

POPIS VYNÁLEZU K PATENTU

228118
(11) (B2)



GRAD PRO VYNÁLEZY
A OBJEVY

(22) Přihlášeno 09 08 79

(21) [PV 5462-79]

(32) [31] [33] Právo přednosti od 11 08 78
(932883) Spojené státy americké

(40) Zveřejněno 15 09 83

(45) Vydáno 15 07 86

(51) Int. Cl.³
C 07 D 207/12
(C 07 D 207/12,
207/16, 207/08)
//A 61 K 31/40

(72)

Autor vynálezu

ONDETTI MIGUEL ANGEL, PRINCETON, NEW JERSEY,
KRAPCHO JOHN, SOMERSET, NEW JERSEY (Sp. st. a.)

(73)

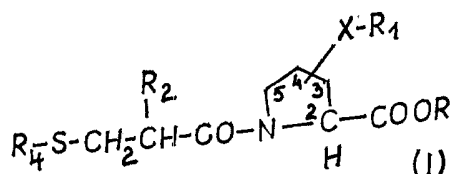
Majitel patentu

E. R. SQUIBB & SONS, INC., PRINCETON, NEW JERSEY (Sp. st. a.)

(54) Způsob výroby merkptoacylderivátů substituovaných prolinů

1

Vynález se týká způsobu výroby nových etherů a thioetherů merkptoacylprolinů, obecného vzorce I



ve kterém

skupina X-R₁ je navázána v poloze 3 nebo 4 prolinového kruhu,

X představuje kyslík nebo síru,

R znamená atom vodíku nebo alkylovou skupinu s 1 až 4 atomy uhlíku,

R₁ představuje alkylovou skupinu s 1 až 4 atomy uhlíku nebo fenylovou skupinu, popřípadě substituovanou atomem halogenu, methylovou skupinou nebo methoxyskupinou,

R₂ znamená atom vodíku nebo alkylovou skupinu s 1 až 7 atomy uhlíku a

R₄ představuje atom vodíku, alkanoylovou skupinu s 1 až 4 atomy uhlíku nebo benzoylevou skupinu a jejich soli s báze.

Jako příklady shora zmíněných alkylo-

2

vých skupin lze uvést skupinu methylovou, ethylovou, propylovou, isopropylovou, butylovou, isobutylovou a terc.butylovou, přičemž nejvýhodnějšími skupinami tohoto typu jsou methylová a ethylová skupina.

Výraz „atom halogenu“ zahrnuje čtyři obvyklé členy této skupiny, tj. atomy chlóru, bromu, fluoru a jodu, přičemž chlóru, brom a fluor jsou výhodnými halogeny.

Sloučeniny obecného vzorce I obsahují centrum asymetrie na uhlíkovém atomu v poloze 2 prolinového kruhu.

V postranním řetězci obsahujícím merkptoskupinu může být pochopitelně přítomno další centrum asymetrie, a to v závislosti na substituentu R₂. V soulase s tím tedy mohou produkty obecného vzorce I existovat ve stereoisomerních formách nebo v racemických směsích těchto forem. Všechny tyto formy spadají do rozsahu vynálezu. Při níže popsané syntéze je možno jako výchozí materiál použít racemát nebo některý z enantiomerů. Pokud se při syntéze použije racemický výchozí materiál, je možno stereoisomery obsažené ve výsledném produktu oddělit běžnou chromatografií nebo frakční krystalizací. V důsledku přítomnosti seskupení X-R₁ může dojít rovněž k cis-trans isomerii.

S výhodou je centrum asymetrie v pro-

linovém kruhu v L-konfiguraci a pokud se vyskytuje centrum asymetrie v merkaptocylovém postranním řetězci, je toto další centrum asymetrie s výhodou v D-konfiguraci.

Výhodnými sloučeninami jsou ty látky obecného vzorce I, v němž

R znamená atom vodíku,

R₁ představuje alkylovou skupinu s 1 až 3 atomy uhlíku nebo fenylovou skupinu, popřípadě substituovanou methylovou skupinou, methoxyskupinou, atomem chloru nebo fluoru,

R₂ znamená atom vodíku nebo methylovou skupinu nebo trifluormethylovou skupinu a

R₄ představuje atom vodíku.

Jako meziproducty jsou rovněž výhodné shora uvedené sloučeniny, v nichž R₄ představuje acetylovou nebo benzoylovou skupinu, zejména skupinu acetylovou.

Nejvýhodnější jsou ty shora uvedené sloučeniny obecného vzorce I, v němž

X znamená atom kyslíku,

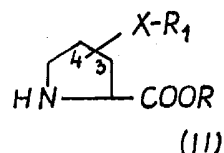
R₁ představuje methylovou nebo ethylovou skupinu, zejména methylovou skupinu,

R₂ představuje atom vodíku nebo methylovou skupinu, zejména methylovou skupinu,

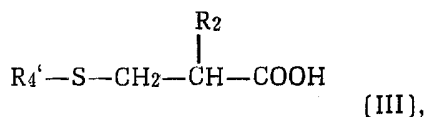
R₄ představuje atom vodíku a skupina —XR₁ je navázána v poloze 4 prolinového kruhu, a zejména pak ty sloučeniny, v nichž skupina —XR₁ je v cis-konfiguraci.

V souhlasu s vynálezem se sloučeniny obecného vzorce I a jejich soli s báze vyrobí tak, že se prolinový derivát obecného vzorce II

ve kterém



R, R₁ a X mají shora uvedený význam, kondenzuje s kyselinou obecného vzorce III



ve kterém

R₂ má shora uvedený význam a

R₄' znamená alkanoylovou skupinu s 1 až 4 atomy uhlíku nebo benzoylovou skupinu, vzniklý produkt, v němž R₄ znamená alkanoylovou skupinu s 1 až 4 atomy uhlíku nebo benzoylovou skupinu, se popřípadě hydrolyzuje na odpovídající sloučeninu s atomem vodíku ve významu symbolu R₄ a výsledný produkt se popřípadě převede na svoji sůl s bázi.

Reakci sloučenin obecných vzorců II a III je možno uskutečnit v přítomnosti konden-

začního činidla, jako dicyklohexylkarbodiimidu apod., nebo je možno výchozí kyselinu obecného vzorce III aktivovat převedením na smíšený anhydrid, symetrický anhydrid, halogenid kyseliny, aktivovaný ester, nebo použitím Woodwardova činidla, K, N-ethoxykarbonyl-2-ethoxy-1,2-dihydrocholinu apod. Přehled acylačních metod je uveden například v knize Methoden der Organischen Chemie (Houben-Weyl), díl XV, část II, str. 1 a další (1974). S výhodou se reakci se sloučeninou obecného vzorce II podrobuje chlorid kyseliny obecného vzorce III.

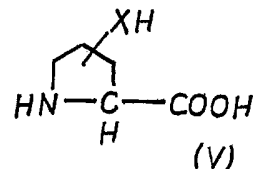
Esterové deriváty shora uvedeného obecného vzorce I, tj. ty sloučeniny, v nichž R představuje alkylovou skupinu s 1 až 4 atomy uhlíku, je možno převádět na volné kyseliny, tj. na sloučeniny s atomem vodíku ve významu symbolu R, a to obvyklým způsobem. Tak například v případě, že R znamená terc.butylovou skupinu, získá se odpovídající volná kyselina působením trifluoroctové kyseliny a anisolu.

Produkt obecného vzorce I se s výhodou izoluje a vyčistí krystalizací, například tak, že se převede na dicyklohexylamoniovou sůl, kterážto sůl se pak znovu přemění na volnou kyselinu působením vodného roztoku kyseliny nebo kyselého činidla, jako hydrogensíranu draselného.

Hydrolyza, popřípadě amonolýza vedoucí ke sloučeninám obecného vzorce I s atomem vodíku ve významu symbolu R₄, se provádí běžným způsobem.

Estery obecného vzorce I, v němž R znamená alkylovou skupinu s 1 až 4 atomy uhlíku, je možno získat z odpovídajících karboxylových kyselin, tj. z výše zmíněných sloučenin, v nichž R znamená atom vodíku, běžnými esterifikačními postupy, například esterifikací diazoalkanem, jako diazomethanem, 1-alkyl-3-p-tolyltriazanem, jako 1-n-butyl-3-p-tolyltriazanem, apod.

Výchozí prolinové deriváty obecného vzorce II je možno připravit různými způsoby. Tak například se hydroxy- nebo merkaptoprolin obecného vzorce V

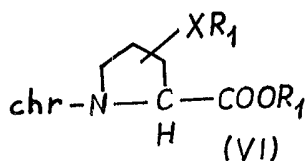


k chránění dusíkového atomu acyluje acylačním činidlem, jako acetanhydridem, acetylchloridem, anhydridem kyseliny propionové, anhydridem kyseliny máselné, benzylchlorformiátem apod. Reakci sloučeniny obecného vzorce V, s chráněným dusíkovým atomem, s halogenidem obecného vzorce

R₁hal,

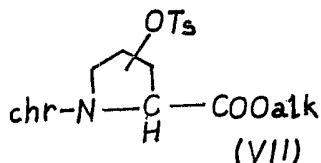
kde hal znamená atom halogenu, výhodně jodu, v přítomnosti kysličníku stříbrného, natriumhydridu, hydroxidu sodného apod.,

se zavede zbytek ve významu symbolu R_1 , za vzniku meziproduktu obecného vzorce VI



Alkalickou hydrolýzou meziproduktu obecného vzorce VI působením báze, jako hydroxidu barnatého, hydroxidu sodného, hydroxidu draselného apod., se nejprve získá odpovídající volná kyselina (COOH) a pak hydrolýzou působením minerální kyseliny, jako kyseliny sírové, se získá výchozí materiál obecného vzorce II.

Další způsob výroby výchozích prolinových derivátů obecného vzorce II spočívá v reakci esteru, s výhodou methylesteru, tosyloxyprolinového derivátu chráněného na dusíku, obecného vzorce VII

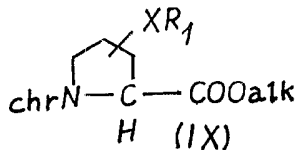


kde

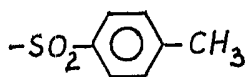
chr znamená chránicí skupinu, alk představuje alkylovou skupinu a Ts má níže uvedený význam, se sodnou solí obecného vzorce VIII



za vzniku meziproduktu obecného vzorce IX



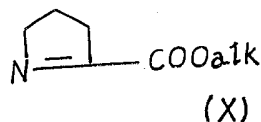
V obecném vzorci VII představuje symbol Ts zbytek vzorce



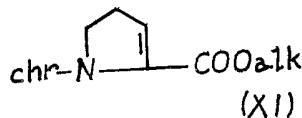
a chránicí skupinou dusíku je buď benzyloxycarbonylová skupina, která je výhodná, nebo kterákoli jiná z běžně používaných acylových chránicích skupin. Při této reakci v případě, že tosyloxyskupina je v cis-konfiguraci, vzniká produkt obsahující seskupení XR_1 v trans-konfiguraci a v přípa-

dě, že tosyloxyskupina je v trans-konfiguraci, vzniká produkt obsahující seskupení XR_1 v cis-konfiguraci. Z meziproduktu obecného vzorce IX se pak odstraní alkylesterová skupina, načež se reakcí s bromovodíkem získá hydrobromid výchozího prolinového derivátu obecného vzorce II, který je pak možno kondenzovat s kyselinou obecného vzorce III nebo s výhodou, s chloridem této kyseliny.

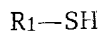
Výchozí prolinové deriváty obecného vzorce II, v němž X znamená atom síry a seskupení XR_1 je navázáno v poloze 3 prolinového zbytku, lze získat rovněž reakcí esteru, s výhodou terc.butylesteru, 1,2-dehydroprolinu, obecného vzorce X



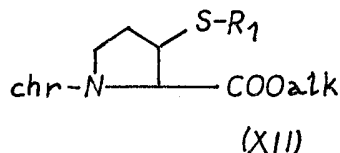
s acylačním činidlem, jako benzylchlorformiátem, acetylchloridem apod., za vzniku 4,5-dehydroderivátu obecného vzorce XI



který se pak podrobí reakci s merkaptanem obecného vzorce



za vzniku produktu obecného vzorce XII



v němž seskupení $-S-R_1$ je v trans-konfiguraci. Chránicí skupina na dusíku a alkylová skupina se pak odstraní, čímž se získá žádaný výchozí materiál.

Výchozí prolinové deriváty obecného vzorce II, v němž R_1 znamená fenylovou skupinu, popřípadě substituovanou shora uvedeným způsobem, lze rovněž získat reakcí benzyleru N-chráněného prolinu obecného vzorce V s příslušným alkoholem obecného vzorce R_1-OH v přítomnosti trifenylofosfinu a diethylazodikarboxylátu, podle postupu, který popsali Bittner a spol., v Chemistry and Industry, str. 281 (15. 03. 75). Odštěpením chránicí skupiny na dusíku a benzylerové skupiny se pak získá výchozí materiál obecného vzorce II.

K získání dalších ilustrativních informací, pokud jde o přípravu výchozích látek a meziproduktů, je možno poukázat rovněž na následující publikace: Ondetti a spol., americké patenty č. 4 046 889, 4 105 776 a číslo

4 154 935; Neuberger, J. Chem. Soc., 1945, str. 429 — 432; Patchett a spol., J. Amer. Chem. Soc. **79**, str. 185 — 192 (1957); Baer a spol., Can. J. Biochem. and Phys., **37**, str. 583 (1959); Sheehan a spol., J. Amer. Chem. Soc. **85**, 3863 — 3865 (1963); Magerlein, J. Med. Chem. **10**, str. 1161 — 1163 (1967). Postupy popsané v těchto publikacích je možno použít jako obecné metody pro syntézu a stereokonverzi sloučenin používaných ve smyslu vynálezu.

Další experimentální detaily jsou obsaženy v níže uvedených příkladech provedení, které popisují výhodná provedení a rovněž slouží jako modelové postupy k přípravě jiných sloučenin podle vynálezu.

Sloučeniny podle vynálezu tvoří soli s velkou řadou různých anorganických nebo organických bází. Solitvornými ionty odvozenými od těchto bází mohou být kovové ionty, například ionty hliníku, alkalických kovů, jako sodíku či draslíku, kovů alkalických zemin, jako vápníku či hořčíku, nebo ionty odvozené od aminů, z nichž je pro tyto účely známá celá řada, například aralkylamin, jako dibenzylamin, N,N-dibenzylethylendiamin, nižší alkylaminy, jako methylamin, terc.butylamin, prokain, nižší alkylpiperidiny, jako N-ethylpiperidin, cykloalkylaminy, jako cyklohexylamin nebo dicyklohexylamin, 1-adamantanamin nebo benzathin. Dále přicházejí v úvahu soli odvozené od aminokyselin, jako od argininu, lysinu apod. Fyziologicky přijatelné soli, jako soli sodné či draselné, je možno použít v lékařství, jak je popsáno níže, a tyto soli jsou výhodné. Tyto a jiné soli, které nemusí být nutně fyziologicky přijatelné, jsou užitečné k izolaci a čištění produktů vhodných pro níže popsané účely, jak je ilustrováno v příkladech provedení na příkladech solí s dicyklohexylaminem a cyklohexylaminem. Soli se připravují reakcí sloučeniny ve formě kyseliny s ekvivalentem báze poskytující žádaný bazický iont, v prostředí, z něhož se sůl sráží nebo ve vodném prostředí s následující lyofilizací. Produkt ve formě volné kyseliny je možno ze soli získat běžnou neutralizací, například hydrogensíranem draselným, kyselinou chlorovodíkovou apod.

Sloučeniny podle vynálezu inhibují konverzi decapeptidu angiotensinu I na angiotensin II a jsou proto užitečné k potlačování nebo zmírňování hypertenze. Sloučeniny podle vynálezu porušují postup renin → angiotensinogen → angiotensin I → angiotensin II tím, že inhibují enzym přeměňující angiotensin I na angiotensin II a potlačují nebo eliminují vznik presorické látky angiotensinu II. Aplikací hypotensivně účinného množství prostředku obsahujícího jednu nebo několik sloučenin obecného vzorce I nebo jejich fyziologicky přijatelných solí tedy vede k redukci nebo zmírnění hypertenze u savců trpících touto chorobou.

K snížení krevního tlaku je vhodná jedno-

rázová dávka nebo výhodně dvě až čtyři dílčí denní dávky, které se pohybují v rozmezí zhruba od 0,1 do 100 mg účinné látky na kilogram a den, s výhodou od cca 1 do cca 50 mg/kg/den, jak naznačují modelové pokusy na zvířatech, které popsali S. L. Engel, T. R. Schaeffer, M. H. Waugh a B. Rubin v Proc. Soc. Exp. Biol. Med. **143**, 483 (1973). Účinné látky se s výhodou aplikují orálně, lze je však podávat i parenterálně, jako subkutánně, intramuskulárně, intravenózně či intraperitoneálně.

Sloučeniny podle vynálezu je možno k snižování krevního tlaku používat ve formě prostředků, jako tablet, kapslí či elixírů pro orální aplikaci nebo sterilních vodných roztoků či suspenzí pro aplikaci parenterální. K přípravě jednotkové dávky, běžně známé z farmaceutické praxe, se zhruba 10 až 500 miligramů sloučeniny nebo směsi sloučenin obecného vzorce I, nebo jejich fyziologicky přijatelných solí, kombinuje s fyziologicky přijatelným ředidlem, nosičem, pojídkem, ochrannou látkou, stabilizátorem, chuťovou přísadou, popřípadě jinou pomocnou látkou. Zmíněné prostředky nebo preparáty obsahují takové množství účinné látky, aby se při jejich aplikaci dosáhlo vhodného dávkování ve shora uvedeném rozmezí.

Jako ilustrativní příklady materiálů, které je možno používat pro přípravu tablet, kapslí apod., je možno jmenovat pojídla, jako arabskou gumu, tragan, kukuřičný škrob nebo želatinu, nosiče, jako sekundární fosforečnan vápenatý nebo mikrokrytalickou celulózu, látky způsobující rozpad tablet, jako kukuřičný škrob, bramborový škrob, alginovou kyselinu apod., kluzné látky, jako stearát hořečnatý, sladidla, jako sacharózu, laktózu nebo sacharin, chuťové přísady, jako silice máty peprné, libavková silice nebo višňové aróma. Pokud je jednotkovou dávkovací formou kapsle, může kromě materiálů shora uvedeného typu obsahovat ještě kapalný nosič, jako mastný olej. K povlékání nebo jiným modifikacím fyzikálních vlastností jednotkových dávkovacích forem je možno používat různé další materiály. Tak například tablety je možno povlékat šelakem, cukrem nebo oběma těmito materiály. Sirupy nebo elixíry mohou obsahovat účinnou látku, sacharózu jako sladidlo, methyl- a propylparabeny jako ochranné látky, barvivo a chuťové přísady, jako višňové nebo pomerančové aróma.

Sterilní prostředky pro injekční aplikaci je možno připravovat v souladu s běžnou farmaceutickou praxí rozpuštěním nebo suspendováním účinné látky v nosném prostředí, jako ve vodě pro injekce, v přírodním rostlinném oleji, jako v sesamovém oleji, kakaovém oleji, podzemnicovém oleji, bavlníkovém oleji apod.

Výhodná provedení způsobu podle vynálezu ilustrují následující příklady provedení. Tyto příklady slouží rovněž jako mode-

lové příklady pro přípravu jiných sloučenin, které je možno vyrobit náhradou v příkladech uvedených reakčních složek příslušně substituovanými analogy.

Příklad 1

1-(3-acetylthio-1-oxopropyl)-trans-4-methoxy-L-prolin

a) N-acetyl-trans-4-hydroxy-L-prolin

K suspenzi 26,2 g (0,2 mol) trans-4-hydroxy-L-prolinu ve 400 ml kyseliny octové se za míchání přidá 26 ml acetanhydridu. Po dvouhodinovém míchání při teplotě místnosti se pevný materiál postupně rozpustí. Výsledný roztok se přenesse do dvoulitrové baňky a rozpouštědlo se odpaří na rotační odparce při teplotě lázně 45 °C. Sirupovitý zbytek o hmotnosti 57,5 g se zředí 100 ml etheru, přičemž přejde na krystalickou látku. Po chlazení přes noc se pevný produkt odfiltruje, promyje se studeným etherem a vysuší se v exikátoru. Takto získaný materiál o hmotnosti 35,7 g se rozpráškuje a suspenduje se ve 100 ml etheru. Suspenze se ochladí a zfiltruje se, čímž se získá 33,8 g (98 %) N-acetyl-trans-4-hydroxy-L-prolinu o teplotě tání 128 až 131 °C. Po překrystalování 0,5 g tohoto produktu z 5 ml acetonitrilu se získá 0,45 g bezbarvé pevné látky o teplotě tání 130 až 132 °C a optické rotaci $[\alpha]_D^{25} = -92^\circ$ ($c = 1$ % v ethanolu).

b) Methylester N-acetyl-trans-4-methoxy-L-prolinu

Směs 30,0 g (0,17 mol) N-acetyl-trans-4-hydroxy-L-prolinu a 130 g kysličníku stříbrného se rozpráškuje v třecí misce a vzniklá homogenní směs se vnese do jednolitrové baňky obsahující 300 ml acetonu. K suspenzi se za míchání po částech přidá 130 ml methyljodidu, přičemž se chlazením ve vodní lázni určuje teplota pod 40 °C. Po sedmihodinovém míchání se směs nechá přes noc stát, pevný materiál se odfiltruje, důkladně se promyje acetonem a filtrát se zahustí na rotační odparce. Sirupovitý zbytek o hmotnosti 38,3 g se znovu rozpustí ve 350 ml acetonu a znovu se na něj působí 130 g kysličníku stříbrného a 130 ml methyljodidu, čímž se získá 41 g zbytku. Posledně zmíněný zbytek poskytne destilací 32,2 g destilátu vroucího při 130 až 140 °C/Pa. Po tritraci ve 30 ml cyklohexanu a ochlazení se získá 31,4 gramu téměř bezbarvého pevného methylesteru N-acetyl-trans-4-methoxy-L-prolinu o teplotě tání 71 až 75 °C, který po překrystalování z 31 ml ethylacetátu poskytne 25,1 g (66 %) bezbarvého pevného produktu o teplotě tání 76 až 77 °C a optické rotaci $[\alpha]_D^{25} = -83^\circ$ ($c = 1$ % v ethanolu).

c) trans-4-methoxy-L-prolin

K roztoku 27,0 g (0,085 mol) oktahydrátu hydroxidu barnatého v 525 ml vody (cca 3,3 N) se za míchání přidá 11,0 g (0,05 mol) methylesteru N-acetyl-trans-4-methoxy-L-prolinu. Výsledný roztok se 3 hodiny míchá při teplotě 18 až 20 °C, pak se ochladí a přidá se k němu zředěná kyselina sírová (8,8 g koncentrované kyseliny sírové ve 20 ml vody). Kyselá suspenze se nechá přes noc stát, načež se zfiltruje přes vrstvičku křemelinu. Získaný mléčně zakalený filtrát se zahustí na rotační odparce při teplotě 50 °C za použití vysoce účinné vývěvy. Získá se mléčný zbytek o hmotnosti 121 g, k němuž se přidá zředěná kyselina sírová (19,0 g koncentrované kyseliny sírové v 75 ml vody) a výsledná směs se 3 hodiny míchá za varu pod zpětným chladičem. Po ochlazení na 30 °C se k směsi po částech přidá 48 g oktahydrátu hydroxidu barnatého a pak se pH nastaví zředěnou kyselinou sírovou na hodnotu 6,0 až 4,0. Směs se nechá přes noc stát, pak se zfiltruje přes vrstvičku křemelinu a mléčně zakalený filtrát se zahustí jako výše. Získá se 50 g bezbarvého suchého zbytku, který se trituruje s 200 ml horkého chloroformu. Směs se k odstranění síranu barnatého zfiltruje přes vrstvičku křemelinu a mírně zakalený filtrát se zahustí na rotační odparce. Želatinovitý zbytek o hmotnosti 17,7 g se suspenduje ve 100 ml etheru a suspenze se zfiltruje, čímž se získá 7,5 gramu (94 %) téměř bezbarvé pevné látky tající za rozkladu při 185 až 190 °C. Tento materiál se suspenduje ve 30 ml teplého acetonitrilu, suspenze se ochladí a zfiltruje se. Získá se 4,0 g (50 %) bezbarvého pevného trans-4-methoxy-L-prolinu tajícího za rozkladu při 209 až 211 °C o optické rotaci $[\alpha]_D^{25} = -75^\circ$ ($c = 1$ % v ethanolu).

d) 1-(3-acetylthio-1-oxopropyl)-trans-4-methoxy-L-prolin

K roztoku 3,5 g (0,024 mol) trans-4-methoxy-L-prolinu v 50 ml vody se za míchání a chlazení na 5 °C přidají 3 g uhlíčitanu sodného. K směsi se pak během 10 minut přidá roztok 4,0 g (0,024 mol) 3-acetylthiopropionylchloridu v 5 ml etheru, přičemž v průběhu tohoto přidávání se k udržení pH na hodnotě okolo 8,0 přidají 3 g uhlíčitanu sodného. Směs se ještě další hodinu míchá za chlazení v ledu, načež se k ní přidá nejprve 25 ml vody a pak roztok 5 ml koncentrované kyseliny chlorovodíkové ve 25 ml vody (vývoj kysličníku uhlíčitého). Výsledný silně kyselý roztok se nasýtí chloridem sodným a extrahuje se čtyřikrát 50 ml ethylacetátu. Organické fáze se spojí, vysuší se síranem hořečnatým a po filtraci se rozpouštědlo odpaří. Získá se 6,0 g (90 %) bezbarvého sirupovitého 1-(3-acetylthio-1-oxopropyl)-trans-4-methoxy-L-prolinu. Tato kyselina se rozpustí ve 25 ml ethylacetátu a k roztoku se přidá 4,7 g dicyklohexyl-

aminu. Směs přejde na roztok, který rychle ztuhne. Přidá se dalších 15 ml ethylacetátu, směs se digeruje za zahřívání na parní lázni, pak se ochladí a zfiltruje se. Získá se 8,7 g dicyklohexylamoniové soli o teplotě tání 170 až 172 °C, která po krystalizaci ze 60 ml acetonitrilu poskytne 8,3 g (75 %) bezbarvé pevné látky o teplotě tání 171 až 173 °C a optické rotaci $[\alpha]_{D^{25}} = -35^\circ$ ($c = 1\%$ v ethanolu).

Dicyklohexylamoniová sůl se převede na 1-(3-acetylthio-1-oxopropyl)-trans-4-methoxy-L-prolin tak, že se 8,0 g soli suspenduje v 60 ml ethylacetátu, suspenze se ochladí v ledu a po částech se k ní přidá 60 ml 10% roztoku hydrogensíranu draselného. Čiré vrstvy se oddělí a vodná fáze se dvakrát extrahuje 60 ml ethylacetátu. Organické fáze se spojí, vysuší se síranem hořečnatým a po filtraci se rozpouštědlo odpaří. Získá se 4,6 g (80 %) bezbarvého, sirupovitého produktu.

Příklad 2

1-(3-merkaptio-1-oxopropyl)-trans-4-methoxy-L-prolin

K 4,6 g (0,017 mol) 1-(3-acetylthio-1-oxopropyl)-trans-4-methoxy-L-prolinu získaného v příkladu 1 se přidá chladný roztok 9 mililitru koncentrovaného amoniaku ve 22 mililitrech vody. Báze se zhruba za 30 minut rozpustí a výsledný roztok se pod argonem nechá 2 hodiny stát při teplotě místnosti. Reakční roztok se ochladí, extrahuje se dvakrát vždy 25 ml ethylacetátu, ethylacetátové extrakty se odloží, roztok se znovu převrství 25 ml ethylacetátu a okyslí se 17 ml směsí vody a kyseliny chlorovodíkové (1 : 1). Směs se protřepe, vrstvy se oddělí a vodná fáze se extrahuje třikrát 25 mililitry ethylacetátu. Organické fáze se spojí, vysuší se síranem hořečnatým a po filtraci se rozpouštědlo odpaří na rotační odparce. Získá se 2,3 g (59 %) bezbarvého, sirupovitého 1-(3-merkaptio-1-oxopropyl)-trans-4-methoxy-L-prolinu o optické rotaci $[\alpha]_{D^{25}} = -60^\circ$ ($c = 1\%$ v ethanolu) a $R_f = 0,49$ (silikagel, methanol, detekce nitroprosodovým činidlem).

Analýza pro:

$C_9H_{15}NO_4S \cdot 1/4 H_2O$:

vypočteno:

C: 45,46 %, H: 6,57 %, N: 5,87 %, S: 13,48 %;

nalezeno:

C: 45,42 %, H: 6,78 %, N: 5,96 %, S: 13,27 %.

Dalších 1,1 g produktu (celkový výtěžek 3,4 g, tj. 87 %) se získá nasycením vodné

fáze chloridem sodným a dvojnásobnou extrakcí vždy 25 ml ethylacetátu.

Sodná sůl se připraví tak, že se na sirupovitý materiál působí vodným roztokem hydrogenuhličitanu sodného a směs se lyofilizuje.

Příklad 3

trans-1-[D-3-(acetylthio)-2-methyl-1-oxopropyl]-3-methoxy-L-prolin

Roztok 4,3 g (0,029 mol) trans-4-methoxy-L-prolinu v 50 ml vody se za míchání ochladí na 5 °C a přidá se k němu 3,0 g uhličitaneu sodného. K výslednému roztoku se během 10 minut přidá 5,2 g (0,029 mol) D-3-(acetylthio)-2-methylpropionylchloridu v 5 ml etheru, přičemž se pH periodickým přidáváním 3 g uhličitaneu sodného udržuje na hodnotě 8,0. Směs se 1,5 hodiny míchá za chlazení v ledu, načež se k ní přidá nejprve 25 ml vody a pak roztok 6 ml koncentrované kyseliny chlorovodíkové ve 25 ml vody (vývoj kyslíčnicku uhličitého). Výsledný silně kyselý roztok se čtyřikrát extrahuje 50 mililitry ethylacetátu, organické fáze se spojí, vysuší se síranem hořečnatým a po filtraci se rozpouštědlo odpaří. Získá se 6,1 g (73 %) trans-1-[D-3-(acetylthio)-2-methyl-1-oxopropyl]-4-methoxy-L-prolinu ve formě světležlutého sirupovitého zbytku. Tato kyselina se rozpustí v 50 ml ethylacetátu a k roztoku se přidá roztok 4,0 g dicyklohexylaminu ve 20 ml ethylacetátu. Zhruba během minuty začne z roztoku krystalovat produkt. Po chlazení přes noc se téměř bezbarvý pevný materiál odfiltruje a vysuší se. Získá se 6,7 g produktu o teplotě tání 175 až 177 °C a optické rotaci $[\alpha]_{D^{25}} = -55^\circ$ ($c = 1\%$ v ethanolu). Po krystalizaci z 60 ml acetonitrilu se získá 5,6 g téměř bezbarvé pevné dicyklohexylamoniové soli (41 %) o teplotě tání 179 až 181 °C a optické rotaci $[\alpha]_{D^{25}} = -62^\circ$ ($c = 1\%$ v ethanolu).

Dicyklohexylamoniová sůl se převede na volnou kyselinu tak, že se 5,5 g soli suspenduje v 50 ml ethylacetátu, suspenze se ochladí v ledu a přidá se k ní 50 ml 10% roztoku hydrogensíranu draselného. Vrstvy se oddělí a vodná vrstva se dvakrát extrahuje 50 ml ethylacetátu. Organické fáze se spojí, vysuší se síranem hořečnatým, zfiltrují se a rozpouštědlo se odpaří. Získá se 3,4 g (41 procent) téměř bezbarvého, sirupovitého trans-1-[D-3-(acetylthio)-2-methyl-1-oxopropyl]-4-methoxy-L-prolinu.

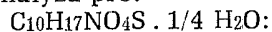
Příklad 4

trans-4-methoxy-1-(D-3-merkaptio-2-methyl-1-oxopropyl)-L-prolin

K 3,4 g trans-1-[D-3-(acetylthio)-2-methyl-1-oxopropyl]-4-methoxy-L-prolinu se

přidá chladný roztok 8 ml koncentrovaného amoniaku ve 20 ml vody. Báze se během zhruba 10 minut rozpustí, výsledný roztok se pod argonem nechá 2 hodiny stát při teplotě místnosti, pak se ochladí, dvakrát se extrahuje 20 ml ethylacetátu, převrství se 20 ml ethylacetátu a okyselí se 15 ml směsí vody a kyseliny chlorovodíkové (1:1). Výsledná směs se nasatí chloridem sodným, vrstvy se oddělí a vodná fáze se třikrát extrahuje 20 ml ethylacetátu. Organické fáze se spojí, vysuší se síranem hořečnatým a po filtraci se rozpouštědlo odpaří. Získá se 2,9 gramu (100 %) téměř bezbarvého trans-4-methoxy-1-[D-3-merkapt-2-methyl-1-oxopropyl]-L-prolinu o optické rotaci $[\alpha]_D^{25} = -80^\circ$ ($c = 1\%$ v ethanolu) a $R_f = 0,53$ (methanol, silikagel, detekce nitroprusidovým činidlem).

Analýza pro:



vypočteno:

C: 47,69 %, H: 6,83 %, N: 5,56 %, S: 12,73 %;

nalezeno:

C: 47,90 %, H: 6,84 %, N: 5,85 %, S: 12,76 %.

Příklad 5

trans-1-[D-3-(acetylthio)-2-methyl-1-oxopropyl]-4-ethoxy-L-prolin

Za použití postupu popsáno v příkladu 3 se náhradou trans-4-methoxy-L-prolinu ekvivalentním množstvím trans-4-ethoxy-L-prolinu [J. Med. Chem., **10**, 1161 (1967)] získá trans-1-[D-3-(acetylthio)-2-methyl-1-oxopropyl]-4-ethoxy-L-prolin. Produkt se vyčistí převedením na dicyklohexylamoniovou sůl tající po krystalizaci z isopropylalkoholu při 170 až 172 °C o optické rotaci $[\alpha]_D^{25} = -64^\circ$ ($c = 1\%$ v ethanolu).

7,75 g této soli se působením roztoku hydrogensíranu draselného, za použití postupu popsáno v příkladu 4, převede na volnou kyselinu. Získá se 4,85 g téměř bezbarvého sirupovitého trans-1-[D-3-(acetylthio)-2-methyl-1-oxopropyl]-4-ethoxy-L-prolinu.

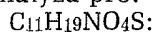
Příklad 6

trans-4-ethoxy-1-(D-3-merkapt-2-methyl-1-oxopropyl)-L-prolin

K 4,85 g produktu získaného v příkladu 5 se pod argonem přidá chladný roztok 9 mililitrů koncentrovaného amoniaku ve 22 mililitrech vody. Analogickým zpracováním směsi jako v příkladu 4 se získá 4,2 g (100 procent) téměř bezbarvého sirupovitého trans-4-ethoxy-1-(D-3-merkapt-2-methyl-1-

-oxopropyl)-L-prolinu o optické rotaci $[\alpha]_D^{25} = -80^\circ$ ($c = 1\%$ v ethanolu) a R_f se rovná 0,64 (methanol, silikagel, detekce nitroprusidovým činidlem).

Analýza pro:



vypočteno:

C: 50,55 %, H: 7,33 %, N: 5,36 %, S: 12,27 %;

nalezeno:

C: 50,34 %, H: 7,34 %, N: 5,39 %, S: 12,11 %.

Příklad 7

cis-1-[D-3-(acetylthio)-2-methyl-1-oxopropyl]-4-methoxy-L-prolin

a) N-benzyloxykarbonyl-cis-4-hydroxy-L-prolin

10 g (0,038 mol) N-benzyloxykarbonyl-4-keto-L-prolinu se rozpustí ve 300 ml methanolu a postupem popsáným v J. Am. Chem. Soc. **79**, 189 (1957) se redukuje za použití 5,8 g (0,15 mol) natriumborohydridu ve 20 ml vody. Získá se 8,7 g pěnitého produktu, který se rozpustí ve 30 ml ethanolu, k roztoku se přidá 3,5 g cyklohexylaminu v malém množství ethanolu a výsledný roztok se zředí etherem na objem 500 mililitrů. Po naočkování a poškrábání stěn nádoby skleněnou tyčinkou se rychle vyloučí krystalická cyklohexylamoniová sůl. Výťažek soli činí 10,8 g, teplota tání 163 až 165 °C. Na tuto cyklohexylamoniovou sůl se působí 30 ml 2 N kyseliny chlorovodíkové a směs se extrahuje čtyřikrát vždy 50 ml ethylacetátu. Získá se 8 g N-benzyloxykarbonyl-cis-4-hydroxy-L-prolinu ve formě sklovitého materiálu.

b) Methylester N-benzyloxykarbonyl-cis-4-methoxy-L-prolinu

Analogickým postupem jako v příkladu 1 (b) se na 13,9 g (0,052 mol) N-benzyloxykarbonyl-cis-4-hydroxy-L-prolinu působí dvakrát vždy 40 g kysličníku stříbrného a 40 ml methyljodidu, a to nejprve ve 100 ml acetonu a pak ve 120 ml acetonu. Získá se 17,5 g (100 %) methylesteru N-benzyloxykarbonyl-cis-4-methoxy-L-prolinu ve formě žlutého oleje.

c) N-benzyloxykarbonyl-cis-4-methoxy-L-prolinu

17,5 g (cca 0,052 mol) methylesteru N-benzyloxykarbonyl-cis-4-methoxy-L-prolinu se rozpustí ve 135 ml methanolu, k roztoku

se při teplotě od -1 do 4°C přidá 32 ml (0,064 mol) 2 N hydroxidu sodného a směs se nechá stát nejprve 1 hodinu při teplotě 0°C a pak přes noc při teplotě místnosti. Po odpaření zhruba poloviny rozpouštědla na rotační odparce se výsledný roztok zředí 300 ml vody, promyje se etherem (promývací kapaliny se odloží), za chlazení se okyslí 12,5 ml směsi vody a kyseliny chlorovodíkové (1 : 1) na pH 2 a extrahuje se čtyřikrát vždy 150 ml ethylacetátu. Extrakt se spojí, vysuší se síranem hořečnatým, zfiltrují se a rozpouštědlo se odpaří. Získá se 15 g oranžověžlutého sirupu, který se rozpustí v 60 ml ethanolu. K roztoku se přidá 6 g cyklohexylaminu v 10 ml ethanolu a směs se zředí etherem na objem 900 ml. Po naočkování a poškrábání stěn nádoby skleněnou tyčinkou se vyloučí krystalická cyklohexylamoniová sůl N-benzyloxykarbonyl-cis-4-methoxy-L-prolinu. Po chlazení přes noc se získá 10,2 g produktu o teplotě tání 148 až 150°C (natává při 144°C) a optické rotaci $[\alpha]_{\text{D}}^{26} = -35^{\circ}$ ($c = 1\%$ v ethanolu), který po překrystalování ze 40 ml acetonitrilu poskytne 8,8 g téměř bezbarvého pevného produktu o teplotě tání 150 až 152 stupňů Celsia (natává při 145°C) a optické rotaci $[\alpha]_{\text{D}}^{62} = -34^{\circ}$ ($c = 1\%$ v ethanolu).

Působením kyseliny chlorovodíkové na cyklohexylamoniovou sůl se získá 6,9 g (48 procent) N-benzyloxykarbonyl-cis-4-methoxy-L-prolinu ve formě světležlutého viskózního sirupu o optické rotaci $[\alpha]_{\text{D}}^{26} = -32^{\circ}$ ($c = 1\%$ v ethanolu).

d) cis-4-methoxy-L-prolin

Směs 6,8 g N-benzyloxykarbonyl-cis-4-methoxy-L-prolinu, 210 ml směsi methanolu a vody (2 : 1) a 2,3 g 5% paládia na uhlí se hydrogenuje v hydrogenační aparatuře 4 hodiny za tlaku vodíku 0,3 MPa. Výsledná směs se filtrací zbaví katalyzátoru a filtrát se odpaří. Získá se 3,15 g naředěné pevné látky tající za rozkladu při 218 až 220°C . Po krystalizaci vzorku produktu ze směsi methanolu se získá bezbarvý cis-4-methoxy-L-prolin tající za rozkladu při 224 až 226°C o optické rotaci $[\alpha]_{\text{D}}^{25} = -42^{\circ}$ ($c = 1\%$ v methanolu).

Analýza pro:



vypočteno:

C: 49,64 %, H: 7,64 %, N: 9,65 %;

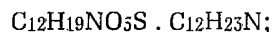
nalezeno:

C: 49,63 %, H: 7,71 %, N: 9,54 %.

e) cis-1-[D-3-(acetylthio)-2-methyl-1-oxopropyl]-4-methoxy-L-prolin

Postupem popsaným v příkladu 3 se 3 g (0,021 mol) cis-4-methoxy-L-prolinu a 4,2 g (0,023 mol) D-3-acetylthio-2-methylpropionylchloridu v 5 ml etheru nechá reagovat v 60 ml vody v přítomnosti hydrogenuhličitanu sodného. K nastavení pH na počátku reakce na hodnotu 8,5 a k udržení hodnoty pH během acylace na 7,5 až 8,4 je zapotřebí zhruba 20 ml 25% (hmotnost/objem) uhličitanu sodného. Výsledný surový viskózní produkt o hmotnosti 6,4 g se rozpustí v 50 mililitrech ethylacetátu a k roztoku se přidá 3,9 g dicyklohexylaminu ve 20 ml ethylacetátu. Produkt, který z roztoku vykrystaluje, se odfiltruje a vysuší, čímž se získá 6,6 g dicyklohexylamoniové soli o teplotě tání 172 až 174°C (natává při 170°C) o optické rotaci $[\alpha]_{\text{D}}^{26} = -60^{\circ}$ ($c = 1\%$ v ethanolu); 6,5 g tohoto materiálu poskytne po překrystalování ze 35 ml acetonitrilu 6 g bezbarvé pevné dicyklohexylamoniové soli o teplotě tání 173 až 175°C (natává při 170 stupňů Celsia) o optické rotaci $[\alpha]_{\text{D}}^{26} = -60^{\circ}$ ($c = 1\%$ v ethanolu).

Analýza pro:



vypočteno:

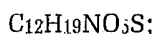
C: 61,24 %, H: 9,00 %, N: 5,95 %, S: 6,81 %;

nalezeno:

C: 61,16 %, H: 8,81 %, N: 5,95 %, S: 6,67 %.

Za použití postupu popsaného v příkladu 3 se dicyklohexylamoniová sůl převede na volnou kyselinu, a to tak, že se 5,9 g soli suspenduje v 60 ml ethylacetátu, suspenze se ochladí v ledu a přidá se k ní 60 ml 10% roztoku hydrogensíranu draselného. Vrstvy se oddělí a vodná fáze se extrahuje čtyřikrát vždy 50 ml ethylacetátu. Organická fáze se spojí, vysuší se síranem hořečnatým a po filtraci se rozpouštědlo odpaří. Získá se 3,5 g (60 %) bezbarvého cis-1-[D-3-(acetylthio)-2-methyl-1-oxopropyl]-4-methoxy-L-prolinu, tajícího po tritraci s etherem při 90 až 92°C o optické rotaci $[\alpha]_{\text{D}}^{26} = -139^{\circ}$ ($c = 1\%$ v ethanolu) a $R_f = 0,63$ (methanol, silikagel).

Analýza pro:



vypočteno:

C: 49,81 %, H: 6,62 %, N: 4,84 %;

nalezeno:

C: 49,85 %, H: 6,66 %, N: 4,97 %.

Příklad 8

cis-4-methoxy-1-(D-3-merkapt-2-methyl-1-oxopropyl)-L-prolin

Postupem popsaným v příkladu 4 se 2,9 g (0,01 mol) cis-1-[D-3-(acetylthio)-2-methyl-1-oxopropyl]-4-methoxy-L-prolinu hydrolyzuje v 15 ml vody obsahující 6,5 ml koncentrovaného amoniaku. Získá se 2,3 g (93 procent) neobyčejně viskózního cis-4-methoxy-1-(D-3-merkapt-2-methyl-1-oxopropyl)-L-prolinu, který stáním přejde na voskovitou hmotu. Produkt má optickou rotaci $[\alpha]_D^{26} = -88^\circ$ ($c = 1\%$ v ethanolu).

Příklad 8a

1-adamantanamoniová sůl cis-4-methoxy-1-(D-3-merkapt-2-methyl-1-oxopropyl)-L-prolinu

K roztoku 0,55 g (0,0022 mol) cis-4-methoxy-1-(D-3-merkapt-2-methyl-1-oxopropyl)-L-prolinu v 15 ml ethylacetátu se v argonové atmosféře přidá teplý roztok 0,34 gramu (0,0022 mol) 1-adamantanaminu v 10 ml ethylacetátu, čímž se vysráží sůl. Po tříhodinovém chlazení se bezbarvý pevný produkt pod argonem odfiltruje (materiál houževnatě zadržuje rozpouštědlo), promyje se malým množstvím studeného ethylacetátu a 20 hodin se suší ve vakuu. Získá se 0,7 g (79 %) 1-adamantanamoniové soli cis-4-methoxy-1-(D-3-merkapt-2-methyl-1-oxopropyl)-L-prolinu o teplotě tání 215 až 217 stupňů Celsia (slinuje při 210 °C, rozkládá se při 220 °C) o optické rotaci $[\alpha]_D^{26} = -60^\circ$ ($c = 1\%$ v methanolu).

Příklad 9

cis-4-(4-fluorfenoxy)-1-(D-3-merkapt-2-methyl-1-oxopropyl)-L-prolin

a) cis-4-(4-fluorfenoxy)-L-prolin

K roztoku 8,4 g (0,024 mol) benzylesteru N-benzoyloxykarbonyl-trans-4-hydroxy-L-prolinu [viz Baer a spol. Can. J. Biochem. and Phys., 37, 583 (1959)], 4,0 g (0,036 mol) 4-fluorfenolu a 9,27 g (0,036 mol) trifenylofosfinu v 75 ml suchého tetrahydrofuranu se během 1 hodiny přikape 6,2 g (0,036 mol) diethylazodikarboxylátu ve 25 ml tetrahydrofuranu. Reakční směs se přes noc míchá při teplotě místnosti, pak se odpaří k suchu a k odparku se přidá 100 ml etheru. Vysrážený trifenylofosfin a diethylazodikarboxylát se odfiltrují a chromatografují na sloupci silikagelu se získá 8,1 g směsi obsahující cca 70 % benzylesteru N-benzoyloxykarbonyl-cis-4-(4-fluorfenoxy)-L-prolinu.

Roztok 7,5 g shora uvedené směsi obsahující benzylester se v přítomnosti 0,8 g 10% paládia na uhlí jako katalyzátoru hydrogeneuje při teplotě místnosti za tlaku 0,1 MPa.

Během reakce se tvoří bílá sraženina. Po odeznění spotřeby vodíku se směs zfiltruje a filtrační koláč se třikrát digeruje vždy se 125 ml horkého methanolu. Odpařením methanolem roztoku k suchu se získá 3,2 g cis-4-(4-fluorfenoxy)-L-prolinu o teplotě tání 235 až 236 °C.

Analýza pro:

$C_{11}H_{12}FNO_3 \cdot 1/3 H_2O$:

vypočteno:

C: 57,14 %, H: 5,48 %, N: 6,06 %, F: 8,22 %, nalezeno:

C: 56,94 %, H: 5,19 %, N: 5,94 %, F: 7,97 %.

b) 1-[D-3-(acetylthio)-2-methyl-1-oxopropyl]-cis-4-(4-fluorfenoxy)-L-prolin

K suspenzi 2,25 g (0,01 mol) cis-4-(4-fluorfenoxy)-L-prolinu ve 125 ml suchého pyridinu se při teplotě místnosti přidá 1,0 g (0,01 mol) triethylaminu a 2 g (0,011 mol) D-3-(acetylthio)-2-methylpropionylchloridu. Reakční směs se přes noc míchá při teplotě místnosti, pak se odpaří k suchu, zbytek se vyjme vodou, roztok se převrství etherem a okyslí se 10% kyselinou chlorovodíkovou. Vodná vrstva se znovu extrahuje etherem, etherické vrstvy se spojí, promyjí se vodou a po vysušení síranem sodným se odpaří k suchu. Získá se 3,9 g zbytku, který chromatografií na 250 ml silikagelu za použití etheru jako elučního činidla poskytne frakci obsahující žádaný produkt. Sloupec se vymyje methanolem a tento methanolický eluát se znovu chromatografuje na krátkém sloupci silikagelu, čímž se získá další podíl produktu. Tento postup se opakuje ještě jednou. Celkem se získá 1,2 g čistého 1-[D-3-(acetylthio)-2-methyl-1-oxopropyl]-cis-4-(4-fluorfenoxy)-L-prolinu.

c) cis-4-(4-fluorfenoxy)-1-(D-3-merkapt-2-methyl-1-oxopropyl)-L-prolin

1,2 g 1-[D-3-(acetylthio)-2-methyl-1-oxopropyl]-cis-4-(4-fluorfenoxy)-L-prolinu se rozpustí ve 25 ml methanolu a roztok se v argonové atmosféře nechá 40 minut reagovat s 5 ml koncentrovaného roztoku amoniaku. Těkavé podíly se odpaří, zbytek se převrství ethylacetátem a vodná vrstva se okyslí 10% kyselinou chlorovodíkovou. Vrstvy se oddělí a kyselá vrstva se promyje ethylacetátem. Spojené organické vrstvy se dvakrát vytřepou vodou, dvakrát nasyceným roztokem chloridu sodného a vysuší se síranem sodným. Odpařením rozpouštědla se získá 1,1 g pevného pěnovitého zbytku obsahujícího cis-4-(4-fluorfenoxy)-1-(D-3-merkapt-2-methyl-1-oxopropyl)-L-prolin.

Analýza pro:

$C_{15}H_{18}FNO_4S \cdot 1/3 H_2O$:

vypočteno:

C: 54,05 %, H: 5,70 %, N: 4,20 %, F: 5,70 %, S: 9,60 %, nalezeno:

C: 54,04 %, H: 5,71 %, N: 4,05 %, F: 5,40 %, S: 9,61 %.

Při chromatografii na tenké vrstvě má produkt $R_f = 0,30$ [detekce prováděna UV-zářením, SH čínidlem (žlutá skvrna) a vanilinem (žlutá skvrna)]; $[\alpha]_D^{25} = -80^\circ$ ($c = 1$ % v chloroformu).

Příklad 10

1-(D-3-merkapt-2-methyl-1-oxopropyl)-cis-4-fenylthio-L-prolin

a) Methylester N-benzyloxykarbonyl-cis-4-fenylthio-L-prolinu

0,85 g (0,037 mol) kovového sodíku se rozpustí ve 40 ml absolutního ethanolu a k roztoku se za míchání přidá nejprve 3,7 ml (0,036 mol) thiofenolu a pak 7,5 g (0,017 mol) methylesteru N-benzyloxykarbonyl-trans-4-tosyloxy-L-prolinu [viz J. Am. Chem. Soc., **79**, 191 (1957)]. Posledně zmíněná sloučenina postupně přejde do roztoku, brzy poté se však začne vylučovat pevný produkt. Po čtyřhodinovém míchání a následujícím stání přes noc při teplotě místnosti se většina ethanolu odpaří na rotační odparce a převážně pevný zbytek se rozmíchá se 120 mililitry dichlormethanu a 60 ml vody. Vrstvy se oddělí (k rozražení emulze se přidá malé množství methanolu) a vodná fáze se extrahuje dvakrát vždy 60 ml dichlormethanu. Spojené organické fáze se promyjí 100 mililitry nasyceného roztoku chloridu sodného, vysuší se síranem hořečnatým a rozpouštědlo se odpaří. Získá se 6,5 g (100 %) methylesteru N-benzyloxykarbonyl-cis-4-fenylthio-L-prolinu ve formě žlutého viskózního oleje.

b) N-benzyloxykarbonyl-cis-4-fenylthio-L-prolin

6,5 g (0,017 mol) methylesteru připraveného v odstavci a) se rozpustí v 55 ml methanolu, k roztoku se při teplotě od -1 do $4^\circ C$ postupně přidá 13 ml (0,026 mol) 2 N hydroxidu sodného, směs se 1 hodinu míchá při teplotě $0^\circ C$ a pak se nechá zhruba 16 hodin stát při teplotě místnosti. Po odpaření zhruba poloviny rozpouštědla na rotační odparce se ochlazený roztok zředí 100 ml vody, promyje se 60 ml etheru (promývací kapalina se odloží), převrství se 70 ml ethylacetátu a za míchání a chlazení se okyslí 4,8 ml směsí kyseliny chlorovodíkové a vody

v poměru 1:1. Po oddělení fází se vodná vrstva extrahuje ještě třikrát vždy 40 ml dalšího ethylacetátu, spojené organické vrstvy se vysuší síranem hořečnatým a odpaří se. Získá se 5,9 g nažloutlého viskózního oleje, který se rozpustí ve 30 ml ethanolu, k roztoku se přidá 1,9 g cyklohexylaminu ve 3 ml ethanolu a směs se zředí etherem na objem 330 ml. Po naočkování se vyloučí krystalická cyklohexylamoniová sůl, která po cca šestnáctihodinovém chlazení taje při 148 až $151^\circ C$ (slinuje při $135^\circ C$) a má hmotnost 5,3 g. Tento materiál se spojí s 1,5 g identického produktu z předcházejícího pokusu, směs se rozmíchá s 200 ml vroucího acetonitrilu a ochladí se. Získá se 6,3 g bezbarvé cyklohexylamoniové soli o teplotě tání 152 až $155^\circ C$ (slinuje při $137^\circ C$) a optické rotaci $[\alpha]_D^{26} = -24^\circ$ ($c = 1$ % v ethanolu).

Tato cyklohexylamoniová sůl se suspenduje ve 25 ml ethylacetátu a k suspenzi se za míchání přidá 25 ml 1 N kyseliny chlorovodíkové. Jakmile se vytvoří dvě čiré vrstvy, oddělí se a vodná fáze se ještě třikrát extrahuje vždy 25 ml ethylacetátu. Spojené organické vrstvy se vysuší síranem hořečnatým a rozpouštědlo se odpaří. Získá se 5,0 g (65 %) N-benzyloxykarbonyl-cis-4-fenylthio-L-prolinu ve formě téměř bezbarvého, velmi viskózního sirupu.

c) cis-4-fenylthio-L-prolinhydrobromid

K 4,9 g (0,014 mol) N-benzyloxykarbonyl-cis-4-fenylthio-L-prolinu se přidá 25 ml 30 až 32% bromovodíku v kyselině octové, reakční nádoba se volně uzavře a směs se míchá magnetickým míchadlem. Po 1 hodině se oranžověžlutý roztok zředí etherem na objem 250 ml, přičemž se vysráží produkt ve formě těžkého oleje, který po naočkování, tritrací a ochlazení postupně zkrystaluje. Po jednogodinovém míchání za chlazení v ledu se materiál pod dusíkem odfiltruje, promyje se etherem, suspenduje se v čerstvém etheru, zhruba 16 hodin se chladí a pak se znovu odfiltruje. Získá se 3,2 g (77 procent) bezbarvého pevného cis-4-fenylthio-L-prolinhydrobromidu o teplotě tání 106 až $109^\circ C$ (slinuje při $99^\circ C$) o optické rotaci $[\alpha]_D^{26} = -3^\circ$ ($c = 1$ % v methanolu).

d) 1-[D-3-(acetylthio)-2-methyl-1-oxopropyl]-cis-4-fenylthio-L-prolin

Analogickým postupem jako v příkladu 1 (d) se reakcí 3,0 g (0,0094 mol) cis-4-fenylthio-L-prolinhydrobromidu a 2,0 g (0,011 mol) D-3-acetylthio-2-methylpropionylchloridu ve 25 ml vody (za použití cca 15 ml 20% roztoku uhličitany sodného k udržení pH na hodnotě 8,0 až 8,4) získá 3,8 g světležlutého viskózního oleje. Dicyklohexylamoniová sůl tohoto produktu (připravená ve 30 ml ethylacetátu za použití 1,8 g di-

cyklohexylaminu), izolovaná ve dvou podílech, má hodnotu 2,9 g a taje při 184 až 188 stupňů Celsia (slinuje při 180 °C). Po tritraci s 15 ml acetonitrilu se získá 2,4 g bezbarvé pevné dicyklohexylamoniové soli o teplotě tání 184 až 186 °C (slinuje při 180 °Celsia) o optické rotaci $[\alpha]_D^{26} = -75^\circ$ (c je rovno 1 % v ethanolu).

Analogickým postupem jako v příkladu 1 se reakcí této dicyklohexylamoniové soli se 30 ml 10% roztoku hydrogensíranu draselného a extrakcí ethylacetátem získá 2,0 gramu (59 %) sklovitého 1-[D-3-(acetylthio)-2-methyl-1-oxopropyl]-cis-4-fenylthio-L-prolinu.

e) 1-(D-3-merkapt-2-methyl-1-oxopropyl)-cis-4-fenylthio-L-prolin

Analogickým postupem jako v příkladu 2 se reakcí 2,0 g (0,0042 mol) 1-[D-3-(acetylthio)-2-methyl-1-oxopropyl]-cis-4-fenylthio-L-prolinu s 3,5 ml koncentrovaného amoniaku v 8,5 ml vody (pevná amonná sůl produktu se z reakční směsí vyloučí) získá se 1,35 g (100 %) viskózního sirupovitého 1-(D-3-merkapt-2-methyl-1-oxopropyl)-cis-4-fenylthio-L-prolinu o optické rotaci $[\alpha]_D^{26} = -43^\circ$ (c = 1 % v ethanolu).

Příklad 11

trans-1-(3-merkapt-1-oxopropyl)-3-methylthio-D,L-prolin

a) terc.butylester 1,2-dehydroprolinu

K roztoku 34,2 g (0,20 mol) terc.butylesteru prolinu v 600 ml etheru se za míchání při teplotě od -5 do 0°C přikape během 10 minut 21,7 g (23,9 ml, 0,20 mol) čerstvě připraveného terc.butylhypochloritu [viz Org. Syn., Coll. Vol. V, 184 (1973)]. Během přidávání se teplota udržuje v rozmezí -5 až 0°C . Po skončení přidávání se roztok při shora uvedené teplotě míchá ještě dalších 5 minut.

K intenzívně míchanému roztoku se pak rychle (cca 3 až 5 minut) přidá roztok 7,8 g (0,20 mol) draslíku v čerstvě destilovaném terc.butanolu vysušeném nad hydridem vápníku. Po skončení přidávání činí teplota reakční směsi cca 18°C . Reakční baňka se vyjme z chladicí lázně a její obsah se 30 minut míchá. Reakční směs se zfiltruje přes křemelinu a filtrát se zahustí ve vakuu. Zbytek se vyjme etherem a roztok se několikrát promyje vodou. Etherický roztok se vysuší a zahustí ve vakuu na žlutý kapalný zbytek o hmotnosti 31,6 g. Po přidání stopového množství hydrochinonu se surový produkt podrobí destilaci, při níž se získá 22,4 g (66 %) terc.butylesteru 1,2-dehydroprolinu o teplotě varu 60 až 62°C 13 Pa.

b) terc.butylester 1-benzyloxykarbonyl-4,5-dihydro-1H-pyrrol-2-karboxylové kyseliny

Roztok 16,9 g (0,1 mol) terc.butylesteru 1,2-dehydroprolinu v 70 ml dichlormethanu se pod argonem ochladí na -10°C a během 30 minut se k němu přikape roztok 14,2 ml (0,1 mol) čerstvě destilovaného benzylchlorformiátu (teplota varu 62 až $64^\circ\text{C}/53$ Pa) v 70 ml dichlormethanu. Směs se za chladu míchá ještě dalších 30 minut, načež se k ní během 20 minut přidá roztok 15,22 g (0,1 mol) 1,5-diazabicyklo[5,4,0]undec-5-enu v 70 ml dichlormethanu. Chladicí lázeň se odstraní, směs se 1 hodinu míchá při teplotě místnosti, načež se promyje dvakrát studenou zředěnou kyselinou chlorovodíkovou a jednou nasyceným roztokem uhličitanu sodného. Odpařením výsledného roztoku ve vakuu se získá 18,2 g (60 %) terc.butylesteru 1-benzyloxykarbonyl-4,5-dihydro-1H-pyrrol-2-karboxylové kyseliny ve formě světležlutého oleje.

c) terc.butylester trans-1-benzyloxykarbonyl-3-methylthio-D,L-prolinu

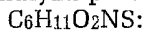
K roztoku 18,2 g (0,06 mol) terc.butylesteru 1-benzyloxykarbonyl-4,5-dihydro-1H-pyrrol-2-karboxylové kyseliny ve 180 ml suchého methanolu se přidá 3,24 g (0,06 mol) methoxidu sodného, směs se ochladí v ledu a po dobu 30 minut se do ní pomalým proudem uvádí plynný methanthiol. Výsledná směs se pod argonem míchá přes noc při teplotě místnosti, načež se do ní až do mírně kyselé reakce přidává zředěná vodná kyselina octová. Po jednohodinovém uvádění proudu argonu se roztok odpaří ve vakuu až téměř k suchu, k odparku se přidá ethylacetát, výsledný roztok se dvakrát promyje nasyceným roztokem uhličitanu sodného, vysuší se a zbaví se rozpouštědla odpařením ve vakuu. Získá se 17 g žlutého olejovitého materiálu, který chromatografií na 300 g silikagelu za použití směsi petroletheru a etheru (4 : 1) poskytne 11,1 g trans-1-benzyloxykarbonyl-3-methylthio-D,L-prolinu ve formě bezbarvého oleje.

d) trans-3-methylthio-D,L-prolin

K 8,4 g (0,024 mol) trans-1-benzyloxykarbonyl-3-methylthio-D,L-prolinu se přidá 45 mililitrů 4 N bromovodíkové kyseliny v kyselině octové. Po jednohodinovém míchání při teplotě místnosti se výsledný roztok odpaří ve vakuu a zbytek se po přidání malého množství vody dvakrát promyje etherem. Vodný roztok se nanese na sloupec 300 mililitrů iontoměniče a sloupec se promývá vodou tak dlouho, až eluát již nereaguje silně kysele. Produkt se pak vymyje vodným pyridin-acetátovým puřem o pH 6,5. Frakce pozitivní na ninhydrin se spojí a lyofilizací poskytnou 3,4 g (88 %) materiálu ve formě bílého chmýří. Malý vzorek tohoto materiálu se krystaluje z methanolu, čímž se získá trans-3-methylthio-D,L-prolin tající

za rozkladu při 196 až 200 °C (slinuje při 192 °C).

Analýza pro:



vypočteno:

C: 44,70 %, H: 6,88 %, N: 8,69 %, S: 19,89 %;

nalezeno:

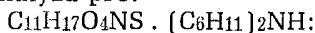
C: 44,53 %, H: 7,10 %, N: 8,61 %, S: 19,95 %.

e) trans-1-[3-(acetylthio)-1-oxopropyl]-3-methylthio-D,L-prolin

3,05 g (0,019 mol) trans-3-methylthio-D,L-prolinu se rozpustí v 19 ml 1 N roztoku uhličitanu sodného a roztok se zředí vodou na objem 10 ml. Výsledný roztok se ochladí v ledu a za rychlého míchání se k němu přidá roztok 3-acetylthiopropionylchloridu ve 20 ml etheru, přičemž se přidáváním 1 N uhličitanu sodného udržuje pH na hodnotě 8. Po 30 minutách se pH již nemění a k reakční směsi se přidá 45 ml roztoku uhličitanu sodného. Vrstvy se oddělí, vodná vrstva se ještě jednou promyje etherem, pak se okyslí 10% roztokem hydrogensíranu draselného a produkt se extrahuje ethylacetátem. Extrakt se vysuší a odpaří ve vakuu. Získá se 5,2 g olejovitého materiálu, který po chromatografii na 150 g silikagelu za použití ethylacetátu jako elučního činidla poskytne 3,85 g ještě poněkud znečištěného trans-1-[3-(acetylthio)-1-oxopropyl]-3-methylthio-D,L-prolinu.

Malý vzorek produktu se rozpustí v etheru a převede se na dicyklohexylamoniovou sůl, která se překrystaluje z ethylacetátu. Získá se dicyklohexylamoniová sůl trans-1-[3-(acetylthio)-1-oxopropyl]-3-methylthio-D,L-prolinu, tající při 153 až 175 °C.

Analýza pro:



vypočteno:

C: 58,44 %, N: 8,53 %, S: 13,57 %;

nalezeno:

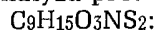
C: 58,77 %, H: 8,57 %, N: 5,68 %, S: 13,74 %.

f) trans-1-(3-merkapt-1-oxopropyl)-3-methylthio-D,L-prolin

2,05 g (0,007 mol) trans-1-[3-(acetylthio)-1-oxopropyl]-3-methylthio-D,L-prolinu se pod argonem ochladí v ledu a přidá se k němu studená, argonem nasycená směs 7

mililitrů vody a 7 ml koncentrovaného amoniaku. Po třicetiminutovém míchání při teplotě 0 °C se roztok okyslí kyselinou chlorovodíkovou a produkt se extrahuje ethylacetátem. Extrakt se vysuší a zbaví se rozpouštědla odpařením ve vakuu. Získá se 1,85 gramu materiálu, který stáním částečně zkrystaluje. Po tritraci s etherem se získá 1,0 g (57 %) bílého krystalického produktu, který po překrystalování z 5 ml ethylacetátu poskytne 0,85 g trans-1-(3-merkapt-1-oxopropyl)-3-methylthio-D,L-prolinu o teplotě tání 89 až 93 °C.

Analýza pro:



vypočteno:

C: 43,35 %, H: 6,06 %, N: 5,62 %, S: 25,72 %;

nalezeno:

C: 43,35 %, H: 6,27 %, N: 5,54 %, S: 25,91 %.

Příklad 12

cis-4-(1,1-dimethylethoxy)-1-(D-3-merkapt-2-methyl-1-oxopropyl)-L-prolin

a) Methylester N-benzyloxykarbonyl-cis-4-(1,1-dimethylethoxy)-L-prolinu

Do Parrova autoklávu se předloží roztok 6,0 g (0,021 mol) methylesteru N-benzyloxykarbonyl-cis-4-hydroxy-L-prolinu v 60 ml methylenchloridu, za míchání magnetickým míchadlem se autokláv ochladí v lázni tvořené pevným oxidem uhličitým v isopropylalkoholu a vnese se do něj nejprve cca 40 mililitrů zkapalněného isobutylenu a pak 0,75 ml koncentrované kyseliny sírové. Autokláv se uzavře a reakční směs se za neustálého míchání nechá ohřát na teplotu místnosti, přičemž nedojde k žádnému měřitelnému vzestupu tlaku. Reakční směs se 4 dny míchá při teplotě místnosti, pak se autokláv otevře, reakční roztok o objemu 80 ml se zředí 120 ml methylenchloridu a promyje se roztokem 5 g hydrogenuhlčitanu sodného ve 100 ml vody. Vodná fáze se extrahuje 50 ml methylenchloridu, organické vrstvy se spojí, vysuší se síranem hořečnatým a rozpouštědlo se odpaří. Získá se 7,5 g methylesteru N-benzyloxykarbonyl-cis-4-(1,1-dimethylethoxy)-L-prolinu ve formě světležlutého oleje o optické rotaci $[\alpha]_D^{25} = -46^\circ$ ($c = 1$ % v chloroformu). Při chromatografii na tenké vrstvě silikagelu má produkt $R_f = 0,62$ (ethylacetát) a $R_f = 0,43$ (benzen — kyselina octová 7:1). Detekce se provádí jodovými párami a UV-zářením.

b) N-benzyloxykarbonyl-cis-4-(1,1-dimethylethoxy)-L-prolin

Roztok 7,2 g (0,02 mol) methylesteru připraveného v odstavci a) v 15 ml etheru se ochladí ve směsi ledu a vody a po částech se k němu přidá 42 ml (0,042 mol) ledově chladného 1 N roztoku hydroxidu sodného. Směs se za chlazení míchá celkem 6 hodin, pak se chladicí lázeň odstraní a v míchání se pokračuje přes noc při teplotě místnosti. Výsledný čirý roztok se promyje 40 ml etheru (promývací kapaliny se odloží), převrství se 40 ml ethylacetátu a za míchání a chlazení se okyslí 8 ml 6 N kyseliny chlorovodíkové. Po oddělení se vodná fáze ještě třikrát extrahuje vždy 40 ml ethylacetátu, organické vrstvy se spojí, vysuší se síranem hořečnatým a rozpouštědlo se odpaří. Získá se 6,8 g světležlutého viskózního oleje, který se rozpustí v 50 ml acetonitrilu a k roztoku se přidá teplý roztok 3,2 g 1-adamantanaminu ve 20 ml acetonitrilu, přičemž se rychle vysráží pevná adamantamoniová sůl. Po chlazení přes noc se bezbarvá sůl pod dusíkem odfiltruje, promyje se studeným acetonitrilem a etherem a vysuší se ve vakuu. Získá se 8,8 g adamantamoniové soli N-benzyloxykarbonyl-cis-4-(1,1-dimethylethoxy)-L-prolinu, tající za rozkladu při 228 až 230 °C, o optické rotaci $[\alpha]_D^{25} = -28^\circ$ ($c = 1$ % v methanolu).

Analýza pro:

$C_{17}H_{23}NO_5 \cdot C_{10}H_{17}N \cdot 0,25 H_2O$:

vypočteno:

C: 67,96 %, H: 8,56 %, N: 5,87 %;

nalezeno:

C: 67,77 %, H: 8,54 %, N: 5,93 %.

Působením kyseliny na 8,5 g shora uvedeného adamantamoniové soli se získá 5,5 gramu N-benzyloxykarbonyl-cis-4-(1,1-dimethylethoxy)-L-prolinu ve formě téměř bezbarvého viskózního sirupu, který při chromatografii na tenké vrstvě silikagelu v systému toluen — kyselina octová (85 : 15) má $R_f = 0,20$ (detekce jodovými párami nebo fosfomolybdenovou kyselinou a záhřevem).

c) cis-4-(1,1-dimethylethoxy)-L-prolin

5,5 g (0,017 mol) N-benzyloxykarbonylderivátu připraveného v odstavci b) se ve 165 ml směsi methanolu a vody (2 : 1) hydrogenuje za tlaku vodíku 0,3 MPa v přítomnosti 1,7 g 5% paládia na uhlí jako katalyzátoru. Získá se 3,2 g lepivého, částečně pevného produktu. Tento materiál se suspenduje ve 30 ml acetonitrilu a po trituraci se přes noc chladí. Získá se 1,35 g cis-4-(1,1-dimethylethoxy)-L-prolinu ve formě bezbarvé pevné látky tající za rozkladu při 240

až 242 °C, přičemž tání předchází postupně tmavnutí a slinování. $[\alpha]_D^{25} = -36^\circ$ ($c = 0,5$ % v methanolu).

Analýza pro:

$C_9H_{17}NO_3 \cdot 0,25 H_2O$:

vypočteno:

C: 56,37 %, H: 9,20 %, N: 7,31 %;

nalezeno:

C: 56,26 %, H: 9,27 %, N: 7,26 %.

d) 1-[D-3-(acetylthio)-2-methyl-1-oxopropyl]-cis-4-(1,1-dimethylethoxy)-L-prolin

Analogickým postupem jako v příkladu 3 se 1,3 g (0,0069 mol) cis-4-(1,1-dimethylethoxy)-L-prolinu z odstavce c) nechá reagovat s 1,4 g (0,0078 mol) D-3 acetylthio-2-methylpropionylchloridu ve 20 ml vody v přítomnosti hydrogenuhlitanu sodného. Získá se 2,2 g téměř bezbarvého viskózního oleje. Tento surový produkt se rozpustí v 50 ml ethylacetátu a k roztoku se přidá 1,3 g dicyklohexylaminu ve 20 ml ethylacetátu. Produkt vykryštalovaný z reakčního roztoku se odfiltruje a vysuší se. Získá se 2,65 g dicyklohexylamoniové soli o teplotě tání 181 až 183 °C (slinuje od 170 °C) o optické rotaci $[\alpha]_D^{25} = -62^\circ$ ($c = 1$ % v ethanolu). Triturací tohoto materiálu s 15 ml horkého acetonitrilu s následujícím ochlazením se získá 2,4 g bezbarvé pevné dicyklohexylamoniové soli o teplotě tání 183 až 185 °C (slinuje od 175 °C) o optické rotaci $[\alpha]_D^{25} = -65^\circ$ ($c = 1$ v ethanolu).

Analýza pro:

$C_{15}H_{25}NO_5S \cdot C_{12}H_{23}N$:

vypočteno:

C: 63,24 %, H: 9,44 %, N: 5,46 %, S: 6,25 %;

nalezeno:

C: 63,22 %, H: 9,61 %, N: 5,41 %, S: 6,02 %.

Za použití postupu popsaného v příkladu 3 se 2,4 g této dicyklohexylamoniové soli převede na volnou kyselinu tak, že se sůl suspenduje v ethylacetátu a k suspenzi se za chlazení v ledu přidá 30 ml 10% roztoku hydrogensíranu sodného. Vrstvy se oddělí a vodná fáze se čtyřikrát extrahuje vždy 25 mililitry ethylacetátu. Po odpaření rozpouštědla se zbytek, který stáním částečně zkrystaluje, roztírá pod 10 ml etheru k dokončení krystalizace, pak se směs zředí 20 ml hexanu a po trituraci se ochladí. Získá se 1,3 gramu 1-[D-3-(acetylthio)-2-methyl-1-oxopropyl]-cis-4-(1,1-dimethylethoxy)-L-prolinu ve formě bezbarvé pevné látky o teplotě

tě tání 96 až 98 °C (slinuje od 93 °C) o optické rotaci $[\alpha]_D^{25} = -109^\circ$ ($c = 1\%$ v ethanolu).

Analýza pro:
 $C_{15}H_{25}NO_3S$:

vypočteno:

C: 54,36 %, H: 7,60 %, N: 4,23 %, S: 9,68 %.

nalezeno:

C: 53,92 %, H: 7,73 %, N: 4,30 %, S: 9,29 %.

e) cis-4-(1,1-dimethylethoxy)-1-(D-3-merkapto-2-methyl-1-oxopropyl)-L-prolin

1,3 g (0,0039 mol) 1-[D-3-(acetylthio)-2-methyl-1-oxopropyl]-cis-4-(1,1-dimethylethoxy)-L-prolinu z části d) se hydrolyzuje 2,6 ml koncentrovaného hydroxidu amonného v 6 ml vody za vzniku 1,1 g sklovitého zbytku, v němž se při stání objeví zárodečné krystalky. Tento produkt se převrství 8 ml etheru, naočkuje se a trituruje. Současně s postupným rozpouštěním sklovitého materiálu se postupně vylučuje krystalický pevný produkt. Po 2 hodinách při teplotě místnosti se přidá 20 ml hexanu a směs se přes noc chladí pod argonem. Po odpaření rozpouštědla se získá 1,0 g bezbarvého pevného cis-4-(1,1-dimethylethoxy)-1-(D-3-merkapto-2-methyl-1-oxopropyl)-L-prolinu o teplotě tání 106 až 108 °C o optické rotaci $[\alpha]_D^{25} = -78^\circ$ ($c = 1\%$ v ethanolu).

Analýza pro:

$C_{13}H_{23}N_4S \cdot 0,25 H_2O$:

vypočteno:

C: 53,12 %, H: 8,06 %, N: 4,77 %, S: 10,91 %;

nalezeno:

C: 53,30 %, H: 8,28 %, N: 4,76 %, S: 10,70 %.

Příklad 13

Sůl cis-4-[(4-fluorfenyl)thio]-1-(D-3-merkapto-2-methyl-1-oxopropyl)-L-prolinu s L-argininem (1:1)

a) Methylester trans-1-[D-3-(benzoylthio)-2-methyl-1-oxopropyl]-4-hydroxy-L-prolinu

56,05 g (0,25 mol) D-3-(benzoylthio)-2-methylpropanové kyseliny se suspenduje v 62,5 ml toluenu. Teplota se sníží na 15 °C, k suspenzi se přidá 0,386 ml dimethylformamidu a pak se za míchání v jediné dávce přidá 32,7 g (0,25 mol + 10% nadbytek)

thionylchloridu. Teplota reakční směsi se sníží na 12 °C, nádoba používaná k odměřování thionylchloridu se vypláchne 21,2 ml toluenu, který se přidá k reakční směsi, jejíž teplota se postupně zvýší na 35 °C a na této výši se udržuje ještě 1 hodinu. Výsledná směs se přes noc míchá při teplotě místnosti, pak se rozpouští a nadbytek thionylchloridu oddestilují, zbytek se dvakrát promíchá se 100 ml toluenu a toluen se odpaří. Získá se 63,4 g chloridu D-3-(benzoylthio)-2-methylpropanové kyseliny.

Ve 250 ml vody se při pH 5,8 rozpustí 32,7 g (0,25 mol) L-4-hydroxyprolinu, načež se přidáním zhruba 60 ml 10% uhličitanu sodného upraví pH na hodnotu 9,3. Roztok se zahřeje na 30 °C a během 1 hodiny se k němu při teplotě 30 °C a za udržování pH na 9,0 současně přidává 75 ml toluenového roztoku obsahujícího 63 g chloridu D-3-(benzoylthio)-2-methylpropanové kyseliny a 10% roztok uhličitanu sodného ve vodě. Výsledný roztok se při pH 9 míchá 1,5 hodiny, pak se toluenová vrstva oddělí a vodná vrstva se silně okyselí koncentrovanou kyselinou chlorovodíkovou. Krystalický pevný materiál se odfiltruje, promyje se vodou a vysuší se na vzduchu. Získá se 71,4 g trans-1-[D-3-(benzoylthio)-2-methyl-1-oxopropyl]-4-hydroxy-L-prolinu o teplotě tání 195 až 196 °C. Po překrystalování z alkoholu se teplota tání zvýší na 196 až 197 °C. Produkt má $[\alpha]_D^{25} = -139^\circ$ ($c = 1\%$, methanol).

Analýza pro:

$C_{16}H_{19}NO_3S$:

vypočteno:

N: 4,15 %, C: 56,95 %, H: 5,67 %, S: 9,50 %;

nalezeno:

N: 3,96 %, C: 56,56 %, H: 5,77 %, S: 9,50 %.

Roztok 33,7 g (0,1 mol) trans-1-[D-3-(benzoylthio)-2-methyl-1-oxopropyl]-4-hydroxy-L-prolinu a 500 mg p-toluensulfonové kyseliny v 1 litru methanolu se zhruba 18 hodin mírně vaří pod zpětným chladičem. Po odpaření methanolu se získá 37 g viskózního zbytku, který se rozpustí v 1400 ml etheru. Etherický roztok se promyje dvakrát 250 ml vody, dvakrát 250 ml 5% roztoku hydrogenuhličitanu sodného a jednou 250 ml litry roztoku chloridu sodného, vysuší se síranem hořečnatým a ether se odpaří. Po trituraci s petroletherem se získá 27,3 gramu krystalického produktu o teplotě tání 64 až 65 °C. Tento produkt poskytne po překrystalování z etheru methylester trans-1-[D-3-(benzoylthio)-2-methyl-1-oxopropyl]-4-hydroxy-L-prolinu o teplotě tání 65,5 až

67 °C o optické rotaci $[\alpha]_D^{25} = -158^\circ$ ($c = 1$ %, methanol).

Analýza pro:
 $C_{17}H_{21}NO_5S$:

vypočteno:

C: 58,10 %, H: 6,02 %, N: 3,99 %, S: 9,12 %;

nalezeno:

C: 57,96 %, H: 6,09 %, N: 3,96 %, S: 9,11 %.

b) N-(p-fluorfenylthio)sukcinimid

Za použití postupu, který popsali Y. Abe a spol. v Bull. Chem. Soc. Japan, sv. 46, str. 1898 (1973), se na suspenzi 12,1 g (90,8 mmol) N-chlorsukcinimidu v 500 ml benzenu pod dusíkem působí roztokem 9,7 g (75,7 mmol) p-fluorothiofenolu v 90 ml benzenu. Dojde k mírnému vzestupu teploty a reakční směs se žlutooranžově zbarví. Po 75 minutách se roztok ochladí na 15 °C a během 25 minut se k němu přidá 9,19 g (90,8 mmol) triethylaminu v 90 ml benzenu. Chladicí lázeň se odstraní, reakční směs se 45 minut míchá, pak se zfiltruje, organický roztok se promyje třikrát vždy 150 ml vody, roztokem chloridu sodného, vysuší se síranem hořečnatým a rozpouštědla se odpaří ve vakuu. Získá se 15,8 g surového produktu, který po překrystalování ze směsi chloroformu a hexanu poskytne 11,6 g N-(p-fluorfenylthio)sukcinimidu o teplotě tání 130 až 138 °C.

c) Methylester cis-1-[D-3-(benzoylthio)-2-methyl-1-oxopropyl]-4-[(4-fluorfenyl)thio]-L-prolinu

K roztoku 11,0 g (48,8 mmol) N-(p-fluorfenylthio)sukcinimidu ve 200 ml benzenu se v dusíkové atmosféře přidá 9,87 g (48,8 mmol) tri-n-butylfosfinu ve 25 ml benzenu. Vzniklý tmavě zbarvený roztok se 10 minut míchá při teplotě místnosti a pak se k němu přidá 15,6 g (44,4 mmol) methylesteru trans-1-[D-3-(benzoylthio)-2-methyl-1-oxopropyl]-4-hydroxy-L-prolinu. Reakční směs se přes noc míchá při teplotě místnosti, zředí se 200 ml etheru, promyje se čtyřikrát vždy 75 ml vody, roztokem chloridu sodného, vysuší se síranem hořečnatým a rozpouštědlo se odpaří ve vakuu. Získá se 32,6 g surového produktu, který se adsorbuje na cca 70 g silikagelu a chromatografuje se na sloupci 450 g silikagelu připraveném ve směsi stejných dílů diethyletheru a hexanu. Sloupec se vymývá nejprve dvěma litry směsi stejných dílů diethyletheru a hexanu pak dvěma litry směsi diethyletheru a hexanu v poměru 2:1 a nakonec samotným etherem. Nejlepší frakce

obsahující produkt se spojí a po odpaření se z nich získá 16,7 g methylesteru cis-1-[D-3-(benzoylthio)-2-methyl-1-oxopropyl]-4-[(4-fluorfenyl)thio]-L-prolinu ve formě oleje o optické rotaci $[\alpha]_D^{25} = -80,2^\circ$ ($c = 1$ %, chloroform).

d) Sůl cis-4-[(4-fluorfenyl)thio]-1-(D-3-merkapt-2-methyl-1-oxopropyl)-L-prolinu s L-argininem (1:1)

Roztok 15,7 g (34,0 mmol) methylesteru cis-1-[D-3-(benzoylthio)-2-methyl-1-oxopropyl]-4-[(4-fluorfenyl)thio]-L-prolinu ve směsi 50 ml methanolu a 150 ml tetrahydrofuranu se v dusíkové atmosféře ochladí v ledu a k tomuto studenému roztoku se během 10 minut přidá 71,4 ml 1 N vodného roztoku hydroxidu sodného. Chladicí lázeň se odstraní, reakční směs se 5,5 hodiny míchá při teplotě místnosti, pak se zředí 300 ml vody a promyje se třikrát vždy 200 ml etheru. Vodná vrstva se pod dusíkem ochladí v ledu, okyselí se koncentrovanou vodnou kyselinou chlorovodíkovou na pH 1 až 2 a extrahuje se třikrát vždy 200 ml etheru. Spojené organické extrakty se promyjí nejprve 200 ml vody, pak roztokem chloridu sodného, vysuší se síranem hořečnatým a rozpouštědlo se odpaří ve vakuu. Získá se 11,7 gramu surového produktu, který se rozpustí v etheru a přidá se k němu methanolický roztok 5,66 g (37,4 mmol) 1-adamantanaminu. Po zředění etherem se získá 15,2 g adamantanamoniové soli, která se překrystaluje tak, že se rozpustí ve směsi stejných dílů chloroformu a methanolu, a roztok se zředí etherem. Tímto postupem se získá 13,3 gramu adamantanamoniové soli tající za rozkladu při 238 až 240 °C. Po dalších dvou krystalizacích z rozpouštědlového systému chloroform — methanol — ether se získá 10,6 g adamantanamoniové soli cis-4-[(4-fluorfenyl)thio]-1-(D-3-merkapt-2-methyl-1-oxopropyl)-L-prolinu o teplotě tání 242 až 243 °C (rozklad) a optické rotaci $[\alpha]_D^{25} = -51,8^\circ$ ($c = 0,5$ %, methanol).

Vzorek této adamantanamoniové soli se extrahuje ethylacetátem z 1 N vodné kyseliny chlorovodíkové, čímž se získá cis-4-[(4-fluorfenyl)thio]-1-(D-3-merkapt-2-methyl-1-oxopropyl)-L-prolin o optické rotaci $[\alpha]_D^{25} = -42,5^\circ$ ($c = 1$ %, absolutní ethanol).

K intenzivně míchané směsi 20 ml 1 N kyseliny chlorovodíkové, 40 ml vody a 60 ml ethylacetátu se po částech přidá 8,0 g (16,2 mmol) adamantanaminiové soli cis-4-[(4-fluorfenyl)thio]-1-(D-3-merkapt-2-methyl-1-oxopropyl)-L-prolinu. Tento postup se provádí pod dusíkem za chlazení v ledu. Vodná vrstva se extrahuje ještě dvakrát vždy 60 ml ethylacetátu, spojené organické extrakty se promyjí zředěnou vodnou kyselinou chlorovodíkovou, vodou a roztokem chloridu sodného, vysuší se síranem hořeč-

natým a rozpouštědlo se odpaří ve vakuu. Získá se 5,78 g uvolněné kyseliny ve formě surového olejovitého materiálu, který se rozpustí ve směsi 40 ml ethylacetátu a 10 mililitrů etheru. Roztok se v dělicí nálevce protřepe s roztokem 2,68 g (15,4 mmol) L-argininu v 50 ml vody, vodná vrstva se znovu promyje etherem, 15 minut se odpařuje na rotační odparce za nízkého tlaku a pak se přes noc lyofilizuje. Získá se 7,97 g soli cis-4-[(4-fluorfenyl)thio]-1-(D-3-merkapt-2-methyl-1-oxopropyl)-L-prolinu s L-argininem (1:1) o optické rotaci $[\alpha]_D^{25} = -42,7^\circ$ ($c = 1\%$, voda).

Analýza pro:

$C_{15}H_{18}FNO_3S_2 \cdot C_6H_{14}N_4O_2$:

vypočteno:

C: 47,08 %, H: 6,40 %, N: 13,08 %, S: 11,97 %, F: 3,55 %, SH: 6,17 %;

nalezeno:

C: 47,21 %, H: 6,74 %, N: 13,28 %, S: 11,71 %, F: 3,38 %, SH: 5,98 %.

Příklad 14

Sůl cis-4-[(4-chlorfenyl)thio]-1-(D-3-merkapt-2-methyl-1-oxopropyl)-L-prolinu s L-argininem (1:1)

a) N-(p-chlorfenylthio)sukcinimid

Analogickým způsobem jako popsali Y. Abe a spol. (viz výše uvedenou citaci) se k 4,3 g (33,2 mmol) N-chlorsukcinimidu a 1800 ml benzenu přidá roztok 40,0 g (27,7 mmol) p-chlorthiofenolu ve 360 ml benzenu. Po 1 hodině se vzniklý oranžově zbarvený roztok ochladí na 15°C a během 15 minut se k němu přidá 33,6 g (33,2 mmol) triethylaminu ve 360 ml benzenu. Chladicí lázeň se odstraní a reakční směs se ještě dalších 45 minut níchá při teplotě místnosti. Výsledná směs se zfiltruje, organická fáze se promyje třikrát vždy 500 ml vody, 500 ml roztoku chloridu sodného, vysuší se síranem hořečnatým a rozpouštědlo se odpaří ve vakuu. Získá se 55,1 g surového produktu, který triturací s 900 ml petroletheru poskytne 42,0 g N-(p-chlorfenylthio)sukcinimidu o teplotě tání 135 až 152°C .

b) Methylester cis-1-[D-3-(benzoylthio)-2-methyl-1-oxopropyl]-4-[(4-chlorfenyl)thio]-L-prolinu

K roztoku 15,1 g (62,3 mmol) N-(p-chlorfenylthio)sukcinimidu ve 250 ml benzenu se v dusíkové atmosféře při teplotě místnosti přidá roztok 12,6 g (62,3 mmol) tri-n-butylfosfinu ve 25 ml benzenu. Po 10 minutách se přidá 20 g (56,9 mmol) methylesteru trans-1-[D-3-(benzoylthio)-2-methyl-1-

-oxopropyl]-4-hydroxy-L-prolinu a reakce se nechá pod dusíkem při teplotě místnosti probíhat 2 dny. Reakční směs se zředí 300 mililitry etheru, promyje se čtyřikrát vždy 100 ml vody, roztokem chloridu sodného, vysuší se síranem hořečnatým a rozpouštědlo se odpaří ve vakuu. Získá se 46 g surového materiálu, který se adsorbuje zhruba na 75 g silikagelu a chromatografuje se na sloupci 450 g silikagelu. Sloupec se připraví v etheru a etherem se rovněž vymývá. Frakce obsahující produkt se spojí a odpaří se, čímž se získá 27,2 g produktu, z něhož se 0,48 g rychle chromatografuje na 25 g silikagelu (EM9385). Tento sloupec se připraví v methylenchloridu a vymývá se nejprve methylenchloridem a pak směsí methylenchloridu a ethylacetátu 18:1. Získá se 0,28 g methylesteru cis-1-[D-3-(benzoylthio)-2-methyl-1-oxopropyl]-4-[(4-chlorfenyl)thio]-L-prolinu o optické rotaci $[\alpha]_D^{25} = -86,6^\circ$ ($c = 1\%$, chloroform).

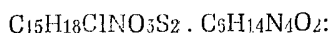
c) Sůl cis-4-[(4-chlorfenyl)thio]-1-(D-3-metrkapt-2-methyl-1-oxopropyl)-L-prolinu s L-argininem (1:1)

Roztok 24,3 g (50,8 mmol) methylesteru cis-1-[D-3-(benzoylthio)-2-methyl-1-oxopropyl]-4-[(4-chlorfenyl)thio]-L-prolinu ve směsi 80 ml methanolu a 220 ml tetrahydrofuranu se pod dusíkem ochladí v ledu a během 10 minut se k ní přidá 106 ml 1 N vodného roztoku hydroxidu sodného. Chladicí lázeň se odstraní, reakční směs se 5,5 hodiny míchá při teplotě místnosti, pak se zředí 500 ml vody a promyje se třikrát vždy 300 ml etheru. Vodný roztok se ochladí pod dusíkem v ledu a koncentrovanou kyselinou chlorovodíkovou se okyslí na pH 1 až 2. Směs se extrahuje třikrát vždy 500 ml etheru, spojené etherické extrakty se promyjí 400 ml vody a roztokem chloridu sodného, vysuší se síranem hořečnatým a zahustí se ve vakuu. Získá se 18,2 g surového produktu, který se rozpustí v etheru a k tomuto roztoku se přidá methanolickeý roztok 8,5 g (55,9 mmol) 1-adamantanaminu. Směs se zředí etherem na objem cca 1 litr, 1,5 hodiny se chladí v chladničce a pak se zfiltruje. Získá se 20,1 g adamantanamoniové soli o teplotě tání 239 až 242°C . Tento materiál se rozpustí ve směsi stejných dílů chloroformu a methanolu a roztok se zředí etherem, čímž se získá 15,3 g 1-adamantanamoniové soli cis-4-[(4-chlorfenyl)thio]-1-(D-3-merkapt-2-methyl-1-oxopropyl)-L-prolinu o teplotě tání 240 až 241°C (rozklad) o optické rotaci $[\alpha]_D^{25} = -55,4^\circ$ ($c = 0,5\%$, methanol).

Malý vzorek této adamantanamoniové soli (0,5 g; 0,98 mmol) se roztřepe mezi vodnou kyselinou chlorovodíkovou a ethylacetát, čímž se získá odpovídající volná kyselina o optické rotaci $[\alpha]_D^{25} = -38,1^\circ$ ($c = 1\%$, absolutní ethanol).

K intenzívně míchané směsi 18,8 ml 1 N vodné kyseliny chlorovodíkové, 30 ml vody a 50 ml ethylacetátu se po částech přidá 8 g (15,6 mmol) adamantanamoniové soli připravené výše. Roztok se chladí v ledu a udržuje se v dusíkové atmosféře. Po rozpuštění všech pevných podílů se vodná vrstva extrahuje dvakrát vždy 50 ml ethylacetátu; organické extrakty se spojí, promyjí se 30 ml 0,5 N vodné kyseliny chlorovodíkové, 30 ml vody a nakonec roztokem chloridu sodného. Roztok se vysuší síranem hořečnatým a zahustí se ve vakuu, čímž se získá 5,6 g uvolněné kyseliny. Tato kyselina se rozpustí ve směsi 50 ml ethylacetátu a 15 ml etheru a protřepe se s roztokem 2,57 g (14,8 mmol) L-argininu v 65 ml vody. Vodná vrstva se promyje 50 ml etheru a přes noc se lyofilizuje. Získá se 8,0 g soli cis-4-[(4-chlorfenyl)thio]-1-(D-3-merkapt-2-methyl-1-oxopropyl)-L-prolinu s L-argininem (1 : 1), o optické rotaci $[\alpha]_D^{25} = -44,3$ stupně ($c = 1$ %, voda).

Analýza pro:



vypočteno:

C: 45,09 %, H: 6,27 %, N: 12,52 %, S: 11,46 %, Cl: 6,34 %, SH: 5,91 %;

nalezeno:

C: 45,34 %, H: 6,34 %, N: 12,57 %, S: 11,48 %, Cl: 6,12 %, SH: 5,44 %.

Příklad 15

Sůl cis-1-(D-2-merkapt-2-methyl-1-oxopropyl)-4-[(4-methylfenyl)thio]-L-prolinu s L-argininem (1 : 1)

a) Methylester cis-1-[D-3-(benzoylthio)-2-methyl-1-oxopropyl]-4-[(4-methylfenyl)thio]-L-prolinu

K roztoku 20 g (56,8 mmol) methylesteru trans-1-[D-3-(benzoylthio)-2-methyl-1-oxopropyl]-4-hydroxy-L-prolinu a 15,4 g (62,5 mmol) p-tolyldisulfidu ve 120 ml benzenu se v dusíkové atmosféře při teplotě místnosti přidá během 5 minut roztok 12,6 gramu (62,5 mmol) tri-n butylfosfinu ve 20 mililitrech benzenu. Reakční směs se nechá přes noc stát, pak se zředí 300 ml diethyletheru, organický roztok se promyje třikrát vždy 100 ml vody a roztokem chloridu sodného, vysuší se síranem hořečnatým a zahustí se ve vakuu. Získá se 49 g surového produktu. Tento materiál se adsorbuje na 75 g silikagelu a aplikuje se na sloupec 450 gramů silikagelu připravený, ve směsi stejných dílů hexanu a etheru. Sloupec se vymývá nejprve směsí stejných dílů hexanu a etheru (3 litry), pak 2 litry směsi ethe-

ru a hexanu v poměru 2 : 1 a nakonec čistým etherem. Nejlepší frakce obsahující produkt se spojí a získá se z nich 14,6 g methylesteru cis-1-[D-3-(benzoylthio)-2-methyl-1-oxopropyl]-4-[(4-methylfenyl)thio]-L-prolinu. Malý vzorek tohoto materiálu se rychle přechromatografuje na silikagelu (EM9385) za použití směsi methylenchloridu a ethylacetátu jako elučního činidla. Takto vyčištěný produkt má optickou rotaci $[\alpha]_D^{25} = -70,8^\circ$ ($c = 1$ %, chloroform).

b) Sůl cis-1-(D-3-merkapt-2-methyl-1-oxopropyl)-4-[(4-methylfenyl)thio]-L-prolinu s L-argininem (1 : 1)

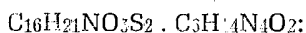
K ledem ochlazenému roztoku 13,0 gramu (28,4 mmol) methylesteru cis-1-[D-3-(benzoylthio)-2-methyl-1-oxopropyl]-4-[(4-methylfenyl)thio]-L-prolinu ve směsi 40 ml methanolu a 130 ml tetrahydrofuranu se za kontinuálního uvádění dusíku přidá během 10 minut 59,6 ml 1 N vodného roztoku hydroxidu sodného. Po skončení přidávání se chladicí lázeň odstraní, reakční směs se pod dusíkem 5,5 hodiny míchá při teplotě místnosti, pak se zředí 250 ml vody a dvakrát se promyje vždy 200 ml etheru. Vodná vrstva se ochladí pod dusíkem v ledu, koncentrovanou kyselinou chlorovodíkovou se okyselí na pH 1 až 2 a extrahuje se třikrát vždy 200 ml etheru. Spojené organické extrakty se promyjí 200 ml vody a roztokem chloridu sodného, vysuší se síranem hořečnatým a zahustí se ve vakuu. Získá se 10,6 g bezbarvého olejovitého produktu, který je podle chromatografie na tenké vrstvě téměř jednotný. Tento produkt se rozpustí v etheru a k tomuto roztoku se přidá roztok 4,72 gramu (31,2 mmol) 1-adamantanaminu ve 20 ml methanolu. Rychle proběhne vysrážení, směs se zředí etherem na celkový objem zhruba 700 ml a sůl se odfiltruje. Po tritraci s teplou směsí methanolu a etheru se získá 12,4 g adamantanamoniové soli tající za rozkladu při 237 až 240 °C. Tato sůl se překrystaluje tak, že se rozpustí v minimálním množství směsi stejných dílů chloroformu a methanolu, a roztok se zředí etherem. Po desetiminutovém stání při teplotě místnosti se pevný produkt odfiltruje a vysuší. Získá se 8,2 g adamantanamoniové soli o teplotě tání 240 až 241 °C (rozklad) o optické rotaci $[\alpha]_D^{25} = -58,0^\circ$ ($c = 0,5$ %, methanol).

Malý vzorek této adamantanamoniové soli se roztřepe mezi vodnou kyselinou chlorovodíkovou a ethylacetát, čímž se získá cis-1-(D-3-merkapt-2-methyl-1-oxopropyl)-4-[(4-methylfenyl)thio]-L-prolin ve formě oleje o optické rotaci $[\alpha]_D^{25} = -45,1^\circ$ ($c = 1$ %, absolutní ethanol).

K směsi 17,1 ml 1 N vodné kyseliny chlorovodíkové, 30 ml vody a 50 ml ethylacetátu se v několika dávkách přidá 7,0 g (14,3 mmol) shora připravené adamantanamonió-

vé soli. Během přidávání se roztok chladí v ledu a udržuje se v argonové atmosféře. Po rozpuštění veškeré soli se vrstvy oddělí, vodná vrstva se ještě dvakrát extrahuje vždy 50 ml ethylacetátu a extrakty se spojí s ethylacetátovou vrstvou. Organická fáze se promyje zředěnou kyselinou chlorovodíkovou, vodou a roztokem chloridu sodného, vysuší se síranem hořečnatým a zahustí se ve vakuu, čímž se získá volná kyselina, která se rozpustí ve směsi 40 ml ethylacetátu a 10 ml etheru. Roztok se protřepe s roztokem 2,37 g (13,6 mmol) L-argininu v 50 ml vody, vodná vrstva se promyje 50 ml etheru a lyofilizuje se. Získá se sůl cis-1-(D-3-merkapt-2-methyl-1-oxopropyl)-4-[(4-methylfenyl)thio]-L-prolinu a L-argininem (1 : 1) o optické rotaci $[\alpha]_D^{25} = -45,3^\circ$ ($c = 1$ %, voda).

Analýza pro:



vypočteno:

C: 49,69 %, H: 7,01 %, N: 13,17 %, S: 12,06 %, SH: 6,22 %;

nalezeno:

C: 49,55 %, H: 7,04 %, N: 13,28 %, S: 11,73 %, SH: 5,97 %.

Příklad 16

Sůl cis-1-(D-3-merkapt-2-methyl-1-oxopropyl)-4-[(4-methoxyfenyl)thio]-L-prolinu s L-argininem (1 : 1)

a) N-(p-methoxyfenylthio)sukcinimid

K směsi 17,1 g (128 mmol) N-chlorsukcinimidu a 700 ml benzenu se přidá roztok 15 gramů (107 mmol) p-methoxythiofenolu ve 125 ml benzenu. Po 75 minutách se výsledný oranžově zbarvený roztok ochladí na 15 °C a během 25 minut se k němu přidá 13,0 g (128 mmol) triethylaminu ve 125 ml benzenu. Chladicí lázeň se odstraní, reakční směs se ještě dalších 45 minut míchá při teplotě místnosti, pak se zfiltruje, organický roztok se promyje třikrát vždy 200 ml vody a 200 ml roztoku chloridu sodného, vysuší se síranem hořečnatým a rozpouštědlo se odpaří ve vakuu. Získá se 27,0 g surového produktu, který po překrystalování ze směsi chloroformu a hexanu poskytne 21,2 g N-(p-methoxyfenyl)sukcinimidu o teplotě tání 100 až 106 °C.

b) Methylester cis-1-[D-3-(benzoylthio)-2-methyl-1-oxopropyl]-4-[(4-methoxyfenyl)thio]-L-prolinu

K roztoku 14,0 g (59,1 mmol) N-(p-methoxyfenylthio)sukcinimidu ve 250 ml ben-

zenu se při teplotě místnosti pod dusíkem přidá 12,0 g (59,1 mmol) tri-n-butylfosfinu rozpouštěného ve 25 ml benzenu. Po 10 minutách se přidá 18,9 g (53,7 mmol) methyl-esteru trans-1-[D-3-(benzoylthio)-2-methyl-1-oxopropyl]-4-hydroxy-L-prolinu, reakční směs se nechá pod dusíkem 25 hodin stát při teplotě místnosti, pak se zředí 300 ml etheru, promyje se třikrát vždy 100 ml vody a roztokem chloridu sodného, vysuší se síranem hořečnatým a rozpouštědlo se odpaří ve vakuu. Získá se 40 g surového materiálu, který se adsorbuje zhruba na 80 g silikagelu a chromatografuje se na sloupci 450 g silikagelu. Sloupec se připraví ve směsi hexanu a etheru (4 : 1) a vymývá se nejprve touto směsí, pak směsí hexanu a etheru v poměru 2 : 1 a nakonec směsí stejných dílů hexanu a etheru. Nejlepší frakce s obsahem produktu se spojí a získá se z nich 20,6 g produktu. Malý vzorek této látky (0,5 g) se dále čistí rychlou chromatografií na 50 g silikagelu (EM9385), přičemž tento sloupec se připraví v etheru a etherem se rovněž vymývá. Ze spojených nejlepších frakcí obsahujících produkt se získá 480 mg methyl-esteru cis-1-[D-3-(benzoylthio)-2-methyl-1-oxopropyl]-4-[(4-methoxyfenyl)thio]-L-prolinu o optické rotaci $[\alpha]_D^{25} = 66,9^\circ$ ($c = 1$, chloroform).

c) Sůl cis-1-(D-3-merkapt-2-methyl-1-oxopropyl)-4-[(4-methoxyfenyl)thio]-L-prolinu s L-argininem (1 : 1)

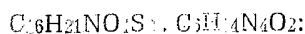
Roztok 20,1 g (42,4 mmol) methylesteru cis-1-[D-3-(benzoylthio)-2-methyl-1-oxopropyl]-4-[(4-methoxyfenyl)thio]-L-prolinu ve směsi 70 ml methanolu a 200 ml tetrahydrofuranu se pod dusíkem ochladí v ledu a během 10 minut se k němu přidá 89 ml 1 N vodného hydroxidu sodného. Chladicí lázeň se oddělí, reakční směs se 5,5 hodiny míchá při teplotě místnosti, pak se zředí 500 ml vody a promyje se třikrát vždy 300 ml etheru. Vodný roztok se pod dusíkem ochladí v ledu, okyslí se koncentrovanou kyselinou chlorovodíkovou na pH 1 a extrahuje se třikrát vždy 500 ml etheru. Spojené etherické extrakty se promyjí 400 ml vody a roztokem chloridu sodného, vysuší se síranem hořečnatým a zahustí se ve vakuu. Získá se 14,8 g surového produktu, který se rozpustí v etheru a k tomuto roztoku se přidá roztok 6,34 g (42 mmol) 1-adamantanaminu v methanolu. Směs se zředí etherem na objem cca 1 litru, nechá se 10 minut stát při teplotě místnosti a zfiltruje se. Získá se 17,8 gramu adamantanamoniové soli tající za rozkladu při 235 až 236 °C. Tento materiál se za mírného zahřevu rozpustí ve směsi stejných dílů chloroformu a methanolu a roztok se zředí etherem. Toto překrystalování se opakuje ještě dvakrát. Získá se 12,2 g 1-adamantanamoniové soli cis-1-(D-3-merkapt-2-methyl-1-oxopropyl)-4-[(4-methoxyfe-

nyl]thio]-L-prolinu o teplotě tání 237 až 239 °C (rozklad, o optické rotaci $[\alpha]_D^{25} = -52,8^\circ$ ($c = 0,5\%$, methanol).

Malý vzorek této 1-adamantanamoniové soli 500 mg; 0,99 mmol) se roztřepe mezi vodnou kyselinou chlorovodíkovou a ethylacetát, přičemž se získá odpovídající volná kyselina o optické rotaci $[\alpha]_D^{25} = -36,8^\circ$ ($c = 1\%$, absolutní ethanol).

K intenzívně míchané směsi 27,2 ml 1 N vodné kyseliny chlorovodíkové, 45 ml vody a 75 ml ethylacetátu se po částech přidá 11,5 g (22,7 mmol) shora získané 1-adamantanamoniové soli, přičemž roztok se chladí v ledu a udržuje se v dusíkové atmosféře. Po rozpuštění všeho pevného materiálu se vodná vrstva ještě dvakrát extrahuje vždy 75 ml ethylacetátu, organické extrakty se spojí, promyjí se 50 ml 0,5 N vodné kyseliny chlorovodíkové, 50 ml vody a nakonec roztokem chloridu sodného. Výsledný roztok se vysuší síranem hořečnatým a zahustí se ve vakuu. Získá se 8,2 g volné kyseliny, která se rozpustí ve směsi 75 ml ethylacetátu a 20 ml etheru, a tento roztok se protřepe s roztokem 3,76 g (21,6 mmol) L-argininu ve 100 ml vody. Vodná vrstva se promyje 75 ml etheru a přes noc se lyofilizuje. Získá se 11,2 g soli cis-1-[D-3-merkapt-2-methyl-1-oxopropyl]-4-[(4-methoxyfenyl)thio]-L-prolinu s L-argininem (1:1) o optické rotaci $[\alpha]_D^{25} = -46,0^\circ$ ($c = 1\%$, voda).

Analýza pro:



vypočteno:

C: 47,93 %, H: 6,84 %, N: 12,70 %, S: 11,63 %, SH: 6,00 %;

nalezeno:

C: 47,99 %, H: 6,61 %, N: 12,66 %, S: 11,62 %, SH: 6,00 %.

Příklad 17

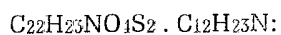
cis-1-[D-3-(benzoylthio)-2-methyl-1-oxopropyl]-4-(fenylothio)-L-prolin

9,9 g (0,031 mol) cis-4-fenylothio-L-prolinu se suspenduje ve 100 ml vody (pH 5,6) a hodnota pH se přidáním cca 20 ml 10% roztoku hydrogenuhličitanu sodného upraví na 10,2, čímž suspenze přejde na čirý roztok. Hodnota pH se pak přidáním zhruba 4,5 ml koncentrované kyseliny chlorovodíkové upraví na 9,5 a k roztoku se při teplotě 30 °C přidá 8,1 g (0,033 mol) chloridu D-3-(benzoylthio)-2-methylpropanové kyseliny ve 30 ml toluenu, současně se 100 ml 10% roztoku hydrogenuhličitanu sodného, jímž se pH udržuje na hodnotě 9,3. Po přidání asi čtvrtiny chloridu kyseliny se začne

tvorit slizovitá sraženina, která ve směsi přetrvává po celou reakční dobu. Reakční směs se 2,5 hodiny míchá při pH 9,3, načež se v přítomnosti ethylacetátu silně okyslí přidáním 20% kyseliny chlorovodíkové. Vodná vrstva se extrahuje dvakrát vždy 350 ml ethylacetátu, spojené organické vrstvy se promyjí 300 ml nasyceného roztoku chloridu sodného a vysuší se síranem hořečnatým. Po odpaření rozpouštědla se získá 11,8 g surového produktu ve formě pěnité pevné látky.

11,8 g (0,027 mol) tohoto pěnitého pevného produktu se rozpustí v 70 ml acetonitrilu a k roztoku se přidá cca 6 g dicyklohexylaminu ve 25 ml etheru, přičemž se okamžitě vyloučí bílá krystalická sraženina. Směs se nechá přes noc stát ve studené místnosti, pak se pevný produkt odfiltruje a promyje se etherem. Získá se sůl cis-1-[D-3-(benzoylthio)-2-methyl-1-oxopropyl]-4-(fenylothio)-L-prolinu s dicyklohexylaminem (1:1).

Analýza pro:



vypočteno:

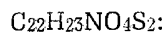
C: 66,85 %, H: 7,59 %, N: 4,59 %;

nalezeno:

C: 66,33 %, H: 7,30 %, N: 4,48 %.

Mírně vlhká dicyklohexylamoniová sůl se 2,5 hodiny míchá ve směsi 300 ml ethylacetátu a 200 ml 10% roztoku hydrogensíranu draselného. Vzniknou dvě čiré vrstvy. Vodná vrstva se extrahuje dvakrát vždy 200 ml ethylacetátu, spojené organické podíly se vysuší síranem hořečnatým a rozpouštědlo se odpaří. Získá se 10,1 g pěnitého pevného cis-1-[D-3-(benzoylthio)-2-methyl-1-oxopropyl]-4-(fenylothio)-L-prolinu o teplotě tání 42 až 44 °C o optické rotaci $[\alpha]_D^{25} = -36,5^\circ$ ($c = 1\%$, methanol).

Analýza pro:



vypočteno:

C: 60,87 %, H: 5,46 %, N: 3,23 %,

nalezeno:

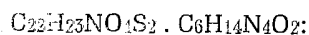
C: 60,75 %, H: 5,35 %, N: 3,17 %.

Příklad 18

Sůl cis-1-[D-3-(benzoylthio)-2-methyl-1-oxopropyl]-4-(fenylothio)-L-prolinu s L-argininem (1:1)

K roztoku 2,3 g (0,0054 mol) cis-1-[D-3-(benzoylthio)-2-methyl-1-oxopropyl]-4-(fenylthio)-L-prolinu ve 100 ml methanolu se přidá 0,941 g (0,0054 mol) L-argininu. Zhruba po desetiminutovém míchání vznikne čirý roztok. Reakční směs se zhruba 5 hodin míchá při teplotě místnosti, pak se rozpouštědlo odpaří a pevný zbytek se trituruje s etherem. Filtrací se získá 2,5 g soli cis-1-[D-3-(benzoylthio)-2-methyl-1-oxopropyl]-4-(fenylthio)-L-prolinu s L-argininem (1:1), která při zahřívání měkne při teplotě 105 °C a za rozkladu taje při 110 až 112 °C. Produkt má optickou rotaci $[\alpha]_D^{25} = -278^\circ$ ($c = 1$ %, methanol).

Analýza pro:



vypočteno:

C: 54,88 %, H: 6,25 %, N: 11,43 %,
 Na: 10,47 %;

nalezeno:

C: 54,44 %, H: 6,21 %, N: 11,60 %,
 Na: 10,40 %.

Příklad 19

Sodná sůl cis-1-[D-(3-benzoylthio)-2-methyl-1-oxopropyl]-4-(fenylthio)-L-prolinu (1:1)

Roztok 4,29 g (0,01 mol) cis-1-[D-3-(benzoylthio)-2-methyl-1-oxopropyl]-4-(fenylthio)-L-prolinu ve 25 ml methanolu se smísí s roztokem 0,540 g (0,01 mol) methoxidu sodného ve 25 ml methanolu. Po přidání zhruba 50 ml etheru a asi po desetiminutovém míchání se začne tvořit sraženina. Směs se nechá přes noc stát v chladné místnosti, želatovitý pevný materiál se odfiltruje, promyje se etherem a vysuší se v exsikátoru. Získá se 2,5 g sodné soli cis-1-[D-3-(benzoylthio)-2-methyl-1-oxopropyl]-4-(fenylthio)-L-prolinu (1:1) o teplotě tání 218 až 220 stupňů Celsia (rozklad) o optické rotaci $[\alpha]_D^{25} = -105,2^\circ$ ($c = 1$ %, voda).

Analýza pro:



vypočteno:

C: 57,36 %, H: 5,03 %, N: 3,04 %,
 Na: 4,99 %;

nalezeno:

C: 57,62 %, H: 5,08 %, N: 3,01 %,
 Na: 4,68 %.

Příklad 20

cis-1-(D-3-merkapt-2-methyl-1-oxopropyl)-3-fenoxy-D,L-prolin

a) Terc.butylester 3-fenoxy-1,2-dehydroprolinu

Směs 9,25 g (50 mmol) terc.butylesteru 1,2-dehydroprolinu v 70 ml toluenu a 8,9 g (50 mmol) N-bromsukcinimidu se 1 hodinu zahřívá k varu pod zpětným chladičem za ozařování žárovkou na denní světlo umístěnou ve vzdálenosti cca 5 cm. Během této doby vznikne sukcinimid. Reakční směs se ochladí na teplotu místnosti, sukcinimid se odfiltruje a filtrát se odpaří k suchu. Destilací zbytku při teplotě 80 °C se získá 3,5 g surového terc. butylesteru 3-brom-1,2-dehydroprolinu.

Směs tohoto surového terc.butylesteru 3-brom-1,2-dehydroprolinu a 3,9 g (13 mmol) fenoxidu thalnatého ve 30 ml suchého dimethylformamidu se 24 hodiny míchá pod argonem při teplotě místnosti. Rozpouštědlo se odpaří ve vakuu a zbytek se zředí etherem, čímž se vysráží bromid thalnatý, který se odfiltruje. Zahuštěním filtrátu se získá olejovitý materiál, který se čistí destilací. Po dvouhodinovém zahřívání na 80 °C za tlaku 0,67 Pa zbude v destilační baňce 1,48 g terc.butylesteru 3-fenoxy-1,2-dehydroprolinu.

b) cis-3-fenoxy-D,L-prolin

Směs 1,48 g terc. butylesteru 3-fenoxy-1,2-dehydroprolinu, 5 ml 1 N hydroxidu sodného a 20 ml 80% vodného dioxanu se 4 hodiny míchá při teplotě místnosti, pak se rozpouštědlo odpaří ve vakuu, zbytek se rozpustí ve 25 ml vody a k roztoku se při teplotě místnosti během 1 hodiny přidá 168 mg natriumborohydridu. Výsledná směs se 2 N kyselinou chlorovodíkovou okyslí na pH 6 a reakční roztok se 16 hodin ochladí na 0 °C, přičemž se z něj vysráží zhruba 25 mg krystalického trans-3-fenoxy-D,L-prolinu. Tyto krystaly se odfiltrují a filtrát se odsolí na sloupci iontoměniče Dowex 50 Wx8 (2,5 X X 30 cm) za použití 1 N hydroxidu amonného jako elučního činidla. Frakce aktivní v UV záření se spojí a zahuštěním se z nich získá 616 mg pevného cis-3-fenoxy-D,L-prolinu.

c) cis-1-[D-3-(acetylthio)-2-methyl-1-oxopropyl]-3-fenoxy-D,L-prolin

616 mg cis-3-fenoxy-D,L-prolinu se při teplotě 5 °C suspenduje ve 20 ml vody a hodnota pH se pevným uhlíčitánem sodným upraví na 8,0. Přidá se roztok 550 mg (2,5 mmol) chloridu D-3-acetylthio-2-methylpropanové kyseliny v 1 ml etheru a přidáváním uhlíči-

tanu sodného se pH reakční směsi po následující 1,5 hodiny udržuje v rozmezí 7,3 až 8,2. Výsledná směs se promyje dvakrát vždy 20 ml ethylacetátu, 10% kyselinou chlorovodíkovou se okyslí na pH 2 a extrahuje se třikrát vždy 50 ml ethylacetátu. Extrakty se spojí, vysuší se síranem hořečnatým a zahustí se. Získá se 810 mg olejovitého materiálu, který se čistí rychlou chromatografií na 300 ml silikagelu za použití směsi toluenu s 10 až 20 % kyseliny octové jako elučních činidel. Získá se 530 mg cis-1-[D-3-(acetylthio)-2-methyl-1-oxopropyl]-3-fenoxy-D,L-prolinu.

d) cis-1-(D-3-merkaptio-2-methyl-1-oxopropyl)-3-fenoxy-D,L-prolin

530 mg cis-1-[D-3-(acetylthio)-2-methyl-1-oxopropyl]-3-fenoxy-D,L-prolinu se pod argonem rozpustí ve směsi stejných dílů koncentrovaného hydroxidu amonného a vody (zbavené plynů patnáctiminutovým uváděním argonu) a 1,5 hodiny se míchá. Mírně zakalený roztok se koncentrovanou kyselinou chlorovodíkovou okyslí na pH 6,5 (dochází k mírnému zahřevu) a extrahuje se dvakrát vždy 25 ml methylenchloridu. Hodnota pH se upraví na 1 a roztok se znovu extrahuje třikrát vždy 50 ml methylenchloridu. Extrakty se spojí a po vysušení síranem hořečnatým se zahustí. Získá se 410 mg sklovitého materiálu, který se tritací s chloroformem přivede ke krystalizaci. Pevný produkt poskytne po překrystalování ze směsi ethylacetátu a hexanu 261 mg cis-1-(D-3-merkaptio-2-methyl-1-oxopropyl)-3-fenoxy-D,L-prolinu o teplotě tání 134 až 155 stupňů Celsia.

Analýza pro:

$C_{15}H_{19}NO_4S$:

vypočteno:

C: 58,23 %, H: 6,19 %, N: 4,53 %, S: 10,36 %;

nalezeno:

C: 58,07 %, H: 6,18 %, N: 4,45 %, S: 10,16 %.

Příklad 21

Z níže uvedených složek se připraví 1000 tablet, z nichž každá obsahuje 100 mg 1-(D-3-merkaptio-1-oxopropyl)-trans-4-methoxy-L-prolinu ve formě sodné soli.

složka	množství
sodná sůl 1-(3-merkaptio-1-oxopropyl)-trans-4-methoxy-L-prolinu	100 g
kukuřičný škrob	50 g
želatina	7,5 g
Avicel (mikrokrytalická celulóza)	25 g
stearát hořečnatý	2,5 g

Sodná sůl 1-(D-3-merkaptio-1-oxopropyl)-trans-4-methoxy-L-prolinu a kukuřičný škrob se smísí s vodným roztokem želatiny, směs se vysuší a rozmělní se na jemný prášek, který se po smísení s Avicelm a stearátem hořečnatým granuluje. Z granulátu se na tabletovacím lisu vyrobí 1000 tablet, z nichž každá obsahuje 100 mg účinné složky.

Příklad 22

Postupem popsaným v příkladu 21 se vyrobí tablety, z nichž každá obsahuje 200 mg 1-(D-3-merkaptio-2-methyl-1-oxopropyl)-trans-4-methoxy-L-prolinu.

Příklad 23

Z níže uvedených složek se vyrobí 1000 tablet, z nichž každá obsahuje 200 mg sodné soli 1-(D-3-merkaptio-2-methyl-1-oxopropyl)-cis-4-methoxy-L-prolinu.

složka	množství
sodná sůl 1-(D-3-merkaptio-2-methyl-1-oxopropyl)-cis-4-methoxy-L-prolinu	50 g
laktóza	25 g
Avicel	38 g
kukuřičný škrob	15 g
stearát hořečnatý	2 g

Sodná sůl 1-(D-3-merkaptio-2-methyl-1-oxopropyl)-cis-4-methoxy-L-prolinu, laktóza a Avicel se smísí, pak se k směsi přimísí kukuřičný škrob a nakonec se přidá stearát hořečnatý. Ze suché směsi se na tabletovacím lisu vylisuje 1000 tablet o hmotnosti 130 mg, z nichž každá obsahuje 50 mg účinné látky. Tablety se pak povlékají roztokem methylcelulózy (Methocel E 15) obsahující jako barvivo lak s obsahem žlutí č. 6.

Příklad 24

Směsí níže uvedených složek se naplní dvojdílné želatinové kapsle č. 1 tak, že každá kapsle obsahuje 100 mg sodné soli 1-(D-3-merkaptio-2-methyl-1-oxopropyl)-cis-4-methoxy-L-prolinu.

složka	množství
sodná sůl 1-(D-3-merkapt-2-methyl-1-oxopropyl)-cis-4-methoxy-L-prolinu	100 mg
stearát hořečnatý	7 mg
laktóza USP	193 mg

Příklad 25

Níže popsaným postupem se z následujících složek připraví injekční roztok.

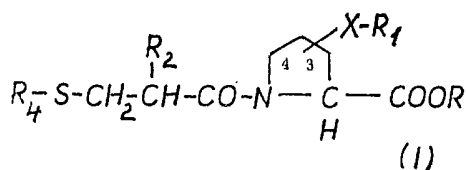
složka	množství
trans-4-methoxy-1-(D-3-merkapt-2-methyl-1-oxopropyl)-L-prolin	500 g
methylparaben	5 g
propylparaben	1 g
chlorid sodný	25 g
voda pro injekce	doplnit do 1 litru

Účinná látka, ochranné látky a chlorid sodný se rozpustí ve 3 litrech vody pro injekce a roztok se doplní na objem 5 litrů. Roztok se zfiltruje přes sterilní filtr a asepticky se plní do předem vysterylizovaných lahviček, které se uzavřou vysterylizovanými gumovými uzávěry. Každá lahvička obsahuje 5 ml roztoku pro injekce o koncentraci 100 mg účinné látky v každém ml roztoku.

Obdobně jako v příkladech 21 až 25 je možno upravovat na lékové formy produkty ze všech příkladů provedení.

PŘEDMĚT VYNÁLEZU

Způsob výroby merkaptocylderivátů substituovaných prolinů, obecného vzorce I



ve kterém

skupina X-R₁ je navázána v poloze 3 nebo 4 prolinového kruhu,

X představuje kyslík nebo síru,

R znamená atom vodíku nebo alkylovou skupinu s 1 až 4 atomy uhlíku,

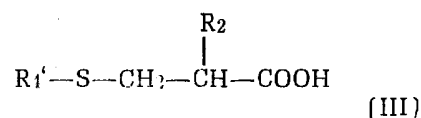
R₁ představuje alkylovou skupinu s 1 až 4 atomy uhlíku nebo fenylovou skupinu, popřípadě substituovanou atomem halogenu, methylovou skupinou nebo methoxyskupinou,

R₂ znamená atom vodíku nebo alkylovou skupinu s 1 až 7 atomy uhlíku a

R₄ představuje atom vodíku alkanoylovou skupinu s 1 až 4 atomy uhlíku nebo benzoylovou skupinu, a jejich soli s bázemi, vyznačující se tím, že se prolinový derivát obecného vzorce II

ve kterém

R, R₁ a X mají shora uvedený význam, kondenzuje s kyselinou obecného vzorce III



ve kterém

R₂ má shora uvedený význam a

R₄' znamená alkanoylovou skupinu s 1 až 4 atomy uhlíku nebo benzoylovou skupinu, přičemž tato kondenzace se provádí v přítomnosti kondenzačního činidla, jako dicyklohexylkarbodiimidu, nebo za použití aktivované formy kyseliny obecného vzorce III, jako anhydridu či halogenidu této kyseliny, vzniklý produkt obecného vzorce I, v němž R₁ znamená alkanoylovou skupinu s 1 až 4 atomy uhlíku nebo benzoylovou skupinu a zbývající obecné symboly mají shora uvedený význam, se popřípadě hydrolyzuje na odpovídající produkt obecného vzorce I, v němž R₄ znamená atom vodíku a zbývající obecné symboly mají shora uvedený význam, a výsledný produkt se popřípadě převede na svoji sůl s bází.

