



Patentdirektoratet
TAASTRUP

(21) Patentansøgning nr.: 0974/85

(51) Int.Cl.5 C 07 C 279/12

(22) Indleveringsdag: 01 mar 1985

(41) Alm. tilgængelig: 03 sep 1985

(44) Fremlagt: 31 aug 1992

(86) International ansøgning nr.: -

(30) Prioritet: 02 mar 1984 JP 59/38615

(71) Ansøger: *Microbial Chemistry Research Foundation; 14-23, Kamiosaki 3-chome; Shinagawa-ku; Tokyo 141, JP

(72) Opfinder: Hamao *Umezawa; JP, Tomio *Takeuchi; JP, Rinzo *Nishizawa; JP, Katsutoshi *Takahashi; JP, Teruya *Nakamura; JP, Yoshihisa *Umeda; JP

(74) Fuldmægtig: Budde, Schou & Co. A/S

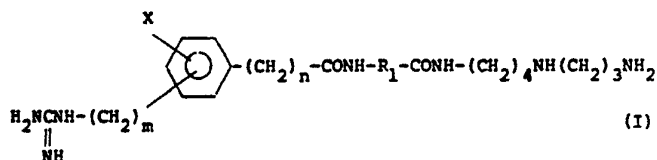
(54) Spergualin-beslægtede forbindelser med en phenylengruppe, fremgangsmåde til fremstilling deraf samt en farmaceutisk sammensætning

(56) Fremdragne publikationer

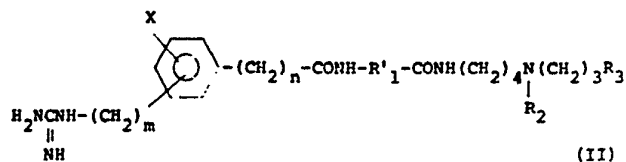
(57) Sammendrag:

974-85

Spergualinbeslægtede forbindelser med formlen



hvor R_1 betyder en ligekædet eller forgrenet C_{1-4} -alkylen-gruppe, der kan være substitueret en eller flere gange med en hydroxymethylgruppe, X betyder hydrogen eller halogen, m og n er ens eller forskellige og hver især betyder 0 eller et helt tal fra 1 til 5, samt fysiologisk acceptable salte deraf, kan fremstilles ved på gængs måde af fjerne beskyttelsesgrupperne fra en forbindelse med formlen



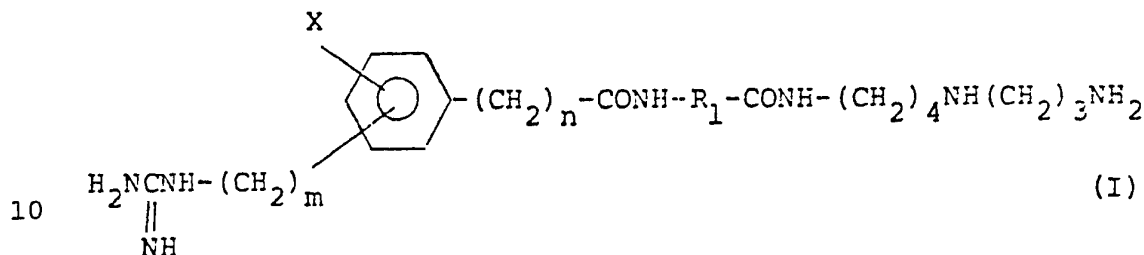
fortsættes

hvor R_1' betyder en ligekædet eller forgrenet C_{1-4} -alkylen-gruppe, der kan være substitueret en eller flere gange med en hydroxymethylgruppe, hvis hydroxylgrupper kan være beskyttet, R_2 betyder en aminobeskyttende gruppe og R_3 betyder en beskyttet aminogruppe.

Forbindelserne med formlen (I) har anti-tumoraktivitet og er derfor anvendelige som lægemidler.

Den foreliggende opfindelse angår hidtil ukendte spergualin-beslægtede forbindelser, en fremgangsmåde til fremstilling deraf samt en farmaceutisk sammensætning.

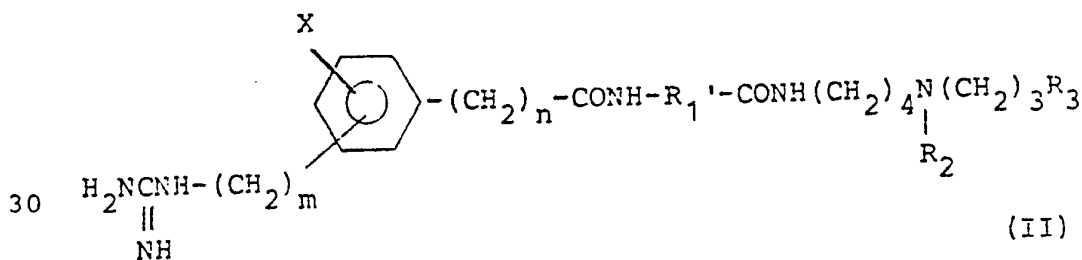
Opfindelsen angår spergualin-beslægtede forbindelser, som er ejendommelige ved, at de har formlen



hvor R_1 betyder en ligekædet eller forgrenet C_{1-4} -alkylen-gruppe, der eventuelt er substitueret en eller flere gange med en hydroxymethylgruppe, X betyder et hydrogenatom eller et halogenatom, m og n er ens eller forskellige og betyder hver især 0 eller et helt tal fra 1 til 5, samt fysiologisk acceptable salte deraf.

Opfindelsen angår endvidere en farmaceutisk sammensætning, som er ejendommelig ved det i den kendetegnende del af krav 7 angivne.

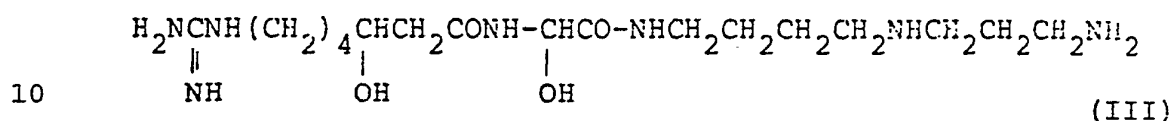
Endelig angår opfindelsen en fremgangsmåde til fremstilling af forbindelserne med formlen (I) samt fysiologisk acceptable salte deraf, og denne fremgangsmåde er ejendommelig ved, at beskyttelsesgrupperne på gængs måde fjernes fra en forbindelse med formlen



hvor R_1' betyder en ligekædet eller forgrenet C_{1-4} -alkylen-gruppe, der eventuelt er substitueret en eller flere gange med en hydroxymethylgruppe, hvis hydroxylgrupper eventuelt er beskyttet, R_2 betyder en aminobeskyttende gruppe, R_3 betyder en beskyttet aminogruppe, og X, m og n har de ovenfor

anførte betydnings, og om ønsket omdanner en forbindelse med den almene formel I til et fysiologisk acceptabelt salt deraf.

5 Spergualin er en forbindelse, der er isoleret fra et filtrat af en kultur af en spergualin-frembringende mikroorganisme fra Bacillus-slægten. Den følgende formel viser spergualins struktur:



Spergualin er i stand til at inhibere væksten af gram-positive og gramnegative mikroorganismer. Spergualin har vist sig at have betydelige terapeutiske og livsforlængende virkninger ved forsøg på at helbrede museleukæmi L-1210, museleukæmi EL-4 og Ehrlich's carcinoma 180 (S-180). Spergualin be-
 15 trages derfor som et lovende anti-tumormiddel (jfr. japansk patentansøgning LOP nr. 48957/1982).

Ifølge Umezawa et al. har det desuden vist sig, at spergualin-derivater, såsom acylerede forbindelser i 15-stilling, har lignende virkninger (jfr. japansk patentansøgning LOP nr. 185254/1982 og 62152/1983).

Spergualin og kendte derivater deraf er imidlertid u-stabile i vandig opløsning.

25 Der har derfor været gennemført forskellige undersøgelser for at finde spergualin-beslægtede forbindelser, der er stabile og bevarer deres høje aktivitet i vandige opløsninger. Som et resultat heraf, har det vist sig, at forbindelserne med formlen (I) har en højere stabilitet end spergualin, samtidig med at de har bevaret deres høje aktivitet
 30 over for museleukæmi, jvf. forsøgsresultaterne side 20-21. Yderligere har forbindelserne med formlen (I) en relativt lav toksicitet og betragtes derfor som værende anvendelige som lægemidler, såsom til behandling af cancer.

35 R^1 i forbindelsen (I) betyder fortrinsvis metylen, ethylen, propylen, hydroxymethylmetylen, 1-hydroxymethyl-

0

ethylen, 2-hydroxymethylethylen, 1,2-di(hydroxymethyl)ethy-
 len, 1-hydroxymethylpropylen, 2-hydroxymethylpropylen, 3-hy-
 droxymethylpropylen, 1,2-di(hydroxymethyl)propylen, 1,3-di-
 (hydroxymethyl)propylen, 2,3-di(hydroxymethyl)propylen eller
 5 1,2,3-tri(hydroxymethyl)propylen. Såfremt X er et halogen-
 atom, kan det betyde chlor, brom, fluor eller iod.

Methylengrupperne i formlen (I) kan være i ortho-,
 meta- eller para-stilling i forhold til hinanden.

I det følgende er anført en række specifikke eksemp-
 10 ler på spergualin-beslægtede forbindelser med formlen (I),
 hvor GP, GMP, GPro og TAD er forkortelserne for henholdsvis
 "guanidinophenyl", "guanidinomethylphenyl", "guanidinopro-
 pyl" og "triazadecan":

10-{N-[4-(3-GP)butanoyl]glycyl}-1,5,10-TAD
 15 10-{N-[4-(3-GP)butanoyl]-L-seryl}-1,5,10-TAD
 10-{N-[4-(4-GP)butanoyl]glycyl}-1,5,10-TAD
 10-{N-[4-(4-GP)butanoyl]-L-seryl}-1,5,10-TAD
 10-{N-[4-(4-GP)butanoyl]-β-alanyl}-1,5,10-TAD
 10-{N-[4-(4-GP)butanoyl]-γ-aminobutanoyl}-1,5,10-TAD
 20 10-{N-[4-(2-chlor-4-GP)butanoyl]glycyl}-1,5,10-TAD
 10-{N-[4-(2-chlor-4-GP)butanoyl]-L-seryl}-1,5,10-TAD
 10-{N-[4-(2-chlor-4-GP)butanoyl]-β-alanyl}-1,5,10-TAD
 10-{N-[4-(2-chlor-4-GP)butanoyl]-γ-aminobutanoyl}-1,5,10-TAD
 10-{N-[4-(3-chlor-4-GP)butanoyl]glycyl}-1,5,10-TAD
 25 10-{N-[4-(3-chlor-4-GP)butanoyl]-L-seryl}-1,5,10-TAD
 10-{N-[4-(3-chlor-4-GP)butanoyl]-β-alanyl}-1,5,10-TAD
 10-{N-[4-(3-chlor-4-GP)butanoyl]-γ-aminobutanoyl}-1,5,10-TAD
 10-{N-[3-(2-fluor-4-GP)butanoyl]glycyl}-1,5,10-TAD
 10-{N-[4-(2-fluor-4-GP)butanoyl]-L-seryl}-1,5,10-TAD
 30 10-{N-[4-(3-fluor-4-GP)butanoyl]glycyl}-1,5,10-TAD
 10-{N-[4-(3-fluor-4-GP)butanoyl]-L-seryl}-1,5,10-TAD
 10-{N-[5-(3-GP)pentanoyl]glycyl}-1,5,10-TAD
 10-{N-[5-(3-GP)pentanoyl]-L-seryl}-1,5,10-TAD
 10-{N-[5-(4-GP)pentanoyl]glycyl}-1,5,10-TAD
 35 10-{N-[5-(4-GP)pentanoyl]-L-seryl}-1,5,10-TAD
 10-{N-[5-(2-chlor-4-GP)pentanoyl]glycyl}-1,5,10-TAD

0 10-{N-[5-(2-chlor-4-GP)pentanoyl]-L-seryl}-1,5,10-TAD
 10-{N-[5-(3-chlor-4-GP)pentanoyl]glycyl}-1,5,10-TAD
 10-{N-[5-(3-chlor-4-GP)pentanoyl]-L-seryl}-1,5,10-TAD
 10-{N-[6-(4-GP)hexanoyl]glycyl}-1,5,10-triazadecan
 5 10-{N-[6-(4-GP)hexanoyl]-L-seryl}-1,5,10-TAD
 10-{N-[6-(2-chlor-4-GP)hexanoyl]glycyl}-1,5,10-TAD
 10-{N-[6-(2-chlor-4-GP)hexanoyl]-L-seryl}-1,5,10-TAD
 10-{N-[6-(3-chlor-4-GP)hexanoyl]glycyl}-1,5,10-TAD
 10-{N-[6-(3-chlor-4-GP)hexanoyl]-L-seryl}-1,5,10-TAD
 10 10-{N-[3-(3-GMP)propanoyl]glycyl}-1,5,10-TAD
 10-{N-[3-(3-GMP)propanoyl]-L-seryl}-1,5,10-TAD
 10-{N-[3-(4-GMP)propanoyl]-glycyl}-1,5,10-TAD
 10-{N-[3-(4-GMP)propanoyl]-L-seryl}-1,5,10-TAD
 10-{N-[3-(2-chlor-4-GMP)propanoyl]glycyl}-1,5,10-TAD
 15 10-{N-[3-(2-chlor-4-GMP)propanoyl]-L-seryl}-1,5,10-TAD
 10-{N-[3-(3-chlor-4-GMP)propanoyl]glycyl}-1,5,10-TAD
 10-{N-[3-(3-chlor-4-GMP)propanoyl]-L-seryl}-1,5,10-TAD
 10-{N-[4-(4-GMP)butanoyl]glycyl}-1,5,10-TAD
 10-{N-[4-(4-GMP)butanoyl]-L-seryl}-1,5,10-TAD
 20 10-{N-[4-(2-chlor-4-GMP)butanoyl]glycyl}-1,5,10-TAD
 10-{N-[4-(2-chlor-4-GMP)butanoyl]-L-seryl}-1,5,10-TAD
 10-{N-[4-(3-chlor-4-GMP)butanoyl]glycyl}-1,5,10-TAD
 10-{N-[4-(3-chlor-4-GMP)butanoyl]-L-seryl}-1,5,10-TAD
 10-{N-[5-(2-GMP)pentanoyl]glycyl}-1,5,10-TAD
 25 10-{N-[5-(2-GMP)pentanoyl]-L-seryl}-1,5,10-TAD
 10-{N-[5-(4-GMP)pentanoyl]glycyl}-1,5,10-TAD
 10-{N-[5-(4-GMP)pentanoyl]-L-seryl}-1,5,10-TAD
 10-{N-[5-(2-chlor-4-GMP)pentanoyl]-glycyl}-1,5,10-TAD
 10-{N-[5-(2-chlor-4-GMP)pentanoyl]-L-seryl}-1,5,10-TAD
 30 10-{N-[5-(3-chlor-4-GMP)pentanoyl]glycyl}-1,5,10-TAD
 10-{N-[5-(3-chlor-4-GMP)pentanoyl]-L-seryl}-1,5,10-TAD
 10-{N-[3-(3-GPro)benzoyl]glycyl}-1,5,10-TAD
 10-{N-[3-(3-GPro)benzoyl]-L-seryl}-1,5,10-TAD
 10-{N-[4-(3-GPro)benzoyl]glycyl}-1,5,10-TAD
 35 10-{N-[4-(3-GPro)benzoyl]-L-seryl}-1,5,10-TAD
 10-{N-[2-chlor-4-(3-GPro)benzoyl]glycyl}-1,5,10-TAD

- 0 10-{N-[2-chlor-4-(3-GPro)benzoyl]-L-seryl}-1,5,10-TAD
 10-{N-[3-chlor-4-(3-GPro)benzoyl]glycyl}-1,5,10-TAD
 10-{N-[3-chlor-4-(3-GPro)benzoyl]-L-seryl}-1,5,10-TAD
 10-{N-[3-(4-(3-GPro)phenyl)propanoyl]glycyl}-1,5,10-TAD
 5 10-{N-[3-(4-(3-GPro)phenyl)propanoyl]-L-seryl}-1,5,10-TAD
 10-{N-[3-(2-chlor-4-(3-GPro)phenyl)propanoyl]glycyl}-1,5,10-
 -TAD
 10-{N-[3-(2-chlor-4-(3-GPro)phenyl)propanoyl]-L-seryl}-
 -1,5,10-TAD
 10 10-{N-[3-(3-chlor-4-(3-GPro)phenyl)propanoyl]glycyl}-1,5,10-
 -TAD
 10-{N-[3-(3-chlor-4-(3-GPro)phenyl)propanoyl]-L-seryl}-
 -1,5,10-TAD.

Spergualin-forbindelserne med formlen (I) danner sal-
 15 te med syrer. De saltdannende syrer kan være uorganiske el-
 ler organiske, når blot de er ikke-toksiske. Der kan anven-
 des vilkårlige ikke-toksiske uorganiske syrer, men der fo-
 retrækkes saltsyre, svovlsyre, salpetersyre og phosphorsyre.
 Selv om der ikke er nogen særlig begrænsning med hensyn til
 20 de anvendte organiske syrer, foretrækkes der eddikesyre, pro-
 pionsyre, ravsyre, fumarsyre, maleinsyre, æblesyre, vinsyre, glu-
 tarsyre, citronsyre, benzensulfonsyre, toluensulfonsyre, me-
 thansulfonsyre, ethansulfonsyre, propansulfonsyre, asparagin-
 syre og glutaminsyre.

25 De spergualin-beslægtede forbindelser med formlen (I)
 ifølge opfindelsen kan fremstilles ud fra beskyttede spergua-
 lin-beslægtede forbindelser med formlen (II) ved at fjerne
 beskyttelsesgrupperne på kendt måde.

Symbolerne X, m og n i formlen (II) i udgangsforbin-
 30 delsen har samme betydninger som anført i forbindelse med
 forbindelserne med formlen (I). Symbolet R_1 betyder en C_{1-4} -
 -alkylengruppe, der som substituent kan have en hydroxyme-
 thylgruppe, og om nødvendigt, kan hydroxylgruppen være be-
 skyttet med en gængs beskyttelsesgruppe. Der kan anvendes
 35 vilkårlige kendte beskyttelsesgrupper, jfr. f.eks. "Protein
 Chemistry I: Amino acids and peptides", udgivet af Shiro

0 Akabori, Takeo Kaneko og Kozo Narita, Kyoritsu Shuppan, 1969;
"Peptide Synthesis", udgivet af Nobuo Izumiya, Maruzen, 1975;
E. Schröder og K. Lubke: "The Peptides", Academic Press, New
York, 1965; E. Wüsch: "Methoden der Organischen Chemie (Hou-
5 ben, Weyl), Synthese von Peptiden", Georg Thieme Verlag
Stuttgart, 1974 og M. Bodanszky og M.A. Ondetti: "Peptide
Synthesis", Interscience Publishers, New York, 1976. Der
kan anvendes vilkårlige kendte aminobeskyttelsesgrupper som
substituenten R_2 og som beskyttelsesgruppen på aminogruppen
10 R_3 . Gruppen R_2 og den gruppe, der beskytter aminogruppen R_3 ,
kan være ens eller forskellige. Forskellige grupper kan an-
vendes i passende kombinationer. For at sikre håndteringen
foretrækkes det imidlertid, at de to grupper er ens. Eksemp-
ler på amino- eller hydroxy-beskyttelsesgrupper er en even-
15 tuelt substitueret C_{1-5} -alkanoylgruppe, en phenyl-mono- eller
dicarbonylgruppe, en eventuelt substitueret C_{1-5} -alkylgruppe,
en eventuelt substitueret phenylthio- eller C_{1-3} -alkylthio-
gruppe og en eventuelt substitueret phenylsulfonylgruppe. Ek-
sempler på substituenten på disse gruppers alkyl- eller alk-
20 oxygruppe er et halogenatom, en nitrogruppe og en substitu-
ret eller usubstitueret phenylgruppe. Eksempler på substitu-
enter på phenylgruppe er et halogenatom, en nitrogruppe, en
 C_{1-3} -alkoxygruppe, en C_{1-3} -alkylgruppe og en eventuelt sub-
stitueret phenylazogruppe. Den specifikke fremgangsmåde til
25 fjernelse af beskyttelsesgrupperne fra de beskyttede sper-
gualinbeslægtede forbindelser med formlen (II) varierer med
den anvendte type beskyttelsesgruppe, men der kan anvendes en
vilkaarlig kendt metode (jfr. f.eks. de ovenfor anførte refe-
rencer).

30 Beskyttelsesgrupperne kan fjernes ved temperaturer,
der ikke overstiger det anvendte opløsningsmiddels koge-
punkt, og de varierer med typen af beskyttelsesgrupper el-
ler typen af opløsningsmiddel. Temperaturen ligger alminde-
ligevis i området fra -50°C til 150°C , fortrinsvis i områ-
35 det fra -40°C til 120°C . Egnede opløsningsmidler kan være
uorganiske eller organiske. Eksempler på uorganiske opløs-

0

ningsmidler er vand, flydende ammoniak og flydende hydrogenfluorid. Eksempler på organiske opløsningsmidler er vandige opløsningsmidler, såsom C₁₋₄-alkoholer, eddikesyre, dimethylformamid og dioxan såvel som lavere alkylestere af eddikesyre. Disse opløsningsmidler kan anvendes i blandinger, om nødvendigt.

5

Afhængende af typen af beskyttelsesgrupper, der skal fjernes, bør den rigtige metode vælges blandt reduktion (f.eks. katalytisk reduktion eller reduktion med et alkalimetal og ammoniak), hydrolyse, syresønderdeling og hydrazinsønderdeling. I den følgende tabel I er anført foretrukne beskyttelsesgrupper og foretrukne metoder til deres fjernelse.

10

I tabel I indikerer symbolet "+", om en specifik beskyttelsesgruppe kan fjernes, og en fremgangsmåde mærket "+" skal anvendes til fjernelse af beskyttelsesgruppen. Symbolet "-" indikerer, at en specifik beskyttelsesgruppe ikke kan fjernes med fremgangsmåden mærket "-". Symbolet "±" viser, at en specifik beskyttelsesgruppe fjernes eller sønderdeles delvis, og fremgangsmåden mærket med dette symbol er ikke særlig egnet til fjernelse af den specielle beskyttelsesgruppe.

15

20

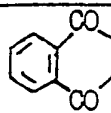
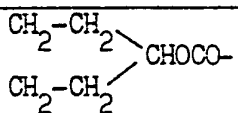
De beskyttelsesgrupper, der kan anvendes i den foreliggende opfindelse, er ikke begrænset til de i tabel I anførte, og der kan anvendes en vilkårlig af de grupper, der er nævnt i de ovenfor anførte referencer vedrørende peptidkemi.

25

30

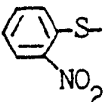
35

Tabel I

	Beskyttelsesgrup- pefjerner	H ₂ /Pd	Na/NH ₃	HBr/AcOH	HCl	AcOH
5	Opløsningsmiddel	lavere alko- hold, dimethyl- formamid, eddikesyre	flydende ammoniak	eddike- syre	ethylace- tat, lave- re alko- hol, eddi- syre, di- oxan	eddike- syre
	Temperatur	ST ~ 50°C	< -30°C	0 ~ 50°C	0°C ~ ST	0°C ~ kp.
10	Tryk	atm. til 100 kg/cm ²	atm.	atm.	atm.	atm.
	C ₆ H ₅ CH ₂ OCO-	+	+	+	±	-
15	C(CH ₃) ₃ OCO-	-	-	+	+	±
	(C ₆ H ₅) ₃ C-	+	+	±	+	+
	CH ₃ -  -SO ₂ -	-	+	-	-	-
20	HCO-	-	-	-	+	-
		-	±	-	-	-
25	CF ₃ CO-	-	±	-	±	-
	CH ₃ O-  -CH ₂ OCO-	+	+	+	+	-
	R-  -CH ₂ OCO-	+	+	+	+	-
30	C ₆ H ₅ CH ₂ -	+	+	-	-	-
		-		+	-	
35	(C ₆ H ₅) ₂ CHOCO-	+	+	+	+	

0

Tabel I (fortsat)

	Beskyttelsesgrup- pefjerner	H ₂ /Pd	Na/NH ₃	HBr/AcOH	HCl	AcOH
5	Opløsningsmiddel	lavere alko- hol, dimethyl- formamid, eddikesyre	flydende ammoniak	eddike- syre	ethylace- tat, lave- re alko- hol, eddike- syre, di- oxan	eddike- syre
10				+	+	
	(C ₆ H ₅) ₃ C-S-				+	
15	(CH ₃) ₂ CHOCO-	-	-	±	-	

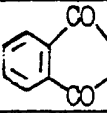
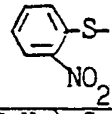
20

25

30

35

Tabel I (fortsat)

	Beskyttelses- gruppelfjerner	CF_3COOH	NH_2NH_2	NaOH	NH_4OH	Flyd. HF	$\text{CF}_3\text{SO}_3\text{H}$
5	Opløsningsmid- del	trifluored- dikesyre	lavere alkohol	vand, lavere alkohol	vand, lave- re alko- hol	flydende hydrogen- fluorid	trifluor eddike- syre, anisol
	Temperatur	0°C ~ ST	ST ~ kp.	0 ~ 50°C	0 ~ 50°C	< 20°C	ST
	Tryk	atm.	atm.	atm.	atm.	atm.	atm.
10	$\text{C}_6\text{H}_5\text{CH}_2\text{OCO}-$	±	-	-	-	+	+
	$\text{C}(\text{CH}_3)_3\text{OCO}-$	+	-	-	-	+	+
	$(\text{C}_6\text{H}_5)_3\text{C}-$	+	-	-	-		
15	$\text{CH}_3-\text{C}_6\text{H}_4-\text{SO}_2-$	-	-	-	-	-	±
	$\text{HCO}-$	-	-	-	-	-	
20		-	+	±	±	-	-
	$\text{CF}_3\text{CO}-$	-	±	+	+	-	-
	$\text{CH}_3\text{O}-\text{C}_6\text{H}_4-\text{CH}_2\text{OCO}-$	+	-	-	-		+
25	$\text{R}-\text{C}_6\text{H}_4-\text{CH}_2\text{OCO}-$	-	-	-	-		
	$\text{C}_6\text{H}_5\text{CH}_2-$	-	-	-	-		
	$\begin{array}{l} \text{CH}_2-\text{CH}_2 \\ \quad \quad \quad \diagup \\ \quad \quad \quad \text{CHOCO-} \\ \quad \quad \quad \diagdown \\ \text{CH}_2-\text{CH}_2 \end{array}$	-	-			+	
30	$(\text{C}_6\text{H}_5)_2\text{CHOCO}-$	+		-			
		+					+
35	$(\text{C}_6\text{H}_5)_3\text{C-S-}$						
	$(\text{CH}_3)_2\text{CHOCO}-$	-		-		+	

0

Tabel I (fortsat)

Fork.	H_2/Pd	Na/NH_3	$HBr/AcOH$	HCl	$AcOH$	
	Beskyttelses- gruppefjerner	H_2 i nærvær af Pd	metallisk Na	hydrogen- bromid	hydrogen- chlorid	eddike- syre
5	Opløsningsmid- del	lavere al- kohol, di- methylform- amid, eddi- kesyre	flydende ammoniak	eddikesy- re	ethylace- tat, lave- re alkohol, eddikesyre, dioxan	eddike- syre
	Temperatur	$ST \sim 50^\circ C$	$< -30^\circ C$	$0 \sim 50^\circ C$	$0^\circ C \sim ST$	$0^\circ C \sim kp.$
10	Tryk	atm. $\sim$ 100 kg/cm^2	atm.	atm.	atm.	atm.
	CH_3CO-	-		-	-	
15	C_6H_5CO- (phenolisk)	-				
	$(CH_3)_3C-$	-	-	+	+	
20	$CH_3CH_2CH_2-$	+	+	$\pm$	-	-
	$CH_3-\text{C}_6\text{H}_4-\text{SO}_2$ (phenolisk)	-	+	-	-	-
		-			+	+
25	$C_6H_5CH_2OCO-$ (phenolisk)	+	+	+		
	$(C_6H_5)_3C-$	+		+	+	

30

35

0

Tabel I (fortsat)

	Fork.	CF_3COOH	NH_2NH_2	NaOH	NH_4OH	flyd. HF	CF_3SO_3
5	Beskyttelses- gruppefjerner	trifluor- eddikesy- re	hydra- zin	natrium- hydroxid	ammoni- ak	flydende hydrogen- fluorid	trifluor- methan- sulfon- syre
	Opløsnings- middel	trifluor- eddikesy- re	lavere alkohol	vand, la- vere al- kohol	vand, lavere alkohol	flyd. hy- drogen- fluorid	trifluor- eddikesy- re, anisol
10	Temperatur	$0^\circ\text{C} \sim \text{ST}$	$\text{ST} \sim \text{kp.}$	$0 \sim 50^\circ\text{C}$	$0 \sim 50^\circ\text{C}$	$\leq 20^\circ\text{C}$	ST
	Tryk	atm.	atm.	atm.	atm.	atm.	atm.
	$\text{CH}_3\text{CO}-$	-	+	+	+	-	-
15	$\text{C}_6\text{H}_5\text{CO}-$ (phenolisk)			+			
	$(\text{CH}_3)_3\text{C}-$	+	-	-		+	+
20	$\text{CH}_6\text{H}_5\text{CH}_2-$	-	-	-	-	+	+
	$\text{CH}_3-\text{C}_6\text{H}_4-\text{SO}_2$ (phenolisk)	-					
25				-			+
	$\text{C}_6\text{H}_5\text{CH}_2\text{OCO}-$ (phenolisk)	+		+			+

30

35

0

Fremgangsmåden til isolering af de spergualin-beslægtede forbindelser med formlen (I) fra reaktionsblandingen, der er befriet for beskyttelsesgrupperne, varierer med den specifikke metode til fjernelse af beskyttelsesgrupperne.

5

Såfremt beskyttelsesgrupperne er fjernet ved katalytisk reduktion med palladiumsort, kan den spergualin-beslægtede forbindelse isoleres ved en fremgangsmåde, der omfatter frafiltrering af katalysatoren, koncentrerung af filtratet under formindsket tryk og rensning af remanensen ved kendt metode under anvendelse af "CM-Cephadex" (Na^+) og "Cephadex" LH-20 (jfr. T. Takeuchi et al., J. Antibiotics, 34, 1619 (1981)). Såfremt beskyttelsesgrupperne er fjernet med trifluoreddikesyre, består isoleringen i koncentrerung af reaktionsblandingen under formindsket tryk og rensning af remanensen på

10

kendt måde som vist ovenfor.

15

Ved at anvende en af de ovenfor viste rensningsmetoder fås de spergualin-beslægtede forbindelser med formlen (I) som hydrochlorider. Såfremt der ønskes andre saltformer, kan der anvendes følgende fremgangsmåde: hydrochloridet opløses i vand, den resulterende vandige opløsning passerer gennem en stærk basisk ionbytterharpiks, de fraktioner, der indeholder slutforbindelsen, forenes, den tilsvarende syre, en vandig opløsning indeholdende denne eller dens opløsning i et hydrofilt organisk opløsningsmiddel, såsom methanol, ethanol, acetone, tetrahydrofuran eller dioxan, og den neutraliserede opløsning inddampes til tørhed under formindsket tryk. Eventuelt resterende organisk opløsningsmiddel bortdestilleres under formindsket tryk, og remanensen frysetørres. Alternativt sættes en vandig opløsning af sølvhydroxid eller sølvoxid til hydrochloridsaltet af forbindelsen med formlen (I) til neutralisering af hydrochloridsyren, og efter frafiltrering af uopløseligt sølvchlorid, tilsættes en tilsvarende syre til dannelse af et salt, der derefter frysetørres.

20

25

30

Typiske eksempler på beskyttede spergualin-beslægtede forbindelser med formlen (II) er anført i det følgende,

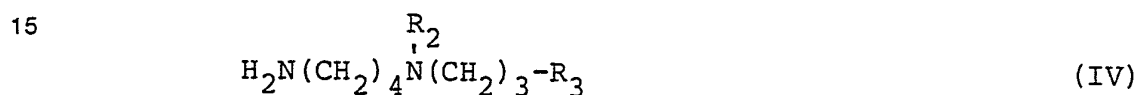
35

- 0 diZ og diBOC er forkortelserne for henholdsvis "dibenzyloxy-carbonyl" og "di-tert.butoxycarbonyl":
- 10-{N-[4-(3-GP)butanoyl]glycyl}-1,5-diZ-1,5,10-TAD
- 10-{N-[4-(3-GP)butanoyl]glycyl}-1,5-diBOC-1,5,10-TAD
- 5 10-{N-[4-(3-GP)butanoyl]-O-benzyl-L-seryl}-1,5-diZ-1,5,10-TAD
- 10-{N-[4-(3-GP)butanoyl]-O-tert.butyl-L-seryl}-1,5-diBOC-1,5,10-TAD
- 10-{N-[4-(4-GP)butanoyl]glycyl}-1,5-diZ-1,5,10-TAD
- 10-{N-[4-(4-GP)butanoyl]glycyl}-1,5-diBOC-1,5,10-TAD
- 10 10-{N-[4-(4-GP)butanoyl]-O-benzyl-L-seryl}-1,5-diZ-1,5,10-TAD
- 10-{N-[4-(4-GP)butanoyl]-O-tert.butyl-L-seryl}-1,5-diBOC-1,5,10-TAD
- 10-{N-[4-(4-GP)butanoyl]-β-alanyl}-1,5-diZ-1,5,10-TAD
- 10-{N-[4-(4-GP)butanoyl]-γ-aminobutanoyl}-1,5-diZ-1,5,10-TAD
- 15 10-{N-[4-(2-chlor-4-GP)butanoyl]glycyl}-1,5-diZ-1,5,10-TAD
- 10-{N-[4-(2-chlor-4-GP)butanoyl]-O-benzyl-L-seryl}-1,5-diZ-1,5,10-TAD
- 10-{N-[4-(2-chlor-4-GP)butanoyl]-γ-aminobutanoyl}-1,5-diZ-1,5,10-TAD
- 20 10-{N-[4-(3-chlor-4-GP)butanoyl]-glycyl}-1,5-diZ-1,5,10-TAD
- 10-{N-[4-(3-chlor-4-GP)butanoyl]-O-benzyl-L-seryl}-1,5-diZ-1,5,10-TAD
- 10-{N-[4-(3-chlor-4-GP)butanoyl]-β-alanyl}-1,5-diZ-1,5,10-TAD
- 10-{N-[4-(2-fluor-4-GP)butanoyl]-glycyl}-1,5-diZ-1,5,10-TAD
- 25 10-{N-[4-(2-fluor-4-GP)butanoyl]-O-benzyl-L-seryl}-1,5-diZ-1,5,10-TAD
- 10-{N-[4-(3-fluor-4-GP)butanoyl]-glycyl}-1,5-diZ-1,5,10-TAD
- 10-{N-[4-(3-fluor-4-GP)butanoyl]-O-benzyl-L-seryl}-1,5-diZ-1,5,10-TAD
- 30 10-{N-[5-(4-GP)pentanoyl]-O-benzyl-L-seryl}-1,5-diZ-1,5,10-TAD
- 10-{N-[5-(2-chlor-4-GP)pentanoyl]glycyl}-1,5-diZ-1,5,10-TAD
- 10-{N-[5-(3-chlor-4-GP)pentanoyl]glycyl}-1,5-diZ-1,5,10-TAD
- 10-{N-[5-(3-chlor-4-GP)pentanoyl]-O-benzyl-L-seryl}-1,5-diZ-1,5,10-TAD
- 35 10-{N-[6-(4-GP)hexanoyl]glycyl}-1,5-diZ-1,5,10-TAD

0 10-{N-[6-(4-GP)hexanoyl]-O-benzyl-L-seryl}-1,5-diZ-1,5,10-TAD
 10-{N-[6-(3-chlor-4-GP)hexanoyl]-O-benzyl-L-seryl}-1,5-diZ-
 -1,5,10-TAD
 10-{N-[3-(3-GMP)propanoyl]-O-benzyl-L-seryl}-1,5-diZ-1,5,10-
 5 -TAD
 10-{N-[3-(4-GMP)propanoyl]-O-benzyl-L-seryl}-1,5-diZ-1,5,10-
 -TAD
 10-{N-[3-(2-chlor-4-GMP)propanoyl]-glycyl}-1,5-diZ-1,5,10-TAD
 10-{N-[3-(2-chlor-4-GMP)propanoyl]-O-benzyl-L-seryl}-1,5-diZ-
 10 -1,5,10-TAD
 10-{N-[3-(3-chlor-4-GMP)propanoyl]-glycyl}-1,5-diZ-1,5,10-TAD
 10-{N-[3-(3-chlor-4-GMP)propanoyl]-O-benzyl-L-seryl}-1,5-diZ-
 -1,5,10-TAD
 10-{N-[4-(4-GMP)butanoyl]-glycyl}-1,5-diZ-1,5,10-TAD
 15 10-{N-[4-(4-GMP)butanoyl]-O-benzyl-L-seryl}-1,5-diZ-1,5,10-TAD
 10-{N-[4-(3-chlor-4-GMP)butanoyl]-O-benzyl-L-seryl}-1,5-diZ-
 -1,5,10-TAD
 10-{N-[5-(2-GMP)pentanoyl]-O-benzyl-L-seryl}-1,5-diZ-1,5,10-
 -TAD
 20 10-{N-[5-(4-GMP)pentanoyl]-glycyl}-1,5-diZ-1,5,10-TAD
 10-{N-[5-(2-chlor-4-GMP)pentanoyl]-glycyl}-1,5-diZ-1,5,10-TAD
 10-{N-[5-(2-chlor-4-GMP)pentanoyl]-O-benzyl-L-seryl}-1,5-diZ-
 -1,5,10-TAD
 10-{N-[3-(3-GPro)benzoyl]-glycyl}-1,5-diZ-1,5,10-TAD
 25 10-{N-[3-(3-GPro)benzoyl]-glycyl}-O-benzyl-L-seryl}-diZ-1,5,10-
 -TAD
 10-{N-[4-(3-GPro)benzoyl]-glycyl}-1,5-diZ-1,5,10-TAD
 10-{N-[4-(3-(GPro)benzoyl)-O-benzyl-L-seryl]-1,5-diZ-1,5,10-TAD
 10-{N-[2-chlor-4-(3-GPro)benzoyl]-glycyl}-1,5-diZ-1,5,10-TAD
 30 10-{N-[2-chlor-4-(3-GPro)benzoyl]-O-benzyl-L-seryl}-1,5-diZ-
 -1,5,10-TAD
 10-{N-[3-(4-(3-GPro)phenyl)propanoyl]-glycyl}-1,5-diZ-1,5,10-
 -TAD
 10-{N-[3-(3-(4-GPro)phenyl)propanoyl]-O-benzyl-L-seryl}-1,5-
 35 -diZ-1,5,10-TAD

- 0 10-{N-[3-(2-chlor-4-(3-GPro)phenyl)propanoyl]glycyl}-1,5-
-diZ-1,5,10-TAD
10-{N-[3-(2-chlor-4-(3-GPro)phenyl)propanoyl]-O-benzyl-L-
-seryl}-1,5-diZ-1,5,10-TAD
5 10-{N-[3-(3-chlor-4-(3-GPro)phenyl)propanoyl]glycyl}-1,5-
-diZ-1,5,10-TAD
10-{N-[3-(3-chlor-4-(3-GPro)phenyl)propanoyl]-O-benzyl-L-
-seryl}-1,5-diZ-1,5,10-TAD.

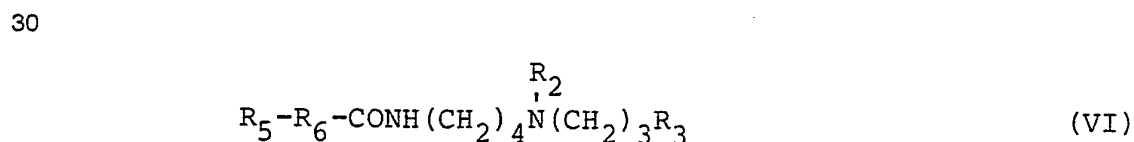
De beskyttede spergualin-beslægtede forbindelser med
10 formlen (II), der anvendes som udgangsforbindelse til frem-
stilling af slutforbindelsen ifølge opfindelsen, er hidtil
ukendte og kan fremstilles på følgende måde: først omsættes
et 1,5-di-beskyttet-1,5,10-TAD med formlen



hvor R_2 og R_3 har samme betydning som anført ovenfor, med
et reaktivt derivat af en N-beskyttet α -, β - eller γ -amino-
20 syre med formlen



hvor R_5 betyder en aminobeskyttelsesgruppe, der er forskel-
25 lig fra R_2 og aminobeskyttelsesgruppen i R_3 , R_6 betyder en
 α -, β - eller γ -aminoalkylgruppe, der kan have en hydroxyme-
thylgruppe som substituent, og hvor hydroxylgruppen eventu-
elt kan være beskyttet, til dannelsé af 10-(N-beskyttet ami-
noacyl)-1,5-di-beskyttet-1,5,10-TAD med formlen

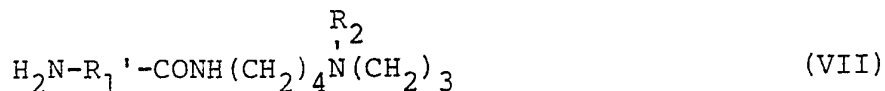


hvor R_2 , R_3 , R_5 og R_6 har samme betydning som anført ovenfor,
35 hvorefter beskyttelsesgruppen R_5 fjernes fra forbindelsen

0

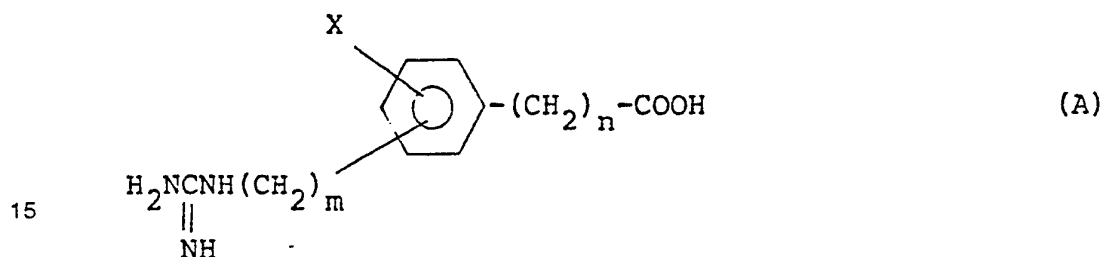
(VI) til dannelselse af 10-aminoacyl-1,5-di-beskyttet-1,5,10-TAD med formlen

5



hvor R_1' , R_2 og R_3 har samme betydning som anført ovenfor, og den fremkomne forbindelse omsættes med et reaktivt derivat af ω -guanidinosyren, der indeholder en phenylengruppe og er repræsenteret ved formlen

10



15

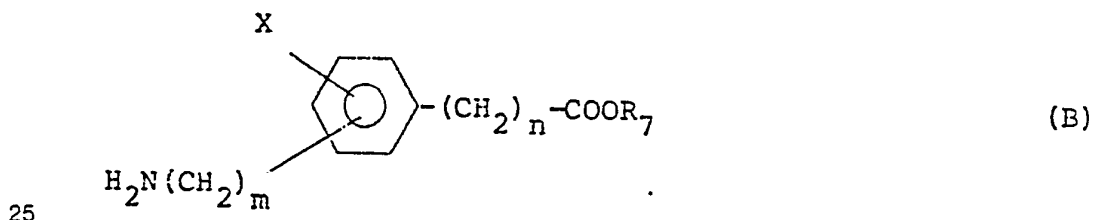
hvor m , n og X har samme betydning som anført ovenfor, hvorved den beskyttede spergualin-beslægtede forbindelse med formlen (II) syntetiseres.

20

Forbindelsen med formlen (VII) kan kondenseres med forbindelsen med formlen (A) ved en vilkårlig gængs metode, der anvendes til dannelsen af en peptidbinding. Som eksempler til illustrering heraf skal nævnes syrechloridmetoden, carbodiimidmetoden, ved hvilken der anvendes dicyclohexylcarbodiimid eller 1-ethyl-8-(3-dimethylaminopropyl)carbodiimid, azidmetoden, ved hvilken der anvendes hydrazid, blandet syreanhydridmetoden, ved hvilken der anvendes ethylchlorcarbonat eller isobutylchlorcarbonat, aktivestermethoden, ved hvilken der anvendes en cyanomethylester, vinyl-
 25 ester, substitueret eller usubstitueret phenylester, thio-phenylester eller hydroxyravsyreimidoester, o-acylhydroxylaminderivatmetoden, ved hvilken der anvendes acetoxim eller cyclohexanonoxim, og N-acylforbindelsemetoden, ved hvilken der anvendes carbonyldiimidazol. Kondensationsopløsnings-
 30 midlet kan være et vilkårligt gængs opløsningsmiddel, som

35

0 anvendes til peptidbinding. Eksempler på opløsningsmid-
 ler er ethere, såsom diethylether, tetrahydrofuran og di-
 oxan, ketoner, såsom acetone og methylethylketon, haloge-
 nerede carbonhydrider, såsom methylenchlorid og chloroform,
 5 amider, såsom dimethylformamid og dimethylacetamid, og ni-
 triler, såsom acetonitril. Eksempler på ω -guanidinosyre
 med formlen (A) er 4-(3- eller 4-GP)smørsyre, 4-(2- eller
 3-chlor-4-GP)smørsyre, 4-(2- eller 3-fluor-4-GP)smørsyre,
 5-(3- eller 4-GP)valeriansyre, 5-(2- eller 3-chlor-4-GP)-
 10 valeriansyre, 6-(2- eller 3-chlor- eller fluor-4-GP)capron-
 syre, 3-(3- eller 4-GMP)propionsyre, 3-(2- eller 3-chlor-
 eller fluor-4-GMP)propionsyre, 4-(3- eller 4-GMP)smørsyre,
 4-(2- eller 3-chlor- eller fluor-4-GMP)smørsyre, 5-(2-,
 3- eller 4-GMP)valeriansyre, 5-(2- eller 3-chlor- eller
 15 fluor-4-GMP)valeriansyre, 3- eller 4-(3-GPro)benzoesyre,
 2- eller 3-chlor- eller fluor-(3-GPro)benzoesyre, 3-[3-
 eller 4-(3-GPro)phenyl]propionsyre og 3-[2- eller 3-chlor-
 eller fluor-4-(3-GPro)phenyl]propionsyre. Disse ω -guanidi-
 nosyrer syntetiseres ved behandling af en ω -aminosyre med
 20 formlen



med et gængs guanidino-dannende middel til omdannelse af
 aminogruppen til en guanidinogruppe. Det resulterende pro-
 dukt hydrolyseres derefter, såfremt R_7 i formlen (B) bety-
 der en lavere alkylgruppe. Nogle af ω -aminosyrerne med
 30 formlen (B) er ligeledes hidtil ukendte forbindelser, og
 de kan syntetiseres ud fra forskellige udgangsforbindelser
 ved kombineret af kendte syntesemetoder.

I det følgende er anført en række eksempler på ud-
 gangsforsbindelser med formlen (VII):
 35 10-glycyl-1,5-diZ-1,5,10-TAD

0 10-glycyl-1,5-diBOC-1,5,10-TAD
10-(o-benzyl-L-seryl)-1,5-diZ-1,5,10-TAD
10-(o-tert.butyl-L-seryl)-1,5-diBOC-1,5,10-TAD
10- β -alanyl-1,5-diZ-1,5,10-TAD
5 10- β -alanyl-1,5-diBOC-1,5,10-TAD
10- γ -aminobutanoyl-1,5-diZ-1,5,10-TAD
10- γ -aminobutanoyl-1,5-diBOC-1,5,10-TAD.

Farmakologiske data:

10 Dataene for stabiliteten af forbindelserne ifølge opfindelsen i en vandig opløsning og for deres livsforlængende virkningsfuldhed over for museleukæmi L 1210 er vist i det følgende.

1. De her omhandlede forbindelsers stabilitet i vandig opløsning.

(1) Forsøgsmetode.

Alle forbindelserne ifølge opfindelsen opløses i vand til en koncentration på 0,5 (w/w)%. Den vandige opløsning opbevares ved 40 $\pm$ 1°C, og der udtages prøver med
20 nærmere angivne intervaller. Forbindelserne underkastes højtryksvæskechromatografi, og remanensen i procent beregnes for hver prøve ved at måle spidsarealforholdet.

(2) Forsøgsresultater.

25 Remanensen i procent for forbindelserne ifølge opfindelsen efter forløbet af et nærmere angivet tidsrum er vist i den følgende tabel II, hvor værdien for forsøgets begyndelse er angivet som 100%.

30

35

0

Tabel II

Remanens i procent for forbindelserne ifølge
opfindelsen i vandig opløsning

5	Forbindelse (eks. nr.)	Tid						
		0	12	24	48	72	120	168
10	1	100	99,8	99,6	99,8	99,5	99,6	99,5
	2	100	99,7	99,9	99,8	99,9	100	99,8
	3	100	99,6	99,5	99,8	99,6	99,6	99,8
	4	100	99,6	99,9	99,6	99,7	99,9	99,5
15	5	100	99,9	99,6	99,6	99,9	99,6	99,8
	6	100	99,5	99,8	99,7	99,7	99,5	100
	7	100	99,6	99,6	100	100	99,9	99,7
20	8	100	99,7	99,9	99,5	99,8	99,7	99,8
	9	100	99,8	99,8	99,7	100	99,5	99,6
	Spergualin	100	94,6	90,8	84,6	78,5	69,9	65,1

25 2. De her omhandlede forbindelsers evne til in vitro at
inhibere væksten af museleukæmi L 1210 celler.

(1) Forsøgsmetode.

Leukæmi L 1210 celler (1×10^5 /0,2 ml) transplan-
teres i bughulen på hunmus af stammen DBA/2. Fire dage se-
nere udtages der en prøve af den abdominale væskeophobning,
30 og denne centrifugeres, hvorved der fås de dyrkede L 1210
celler. Disse celler sættes til et RPMI 1640 substrat sup-
pleret med føtalt kvægserum og 2-mercaptoethanol. Substra-
tet fortyndes til dannelse af en suspension af L 1210 cel-
35 ler med en slutkoncentration på 5×10^4 celler/0,9 ml.

0

Forbindelserne ifølge opfindelsen opløses i det ovenfor anførte substrat, og der fremstilles en række opløsninger med slutkoncentrationer i området fra 0,062 til 100 µg/ml.

5

En portion (0,8 ml) af L 1210 cellesuspensionen blandes med 0,1 ml af forsøgsopløsningen i en petri-skål, og blandingen inkuberes i en CO₂-atmosfære i 48 timer ved 37°C. Celletallet bestemmes både før og efter inkuberingen, og der foretages en bestemmelse af koncentrationen til inhibering af væksten af L 1210 celler med 50% af kontrollen (IC₅₀).

10

(2) Måleresultater.

I den følgende tabel III er vist evnen hos typiske eksempler på forbindelserne ifølge opfindelsen til at inhibere væksten af museleukæmi L 1210 celler udtrykt som IC₅₀.

15

Tabel III

Inhibering af væksten in vitro af museleukæmi L 1210 celler med forbindelserne ifølge opfindelsen

20

Forbindelse (eks. nr.)	IC ₅₀ (µg/ml)
4	1,1
7	0,92
8	0,97

25

3. De her omhandlede forbindelsers livsforlængende virkning over for museleukæmi L 1210 samt deres toksicitet.

30

(1) Forsøgsmetode.

35

Leukæmiceller L 1210 (1 x 10⁵ celler/0,2 ml) transplanteres i bughulen på hunmus af stammen CDF 1-SLC (6 mus pr. gruppe). To forbindelser ifølge opfindelsen fortyndes

0

hver især med fysiologisk saltvand i forskellige koncentrationer, og idet forsøget indledes dagen efter transplantationen, indgives hver fortynding til musene i ni på hinanden følgende dage i en mængde på 0,1 ml/10 g legemsvægt/dag. Kontrolgruppen indgives kun fysiologisk saltvand.

5

Observationen af musene påbegyndes dagen efter transplantationen af L 1210 celler, og musene iagttages i 30 dage. Gennemsnittet af det antal dage, som hver mus overlever, beregnes, således at man får det gennemsnitlige overlevelsestidsrum for hver behandlet gruppe. Dette gennemsnitstal divideres med gennemsnittet for kontrolgruppen, og resultatet multipliceres med 100, således at man får procent livsforlængelse (T/C). T/C-værdier over 125 betragtes som værende effektive.

15

(2) Forsøgsresultater.

Den livsforlængende virkning (T/C) af typiske eksempler på forbindelserne ifølge opfindelsen over for museleukæmi L 1210 er anført i tabel IV.

20

25

30

35

0

Tabel IV

Livsforlængende virkning af forbindelser
ifølge opfindelsen over for museleukæmi
L 1210

5

10

15

20

25

30

35

Forbindelse (eks.nr.)	Dosis (mg/kg/dag)	T/C (%)
Kontrol	0,00	100
1	50,00	-
	25,00	178
	12,50	420
	6,25	435
	3,13	435
	1,56	435
	0,78	406
	0,39	149
2	50,00	15
	25,00	435
	12,50	435
	6,25	435
	3,13	435
	1,56	435
	0,78	145
	0,39	109

0

I det følgende er den foreliggende opfindelse beskrevet mere detaljeret ved hjælp af eksempler. Rf-værdierne for tyndtlagschromatografi (TLC), anført i de følgende eksempler, er målt under anvendelse af følgende metode:

5 en silicagel 60 F₂₅₄ plade (tykkelse: 0,25 mm, fra Merck & Co.), fremkaldes ca. 8 cm med de anførte opløsningsmidler, og afstanden fra udgangspunktet og centrum for den plet, der hidrører fra den pågældende forbindelse, divideres med afstanden mellem udgangspunktet og den forreste ende af opløsningsmidlet. Påvisningen foretages ved UV (2537 Å) med ninhydrin og Sakaguchi's reagens.

10

Eksempel 1

10-{N-[4-(4-GP-butanoyl)-L-seryl]}-2,5,10-TAD trihydrochlorid (forbindelse nr. 1)

4,06 g (4,89 mmol) 10-{N-[4-(4-GP-butanoyl)-O-benzyl-L-seryl]}-1,5,10-TAD hydrochlorid i form af en bleggul olie opløses i en blanding af 50 ml methanol og 30 ml eddikesyre. Opløsningen tilsættes 0,4 g palladiumsort, hvorefter den opvarmes til 55°C for at bevirke katalytisk reduktion i 6 timer ved atmosfærisk tryk. Efter omsætningen frafiltreres katalysatoren, og filtratet koncentrerer under formindsket tryk, hvorved der fås 2,80 g olie. Denne olie opløses i 25 ml 60% (v/v) vandig methanolisk 0,3 M natriumchloridopløsning, og opløsningen passerer gennem en søjle af 350 ml "CM-Cephadex" C-25 (Na⁺), der er ligevægtsindstillet med det samme opløsningsmiddel. Til eluering anvendes en gradientelueringsmetode mellem 2000 ml 60% vandig methanolisk 0,3 M natriumchloridopløsning og 2000 ml 60% (v/v) vandig methanolisk 1,0 M natriumchloridopløsning. Fraktionerne indeholdende slutforbindelsen forenes og inddampes til tørhed under formindsket tryk. Remanensen tilsættes methanol, og det uopløselige natriumchlorid frafiltreres. Den ønskede forbindelse renses fra det olieagtige produkt på følgende måde: for at fjerne den resterende lille mængde

15

20

25

30

35

0 natriumchlorid opløses det olieagtige produkt i 5 ml methanol, og opløsningen passerer gennem en søjle fyldt med 100 ml "Cephadex" LH-20. Søjlen elueres med ethanol, og de fraktioner, der indeholder den ønskede forbindelse, forenes og koncentrerer under formindsket tryk. For at
 5 fjerne yderligere små mængder urenheder opløses det olieagtige produkt i 5 ml destilleret vand, og opløsningen passerer gennem en søjle fyldt med 80 ml "HP-20" (produkt fra Mitsubishi Chemical Industries, Ltd.). Søjlen elueres
 10 med destilleret vand, og de fraktioner, der indeholder den ønskede forbindelse, forenes og koncentrerer under formindsket tryk. Det resulterende olieagtige produkt opløses i 5 ml destilleret vand og uopløseligt stof frafiltreres. Filtratet frysetørres, hvorved der fås 1,17 g af den ønskede forbindelse (udbytte: 44,0%).

NMR (DMSO- d_6)

δ = 1,1-2,5 (b, 12H), 2,5-3,4 (b, 8H), 3,4-3,8 (bd, 3H)
 4,0-4,5 (b, H), 6,8-7,7 (m, 8H), 7,7-8,8 (b, 5H),
 8,8-9,7 (b, 2H), 10,13 (bs, H).

20 IR (KBr)

ν (cm^{-1}) = 3290, 2940, 2320, 1635, 1510, 1450.

TLC (n-propanol : pyridin : vand : eddikesyre = 6 : 4 : 3
 : 2 v/v)

R_f = 0,34

25 $[\alpha]_D^{19,5} - 13,8^\circ$ (C = 1,17, H_2O).

Eksempel 2

10-{N-[4-(4-GP)butanoyl]glycyl}-1,5,10-TAD trihydrochlorid
 (forbindelse nr. 2)

30 3,30 g (4,90 mmol) 10-{N-[4-(4-GP)butanoyl]glycyl}-1,5-diZ-1,5,10-TAD i form af en bleggul olie opløses i 40 ml eddikesyre. Opløsningen tilsættes 0,3 g palladiumsort, og der opvarmes til 50°C for at bevirke katalytisk reduktion i 10 timer ved atmosfæretryk. Efter omsætningen frafiltreres katalysatoren, og filtratet koncentrerer under formindsket tryk til
 35

0

dannelse af 2,10 g olie. Denne olie opløses i 10 ml destilleret vand, og opløsningen passerer gennem en søjle fyldt med 220 ml "CM Cephadex" C-25 (Na^+). Søjlen elueres ved gradientelueringsmetoden mellem 1100 ml destilleret vand og 1100 ml vandig 1,0 M natriumchloridopløsning. De fraktioner, der indeholder den ønskede forbindelse, forenes og koncentrerer til tørhed under formindsket tryk. Det tørre faste produkt tilsættes methanol, og det uopløselige natriumchlorid frafiltreres.

10

Produktet renses ved de samme fremgangsmåder som anvendt i eksempel 1, og der fås 0,89 g af den ønskede forbindelse (udbytte: 35,3%).

NMR (DMSO-d_6)

15

$\delta = 1,1-2,5$ (b, 12H), $2,5-3,3$ (b, 8H), $3,5-3,9$ (bd, 2H)
 $6,9-7,7$ (m, 8H), $7,7-8,3$ (b, 3H), $8,3-10,0$ (b, 5H).

IR (KBr)

$\nu(\text{cm}^{-1}) = 3290, 2940, 2320, 1640, 1540, 1455.$

TLC (n-propanol : pyridin : vand : eddikesyre = 6 : 4 : 3 : 2 v/v)

20

$R_f = 0,26.$

Eksempel 3

10-{N-[3-(4-GP)propanoyl]L-seryl}-1,5,10-TAD trihydrochlorid (forbindelse nr. 3)

25

2,60 g (3,27 mmol) 10-{N-[3-(4-GMP)propanoyl]-O-benzyl-L-seryl}-1,5-diZ-1,5,10-TAD i form af en bleggul olie opløses i en blanding af 40 ml methanol og 30 ml eddikesyre. Opløsningen tilsættes 0,20 g palladiumsort, og der opvarmes til 55°C for at bevirke katalytisk reduktion i 5 timer ved atmosfærisk tryk. Efter omsætningen frafiltreres katalysatoren, og filtratet koncentrerer under formindsket tryk til dannelse af 1,8 g olieagtigt produkt. Denne olie opløses i 10 ml destilleret vand, og opløsningen passerer gennem en søjle fyldt med 220 ml "CM-Cephadex" C-25 (Na^+). Elueringen gennemføres ved anvendelse af gradientelueringsmetoden

35

0 mellem 1100 ml destilleret vand og 1100 ml vandig 1,2 M
natriumchloridopløsning. De fraktioner, der indeholder
den ønskede forbindelse, forenes og koncentrerer til tør-
hed under formindsket tryk. Det tørre faste stof tilsæt-
tes methanol, og det uopløselige natriumchlorid frafil-
5 treres.

Produktet renses på samme måde som beskrevet i ek-
sempel 2, og der fås 0,84 g af slutforbindelsen (udbytte
47,2%).

10 NMR (DMSO- d_6)

δ = 1,1-2,4 (b, 6H), 2,4-3,4 (b, 12 H), 3,4-3,9
(bd, 3H), 4,0-4,6 (bd, 3H), 6,8-7,7 (b, 4H),
7,2 (s, 4H), 7,7-8,7 (b, 6H), 8,7-9,7 (b, 2H).

IR (KBr)

15 ν (cm^{-1}) = 3310, 2940, 2320, 1640, 1535, 1450.

TLC (n-propanol : pyridin : vand : eddikesyre = 6 : 4
: 3 : 2 (v/v)

R_f = 0,25

$[\alpha]_D^{19,5}$ -24,8° (C = 1,0, H₂O).

20

Eksempel 4

10-{N-[4-(3-GPro)benzoyl]L-seryl}-1,5,10-TAD trihydrochlo-
rid (forbindelse nr. 4)

2,00 g (2,52 mmol) 10-{N-[4-(3-GPro)-O-benzoyl]-O-
25 -benzyl-L-seryl}-1,5,10-TAD i form af en olie opløses i en
blanding af 4 ml methanol og 20 ml eddikesyre. Opløsningen
tilsættes 0,3 g palladiumsort, hvorpå der opvarmes til 50°C
og gennemføres en katalytisk reduktion i 6 timer ved atmos-
færetryk. Efter omsætningen frafiltreres katalysatoren, og
filtratet koncentrerer under formindsket tryk, hvorved der
30 fås 2,60 g olie. Denne olie opløses i 10 ml destilleret
vand, og opløsningen passerer gennem en søjle fyldt med
300 ml "CM Cephadex" C-25 (Na⁺). Eluering gennemføres ved
anvendelse af gradientelueringemetoden mellem 1100 ml de-
35 stilleret vand og 1100 ml vandig 1,3 M natriumchloridopløs-

0

ning. De fraktioner, der indeholder den ønskede forbindelse, forenes og koncentrerer til tørhed under formindsket tryk. Remanensen tilsættes methanol, og det uopløselige natriumchlorid frafiltreres. Det resulterende produkt renses ved samme fremgangsmåder som anvendt i eksempel 1, og der fås 0,642 g af den ønskede forbindelse (udbytte: 49,9%).

5

NMR (DMSO- d_6)

δ = 1,2-2,4 (b, 8H), 2,6-3,4 (b, 12H), 3,4-4,2 (bd, 3H),
 10 4,2-4,7 (b, 1H), 7,1-7,5 (b, 4H), 7,33 (s, 2H,
 J = 8 Hz), 7,7-8,8 (b, 6H), 7,90 (s, 2H, J = 8 Hz),
 8,8-9,7 (b, 2H).

IR (KBr)

γ (cm^{-1}) = 3300, 3150, 2950, 1640, 1535, 1500, 1460,
 15 1290, 1060.

TLC (n-propanol : pyridin : vand : eddikesyre = 6 : 4 : 3
 : 2 (v/v).

R_f = 0,31

$[\alpha]_D^{19,5} + 24,4^\circ$ (C = 0,97, H_2O).

20

Eksempel 5

10-{N-[3-(3-GMP)propanoyl]L-seryl}-1,5,10-TAD trihydrochlorid (forbindelse nr. 5)

1,61 g (2,03 mmol) 10-{N-[3-(3-GMP)propanoyl]-O-benzyl-L-seryl}-1,5-diZ-1,5,10-TAD i form af en bleggul olie behandles på samme måde som beskrevet i eksempel 3, og den ønskede forbindelse fås i en mængde på 0,54 g (48,2%).

25

NMR (DMSO- d_6)

δ = 1,1-2,3 (b, 6H), 2,3-3,4 (b, 12H), 3,4-3,8
 30 (bd, 3H), 4,0-4,6 (bd, 3H), 6,8-7,8 (m, 8H),
 7,8-8,8 (b, 6H), 8,8-9,7 (b, 2H).

IR (KBr)

γ (cm^{-1}) = 3240, 2320, 1630, 1530, 1450.

TLC (n-propanol : pyridin : vand : eddikesyre = 6 : 4
 35 : 3 : 2 v/v).

0

$R_f = 0,30$
 $[\alpha]_D^{19,5} = 22,0^0$ ($C = 1,0$, H_2O).

Eksempel 6

5 10-{N-[5-(4-GP)pentanoyl]-L-seryl}-1,5,10-TAD trihydro-
chlorid (forbindelse nr. 6)

2,42 g (3,00 mmol) 10-{N-[5-(4-GP)pentanoyl]-O-
 -benzyl-L-seryl}-1,5,10-TAD i form af en bleggul olie
 behandles som beskrevet i eksempel 3, og den ønskede for-
 10 bindelse fås i en mængde på 0,69 g (41,1%).

NMR ($DMSO-d_6$)

$\delta = 1,1-2,5$ (b, 14H), 2,5-3,3 (b, 8H), 3,4-3,7
 (bd, 3H), 4,0-4,4 (b, H), 6,8-7,7 (m, 8H),
 7,7-8,7 (b, 5H), 8,7-9,7 (b, 2H), 10,05 (bs, H).

15 IR (KBr)

$\nu(\text{cm}^{-1}) = 3300, 2940, 2330, 1640, 1510, 1450.$

TLC (n-propanol : pyridin : vand : eddikesyre = 6 : 4
 : 3 : 2 v/v)

$R_f = 0,31$

20 $[\alpha]_D^{19,5} = 13,9^0$ ($C = 1,07$, H_2O).

Eksempel 7

10-{N[4-(3-GPro)benzoyl]-glycyl}-1,5,10-TAD trihydrochlo-
rid (forbindelse nr. 7)

25 1,34 g (1,99 mmol) 10-{N-[4-(3-GPro)benzoyl]glycyl}-
 -1,5-diZ-1,5,10-TAD i form af en olie opløses i 5 ml eddi-
 kesyre. Under afkøling tilsættes opløsningen 10 ml 25% op-
 løsning af hydrogenbromid i eddikesyre. Efter omsætning i
 30 minutter ved stuetemperatur under omrøring tilsættes
 der tør ethylether, og det udfældende olieagtige produkt
 vaskes efterfulgt af dekantering af supernatanten. Denne
 procedure gentages yderligere to gange, og olielaget tør-
 res under formindsket tryk, hvorved der fås 1,64 g olie-
 agtigt produkt. Dette olieagtige produkt behandles derpå
 35 som beskrevet i eksempel 2, hvorved der fås 0,427 g af den

0

ønskede forbindelse (udbytte: 39%).

NMR (DMSO- d_6)

$\delta = 1,1-2,4$ (b, 8H), 2,5-3,4 (b, 12H), 3,7-4,0
(bd, 2H), 7,1-7,5 (b, 4H), 7,33 (d, 2H,
5 $J = 8$ Hz), 7,7-8,5 (b, 8H), 7,90 (d, 2H,
 $J = 8$ Hz), 8,5-8,9 (b, 1H), 8,9-9,6 (b, 2H).

IR (KBr)

$\tilde{\nu}(\text{cm}^{-1}) = 3270, 2950, 2930, 1640, 1540, 1500, 1460,$
1300.

10 TLC (n-propanol : pyridin : vand : eddikesyre = 6 : 4
: 3 : 2 v/v)
Rf = 0,33.

Eksempel 8

15 10-{N-[5-(2-GMP)pentanoyl]-L-seryl}-1,5,10-TAD trihydro-
chlorid (forbindelse nr. 8)

2,78 g (3,38 mmol) 10-{N-[5-(2-GMP)pentanoyl]-O-
-benzyl-L-seryl}-1,5-diZ-1,5,10-TAD i form af en bleggul
olie behandles som beskrevet i eksempel 3, og den ønskede
20 forbindelse fås i en mængde på 0,81 g (udbytte: 41,1%).

NMR (DMSO- d_6)

$\delta = 1,1-2,5$ (b, 14H), 2,5-3,4 (b, 8H), 3,4-3,8
(bd, 3H), 4,0-4,6 (bd, 3H), 6,8-7,7 (m, 8H),
7,7-8,8 (b, 6H), 8,8-9,6 (b, 2H).

25 IR (KBr)

$\tilde{\nu}(\text{cm}^{-1}) = 3280, 2930, 2320, 1640, 1540, 1450.$

TLC (n-propanol : pyridin : vand : eddikesyre = 6 : 4
: 3 : 2 v/v)

Rf = 0,50

30 $[\alpha]_D^{19,5} = 13,9^{\circ}$ (C = 1,02, H_2O).

0

Eksempel 9

10- $\{N-[3-(2\text{-chlor-4-GMP})\text{propanoyl}]-L\text{-seryl}\}-1,5,10\text{-TAD}$
 trihydrochlorid (forbindelse nr. 9)

1,60 g (1,86 mmol) 10- $\{N-[3-(2\text{-chlor-4-GMP})\text{propanoyl}]-O\text{-benzyl-L-seryl}\}-1,5\text{-diZ-}1,5,10\text{-TAD}$ 1/3 phosphat
 5 i form af en olie blandes med 20 ml trifluoreddikesyreopløsning af 3,00 g trifluormethansulfonsyre og 2,48 g thioanisol under afkøling med is, og der dannes en opløsning. Opløsningen får lov at reagere i 2 timer under omrøring ved stuetemperatur. Efter omsætningen tilsættes
 10 der 100 ml tør ether, og den udskilte olie vaskes efterfulgt af dekantering af supernatanten. Denne procedure gentages yderligere to gange, og det olieagtige lag koncentrerer under formindsket tryk. Remanensen tilsættes
 15 100 ml destilleret vand, og uopløseligt stof frafiltres. Filtratet passerer direkte gennem en søjle pakket med 300 ml "CM Cephadex" C-25 (Na^+). Søjlen behandles derefter som beskrevet i eksempel 3, og den ønskede forbindelse fås i en mængde på 0,528 g (udbytte: 49,0%).

20 NMR (DMSO-d_6)

$\delta = 1,2\text{-}2,3$ (b, 6H), $2,5\text{-}3,3$ (b, 12H), $3,3\text{-}3,7$
 (bd, 3H), $4,1\text{-}4,6$ (bd, 3H), $7,1\text{-}7,7$ (m, 7H),
 $7,7\text{-}8,6$ (b, 6H), $8,6\text{-}9,5$ (b, 2H).

IR (KBr)

25 $\gamma(\text{cm}^{-1}) = 3300, 3150, 3050, 2950, 1645, 1540, 1450,$
 1050.

TLC (n-propanol : pyridin : vand : eddikesyre = 6 : 4
 : 3 : 2 v/v)

$R_f = 0,35$

30 $[\alpha]_D^{19,0} = 26,1^\circ$ (C = 1,1, H_2O).

35

0

Referenceeksempel 1

Fremstilling af 10-{N-[4-(4-GP)butanoyl]-O-benzyl-L-seryl}-1,5-diZ-1,5,10-TAD hydrochlorid

5 (1) 10-(N-tert.butoxycarbonyl-O-benzyl-L-seryl)-1,5-diZ-1,5,10-TAD.

I 50 ml ethylacetat opløses 4,76 g (11,5 mmol) 1,5-diZ-1,5,10-TAD, og under isafkøling tilsættes der 1,04 g (10,3 mmol) triethylamin. Derpå tilsættes der 5,87 g (ca. 15 mmol) N-tert.butoxycarbonyl-O-benzyl-L-serin-N-hydroxy-succinimidester, og blandingen får lov at reagere natten over ved stuetemperatur. Reaktionsblandingen tilsættes 10 50 ml ethylacetat, og den resulterende ethylacetatopløsning vaskes successivt med 5% vandig natriumhydrogencarbonatopløsning, 0,1 N saltsyre og mættet vandig natriumchlorid. Ethylacetatlaget tørres over vandfrit natriumsulfat, og tørremidlet frafiltreres. Ved koncentrering af filtratet under formindsket tryk fås den ønskede forbindelse i en mængde på 8,34 g (udbytte: kvantitativt).

TLC (chloroform: methanol = 9:1 v/v).

20 R_f = 0,80.

(2) 10-(O-benzyl-L-seryl)-1,5-diZ-1,5,10-TAD.

8,00 g (11,5 mmol) 10-(N-tert.butoxycarbonyl-O-benzyl-L-seryl)-1,5-diZ-1,5,10-TAD opløses i 8,0 ml trifluoreddikesyre, og den resulterende opløsning får lov at reagere i 3 timer ved stuetemperatur. Reaktionsblandingen kon- 25 centreres under formindsket tryk, og det resulterende olieagtige produkt opløses i 200 ml ethylacetat. Opløsningen vaskes successivt med 5% natriumhydrogencarbonatopløsning og destilleret vand. Ethylacetatlaget tørres med vandfrit natriumsulfat, og tørremidlet frafiltreres. Ved koncentre- 30 ring af filtratet under formindsket tryk fås en olie af den ønskede forbindelse i en mængde på 6,82 g (udbytte: kvantitativt).

TLC (chloroform : methanol = 9:1 v/v).

35 R_f = 0,50.

0

(3) 10-N-[4-(4-GP)butanoyl]-O-benzyl-L-seryl)-1,5-diZ-
-1,5,10-TAD hydrochlorid.

1,26 g (4,89 mmol) 4-(4-GP)smørsyrehydrochlorid i
form af brune krystaller opløses i 20 ml dimethylformamid.
5 Den resulterende opløsning tilsættes 0,68 g (5,87 mmol) N-
-hydroxysuccinimid og 1,20 g (5,87 mmol) N,N'-dicyclohexyl-
carbodiimid, og blandingen får lov at reagere natten over
ved stuetemperatur. Det udfældede N,N'-dicyclohexylurin-
stof frafiltreres, og filtratet anvendes direkte i den føl-
10 gende omsætning. 3,54 g (6,00 mmol) 10-(O-benzyl-L-seryl)-
-1,5-diZ-1,5,10-TAD i form af en bleggul olie opløses i
30 ml dimethylformamid. Opløsningen tilsættes 0,61 g (6,00
mmol) triethylamin under afkøling med is efterfulgt af til-
sætning af en dimethylformamidopløsning af den tidligere
15 fremstillede 4-(4-GP)smørsyrehydrochlorid N-hydroxysuccin-
imidester. Den resulterende blanding får lov at reagere
natten over ved stuetemperatur. Reaktionsblandingen koncen-
trereres under formindsket tryk, og den olieagtige remanens
opløses i en blanding af 150 ml ethylacetat og 150 ml chlo-
20 roform. Opløsningen vaskes successivt med 5% vandig natrium-
carbonatopløsning, 0,5 N saltsyre og mættet vandig natrium-
chlorid. Det organiske lag tørres over vandfrit natriumsul-
fat, og tørremidlet frafiltreres. Filtratet koncentrerer
under formindsket tryk, hvorved der fås en bleggul olie af
25 den ønskede forbindelse i en mængde på 4,10 g (udbytte: kvan-
titativt).

NMR (DMSO- d_6)

δ = 1,1-2,8 (b, 12H), 2,8-3,8 (b, 10H), 4,2-4,8 (bs,
3H), 5,02 (s, 2H), 5,06 (s, 2H), 7,3 (s, 15H),
30 7,7-10,1 (b, 12H)

TLC (chloroform : methanol : 17% ammoniakvand = 6 : 1,5
: 0,25 v/v)

R_f = 0,16.

4-(4-GP)smørsyrehydrochloridet fremstilles på føl-
35 gende måde:

0

1,60 g (8,93 mmol) 4-(4-aminophenyl)smørsyre som brune krystaller opløses i 40 ml tetrahydrofuran. Den resulterende opløsning tilsættes 2,70 g (13,4 mmol) 1-amidino-3,5-dimethylpyrazolnitrat og 2,19 g (17,0 mmol) N,N-di-
 5 isopropylethylamin, og blandingen får lov at reagere natten over under tilbagesvaling. De udfældede krystaller skilles fra ved filtrering, og filtratet vaskes successivt med acetone, methanol og tetrahydrofuran og tørres. De tørrede
 10 brune krystaller suspenderes i 10 ml destilleret vand, og der tilsættes saltsyre, indtil krystallerne er helt opløst. Derefter koncentrerer opløsningen til tørhed under formindsket tryk. Remanensen vaskes to gange med hver især ether og acetone. Der fås brune krystaller i en mængde på 1,54 g (udbytte: 67,0%). Smp.: 157-160°C.

15 NMR (D_2O + DCl, extern TMS)

δ = 2,1-2,6 (m, 2H), 2,6-3,3 (m, 4H), 7,5-7,9 (m, 4H),

IR (KBr)

ν (cm^{-1}) = 3370, 3170, 2330, 1730, 1680, 1660, 1620, 1600, 1575, 1510, 1240, 1220.

20

Referenceeksempel 2

Fremstilling af 10-{N-[4-(4-GP)butanoyl]glycyl}-1,5-diZ-1,5,10-TAD

(1) 10-(N,N-phthalylglycyl)-1,5-diZ-1,5,10-TAD.

25 I 200 ml tetrahydrofuran opløses 12,4 g (30,0 mmol) 1,5-diZ-1,5,10-TAD. Opløsningen tilsættes under afkøling med is 4,90 g (35,0 mmol) triethylamin efterfulgt af tilsætning af 10,6 g (35,0 mmol) ester af phthalylglycin og N-hydroxysuccinimid. Den resulterende blanding får lov at reagere
 30 natten over ved stuetemperatur.

Reaktionsblandingen inddampes til tørhed under formindsket tryk, og remanensen opløses i 1200 ml ethylacetat. Ethylacetatopløsningen vaskes successivt med 5% vandig natriumhydrogenchloridopløsning, 0,5 N saltsyre og mættet
 35 vandig natriumchlorid. Ethylacetatlaget tørres over vand-

0 frit natriumsulfat, og tørremidlet skilles fra ved filtrering. Filtratet koncentrerer under formindsket tryk, og remanensen krystalliseres ved tilsætning af ethylacetat og ethylether. Krystallerne udvindes ved filtrering
5 og tørres, hvorved der fås 14,6 g af den ønskede forbindelse (udbytte: 81,0%). Smp.: 102-104°C.

TLC (chloroform : methanol : eddikesyre = 95 : 5 : 3 v/v).

Rf = 0,4.

10 (2) 10-glycyl-1,5-diZ-1,5,10-TAD:

Til 14,4 g (24,0 mmol) 10-(N,N-phthalylglycyl-1,5-diZ-1,5,10-TAD sættes 370 ml ethanol og 6,00 g (120 mmol) hydrazinhydrat og blandingen tilbagesvales i 2 timer. Efter omsætningen skilles uopløseligt stof fra
15 ved filtrering, og filtratet koncentrerer under formindsket tryk. Den resulterende olie opløses i 300 ml ethylacetat, og opløsningen vaskes successivt med 5% vandig natriumhydrogencarbonatopløsning og destilleret vand. Ethylacetatlaget tørres over vandfrit natriumsulfat. Efter fra-
20 filtrering af tørremidlet koncentrerer filtratet under formindsket tryk, hvorved der fås en olie af den ønskede forbindelse i en mængde på 12,5 g (udbytte: kvantitativt).

TLC (chloroform : methanol : eddikesyre = 95 : 5 : 3 v/v).

25 Rf = 0,10.

(3) 10-{N-[4-(4-GP)butanoyl]glycyl}-1,5-diZ-1,5,10-TAD:

1,56 g (6,05 mmol) 4-(4-GP)smørsyrehydrochlorid som brune krystaller opløses i 20 ml dimethylformamid. Den resulterende opløsning tilsættes 0,84 g (7,26 mmol)
30 N-hydroxysuccinimid og 1,50 g (7,26 mmol) N,N'-dicyclohexylcarbodiimid, og blandingen får derefter lov at reagere natten over ved stuetemperatur. Det udfældede N,N'-dicyclohexylurinstof skilles fra ved filtrering, og filtratet anvendes direkte i den næste omsætning.

35 2,59 g (5,5 mmol) 10-glycyl-1,5-diZ-1,5,10-TAD som

0 en bleggul olie opløses i 30 ml dimethylformamid. Den resulterende opløsning tilsættes under afkøling med is 0,61 g (6,05 mmol) triethylamin efterfulgt af tilsætning af en dimethylformamidopløsning af den tidligere frem-

5 stillede 4-(4-GP)smørsyrehydrochlorid N-hydroxysuccinimid-ester, og blandingen får lov at reagere natten over ved stuetemperatur. Reaktionsblandingen koncentrerer under formindsket tryk, og den olieagtige remanens opløses i en blanding af 300 ml ethylacetat og 60 ml ethanol. Opløsningen vaskes successivt med 5% phosphorsyre, 5% vandig opløsning af

10 natriumcarbonat og mættet vandig natriumchlorid. En olie, der udfælder under vaskningen, opløses ved tilsætning af en lille smule ethanol. Det organiske lag tørres over vandfrit natriumsulfat, og tørremidlet skilles fra ved

15 filtrering. Derpå koncentrerer filtratet under formindsket tryk, og der fås en bleggul olie af den ønskede forbindelse i en mængde på 3,30 g (udbytte: 89,1%).

NMR (CDCl₃)

δ = 1,1-2,8 (b, 12H), 2,8-4,1 (b, 10H), 5,04 (s, 4H),

20 4,8-8,1 (b, 11), 7,3 (s, 10H).

TLC (chloroform : methanol : 17% ammoniakvand = 6 : 3,5 : 1 v/v)

R_f = 0,59.

25 Referenceeksempel 3

Fremstilling af 10- β -N-[3-(4-GMP)propanoyl]-O-benzyl-L-seryl]-1,5-diZ-1,5,10-TAD

1,00 g (4,52 mmol) 3-(4-GMP)propionsyre som bleggule krystaller sættes i 4 eller 5 små portioner til 3 ml thionylchlorid under afkøling med is. Derefter får blandingen

30 lov at reagere i 15 minutter under afkøling med is, og reaktionsblandingen koncentrerer til tørhed under formindsket tryk.

I 10 ml dimethylformamid opløses 2,00 g (3,38 mmol)

35 10-(O-benzyl-L-seryl)-1,5-diZ-1,5,10-TAD. Den resulterende

0 opløsning tilsættes 0,92 g (9,04 mmol) triethylamin efterfulgt af tilsætning af 4 ml dimethylformamidopløsning af det tidligere fremstillede 3-(4-GP)propionsyrechloridhydrochlorid. Blandingen får lov at reagere i 30 minutter under
 5 afkøling med is. Reaktionsblandingen koncentrerer under formindsket tryk, og den olieagtige remanens opløses i en blanding af 300 ml ethylacetat og 50 ml ethanol. Opløsningen vaskes successivt med 5% phosphorsyre, 5% vandig opløsning af natriumcarbonat og mættet vandig natriumchlorid. Et olieagtigt
 10 produkt, der udfælder under vaskningen, opløses ved tilsætning af en lille smule ethanol. Det organiske lag tørres over vandfrit natriumsulfat, og tørremidlet skilles fra ved filtrering. Derefter koncentrerer filtratet under formindsket tryk, hvorved der fås 2,67 g af den ønskede forbindelse
 15 se som en bleggul olie (udbytte: kvantitativt).

NMR (CDCl₃)

δ = 1,0-2,0 (b, 6H), 2,0-3,9 (b, 14H), 4,0-4,8 (bd, 5H),
 5,0 (s, 2H), 5,05 (s, 2H), 5,1-8,3 (b, 11H), 7,2
 (2, 15H).

20 TLC (chloroform : methanol : 17% ammoniakvand = 6 : 1,5
 : 0,25 v/v)
 R_f = 0,27.

3-(4-GMP)propionsyren fremstilles på følgende måde:

(1) Methyl-3-(4-aminomethylphenyl)propionat.

25 4,30 g (22,97 mmol) 3-(4-cyanophenyl)propenoat i form af hvide krystaller opløses i 350 ml ammoniakmættet methanol. Efter tilsætning af 3 g Raney-nikkel, hydrogeneres blandingen ved stuetemperatur i 2 timer ved 60 atm. Efter omsætningen skilles katalysatoren fra ved filtrering, og filtratet
 30 koncentrerer under formindsket tryk, hvorved der fås en olie i en mængde på 4,02 g (udbytte: 90,54%).

NMR (CDCl₃)

δ = 2,4-3,2 (m, 6H), 3,63 (s, 3H), 3,8-4,7 (b, 2H),
 7,16 (s, 4H)

35 TLC (chloroform : methanol = 10 : 1 v/v)
 R_f = 0,16.

0

(2) 3-(4-GMP)propionsyre.

3,70 g (19,14 mmol) methyl-3-(4-aminomethylphenyl)-
propionat i form af en olie opløses i 150 ml tetrahydrofu-
ran. Opløsningen tilsættes 5,80 g (28,71 mmol) 1-amidino-
5 -3,5-dimethylpyrazolnitrat og 4,70 g (36,37 mmol) N,N-diiso-
propylethylamin, og blandingen får derefter lov til at
reagere natten over under tilbagesvaling. Reaktionsblandingen
koncentreres under formindsket tryk, hvorved der fås et
olieagtigt produkt. Denne olie tilsættes 70 ml 5% saltsyre,
10 og blandingen får lov at reagere under tilbagesvaling i
3 timer. Reaktionsblandingen filtreres, og filtratet afkø-
les med is. Derpå tilsættes filtratet 10%'s vandig natrium-
hydroxidopløsning for at indstille blandingens pH-værdi til
6,4. Blandingen omrøres forsigtigt i 30 minutter under køling
15 med is. De udfældede krystaller udvindes ved filtrering og
vaskes først med destilleret vand, derpå med tetrahydrofuran.
Efter tørring af remanensen fås bleggule krystaller af den
ønskede forbindelse i en mængde på 2,85 g (udbytte: 67,4%).
Smp.: $\geq 300^{\circ}\text{C}$.

20 NMR (D_2O + DCl, extern TMS)

$\delta = 3,0-3,6$ (m, 4H), 4,84 (s, 2H), 7,7 (s, 4H).

IR (KBr)

$\nu(\text{cm}^{-1}) = 3350, 3060, 2330, 1675, 1610, 1550, 1460,$
1405, 1150

25 TLC (chloroform : methanol : 17% ammoniakvand = 4 : 4 : 2 v/v)
Rf = 0,60.

Referenceeksempel 4

Fremstilling af 10-{N-[4-(3-GPro)benzoyl]-O-benzyl-L-seryl}-
30 -1,5-diZ-1,5,10-TAD

0,85 g (3,84 mmol) 4-(3-GPro)benzoesyre opløses i
8,0 ml thionylchlorid. Efter tilsætning af en katalytisk
mængde tør pyridin, reagerer blandingen under omrøring i
6 timer ved stuetemperatur. Reaktionsblandingen koncentre-
35 res under formindsket tryk og overføres til en ekssikator,

0 hvor blandingen tørres under formindsket tryk i nærværel-
 se af partikelformigt natriumhydroxid. Det resulterende
 4-(3-GPro)benzoesyrechloridhydrochlorid opløses i 6 ml tør-
 ret dimethylformamid. Den resulterende opløsning sættes
 5 dråbevis til 15 ml tør tetrahydrofuranopløsning af 1,90 g
 (3,18 mmol) 10-(O-benzyl-L-seryl)-1,5-diZ-1,5,10-TAD og
 1,16 g (11,5 mmol) triethylamin under afkøling med is. Ef-
 ter omrøring af blandingen i 1 time under afkøling med is
 tilsættes der flere dråber destilleret vand, og blandingen
 10 koncentrerer under formindsket tryk. Den olieagtige rema-
 nens opløses i 300 ml ethylacetat, og den resulterende op-
 løsning vaskes successivt med 10% vandig opløsning af na-
 triumcarbonat, 5% vandig opløsning af phosphorsyre, 10%
 vandig opløsning af natriumcarbonat og mættet vandig na-
 15 triumchlorid. En olie, der udfælder under vaskningen, oplø-
 ses ved tilsætning af en lille smule ethanol. Derefter tør-
 res det organiske lag over vandfrit natriumsulfat og kon-
 centreres til tørhed under formindsket tryk, hvorved der
 fås 2,20 g af den ønskede forbindelse som en olie (udbytte:
 20 87,1%).

NMR (CDCl₃)

δ = 1,3-2,1 (b, 8H), 2,5-4,1 (b, 12H), 4,5 (s, 2H),
 5,02 (s, 2H), 5,05 (s, 2H), 6,9-8,9 (b, 11H),
 7,3 (s, 15H)

25 TLC (chloroform : methanol : 17% ammoniakvand = 6 : 1,5
 : 0,25 v/v)
 R_f = 0,32.

4-(3-GPro)benzoesyre fremstilles på følgende måde:
 4,00 g (20,7 mmol) methyl-4-(3-aminopropyl)benzoat
 30 opløses i 150 ml tetrahydrofuran. Den resulterende opløs-
 ning tilsættes 6,25 g (31,0 mmol) 1-amidino-3,5-dimethyl-
 pyrazolnitrat og 5,08 g (39,3 mmol) N,N-diisopropylethyl-
 amin, og blandingen opvarmes under tilbagesvaling natten
 over.

35 Reaktionsblandingen koncentrerer under formindsket

0

tryk, hvorved der fås et olieagtigt produkt.

Derefter tilsættes denne olie 100 ml 6 N HCl, og blandingen opvarmes under tilbagesvaling i 4 timer. Reaktionsblandingen vaskes to gange med 50 ml ethylacetat, og
 5 det vandige lags pH-værdi indstilles til 6,0 med 20% vandig natriumhydroxidopløsning. Efter afkøling udvindes de udfældede krystaller ved filtrering, hvorved der fås den ønskede forbindelse i en mængde på 2,53 g (udbytte: 55,1%).
 Smp.: 285-289°C.

10 NMR (DMSO- d_6 + DCl, extern TMS)

δ = 2,0-2,7 (m, 2H), 3,1-3,5 (m, 2H), 3,5-4,0 (m, 2H),
 7,9 (d, 2H, J = 8 Hz), 8,4 (d, 2H, J = 8 Hz).

Referenceeksempel 5

15 Fremstilling af 10-{N-[3-(3-GMP)propanoyl]-O-benzyl-L-seryl}-1,5-diZ-1,5,10-TAD

0,55 g (2,49 mmol) 3-(3-GMP)propionsyre i form af bleggule krystaller og 1,20 g (2,03 mmol) 10-(O-benzyl-L-seryl)-1,5-diZ-1,5,10-TAD i form af en bleggul olie be-
 20 handles som beskrevet i referenceeksempel 3, hvorved der fås 1,63 g af slutforbindelsen som en bleggul olie (udbytte: kvantitativt).

NMR (CDCl₃)

δ = 1,1-2,1 (b, 6H), 2,1-3,9 (b, 14H), 3,9-4,7 (bd, 5H)
 25 5,0 (s, 2H), 5,05 (s, 2H), 6,3-8,5 (b, 11H), 7,2 (s, 15H)

TLC (chloroform : methanol : 17% ammoniakvand = 6 : 1,5
 : 0,25 v/v)
 R_f = 0,42.

30 Methyl-3-(3-aminomethylphenyl)propionatet fremstilles på følgende måde:

4,3 g (22,97 mmol) methyl-3-(3-cyanophenyl)propenoat i form af hvide krystaller behandles som beskrevet i referenceeksempel 3(1), og der fås 4,40 g af den ønskede for-
 35 bindelse som en olie (udbytte: kvantitativt).

0

NMR (CDCl_3)

$\delta = 2,3-3,2$ (m, 6H), 3,67 (s, 3H), 4,2-6,5 (b, 2H),
6,7-7,5 (m, 4H)

TLC (chloroform : methanol = 10 : 1 v/v)

5

 $R_f = 0,24$.

(2) 3-(3-GMP)propionsyre.

4,40 g (22,77 mmol) methyl-3-(m-aminomethylphenyl)-
propionat i form af en olie behandles som beskrevet i refe-
renceeksempel 3(2), og der fås 2,1 g af den ønskede forbin-
delse som bleggule krystaller (udbytte: 41,7%). Smp.: 273-
-276°C.

10

NMR ($\text{D}_2\text{O} + \text{DCl}$, extern TMS)

$\delta = 2,8-3,5$ (m, 4H), 4,8 (s, 2H), 7,3-7,9 (m, 4H)

IR (KBr)

15

$\nu(\text{cm}^{-1}) = 3340, 3100, 2330, 1645, 1535, 1400, 1330$

TLC (chloroform : methanol : 17% ammoniakvand = 4 : 4 : 2 v/v)

 $R_f = 0,5$.Referenceeksempel 6

20

Fremstilling af 10-{N-[5-(4-GP)pentanoyl]-O-benzyl-L-se-
ryl}-1,5-diZ-1,5,10-TAD

25

0,80 g (3,40 mmol) 5-(4-GP)pentansyre i form af bleg-
gule krystaller og 1,80 g (3,05 mmol) 10-(O-benzyl-L-seryl)-
-1,5-diZ-1,5,10-TAD i form af en bleggul olie behandles som
beskrevet i referenceeksempel 3, og der fås 2,42 g af den
ønskede forbindelse som en bleggul olie (udbytte: kvantita-
tivt).

NMR (CDCl_3)

30

$\delta = 0,9-2,8$ (b, 14H), 2,8-3,9 (b, 10H), 4,47 (bs, 3H),
5,03 (s, 2H), 5,06 (s, 2H), 5,0-7,9 (b, 11H), 7,3
(s, 15H)

TLC (chloroform : methanol : 17% ammoniakvand

= 6 : 1,5 : 0,25 v/v).

5-(4-GP)pentansyre fremstilles på følgende måde:

35

7,42 g (35,80 mmol) methyl-5-(4-aminophenyl)pentansy-

0

re i form af en olie behandles som beskrevet i reference-
eksempel 3, og der fås bleggule krystaller af den ønskede
forbindelse i en mængde på 3,72 g (udbytte: 44,1%). Smp.:
254-256°C.

5 NMR (D_2O + DCl, extern TMS)

δ = 1,7-2,4 (m, 4H), 2,5-3,4 (m, 4H), 7,5-8,0 (m, 4H).

IR (KBr)

ν (cm^{-1}) = 3330, 2940, 2330, 1680, 1630, 1570, 1515,
1400, 1305, 1265.

10 TLC (chloroform : methanol : 17% ammoniakvand = 4 : 4

: 2 v/v)

Rf = 0,50.

Referenceeksempel 7

15 10-{N-[4-(3-GP)benzoyl]glycyl}-1,5-diZ-1,5,10-TAD

0,66 g (2,98 mmol) 4-(3-GPro)benzoesyre opløses i
6,0 ml thionylchlorid. Efter tilsætning af en katalytisk
mængde tør pyridin reagerer blandingen i 4 timer ved stue-
temperatur under omrøring. Reaktionsblandingen koncentre-
res under formindsket tryk og overføres til en ekssikator,
20 hvor blandingen inddampes til tørhed under formindsket
tryk i nærværelse af partikelformigt natriumhydroxid.

Det resulterende syrechloridhydrochlorid opløses i
4 ml tør dimethylformamid, og opløsningen sættes dråbevis
25 til 10 ml tør tetrahydrofuranopløsning af 1,27 g (2,70 mmol)
10-glycyl-1,5-diZ-1,5,10-TAD og 0,46 g (4,5 mmol) triethyl-
amin under afkøling med is.

Blandingen behandles derefter som beskrevet i refe-
renceeksempel 4, hvorved der fås en olie af den ønskede
30 forbindelse i en mængde på 1,46 g (udbytte: 80,3%).

NMR ($DMSO-d_6$)

δ = 1,1-2,1 (b, 8H), 2,1-3,5 (b, 12H), 3,7-4,0 (b, 2H),
5,01 (s, 2H), 5,05 (s, 2H), 6,8-8,9 (b, 11H), 7,30
(s, 1OH)

35 TLC (chloroform : methanol : 17% ammoniakvand = 6 : 1,5

: 0,25 v/v)

Rf = 0,34.

0

Referenceeksempel 8

Fremstilling af 10-[N-[5-(2-GMP)pentanoyl]-O-benzyl-L-seryl]-1,5-diZ-1,5,10-TAD

5 1,20 g (4,81 mmol) 5-(2-GMP)pentansyre i form af bleggule krystaller og 2,00 g (3,38 mmol) 10-(O-benzyl-L-seryl)-1,5-diZ-1,5,10-TAD i form af en bleggul olie behandles som beskrevet i referenceeksempel 3, hvorved der fås en bleggul olie af den ønskede forbindelse i en mængde på 2,90 g (udbytte: kvantitativt).

10 NMR (CDCl₃)

δ = 1,1-2,8 (b, 14H), 2,8-4,0 (b, 10H), 4,2-4,7 (b, 5H), 5,0 (s, 2H), 5,04 (s, 2H), 5,0-8,8 (b, 11H), 7,2 (s, 15H)

TLC (chloroform : methanol : 17% ammoniakvand = 6 : 1,5

15 : 0,25 v/v)

R_f = 0,30.

5-(2-GMP)pentansyre fremstilles på følgende måde:

(1) Methyl-5-(2-cyanophenyl)pentanoat.

15,2 g (71,4 mmol) methyl-5-(2-cyanophenyl)-2,4-
20 -pentadienoat opløses i 600 ml methanol. Efter tilsætning af 0,6 g palladiumsort underkastes opløsningen en katalytisk reduktion i 6 timer ved stuetemperatur og atmosfæretryk. Efter omsætningen skilles katalysatoren fra ved filtrering, og filtratet koncentrerer under formindsket tryk, hvorved der fås et olieagtigt produkt i en mængde på 16,47 g
25 (udbytte: kvantitativt).

NMR (CDCl₃)

δ = 1,4-2,1 (m, 4H), 2,1-2,6 (m, 2H), 2,6-3,2 (m, 2H), 3,7 (s, 3H), 7,0-7,7 (m, 4H).

30 (2) Methyl-5-(2-aminomethylphenyl)pentanoat.

15,5 g (71,4 mmol) methyl-5-(2-cyanophenyl)pentanoat i form af en olie behandles som beskrevet i referenceeksempel 3(1), og der fås 14,7 g af den ønskede forbindelse som en bleggul olie. (Udbytte: 92,9%).

35 NMR (CDCl₃)

0

$\delta = 1,35$ (s, 2H), 1,3-2,0 (m, 4H), 2,1-2,9 (m, 4H),
3,63 (s, 3H), 3,85 (s, 2H), 7,0-7,5 (m, 4H)

TLC (chloroform : methanol = 10 : 1 v/v)

Rf = 0,26.

5

(3) 5-(2-GMP)pentansyre.

8,00 g (36,1 mmol) methyl-5-(2-aminomethylphenyl)-
pentanoat anvendes som beskrevet i referenceeksempel 3(2),
hvorved der fås 6,41 g bleggule krystaller (udbytte: 71,2%).
Smp.: 275-277°C.

10

NMR (D_2O , extern TMS)

$\delta = 1,7-2,4$ (m, 4H), 2,6-3,3 (m, 4H), 4,8 (s, 2H),
7,5-7,9 (m, 4H).

IR (KBr)

ν (cm^{-1}) = 3350, 3020, 2950, 2320, 1675, 1620, 1540,
1445, 1395, 1145.

15

TLC (chloroform : methanol : 17% ammoniakvand = 6 : 3

: 0,5 v/v)

Rf = 0,24.

20

Referenceeksempel 9

Fremstilling af 10-{N-[3-(2-chlor-4-GMP)propanoyl]-O-ben-
zyl-L-seryl}-1,5-diZ-1,5,10-TAD 1/3 phosphat

0,767 g (3,00 mmol) 3-(2-chlor-4-GMP)propionat op-
løses i 8,0 ml thionylchlorid under afkøling. Efter omsæt-
ning i 30 minutter under omrøring koncentrerer opløsning-
25 gen under formindsket tryk og overføres til en ekssikator,
hvor den tørres under formindsket tryk i nærværelse af
partikelformet natriumhydroxid. Det resulterende 3-(2-chlor-
4-GMP)propionsyrechloridhydrochlorid opløses i 10 ml tør
30 dimethylformamid, og opløsningen sættes dråbevis til 15 ml
tør dimethylformamidopløsning af 1,61 g (2,73 mmol) 10-(O-
benzyl-L-seryl)-1,5-diZ-1,5,10-TAD og 0,91 g triethylamin
under afkøling med is. Efter omsætning i 1 time under om-
røring og afkøling med is, sættes der flere dråber destil-
35 leret vand til reaktionsblandingen, som derpå koncentrerer

- 0 under formindsket tryk. En olieagtig remanens opløses i
en blanding af 300 ml ethylacetat og en lille smule etha-
nol. Opløsningen vaskes successivt med 5% vandig natrium-
carbonatopløsning, 5% vandig phosphorsyreopløsning og
5 vandig natriumchlorid. En olie, der udfælder under vask-
ningen, opløses ved tilsætning af en lille smule ethanol.
Derpå tørres det organiske lag over vandfrit natriumsul-
fat og koncentrerer under formindsket tryk, hvorved der
fås 1,97 g af den ønskede forbindelse som en olie (udbyt-
10 te: 83,8%).
- NMR (DMSO- d_6)
= 1,0-2,0 (b, 6H), 2,2-3,5 (b, 12H), 3,5-3,8 (bd,
2H), 4,3-4,8 (bm, 5H), 5,02 (s, 2H), 5,05 (s, 2H),
6,8-8,8 (b, 11H), 7,10 (s, 5H), 7,30 (s, 10H).
- 15 TLC (chloroform : methanol : 17% ammoniakvand = 6 : 1,5
: 0,25 v/v)
Rf = 0,21.
- 3-(2-chlor-4-GMP)propionsyre fremstilles på følgen-
de måde:
- 20 (1) Methyl-3-(2-chlor-4-acetylaminomethylphenyl)propionat.
5,00 g (21,25 mmol) methyl-3-(4-acetylaminomethyl-
phenyl)propionat sættes til 85 ml sulfurylchloridopløsning
af vandfrit aluminiumchlorid (14,2 g, 106 mmol) ved -25°C.
Derpå hæves blandingens temperatur gradvis til 5°C, ved
25 hvilken temperatur blandingen får lov at reagere under om-
røring i 24 timer.
- Derefter hældes reaktionsblandingen over en stor
portion is, og det resulterende uopløselige stof ekstrahe-
res med chloroform (ca. 1000 ml). Chloroformlaget vaskes
30 successivt med destilleret vand, 5% vandig natriumcarbo-
natopløsning, 5% vandig phosphorsyreopløsning og destille-
ret vand og tørres over vandfrit magnesiumsulfat. Ved kon-
centrering af det tørrede produkt under formindsket tryk
fås der en brun olie i en mængde på 6,0 g. Denne olie un-
35 derkastes søjlechromatografi på silicagel (Wako Gel C-200,

0

300 g) og elueres med en toluenethylacetatblanding (1:1 v/v). De fraktioner, der indeholder den ønskede forbindelse, forenes og koncentrerer til tørhed, hvorved der fås 1,93 g af den ønskede forbindelse (udbytte: 33,7%).

5 Smp.: 91-93°C.

NMR (CDCl₃, 400 M Hz)

δ = 2,03 (s, 3H), 2,63 (t, 2H, J = 7,7 Hz), 3,04 (t, 2H, J = 7,7 Hz), 3,67 (s, 3H), 4,37 (d, 2H, J = 5,9 Hz), 5,85 (bs, 1H), 7,10 (d, 1H, J = 7,8 Hz), 7,20 (d, 1H, J = 7,8 Hz), 7,26 (s, 1H).

10

(2) 3-(2-chlor-4-aminomethylphenyl)propionsyrehydrochlorid.

En blanding af 20 ml 2 N saltsyre og 10 ml dioxan sættes til 1,10 g (4,08 mmol) methyl-3-(2-chlor-4-acetylaminomethylphenyl)propionat, og blandingen opvarmes under tilbagesvaling i 8 timer. Reaktionsblandingen koncentrerer derefter til tørhed under formindsket tryk, hvorpå der fås 1,05 g af den ønskede forbindelse som et hvidt fast stof (udbytte: kvantitativt). Smp.: 191-194°C.

20

NMR (D₂O, extern TMS)

δ = 2,9-3,7 (m, 4H), 4,60 (s, 2H), 7,6-8,1 (m, 3H)

TLC (chloroform : methanol : 17% ammoniakvand = 6 : 3 : 0,5 (v/v)

25

R_f = 0,20.

(3) 3-(2-chlor-4-GMP)propionsyre.

1,00 g (4,00 mmol) 3-(2-chlor-4-aminomethylphenyl)-propionsyrehydrochlorid opløses i 40 ml methanol. Opløsningen tilsættes 1,03 g (5,12 mmol) 1-amidino-3,5-dimethylpyrazolnitrat og 1,10 g (8,51 mmol) N,N-diisopropylethylamin, og blandingen opvarmes natten over ved 80°C under omrøring. Reaktionsblandingen koncentrerer derefter under formindsket tryk, og remanensen opløses i 100 ml destilleret vand. Opløsningen vaskes to gange med 50 ml chloroform, og det vandige lag indstilles til en pH-værdi på 6,1 med 1 N

35

0

saltsyre. Derefter koncentrerer det vandige lag under formindsket tryk.

Remanensen suspenderes i 50 ml acetone, og suspensionen vaskes og filtreres. Filtratet suspenderes i vand,
5 og de resterende krystaller udvindes ved filtrering, hvorved der fås 0,75 g af den ønskede forbindelse som hvide krystaller (udbytte: 73,3%). Smp.: 260-264°C.

NMR (D₂O + DCl, extern TMS)

δ = 2,8-3,7 (m, 4H), 4,82 (s, 2H), 7,5-7,9 (m, 3H)

10 TLC (chloroform : methanol : 17% ammoniakvand = 6 : 3

: 0,5 v/v)

R_f = 0,06.

15

20

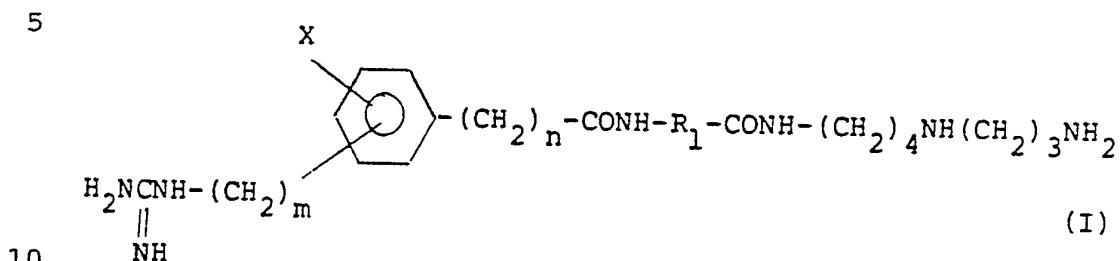
25

30

35

P A T E N T K R A V :

1. Spergualin-beslægtet forbindelse, k e n d e t e g -
n e t ved, at den har formen



hvor R_1 betyder en ligekædet eller forgrenet C_{1-4} -alkylen-
gruppe, der eventuelt er substitueret en eller flere gange
med en hydroxymethylgruppe, X betyder et hydrogenatom eller
et halogenatom, m og n er ens eller forskellige og betyder
15 hver især 0 eller et helt tal fra 1 til 5, samt fysiologisk
acceptable salte deraf.

2. Forbindelse ifølge krav 1, k e n d e t e g n e t
ved, at X betyder hydrogen, fluor eller chlor, m er 0 el-
20 ler et helt tal fra 1 til 3, og n er 0 eller et helt tal
fra 1 til 4.

3. Forbindelse ifølge krav 1, k e n d e t e g n e t
ved, at R_1 betyder ligekædet C_{1-3} -alkylen, der kan være
25 substitueret højst tre gange med hydroxymethyl.

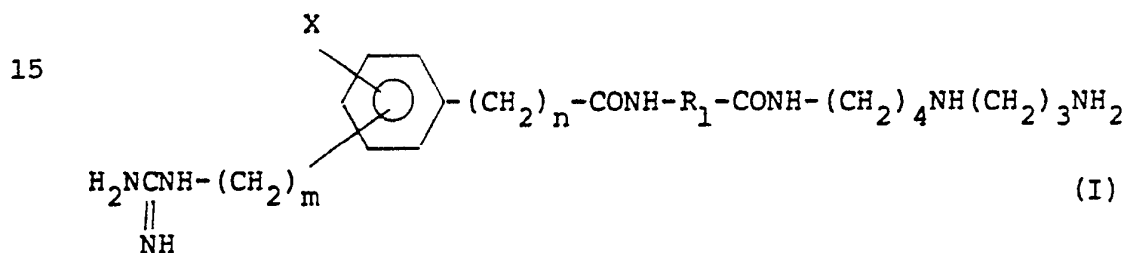
4. Forbindelse ifølge krav 3, k e n d e t e g n e t
ved, at R_1 betyder methylen, ethylen, propylen, hydroxyme-
thylmethylen, 1-hydroxymethylethylen, 2-hydroxymethylethylen,
30 1,2-di(hydroxymethyl)ethylen, 1-hydroxymethylpropylen, 2-hy-
droxymethylpropylen, 3-hydroxymethylpropylen, 1,2-di(hy-
droxymethyl)propylen, 1,3-di(hydroxymethyl)propylen, 1,2-
-di(hydroxymethyl)propylen, 1,3-di(hydroxymethyl)propylen,
2,3-di(hydroxymethyl)propylen eller 1,2,3-di(hydroxymethyl)-
35 propylen.

5. Forbindelse ifølge krav 3, k e n d e t e g n e t ved, at R_1 betyder methylen eller hydroxymethylmethylen.

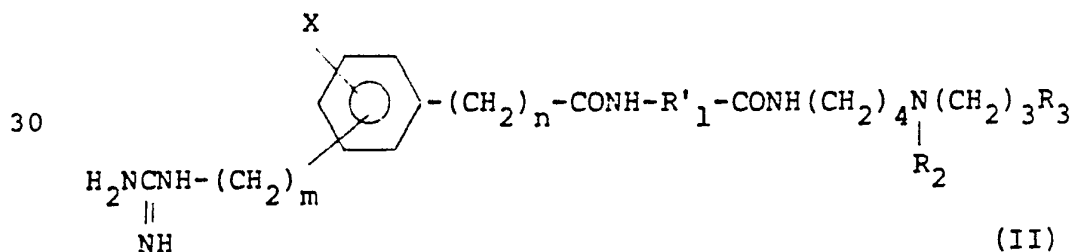
6. Forbindelse ifølge krav 1 til brug som lægemid-
5 del.

7. Farmaceutisk sammensætning, k e n d e t e g n e t ved, at den som aktiv bestanddel indeholder en forbindelse ifølge krav 1 sammen med et farmaceutisk acceptabelt bære-
10 stof.

8. Fremgangsmåde til fremstilling af en spergualin-
beslægtet forbindelse med formlen



20 hvor R_1 betyder en ligekædet eller forgrenet C_{1-4} -alkylen-
gruppe, der eventuelt er substitueret en eller flere gange
med en hydroxymethylgruppe, X betyder et hydrogenatom eller
et halogenatom, m og n er ens eller forskellige og betyder
hver især 0 eller et helt tal fra 1 til 5, samt fysiologisk
25 acceptable salte deraf, k e n d e t e g n e t ved, at be-
skyttelsesgrupperne på gængs måde fjernes fra en forbindelse
med formlen



hvor R'_1 betyder en ligekædet eller forgrenet C_{1-4} -alkylen-
35 gruppe, der eventuelt er substitueret en eller flere gange
med en hydroxymethylgruppe, hvis hydroxylgrupper eventuelt

er beskyttet, R_2 betyder en aminobeskyttende gruppe, R_3 betyder en beskyttet aminogruppe, og X, m og n har de ovenfor anførte betydninger, og om ønsket omdanner en forbindelse med den almene formel I til et fysiologisk acceptabelt salt

5 deraf.