 94-95 °C; Z-2-
(2,2-dimethylcyclopropancarboxamido)-5-phenyl-2-pentensyre,
smp. 131-132 °C; Z-2-(2,2-dimethylcyclopropancarboxamido)-2-
nonensyre, smp. 111-113 °C; Z-2-(2,2-dimethylcyclopropan-
carboxamido)-2-decensyre, smp. 108-110 °C; Z-2-(2,2-dimethyl-
30 cyclopropancarboxamido)-2-tridecensyre, smp. 98-99 °C; Z-2-
(2,2-dimethylcyclopropancarboxamido)-6-methoxy-2-hexensyre,
smp. 78-80 °C; Z-2-(2,2-dimethylcyclopropancarboxamido)-6-
methyl-2-heptensyre, smp. 115-116 °C; Z-4-cyclohexyl-2-(2,2-
dimethylcyclopropancarboxamido)-2-butensyre, smp. 146-148 °C;

I C: Z-2-cyclobutylacetamido-2-butensyre, smp. 115-156 °C;
 Z-2-cyclopentylacetamido-2-butensyre, smp. 168-169 °C; Z-2-
 cyclohexylacetamido-2-butensyre, smp. 176-177 °C; Z-2-(4-
 cyclohexylbutyramido)-2-butensyre, smp. 156-157 °C; Z-2-
 5 cyclopropylacetamido-2-butensyre, smp. 142-143 °C; Z-2-(3-
 cyclopentylpropionamido)-2-butensyre, smp. 184-185 °C; Z-2-
 (3-cyclohexylpropionamido)-2-butensyre, smp. 180,5-181 °C;
 Z-2-(4-(2-thienyl)-butyramido)-2-butensyre, smp. 132-135 °C;
 Z-2-(4-phenylbutyramido)-2-butensyre, smp. 130-132 °C; Z-2-
 10 (3-(2-tetrahydrofuryl)-propionamido)-2-butensyre, smp. 133,5-
 134 °C.

Særligt foretrukne substituentter under definitionen for R^2 i det foregående omfatter 2,2-dimethylcyclopropyl- og 2,2-dichlorcyclopropylgrupperne.

- 15 Under definitionen af R^3 omfatter særligt foretrukne forbindelsesgrupper N-alkyl (1-9 carbonatomer) og N-alkyl (1-9 carbonatomer), som har en terminal-substituent, som er et kvarternært nitrogen, et aminoderivat eller en aminosyreafledt gruppe.
- 20 Ved udtrykket kvarternært nitrogen menes tetrasubstitueret eller heteroaromatisk nitrogen, som er positivt ladet. Ammoniumdelen, som er substitueret med carbonhydridgrupper med 1-7 carbonatomer, som kan være ens eller forskellige, er tilkendegivet.
- 25

Ved udtrykket aminoderivat menes en gruppe, såsom amino, acylamino, ureido, amidino, guanidino og alkylderivater deraf.

Ved udtrykket aminosyreafledt gruppe menes en gruppe,

såsom cysteinyll ($-\text{SCH}_2\text{CH}(\text{NH}_2)\text{COOH}$) eller sarcosyl ($-\text{N}(\text{CH}_3)\text{CH}_2\text{COOH}$, hvori et hydrogenatom knyttet til O, N eller S i kendte aminosyrer er udskiftet).

5 Særligt foretrukne forbindelser fra de mest foretrukne substituentgrupper R^2 og R^3 er de, hvori R^2 er 2,2-dimethylcyclopropyl eller 2,2-dichlorcyclopropyl, og R^3 er en carbonhydridkæde med 3-7 carbonatomer uden en terminal-substituent eller med en terminal-substituent, som kan
10 være trimethylammonium, amidino, guanidino, 2-amino-2-carboxyethylthio eller ureido.

Z-konfigurationen (J.E. Blackwood et al., J. Am. Chem. Soc. 90, p 509 (1968) tillægges ovennævnte forbindelser på basis af deres NMR-spektre ved analogi med det af A. Sriarvasan et al. [Tetrahedron Lett. 891 (1976)]
15 udførte arbejde.

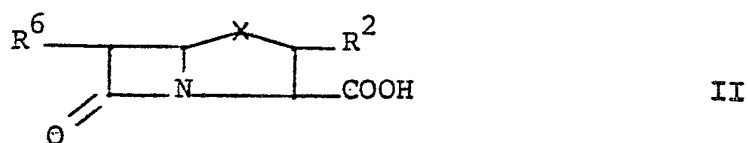
Skønt de forbindelser med formlen I, hvori R^1 er H, er beskrevet og navngivet som de frie syrer, vil det være selvfølgelig for fagmanden, at forskellige farmaceutisk acceptable derivater, såsom alkalimetal-, jordalkalimetal-,
20 ammonium- og aminsaltene, eller lignende kan anvendes ækvivalent dermed. Salte, såsom natrium-, kalium-, calcium- eller tetramethylammoniumsalte er hensigtsmæssige.

Som anført i det foregående er de omhandlede forbindelser dipeptidase (E.C.3.4.13.11) inhibitorer, og de kan
25 anvendes i kombination med antibakterielle forbindelser, som er udsat for renal-nedbrydning. Gruppen af antibiotica, som er af størst betydning i den foreliggende sammenhæng til anvendelse i kombination med Z-2-acylamino-3-mono-substituerede propenoater fremstillet ifølge opfindelsen,
30 delsen, er klassen af thienamycinforbindelser.

Udtrykket klassen af thienamycinforbindelser anvendes til at identificere forekommende, halvsyntetiske eller syntetiske derivater eller dermed analoge forbindelser, der har et kondenseret ringsystem med β -lactamkerne.

- 5 Disse forbindelser kan generisk klassificeres som 6- og eventuelt 2-substituerede pen-2-em-3-carboxylsyrer og 1-carbadethia-pen-2-em-3-carboxylsyrer eller 1-azabi-cyclo[3,2,0]hept-2-en-7-on-2-carboxylsyrer.

- 10 Specifikke forbindelser, hvis nedbrydning i nyrerne især inhiberes af de omhandlede forbindelser, har følgende strukturformel:



- hvor X kan være CH_2 eller S ; R^2 kan være hydrogen; $-\text{S}-\text{CH}_2\text{CH}_2\text{NHR}^3$, hvor R^3 er hydrogen, acetyl, formimidoyl, acetimidoyl; $-\text{S}(\text{O})-\text{CH}-\text{CHNCOCH}_3$ og $-\text{S}-\text{CH}=\text{CHNCOCH}_3$;
 15 og R^6 er $-\text{CHCH}_3$, hvor
 R^7 er hydrogen, hydroxy eller sulfonyloxy, eller R^6 er H .

Alle mulige stereoisomere former omfattes af den nævnte formel og tilhørende definition.

- 20 Alle disse forbindelser med formlen II er beskrevet i litteraturen, se f.eks. US patentskrift nr. 3.950.357, belgisk patentskrift nr. 848.346, belgisk patentskrift

nr. 848 545, belgisk patentskrift nr. 866 035, belgisk patentskrift nr. 848 349, fransk patentskrift nr. 7 711 891, Corbett et al., J. Chem soc. Chem Commun. 1977, nr. 24, pp. 953-54, belgisk patentskrift nr. 867 227, tysk offentliggørelsesskrift nr. 2 751 624 I, K. Okaimura et al., J. Antibiotics 31 p. 480 (1978), belgisk patentskrift nr. 865 578, R.B. Woodeard i "Recent Advances in the Chemistry of β -Lactam Antibiotics", J. Elks (udg.), The Chemical Society, London, 1977, p. 167; R.B. Woodward, Abstracts of Uppsala University 500 Years Symposium on Current Topics in Drug Research, Uppsala, Sverige, oktober 1971, 1977. Acta. Pharm. Suecica, bind 14, supplement, p. 23 og US patentskrift nr. 4 070 477.

Som nævnt i det foregående anvendes de omhandlede forbindelser med formlen I som dipeptidaseinhibitorer, og de inhiberer dermed nedbrydningen, f.eks. af forbindelser med formlen II, i nyrerne.

De hidtil ukendte kemiske inhibitorer fremstillet ifølge opfindelsen kan kombineres med forbindelser af thienamycin-klassen i et farmaceutisk præparat indeholdende de to forbindelser i en farmaceutisk bærer. De to stoffer kan anvendes i mængder, således at vægtforholdet mellem thienamycinforbindelsen og inhibatoren er mellem 1:1 og 30:1,

Komponenterne kan også administreres separat. F.eks. kan thienamycinforbindelsen administreres intramuskulært eller intravenøst i mængder på 1-100 mg/kg/dag, foretrukket 1-20 mg/kg/dag eller 1-5 mg/kg/dag, i opdelte doser, f.eks. 3-4 gange om dagen. Inhibitoren kan administreres oralt, intramuskulært eller intravenøst i mængder på 1-100 mg/kg/dag, foretrukket 1-30 mg/kg/dag eller 1,5 mg/kg/dag. Mængderne af de to komponenter, administreret i løbet af en dag, ligger ideelt i de ovenfor angivne

intervaller.

Fremgangsmåder til afprøvning af det antibakterielle
kombinationsmiddel

- Som anført har dispositionsstudier med thienamycin, dets
5 naturlige analoge og dets halvsyntetiske derivater afslø-
ret en større metabolisk nedbrydningsvej, β -lactamase-
aktivitet for det DHP-enzym, der inhiberes af de omhand-
lede forbindelser, ved eliminering i forskellige under-
søgte dyrearter (mus, rotte, hund, chimpanse, rhesusabe).
10 Metabolismegraden, DHP-nedbrydning af thienamycins ring-
system viser sig i lav genvindelse i urinen og korte
plasma-halveringstider. Naturen af denne nedbrydning
blev vist ved en lactamspaltning med renal-peptidasen
(E.C.3.4.13.11), som først beskrevet af Betgmann, M.
15 og Schleich, H., Z. Physiol. Chem. 205 65 (1932); se
også Greenstein, J.P., Advances in Enzymology, bind
VIII, Wiley-Interscience, (1948), New York, og Campell,
B.J.; Lin, Y-C, Davis, R.V. og Ballew, E., "The Purification
and Properties of Particulate Renal Dipeptidase", Biochem.
20 Biophys. Acta, 118, 371 (1966).

- For at vise forbindelserne med formelen I's evne til at
undertrykke virkningen af renaldi-peptidaseenzymet blev
der anvendt en in vitro screening. Ved denne målte for-
bindelsernes evne til at inhibere hydrolyse af glycylddehy-
25 drophenylalanin (GDP) med et solubiliseret præparat af di-
peptidase isoleret fra svinenyrer. Proceduren er som følger:
til et system på 1 ml indeholdende 50 mM "MOPS" (3-(N-morph-
olino)propansulfonsyre)-puffer, pH 7,1, sættes 5 μ g lyofili-
seret enzym og prøveforbindelsen i en mængde svarende til
30 en slutkoncentration på 0,1 mM. Efter 5 minutters inkubering
ved 37°C sættes GDP til til en slutkoncentration på 0,05 mM.
Inkubering fortsættes i 10 minutter ved 37°C, og hydrolyse
af GDP måles ved ændringen i optisk densitet med tiden ved
275 nm. Inhibering af systemet måles ved sammenligning med

en standardprøve uden indhold af inhibitor og udtrykkes som den inhibitorbindende konstant, K_i . Dette er den koncentration af inhibitoren, som medfører 50%'s inhibering af enzymet.

- 5 Substratet GDP anvendes frem for thienamycin i dette screeningsforsøg, fordi det med renaldipeptidase har en meget højere maksimal hydrolysehastighed, hvorved man nedsætter den mængde enzym, der kræves. GDP og thienamycin har en lignende affinitet over for renal dipeptidase; 10 endvidere har K_i -værdier (se senere) for afprøvede inhibitorer været identiske for de to substrater.

- Foruden denne in vitro screening blev der udført en in vivo screening for at måle prøveforbindelsens evne til at inhibere metabolisme, som den viser sig ved for- 15 øgelse af thienamycingenvinding i urin fra mus. Proceduren involverer samtidig administrering af prøveforbindelsen intravenøst eller subkutan i en dosis på 10-100 mg/kg sammen med 10 mg/kg thienamycin. Thienamycingenvinding i urinen over en 4 timers periode sammenlignes 20 derpå med dets genvinding i en kontrolgruppe, til hvilken prøveforbindelsen ikke blev med administreret.

- Uringenvindingen af thienamycin blev målt i alle tilfælde med anvendelse af en cylinder- eller skive-diffusionsprøve udført på en måde beskrevet i US patentskrift nr. 25 3 950 357. Denne bioprøve med Staphylococcus aureus ATCC 6538 som prøveorganismen har et nyttigt responsområde på 0,04 u/g/ml til 3,0 u/g/ml.

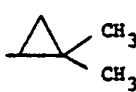
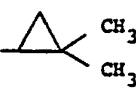
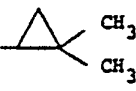
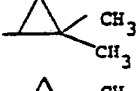
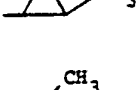
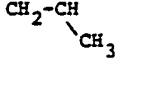
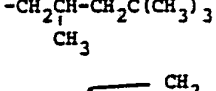
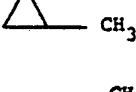
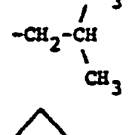
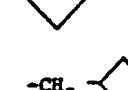
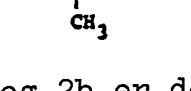
Forsøg 1

In vitro Testdata

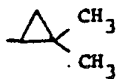
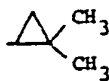
- 30 Et system på 1 ml af 50 mM "MOPS"-puffer, pH 7,1, anvendes. Til dette sættes 5 µg svinerenalenzym (lyofiliseret

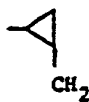
svinerenaldipeptidase) og en sådan mængde af prøveforbindelsen, at dens slutkoncentration bliver 0,1 mM. Efter 5 minutters inkubering ved 37°C tilsættes en sådan mængde GDP, at dets slutkoncentration bliver 0,05 mM. Systemet inkuberes igen i 10 minutter ved 37°C. Hydrolyse af GDP måles ved et ændring i optisk densitet med tiden ved 275 nm. Inhibering af enzymet måles ved sammenligning med en standardprøve uden indhold af inhibitor og angivet som procentvis inhibering. k_i er en konstant, der indikerer den koncentration af inhibitor, som er nødvendig for at give 50%'s enzyminhibering. Det er en beregnet værdi opnået ved flere in vitro forsøg, som angivet i det foregående, ved koncentrationer resulterende i inhibering under og over 50%'s inhiberingspunktet. Resultaterne fremgår af tabel I.

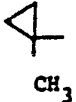
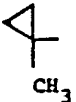
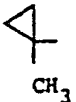
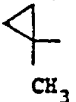
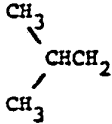
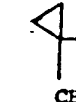
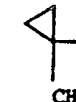
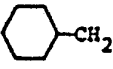
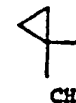
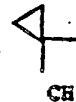
Tabel I

Forbindelse	$\text{R}^3 - \text{C} \begin{array}{c} \text{H} \\ \parallel \end{array} \text{C} \begin{array}{c} \text{COOH} \\ \end{array} - \text{NHCOR}^2$			
Dipeptidase- inhibering	R ³	R ²	Inhibering, % ved 10 ⁻⁴ M	K _i , μM
1	CH ₂ CH ₃		98	0,18
2*	CH ₃		98	0,39
2a*	CH ₃		100	0,12
2b*	CH ₃			19,8
3	CH ₃		92	1,7
4	CH ₂ CH ₃		87	3,2
5	CH ₃		81	4,4
6	CH ₃		83	4,6
7	CH ₃		91	6
8	CH ₃		80	6,6
9	CH ₃		83	6,6
10	CH ₃		97	9
11	CH ₃		82	10

* Forbindelserne 2, 2a og 2b er den racemiske, den dextro-drejende og den levodrejende formel.

12	$-(\text{CH}_2)_4\text{CH}_2$		0, 03	
13	$-(\text{CH}_2)_5\text{N}^+(\text{CH}_3)_3$		1, 11	
14	$-(\text{CH}_2)_4-\text{S}-\text{CH}_2-\overset{\text{H}}{\underset{\text{NH}_3^+}{\text{C}}}-\text{COO}^-$		0, 21	
15	CH_3	$-\text{CH}_2\text{C}(\text{CH}_3)_3$	75	20
16	CH_3	$-(\text{CH}_2)_6\text{CH}_3$	72	26
17	CH_3	$-(\text{CH}_2)_2\text{CH}_3$	69	30
18	CH_3	$-(\text{CH}_2)_3$ 	68	30
19	CH_3	$-\text{CH}_2$ 	64	22
20	CH_3	$(\text{CH}_2)_3\text{CH}_3$	64	32
21	CH_3		59	30
22	CH_3	$-(\text{CH}_2)_4\text{CH}(\text{CH}_3)_2$	57	
23	CH_3	$-\text{CH}_2\text{CH}_2$ 	56	
24	CH_3	$-\text{CH}_2\text{CH}_2$ 	54	
25	CH_3	$-\text{CH}_2-(\text{CH}_2)_3\text{CH}_3$	54	39

26	CH ₃	-(CH ₂) ₅ CH ₃	49	
27	CH ₃	-CH(CH ₂ CH ₃)CH ₂ CH ₂ CH ₂ CH ₃	33	
28	CH ₃	-CH(CH ₂ CH ₂ CH ₃) ₂	13	
29	CH ₃	-CH(CH ₃) ₂	31	
30	HOOC-CH ₂ CH ₂		90	5
31	CH ₃	$ \begin{array}{c} -\text{CH}_2-\text{CH}-\text{CH}_2\text{CH}_2\text{OCH}_3 \\ \\ \text{CH}_3 \end{array} $	88	9
32	CH ₃	CH ₂ CH ₂ CH ₂ CH ₂ CH ₂ Br	70	19
33	CH ₃	CH ₂ CH ₂ CH ₂ CH ₂ Cl	64	20
34	CH ₃	CH ₂ CH ₂ CH ₂ 	72	11
35	CH ₃	 C(CH ₃) ₃	90	6, 5
36	CH ₃ (CH ₂) ₄	CH ₂ -CH(CH ₃) ₂	95	2, 6
37	CH ₃		100	0, 45
38	(CH ₃) ₂ CH		98	0, 54
39	CH ₃		98	0, 86
40	CH ₃		96	

41	CH_3	 $\text{CH}(\text{CH}_3)_2$	95	3
42	CH_3CH_2	 CH_3	98	0,18
43	Ph	 CH_3	100	0,62
44	$\text{CH}_3\text{CH}_2\text{CH}_2$	 CH_3	98	0,11
45		 CH_3	97	0,23
46	$\text{CH}_3(\text{CH}_2)_3$	 CH_3	100	0,11
47	$\text{CH}_3(\text{CH}_2)_4$	 CH_3	100	0,17
48	$\text{HOOCCH}_2\text{CH}_2$	 CH_3	98	0,145
49		 CH_3	100	0,15
50	PhCH_2CH_2	 CH_3	96	0,33
51	$\text{CH}_3\text{SCH}_2\text{CH}_2$	 CH_3	99	0,12
52	$\text{CH}_3\text{SO}_2\text{CH}_2\text{CH}_2$	 CH_3	96	0,5

53	$\text{CH}_3(\text{CH}_2)_5$		98	0,149
54	$\text{CH}_3(\text{CH}_2)_6$		99	0,092
55	$\text{CH}_3(\text{CH}_2)_9$		96	0,14
56	PhCH_2		98	0,44
57	$\text{CH}_3\text{O}(\text{CH}_2)_3$			0,28
58	$\text{CH}_3\text{OCH}_2\text{CH}_2$		98	0,32
59	$(\text{CH}_3)_3\text{CCH}_2$			0,34
60	$(\text{CH}_3)_2\text{CHCH}_2\text{CH}_2$		98	0,15
61	$\text{HOOC}(\text{CH}_2)_3$		99	0,048
62				0,39

Forsøg 2In vivo test data

En in vivo prøve på mus blev udført som følger: hunmus af typen Charles River CD på 20 g blev injiceret subkutan med den valgte dosis af den kemiske inhibitor. Ca. 2 minutter senere blev thienamycindosis givet intravenøst. Der blev også udført kontrolofforsøg med thienamycin. Mængden af thienamycin i urinen blev målt som procent af dosis under anvendelse af en biologisk forsøgsteknik. Resultaterne fremgår af tabel II i det følgende. De to prøveforbindelser er angivet ved deres numre fra tabel I. Forbindelse nr. 7 er 2-isovaleramido-2-butensyre; forbindelse nr. 10 er Z-2-cyclopropylcarboxamido-2-butensyre.

Tabel II

Forbindelse	Dosis, mg/kg af forbindelsen	Dosis, mg/kg thienamycin	Genvinding af thienamycin fra urin, %
7	50	10	53
7	10	10	53
10	50	10	56
Kontrol	----	10	25-30

15 Forsøg 3

Forbindelserne 2-isovaleramido-2-butensyre, forbindelse 7, og Z-2-(2,2-dimethylcyclopropan-carboxamido)-2-butensyre, blev studeret mere detaljeret in vivo i kombination med thienamycin (THM) i mus. Den generelle prøveprocedure var som den i eksempel 2 beskrevne. Resultaterne er summariseret i tabel 3 og tabel 4.

Tabel 3

Virkning af medadministreret 2-isovaleramidobutensyre
(forbindelse 7) på genvindingen af thienamycin i urinen
fra mus^(a)

Administreringsvej (b) forbindelse 7 THM		Dosis, mg/kg forbindelse 7 THM		Genvinding af THM fra urin, procent
		-	10	30 ± 5
SC	SC	0,3	10	33
SC	IV	2	10	42
SC	SC	2	10	47
SC	IV	10	10	53
SC	SC	50	10	54
SC	IV	50	10	53
SC	SC	80	10	59
SC	SC	100	10	81

5 (a) 20 g Charles River, CD₁ hunmus

(b) medadministreret

* SC = subkutan, IV = intravenøs

Tabel 4

10 Virkning af medadministreret Z-2-(2,2-dimethylcyclopropan-
carboxamidosyre (forbindelse 2) på genvindingen af thienamycin i urinen fra mus^(a)

Administreringsvej (b) forbindelse 2 THM		Dosis, mg/kg forbindelse 2 THM		Genvinding af THM fra urin, procent
-	SC	-	10	30±5
SC	SC	0,1	10	35
SC	SC	0,3	10	40
SC	SC	1	10	46
SC	SC	10	10	60
SC	SC	30	10	73

- (a) 20 g Charles River, CD₁ hunmus
 (b) medadministreret

Forsøg 4

- I et andet studium på mus viste det sig, at den systemiske
 5 antibakterielle virkning af thienamycin blev forøget ca. 3
 gange ved medadministrering af 2-isovaleramido-2-butensyre,
 se tabel V.

Tabel V

- Virkning af medadministreret 2-isovaleramido-2-butensyre på
 10 den systemiske virkning af thienamycin efter behandling af
infektioner fremkaldt af Staphalococcus aureus

ED ₅₀ , mg/kg		
THM	Alene	0,2
	+100 mg/kg inhibitor	0,06

Forsøg 5

- En han-beaglehund blev anvendt for at undersøge virkningen
 af dipeptidase-inhibitorer på uringenvindingen af N-formimi-
 15 doylthienamycin. I et kontrolforsøg blev hunden indgivet 5
 ml per kg intravenøst af N-formimidoylthienamycin uden inhi-
 bitor. Et andet forsøg anvendtes samme mængde N-formimidoyl-
 thienamycin, men der blev også administreret Z-2-isovalera-
 mido-2-butensyre i 3 doser, som hver gav 20 mg/per kg af
 20 forbindelsen. Den første dosis blev administreret lige ef-
 ter injektion af N-formimidoylthienamycin, den anden 40 mi-
 nutter senere, den tredje 60 minutter senere. Det tredje stu-
 die anvendte en enkelt dosis (2 mg/kg) Z-2-(2,2-dimethyl-

cyclopropan-carboxamido)-2-butensyre, som blev administreret lige før injektion af N-formimidoylthienamycin. Resultaterne fremgår af tabel VI.

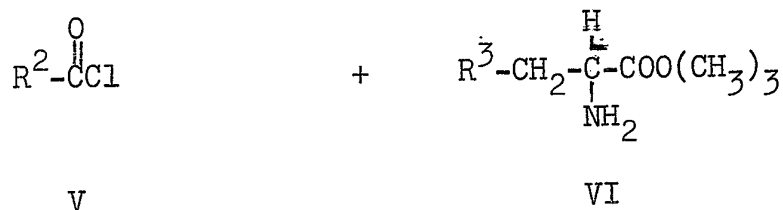
5 Tabel VI: Uringenvinding i tre timer efter administreringen af N-formimidoylthienamycin (5 mg/kg IV) i en han-beaglehund

<u>Prøveforbindelse</u>	<u>Uringenvinding, %</u>
N-formimidoylthienamycin	7,8
(+)-Z-2-isovaleramido-2-butensyre	46
(+)-Z-2-(2,2-dimethylcyclopropan-carboxamido)-2-butensyre	53

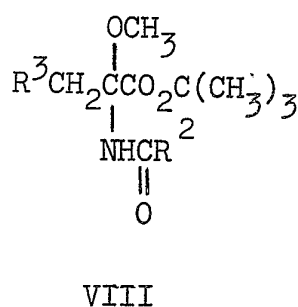
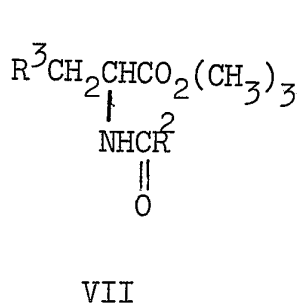
De omhandlede forbindelser fremstilles som angivet i kravets kendetegnende del.

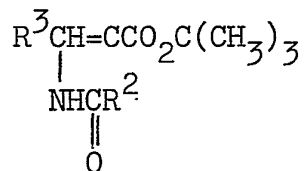
De almene reaktionsbetingelser for fremgangsmåde a) involverer blanding af ca. 1-4:1 dele af syren i forhold
 10 til amidet i et inert opløsningsmiddel, såsom toluen eller methylisovalerat, og opvarmning ved reflux med azeotrop fjernelse af vand i 3-48 timer, foretrukket 5-24 timer. Opløsningen giver efter afkøling normalt produktet på krystallinsk form, men produktet kan også
 15 isoleres under anvendelse af en baseekstraktionsproces. Produktet kan omkrystalliseres ved anvendelse af almindeligt kendte procedurer. Kondensationer af ketoestere kræver anvendelse af små mængder p-toluensulfonsyre som katalysator. Katalysatoren er også til nytte ved
 20 nogle kondensationer af ketosyrer.

Ved fremgangsmåde b) anvender man en α -aminosyre, t-butylester ved omsætning med et syrechlorid:



Denne reaktion finder sted i nærværelse af base, såsom triethylamin, i et opløsningsmiddel, såsom methylenchlorid. Det resulterende N-acylerede produkt (VII) oxideres derpå ved behandling med t-butylhypochlorit i nærvær af eller efterfulgt af tilsætning af natriummethoxid. Dette giver 2-methoxyderivatet VIII og/eller dets eliminationsprodukt, den α, β -umættede ester IX. Yderligere behandling med vandfri saltsyre overfører enten forbindelse VIII eller forbindelse IX (eller blandinger deraf) i den ønskede α, β -umættede, frie syre II.





IX

Fremgangsmåden ifølge opfindelsen forklares nærmere ved hjælp af de efterfølgende eksempler.

Eksempel 1

Z-2-isovaleramido-2-butensyre

- 5 En opløsning af 1,07 g (10,5 mmol) 2-ketosmørsyre og 0,71 g (7,0 mmol) isovaleramid i 15 ml toluen blev omrørt under reflux og opsamling af H₂O i en lille Dean-Stark fælde. Efter 5 timers forløb blev opløsningen afkølet, hvilket resulterede i ret tung krystallisering. Efter
- 10 henstand blev det faste stof samlet på et filter og vasket med toluen og derpå med CH₂Cl₂. Udbytte af hvide krystaller = 0,47 g, smp. = 172-174 °C (let indledende blødgøring). Materialet blev omkrystalliseret fra isopropylketon. Tyndtlagskromatofrafi (4:1 toluen: AcOH) viste
- 15 nu kun et lille spor af den anden isomere. Udbytte af hvide krystaller med 0,32 g (25 %), smp. = 75 °C (let indledende blødgøring). NMR indikerede i det væsentlige udelukkende Z-isomer.

Analyse (C ₉ H ₁₅ NO ₃)	<u>Beregnet</u>	<u>Fundet</u>
C	58,36	58,59
H	8,16	8,55
N	7,56	7,43

Eksempel 2Z-2-(2,2-Dimethylcyclopropancarboxamido)-2-pentensyre

En opløsning af 1,74 g (15 mmol) 2-ketovaleriansyre og 1,13 g (10 mmol) 2,2-dimethylcyclopropancarboxamid i 20 ml toluen
 5 blev kogt under tilbagesvaling med omrøring og opsamling af H_2O i en lille Dean-Stark fælde. Efter 20 timer blev opløsningen behandlet med en blid strøm af N_2 . Før meget af opløsningsmidlet var afdampet, blev krystallisering fremskyndet ved skrabning. Efter henstand blev det faste stof samlet på et filter og
 10 vasket med toluen og noget Et_2O . Udbytte af hvide krystaller = 0,63g (30%), smp. = 154,5-155,5°C (let forudgående blødgøring). Tyndtlagskromatografi (4:1 toluen: AcOH) viste kun et yderst svagt spor af den anden isomere. NMR var i overensstemmelse med Z-konfiguration.

15	Analyse ($C_{11}H_{17}NO_3$)	<u>Beregnet</u>	<u>Fundet</u>
	C	62,53	62,86
	H	8,11	8,27
	N	6,63	6,75

Eksempel 3Z-2-(3-Cyclopentylpropionamido)-2-butensyre

En opløsning af 1,41 g (10 mmol) 3-cyclopentylpropionamid og 1,53 g (15 mmol) 2-ketosmørsyre blev omrørt og kogt under tilbagesvaling under anvendelse af en lille Dean-Stark fælde.
 20 Efter 8 timers forløb var opløsningen afkølet, hvilket resulterede i tung krystallisering. Det faste stof blev samlet på et filter og vasket med toluen og CH_2Cl_2 . Udbytte af hvide krystaller = 1,44 g, smp. = 180,5-182°C (forudgående blødgøring). Materialet blev omkrystalliseret fra methylethylketon. Udbytte af hvide nåle = 0,63 g (28%), smp. =

184-185°C (let forudgående blødgøring). Tyndtlagskromatografi (4:1 toluen:AcOH) viste nu en enkelt plet, og NMR indikerede i det væsentlige ren Z-isomer.

Analyse	(C ₁₂ H ₁₉ NO ₃)	<u>Beregnet</u>	<u>Fundet</u>
	C	63,97	63,99
	H	8,50	8,67
	N	6,22	6,27

5 Eksempel 4

Z-2-(2-Ethylhexanamido)-2-butensyre

10 g 2-ethylhexanoylchlorid blev dråbevis under omrøring sat til 25 ml kold koncentreret NH₄OH-opløsning, hvilket resulterede i umiddelbar udfældning. Blandingen fik lov at henstå 2 timer under omrøring, blev derpå filtreret, og det faste stof blev tørret til opnåelse af 6,5 g amid. 1,4 g (10 mmol) af ovennævnte forbindelse og 1,5 g ketosmørsyre (15 mmol) blev kogt under tilbagesvaling i 25 ml toluen i 15 timer under fjernelse af vand. Reaktionsblandingen blev afkølet og delvist inddampet med en strøm af N₂. Produktet udkrystalliserede efter henstand i 3 timer. Krystallerne blev samlet, vasket tre gange med toluen og lufttørret. Der blev isoleret 1,13 g (50%) produkt, smp. 160-162°C. NMR var i overensstemmelse med den anførte struktur og indikerede mindre end 5% E-isomer. Tyndtlagskromatografi (4:1 toluen:AcOH) viste en enkelt plet.

Analyse	(C ₁₂ H ₂₁ NO ₃)	<u>Beregnet</u>	<u>Fundet</u>
	C	63,40	63,63
	H	9,30	9,43
	N	6,16	5,88

Eksempel 5Z-2-(2,2-Dimethylcyclopropancarboxamido)-2-butensyre-

- 1,53 g (15 mmol) 2-ketosmørsyre, 1,13 g (10 mmol) 2,2-dimethylcyclopropancarboxamid og 20 ml toluen blev omrørt under tilbagesvaling i 10 timer. Efter afkøling blev det
- 10 krystallinske faste stof frafiltreret og vasket med toluen (3 x 10 ml) og tørret til opnåelse af 1,06 g produkt, smp. = 140-141°C. Tyndtlagskromatografi (4:1 toluen:AcOH) viste i det væsentlige en plet, og NMR-spektret stemte overens med den ønskede struktur.
- 15 Omkrystallisering fra EtOAc gav efter tørring 0,533 g produkt, smp. = 142-143,5°C, homogent ifølge tyndtlagskromatografi.

Analyse	(C ₁₀ H ₁₅ NO ₃)	<u>Beregnet</u>	<u>Fundet</u>
	C	60,90	60,92
	H	7,67	7,71
	N	7,10	7,38

Eksempel 6Z-2-(2,2-Dimethylcyclopropancarboxamido)-2-hexendisyre

- 20 En blanding af 1,0 g 2,2-dimethylcyclopropancarboxamid, 2,4 g 2-ketoadipinsyre og 25 ml methyliisovalerat blev opvarmet under tilbagesvaling i to timer under fjernelse af vand med en modificeret Dean-Stark fælde indeholdende molekylsigter (4A). Efter henstand ved stuetemperatur natten

over blev det krystallinske bundfald frafiltreret, vasket med ether og omkrystalliseret fra ethylacetat til opnåelse af 0,23 g produkt, smp. 163-165°C. NMR-spektret var i overensstemmelse med den ønskede struktur.

Analyse	(C ₁₂ H ₁₇ NO ₅)	<u>Beregnet</u>	<u>Fundet</u>
	C	56,46	56,20
	H	6,71	6,83
	N	5,49	5,32

5 Eksempel 7

Z-2-(2,2-Diethylcyclopropanecarboxamido)-2-butensyre

En blanding af 2,3 g 2-ketosmørsyre, 2,0 g 2,2-diethylcyclopropanecarboxamid, og 25 ml toluen blev opvarmet under tilbagesvaling i 16 timer under fjernelse af vand med en modificeret Dean-Stark fælde indeholdende molekylsigter (4A).
 10 Der udfældede intet produkt efter afkøling. Der blev tilsat 25 ml ether, og blandingen blev ekstraheret med mættet NaHCO₃ tre gange. De kombinerede ekstrakter blev syrnet med koncentreret HCl. Det gummiagtige bundfald udfældede efter triturering med vand.
 15 Omkrystallisering fra ethylacetat gav 0,31 g produkt, smp. 129-130°C. NMR-spektret var i overensstemmelse med den ønskede struktur.

Analyse	(C ₁₂ H ₁₉ NO ₃)	<u>Beregnet</u>	<u>Fundet</u>
	C	63,98	64,01
	H	8,50	8,62
	N	6,22	6,21

Eksempel 82-(2,2-Dimethylcyclopropanecarboxamido)-2-hexensyre

Trin A: DL-norleucin-t-butylester.

5 Almindelig Procedure af R. Roeske, J. Org. Chem. 28, 1251
(1963).

10 Til en suspension af 9,82 g (75 mmol) DL-norleucin i 80 ml
dioxan i en 500 ml trykbeholder afkølet i et isbad blev der
langsomt under omrystning sat 8 ml koncentreret H_2SO_4 . Den
resulterende blanding blev afkølet i et bad af tøris, da
15 80 ml væskeformig isobutylen blev tilsat. Blandingen fik
lov at opvarme til stuetemperatur og blev rystet under eget
tryk i ca. 23 timer. Efter afblæsning af det meste af iso-
butylenen blev den let uklare opløsning afkølet i is og der-
på sat til en blanding af 400 ml 1 N NaOH og 500 ml Et_2O .
20 Efter udrystning i en skilleteragt blev lagene adskilt, og
den vandige fraktion blev vasket med yderligere 100 ml Et_2O .
 Et_2O -opløsningen blev rystet med 150 ml 0,5 N HCl. De sure
vandige fraktioner blev behandlet med 2,5 N NaOH, indtil de
var stærkt basiske, hvorpå der blev rystet med 250 ml Et_2O .
25 Et_2O -opløsningen blev tørret ($MgSO_4$), filtreret og koncen-
treret på en roterende inddamper. Efter forlænget pumpning
ved højtryk over et dampbad udgjorde det endelige udbytte
af klar, farveløs restolie 9,04 g (65 %). NMR viste nu kun
et spor af dioxan. Tyndtlagskromatografi (9:1 $CHCl_3$:MeOH)
viste en enkelt plet.

Trin B: N-(2,2-dimethylcyclopropanecarbonyl)-DL-norleucin-
t-butylester

30 Til en opløsning af 8,98 g (48 mmol) norleucin-t-butyles-
ter og 5,05 g (50 mmol) triethylamin i 100 ml CH_2Cl_2 om-
rørt i et isbad under et tørrerør blev der dråbevis i løbet
af et tidsrum på 75 minutter sat en opløsning af 6,39 g

(48 mmol) 2,2-dimethylcyclopropanecarbonylchlorid (M. Elliot og N.R. James, britisk patentskrift nr. 1.260.847 (1972)) i 50 ml CH_2Cl_2 . Udfældningen af $\text{Et}_3\text{N}\cdot\text{HCl}$ skete under til-sætningen, især mod afslutningen. Efterhånden som isen
5 smeltede, fik blandingen lov til at opvarme til stuetemperatur. Efter 16 timers forløb blev blandingen rystet med 200 ml 0,5 N HCl. CH_2Cl_2 -fraktionen blev vasket med yderligere 200 ml 0,5 N HCl, så med 2 x 200 ml 0,05 N NaOH og endelig med 200 ml vand. CH_2Cl_2 -fraktionen blev tørret med MgSO_4 ,
10 behandlet med kul og filtreret gennem celit. Filtratet blev koncentreret på en roterende inddamper (til sidst under høj-vacuum). Udbytte af let orange farvet restolie: 11,93 g (88%). Tyndtlagskromatografi (2:1 hexan:EtOAc) viste en enkelt plet. NMR og IR var i overensstemmelse med den tilskrev-
15 ne struktur. Efter henstand i flere dage fuldkrystallisere-des den uanvendte del af dette materiale, smp. = 52- >65°C.

Trin C: t-butyl 2-(2,2-dimethylcyclopropanecarboxamido)-2-methoxyhexanoat

20 Baseret på procedure af H. Poisel og V. Schmidt, Chem. Ber., 108 2547 (1975).

Til en opløsning 6,37 g (22,5 mmol) N-(2,2-dimethylcyclopropanecarbonyl)-DL-norleucin-t-butylester i 35 ml Et_2O omrørt ved stuetemperatur under nitrogen i mørket blev der sat 2,69 ml (2,45 g 22,5 mmol) t-butylhypochlorit. Ef-
25 ter 15 minutters forløb blev der tilsat en opløsning af natriummethoxid fremstillet ved opløsning af 0,52 g (22,6 mmol) natrium i 35 ml MeOH. Omrøring blev fortsat ved om-givelsernes temperatur under N_2 i mørket. Efter 16,5 ti-mers forløb blev det udfældede NaCl frafiltreret. Filtra-
30 tet blev fortyndet med Et_2O og vasket successivt med 3 x 50 ml 0,5 N HCl, 50 ml mættet Na_2CO_3 og 2 x 50 ml H_2O . Et_2O -fasen blev tørret over MgSO_4 og filtreret. Filtratet blev koncentreret på en roterende inddamper. Den svagt gyldengule rest restolie (6,45 g) blev underkastet præ-

parativ højtryksvæskerkromatografi, hvilket resulterede i adskillelse og isolation af 273 ml henholdsvis 496 ml af de to diastereomere af t-butyl-2-(2,2-dimethylcyclopropancarboxamido)-2-methoxyhexanoat med smeltepunkter på henholdsvis
 5 114-118°C og 124-125,5°C såvel som 1,97 g af en enkelt isomer (tilsyneladende Z) af t-butyl 2-(2,2-dimethylcyclopropancarboxamido)-2-hexenoat (farveløs olie).

Trin D: 2-(2,2-dimethylcyclopropancarboxamido)-2-hexensyre

En opløsning af 0,84 g (3,0 mmol) t-butyl-2-(2,2-dimethylcyclopropancarboxamido)-2-hexensyre i 10 ml Et₂O mættet
 10 med vandfri HCl fik lov at henstå ved stuetemperatur under et tørrerør. Efter 17 timers forløb blev opløsningen inddam-
 pet, og den resterende gummi blev opløst i 10 ml mættet NaHCO₃. Denne opløsning blev vasket med yderligere 15 ml
 15 0,5 N HCl, tørret (MgSO₄), filtreret og koncentreret til en viskos olie. Olien blev udkrystalliseret fra toluen. Ud-
 bytte af hvide krystaller = 0,32 g (47%), smp. = 119-122°C. Tyndtlagskromatografi (4:1 toluen:AcOH) viste en enkelt
 20 plet. NMR indikerede i det væsentlige ren Z-isomer. (bemærk: behandling af methanoladduktet, t-butyl-2-(2,2-dimethylcy-
 clopropancarboxamido)-2-(methoxyhexenoat med vandfri HCl i Et₂O under lignende betingelser gav samme produkt.

Eksempel 9

(+)-Z-2-(2,2-dimethylcyclopropancarbonylamino)-2-octensyre,
 25 natriumsalt

I en 250 ml trehalset kolbe under en Dean-Stark fælde indeholdende flere molekylsigter-pellets blev der anbragt 7,0 g (+)-2,2-dimethylcyclopropan-carboxamid, 14,7 g 2-ketooc-
 tansyreethylester, 50 ml p-toluensulfonsyre og 100 ml tolu-
 30 en. Blandingen blev kogt kraftigt under tilbagesvaling i

27 timer. Den resulterende lysegule opløsning blev afkølet og koncentreret i vacuum med en vandbadstemperatur på 45°C i nærværelse af vand for at lette dannelsen af toluen. Den gummiagtige rest blev suspenderet i 230 ml 2 N NaOH og omrørt ved 30°C i 3 timer; derpå blev temperaturen forøget til 35°C i yderligere 2,5 timer, indtil der var dannet en klar opløsning. Opløsningen blev derpå afkølet, 85 ml methylenchlorid blev tilsat, og pH blev indstillet til 8,5 under anvendelse af 4 N HCl under omrøring. Det organiske lag blev fraskilt og bortkastet. Det vandige lag (366 ml) blev underkastet væskechromatografi, som viste, at det indeholdt 37,2 mg/ml svarende til 87% Z isomer. Yderligere 85 ml CH₂Cl₂ blev derpå tilsat og pH indstillet til 4,5 under omrøring. Det organiske lag blev fraskilt og det vandige lag genekstraheret med 50 ml CH₂Cl, idet pH igen blev indstillet til 4,5. Kombinerede organiske ekstrakter blev tørret over Na₂SO₄, filtreret og koncentreret til en gummi. Denne rest blev opløst i 150 ml isopropanol og 15 ml vand, og pH blev indstillet til 8,2 med 2 N NaOH. Den resulterende opløsning blev koncentreret til en olieagtig rest, som blev skyllet med isopropanol, indtil den blev til et krystallinsk fast stof, hvilket indikerede, at det meste vand var blevet fjernet. Det blev krystalliseret fra 120 ml isopropanol (afkølet i 1 time), filtreret og vasket med 50 ml kold isopropanolester af flere portioner acetone. Det blev tørret ved 60°C/0,1 mm/2 timer til opnåelse af 10,74 g (63,2%) krystallinsk materiale, der havde i det væsentlige en enkelt top i væskechromatografi, smp. 241-243°C.

Udgangsmaterialet, (+)-2,2-dimethylcyclopropanecarboxamid, fremstilles mest hensigtsmæssigt ved opspaltning af D,L-syren efterfulgt af omsætning med oxalylchlorid og derpå ammoniak til opnåelse af det opspaltede amid.

En måde til at fremstille udgangsmaterialet er som følger:

23,1 g D,L-2,2-dimethylcyclopropanecarboxylsyre blev suspenderet i 33 ml vand, og pH blev indstillet til 8,0 under anvendelse af 50% NaOH i en mængde på ca. 10 ml. Dertil blev der sat en opløsning af 38,4 g quinín i en blanding af 60 ml methanol og 30 ml vand, hvortil der var blevet sat ca. 8 ml koncentreret HCl i yderligere 30 ml H₂O til opnåelse af en pH-værdi på 7,1. (Dette var faktisk en opløsning af quinín-hydrochlorid).

Disse opløsninger blev alle tilsat på en gang under omrøring. Det gummiagtige krystallinske materiale, som dannedes, blev opvarmet til opnåelse af 2 klare lag og atter omrørt kraftigt under afkøling til opnåelse af et krystallinsk produkt. Dette produkt fik lov at henstå i 2 dage ved stuetemperatur. Det blev derpå filtreret, vasket med 2 x 10 ml vand og 2 x 10 ml 50%'s methanol og lufttørret under sugning. Udbyttet af rå quinínsalt var 44,8 g (48,7 %'s udbytte) i form af monohydrat, smp. 113-116°C, $[\alpha]_D^{20} = -94,3^\circ$, $c = 1,0$, CHCl₃. Dette materiale blev omkrystalliseret fra acetone til opnåelse af 24,35 g, smp. 127-130°C. Dette rensede quinínsalt blev omdannet til syren ved omsætning med vandig base og chloroform efterfulgt af syre til opnåelse af 3,9 g (96%) med $[\alpha]_D^{20} = +146,0^\circ$.

Denne syre blev overført amidet som følger:

30,5 g (+)syre blev i løbet af 5-10 minutter gennem en tildrypningstragt sat til 54 ml afkølet (10°) oxalylchlorid indeholdende én dråbe dimethylformamid. Der blev omrørt natten over ved omgivelsernes temperatur. Der blev iagttaget en klar opløsning, som blev sat til 100 ml methylenchlorid til fortynding. Overskud af oxalylchlorid blev fjernet ved koncentrerings, og blandingen blev skyllet med methylenchlorid.

Den resulterende opløsning blev fortyndet med et lige så

stort volumen methylenchlorid og kontinuerligt gennem en tildrypningstragt sat til ca. 100 ml vandfri væskeformig ammoniak, som var fortyndet med 100 ml methylenchlorid. Der blev anvendt et kølebad af tøris og acetone under til-

5 sætningen. Da alt var tilsat, blev kølebadet fjernet, og blandingen blev omrørt ved stuetemperatur i ca. 1/2 time. Blandingen blev filtreret til fjernelse af udfældet ammoniumchlorid og koncentreret til tørhed. Vægten af råproduktet var 26,6 g (88 %). Dette blev genopløst i over-

10 skud af varm ethylacetat og filtreret gennem en forvarmet tragt med sintret glas for at fraskille spor af NH_4Cl . Overskud af ethylacetat blev afdestilleret ved atmosfærisk tryk. Da halvdelen af volumenet var tilbage, blev der tilsat 130 ml heptan, og ethylacetat blev fortsat afdestilleret,

15 indtil kogepunktet begyndte at stige (til nær 80 °C; meget produkt var allerede udkrystalliseret). Varmekilden blev fjernet, og blandingen fik gradvis lov at afkøle til ca. 30 °C, hvorpå den blev kølet med et isbad til 0-5 °C i ca. 1/2 time. Produktet blev udvundet som pæne sølvhvide

20 krystallinske flager, som blev vasket tre gange med ethylacetat/hexan-blanding, 1/1,5 og lufttørret til konstant vægt. Det vejede 23,3 g (77,1% totaludbytte, 87,6% genvinding fra råproduktet), smp.=135-138 °C (varierer med opvarmningshastigheden). Drejningsvinklen blev bestemt ved

25 at opløse 0,0543 g i 10 ml chloroform, $[\alpha]_D^{20} = +100,0^\circ$.

Eksempel 10

Z-2-(2,2-dichlorcyclopropancarboxamido)-2-butensyre.

Trin A: 2,2-dichlorcyclopropancarboxamid

En prøve på 7,1 g 2,2-dichlorcyclopropancarboxylchlorid

30 (US patentskrift nr. 3 301 896) blev dråbevis sat til 75 ml koncentreret ammoniumhydroxid under kraftig omrøring. Reaktionsblandingens temperatur blev holdt under 10 °C med et isbad. Blandingen blev omrørt i isbadet i 30 minut-

ter og derpå 1 time ved stuetemperatur. Den vandige ammoniak blev afdampet under reduceret tryk (bad ved 50°C). Den faste rest blev ekstraheret med varm ethylacetat (3 x 30 ml). Ekstrakterne blev kogt ind til 40 ml, og 20 ml
 5 hexan blev tilsat. Efter afkøling i is blev det faste stof frafiltreret, vasket med 2,7 g 2,2-dichlorcyclopropancarboxamid, smp. 144-146°C. NMR-spektret stemte overens med den ønskede struktur.

Analyse	(C ₁₂ H ₅ Cl ₂ NO)	<u>Beregnet</u>	<u>Fundet</u>
	C	31,20	31,26
	H	3,27	3,31
	N	9,10	9,11
	Cl	46,04	45,79

Endnu 1,3 g amid, smp. 143-145°C kunne udvindes fra moder-
 10 luden.

Trin B: Z-2-(2,2-dichlorcyclopropancarboxamido)-2-buten-
syre.

En blanding af 1,53 g (15 mmol) 2-ketosmørsyre, 1,54 g (10 mmol) 2,2-dichlorcyclopropancarboxamid og 10 ml toluen
 15 blev opvarmet under tilbagesvaling i 12 timer under fjernelse af vand med en modificeret Dean-Stark fælde indeholdende molekylsigter (4A). Yderligere 0,7 g 2-ketosmørsyre blev tilsat, og reaktionsblandingen blev opvarmet under reflux i yderligere 12 timer. Blandingen blev afkølet, fortyndet med 20 ml toluen og ekstraheret med mættet natriumbicarbonat (3 x 10 ml). Ekstrakterne blev kombineret, vasket med ether og syrnet til pH 3 (pH-meter) med koncentreret saltsyre. Der udfældede en gummi, som snart størknede.
 20 Den blev frafiltreret, vasket med vand, tørret og omkrystalliseret fra nitromethan til opnåelse af 423 mg Z-2-(2,2-dichlorcyclopropancarboxamido)-2-butensyre, smp. 188-189,5°C. NMR-spektret var i overensstemmelse med den ønske-

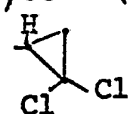
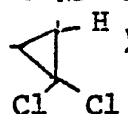
de struktur.

Analyse	(C ₈ Cl ₂ NO ₃)	<u>Beregnet</u>	<u>Fundet</u>
	C	40,36	40,48
	H	3,81	3,80
	N	5,88	5,91
	Cl	29,78	29,53

Eksempel 11

Z-2-(2,2-dichlorcyclopropanecarboxamid)-2-octensyre

En blanding af 1,19 g (7,5 mmol) 2-ketooctansyre, 0,77 g
 5 (5,0 mmol) 2,2-dichlorcyclopropanecarboxamid, og 5 ml toluen
 blev omsat under anvendelse af samme procedure som i det
 foregående eksempel. Det rå produkt (537 ml) blev rensat
 ved overføring i methylesteren (BF₃/CH₃OH), præparativ
 tyndtlagskromatografi (silicagel, 4:1 hexan:EtOAc) og
 10 forsøbning af den rene Z-methylester (0,3 M LiOH/CH₃OH)
 til opnåelse af 88 mg Z-2-(2,2-dichlorcyclopropanecarboxami-
 do)-2-octensyre som en delvis krystallinsk gummi. NMR-
 spektrum

(DMSO-d₆): δ 9,68 (s, 1H, NH), 6,50 δ (t, 1H, =^H),
 2,83 δ (t, 1H, ) , 1,97 δ (d, 2H ) ,
 0,87 δ (t, 3H, CH₃).

Eksempel 12

15 Z-8-brom-2-(2,2-dimethylcyclopropanecarboxamido)-2-octen-
syre.

Til en suspension af 14,4 g (0,3 mol) 50%'s NaH-dispersion
 i 360 ml toluen afkølet i et isbad og i en N₂-atmosfære

blev der i løbet af 45 minutter sat en opløsning af 146 g (0,6 mol) 1,6-dibromhexan og 57,6 g (0,3 mol) ethyl-1,3-dithian-2-carboxylat i 120 ml dimethylformamid. Kølebadet blev fjernet og blandingen omrørt ved stuetemperatur i 2 timer. Reaktionsblandingen blev vasket med vand (3 x 210 ml), tørret over MgSO_4 og indampet under reduceret tryk til opnåelse af 179,5 g af en gul olie indeholdende det ønskede anhydratiserede dithian, 1,6-dibromhexan og mineralolie. Dette råmateriale blev anvendt i næste reaktions-

10 trin uden rensning. Til en suspension af 426 g (2,4 mol) N-bromsuccinamid i 800 ml acetonitril og 200 ml vand blev der i løbet af 45 minutter sat en opløsning af det rå dithian i 100 ml acetonitril. Reaktionsblandingsens temperatur blev holdt under 25°C med et isbad. Efter omrøring ved

15 20°C i 10 minutter blev den mørkerøde reaktionsblanding udhældt i 2 liter hexan: CH_2Cl_2 (1:1). Opløsningen blev rystet med mættet NaHSO_3 (2 x 400 ml) og vand (1 x 500 ml). Derpå blev 400 ml mættet Na_2CO_3 -opløsning tilsat i små portioner (voldsom CO_2 -opløsning). Efter at skumning var

20 stilnet af, blev tragten rystet, og den vandige fase blev fraskilt. Det organiske lag blev ekstraheret med mættet Na_2CO_3 -opløsning (400 ml) og vand (500 ml) og tørret over MgSO_4 . Fjernelse af opløsningsmidlet under reduceret tryk gav 133,8 g rå bromketoester indeholdende 1,6-dibromhexan og mineralolie. Dette rå materiale blev anvendt i næste

25 reaktionstrin uden rensning.

En blanding af 133,8 g rå brun ketoester, 133 ml 50 %'s drogenbromidsyre og 267 ml eddikesyre blev opvarmet ved 90°C (indre temperatur) i 75 minutter. Den mørke opløsning

30 blev indampet under reduceret tryk, indtil størstedelen af eddikesyren var blevet fjernet. Resten blev opløst i 500 ml ether, vasket med vand (2 x 100 ml) og ekstraheret med mættet NaHCO_3 (3 x 200 ml). De kombinerede NaHCO_3 -ekstrakter blev ekstraheret med ether (2 x 100 ml) og syret med koncentreret HCl . Den udfældede olie blev ekstrahe-

35

ret med ether (3 x 200 ml). Etherekstrakterne blev vasket med vand (1 x 100 ml) og mættet saltvand (1 x 100 ml) og tørret over MgSO_4 . Fjernelse af etheren under reduceret tryk gav 46,2 g ren bromketosyre, som ifølge tyndtlagskro-
 5 matografi (silicagel, 4:1 tolueneddikesyre) var homogen.

NMR-spektret var i overensstemmelse med det ønskede produkt.

En blanding af 46,1 g (0,194 mol) af bromketosyre, 17,6 g (0,156 mol) 2,2-dimethylcyclopropancarboxamid og 450 ml
 10 toluen blev opvarmet under tilbagesvaling i 13 timer under opsamling af vand i en lille Dean-Stark fælde. Efter afkøling blev den klare reaktionsblanding ekstraheret med mættet NaHCO_3 -opløsning (4 x 100 ml). De kombinerede ekstrakter blev vasket med ether (2 x 100 ml), og derpå
 15 blev pH indstillet til 3,5 (pH-meter) ved tilsætning af koncentreret HCl . Der udfældede en olie, som snart krystalliserede. Det faste stof blev frafiltreret, vasket godt med vand og tørret. Omkrystallisering fra acetonitril gav 22,5 g Z-8-brom-2-(2,2-dimethylcyclopropancarboxa-
 20 mido)-2-octensyre, smp. $151-153^\circ\text{C}$. Forbindelsen var homogen ifølge tyndtlagschromatografi (4:1 toluen:eddikesyre). NMR-spektret var i overensstemmelse med den ønskede struktur.

Analyse ($\text{C}_{14}\text{H}_{22}\text{BrNO}_3$)	<u>Beregnet</u>	<u>Fundet</u>
C	50,61	50,66
H	6,67	6,96
N	4,22	4,45
Br	24,05	23,95

Eksempel 12Z-2-(2,2-dimethylcyclopropancarboxamido)-8-methylthio-2-octensyre

En strøm af CH_3SH -gas blev boblet gennem en opløsning af
 5 162 mg (3 mmol) natriummethoxid i 5 ml methanol i 10
 minutter under afkøling i et isbad. Opløsningen fik lov at
 opvarme til stuetemperatur, og 332 mg (1 mmol) Z-8-brom-2-
 (2,2-dimethylcyclopropancarboxamido)-2-octensyre blev
 tilsat. Opløsningen blev opvarmet under tilbagesvaling i
 10 30 minutter i en N_2 -atmosfære. Det meste af methanolen blev
 afdampet under reduceret tryk, resten blev opløst i 10 ml
 vand og syrnet med 2,5 N HCl. Den udfældede olie blev ex-
 traheret med ether (3 gange). Etherextrakterne blev vas-
 ket med vand, mættet saltvand og tørret over MgSO_4 . Fjer-
 15 nelse af etheren under reduceret tryk gav en farveløs olie,
 som udkrystalliserede ved henstand. Den blev omkrystallise-
 ret fra ether:hexan til opnåelse af 178 mg Z-2-(2,2-di-
 methylcyclopropancarboxamido)-8-methylthio-2-octensyre,
 smp. $82-84^\circ\text{C}$. Den viste sig at være homogen ifølge tyndt-
 20 lagschromatografi (toluen:eddikesyre, 4:1). NMR-spektret
 var i overensstemmelse med den ønskede struktur.

Analyse ($\text{C}_{15}\text{H}_{25}\text{NO}_3\text{S}$)	<u>Beregnet</u>	<u>Fundet</u>
C	60,18	60,36
H	8,42	4,68
N	4,68	4,59
S	10,69	10,87

Forbindelsen 7-(L-2-amino-2-carboxyethylthio)-2-(2,2-
 dimethylcyclopropancarboxamido)-2-heptensyre fremstilles
 på lignende måde som i ovenfor anførte eksempel med den
 25 undtagelse, at Z-7-brom-2-(2,2-dimethylcyclopropancarbox-
 amido)-2-heptensyre (185 mg, 1,05 mmol) opløses i 2,02 ml
 NaOH-opløsning (2,0 N) og deoxygeneres ved bobling af

en strøm af nitrogengas derigennem i 1 minut. Derpå til-
 sættes cystein.HCl (185 mg, 1,05 mmol) på én gang, og re-
 aktionsblandingen omrøres ved stuetemperatur i N₂-atmos-
 fære i 3 timer. Blandingen elueres med 300 ml H₂O efter-
 5 fulgt af 200 ml 2 N NH₃-opløsning. Ammoniak afdampes
 under reduceret tryk til opnåelse af 284 mg af et gulligt
 glas. Dette produkt opløses i 4 ml ethanol, og det uoplø-
 selige materiale frafiltreres. Filtratet sættes dråbevis
 til hurtigt omrørt diethylether (150 ml). Det faste stof,
 10 som udfælder, frafiltreres, vaskes med ether og tørres
 til opnåelse af 171 mg produkt, der har én plet (ninhy-
 drin-positiv) i TLC (nBuOH, HOAc, H₂O; 4:1:1) R_f ca. 6;
 NMR er god.

Analyse beregnet for C₁₆H₂₆N₂O₅S:

C 53,61; H 7,31; N 7,81; S 8,94;
 fundet: C 52,55; H 7,40; N 7,89; S 9,63.

Under anvendelse af samme procedure blev følgende for-
 15 bindelser fremstillet:

7-(D-amino-2-carboxyethylthio)-2-(2,2-dimethylcyclopro-
 pancarboxamido)-2-heptensyre, der opnås som et krystal-
 linsk fast stof, smp. 183-185 °C (dek.). Det er homogent
 ifølge TLC (silicagel: nBuOH, HOAc, H₂O (4:1:1); ninhy-
 20 drin-positivt). NMR-spektret var i overensstemmelse med
 den ønskede struktur. K_i = 0,19 / μ m.

Analyse beregnet for C₁₆H₂₆N₂O₅S · 2,25H₂O

C 52,95; H 7,36; N 7,72; S 8,83;
 fundet: C 53,04; H 7,25; N 7,43; S 9,02.

- 6-(L-2-amino-2-carboxyethylthio)-2-(2,2-dimethylcyclopropancarboxamido)-2-hexensyre, der opnås som et krystallinsk fast stof, smp. 120-132 °C (dek.). Homogent TLC (silicagel; nBuOH, HOAc, H₂O (4:1:1); ninhydrin-positiv).
 5 NMR-spektret var i overensstemmelse med den ønskede struktur. $K_i = 0,27 \text{ } \mu\text{m}$.

Analyse beregnet for (C₁₅H₂₄N₂O₅S · 5H₂O

C 50,98; H 7,13; N 7,93; S 9,07;
 fundet: C 50,86; H 7,11; N 7,76; S 9,25.

- 8-(L-2-amino-2-carboxyethylthio)-2-(2,2-dimethylcyclopropancarboxamido)-2-octensyre, der opnås som et krystallinsk fast stof, smp. 174-177 °C (dek.). Homogent TLC (silicagel; nBuOH, HOAc, H₂O (4:1:1); ninhydrin-positiv).
 10 NMR-spektret var i overensstemmelse med den ønskede struktur. $K_i = 0,23 \text{ } \mu\text{m}$.

Natrium-Z-7-(L-amino-2-carboxyethylthio)-2-(2,2-dimethylcyclopropancarboxamido)-2-heptensyre

- 15 A. Grignard-fremstilling af ethyl-7-chlor-2-oxoheptanoat.

- Ækvimolære mængder (8 mol af hver) af 1-brom-5-chlorpentan og magnesium omsattes i tetrahydrofuran (960 ml) ved 25 °C. Beholderen tilsattes Mg i THF, og bromchlorpentanen tilsattes i løbet af 1 time, hvorpå den henstod i 2 timer. Efter fuldendt reaktion blev reaktionsopløsningen (afkølet til -15 °C) sat til 16 mol diethyloxalat i 1856 ml tetrahydrofuran, mens temperaturen blev holdt ved -10 °C. Der blev afskrækket med tilsætning af 2 N HCl, idet temperaturen blev holdt under 25 °C. Efter afstripping af opløsningsmidlerne var det beregnede udbytte
 20
 25 48,8% ethyl-1-chlor-6-oxoheptenoat.

B. Kondensation og hydrolyse.

S-2,2-dimethylcyclopropylcarboxamid (1017 g), 2143,6 g ethyl-7-chlor-2-ketoheptanoat, 9 liter toluen og 12 g p-toluensulfonsyre blev sat til en 22 liters kolbe, og
5 der blev opvarmet til tilbagesvaling under omrøring. Efter 23 timers forløb viste væskechromatografi det ventede produktforhold, og 4 liter toluen blev fjernet under let reduceret tryk. Beholderen blev tilsat vand, neutraliseret til pH 7 med 2 N NaOH og vakuumdestille-
10 ret, hvilket efterlod et slutvolumen i beholderen på ca. 5 liter.

Der blev hydrolyseret ved tilsætning af 1760 g 50%'s vandig NaOH (4 liter vand) og omrøring natten over. Kolben blev tilsat 4 liter methylenchlorid, og pH blev indstil-
15 let til 8,8 under anvendelse af HCl. Uomsat amid ud-krystalliserede. De organiske lag blev skilt fra vand og inddampet. Den gummiagtige rest blev opløst i 8 liter vand indeholdende 720 g 50%'s NaOH, og til denne op-
løsning blev der sat 1818 g L-cystein HCl.H₂O, 2 kg is,
20 24,84 g 50%'s NaOH og 1 liter vand.

Efter henstand natten over indstilledes pH for denne opløsning til 3,0 med koncentreret HCl, og den resulterende gummiagtige suspension opvarmedes til 95 °C til op-
nåelse af en klar opløsning. Efter 30 minutters forløb
25 kunne der ikke iagttages E-isomer. Efter oparbejdning og rensning var det totale udbytte 50%. Dette materiale blev omkrystalliseret fra acetonitril. 1500 g omkrystalliseret materiale blev opløst i 6 liter vand og
910 ml 3,88 N NaOH, hvorpå der blev neutraliseret til
30 pH 7 og lyophiliseret til opnåelse af 1569 g (98,6%) af titelforbindelsen.

Analyseresultat

beregnet: C 52,52; H 6,62; N 7,36; S 8,43; Na 6,04;
fundet : C 50,71; H 6,78; N 7,49; S 8,52; Na 5,92.

Z-8[(2-Amino-2-oxoethyl)thio]-2-(2,2-dimethylcyclopropan-
carboxamido)-2-octensyre

Titelforbindelsen blev også fremstillet på lignende måde som beskrevet i eksempel 12 i det foregående under
5 anvendelse af 3,3 g af brom-mellemproduktet og 1,3 g
 $\text{H}_2\text{NC}(=\text{O})\text{CH}_2\text{SH}$ i 50 ml methanol til opnåelse af 1,6 g
produkt, smp. 127-128 °C.

Eksempel 14

10 Z-2-(2,2-dimethylcyclopropancarboxamido)-8-trimethyl-
ammoniumhydroxid-2-octensyre indre salt

En opløsning af 996 mg (3 mmol) Z-8-brom-2-(2,2-dimethyl-
cyclopropancarboxamid)-2-octensyre i 15 ml 25% vandig
trimethylamin fik lov at henstå ved stuetemperatur i 3
timer. Reaktionsblandingen blev udhældt på en 2 x 25 cm
15 søjle af IRA-410 (50-100 mesh, OH^-) ionbytterharpiks og
elueret med vand, indtil effluentet ikke længere var ba-
sisk. Effluentet blev afdampet under reduceret tryk til
opnåelse af 800 mg af et farveløst glas. Dette materiale
blev opløst i 20 ml ethanol, filtreret og fortyndet med
20 600 ml acetone. Efter henstand ved stuetemperatur natten
over blev det krystallinske faste stof, som udskiltes,
filtreret, vasket med acetone og tørret til opnåelse af
720 mg Z-2-(2,2-dimethylcyclopropancarboxamid)-8-trime-
thylammoniumhydroxid-2-octensyre indre salt som hygrosko-
25 piske krystaller, smp. 220-222°C. Produktet var homogent i-

følge tyndtlagschromatografi (silica-gel, i BuOH, HOAc, H₂O, 4:1:1). NMR-spektret var i overensstemmelse med den ønskede struktur.

Analyse (C ₁₇ H ₃₀ N ₂ O ₃)	<u>Beregnet</u>	<u>Fundet</u>
C	65,77	65,78
H	9,74	9,98
N	9,02	8,92

Eksempel 15

5 Z-2-(2,2-dimethylcyclopropancarboxamido)-8-formamidino-2-octensyre

En prøve på 350 mg Z-8-amino-2-(2,2-dimethylcyclopropan-carboxamido)-2-octensyre blev opløst i 10 ml vand og pH indstillet til 8,5 med 2,5 N NaOH. Ialt 947 mg benzyl-

10 formimidathydrochlorid blev tilsat ved stuetemperatur i små portioner i løbet af 20 minutter, mens pH blev holdt mellem 8 og 9 ved tilsætning af 2,5 N NaOH. Efter omrøring ved stuetemperatur i 30 minutter blev den uklare reaktionsblanding ekstraheret med ether 3 gange og tilført en

15 2 x 2,5 cm søjle af en G50W-X4 (Na⁺, 200-400 mesh) harpiks. . Efter eluering med vand blev de fraktioner, der indeholdt produktet, samlet og inddampet under reduceret tryk. Dette materiale blev opløst i vand og ført til en 2 x 25 cm søjle af GLX8 (HCO₃⁻, 200-400 mesh) har-

20 piks. Efter eluering med vand blev de fraktioner, der indeholdt rent produkt, samlet og inddampet under reduceret tryk. Resten blev opløst i nogle få milliliter varm ethanol, filtreret og dråbevis tilsat 200 ml ether under hurtig om-

25 røring. Filtrering og vask med ether gav 243 mg Z-2-(2,2-dimethylcyclopropancarboxamido)-8-formamidino-2-octensyre som et amorf fast stof. Dette viste sig at være homogent

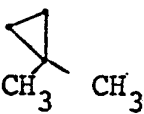
ifølge tyndtlagschromatografi (n-BuOH, HOAc, H₂O; 4:1:1). NMR-spektret var i overensstemmelse med den ønskede struktur.

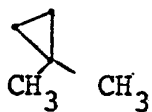
Analyse (C ₁₅ H ₂₅ N ₃ O ₃ ·1/3H ₂ O)	<u>Beregnet</u>	<u>Fundet</u>
C	59,69	60,04
H	8,59	8,64
N	13,92	13,57

Eksempel 16

5 Z-2-(2,2-dimethylcyclopropanecarboxamido)-8-guanidino-2-octensyre

Til en opløsning af 2 mmol guanidin (fremstillet ud fra 432 mg guanidinsulfat og 630 mg bariumhydroxidoctahydrat) i 7 ml vand blev der sat 332 mg (1 mmol) 8-brom-2-(2,2-dimethylcyclopropanecarboxamido)octensyre, og opløsningen blev opvarmet ved 70°C i en nitrogenatmosfære i 1 time. Reaktionsblandingen blev påført en 2 x 25 cm søjle med "Dowex[®] 50W-X8 "(H⁺, 100-200 mesh). Efter eluering med vand, blev de fraktioner, der indeholdt produktet, samlet og inddampet under reduceret tryk. Resten blev oplødt i flere milliliter varm ethanol og dråbevis sat til 100 ml ether under hurtig omrøring. Filtrering og vask med ether gav 107 mg Z-2-(2,2-dimethylcyclopropanecarboxamido)-8-guanidino-2-octensyre som et amorft elektrostatiske pulver. Dette viste sig at være homogent ifølge tyndtlagschromatografi (n-BuOH, HOAc,

H₂O; 4:1:1). NMR (D₂O, NaOD): 6.48 δ (t, 1H, =^H); 3.10 δ (m, 2H, CHN-), 2.10 δ (m, 2H, =^{CH}), 1.17 δ (s, 3H, ).



Eksempel 17Z-2-(2,2-dimethylcyclopropancarboxamido)-8-methoxy-2-octensyre

Til en opløsning af 2,43 mmol natriummethoxid i 5 ml methanol blev sat 332 mg (1 mmol) 8-brom-2-(2,2-dimethylcyclopropancarboxamido)-2-octensyre. Opløsningen blev opvarmet under reflux i en nitrogenatmosfære i 1 time. Reaktionsblandingen blev indampet under reduceret tryk, resten opløst i vand og syrnet med 2,5 N saltsyre. Den olie, som udfældede, blev ekstraheret med ether 3 gange. Etherextrakterne blev vasket med vand og mættet med saltvand og tørret over MgSO_4 . Fjernelse af etheren under reduceret tryk gav en farveløs olie, som krystalliserede efter henstand. Den blev omkrystalliseret fra ether/hexan til opnåelse af 140 mg Z-2-(2,2-dimethylcyclopropancarboxamido)-8-methoxy-2-octensyre, smp. $71-72^\circ\text{C}$. Den viste sig at være homogen ved tyndtlagschromatografi (toluen:HOAc, 4:1). NMR-spektret var i overensstemmelse med den ønskede struktur.

Analyse ($\text{C}_{15}\text{H}_{25}\text{NO}_4$)	<u>Beregnet</u>	<u>Fundet</u>
C	63,58	63,54
H	8,89	9,12
N	4,94	5,16

På samme måde fremstilledes Z-8-cyano-2-(2,2-dimethylcyclopropancarboxamido)-2-octensyre ud fra 332 mg 8-brom-2-(2,2-dimethylcyclopropancarboxamido)-2-octensyre og 100 mg NaCN i 2 ml DMSO, der opvarmedes til 80°C i 30 minutter. Efter ekstraktion og rensning udvandt 102 mg af et farveløst fast stof, smp. $99-103^\circ\text{C}$.

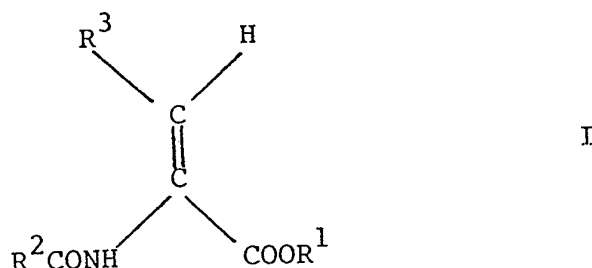
Analyse for $\text{C}_{15}\text{H}_{22}\text{N}_2\text{O}_3$

beregnet: C 64,73; H 7,97; N 10,66;

fundet : C 64,69; H 8,14; N 9,41.

P a t e n t k r a v:

Analogifremgangsmåde til fremstilling af α -acylamino-
 α,β -umættede carboxylsyrederivater i Z-stereokonfiguration
 med den almene formel



- 5 eller et farmaceutisk acceptabelt syreadditionssalt deraf,
 hvor R^2 betegner forgrenet alkyl med 3-10 carbonatomer,
 cycloalkyl med 3-10 carbonatomer, cycloalkylalkyl med 1-3
 carbonatomer i alkyl delen og 3-6 carbonatomer i cyclo-
 alkyl delen, mono- eller dialkylcycloalkyl med 3-6 carbon-
 10 atomer i cycloalkyl delen, 3-substitueret n-propyl, hvor
 substituenten er phenyl eller 2-thienyl, eller R^2 er al-
 kenyl med 3-10 carbonatomer, med den begrænsning, at det
 til carbonylgruppen nabostillede carbonatom ikke kan være
 tertiært, og R^3 er phenyl eller en alkyl- eller alkyl-
 15 gruppe med 1-15 carbonatomer, idet R^2 og/eller R^3 kan
 indeholde 1-6 halogenatomer, og hvori en ikke-terminal
 methylen gruppe i R^2 og/eller R^3 kan være erstattet med
 oxygen eller svovl, herunder oxiderede former for sidst-
 nævnte, idet et terminalt hydrogenatom i R^3 kan være er-
 20 stattet med alkylamino eller en hydroxyl-, amino- eller
 thiolgruppe, som kan være acyleret med en alkanoylgrup-
 pe med 1-8 carbonatomer eller carbamoyleret, eller hydro-
 genet i R^3 kan være erstattet med cyano, ureido, amidino,
 guanidino, kvaterniseret alkylamino, en carboxylsyregruppe,
 25 en fosfonsyregruppe, en sulfonsyregruppe eller et amid
 deraf, tetrahydrofuranyl, phenyl, cyclohexyl, N,N-dimethyl-

carbamoyl eller ethoxycarbonyl, og R^1 er hydrogen eller alkyl med 1-6 carbonatomer, k e n d e t e g n e t ved, at man

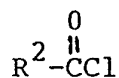
- 5 a) kondenserer en 2-ketosyre eller en alkylester deraf med et amid under sur katalyse efter reaktionen:



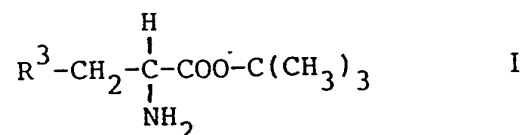
hvor $R^{1'}$ er hydrogen eller alkyl med 1-6 carbonatomer, og R^2 og R^3 har ovennævnte betydninger,

eller

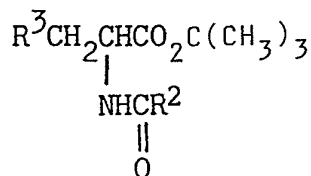
- 10 b) til fremstilling af forbindelser, hvor R^1 er hydrogen, omsætter et syrechlorid med den almene formel



med en t-butylester af en α -aminosyre med formlen



i nærværelse af base, oxiderer den fremkomne forbindelse med formlen



VII

- 15 i nærværelse af natriummethoxid og behandler den resulterende forbindelse med vandfri saltsyre, idet R^2 og R^3 har de tidligere angivne betydninger.