



REPUBLIKA SLOVENIJA

Urad RS za varstvo industrijske lastnine

(10) SI 9200363 A

(12)

PATENT

(21) Številka prijave: 9200363
(22) Datum prijave: 04.12.1992

(51) MPK⁵: A61K 37/64, A61L 33/00,
C07K 7/10, C07K 7/08,
C07K 15/00, C12N 15/15

(45) Datum objave: 30.06.1993

(30) Prednost: 04.12.1991 SE 9103612

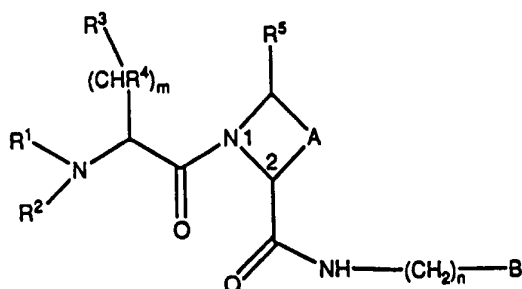
(72) Izumitelj: TEGER-NILSSON ANN-CATRINE ELISABETH, S-43169 Moelndal, SE;
BYLUND RUTH ELVY, S-42158 Vaestra Froelunda, SE

(73) Nosilec: AKTIEBOLAGET ASTRA, S-151 85 Soedertaelje, SE

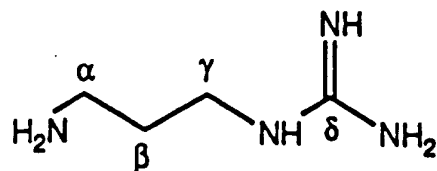
(74) Zastopnik: PATENTNA PISARNA D.O.O., Čopova 14, p.p. 322, 61000 Ljubljana, SI

(54) NOVI DERIVATI PEPTIDOV

(57) Izum se nanaša na nove kompetitivne inhibitorje trombina, njihovo sintezo, farmacevtske sestavke, ki vsebujejo te spojine kot aktivne sestavine in uporabo teh spojin kot antikoagulantov za profilakso in zdravljenje tromboemboločnih bolezni, po formuli



kjer A pomeni metilensko skupino, etilensko skupino, ali propilensko skupino, ki so lahko substituirane, ali A pomeni -CH₂-O-, CH₂-S-, CH₂-SO-, ali A pomeni -CH₂O, CH₂-S-, CH₂-SO, s funkcionalno skupino, ki vsebuje heteroatom na legi 4, ali n je celo število 2 ali 6; in B pomeni -N(R⁶)-C(NH)-NH₂, kjer je R⁶ H ali metilna skupina, ali B pomeni -S-C(NH)-NH₂, ali -C(NH)-NH₂. Nadalje je opisana nova uporaba v sintezi farmacevtskih spojin spojine s formulo:



SI 9200363 A

Dos. 5137/22458

AKTIEBOLAGET ASTRA
Sodertalje
Švedska

H 1107-1
1992-11-16
RN/BS/le/aw

NOVI DERIVATI PEPTIDOV

NOVI DERIVATI PEPTIDOV

OPIS

Ta izum se nanaša na nove kompetitivne inhibitorje trombina, njihovo sintezo, farmacevtske sestavke, ki vsebujejo spojino kot aktivno sestavino, uporabo spojine kot protikoagulantov v profilaksi in zdravljenju tromboemboličnih bolezni takih kot venozna tromboza, pljučna embolija, arterijska tromboza, zlasti infarkt miokarda in možganska tromboza, splošna in lokalna stanja hiperkoagulacije, npr. tista, ki spremljajo operacije ožilja in operacije premoščevanja zožene koronarne arterije.

Izum se prav tako nanaša na novo uporabo spojine kot izhodiščne snovi pri sintezi inhibitorja serinske proteaze. Nadalje se izum nanaša na nov strukturni fragment v inhibitorju serinske proteaze.

OZADJE

Koagulacija krvi je bistveni proces vključen in v hemostazo (tj. preprečevanje izgube krvi iz poškodovane žile) in trombozo (tj. patološko zamašitev krvne žile s krvnim strdkom). Koagulacija je rezultat komplicirane serije encimatskih reakcij, v katerih je ena od končnih stopenj pretvorba proen-cima protrombina v aktivni encim trombin.

Trombin ima središčno vlogo pri koagulaciji. On aktivira krvne ploščice, pretvarja fibrinogen v fibrinske monomerje, ki spontano polimerizirajo v vlakna in aktivira faktor XII, ki prečno poveže polimer v netopni fibrin. Trombin razen tega aktivira faktor V in faktor VIII v pozitivni povratni reak-

reakciji. Zato pričakujemo, da so inhibitorji trombina s tem, da delujejo na inhibicijo krvnih ploščic, tvorbo fibrina in stabilizacijo fibrina, učinkoviti protikoagulant. Pričakujemo, da z inhibicijo pozitivnega povratnega mehanizma vršijo inhibicijo na začetku verige dogajanj, ki peljejo do koagulacije in tromboze.

STANJE TEHNIKE

O inhibitorjih trombina utemeljenih na aminokislinski sekvenci okoli vezi v A α verigi fibrinogena, ki se cepi, so prvi poročali Blomback et al. v J. Clin. Lab. Invest. 24, suppl. 107, 59, (1969), ki so sugerirali, da je sekvenca Phe-Val-Arg (P9-P2-P1, tukaj jo navajamo kot sekvenco P3-P2-P1) najboljši inhibitor.

S. Bajusz et al. so v US 4,346,078 (Richter Gedeon Vegyeszeti Gyar R T, datum prioritete 7.10.1980) in Peptides 1983, Walter de Gruyter & Co, Berlin, pp 643-647, opisali inhibitorja trombina H-DPhe-Pro-Agm, dipeptidilni derivat z aminoalkilnim gvanidinom na položaju P1.

S. Bajusz et al. so prav tako poročali v J. Med. Chem. 1990, 33,, 1729-1735 in v EP-A2-0,185,390 (Richter Gedeon Vegyeszeti Gyar R T) (datum prioritete 21.12.84), da z zamenjavo agmatina z arginin aldehydom dobimo inhibitor trombina, ki je veliko bolj učinkovit.

Mislili so, da je razlog za povečano aktivnost tega inhibitorja trombina mogoče v interakciji aldehidne funkcije s Ser-OH v aktivnem centru encima, ki povzroči tvorbo hemiacetala. Ne moremo pa si predstaviti, da bi isti tip interakcije obstajal v dipeptidnem derivatu H-DPhe-Pro-Agm ker ta ne vsebuje aminokislinskega derivata s karbonilno skupino na položaju P1.

V drugih raziskavah na področju trombinskih inhibitorjev, vključujejo inhibitorji serinskih proteaz, ki temeljijo na elektrofilnih ketonih namesto aldehydih na položaju P1, naslednje:

E.N.Shaw *et al.* (Research Corporation) US-4,318,904 (datum prioritete 25.04.80), ki opisujejo peptidne klorometil ketone npr. H-DPhe-Pro-Arg-CH₂Cl.

M. Syelke in D.M. Jones v EP-A1-0,118,280 (datum prioritete 4.3.83), ki opisujejo spojine izvedene iz P₃ - P₂' pentapeptidne sekvence A verige fibrinogena v kateri je cepljiva P₁ - P₁' peptidna vez zamenjana z -CO-CH₂, kar tvori keto izoster ustreznih peptidov.

M. Kolb *et al.* (Merrell-Dow) EP-A2-0, 195,212 (datum prioritete 4.2.85), ki opisujejo peptidil -keto estre in amide.

B. Imperiali in R.H. Abeles, *Biochemistry* 1986, 25, 3760, ki opisujeta peptidil fluoroalkil ketone.

D. Schirlin *et al.* (Merrell-Dow) EP-A2-0,362,002 (datum prioritete 1.9.88), ki opisujejo fluoroalkilamid ketone.

P. Bey *et al.*, (Merrell-Dow) EP-A2-0,364,344 (datum prioritete 1.9.88), ki opisujejo α, β, δ -triketo spojine.

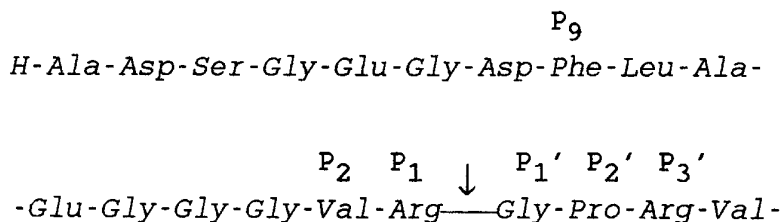
Ueda *et al.*, *Biochem. J.* 1990, 265, 539, ki tudi opisujejo peptidil fluoroalkil ketone.

A.D. Kettner *et al.* (Du Pont) EP-A2-0,293,881 (datumi prioritete 5.6.87 in 6.4.88) so opisali inhibitorje trombina, ki temeljijo na C-terminalnih bornokislinskih derivatih arginina in njihovih izotioronskih analogih.

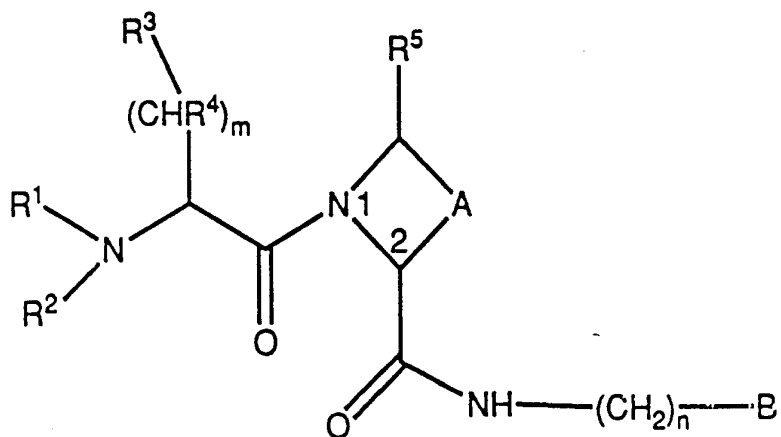
Cilj pričujočega izuma je poskrbeti za nove in učinkovite trombinske inhibitorje s kompetitivno inhibitorno aktivnos-

Spojine

Spojine izuma se nanašajo na peptidno sekvenco A α verige človeškega fibrinogena, ki predstavlja modificirane podpoložaje P₉, P₂ in P₁:



Po izumu smo odkrili da so spojine s splošno formulo I, bodisi kot take ali v obliki fiziološko sprejemljivih soli, ter vključno stereoisomere, učinkoviti inhibitorji trombina:



Formula I

kjer:

A pomeni metilensko skupino, ali

A pomeni etilensko skupino in 5 članski obroč, ki je posledica tega, lahko ima ali pa ne eden ali dva atoma fluora, hidroksi skupino ali okso skupino na položaju 4, in je ali pa ni nenasičen, ali

A pomeni $-\text{CH}_2-\text{O}-$, $\text{CH}_2-\text{S}-$, $\text{CH}_2-\text{SO}-$, s funkcionalno skupino, ki vsebuje heteroatom na položaju 4, ali

A pomeni n-propilensko skupino in 6 članski obroč, ki je posledica tega, lahko ima ali pa ne na položaju 5 en atom fluora, hidroksi skupino ali okso skupino, ima dva atoma fluora na enem od položajev 4 ali 5 ali je nenasičen na položaju 4 in 5, ali ima na položaju 4 alkilno skupino z 1 do 4 atomi ogljika, ali

A pomeni $-\text{CH}_2-\text{O}-\text{CH}_2-$, $-\text{CH}_2-\text{S}-\text{CH}_2-$, $-\text{CH}_2-\text{SO}-\text{CH}_2-$;

R^1 pomeni H, alkilno skupino, ki ima 1 do 4 ogljikova atoma, hidroksialkilno skupino, ki ima 2-3 ogljikova atoma ali $\text{R}^{11}\text{OOC-alkil-}$, kjer ima alkilna skupina 1 do 4 ogljikove atome in je R^{11} H ali alkilna skupina, ki ima 1 do 4 ogljikove atome ali alkilenska skupina, ki ima 2-3 ogljikova atoma intramolekularno vezane alfa v odnosu na karbonilno skupino v R^1 , ali

R^1 pomeni $\text{R}^{12}\text{OOC-1,4-fenil-CH}_2-$, kjer je R^{12} H ali alkilna skupina, ki ima 1 do 4 ogljikove atome, ali

R^1 pomeni $\text{R}^{13}\text{-NH-CO-alkil-}$, kjer ima alkilna skupina 1 do 4 ogljikove atome in je lahko substituirana alfa v odnosu na karbonil z alkilno skupino, ki ima 1 do 4 ogljikove atome in kjer je R^{13} H ali alkilna skupina, ki ima 1 do 4 ogljikove atome ali $-\text{CH}_2\text{COOR}^{12}$, kjer je R kot ga definiramo zgoraj,

ali

R^1 pomeni $R^{12}OOC-CH_2-COO-$ alkil-, kjer ima alkilna skupina 1 do 4 ogljikove atome in je lahko substituirana alfa v odnosu na karbonilno skupino z eno alkilno skupino, ki ima 1 do 4 ogljikove atome in kjer je R^{12} kot ga definiramo zgoraj, ali

R^1 pomeni CH_3SO_2- , ali

R^1 pomeni $R^{12}OCOCO-$ kjer je R^{12} kot ga definiramo zgoraj, ali

R^1 pomeni $-CH_2PO(OR^{14})_2$, $-CH_2SO_3H$ ali $-CH_2-(5-(1H)-tetrazolil)$ kjer je R^{14} , posamezno vsakič ko se pojavi, H, metil ali etil;

R^2 pomeni H ali alkilno skupino, ki ima 1 do 4 ogljikove atome ali $R^{21}OOC-$ alkil-, kjer ima alkilna skupina 1 do 4 ogljikove atome in je lahko substituirana na legi, ki je alfa v odnosu na karbonilno skupino, in je alfa substituenta skupina $R^{22}-CH_2)_p-$, kjer je $p = 0-2$ in je R^{22} metil, fenil, OH, $COOR^{21}$, in R^{21} je H ali alkilna skupina, ki ima 1 do 4 ogljikove atome;

m je 0, 1 ali 2, R^3 pomeni cikloheksilno skupino in R^4 pomeni H, ali

m je 1 in R^3 pomeni cikloheksil ali fenilno skupino in R^4 tvori etilenski most skupaj z R^1 , ali

m je 1 in R^3 in R^4 vsak pomeni cikloheksil ali fenilno skupino;

R^5 pomeni H ali alkilno skupino, ki ima 1 do 4 ogljikove atome;

n je celo število 2 do 6; in

B pomeni $-N(R^6)-C(NH)-NH_2$, kjer je R^6 H ali metilna skupina, ali

B pomeni $-S-C(NH)-NH_2$, ali $-C(NH)-NH_2$.

Alkilna skupina je lahko nerazvejana ali razvejana, če ni drugače specificirano. Alkilne skupine, ki imajo 1 do 4 ogljikove atome so metil, etil, n-propil, i-propil, n-butil, i-butil, s-butil in t-butil. Ko omenjamo nenasičenost mislimo na dvojno vez ogljik-ogljik. Okrajšave so navedene na koncu te specifikacije.

Prednostna realizacija izuma se nanaša na spojine s formulo I, kjer R^1 pomeni $R^{11}OOC$ -alkil-, kjer ima alkilna skupina 1 do 4 ogljikove atome in R^{11} je H. Med temi spojinami so prednostne spojine tiste kjer je A etilen in R^5 je H ali alkilna skupina, ki ima 1 do 4 ogljikove atome, posebej dajemo prednost tistim, kjer R^5 pomeni H.

Drugo prednostno podskupino spojin s formulo I tvorijo tiste spojine kjer je R^3 cikloheksil, m je pa 1 ali 2, zlasti če je m 1 in R^4 H.

Druga prednostna skupina spojin so spojine v katerih je A n-propilen, obroč ki je posledica tega, pa lahko ima ali pa ne na položaju 4 alkilno skupino z 1 do 4 ogljikovimi atomi in R^5 je H ali alkilna skupina, ki ima 1 do 4 ogljikove atome, zlasti tiste kjer R^5 pomeni H.

Po drugi prednostni realizaciji je n 3.

Dajemo prednost spojinam s formulo I, ki imajo S-konfiguracijo na α -amino kislini na položaju P2, med njimi so pa zlasti prednostne tiste spojine, ki imajo R-konfiguracijo na α -amino kislini na položaju P3.

Spojine izuma katerim dajemo prednost so:

<u>Primer št.</u>	<u>Spojina</u>
1	H-(R)Cha-Pro-Agm
2	Me-(R)Cha-Pro-Agm
3	HO-(CH ₂) ₃ -(R)Cha-Pro-Agm
4	HOOC-CH ₂ -(R)Cha-Pro-Agm
5	ⁱ PrOOC-CH ₂ -(R)Cha-Pro-Agm
6	HOOC-CH ₂ -(Me) (R)Cha-Pro-Agm
7	HOOC-(R, S)CH(Me) - (R)Cha-Pro-Agm
8	HOOC-(RorS)CH(Me) - (R)Cha-Pro-Agm/a
9	HOOC-(RorS)CH(Me) - (R)Cha-Pro-Agm/b
10	HOOC-(RorS)CH(ⁿ Pr) - (R)Cha-Pro-Agm/a
11	HOOC-(RorS)CH(ⁿ Pr) - (R)Cha-Pro-Agm/b
12	HOOC-(RorS)CH(Ph) - (R)Cha-Pro-Agm/b
13	HOOC-(R, S)CH(CH ₂ CH ₂ Ph) - (R)Cha-Pro-Agm
14	HOOC-(RorS)CH(CH ₂ CH ₂ Ph) - (R)Cha-Pro-Agm/a
15	HOOC-CH ₂ -CH ₂ -(R)Cha-Pro-Agm
16	EtOOC-CO-(R)Cha-Pro-Agm
17	(R, S)Bla-(R)Cha-Pro-Agm
18	HOOC-(RorS)CH(CH ₂ CH ₂ Ph) - (R)Cha-Pro-Agm/b
19	H-(R)Cha-Pro-Nag
20	ⁿ Bu-(R)Cha-Pro-Nag
21	HO-(CH ₂) ₃ -(R)Cha-Pro-Nag
22	HOOC-CH ₂ -(R)Cha-Pro-Nag
23	EtOOC-CH ₂ -(R)Cha-Pro-Nag
24	ⁿ PrOOC-CH ₂ -(R)Cha-Pro-Nag
25	^t BuOOC-CH ₂ -(R)Cha-Pro-Nag
26	HOOC-CH ₂ -OOC-CH ₂ -(R)Cha-Pro-Nag
27	H ₂ N-CO-CH ₂ -(R)Cha-Pro-Nag
28	HOOC-CH ₂ -NH-CO-CH ₂ -(R)Cha-Pro-Nag
29	(HOOC-CH ₂) ₂ -(R)Cha-Pro-Nag
30	HOOC-CH ₂ -(Me) (R)Cha-Pro-Nag

31	$\text{HOOC}-\text{CH}_2-(\text{nBu})-(\text{R})\text{Cha}-\text{Pro}-\text{Nag}$
32	$\text{HOOC}-(\text{R},\text{S})\text{CH}(\text{Me})-(\text{R})\text{Cha}-\text{Pro}-\text{Nag}$
33	$\text{HOOC}-(\text{RorS})\text{CH}(\text{Me})-(\text{R})\text{Cha}-\text{Pro}-\text{Nag/a}$
34	$\text{HOOC}-(\text{RorS})\text{CH}(\text{Me})-(\text{R})\text{Cha}-\text{Pro}-\text{Nag/b}$
35	$\text{EtOOC}-(\text{R},\text{S})\text{CH}(\text{Me})-(\text{R})\text{Cha}-\text{Pro}-\text{Nag}$
36	$\text{HOOC}-(\text{RorS})\text{CH}(\text{nPr})-(\text{R})\text{Cha}-\text{Pro}-\text{Nag/a}$
37	$\text{HOOC}-(\text{R})\text{CH}(\text{CH}_2-\text{OH})-(\text{R})\text{Cha}-\text{Pro}-\text{Nag}$
38	$\text{HOOC}-(\text{R},\text{S})\text{CH}(\text{Ph})-(\text{R})\text{Cha}-\text{Pro}-\text{Nag}$
39	$\text{HOOC}-(\text{S})\text{CH}(\text{CH}_2\text{CH}_2\text{Ph})-(\text{R})\text{Cha}-\text{Pro}-\text{Nag}$
40	$\text{HOOC}-(\text{R})\text{CH}(\text{CH}_2\text{CH}_2\text{Ph})-(\text{R})\text{Cha}-\text{Pro}-\text{Nag}$
41	$\text{HOOC}-\text{CH}_2-\text{CH}_2-(\text{R})\text{Cha}-\text{Pro}-\text{Nag}$
42	$\text{EtOOC}-\text{CH}_2-\text{CH}_2-(\text{R})\text{Cha}-\text{Pro}-\text{Nag}$
43	$\text{HOOC}-(\text{CH}_2)_3-(\text{R})\text{Cha}-\text{Pro}-\text{Nag}$
44	$\text{EtOOC}-(\text{CH}_2)_3-(\text{R})\text{Cha}-\text{Pro}-\text{Nag}$
45	$\text{HOOC}-\text{CO}-(\text{R})\text{Cha}-\text{Pro}-\text{Nag}$
46	$\text{MeOOC}-\text{CO}-(\text{R})\text{Cha}-\text{Pro}-\text{Nag}$
47	$(\text{R},\text{S})\text{Bla}-(\text{R})\text{Cha}-\text{Pro}-\text{Nag}$
48	$\text{HOOC}-(\text{R},\text{S})\text{CH}(\text{CH}_2\text{COOH})-(\text{R})\text{Cha}-\text{Pro}-\text{Nag}$
49	$\text{MeOOC}-(\text{R},\text{S})\text{CH}(\text{CH}_2\text{COOMe})-(\text{R})\text{Cha}-\text{Pro}-\text{Nag}$
50	$\text{HOOC}-\text{Ph}-4-\text{CH}_2-(\text{R})\text{Cha}-\text{Pro}-\text{Nag}$
51	$(\text{HO})_2\text{P}(\text{O})-\text{CH}_2-(\text{R})\text{Cha}-\text{Pro}-\text{Nag}$
52	$\text{EtO}(\text{HO})\text{P}(\text{O})-\text{CH}_2-(\text{R})\text{Cha}-\text{Pro}-\text{Nag}$
53	$(\text{EtO})_2\text{P}(\text{O})-\text{CH}_2-(\text{R})\text{Cha}-\text{Pro}-\text{Nag}$
54	$\text{HOOC}-\text{CH}_2-(\text{R})\text{Cha}-\text{Pro}-\text{Mag}$
55	$\text{H}-(\text{R},\text{S})\text{Pro}(3-\text{Ph})-\text{Pro}-\text{Agm}$
56	$\text{H}-(\text{R},\text{S})\text{Pro}(3-(\text{trans})\text{Ch})-\text{Pro}-\text{Agm}$
57	$\text{HOOC}-\text{CH}_2-(\text{R},\text{S})\text{Pro}(3-(\text{trans})\text{Ph})-\text{Pro}-\text{Agm}$
58	$\text{HOOC}-\text{CH}_2-(\text{R},\text{S})\text{Pro}(3-(\text{trans})\text{Ph})-\text{Pro}-\text{Nag}$
59	$\text{HOOC}-\text{CH}_2-(\text{R})\text{Cha}-\text{Pic}-\text{Agm}$
60	$\text{HOOC}-\text{CH}_2-(\text{Me})-(\text{R})\text{Cha}-(\text{R},\text{S})\text{Pic}-\text{Agm}$
61	$\text{HOOC}-(\text{R},\text{S})\text{CH}(\text{Me})-(\text{R})\text{Cha}-\text{Pic}-\text{Agm}$
62	$\text{HOOC}-(\text{RorS})\text{CH}(\text{Me})-(\text{R})\text{Cha}-\text{Pic}-\text{Agm/a}$
63	$\text{HOOC}-(\text{RorS})\text{CH}(\text{Me})-(\text{R})\text{Cha}-\text{Pic}-\text{Agm/b}$
64	$\text{HOOC}-\text{CH}_2-\text{CH}_2-(\text{R})\text{Cha}-\text{Pic}-\text{Agm}$

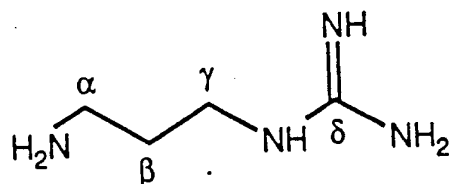
65	H-(R)Cha-Pic-Nag
66	Me-(R)Cha-(R,S)Pic-Nag
67	HOOC-CH ₂ -(R)Cha-Pic-Nag
68	MeOOC-CH ₂ -(R)Cha-Pic-Nag
69	ⁱ PrOOC-CH ₂ -(R)Cha-Pic-Nag
70	HOOC-CH ₂ -(Me)(R)Cha-(RorS)Pic-Nag/b
71	HOOC-(R,S)CH(Me)-(R)Cha-(R,S)Pic-Nag
72	HOOC-(RorS)CH(Me)-(R)Cha-(RorS)Pic-Nag/c
73	HOOC-(RorS)CH(Me)-(R)Cha-(RorS)Pic-Nag/d
74	HOOC-CH ₂ -CH ₂ -(R)Cha-Pic-Nag
75	HOOC-CH ₂ -(R)Cha-(R,S)Mor-Agm
76	HOOC-CH ₂ -(R)Cha-(RorS)Mor-Nag
77	H-(R)Cha-Aze-Nag
78	HOOC-CH ₂ -(R)Cha-Aze-Nag
79	H-(R)Cha-Pro(5-(S)Me)-Nag
80	HOOC-CH ₂ -(R)Cha-Pro(5-(S)Me)-Nag
81	HOOC-CH ₂ -(R)Cha-(RorS)Pic(4,5-dehydro)-Nag/b
82	HOOC-CH ₂ -(R)Cha-Pic(4-(S)Me)-Nag
83	HOOC-CH ₂ -(R)Cha-(R)Pic(4-(R)Me)-Nag
84	HOOC-CH ₂ -(R)Cgl-Pic-Nag
85	H-(R)Hoc-Pro-Nag
86	HOOC-CH ₂ -(R)Hoc-Pro-Nag
87	HOOC-CH ₂ -(R)Hoc-Pic-Nag
88	HOOC-CH ₂ -(R)Dph-Pic-Nag
89	HOOC-CH ₂ -(R)Dch-Pic-Nag
90	HOOC-CH ₂ -(R)Cha-Pro(5-(R,S)Me)-Nag
91	H-(R)Cha-Pic(4-(R)Me)-Nag
92	HOOC-CH ₂ -(R)Cha-Pic(4-(R)Me)-Nag
93	HOOC-CH ₂ -(R)Cha-Pic(6-(S)Me)-Nag

Med temi spojinami dajemo posebno prednost spojinam, ki jih navajamo pod primeri št. 4, 6, 9, 22, 30, 34, 59, 63, 67, 73, 80 in 82, med temi so pa zlasti prednostne naslednje spojine:

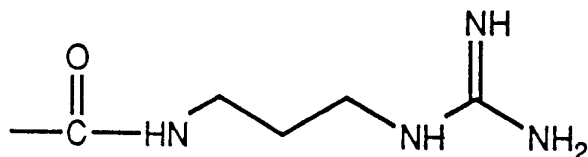
30	HOOC-CH ₂ -(Me) (R) Cha-Pro-Nag
34	HOOC-(RorS) CH(Me) - (R) Cha-Pro-Nag/b
67	HOOC-CH ₂ -(R) Cha-Pic-Nag

V zgornjem popisu spojin se črke /a, /b, /c in /d nanašajo na bistveno čiste stereoizomere na ogljikovem atomu označenem "RaliS". Stereoizomer lahko identificiramo za vsako spojino z referenco na eksperimentalni del v tem besedilu. "R,S" označuje zmes stereoizomerov.

V nadaljni realizaciji se izum nanaša na novo uporabo spojine s formulo:



kot izhodiščnim materialom v sintezi inhibitorja serinske proteaze in zlasti v sintezi trombinskega inhibitorja. Lahko ga uporabimo kot takega, ali če ima gvanidino skupino bodisi mono zaščiteno na δ -dušiku ali dizaščiteno na δ -dušikih ali γ , δ -dušikih, prednostno s zaščitno skupino kot je benziloksi karbonil. Zaščito derivatov noragmatina izvajamo z metodami, ki so v stroki znane za gvanidino spojine. To spojino tu imenujemo "noragmatin" ali Nag". Spojino so pred tem med ostalim razkrili kot pospeševalca razbarvanja las v GB 1,599,324 (Henkel, datum prioritete 5.2.1977). Strukturni fragment s formulo



pa pred tem niso razkrili kot strukturnega elementa v farmacevtsko aktivni spojini. Kot tak strukturni element povzroči fragment "noragmatin", da inhibitor serinske proteaze, predvsem trombinski inhibitor, postane koristen.

Medicinska in farmacevtska uporaba

V nadaljni realizaciji se izum nanaša na zdravljenje stanja v človekovem ali živalskem organizmu, ki zahteva inhibicijo trombina. Od spojin izuma pričakujemo, da bodo koristne posebej pri živalih vključno pri človeku v zdravljenju ali profilaksi tromboze in hiperkoagulacije v krvi in tkivih. Nadalje pričakujemo, da bo izum koristen v razmerah ko prihaja do nezaželenega presežka trombina brez znakov hiperkoagulacije. Med bolezenska stanja pri katerih so spojine potencialno koristne pri zdravljenju in/ali profilaksi so vključene venozna tromboza in pljučna embolija, arterijska tromboza, tako kot pri infarktu miokarda, občasna angina, napadi bolezni, ki jih povzroča tromboza ter periferna arterijska tromboza. Nadalje, spojine so pričakovano uporabne v profilaksi aterosklerotičnih bolezni takih kot

bolezen koronarnih arterij, bolezen cerebralnih arterij in bolezen perifernih arterij. Nadalje pričakujemo, da bodo spojine koristne če jih uporabimo skupaj s trombolitiki pri trombotičnih obolenjih, posebej pri infarktu miokarda. Nadalje, spojine so pričakovano koristne v profilaksi reokluzije po trombolizi, perkutani trans-luminalni angioplastiji (PTCA) in operacijah premoščevanja zoženih koronarnih arterij. Nadalje so spojine pričakovano koristne v preprečevanju ponovljene tromboze po mikrokirurških posegih. Nadalje pričakujemo, da bodo spojine koristne v protikoagulacijskem zdravljenju v zvezi z umetnimi organi in srčnimi zaklopkami. Spojine so prav tako pričakovano koristne v protikoagulacijskem zdravljenju pri hemodializi in razširjeni intravaskularni koagulaciji.

Nadaljna pričakovana uporabnost se kaže pri izpiranju kateterjev in mehaničnih naprav, ki jih uporabljamo pri bolnikih *in vivo* in kot protikoagulant za konserviranje krvi, plazme in drugih produktov pridobljenih iz krvi *in vitro*.

Farmacevtski sestavki

Spojine s formulo I bomo normalno dajali po oralni, rektalni, kožni, nazalni ali parenteralni poti v obliki farmacevtskih pripravkov, ki vsebujejo aktivno sestavino bodisi kot prosto bazo ali kot farmacevtsko sprejemljivo netoksično adicijsko sol, npr. hidoklorid, hidrobromid, laktat, acetat, citrat, p-toluensulfonat, trifluoroacetat in podobno, v farmacevtsko sprejemljivi dozirni obliki.

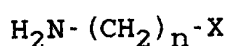
Dozirna oblika je lahko trden, poltrden ali pa tekoči pripravek, ki smo ga pripravili s *per se* znanih tehnikah.

Običajno bo aktivna substanca zajemala med 0,1 in 99% na maso pripravka, bolj specifično med 0,1 in 50% na maso za pripravke, ki smo jih namenili parenteralnem dajanju in med 0,2 in 75% na maso za pripravke, ki so primerni za oralno uporabo.

Primerne dnevne doze spojin izuma v terapevtskem zdravljenju ljudi so med 0,001-100 mg/kg telesne mase pri peroralnem dajanju in 0,001-50 mg/kg telesne mase pri parenteralnem dajanju.

Priprava

Nadaljni cilj izuma je način priprave spojin. Spojine s formulo I lahko pripravimo tako, da sklopimo N-terminalno zaščiteno aminokislino ali dipeptid ali prej oblikovan N-terminalno alkiliran zaščiten dipeptid s spojino



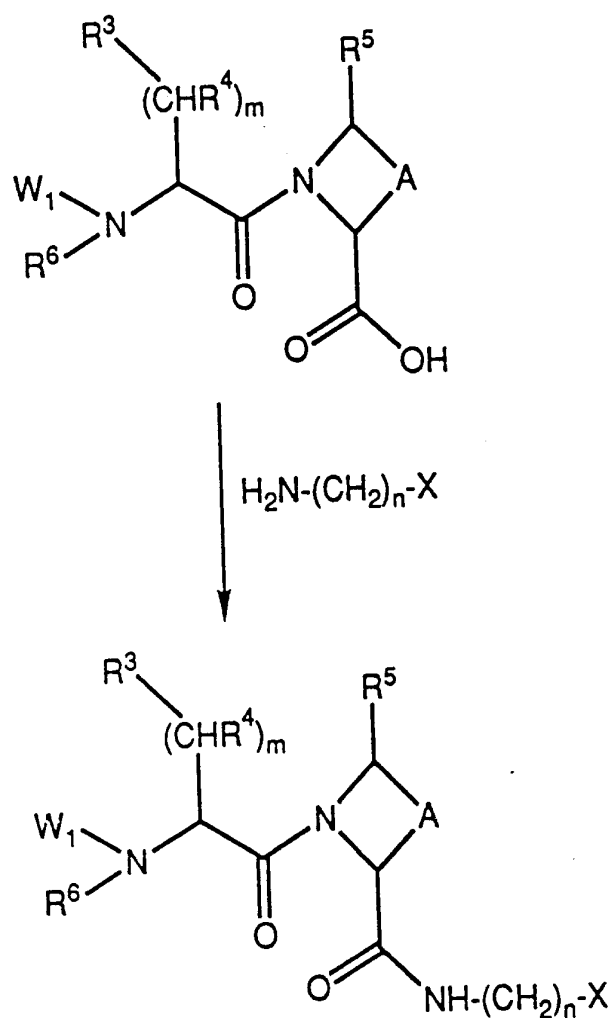
kjer je n kot smo ga definirali s formulo I, X pa je nezaščitena ali zaščitena gvanidino skupina ali zaščitena amino skupina ali skupina, ki jo lahko premestimo na amino skupino, kjer amino skupino naknadno premestimo na gvanidino skupino.

Torej sklapljanje izpeljemo z eno od naslednjih metod:

Metoda I

Sklapljanje N-terminalno zaščenega dipeptida, ki smo ga

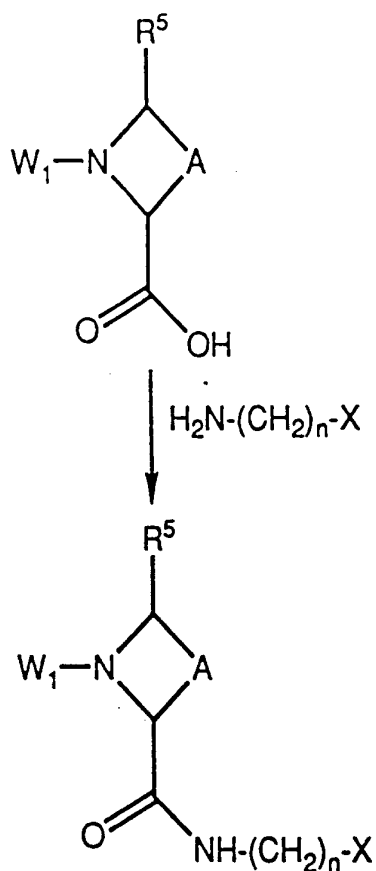
pripravili s standardni sklapljanjem peptidov, z bodisi zaščitenim ali nezaščitenim amino gvanidinom ali nerazvejano alkilaminsko verigo, ki nosi zaščiteni ali maskirano amino skupino na terminalnem delu alkilne verige, s uporabo standardnega sklapljanja peptidov, kot je pokazano v formuli



kjer so R^3 , R^4 , R^5 , n , m in A kot jih definiramo v formuli I, R^6 je H ali alkil, W_1 je amino zaščitna skupina taka kot terciarni butoksi karbonil in benziloksi karbonil in X je $-NH-C(NH)NH_2$, $-NH-C(NH)NH-W_2$ $-N(W_2)-C(NH)NH-W_2$, $-NH-C(NW_2)-NH-W_2$ ali $-NH-W_2$, kjer je W_2 amino zaščitna skupina taka kot terciarni butoksi karbonil ali benziloksi karbonil, ali pa je X maskirana amino skupina taka kot je azid, ki daje zaščiteni peptid. Končne spojine lahko pripravimo na kateri koli od naslednjih načinov, odvisno od narave skupine X , ki smo jo uporabili: odstranitev zaščitne(ih) skupin(e) (kadar $X = -NH-C(NH)NH_2$, $NH-C(NH)NH-W_2$, $-N(W_2)-C(NH)NH-W_2$, $-NH-C(NW_2)NH-W_2$) ali selektivna deprotekcija skupine W_1 (npr. kadar $X = -NH-C(NH)NH-W_2$, $-N(W_2)-C(NH)NH-W_2$, $-NH-C(NW_2)NH-W_2$, W_2 mora biti v tem primeru ortogonalno z ozirom na W_1), ki mu sledi alkiliranje N-terminalnega dušika in deprotekcija ali selektivna deprotekcija/demaskiranje terminalne alkilamino funkcije ($X = NH-W_2$, W_2 mora v tem primeru biti ortogonalno z ozirom na W_1 ali $X =$ maskirana amino skupina, taka kot azid), ki mu sledi reakcija gvanidiranja, s uporabo standardnih metod, prostega amina in deprotekcija W_1 -skupine.

Metoda II

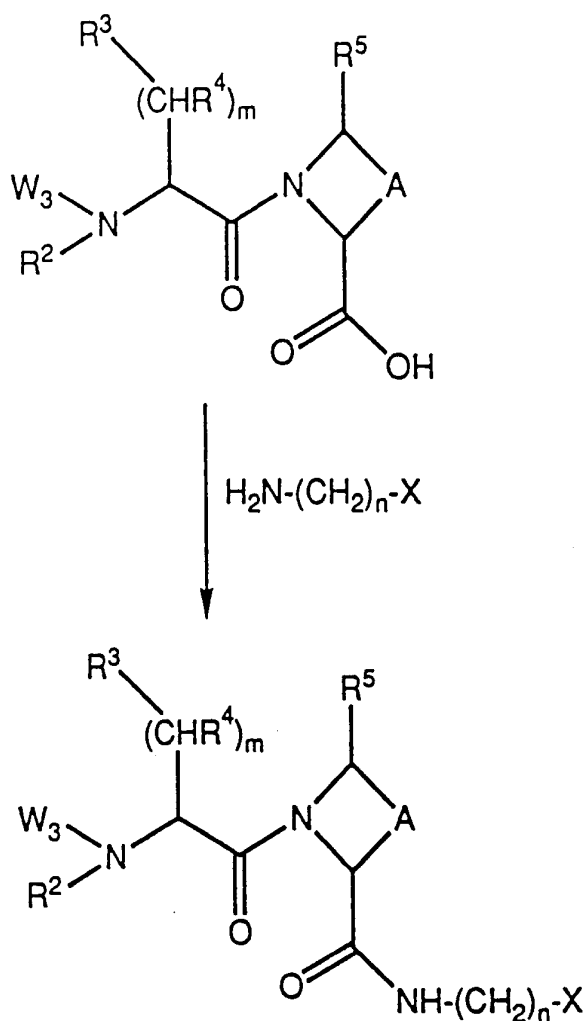
Sklapljanje N-terminalno zaščitene amino kisline, ki smo jo pripravili s standardnimi metodami, z bodisi zaščitenim ali nezaščitenim amino gvanidinom ali nerazvejano alkilaminsko verigo, ki nosi zaščiteno ali maskirano amino skupino na terminalnem delu alkilne verige, s uporabo standardnega sklapljanja peptidov, kot je pokazano v formuli



kjer so W_1 , A, R^5 in X kot jih definiramo zgoraj, ki mu sle-
 si deprotekcija W_1 skupine in sklapljanje z N-terminalno
 amino kislino, v zaščiteni obliki, kar pripelje do
 zaščenega peptida, ki smo ga opisali v metodi I ali III,
 odvisno od izbire načina substitucije na dušiku N-terminalne
 amonikisline, ki smo jo uporabili pri sklapljanju. Sintezo
 nato nadaljujemo po metodi I ali metodi III, da dobimo
 končne peptide.

Metoda III

Skapljanje predhodno N-terminalno alkiliranega in
 zaščenega dipeptida, ki ga pripravimo s standardnim
 skapljanjem peptidov, z bodisi zaščitenim ali nezaščitenim
 amino gvanidinom ali nerazvejano alkilaminsko verigo, ki
 nosi zaščiteni ali maskirano amino skupino na terminalnem
 delu alkilne verige, s uporabo standardnega skapljanja pep-
 tidov, kot je pokazano v formuli



kjer so R^2 , R^3 , R^4 , R^5 , n , m , A in X kot jih definiramo zgoraj, če je preskrbljeno, da je R^2 drugačen od H in da je W_3 acilna zaščitna skupina taka kot trifluoroacil.

Končne spojine pripravimo na kateri koli od naslednjih načinov, odvisno od narave skupine X , ki smo jo uporabili: odstranitev zaščitnih skupin (kadar $X = -NH-C(NH)NH_2$, $NH-C(NH)NH-W_2$, $-N(W_2)-C(NH)NH-W_2$, $-NH-C(NW_2)NH-W_2$) ali selektivna deprotekcija/demaskiranje terminalne alkilamino funkcije ($X = NH-W_2$, W_2 mora v tem primeru biti ortogonalno z ozirom W_3 ali $X =$ maskirana amino skupina, taka kot azid), ki mu sledi deprotekcija W_3 -skupine, z gvanidiranjem.

PODROBEN OPIS IZUMA

Naslednji opis pojasnjuje podobo izuma

EKSPERIMENTALNI DEL

Sinteza spojin, na katere se iznajdba nanaša, je razložena v shemah od I od IV, v dodatku.

Splošni eksperimentalni postopek

Meritve, ^1H NMR in ^{13}C NMR, smo opravili s pomočjo spektrometrov BRUKER AC-P 300 in BRUKER AM 500, prvi je meril ^1H pri frekvenci 500.14 MHz in ^{13}C pri frekvenci 125.76 MHz, drugi pa ^1H in ^{13}C pri frekvencah 300.13 MHz oziroma 75.46 MHz.

Vzorci, 10 - 50 mg, smo raztopili v 0.6 ml enega od naslednjih topil: CDCl_3 (izotopna čistoča > 99.8%, Dr. Glaser AG Basel), CD_3OD (izotopna čistoča > 99.95%, Dr. Glaser AG Basel) ali D_2O (izotopna čistoča >99.98%, Dr. Glaser AG Basel).

Vrednosti kemičnih premikov, ^1H in ^{13}C , v CDCl_3 in CD_3OD so relativne glede na tetrametilsilan, kot eksterni standard. ^1H kemični premiki v D_2O , so relativni na natrijevo sol 3-(trimetilsilil)- d_4 -propranojske kisline in kemični premiki ^{13}C v D_2O , so relativni glede na 1,4-dioksana (67.3 ppm), oba kot eksterna standarda. V nekaterih primerih, lahko uravnavanje na eksterni standard, povzroči manjše razlike v premikih, glede na interni standard, vendar je razlika v ^1H kemičnem premiku manjša kot 0.02 ppm in ^{13}C manjša kot 0.1 ppm.

^1H NMR spekter peptidnega zaporedja, s prolinskim zaostankom, pogosto kaže dve seriji resonanc. To se ujema z

obstoje različnih konformer, zaradi vrtenja okrog amidne vezi, kjer je prolin vezan na N-del amidne vezi. Konformeri imenujemo **cis** in **trans**. Pri naši spojini zaporedje (R)Cha-Pro- in -(R)Cha-Pic- povzroči, da v cis-trans ravnotežju, ena od konformer prevladuje (> 90%). V takih primerih so navedeni le ¹H kemijski premiki glavne rotamere.

Tenkoplastano kromatografijo smo izvedli na komercialnih Merckovih steklenih ali aluminijastih ploščah, prevlečenih s Silikagelom 60F₂₅₄. Izdelane kromatografske plošče smo najprej osvetljevali UV lučjo in nato nanje razprševali raztopino, pripravljeno z mašanjem in segrevanje 372 ml etanola (95%), 13.8 ml koncentrirane H₂SO₄, 4.2 ml koncentrirane ocetne kisline in 10.2 ml p-metoksibenzaldehida ali fosfomolibdijske kisline (5-10 ut.% v 95% etanolu).

"Flash" kromatografijo smo izvedli na Merckovih Silicagel 60 ploščah, (40-63 mm, 230-400 mreža), pod pritiskom N₂.

Obnjeno-fazno visoko tlačno tekočinsko kromatografijo, (v primerih označena z RPLC), smo izvedli na aparatu Waters M-590, opremljenim s tremi obrnjeno faznimi kolonami Kromasil 100, C8 (Eka-Nobel) različnih dimenzij: za analizo (4.6 mm x 250 mm), semipreparativno (1" x 250 mm) in preparativno (2" x 500 mm) kromatografijo in detektirali pri 226 nm.

Sublimacijsko sušenje (liofilizacijo) smo izvedli na aparatu Leybold-Haraeus, model Lyovac GT 2.

Zaščitni postopki**Boc-(R)Cha-OH**

V raztopino, 21.55 g (125.8 mmol) H-(R)Cha-OH v 130 ml 1M NaOH in 65 ml THF, smo dodali 30 g (137.5 mmol) (Boc)₂O in raztopino 4.5 ure mešali pri sobni temperaturi. THF smo odparili in dodali še 150 ml vode. Nalkaljeno vodno fazo smo 2-krat sprali z EtOAc, nakisali z 2M KHSO₄ in 3-krat ekstrahirali s 150 ml EtOAc. Združene organske faze smo sprali z vodo, solnico in sušili (Na₂SO₄). Topilo smo odparili in dobili 30.9 g (90.5%) naslovne spojine, kot belo trdnino snov.

Z-(R)Cha-OH

Pripravljena po enakem postopku, kot je opisan v Bodanszky M. in Bodanszky A. "Sinteza peptidov v praksi.", Springer-Verlag, 1984, str. 12, izhajajoč iz H-(R)Cha-OH.

Boc-(Me)Phe-OH

Pripravljena, na enak način, kot Boc-(R)Cha-OH iz Me-(R)Phe-OH.

Boc-(R,S)Pro(3-(trans)Ph)-OH

V, intenzivno mešano, raztopino 2.0 g (8.8 mmol, 1 ekv.) H-(R,S)Pro(3-(trans)Ph)-OH x HCl (pripravljeno, kot je opisano v J. Org. Chem., 55, str. 270-75, 1990 in J. Org. Chem., 39, str. 1710-1716, 1974) v 17.6 ml 1N NaOH, 12 ml H₂O in 12 ml THF, pri +5°C, smo dodali 2.33 g (Boc)₂O, (10,7 mmol, 1.2 ekv.). Temperatura reakcije se je lahko

dvignila na sobno temperaturo, z mešanjem smo nadaljevali še naslednjih 18 ur. Odparili smo organsko topilo in preostanku dodali 50 ml vode. Naalkaljeno vodno fazo smo sprali 2-krat s 50 ml EtOAc in nakisali z 2M KHSO₄ (pH okoli 1). Nakisano vodno fazo smo ekstrahirali 4-krat s 75 ml EtOAc ter združene organske faze sprali 1-krat s 40 ml H₂O, 1-krat s 40 ml solnice in sušili (MgSO₄). Po odparitvi topila smo dobili 2.0 g (78%) čistega, belega, trdnega produkta.

¹H-NMR (CDCl₃, 500 MHz, zmes dveh rotamer): δ 1.4 in 1.5 (2s, 9H), 2.0–2.1 (m, 1H), 2.3–2.4 (m, 1H), 3.45–3.88 (m, 3H), 4.3 in 4.45 (2d, 1H), 7.2 do 7.4 (m, 5H).

Boc-(R,S)Pro(3-Ph)-OH

Pripravljena, na zgoraj opisan način, iz cis/trans zmesi Boc-(R,S)Pro(3-Ph)-OH.

Boc-(R)Dph-OH

Pripravljena po metodi, ki jo je opisal K. Hsich et al. v J. Med. Chem., 32, str. 898, (1989), iz H-(R)Dph-OH.

Boc-(R)Dph-OH

Pripravljena, po enakem postopku, kot je opisan za H-(R)Cha-OH, izhajajoč iz H-(R)Hop-OH.

¹H-NMR (300 MHz, CDCl₃): δ 1.45 (s, 9H), 2.00 (m, 1H), 2.22 (m, 1H), 2.75 (bt, 2H), 4.36 (bs, 1H), 5.05 (bs, 1H), 7.15–7.33 (m, 5H).

Postopki za odstranitev zaščite

(a) Zaščiten peptid smo raztopili v 95% EtOH in hidrogenirali, v prisotnosti katalizatorja 5% Pd/C, pri atmosferskem pritisku, v presežka TFA ali HOAc (> 2 ekv.), približno 1-4 ure. Katalizator smo odfiltrirali, topilo odparili in dobljeni peptid (kot TFA ali HOAc sol), po sublimacijskem sušenju (H₂O), izolirali kot bel prašek.

(b) Enak postopek, kot je opisan pod (a), le da smo kot topilo uporabili zmes EtOH/H₂O (v približnem razmerju 5/1).

(c) Enak postopek, kot (a), le da smo kot topilo uporabili MeOH.

(d) Enak postopek, kot je opisano pod (a), le da smo kot kislino uporabili 2M HCl, da smo dobili njeno sol.

(e) Hidroliza estrov, ilustrativen primer:

EtOOC-CH₂-(R)Cha-Pro-Nag x 2 HOAc (0.4 mmol) smo raztopili v 1.5 ml MeOH in, pri sobni temperaturi, dodali 1.2 ml (1.2 mmola) 1M NaOH. Po treh urah, smo metanol odparili in preostanku dodali presežek HOAc, mešanico smo sublimacijsko sušili in čistili z RPLC (CH₃CN/0.1M NH₄OAc (70/30)). Čisti produkt je bil prašek, s 73% izkoristkom, po sublimacijskem sušenju vode.

(f) Cepitev t-butil estrov, ilustrativen primer:

t-butil ester smo raztopili v presežku TFA. Po 2 urah mešanja, pri sobni temperaturi, smo TFA odparili. Po čiščenju z aktivnim ogljem iz vodno/etanolne zmesi, smo vodo sublimacijsko sušili, da smo dobili željene spojine.

Priprava izhodnega materiala**H-Pic-OEt x HCl**

4.0 g (0.031 mol) L-pipekolinske kisline smo dispergirali v 100 ml absolutnega etanola in vanjo kratko uvajali plin HCl, toliko, da smo dobili bistro raztopino. Hladili smo jo na ledeni kopeli in po kapljicah dodali 17 ml tionil klorida, v 15 minutah. Ledeno kopel smo odstranili in zmes refluktirali 2.5 uri. Topilo smo odparili in dobili produkt v obliki klorida v kvavtitativnem izkoristku.

$^1\text{H-NMR}$ (300 MHz, D_2O): δ 1.33 (t, 3H), 1.8–2.1 (m, 5H), 2.3–2.5 (m, 1H), 3.1–3.3 (m, 1H), 3.5–3.7 (m, 1H), 4.14 (dd, 1H), 4.44 (q, 2H).

H-Pic-OMe x HCl

Pripravljena, na enak način, kot je opisano za H-Pic-OEt x HCl, le da smo EtOH nadomestili z MeOH.

H-Aze-OEt x HCl

Pripravljena, po enakem postopku, kot je opisan za H-Pic-OEt x HCl iz H-Aze-OH.

H-Pic(4-(s)Me)-OEt x HCl

Pripravljena, po enakem postopku, kot je opisan za H-Pic-OEt x HCl iz H-Pic(4-(S)Me)-OH (kupljen pri Synthelec, Lund, Švedska).

H-(R)Pic(4-(R)Me)-OEt x HCl

Pripravljena, po enakem postopku, kot je opisan za H-Pic-OEt x HCl iz H-(R)Pic(4-(R)Me)-OH (kupljena pri Synthelec, Lund, Švedska).

H-(R)Dph-OH

Pripravljena po splošni postopku, ki ga je podal A. Evans et al. v JACS, 112, 4011, (1990).

H-(R,S)Pic(4,5-dehidro)-OEt

3.05 g (18.1 mmol) H-(R,S)Pic(4,5-dehidro)-OH (pripravljena po postopku, ki ga je podal Burgstahler et al. v J. Org. Chem., 25, 4, str. 489-92, (1960)) smo raztopili v 75 ml EtOH/HCl (nasičena) in zmes refluktirali 5 ur. Topilo smo odparili in preostanek raztopili v vodi, naalkalili z vodno raztopino natrijevega hidroksida in 3-krat ekstrahirali z etilacetatom. Po sušenju (Na_2SO_4) in previdnem zgoščevanju, smo dobili 2.05 g (71%) zgoraj navedene spojine.

$^1\text{H-NMR}$ (CDCl_3): δ 1.28 (t, 3H), 1.88 (bs, NH), 2.2-2.4 (m, 2H), 3.45 (bs, 2H), 3.57 (dd, 1H), 4.21 (q, 2H), 5.68-5.82 (m, 2H).

Boc-(R)Cgl-OH

Boc-(R)Pgl-OH smo hydrogenirali, v prisotnosti 5% Rh/ Al_2O_3 , v MeOH, pri 5 MPa. Po filtriranju in odparitvi topila, smo dobili zgoraj navedeno spojino, ki smo jo uporabili brez nadaljnjega čiščenja.

$^1\text{H-NMR}$ (300 MHz, CDCl_3): δ 0.9–1.7 (m, 20H), 4.0–4.2 (m, 1H), 5.2 (d, 1H).

Boc-(R)Dch-OH

0.75 g, (2.2 mmol) Boc-(R)Dph-OH smo raztopili v 25 ml MeOH in dodali katalitične količine 5% Rh/ Al_2O_3 . Zmes smo 40 ur hydrogenirali pri 5 MPa in 50°C, filtrirali in po zgoščevanju dobili 0.72 g (93 %) zgoraj navedene spojine.

$^1\text{H-NMR}$ (CDCl_3): δ 0.9–2.0 (m, 32H), v primeru 1.45 (bs, 9H), 4.55 (bd) in 4.9 (bd); dve rotameri integrirani za skupno 1H, 5.7–6.1 (široko, NH).

H-(R)Pro(5-(S)Me)-OMe

Pripravljena, po postopku, ki ga je podal B. Gopalan et al. v J. Org. Chem., **51**, 2405, (1986).

H-Mor-OH

Pripravljena po metodi, ki jo je opisal K. Nakajama et al. Bull. Chem. Soc. Jpn., **51**(5), str. 1577–78, 1978 in ibid 60, str. 2963–2965, 1987.

H-Mor-OEt x HCl

Pripravljena, na enak način, kot H-Pic-OEt x HCl iz H-Mor-OH.

Boc-(R)Cha-OSu

Boc-(R)Cha-OH (1 ekv.), HOSu (1.1 ekv.) in DCC ali CME-CDI (1.1 ekv.) smo raztopili v acetonitrilu (okoli 2.5 ml/mmol kisline) in čez noč mešali pri sobni temperaturi. Precipitat, ki je nastal med reakcijo, smo odfiltrirali, topilo odparili in produkt sušili v vakumu. (Če smo v reakciji uporabili CME-CDI, smo preostanek, po odparitvi CH₂CN, raztopili v EtOAc in organsko fazo sprali z vodo, ter sušili. Po odparitvi topila smo dobili zgoraj navedeno spojino.)

¹H-NMR (500 MHz, CDCl₂, 2 rotameri v približnem razmerju 1:1) δ 0.85-1.1 (m, 2H), 1.1-1.48 (m, 4H), 1.5-1.98 (m, 16H; v primeru 1.55 (bs, 9H)), 2.82 (bs, 4H), 4.72 (bs, 1H, glavni rotamer), 4.85 (bs, 1H, stranski).

Boc-(Me)(R)Cha-OSu(i) Boc-(Me)(R)-Cha-OH

Raztopino 11,9 g (42.6 mmol) Boc-(Me)(R)Phe-OH v 150 ml MeOH smo hidrogenirali, v prisotnosti 5% Rh/Al₂O₃, pri 0.28 MPa, 24 ur. Nato smo katalizator odfiltrirali in odparili topilo in dobili bel trden produkt (95% izkoristek), ki smo ga v naslednjem koraku uporabili brez nadaljnega čiščenja.

H-NMR (500 MHz, CDCl₃, zmes dveh rotamer v približnem razmerju 1:1) δ 0.8-1.1 (m, 2H), 1.1-1.9 (m, 20H, v primeru 1.47 in 1.45 (s, 9H)), 2.82 in 2.79 (s, skupno 3H), 4.88 in 4.67 (m, skupno 1H).

(ii) Boc-(Me)(R)-Cha-OSu

Pripravljena, na enak način, kot je opisano za Boc-(R)Cha-OSu iz Boc-(Me)(R)Cha-OH.

Boc-(R)Cha-OSu

(i) Boc-(R)Cha-Pro-OH

H-(S)Pro-OH (680 mmol) smo raztopili v 0.87M natrijevem hidroksidu (750 ml) in po kapljicah, 20 minut, dodajali Boc-(R)Cha-OSu (170 mmol) raztopljen v DMF (375 ml). Reakcijsko zmes smo 20 ur mešali pri sobni temperaturi. Mešanico smo nakisali (2M KHSO₄) in ekstrahirali 3-krat z etilacetatom. Organske plasti smo združili in 3-krat sprali z vodo in 1-krat s solnico. Po sušenju z natrijevim sulfatom in odparitvi topila, smo sirupasto olje raztopili v dietiletru, topilo odparili in končni produkt sušili v vakumu, da smo dobili Boc-(R)Cha-Pro-OH v obliki belega praška, v skoraj kvantitativnem izkoristku.

¹H-NMR (500 MHz, CDCl₃, stranski rotamer 10%): δ 0.8–1.05 (m, 2H), 1.05–1.55 (m, 15H; v primeru 1.5 (bs, 9H)), 1.55–1.8 (m, 5H), 1.8–2.15 (m, 3H), 2.47 (m, 1H), 3.48 (m, 1H), 3.89 (m, 1H), 4.55 (m, 2H), 5.06 (m, 1H); signal stranskega rotamera 2.27 (m, 1H), 4.33 (m, 1H), 5.0 (m, 1H).

(ii) Boc-(R)Cha-Pro-OSu

Pripravljena, na enak način, kot je opisano za Boc-(R)Cha-OSu iz Boc-(R)Cha-Pro-OH

¹H-NMR (500 MHz, CDCl₃, 2 rotameri, v razmerju 5:1) δ 0.78–1.05 (m, 2H), 1.05–1.83 (m, 20H; v primeru 1.43 (bs, 9H)), 1.83–2.26 (m, 3H), 2.32 (m, 1H), 2.72–2.9 (m, 4H), 3.2 (m, 1H, stranski rotamer), 3.52 (m, 1H, glavni), 3.68 (m, 1H, stranski rotamer), 3.98 (m, 1H, glavni), 4.31 (bq, 1H,

stranski rotamer), 4.56 (bq, 1H, glavni), 4.71 (bt, 1H, glavni rotamer), 4.93 (bt, 1H stranski), 5.22 (bd, 1H, glavni rotamer), 5.44 (bd, 1H, stranski).

Z-(R)Cha-Pro-OSu

Pripravljena, na enak način, kot Boc-(R)Cha-Pro-OSu iz Z-(R)Cha-OH.

Boc-(R)Cha-Pic-OSu

(i) Boc-(R)Cha-Pic-OEt

Boc-(R)Cha-OH, 6.3 g, (0.023 mol), smo raztopili v 150 ml CH_2Cl_2 . Raztopini, ki smo jo hladili na ledeni kopeli, smo dodali 6.3 g (0.047 mol) N-hidroksibenzotriazola in 11.2 g (0.0265 mol) CME-CDI. Po 15 minutah smo ledeno kopel odstranili in reakcijsko zmes mešali 4 ure, pri sobni temperaturi. Topilo smo odparili, preostanek raztopili v 150 ml DMF in hladili na ledeni kopeli. Dodali smo 4.1 g (0.021 mol) H-Pic-OEt x HCl in z dodatkom N-metilmorfolina uravnali pH na približno 9. Po 15 minutah smo ledeno kopel odstranili in reakcijsko zmes mešali 3 dni. Topilo smo odparili in preostanek raztopili v etilacetatu in sprali z razredčenim KHSO_4 (aq), NaHCO_3 (aq) in vodo. Organsko plast smo sušili (Na_2SO_4) in zgostili, da smo dobili 7.7 g (89%) Boc-(R)Cha-Pic-OEt, ki smo ga uporabili brez nadaljnega čiščenja.

$^1\text{H-NMR}$ (500 MHz, CDCl_3 , 2 rotameri v razmerju 3:1) δ 0.7–1.0 (m, 2H), 1.1–1.9 (m, 29H; v primeru 1.28 (t, 3H)), 1.45 (bs, 9H), 2.01 (bd, 1H, glavni rotamer), 2.31 (bd, 1H), 2.88 (bt, 1H, stranski), 3.30 (bt, 1H, glavni), 3.80 (bd, 1H, glavni), 4.15–4.3 (m, 2H), 4.5–4.7 (m, 2H, stranski),

4.77 (bq, 1H, glavni), 4.90 (bd, 1H, stranski), 5.28 (bd, 1H, glavni), 5.33 (bd, 1H, glavni).

(ii) Boc-(R)Cha-Pic-OH

Boc-(R)Cha-Pic-OET, 5.6 g (0.014 mol), smo zmešali s 100 ml THF, 100 ml vode in 7 g LiOH. Zmes smo mešali pri sobni temperaturi, čez noč. THF smo odparili in vodno raztopino nakisali z vodno raztopino KHSO₄ in 3-krat ekstrahirali z etilacetatom. Združene organske faze smo sprali z vodo, sušili (Na₂SO₄) in po odparevanju dobili 4.9 g Boc-(R)Cha-Pic-OH, ki smo ga uporabili brez nadaljnega čiščenja. Spojino lahko prekrystaliziramo iz mešanice diizopropilni eter/heksan.

¹H-NMR (500 MHz, CDCl₃, 2 rotameri v razmerju 3.5:1) δ 0.8-1.1 (m, 2H), 1.1-2.1 (m, 27H; v primeru 1.43 (s, 9H, glavni rotamer), 1.46 (s, 9H, stranski)), 2.33 (bd, 1H), 2.80 (bt, 1H, stranski), 3.33 (bt, 1H, glavni), 3.85 (bd, 1H, glavni), 4.57 (bd, 1H, stranski), 4.68 (m, 1H, stranski), 4.77 (bq, 1H, glavni), 5.03 (bs, 1H, stranski), 5.33 (bd, 1H, glavni), 5.56 (m, 1H, glavni).

(iii) Boc-(R)Cha-Pic-OSu

Boc-(R)Cha-Pic-OH (1 g, 2.6 mmol) smo raztopili v DMF (15 ml) pri sobni temperaturi in nato ohladili na -18°C, ter jo obdržali tudi med dodajanjem reaktantov. Hidroksi sukcinimid (0.60 g, 5.2 mmol) smo dodali reakcijski zmesi, jo mešali še nekaj minut, dokler se kristali niso raztopili. Dicikloheksil karbodiimid (0.56 g, 2.7 mmol) smo raztopili v DMF (10 ml) in, prej ohlajeno, dodajali reakcijski zmesi po kapljicah. Po nekaj minutah pri -18°C smo reakcijsko zmes postavili v vodno kopel ogreto na 20°C 2 uri ob stalnem mešanju. Topilo smo odparili, dodali etilacetat (40 ml) in oborjeno ureo odfiltrirali. Organsko

fazo smo sprali 1-krat z vodo, 2-krat z 0.3M KHSO₄, 2-krat z razredčenim NaHCO₃, 1-krat z vodo, 1-krat s solnico in sušili (Na₂SO₄). Topilo smo odparili in produkt sušili v vakuumu, da smo dobili 1.16 g (93%) produkta. Glede na ¹H-NMR, produkt vsebuje dve diastereoizomeri (epimera v Pic, S/R) v razmerju 95/5.

¹H-NMR (300 MHz, CDCl₃, glavna diastereomera) δ 0.7-2.0 (m, 27H; v primeru 1.46 (bs, 9H)), 2.29 (bd, 1H), 2.85 (bs, 4H), 3.40 (m, 1H), 4.5-4.8 (m, 1H), 5.1-5.4 (m, 1H), 5.70 (bd, 1H, glavni).

Boc-(R)Cha-Mor-OSu

Pripravljena, na enak način, kot Boc-(R)Cha-Pic-OSu iz H-Mor-OEt x HCl, le da smo kot topilo uporabili CH₃CN, namesto DMF, za pripravo OSu estra.

Boc-(Me)(R)Cha-Pro-OSu

Pripravljena, na enak način, kot Boc-(R)Cha-Pro-OSu iz Boc-(Me)-(R)Cha-OH.

Boc-(Me)(R)Cha-Pic-OSu

Pripravljena, na enak način, kot Boc-(R)Cha-Pic-OSu iz Boc-(Me)(R)Cha-OH.

Boc-(R,S)Pro(3-Ph)-Pro-OSu

Pripravljena, na enak način, kot Boc-(R)Cha-Pro-OSu iz Boc-(R,S)Pro-(3-Ph)-OH.

Boc-(R,S)Pro(3-(trans)Ph)-Pro-OSu(i) Boc-(R,S)Pro(3-(trans)Ph)-Pro-OBn

Gosti disperziji 1.0 g Boc-(R,S)Pro(3-(trans)Ph)-OH (3.43 mmol, 1 ekv.), 1.04 g H-Pro-OBn x HCl (4.29 mmol, 1.25 ekv.), 0.04 g HOBt (0.24 mmol, 0.07 ekv.) v 15 ml DMF smo, pri sobni temperaturi, dodali 1.83 g CME-CDI (4.29 mmol, 1.25 ekv.) in 0.525 ml NMM (4.73 mmol, 1.38 ekv.). Po 4 dneh mešanja smo topilo odparili in preostanek dali v 200 ml EtOAc. Organsko fazo smo sprali 2-krat z 40 ml vode, 2-krat z 25 ml KHSO₄, 2-krat z 25 ml 1M NaOH, 2-krat z 25 ml vode in sušili (MgSO₄). Po odsparitvi topila in "flash" kromatografiji (CH₂Cl₂/MeOH, 97/3) smo dobili čisti produkt (izkoristek 44%) kot zmes diastereomer, v približnem razmerju 1:1.

(ii) Boc-(R,S)Pro(3-(trans)Ph) Pro-OH

Benzilni ester, iz prejšnega postopka, smo odstranili s hidrogeniranjem, v prisotnosti 5% Pd/C, v EtOH, pri atmosferskem tlaku, 4 ure. Po filtriranju in odparevanju topila. smo dobili čisti produkt, kot zmes diastereomer, v približnem razmerju 1:1, s kvantitativnim izkoristkom.

¹H-NMR (CDCl₃, 500 MHz, 2 diastereomeri, vsaka obstoji v dveh rotamerah): δ 1.3-2.4 (m+4s iz Boc skupin, skupaj 14H), 2.5-2.9 (m, skupaj 1H), 3.2-3.9 (m, skupaj 5H), 4.3-4.65 (m, skupaj 2H), 7.2-7.5 (m, 5H).

(iii) Boc-(R,S)Pro(3-(trans)Ph) Pro-OSu

Pripravljena po postopku, ki je opisan, za Boc-(R)Cha-OSu iz Boc-(R,S)Pro(3-(trans)Ph)-Pro-OH.

Boc-(R,S)Pro(3-(trans)Ch) Pro-OSu(i) Boc-(R,S)Pro(3-(trans)Ch) Pro-OH

Boc-(R,S)Pro(3-(trans)Ph)-Pro-OH smo hidrogenirali, v prisotnosti 5% Rh/Al₂O₃, v metanolu skupaj, z majhnimi količinami HOAc, 7 dni, pri 0.34 MPa. Katalizator smo odfiltrirali, topilo odparili in "flash" kromatografirali (CH₂Cl₂/MeOH, 94/6) in dobili čist trden, bel produkt (mešanica dveh diastereomer).

(ii) Boc-(R,S)Pro(3-(trans)Ch) Pro-OSu

Pripravljena, po postopku, ki je bil opisan za Boc-(R)Cha-OSu iz Boc-(R,S)Pro(3-(trans)Ch) Pro-OH.

Boc-(R)Hoc-Pro-OH(i) Boc-(R)Hoc-OH

Boc-(R)Hop-OH, 3.2 g (11.46 mmol), smo raztopili v metanolu (75 ml). 0.5 g rodija na aktiviranem aluminijevem oksidu (Rh/Al₂O₃), smo dodali in zmes mešali v vodikovi atmosferi, pri 0.41 MPa, 18 ur. Katalizator smo odfiltrirali skozi celit in topilo odparili, da smo dobili produkt, v skoraj kvantitativnem izkoristku.

¹H-NMR (500 MHz, CDCl₃): δ 0.90 (m, 2H), 1.08-1.33 (m, 6H), 1.43 (s, 9H), 1.60-1.74 (m, 6H), 1.88 (bs, 1H), 4.27 (bs, 1H).

(ii) Boc-(R)Hoc-OSu

Pripravljena na enak način kot je opisano za Boc-(R)Cha-OSu iz Boc-(R)Hoc-OH.

(iii) Boc-(R)Hoc-Pro-OH

Pripravljena, na enak način, kot Boc-(R)Cha-Pro-OH iz Boc-(R)Hoc-OSu.

$^1\text{H-NMR}$ (500 MHz, CDCl_3): δ 0.80–0.94 (m, 2H), 1.05–1.36 (m, 7H), 1.36–1.48 (bs, 9H), 1.48–1.78 (m, 7H), 1.98–2.14 (m, 2H), 2.34 (m, 1H), 3.48 (m, 1H), 3.85 (m, 1H), 4.43 (m, 1H), 4.52 (bd, 1H), 5.26 (bd, 1H), signali stranske rotamere se pokažejo pri: δ 1.92, 2.25, 3.58, 4.20 in 4.93.

Boc-(R)Hoc-Pic-OH(i) Boc-(R)Hoc-Pic-OMe

Pripravljena, na enak način, kot je opisano za Boc-(R)Cha-Pic-OEt iz Boc-(R)Hoc-OH in H-Pic-OMe x HCl.

(ii) Boc-(R)Hoc-Pic-OH

Pripravljena, na enak način, kot je opisano za Boc-(R)Cha-Pic-OH iz Boc-(R)Hoc-Pic-OMe.

$^1\text{H-NMR}$ (500 MHz, CDCl_3): δ 0.82–0.97 (m, 2H), 1.10–1.36 (m, 7H), 1.36–1.50 (bs, 9H), 1.50–1.82 (m, 11H), 2.35 (bd, 1H), 3.28 (bt, 1H), 3.85 (bd, 1H), 4.36 (m, 1H), 5.33 (bs, 1H), 5.44 (bd, 1H), signali stranske rotamere se pojavijo pri: δ 1.88, 2.80, 4.25, 4.55 in 4.97.

Boc-(R)Cha-Aze-OH

Pripravljena, na enak način, kot je opisano za Boc-(R)Cha-Pic-OH iz H-Aze-OEt x HCl.

Boc-(R)Cha-Pic(4-(S)Me)-OH

Pripravljena, na enak način, kot je opisano za Boc-(R)Cha-Pic-OH iz H-Pic(4(S)Me)-OEt x HCl, le da smo kot topilo uporabili CH₂Cl₂.

Boc-(R)Cha-(R)Pic(4-(R)Me)-OSu(i) Boc-(R)Cha-(R)Pic(4-(R)Me)-OEt

Pripravljena, na enak način, kot je opisano za Boc-(R)Cha-Pic-OEt iz H-(R)Pic(4-(R)Me)-OEt x HCl.

(ii) Boc-(R)Cha-(R)Pic(4-(R)Me)-OH

Pripravljena iz zgornjega produkt (i), odstranitvijo zaščite, po postopku (e) .

(iii) Boc-(R)Cha-(R)Pic(4-(R)Me)-OSu

Pripravljena, na enak način, kot je opisano za Boc-(R)Cha-Pic-OSu iz Boc-(R)Cha-(R)Pic(4-(R)Me)-OH.

Boc-(R)Cha-(R,S)Pic(4,5-dehidro)-OH

Pripravljena, po postopku, ki je opisan za Boc-(R)Cha-Pic-OH iz H-(R,S)Pic(4.5-dehidro)-OEt.

Boc-(R)Cgl-Pic-OH(i) Boc-(R)Cgl-Pic-OMe

Pivaloil klorid (1.00 ml, 8.1 mmol) smo dodali raztopini Boc-(R)Cgl-OH (2.086 g, 8.1 mmol) in trietilamina (1.13 ml, 8.1 mmol) v toluenu (25 ml) in DMF (5 ml). Tej smo dodali zmes H-Pic-OMe x HCl (1.46 g, 8.1 mmol), trietilamina (1.13 ml, 8.1 mmol) v DMF (20 ml), ohlajeno na temperaturo ledene kopeli. Reakcijska zmes, se je lahko počasi ogrela, na sobno temperaturo in po 24-tih urah smo jo redčili z vodo in ekstrahirali z toluenom. Po izpiranju z 0.3M KHSO₄, 10% Na₂CO₃ in solnico, smo topilo vakuumsko odstranili. Dobili smo brezbarvno olje, ki smo uporabili brez nadaljnega čiščenja.

¹H-NMR (500 MHz, CDCl₃, dve rotameri v razmerju 5:1) δ 0.8-1.8 (m, 25H), 2.25 (d, 1H), 2.75 (t, 1H, stranski rotamer), 3.3 (t, 1H), 3.7 (s, 3H), 3.85 (d, 1H), 4.3 (t, 1H, stranski rotamer), 4.5-4.6 (m, 1H), 5.25 (d, 1H), 5.30 (d, 1H).

(ii) Boc-(R)Cgl-Pic-OH

Pripravljena, po postopku, za hidrolizo Boc-(R)Cha-Pic-OEt, iz zgornjega produkta (i). Produkt smo rekristalizirali iz diizopropil etra in heksana.

¹H-NMR (500 MHz, CDCl₃, 2 rotameri v razmerju 5:1) δ 0.8-1.8 (m, 25H), 2.3 (d, 1H), 2.8 (t, 1H, stranski rotamer), 3.3 (t, 1H), 3.9 (d, 1H), 4.4 (t, 1H, stranski), 4.5-4.6 (m, 1H), 5.1 (s, 1H, stranski rotamer), 5.3 (d, 1H), 5.40 (d, 1H).

Boc-(R)Dph-Pic-OH

Pripravljena, na enak način, kot je opisan za Boc-(R)Cha-Pic-OH iz Boc-(R)Dph-OH.

Boc-(R)Dch-Pic-OH

Pripravljena, na enak način, kot je opisan za Boc-(R)Cha-Pic-OH iz Boc-(R)Dch-OH.

Boc-(R)Cha-Pro(5-(S)Me)-OH

Pripravljena, na enak način, kot je opisan za Boc-(R)Cha-Pic-OH iz H-Pro(5-(S)Me)-OMe.

Boc-Nag(Z)(i) N-benziloksikarbonil-O-metil izourea

Mešajoči se zmesi, koncentrirane vodne raztopine NaOH (2.8 l, 50 ut.ut.%, 19.1M, 53 mol) in vode (32 l), pri 18°C, smo dodali v dveh delih O-metilizoureo semisulfat (1.7 kg, 94%, 13.0 mol) in O-metilizoureo hidrogensulfat (1.57 kg, 99%, 9.0 mol). Reakcijsko zmes smo ohladili na 3-5°C. Med hlajenjem in močnim mešanjem smo dodajali benzilkloroformiat (3.88 kg, 92%, 20.9 mol), 20 minut. Med dodajanjem Z-Cl, se je temperatura reakcije dvignila od 3 na 8°C. Dodani lij smo sprali s 5-imi litri vode in jo dodali v reaktor. Reakcijsko zmes smo, pri 0-3°C, mešali še 18 ur, filtrirali in kristale sprali z ohlajeno (3°C) vodo (10 l). Po 48 urnem sušenju v vakuumu (25°C, 10-20 barov) smo dobili 3.87 kg (89%) naslovne spojine, kot bel kristalinični prašek.

(ii) Boc-Nag(Z)

V mešajočo se raztopino, Boc-NH-(CH₂)₃-NH₂ x HCl (pripravljena po Mattingly P.G., Sinteze, 367 (1990)), (3.9 kg, 18.5 mol) in izopropanola (24 kg) pri 60-70°C, smo, po

delih več kot 30 minut, dodajali KHCO_3 , (4.2 kg, 42 mol). CO_2 je počasi začel izhajati. 30 minutnem mešanju je sledilo 30 minutno dodajanje N-benzilkarbonil-O-metil izouree, (3.74 kg, 18.0 mol), po delih. Reakcijsko zmes smo mešali, pri 65–70°C, 16 ur in zatem filtrirali. Precipitat smo sprali z izopropanolom (10+5 l). Združene filtrate smo koncentrirali pod znižanim tlakom in istočasno pazili, da se plinska mrežica ni segrela preko 65–70°C. Ko smo oddestilirali približno 45 litrov, smo dodali EtOAc (90 l). Reakcijsko zmes smo ohladili na 20–25°C, sprali z vodo (10 in 5 l) in solnico (5 l), ter sušili z Na_2SO_4 (2 kg). Po končanem mešanju, smo zmes filtrirali in filtrirano oborino sprali z EtOAc (11 in 7 l). Združene filtrate smo koncentrirali pod znižanim tlakom, in pri tem pazili, da se plinska mrežica ni segrela čez 40–50°C. ko smo oddestilirali približno 90 litrov EtOAc, smo dodali toluen (25 l) in z odparevanjem nadaljevali. Ko smo nabrali naslednjih 18 litrov destilata, smo med močnim mešanjem dodajali toluen, ter dobljeno zmes ohladili na –1 do 0°C in pustili rahlo mešati čez noč (17 ur). Gosto-kristalna raztopino smo filtrirali in produkt sprali z ohlajenim toluenom (10 in 5 l). Po 24 urnem sušenju v vakumu (10–20 barov, 40°C), smo dobili 4.83 kg (13.8 mol, 76%) Boc-Nag(Z).

$^1\text{H-NMR}$ (300 MHz, CDCl_3): δ 1.6–1.7 (m, 2H), 3.0–3.3 (m, 4H), 4.8–5.0 (bs, 1H), 5.10 (s, 2H), 7.2–7.4 (m, 5H).

Boc-Agm(Z)

(i) Boc-Agm

V gosto-tekočo raztopino 14.75 g (65.5 mmol, 1 ekv.) agmatin sulfata (Aldrich), 13.7 mmol Et_3N (98.25 mmol, 1.5 ekv.), 165 ml vode in 165 ml THF smo dodali 21.5 g (98.25

mmol, 1.5 ekv.) $(\text{Boc})_2\text{O}$ pet minut, pri sobni temperaturi. Zmes smo močno mešali čez noč, odparili do suhega in preostanek sprali 2-krat s 100 ml Et_2O in dobili Boc-Agm kot bel prašek, ki smo ga, v naslednjem koraku, uporabili brez nadaljnega čiščenja.

(ii) Boc-Agm(Z)

V ohlajeno ($+5^\circ\text{C}$), gosto tekočino surovega Boc-Agm, iz prejšnjega koraka (približno 65.5 mmol), v 180 mmol 4N NaOH in 165 mmol THF, smo dodajali 24 ml (169 mmol, 2.5 ekv.) benzilkloroformiata, 10 minut. Po 4-urnem mešanju, pri sobni temperaturi, smo dodali metanol (150 ml) in nadaljevali z mešanjem še 20 ur, pri sobni temperaturi. Organsko topilo smo odparili in preostanku dodali 200 ml vode. Naalkaljeno vodno fazo smo ekstrahirali 1-krat s 300 ml in 2-krat z 200 ml EtOAc. Združene organske faze smo sprali z vodo (2x100 ml), s solnico (1x100 ml) in sušili (MgSO_4). Po odparitvi topila in "flash" kromatografiji ($\text{CH}_2\text{Cl}_2/\text{MeOH}$, postopen gradient 97/3, 95/5 in 9/1) smo dobili 14.63 g (58%) čistega Boc-Agm(Z), kot bel prašek.

$^1\text{H-NMR}$ (500 MHz, CDCl_3): δ 1.35–1.40 (m, 2H), 1.45 (s, 9H), 1.5–1.6 (m, 2H), 3.0–3.2 (m, 4H), 4.65 (bs, 1H), 5.1 (s, 2H), 7.25–7.40 (m, 5H).

$^{13}\text{C-NMR}$ (CDCl_3 , 75.5 MHz): δ 25.44, 27.36, 28.21, 65.83, 79.15, 127.47, 127.66, 128.14, 137.29, 156.47, 161.48, 163.30.

Boc-NH-(CH_2)₃-N₃

Pripravljena po metodi, ki jo je opisal Mattingly P. G., v Sintezah 1990, 367.

Z-NH-(CH₂)₂-NH₂

V hladno raztopino, 6 g etilendiamina (0.1 mol) in 22 ml trietilamina v 20 ml kloroforma, smo dodali 2.5 g Z-OSu raztopljenega v 5 ml kloroforma. Zmes, ki se je lahko segrela na sobno temperaturo, smo pustili mešati čez noč. Po filtraciji, odparitvi topila in "flash" kromatografiji (CH₂Cl₂/MeOH(NH₃-nasičen), 95/5) smo dobili 0.9 g (46%) naslovne spojine.

¹H-NMR (300 MHz, CDCl₃): δ 1.27 (s, 2H), 2.85 (t, 2H), 3.24 (q, 2H), 5.14 (s, 2H), 7.22–7.40 (m, 5H).

Agm x HCl

Pripravljena iz Agm x H₂SO₄ (Aldrich), z izmenjavo hidrogensulfatnega iona s kloridnim, na ionsko izmenjevalni koloni.

H-Nag (Z) x 2 HCl

Pripravljen z uvajanjem plina HCl v raztopino Boc-Nag(Z) v EtOAc, ki mu sledi odparjevanje topila.

BnOOC-CH₂-NH-CO-CH₂-Br

V raztopino p-TsOH x H-Gly-OBn (5 mmol) in trietilamina (5 mmol) v 10 ml CH₂Cl₂, smo dodali 2-bromoocetno kislino (5 mmol) raztopljeno v 10 ml CH₂Cl₂ in dicikloheksilkarbodiimidu (5 mmol). Zmes smo, pri sobni temperaturi, mešali čez noč in filtrirali. Organsko fazo smo sprali, 2-krat z 0.2M KHSO₄, 0.2M NaOH, solnico in sušili. Po odparevanju in "flash" kromatografiji

(CH₂Cl₂/MeOH, 95/5), smo dobili kvantitativne količine željene spojine.

¹H-NMR (300 MHz, CDCl₃): δ 3.89 (s, 2H), 4.05–4.11 (d, 2H), 5.19 (s, 2H), 7.06 (bs, 1H), 7.3–7.4 (m, 5H).

BnOOC-CH₂-OCO-CH₂-Br

Zmes, 2.8 g (0.020 mmol) bromoocetne kisline, 4.2 g (0.020 mmol) benzilbromoacetata in 2.0 g (0.020 mmol) trietilamina v 25 ml EtOAc, smo refluktirali 3 ure. Nato smo jo redčili z EtOAc in hladili. Raztopino smo sprali z HCl in zatem z NaHCO₄ (aq) in nazadnje z vodo. Po sušenju (Na₂SO₄) in odparitvi topila, ki mu je sledila "flash" kromatografija (heptan/etilacetat, 75/25), smo dobili naslovno spojino z 26% izkoristkom.

¹H-NMR (500 MHz, CDCl₃): δ 3.95 (s, 2H), 4.75 (s, 2H), 5.23 (s, 2H), 7.35–7.45 (m, 5H).

BnO-(CH₂)₃-OTf

Propandiolmonobenzil eter (0.83 g, 5 mmol) smo raztopili v suhem piridinu (0.6 g, 7 mmol) in diklorometanu (20 ml) in ohladili na -15°C. Dodali smo anhidrid triflida, predhodno ohlajen na -15°C, in reakcijsko zmes mešali 45 minut, v tem času se je temperatura lahko dvignila na 15°C. Topilo smo odparili in produkt raztopili v zmesi heksana in etilacetata v razmerju 4:1 (10 ml) in filtrirali preko diatomejske zemlje-silica. Na koncu smo topilo odparili in produkt sušili v vakumu, tako da smo dobili 0.95 g (64%) 1-benziloksi-3-trifluorometansulfonilpropan, ki smo uporabili, kot takega (glej Primer 21).

$^1\text{H-NMR}$ (500 MHz, CDCl_3): δ 2.12 (m, 2H), 3.6 (t, 2H), 4.51 (s, 2H), 4.72 (t, 2H), 7.22–7.42 (m, 5H).

$\text{BnO}-(\text{CH}_2)_2-\text{CHO}$

Pripravljena z oksidacijo $\text{BnO}-(\text{CH}_2)_3-\text{OH}$ po Swrenu (opisal jo je D. Swern et al., J. Org. Chem., 1978, str. 2480–82).

$^1\text{H-NMR}$ (300 MHz, CDCl_3): δ 2.63 (dt, 2H), 3.80 (t, 2H), 4.51 (s, 2H), 7.30 (m, 5H), 9.76 (bt, 1H).

$\text{Br}-(S)\text{CH}(\text{CH}_2\text{OBn})-\text{COOBn}$

(i) $\text{Br}-(S)\text{CH}(\text{CH}_2\text{OBn})-\text{COOH}$

O-benzilserin (3.9 g, 19 mmol) v vodi (10 ml) smo dodali raztopini natrijevega bromida (11 g, 107 mmol) v vodi (20 ml) in žveplovi (VI) kislini (2 g, 20 mmol). Reakcijsko zmes smo ohladili na -10°C in med močnim mešanjem dodali NaNO_2 (1.73 g, 25 mmol). Drugi del vode smo dodali gosti zmesi, ki je nastala, po nekaj minutah, z H_2SO_4 (1 g, 10 mmol). Zmes smo mešali, pri temperaturi prostora, čez noč in nato 2-krat ekstrahirali z EtOAc (100 ml). Združene organske faze smo 2-krat sprali z vodo, 1-krat s solnico in sušili (Na_2SO_4). Topilo smo odparili in dobili 3.7 g (75%) naslovne spojine, kot rumeno olje, ki je bilo dovolj čisto, da smo ga neposredno uporabili v naslednji stopnji.

(ii) $\text{Br}-(S)\text{CH}(\text{CH}_2\text{OBn})-\text{COOBn}$

Raztopini surovega zgornjega produkta (i), (2.6 g, 10 mmol), v suhem benzenu (25 ml) smo dodali oksalil klorid (2.6 g, 20.5 mmol) molekularno sito (4 Å, 1 g). Mešanico smo 18 ur mešali, pri temperaturi prostora, v argonovi

atmosferi. Molekularna sita smo odstranili s filtracijo in topilo odparili. Rumenkast preostanek smo raztopili v CH_2CN (10 ml) in dodali benzilni alkohol (1 g, 9.2 mmol). Mešanico smo mešali še 5 ur, pri temperaturi prostora. Topilo smo odparili in preostanek raztopili v Et_2O in sprali 1-krat z 1M NaOH, vodo, solnico in sušili (Na_2SO_4). Po odparitvi topila in "flash" kromatografiji ($\text{CH}_2\text{Cl}_2/\text{MeOH}$, 95/5) smo dobili 1.8 g (67%) željene spojine.

$^1\text{H-NMR}$ (500 MHz, CDCl_3): δ 3.82 (dd, 1H), 3.99 (dd, 1H), 4.38 (dd, 1H), 4.56 (s, 2H), 5.23 (s, 2H), 7.23–7.46 (m, 5H).

Delovni primeri

Primer 1: H-(R)Cha-ProAgm x 2 HOAc

(i) Boc-(R)Cha-Pro-Agm x HOAc

Boc-(R)Cha-Pro-OSu (1.7 mmol) in agmatin diklorid (2.0 mmol, 1.18 ekv.) smo raztopili v DMF/ H_2O , v razmerju 95:5 (35 ml). Z dodatkom trietilamina smo uravnali pH na 10 in raztopino mešali, pri sobni temperaturi, 2 dni. Topilo smo odparili (5 mm Hg/60°C) do suhega in surov produkt čistili z RPLC ($\text{CH}_2\text{CN}/\text{NH}_4\text{OAc}$ (0.1 M), 38:62). Željeno spojino smo po sublimacijskem sušenju, dobili kot bel prašek.

$^1\text{H-NMR}$ (500 MHz, $\text{CDCl}_3/\text{DMSO-d}_6$ 5:2, dve rotameri, 9:1): δ (glavni rotamer): 0.75–0.90 (m, 2H), 1.1–2.05 (m, 19H), 1.35 (s, 9H), 2.98–3.14 (m, 4H), 3.37 (q, 1H), 3.76 (m, 1H), 4.20 (m, 1H), 4.33 (dd, 1H), 6.30 (d, 1H), 7.05–7.80 (široki m, 5H), 8.67 (široki d, 1H).

Zamenjani razširjeni signali stranskega rotamera so jasno opaženi pri δ 3.44 (m, 1H), 3.62 (m, 1H), 4.10 (m, 1H), 4.64 (m, 1H), 5.56 (d, 1H), 9.08 (m, 1H).

(ii) H-(R)Cha-Pro-Agm x 2 HOAc

Raztopino, Boc-(R)Cha-Agm (0.2 mmol) v TFA (2 ml), smo mešali, pri sobni temperaturi, 4.5 ure. Topilo smo nato odparili in preostalo olje dali na RPLC ($\text{CH}_3\text{CN}/\text{NH}_4\text{OAc}$ (0.1M), 25:75). Dobili smo sol diacetata, kot bel prašek po ponovnem sublimacijskem sušenju.

^1H -NMR (500.13 MHz, D_2O): δ 0.80–0.95 (m, 2H), 1.00–1.21 (m, 3H), 1.32 (m, 1H), 1.40–1.78 (m, 12H), 1.83–2.00 (m, 2H), 1.90 (s, acetat), 2.20 (m, 1H), 3.06–3.14 (m, 4H), 3.50 (m, 1H), 3.67 (m, 1H), 4.20–4.30 (m, 2H).

^{13}C NMR (75.6 MHz, D_2O): gvanidin: δ 157.4; karbonilni ogljik: δ 169.9, 174.5.

Primer 3: Me-(R)Cha-Pro-Agm x 2 HOAc

(i) Boc-(Me)(R)Cha-Pro-Agm

V raztopino, 497.6 mg (1 mmol, 1 ekv.) Boc-(Me)(R)Cha-Pro-OSu v 500 ml NMM v 16 ml DMF/voda (15/1), smo dodali 166.5 mg (1.2 mmol, 1.2 ekv.) Agm x HCl, pri sobni temperaturi. Reakcijsko zmes smo mešali še 70 ur in topilo odparili ter dobili surov produkt kot olje. Tega smo brez čiščenja čiščenja uporabili v naslednjem koraku.

(ii) Me-(R)Cha-Pro-Agm x 2 HOAc

Surovo olje, iz prejšnjega koraka, smo raztopili v 10 ml TFA/ CH_2Cl_2 (1:4), pri sobni temperaturi. Po 2 urnem in 25

minutnem mešanju, smo topilo odparili in surov produkt čistili z RPLC ($\text{CH}_2\text{CN}/\text{NH}_4\text{OAc}$ (0.1M), 35/65), ter po sublimacijskem sušenju dobili željen produkt, kot bel prašek.

$^1\text{H-NMR}$ (500 MHz, D_2O): δ 0.93–1.05 (m, 2H), 1.10–1.29 (m, 3H), 1.33–1.43 (m, 1H), 1.50–1.80 (m, 12H), 1.88–2.10 (m, 2H), 1.92 (s, acetat), 2.27–2.36 (m, 1H), 2.68 (s, 3H), 3.15–3.23 (m, 3H), 3.24–3.31 (m, 1H), 3.57–3.66 (m, 1H), 3.76–3.83 (m, 1H), 4.28 (t, 1H), 4.39 (dd, 1H).

^{13}C NMR (125.76 MHz, D_2O): gvanidin: δ 157.24; karbonilni ogljik: δ 174.03, 168.24.

Primer 3: HO-(CH)-(R)Cha-Pro-Agm x 2 HCL

(i) Boc-(R)Cha-Pro-Agm(Z)

Boc-Agm(Z) (1 ekv) smo raztopili v $\text{TFA}/\text{CH}_2\text{Cl}_2$ (1:4, približno 6 ml/mmol) in mešali, pri sobni temperaturi, približno 2 uri. Topilo smo odparili in produkt, skupaj z Boc-(R)Cha-Pro-OSu (1 ekv) raztopili, v DMF (približno 1ml/mmol), pH smo uravnali z NMM na približno 9 in zmes mešali, pri sobni temperaturi, 20 ur. Topilo smo odparili v vakumu, surov produkt raztopili v CH_2Cl_2 in sprali 3-krat z vodo in 1-krat s solnico. Po sušenju (natrijev sulfat) smo topilo odparili in produkt "flash" kromatografirali ($\text{CH}_2\text{Cl}_2/\text{MeOH}$), da smo dobili Boc-(R)Cha-Pro-Agm(Z) kot bel prašek.

(ii) H-(R)Cha-Pro-Agm(Z)

Boc-(R)Cha-Pro-Agm(Z) smo raztopili v $\text{TFA}/\text{CH}_2\text{Cl}_2$ (1:4, približno 6 ml/mmol) in mešali, pri sobni temperaturi, 2 uri. Topilo smo odparili in produkt raztopili v 0.2M NaOH

(20 ml/mmol) in ekstrahirali 2-krat z diklormetanom. Zbrane organske faze smo sprali s solnico, sušili (natrijev sulfat) in topilo odparili, ter dobili H-(R)Cha-Pro-Agm(Z) kot bel prašek.

(iii) BnO-(CH₂)₃-(R)Cha-Pro-Agm(Z)

H-(R)Cha-Pro-Agm(Z) (1 mmol) smo raztopili v metanolu (10 ml). Temu smo dodali trietilamonijev klorid (1 mmol), natrijev cianoborohidrid (0.7 mmol) in BnO-(CH₂)₂-CHO (1.05 mmol) in reakcijsko zmes mešali čez noč, pri sobni temperaturi. Topilo smo odparili in surov produkt raztopili v etilacetatu, sprali 2-krat z vodo, 1-krat s solnico in sušili z natrijevim sulfatom. Topilo smo odparili in surov produkt čistili s "flash" kromatografijo (EtOAc/MeOH).

(iv) HO-(CH₂)₃-(R)Cha-Pro-Agm x 2 HCl

Pripravljena kot zgornji produkt (iii), po postopku za odstranitev zaščite (d).

¹H-NMR (500 MHz, D₂O): δ 0.72 (m, stranski rotamer), 0.84 (m, stranski rotamer), 0.87-1.03 (m, 2H), 1.03-1.26 (m, 3H), 1.28-1.40 (bs, 1H), 1.44-1.80 (m, 11H), 1.80-1.95 (bs, 3H), 1.95-2.10 (bs, 2H), 2.28 (m, 1H), 3.04 (m, 1H), 3.08-3.27 (m, 5H), 3.58 (bs, 1H), 3.67 (bs, 2H), 3.78 (m, 1H), 4.12 (bd, stranski rotamer), 4.30 (m, 1H), 4.37 (m, 1H).

¹³C NMR (125 MHz, D₂O): gvanidin: δ 157.26; karbonilni ogljik: δ 174.06, 168.36.

Primer 4: HOOC-CH₂-(R)Cha-Pro-Agm x HOAc

Splošni postopek za alkiliranje terminalnega N.

Postopek je opisan bolj na splošno, in se bo natanašal na spodaj navedene primere, skupaj s sredstvi za alkiliranje, ki si bili uporabljeni v posameznih Primerih.

Peptid, ki ga želimo alkilirati (1 ekv.) in alkilirajoče sredstvo (1.1-1.2 ekv.), smo raztopili v acetonitrilu (približno 10 ml/mmol). Po dodatku kalijevega karbonata (2.0-2.2 ekv.), smo reakcijsko zmes mešali pri 50-60°C, dokler nismo porabili vsega izhodnega materiala (TLC, navadno 1-5 ur). Po filtriranju, odparitvi topila in "flash" kromatografiranju ($\text{CH}_2\text{Cl}_2/\text{MeOH}$, $\text{CH}_2\text{Cl}_2/\text{MeOH}(\text{NH}_3\text{-nasičen})$ ali EtOAc/MeOH , približno 9/1) smo, po odparitvi topila, dobili alkiliran produkt.

(i) $\text{BnOOC-CH}_2\text{-(R)Cha-Pro-Agm(Z)}$

Pripravljena iz $\text{H-(R)Cha-Pro-Agm(Z)}$, (glej Primer 3), in $\text{Br-CH}_2\text{COOBn}$, po zgoraj opisanem postopku.

(ii) $\text{HOOC-CH}_2\text{-(R)Cha-Pro-Agm x HOAc}$

Pripravljeno iz zgornjega produkta (i), po postopku za odstranitev zaščite (b).

$^1\text{H-NMR}$ (300 MHz, MeOD): δ 0.9-1.1 (m, 2H), 1.1-2.3 (m, 19H), 1.95 (s, acetat), 3.1-3.2 (m, 4H), 3.2-3.65 (m, 3H), 3.85 (m, 1H), 4.0 (bt, 1H), 4.35 (dd, 1H).

^{13}C NMR (75 MHz, D_2O): gvanidin: δ 157.55; karbonilni ogljiki: δ 168.71, 171.37 in 174.3.

Primer 5: $^i\text{Pr-OOC-CH}_2\text{-(R)Cha-Pro-Agm x HOAc}$

Naslovno spojino smo dobili z alkiliranjem, kot v Primeru 4, H-(R)Cha-Pro-Agm(Z) (glej Primer 3) z Br-CH₂COOⁱPr, kateremu je sledila odstranitev zaščite, po postopku (b).

¹H-NMR (500 MHz, Me₂SO): δ 0.85-1.05 (m, 2H), 1.1-1.35 (m, 9H; v primeru 1.23 (d, 3H), 1.25 (d, 3H)), 1.35-2.02 (m, 14H), 1.92 (s, acetat), 2.08 (m, 1H), 2.2 (m, 1H), 3.07-3.45 (m, 6H), 3.55 (m, 1H), 3.7-3.8 (m, 2H), 4.3 (dd, 1H), 5.05 (m, 1H).

¹³C NMR (125 MHz, D₂O): gvanidin: δ 157.39; karbonilni ogljiki: δ 171.10, 172.76 in 174.44.

Primer 6: HOOC-CH₂-(Me)(R)Cha-Pro-Agm x 2 TFA

(i) Me-(R)Cha-Pro-Agm(Z)

Pripravljena iz Boc-(Me)(R)Cha-Pro-OSu, po enakem postopku, kot je opisan za H-(R)Cha-Pro-Agm(Z) v Primeru 3.

(ii) HOOC-CH₂-(Me)(R)Cha-Pro-Agm x TFA

Naslovno spojino dobimo z alkiliranjem, kot v Primeru 4, Me-(R)Cha-Pro-Agm(Z) z Br-CH₂COOBn, in odstranitvijo zaščite, po postopku (b).

¹H-NMR (300 MHz, D₂O): δ 0.9-1.35 (m, 6H), 1.5-2.2 (m, 14H), 2.25-2.45 (m, 1H), 3.12 (s, 3H), 3.15-3.35 (m, 4H), 3.6-3.75 (m, 1H), 3.8-3.95 (m, 1H), 4.22 (navidezni bs, 2H), 4.45 (m 1H), 4.6 (bt, 1H).

¹³C NMR (75.47 MHz, D₂O): gvanidin: δ 157.52; karbonilni ogljiki: δ 173.86, 168.79, 167.38.

Primer 7: HOOC-(R,S)CH(Me)-(R)Cha-Pro-Agm x HOAc

Naslovno spojino dobimo z alkiliranjem, kot v Primeru 5, H-(R)Cha-Pro-Agm(Z), (glej Primer 3), z Br-CH(Me)COOCn, ki ji sledi odstranitev zaščite po postopku (a), kot zmes dveh diastereomer.

Primer 8: HOOC-(RorS)CH(Me)-(R)Cha-Pro-Agm/a x HOAc

Dobljena z ločitvijo diastereomer, iz Primera 7, s RPLC (CH₃CN/NH₄OAc (0.1M), 1/4). Ta diastereomera prva pripotuje po koloni.

¹H-NMR (500 MHz, D₂O; 2 rotameri v približnem razmerju 5:1): δ 0.74 (m, stranski rotamer), 1.01 (m, 2H), 1.10-1.33 (m, 3H), 1.48-1.88 (m, 15H; v primeru 1.51 (d, 3H)), 1.92-2.12 (m, 3H), 1.96 (s, acetat), 2.30 (m, 1H), 3.20 (m, 3H), 3.38 (m, 1H), 3.47 (q, stranski rotamer), 3.53-3.68 (m, 2H), 3.73 (m, 1H), 4.20 (d, stranski rotamer), 4.33 (m, 1H), 4.38 (m, 1H), 4.51 (d, stranski rotamer).

¹³C NMR (125 MHz, D₂O): gvanidin: δ 157.38; karbonilni ogljiki: δ 174.11, 173.45, 168.64.

Primer 9: HOOC-(RorS)CH(Me)-(R)Cha-Pro-Agm/b x HOAc

Naslovna spojina je diastereomera, ki je pri ločevanju pripotovala iz kolone za prvo, navedeno v Primeru 8.

¹H-NMR (500 MHz, D₂O, 2 rotameri v približnem razmerju 9:1): δ 0.88 (m, stranski rotamer), 1.05 (m, 2H), 1.12-1.33 (m, 3H), 1.42 (bs, 1H), 1.50-1.88 (m, 15H; v primeru 1.55 (d, 3H)), 1.93-2.13 (m, 3H), 1.95 (s, acetat), 2.30 (m, 1H), 2.40 (m, 1H), 2.40 (m, stranski rotamer), 3.22 (t,

2H), 3.28 (t, 2H), 3.64 (m, 1H), 3.70 (q, 1H), 3.98 (t, stranski rotamer), 4.35 (t, 1H), 4.41 (dd, 1H).

Primer 10: HOOC-(RorS)CH(ⁿPr)-(R)Cha-Pro-Agm/a x HOAc

Alkiliranje, kot v Primeru 4, H-(R)Cha-Pro-Agm(Z), (glej Primer 3), z Br-CH(ⁿPr)COOEt in odstranitev zaščite po postopku (e), kateremu sledi postopek za odstranitev zaščite (b), da dobimo HOOC-(R,S)CH(ⁿPr)Cha-Pro-Agm. Naslovno spojino smo dobili z ločitvijo diastereomer z RPLC (CH₃CN/NH₄OAc, (0.1M), 1/4) in sublimacijskem sušenju (H₂O) po odparitvi topila. Ta diastereomera prva pripotuje iz kolone.

¹N-NMR (300 MHz, MeOD): δ 0.8–1.1 (m, 5H; v primeru 0.92 (t, 3H), 1.1–2.1 (m, 22H), 1.95 (s, acetat), 2.2 (m, 1H), 3.1–3.35 (m, 8H), 3.48 (m, 1H), 3.88 (m, 1H), 4.0 (m, 1H), 4.4 (dd, 1H).

¹³C-NMR (75 MHz, D₂O): gvanidin: δ 157.50; karbonilni ogljiki: δ 168.55, 174.16.

Primer 11: HOOC-(RorS)CH(ⁿPr)-(R)Cha-Pro-Agm/b x HOAc

Naslovna spojina je diastereoizomera, ki je pri ločevanju v Primeru 10, pripotovala druga iz kolone.

¹N-NMR (500 MHz, MeOD): δ 0.85–1.05 (m, 5H; v primeru 0.95 (t, 3H), 1.1–2.08 (m, 22H), 1.9 (s, acetat), 2.14 (m, 1H), 3.1–3.4 (m, 5H), 3.45 (m, 1H), 3.62 (m, 1H), 3.80 (m, 1H), 4.34 (dd, 1H).

¹³C-NMR (75 MHz, D₂O): gvanidin: δ 157.53; karbonilni ogljiki: δ 169.01, 174.27.

Primer 12: HOOC-(RorS)CH(Ph)-(R)Cha-Pro-Agm/b x HOAc**(i) ^tBuOOC-(RorS)CH(Ph)-(R)Cha-Pro-Agm(Z)**

Zmes, H-(R)Cha-Pro-Agm(Z), (glej Primer 3), (0.55 mmol), *t*-butil-(R,S)fenil bromoacetata (0.66 mmol), K₂CO₃ (1.4 mmol) v CH₂CN (10 ml), smo mešali 28 ur, pri sobni temperaturi, in še 5 ur pri 60°C. Zmes distereomer (približno 3:1, glede na NMR) smo filtrirali in zgostili. Preostalo olje smo 2-krat "flash" kromatografirali (CH₂Cl₂/MeOH, 92/8), ter na ta način diasteromeri popolnoma ločili (R_f=0.36 (stranska izomera) in 0.27 (glavna izomera)).

¹N-NMR glavne izomere (500.13 MHz, CDCl₃): δ 0.79 (četrt, 1H), 0.90 (četrt, 1H), 1.06-1.70 (m, H), 1.37 (s, 9H), 1.85-2.03 (m, 3H), 2.20 (m, 1H), 3.10-3.24 (m, 3H), 3.25-3.38 (m, 2H), 3.42 (m, 1H), 3.53 (m, 1H), 4.30 (s, 1H), 4.49 (dd, 1H), 5.08 (s, 2H), 7.19-7.40 (m, 10H); široke NH signale smo opazili v področju 6.7-8.6.

(ii) HOOC-(RorS)CH(Ph)-(R)Cha-Pro-Agm/b x HOAc

Glavno izomero (50 mmol) in tioanizol (0.5 mmol) smo raztopili v TFA in pustili stati 8 ur, pri sobni temperaturi. Po 5 urnem zgoščevanju (0.1 mm Hg), smo preostalo olje čistili na RPLC (CH₃CN/NH₄OAc (0.1M), 2:3), da smo, po odparitvi topila in sublimacijskem sušenju, dobili naslovno spojino.

¹H NMR (500.13 MHz, MeOD): δ 0.85-1.01 (m, 2H) 1.13-1.38 (m, 4H), 1.53-2.05 (m, 14H), 1.92 (s, acetat), 2.18 (m, 1H), 3.08-3.26 (m, 3H), 3.32-3.45 (m, 2H), 3.64 (m, 1H), 3.93 (t, 1H), 4.37 (dd, 1H), 4.43 (s, 1H), 7.28-7.50 (m, 5H).

^{13}C NMR (125.6 MHz, MeOD): gvanidin: δ 158.7; karbonilni ogljiki: δ 173.8, 174.7, 177.0.

Primer 13: $\text{HOOC}-(R,S)\text{CH}(\text{CH}_2\text{CH}_2\text{Ph})-(R)\text{Cha-Pro-Agm} \times \text{HOAc}$

$\text{HOOC}-(R,S)\text{CH}(\text{CH}_2-\text{CH}_2-\text{Ph})-(R)\text{Cha-Pro-Agm}$ smo dobili po alkiliranju, kot v Primeru 4, $\text{H}-(R)\text{cha-Pro-Agm}(Z)$, (glej Primer 3), z $\text{Br-CH}-(\text{CH}_2-\text{CH}_2-\text{Ph})\text{COOEt}$ in odstranjevanju zaščite po postopku (a), kateremu je sledilo odstranjevanje zaščite po postopku (e).

Primer 14: $\text{HOOC}-(R\text{or}S)\text{CH}(\text{CH}_2\text{CH}_2\text{Ph})-(R)\text{Cha-Pro-Agm/a} \times 2 \text{ TFA}$

Naslovno spojino smo dobili z ločitvijo diastereomer, ki smo jih pripravili v Primeru 13, z RPLC ($\text{CH}_3\text{CN}/\text{NH}_4\text{OAc}$ (0.1M), 2/3) in sublimacijskem sušenju (voda/TFA) po odparitvi topila. Naslovna diastereomera je prva pripotovala po koloni.

$^1\text{H-NMR}$ (500 MHz, MeOD): δ 0.93–1.11 (m, 2H) 1.24 (m, 1H), 1.29–1.40 (m, 2H), 1.52–1.85 (m, 11H), 1.89–2.11 (m, 4H), 2.14–2.32 (m, 3H), 2.83 (t, 2H), 3.14 (t, 2H), 3.24 (t, 2H), 3.50 (q, 1H), 3.70 (m, 1H), 4.00 (t, 1H), 4.36–4.42 (m, 2H), 7.17–7.31 (m, 5H).

$^{13}\text{C-NMR}$ (125 MHz, MeOD): gvanidin: δ 158.66; karbonilni ogljiki: δ 168.08, 171.53, 174.16.

Primer 15: $\text{HOOC-CH}_2-\text{CH}_2-(R)\text{Cha-Pro-Agm} \times \text{HOAc}$

(i) $\text{BnOOC-CH}_2-\text{CH}_2-(R)\text{Cha-Pro-Agm}(Z)$

Benzil akrilat (1.1 ekv.) in H-(R)Cha-Pro-Agm(Z), (glej Primer 3), (1 ekv.) smo raztopili v etanolu (20 ml/mmol) in 20 ur mešali, pri sobni temperaturi. Topilo smo odparili in surov produkt čistili s "flash" kromatografijo ($\text{CH}_2\text{Cl}_2/\text{MeOH}(\text{NH}_3\text{-nasičen})$, 95/5). Končno smo topilo odparili in produkt sušili v vakumu.

$^1\text{H-NMR}$ (500 MHz, CDCl_3): δ 0.7-0.7 (m, 2H) 1.0-1.5 (m, 10H), 1.5-1.75 (m, 5H), 1.75-1.92 (m, 2H), 2.0 (m, 1H), 2.17 (bs, 1H), 2.45 (m, 2H) 2.63 (m, 1H), 2.79 (m, 1H), 2.97-3.25 (m, 4H), 3.33 (m, 2H), 3.52 (bt, 1H), 4.45 (bd, 1H), 4.95-5.12 (m, 4H), 7.13-7.4 (m, 10H).

(ii) $\text{HOOC-CH}_2\text{-CH}_2\text{-(R)Cha-Pro-Agm x HOAc}$

Pripravljena iz zgornjega produkta (i), po odstranitvi zaščite po postopku (a).

$^1\text{H-NMR}$ (500 MHz, D_2O): δ 0.88 (m, 2H), 1.00-1.23 (m, 3H), 1.33 (bs, 1H), 1.42-1.72 (m, 11H), 1.78-2.00 (m, 3H), 1.94 (s, acetat), 2.18 (m, 1H), 2.52 (m, 2H), 3.03-3.20 (m 6H), 3.50 (m, 1H), 3.72 (m, 1H), 4.23 (m, 1H), 4.30 (m, 1H).

$^{13}\text{C-NMR}$ (125 MHz, D_2O): gvanidin: δ 157.25; karbonilni ogljiki: δ 178.07, 173.96, 168.24.

Primer 16: **$\text{EtOOC-CO-(R)Cha-Pro-Agm(Z)}$**

(i) $\text{EtOOC-CO-(R)Cha-Pro-Agm(Z)}$

V mrzlo (-10°C) raztopino H-(R)Cha-Pro-Agm(Z), (glej Primer 3), (0.46 g, 0.89 mmol), in NMM (199 mg, 1,97 mmol) v 10 ml THF, smo dodali Cl-CO₂COEt (134 mg, 0.98 mmol) raztopljenega v 3 ml THF. Zmes smo pustili ststi pri -10°C eno uro, nato pa smo jo mešali 1 uro, pri sobni temperaturi. Topilo smo

odparili in preostanek raztopili v etilacetatu. Organsko fazo smo sprali 2-krat z vodo in sušili (Na_2SO_4). Po odparitvi topila in kristalizaciji iz EtOAc smo dobili 0.275 g (50%) naslovno spojino, v obliki belih kristalov.

(ii) EtOOC-CO-(R)Cha-Pro-Agm x HOAc

Pripravljena iz zgornjega produkta, z odstranitvijo zaščite po postopku (b).

$^1\text{H-NMR}$ (300 MHz, MeOD): δ 0.9–2.25 (m, 24H; v primeru 1.17 (t, 3H)), 1.90 (s, acetat), 3.1–3.25 (m 4H), 3.5–3.65 (m, 3H; v primeru 3.59 (q, 2H)), 3.88 (m, 1H), 4.69 (dd, 1H).

$^{13}\text{C-NMR}$ (75 MHz, MeOD): gvanidin: δ 157.56; karbonilni ogljiki: δ 159.21, 160.74, 172.81, 174.56.

Primer 17: **(R,S)Bla-(R)Cha-Pro-Agm x 2 TFA**

Naslovno spojino dobimo z alkiliranje, kot v Primeru 4, H-(R)Cha-Pro-Agm(Z), (glej Primer 3), z α -bromo butirolaktonom, kateremu sledi odstranitev zaščite po postopku (a), kot mešanico dveh diastereomer.

$^1\text{H-NMR}$ (500 MHz, D_2O , zmaes dveh diastereomer v približnem razmerju 1/1): δ 0.93–1.06 (m, 2H), 1.09–1.30 (m, 3H), 1.37–1.49 (m, 1H), 1.50–1.87 (m, 11H), 1.89–2.10 (m, 3H), 2.24–2.36 (m, 1H), 2.44–2.56 (m, 1H), 2.72–2.85 (m, 1H), 3.10–3.30 (m 4H), 3.56–3.65 (m, 1H), 3.75–3.84 (m, 1H), 4.2–5.0 (m, 5H, ki ga delno zakriva H-O-D signal).

^{13}C NMR (125.76 MHz, D_2O): gvanidin: δ 157.34 (piki se prekrivajo); karbonilni ogljiki: δ 174.34, 173.90, 173.62, 167.88, 167.58 (dva pika se prekrivata).

Primer 18: $\text{HOOC}-(\text{RorS})\text{CH}(\text{CH}_2\text{CH}_2\text{Ph})-(\text{R})\text{Cha-Pro-Agm/b} \times 2 \text{ TFA}$

Naslovno spojino dobimo z ločitvijo diasteromer, iz Primera 13, po enakem postopku, kot v Primeru 14. Ta diastereomera je prva pripotovala po koloni.

$^1\text{H-NMR}$ (500 MHz, MeOD): δ 0.95-1.06 (m, 2H), 1.14-1.40 (m, 4H), 1.48-1.84 (m, 11H), 1.87-2.30 (m, 6H), 2.72-2.90 (m, 2H), 3.12-3.32 (m, 4H), 3.52 (m, 1H), 3.72 (m, 1H), 4.04 (dd, 1H), 4.27 (t, 1H), 4.37 (dd, 1H), 7.17-7.32 (m, 5H).

$^{13}\text{C-NMR}$ (125 MHz, MeOD): gvanidin: δ 158.68; karbonilni ogljiki: δ 168.14, 171.46, 174.03.

Primer 19: $\text{H}-(\text{R})\text{Cha-Pro-Nag} \times 2 \text{ HOAc}$ **(i) $\text{Z}-(\text{R})\text{Cha-Pro-NH}-(\text{CH}_2)_3\text{-NH(Boc)}$**

V raztopino, $\text{Z}-(\text{R})\text{Cha-Pro-OSu}$ (1 mmol) v 1 ml DMF, smo dodali $\text{H}_2\text{N}-(\text{CH}_2)_3\text{-NH(Boc)}$ (glej pripravo izhodnega materiala) raztopljenega v 1 ml DMF, pri 0°C, in pH z NMM uravnali na približno 9. Reakcijsko zmes smo mešali pri sobni temperaturi 3 dni in potem to zlili v vodo. Vodno fazo smo 4-krat ekstrahirali z EtOAc. Združeno organsko fazo smo 2-krat sprali z 0.3M KHSO_4 , 0.2M solnico in sušili. Po zgoščevanju in "flash" kromatografiranju (EtOAc/petroleter, 4/1), smo dobili naslovno spojino z 59% izkoristkom.

(ii) $\text{Z}-(\text{R})\text{Cha-Pro-NH}-(\text{CH}_2)_3\text{-NH}_2$

$\text{Z}-(\text{R})\text{Cha-Pro-NH}-(\text{CH}_2)_3\text{-NH(Boc)}$ (0.6 mmol) smo raztopili v CH_2Cl_2 (8 ml). Po dodalku TFA (2 ml), smo reakcijsko zmes mešali 1 uro. Topilo smo odparili in preostanek raztopili v

CH_2Cl_2 , 2-krat sprali z 0.2M NaOH in sušili (Na_2SO_4). Po odparitvi topila smo dobili amin z 93% izkoristkom.

^1H -NMR (500 MHz, CDCl_3): δ 0.79–1.03 (m, 2H), 1.05–1.75 (m, 15H), 1.84–2.08 (m, 4H), 2.36 (m, 1H), 2.66 (m, 2H), 3.25 (m, 2H), 3.43 (q, 1H), 3.85 (m, 1H), 4.45 (m, 1H), 4.56 (d, 1H), 5.09 (m, 2H), 5.35 (d, 1H), 7.30–7.45 (m, 5H).

(iii) Z-(R)Cha-Pro-Nag x HOAc

Z-(R)Cha-Pro-NH-(CH_2)₃-NH₂ (0.55 mmol, 1 ekv.) smo raztopili v DMF (2 ml) in z trietilaminom uravnali pH na 8–9. 3,5-dimetil-1-pirazolilformamidinijev nitrat (0.55 mmol, 1 ekv.) smo raztopili v DMF (1 ml) in dodali reakcijski zmesi, ki smo jo mešali pri sobni temperaturi 3 dni. Topilo smo odparili, surovemu produktu sublimacijsko sušili (vodo) in čistili z RPLC ($\text{CH}_3\text{CN}/\text{NH}_4\text{OAc}$ 0.1M, 4/6), da smo dobili naslovno spojino z 93% izkoristkom po odparitvi topila in liofilizaciji (vode).

(iv) H-(R)Cha-Pro-Nag x 2 HOAc

Pripravljena iz zgornjega produkta (iii), po postopku za odstranitev zaščite (a).

^1H -NMR (500 MHz, D_2O): δ 0.82–1.03 (m, 2H), 1.03–1.28 (m, 3H), 1.35 (m, 1H), 1.53–1.82 (m, 9H), 1.82–2.05 (m, 3H), 1.89 (s, acetat), 2.24 (m, 1H), 3.15 (t, 2H), 3.23 (q, 2H), 3.55 (m, 1H), 3.72 (m, 1H), 4.27–4.34 (m, 2H).

^{13}C -NMR (125 MHz, D_2O): gvanidin: δ 157.37; karbonilni ogljiki: δ 169.81, 174.52.

Primer 20: ^nBu -(R)Cha-Pro-Nag x 2 HOAc

Pripravljena iz Boc-(R)Cha-Pro-OSu in Boc-Nag(Z), po enakem postopku kot H-(R)Cha-Pro-Agm(Z), v Primeru 3.

$^1\text{H-NMR}$ (300 MHz, CDCl_3): δ 0.8–1.03 (m, 2H), 1.10–1.50 (m, 6H), 1.60–1.83 (m, 8H), 1.87–2.20 (m, 3H), 3.15 (m, 1H), 3.25 (m, 2H), 3.42 (m, 2H), 3.36 (dd, 1H), 3.70 (m, 1H), 4.36 (bs, 1H), 5.07 (s, 2H), 7.22–7.43 (m, 5H).

(ii) $^n\text{Bu}-(\text{R})\text{Cha-Pro-Nag (Z)}$

H-(R)Cha-Pro-Nag(Z) (0.5 g, 1 mmol) smo raztopili v metanolu (10 ml). V reakcijsko zmes smo dodali trietilamonijev klorid (0.1 g, 1 mmol), natrijev cianoborohidrid (44 mg, 0.7 mmol) in nato še butirolaldehid (76 mg, 1.05 mmol) in 20 ur mešali pri sobni temperaturi. Topilo smo odparili in surov produkt raztopili v etilacetatu, 2-krat sprali z vodo, 1-krat s solnico in sušili z natijskim sulfatom. Topilo smo odparili in čistili s "flash" kromatografijo ($\text{EtOAc/EtOH/Et}_3\text{N}$, 88/10/2). Nazadnje smo topilo odparili in produkt sušili v vakuumu, da smo dobili 0.22 g (40%) $^n\text{Bu}-(\text{R})\text{Cha-Pro-Nag (Z)}$.

$^1\text{H-NMR}$ (300 MHz, CDCl_3): δ 0.82–1.0 (m, 5H; v primeru 0.88 (t, 3H)), 1.08–1.49 (m, 10H), 1.58–1.8 (m 7H), 1.88–2.22 (m, 3H), 2.4 (m, 1H), 2.5 (m, 1H), 3.05 (bs, 1H), 3.3 (m, 1H), 3.4–3.53 (m, 3H), 3.73 (m, 1H), 4.42 (bs, 1H), 5.1 (s, 2H), 7.25–7.43 (m, 5H).

(iii) $^n\text{Bu}-(\text{R})\text{Cha-Pro-Nag x 2 HOAc}$

Pripravljena iz zgornjega produkta (ii), z odstranitvijo zaščite po postopku (a).

$^1\text{H-NMR}$ (300 MHz, D_2O): δ 0.94 (t, 2H), 1.10–1.31 (m, 3H), 1.38 (m, 3H), 1.55–1.88 (m, 11H), 1.88–2.15 (m, 3H), 1.95 (s, acetat), 2.34 (m, 1H), 2.95 (m, 1H), 3.08 (m 1H), 3.24

$^1\text{H-NMR}$ (300 MHz, D_2O): δ 0.94 (t, 2H), 1.10–1.31 (m, 3H), 1.38 (m, 3H), 1.55–1.88 (m, 11H), 1.88–2.15 (m, 3H), 1.95 (s, acetat), 2.34 (m, 1H), 2.95 (m, 1H), 3.08 (m 1H), 3.24 (t, 2H), 3.66 (m, 1H), 3.82 (m, 1H), 4.32 (t, 1H), 4.41 (dd, 1H).

$^{13}\text{C-NMR}$ (125 MHz, D_2O): gvanidin: δ 157.40; karbonilni ogljik: δ 180.39, 174.28, 168.55.

Primer 21: $\text{HO}-(\text{CH}_2)_3-(\text{R})\text{Cha-Pro-Nag} \times 2 \text{ TFA}$

(i) $\text{BnO}-(\text{CH}_2)_3-(\text{R})\text{Cha-Pro-Nag}(\text{Z})$

1-benziloksi-3-trifluorometansulfonilpropan (glej pripravo izhodnega materiala) (0.5 g, 1 mmol) in H-(R)Cha-Pro-Nag(Z) (glej Primer 20) smo raztopili v tetrahidrofuranu (10 ml). Po dodatku kalijevega karbonata (0,28 g, 2 mmol) smo reakcijsko zmes mešali 2 uri, pri sobni temperaturi. Topilo smo odparili in surov produkt ekstrahirali z etilacetatom/voda. Organsko fazo smo sprali 1-krat z vodno raztopino natrijevega hidrogenkarbonata, 1-krat z vodo in 1-krat s solnico. Po sušenju z natrijevim sulfatom, smo topilo odparili in surov produkt "flash" kromatografirali ($\text{CH}_2\text{Cl}_2/\text{MeOH}(\text{NH}_3\text{-nasičen})$, 95:5). Končno smo topilo odparili in produkt sušili v vakuumu, da smo dobili 0.29 g (45%) naslovne spojine.

$^1\text{H-NMR}$ (500 MHz, CDCl_3): δ 0.77–1.03 (m, 2H), 1.03–2.18 (m, 19H), 2.52 (m, 1H), 2.64 (m, 1H), 3.03 (bs, 1H), 3.1–3.6 (m 7H), 3.66 (m, 1H), 4.46 (s, 2H), 5.08 (s, 2H), 7.2–7.4 (m, 5H), 7.55 (m, 1H).

(ii) $\text{HO}-(\text{CH}_2)_3-(\text{R})\text{Cha-Pro-Nag} \times 2 \text{ TFA}$

Primer 22: **HOOC-CH-(R)Cha-Pro-Nag x HOAc**(i) H-(R)Cha-Pro-NH-(CH₂)₃-N₃

Pripravljena, po enakem postopku, kot H-(R)Cha-Pro-Ag(Z), (glej Primer 3), iz Boc-(R)Cha-Pro-OSu in Boc-NH-(CH₂)₃-N₃ (zamenjava Boc-Agm(Z)).

(ii) EtOOC-CH₂-(R)Cha-Pro-NH-(CH₂)₃-NH₂ x HOAc

Naslovno spojino smo dobili z alkiliranjem, kot v Primeru 4, H-(R)Cha-Pro-NH-(CH₂)₃-N₃ z EtOOC-CH₂-Br, odstranitvijo zaščite po postopku (a), da smo reducirali azid.

(iii) EtOOC-CH₂-(R)Cha-Pro-Nag x HOAc

Gvanidacija zgoraj navedenega (ii) amina po enakem postopku, kot je opisan v Primeru 19 (iii), za Z-(R)Cha-Pro-Nag. Naslovno spojino smo dobili v čisti obliki po RPLC (CH₃CN/NH₄OAc (0.1M), 3/7), odparitvi topila in sublimacijskem sušenju (vode).

(iv) HOOC-CH₂-(R)Cha-Pro-Nag x HOAc

Pripravljena z odstranitvijo zaščite zgornjemu produktu (iii), po postopku (e).

¹H-NMR (500 MHz, D₂O): δ 0.99 (m, 2H), 1.09–1.30 (m, 3H), 1.44 (m, 1H), 1.59–2.09 (m, 12H), 1.92 (s, acetat), 2.29 (m, 1H), 3.20 (t, 2H), 3.28 (q, 2H), 3.52–3.63 (m, 3H), 3.76 (m, 1H), 4.38 (dd, 1H), 4.42 (t, 1H).

¹³C-NMR (125 MHz, D₂O): gvanidin: δ 157.43; karbonilni ogljiki: δ 168.72, 171.36, 174.35.

Primer 23: EtOOC-CH₂-(R)Cha-Pro-Nag x 2 HOAc

Pripravljena, na enak način, kot v Primeru 22 (iii).

¹H-NMR (300 MHz, D₂O): δ 1.07 (m, 2H), 1.17-1.59 (m, 7H; v primeru 1.38 (t, 3H)), 1.60-2.24 (m, 12H), 2.04 (s, acetat), 2.39 (m, 1H), 3.31 (t, 2H), 3.39 (t, 2H), 3.63-3.90 (m, 4H), 4.12 (t, 1H), 4.36 (q, 2H), 4.46 (dd, 1H).

¹³C-NMR (75 MHz, D₂O): gvanidin: δ 157.37; karbonilni ogljiki: δ 173.73, 175.09, 175.70.

Primer 24: ⁱPrOOC-CH₂-(R)Cha-Pro-Nag x HOAc

Naslovno spojino dobimo z alkiliranjem, kot v Primeru 4, H-(R)Cha-Pro-Nag(Z) (glej Primer 20) z Br-CH₂COOⁱPr in odstranjevanjem zaščite po postopku (b).

¹H-NMR (300 MHz, MeOD): δ 0.85- 1.05 (m, 2H), 1.1-2.15 (m, 22H; v primeru 1.23 (d, 3H), 1.25 (d, 3H)), 1.92 (s, acetat), 2.2 (m, 1H), 3.10-3.35 (m, 5H), 3.4 (m, 1H), 3.55 (m, 1H), 3.65-3.8 (m, 2H), 4.28 (dd, 1H), 5.03 (m, 1H).

¹³C-NMR (125 MHz, D₂O): gvanidin: δ 157.39; karbonilni ogljiki: δ 170.40, 172.00, 174.50.

Primer 25: ^tBuOOC-CH₂-(R)Cha-Pro-Nag x 2 TFA

Naslovno spojino dobimo z alkiliranjem, kot v Primeru 4, H-(R)Cha-Pro-Nag(Z) (glej Primer 20) z Br-CH₂COO^tBu, kateremu sledi odstranitev zaščite po postopku (b).

Naslovno spojino dobimo z alkiliranjem, kot v Primeru 4, H-(R)Cha-Pro-Nag(Z) (glej Primer 20) z Br-CH₂COO^tBu, kateremu sledi odstranitev zaščite po postopku (b).

¹H-NMR (300 MHz, MeOD): δ 0.9– 1.15 (m, 2H), 1.15–2.15 (m, 25H; v primeru 1.55 (bs, 9H), 2.3 (m, 1H)), 3.15–3.45 (m, 4H), 3.55 (m, 1H), 3.7–3.95 (m, 3H), 4.3–4.4 (m, 2H).

¹³C-NMR (75 MHz, D₂O): gvanidin: δ 157.55; karbonilni ogljiki: δ 166.55, 168.13, 174.33.

Primer 26: HOOC-CH₂-OOC-CH₂-(R)Cha-Pro-Nag x HOAc

(i) BnOOC-CH₂-OOC-CH₂-(R)Cha-Pro-Nag(Z)

H-(R)Cha-Pro-Nag(Z) (glej Primer 20), 0.20 g (0.40 mmol), smo zmešali z 0.115 g (0.40 mmol) benziloksikarbonilmetil bromoacetat, 55 mg K₂CO₃ (0.40 mmol) in 5 ml CH₃CN. Zmes smo mešali 6 ur pri sobni temperaturi. Topilo smo odparili in surov produkt kromatografirali (CH₂Cl₂/MeOH, 9/1), da smo dobili 0.29 g (71%) željenega produkta po odparevanju topila.

(ii) HOOC-CH₂-OOC-CH₂-(R)Cha-Pro-Nag x HOAc

Pripravljena iz zgornjega produkta (i), po odstranitvi zaščite po postopku (a).

¹H-NMR (500 MHz, MeOD): δ 0.85–1.1 (m, 2H), 1.1–1.6 (m, 8H), 1.6–2.15 (m, 10H), 1.99 (s, acetat), 2.23 (m, 1H), 3.1–3.4 (m, 4H), 3.45–3.65 (m, 4H), 3.7–3.9 (m, 3H), 4.34 (m, 1H), 4.48 (dd, 2H).

¹³C-NMR (125 MHz, MeOD): gvanidin: δ 158.8; karbonilni ogljiki: δ 176.1, 175.2, 174.9, 173.1.

^{13}C -NMR (125 MHz, MeOD): gvanidin: δ 158.8; karbonilni ogljiki: δ 176.1, 175.2, 174.9, 173.1.

Primer 27: $\text{H}_2\text{N}-\text{CO}-\text{CH}_2-(\text{R})\text{Cha-Pro-Nag} \times \text{HOAc}$

Naslovno spojino dobimo z alkiliranjem, kot v Primeru 4, H-(R)Cha-Pro-Nag(Z), (glej Primer 20), z $\text{Cl}-\text{CH}_2-\text{CONH}_2$, v prisotnosti katalitične količine KI v reakciji, ter odstranitvijo zaščite po postopku (a).

^1H -NMR (500 MHz, D_2O): δ 1.02 (m, 2H), 1.12–1.34 (m, 3H), 1.46 (m, 1H), 1.61–2.13 (m, 9H), 1.99 (s, acetat), 2.34 (m, 1H), 3.25 (t, 2H), 3.33 (t, 2H), 3.60–3.82 (m, 4H), 4.22 (t, 1H), 4.41 (dd, 1H).

^{13}C -NMR (75 MHz, D_2O): gvanidin: δ 157.5; karbonilni ogljiki: δ 168.94, 169.40, 174.43.

Primer 28: $\text{HOOC}-\text{CH}-\text{NH}-\text{CH}-(\text{R})\text{Cha-Pro-Nag} \times 2 \text{ TFA}$

Naslovno spojino dobimo z alkiliranjem, kot v Primeru 4, H-(R)Cha-Pro-Nag(Z) (glej Primer 20) z $\text{Br}-\text{CH}_2-\text{CONHCH}_2\text{COOBn}$ (glej pripravo izhodnega materiala), in odstranitvijo zaščite po postopku (a).

^1H -NMR (500 MHz, MeOD): δ 1.01 (m, 2H), 1.15–1.38 (m, 3H), 1.47 (m, 1H), 1.64–2.13 (m, 12H), 2.27 (m, 1H), 3.17–3.26 (m, 3H), 3.37 (m, 1H), 3.51 (m, 1H), 3.83 (m, 3H), 3.88 (s, 1H), 3.93–4.06 (m, 2H), 4.35 (m, 2H).

^{13}C -NMR (75 MHz, MeOH): gvanidin: δ 158.71; karbonilni ogljiki: δ 166.94, 168.35, 172.44, 174.17.

Primer 29: $(\text{HOOC}-\text{CH}_2)_2-(\text{R})\text{Cha}-\text{Pro}-\text{Nag} \times \text{HOAc}$ **(i) $(\text{EtOOC}-\text{CH}_2)_2-(\text{R})\text{Cha}-\text{Pro}-\text{NH}-(\text{CH}_2)_3-\text{NH} \times \text{HOAc}$**

Naslovno spojino smo dobili z alkiliranjem, kot v Primeru 4, $\text{H}-(\text{R})\text{Cha}-\text{Pro}-\text{NH}-(\text{CH})-\text{N}_3$, (glej Primer 22) z $\text{Br}-\text{CH}_2\text{COOEt}$ (za dialkiliranje smo porabili 10 ekv.) in odstranitvijo zaščite po postopku (a).

(ii) $(\text{EtOOC}-\text{CH}_2)_2-(\text{R})\text{Cha}-\text{Pro}-\text{Nag} \times \text{HOAc}$

Dokončanje gvanidacije zgoraj omenjenega amina, po enakem postopku, kot v Primeru 19 (iii), za $\text{Z}-(\text{R})\text{Cha}-\text{Pro}-\text{Nag}$. Spojino smo čistili z RPLC ($\text{CH}_3\text{CN}/\text{NH}_4\text{OAc}$ (0.1M), 4:6).

(iii) $(\text{HOOC}-\text{CH}_2)_2-(\text{R})\text{Cha}-\text{Pro}-\text{Nag} \times \text{HOAc}$

Hidroliza esterske skupine ja bila narejena po postopku za odstranitev zaščite (e), uporabili smo dvojno količino NaOH. Čisto končno spojino smo dobili po RPLC ($\text{CH}_2\text{CN}/\text{NH}_4\text{OAc}$ (0.1M), 2:8), odparitvi topila in sublimacijskem sušenju (vode).

$^1\text{H-NMR}$ (300 MHz, D_2O): δ 0.92–1.49 (m, 6H), 1.60–2.54 (m, 10H), 2.05 (s, acetat), 3.25–3.50 (t, 4H), 3.65–4.03 (m, 6H; v primeru 3.95 (s, 4H)), 4.49 (m, 1H), 4.71 (m, 1H; delno ga pokriva H–O–D pik).

$^{13}\text{C-NMR}$ (75 MHz, D_2O): gvanidin: δ 157.64; karbonilni ogljiki: δ 168.62, 171.39, 174.30.

Primer 30: $\text{HOOC}-\text{CH}_2-(\text{Me})(\text{R})\text{Cha}-\text{Pro}-\text{Nag} \times 2 \text{ TFA}$ **(i) $\text{Me}-(\text{R})\text{Cha}-\text{Pro}-\text{Nag}(\text{Z})$**

Pripravljena, iz Boc-(Me)(R)Cha-Pro-OSu in Boc-Nag(Z), na enak način, kot H-(R)Cha-Pro-Agm(Z), v Primeru 3.

(ii) HOOC-CH₂-(Me)(R)Cha-Pro-Nag x 2 TFA

Naslovno spojino dobimo z alkiliranjem, kot v Primeru 4, Me-(R)Cha-Pro-Nag(Z) z Br-CH₂COOBn, ter odstranjevanjem zaščite po postopku (b).

¹H-NMR (500 MHz, D₂O): δ 0.8-1.06 (m, 2H), 1.08-1.27 (m, 4H), 1.55-2.10 (m, 12H), 2.30 (m, 1H), 3.04 (s, 3H), 3.14-3.33 (m, 4H), 3.63 (m, 1H), 3.81 (m, 1H), 4.13 (navidezni bs, 2H), 4.38 (široki dd, 1H), 4.56 (bt, 1H).

¹³C-NMR (125.76 MHz, D₂O): gvanidin: δ 157.40; karbonilni ogljiki: δ 174.05, 168.83, 167.44.

Primer 31: **HOOC-CH₂-(ⁿBn)(R)Cha-Pro-Nag x 2 TFA**

Naslovno spojino smo dobili z alkiliranjem, kot v Primeru 4, ⁿBu-(R)Cha-Pro-Na(Z), (glej Primer 20), z Br-CH₂COOBn, ki ji je sledila odstranitev zaščite po postopku (a).

¹H-NMR (500 MHz, D₂O): δ 0.78-0.88 (m, 3H), 0.88-1.02 (m, 2H), 1.02-1.23 (m, 4H), 1.23-1.38 (m, 2H), 1.45-1.84 (m, 11H), 1.84-2.10 (m, 3H), 2.24 (m, 1H), 3.05-3.18 (m, 3H), 3.18-3.38 (m, 3H), 3.57 (m, 1H), 3.77 (m, 1H), 4.05-4.25 (m, 2H), 4.32 (m, 1H), 4.50 (m, 1H).

¹³C-NMR (125 MHz, D₂O): gvanidin: δ 159.17; karbonilni ogljiki: δ 175.66, 171.13, 169.31.

Primer 32: **HOOC-(R,S)CH(Me)-(R)Cha-Pro-Nag x HOAc**

Naslovno spojino smo dobili z alkiliranjem, kot v Primeru 4, H-(R)Cha-Pro-Nag(Z) (glej primer 20) z Br-CH(Me)COOBn, kateremu je sledila odstranitev zaščite po postopku (a), kot zmes dveh diastereomer.

Primer 33: HOOC-(RorS)CH(Me)-(R)Cha-Pro-Nag/a x HOAc

Dobljena z RPLC (CH₃CN/NH₄OAc (0.1M), 1/4) ločitvijo diastereomer, ki smo jih pripravili v Primeru 32, kateri je sledilo odparjevanje topila. Ta diastereomera prva pripotuje po koloni.

¹H-NMR (300 MHz, D₂O, 2 rotameri v približnem razmerju 9:1): δ 0.78 (m, stranski rotamer), 1.07 (m, 2H), 1.17-1.42 (m, 3H), 1.48-1.64 (m, 4H; v primeru 1.56 (d, 3H)), 1.64-1.94 (m, 9H), 1.95-2.20 (m, 3H), 2.00 (s, acetat), 2.37-(m, 1H), 3.28 (t, 2H), 3.38 (t, 2H), 3.53 (m, stranski rotamer), 3.63 (m, 2H), 3.77 (m, 1H) 4.24 (d, stranski rotamer), 4.35-4.50 (m, 2H), 4.60 (d, stranski rotamer).

Primer 34: HOOC-(RorS)CH(Me)-(R)Cha-Pro-Nag/b x HOAc

Naslovno spojino smo dobili z enakim postopkom, kot v Primeru 33, iz spojine, ki smo jo dobili v Primeru 32. Ta diastereomera je prva priprotovala po koloni.

¹H-NMR (300 MHz, D₂O, 2 rotamera v približnem razmerju 9:1): δ 0.95 (m, stranski rotamer), 1.12 (m, 2H), 1.22-1.40 (m, 3H), 1.40-1.67 (m, 4H; v primeru 1.60 (d, 3H)), 1.67-2.00 (m, 9H), 2.00-2.25 (m, 3H), 2.03 (s, acetat), 2.40 (m, 1H), 3.25-3.48 (m, 4H), 3.66-3.84 (m, 2H), 3.93 (m, 1H), 4.38 (m, 1H), 4.50 (m, 1H), 4.93 (m, stranski rotamer).

^{13}C -NMR (75.5 MHz, D_2O): δ 157.42; karbonilni ogljiki: δ 168.05, 171.99, 174.04.

Primer 35: EtOOC-(R,S)CH(Me)-(R)Cha-Pro-Nag x 2 TFA

Pripravljena, po enakem postopku, kot v Primeru 20, z EtOOC-CH(Me)-Br, kot sredstvom za alkiliranje, namesto Br-CH₂-COOEt.

^1H -NMR (500 MHz, MeOD, 2 diastereomeri v približnem razmerju 2.5:1 in 4 rotamere): δ 0.88-2.43 (m, 25H), 3.1-4.55 (m, 11H).

^{13}C -NMR (75 MHz, MeOD): gvanidin: δ 158.56; karbonilni ogljiki: δ 174.33, 170.66, 168.20.

Primer 36: HOOC-(RorS)CH(nPr)-(R)Cha-Pro-Nag/a x HOAc

Spojino HOOC-(R,S)CH(Pr)-(R)Cha-Pro-Agm smo pripravili z alkiliranjem, kot v Primeru 4, H-(R)Cha-Pro-Nag (Z) (glej Primer 20) z Br-CH(Pr)COOEt in odstranitvijo zaščite, po postopku (e), ki mu je sledila odstranitev zaščite po postopku (b). Naslovno spojino smo dobili z ločitvijo diastereomer (Ta diastereomera je prva pripotovala po koloni) z RPLC ($\text{CH}_3\text{CN}/\text{NH}_4\text{OAc}$ (0.1M), 1/4) in sublimacijskim sušenjem (vode) po odparevanju topila.

^1H -NMR (500 MHz, MeOD): δ 0.85-1.05 (m, 5H; v primeru 0.95 (t, 3H)), 1.1-2.05 (m, 20H), 1.95 (s, acetat), 2.18 (m, 1H), 3.15-3.3 (m, 4H), 3.35 (m, 1H), 3.46 (m, 1H), 3.85 (m, 1H), 4.04 (m, 1H), 4.38 (dd, 1H).

^{13}C -NMR (125 MHz, MeOD): gvanidin: δ 158.73; karbonilni ogljiki: δ 171.63, 174.43, 176.78.

Primer 37: HOOC-(R)CH(CH₂-OH)-(R)Cha-Pro-Nag x 2 TFA

Naslovno spojino smo dobili z alkiliranjem, kot v Primeru 4, H-(R)Cha-Pro-Nag(Z) (glej Primer 20) z Br-(S)CH(CH₂-OBn)-COOBn, in odstranitvijo zaščite po postopku (a).

¹H-NMR (300 MHz, D₂O): δ 0.75-1.56 (m, 7H), 1.56-2.30 (m, 11H), 2.40 (m, 1H), 3.15-3.55 (m, 4H), 3.55-4.60 (m, 7H).

Primer 38: HOOC-(R,S)CH(Ph)-(R)Cha-Pro-Nag x 2 TFA

Naslovno spojino smo dobili z alkiliranjem, kot v Primeru 4, H-(R)Cha-Pro-Nag(Z) (glej Primer 20) z Br-CH(Ph)COO^tBu, in odstranitvijo zaščite po postopku (a), ki mu je sledil postopek (f), kot mešanico dveh diastereomer.

¹H-NMR (300 MHz, MeOD): δ 0.8-1.1 (m, 2H), 1.1-2.18 (m, 16H), 2.26 (m, 1H), 3.04-3.35 (m, 5H), 3.45 (m, 1H), 3.7 (m, 1H), 4.35 (s, 1H, en izomer), 5.05 (s, 1H, drugi izomer), 7.4-7.6 (m, 5H), 7.75 (bt, 1H).

¹³C-NMR (75 MHz, D₂O): gvanidin: δ 158.68; karbonilni ogljiki: δ 174.39, 174.15, in 170.5, 170.06 in 168.32, 167.78.

Primer 39: HOOC-(S)CH(CH₂CH₂Ph)-(R)Cha-Pro-Nag x HOAc

Naslovno spojino smo dobili z alkiliranjem, kot v Primeru 21, H-(R)Cha-Pro-Nag(Z) (glej Primer 20) in TfO-CH(CH₂CH₂Ph)COOEt, in odstranitvijo zaščite po postopku (e), ki mu je sledil postopek (a).

¹H-NMR (300 MHz, MeOD): δ 0.77-1.05 (m, 2H), 1.05-1.35 (m, 5H), 1.35-2.16 (m, 14H), 1.88 (s, acetat), 2.17 (t, 2H),

3.07–3.53 (m, 7H), 3.73 (m, 1H), 4.32 (m, 1H), 7.03–7.25 (m, 5H).

^{13}C -NMR (75 MHz, MeOD): gvanidin: δ 158.71; karbonilni ogljiki: δ 174.15, 170.31, 827.61.

Primer 40: $\text{HOOC}-(\text{R})\text{CH}(\text{CH}_2\text{CH}_2\text{Ph})-(\text{R})\text{Cha-Pro-Nag} \times \text{HOAc}$

$\text{HOOC}-(\text{R},\text{S})\text{CH}(\text{CH}_2\text{CH}_2\text{Ph})-(\text{R})\text{Cha-Pro-Nag}$ smo dobili z alkiliranjem, kot v Primeru 4, $\text{H}-(\text{R})\text{Cha-Pro-Nag}(\text{Z})$ (glej Primer 20) z $\text{Br-CH}(\text{CH}_2\text{CH}_2\text{Ph})\text{COOEt}$, in odstranitvijo zaščite po postopku (a) in (e). Naslovno spojino smo dobili z ločitvijo diastereomer z RPLC ($\text{CH}_3\text{CN}/\text{NH}_4\text{OAc}$, (0.1M), 2/3) in sublimacijskim sušenjem (vode), po odparitvi topila.

^1H -NMR (300 MHz, MeOD): δ 0.97 (m, 2H), 1.10–1.41 (m, 3H), 1.43–2.30 (m, 16H), 1.96 (s, acetat), 2.70 (m, 2H), 3.06–3.26 (m, 3H), 3.28–3.66 (m, 3H), 3.84 (m, 1H), 4.14 (bt, 1H), 4.39 (dd, 1H), 7.11–7.28 (m, 5H).

^{13}C -NMR (75 MHz, MeOD): gvanidin: δ 158.66

Primer 41: $\text{HOOC-CH}_2\text{CH}_2-(\text{R})\text{Cha-Pro-Nag} \times \text{HOAc}$

(i) $\text{EtOOC-CH}_2\text{-CH}_2-(\text{R})\text{Cha-Pro-NH-(CH}_2)_3\text{-NH}_2$

Naslovno spojino smo dobili z alkiliranjem, kot je opisano v Primeru 4, $\text{H}-(\text{R})\text{Cha-Pro-NH-(CH}_2)_3\text{-N}_3$ namesto $\text{H}-(\text{R})\text{Cha-Pro-Agm}(\text{Z})$ in odstranjevanjem zaščite po postopku (a).

(ii) $\text{Et-OOC-CH}_2\text{-CH}_2-(\text{R})\text{Cha-Pro-Nag HOAc}$

Naslovno spojino (ii) smo dobili z gvanidiranjem zgornjega amina, na enak način, kot je opisan v Primeru 19, za Z-(R)Cha-Pro-Nag.

(iii) HOOC-CH₂-CH₂-(R)Cha-Pro-Nag x HOAc

Pripravljena iz zgornjega produkta (ii) z odstranitvijo zaščite po postopku (e).

¹H-NMR (500 MHz, D₂O): δ 1.12 (m, 2H), 1.22-1.48 (m, 3H), 1.54 (bs, 1H), 1.70-2.37 (m, 12H), 2.14 (s, acetat), 2.53 (m, 1H), 2.70 (bs, 2H), 3.15 (t, 1H), 3.25-3.55 (m, 5H), 3.75 (m, 1H), 3.93 (m, 1H), 4.43 (t, 1H), 4.52 (m, 1H).

Primer 42: **EtOOC-CH₂CH₂-(R)Cha-Pro-Nag x HOAc**

Pripravljena po enakem postopku, kot v Primeru 41 (ii).

¹H-NMR (500 MHz, D₂O): δ 0.97 (m, 2H), 1.11-1.39 (m, 7H; v primeru 1.30 (t, 3H)), 1.50 (t, 2H), 1.62-1.67 (m, 5H), 1.76-2.14 (m, 5H), 1.93 (s, acetat), 2.29 (m, 1H), 2.62 (t, 2H), 2.77-2.94 (m, 2H), 3.23 (t, 2H), 3.32 (t, 2H), 3.60-3.87 (m, 3H), 4.20 (q, 2H), 4.36 (dd, 1H).

¹³C-NMR (125 MHz, D₂O): gvanidin: δ 157.39; karbonilni ogljiki: δ 182.02, 175.13, 175.02.

Primer 43: **HOOC-(CH₂)₃-(R)Cha-Pro-Nag x 2 HOAc**

(i) Et-OOC-CH=CH-CH₂-(R)Cha-Pro-Nag(Z)

H-(R)Cha-Pro-Nag(Z) (glej Primer 20) (1 ekv.) in etil-3-bromokrotonat (1.1 ekv.) smo raztopili v acetonitrilu (15 ml/mol). Dodali smo kalijev karbonat in reakcijsko zmes

mešali 2 uri, pri sobni temperaturi. Po filtriranju in odparitvi topila, smo surov produkt čistili s "flash" kromatografijo ($\text{CH}_2\text{Cl}_2/\text{MeOH}$). Nazadnje smo topilo odparili in produkt sušili v vakuumu.

$^1\text{H-NMR}$ (500 MHz, CDCl_3): δ 0.73–1.0 (m, 2H), 1.0–1.4 (m, 8H; v primeru 1.33 (t, 3H)), 1.43–2.15 (m, 12H), 2.96 (bs, 1H), 3.12 (dd, 1H), 3.16–3.48 (m, 6H), 3.56 (m, 1H), 4.15 (q, 2H), 4.35 (bs, 1H), 5.03 (s, 1H), 6.0 (d, 1H), 6.85 (dt, 1H), 7.05 (bs, 1H), 7.17–7.37 (m, 5H), 7.5 (bs, 1H).

(ii) $\text{EtOOC}-(\text{CH}_2)_3-(\text{R})\text{Cha-Pro-Nag}$ x 2 TFA

Pripravljena iz zgornjega produkta (i), z odstranitvijo zaščite po postopku (a).

(iii) $\text{HOOC}-(\text{CH}_2)_3-(\text{R})\text{Cha-Pro-Nag}$ x 2 HOAc

Pripravljena iz zgornjega produkta (ii), z odstranitvijo zaščite po postopku (e).

$^1\text{H-NMR}$ (500 MHz, D_2O): δ 1.02 (bs, 2H), 1.08–1.32 (m, 3H), 1.42 (bs, 1H), 1.55–2.15 (m, 14H), 1.92 (s, acetat), 2.33 (bs, 3H), 3.00 (bs, 1H), 3.07 (bs, 1H), 3.18–3.40 (m, 4H), 3.62 (bs, 1H), 3.82 (bs, 1H), 4.33 (bs, 1H), 4.40 (bs, 1H).

$^{13}\text{C-NMR}$ (125 MHz, D_2O): gvanidin: δ 157.42; karbonilni ogljiki: δ 181.87, 174.34, 168.64.

Primer 44: **$\text{EtOOC}-(\text{CH}_2)_3-(\text{R})\text{Cha-Pro-Nag}$ x 2 TFA**

Pripravljena po postopku iz Primera 3 (ii).

$^1\text{H-NMR}$ (300 MHz, D_2O): δ 0.63–1.30 (m, 9H; v primeru 1.02 (t, 3H)), 1.30–1.97 (m, 14H), 2.06 (bs, 1H), 2.28 (m, 2H),

2.72–3.20 (m, 6H), 3.36 (m, 1H), 3.60 (m, 1H), 3.94 (m, 2H), 4.06 (m, 1H), 4.17 (m, 1H).

^{13}C -NMR (75 MHz, MeOD/D₂O): gvanidin: δ 158.10; karbonilni ogljiki: δ 175.40, 174.23, 168.54.

Primer 45: HOOC-CO-(R)Cha-Pro-Nag x HOAc

(i) EtOOC-CO-(R)Cha-Pro-Nag(Z)

H-(R)Cha-Pro-Nag(Z), 0.50 g (0.97 mmol), smo raztopili v 0,54 ml trietilamina in 8 ml CH₂Cl₂. Temu smo dodali etiloksalil klorid, 0.146 g (1.07 mmol) raztopljen v 2 ml CH₂Cl₂, med dvigovanjem temperature od 22–28°C in reakcijsko zmes mešali 2 uri, pri sobni temperaturi. Organsko fazo smo 2-krat sprali z vodo, sušili (Na₂SO₄) in nato "flash" kromatografirali (EtOAc/EtOH (99%), 9/1), ter dobili 92 mg (15%) naslovne spojine.

(ii) HOOC-CO-(R)Cha-Pro-Nag x HOAc

Po odstranitvi zaščite po postopku (b), kateremu je sledil postopek (e), smo dobili naslovno spojino.

^1H -NMR (300 MHz, MeOD): δ 0.88–1.14 (m, 2H), 1.15–1.5 (m, 4H), 1.5–2.3 (m, 13H), 1.9 (s, acetat), 3.1–3.43 (m, 4H), 3.6 (m, 1H), 4.05 (m, 1H), 4.43 (dd, 1H), 4.5 (m, 1H).

^{13}C -NMR (75 MHz, D₂O): gvanidin: δ 157.57; karbonilni ogljiki: δ 165.94, 173.95, 174.85 in 181.22.

Primer 46: MeOOC-CO-(R)Cha-Pro-Nag x HOAc

(i) MeOOC-CO-(R)Cha-Pro-Nag(Z)

Metilni ester smo pripravili z transesterifikacijo EtOOC-CO-(R)Cha-Pro Nag(Z) (glej Primer 45) na koloni med "flash" kromatografijo, za katero smo uporabili EtOAc/MeOH (9:1), kot sredstvo za ločevanje. Izkoristek 55%.

(ii) MeOOC-CO (R)Cha-Pro.Nag x HOAc

Pripravljena iz zgornjega produkta (i), po odstranitvi zaščite po postopku (b).

$^1\text{H-NMR}$ (300 MHz, MeOD): δ 0.9-1.1 (m, 2H), 1.1-2.3 (m, 17H), 1.9 (s, acetat), 3.12-3.4 (m, 4H), 3.52-3.67 (m, 2H), 3.9 (s, 3H), 4.35 (m, 1H), 4.65 (m, 1H).

$^{13}\text{C-NMR}$ (75 MHz, D_2O): gvanidin: δ 157.52; karbonilni ogljiki: δ 159.11, 161.20, 173.17, 174.90.

Primer 47: **(R,S)Bla-(R)Cha-Pro-Nag x 2 TFA**

Naslovno spojino smo dobili z alkiliranjem, kot v Primeru 4, H-(R)Cha-Pro-Nag(Z) (glej Primer 20) z α -bromo butirolaktonom, ki mu je sledila odstranitev zaščite, po postopku (a), kot zmes dveh diastereomer.

$^1\text{H-NMR}$ (300 MHz, D_2O , mešanica diastereomer): δ 1.0-1.43 (m, 5H), 1.45-1.60 (širok signal, 1H), 1.64-2.28 (m, 12H), 2.31-2.50 (m, 1H), 2.80-2.98 (m, 1H), 3.23-3.46 (m, 4H), 3.66-3.79 (m, 1H), 3.82-3.96 (m, 1H), 4.33-5.08 (m, 1H, delno zakrit z signalom H-O-D).

Primer 48: **HOOC-(R,S)CH(CH₂COOH)-(R)Cha-Pro-Nag x HOAc**

(i) BnOOC-(R,S)CH(CH₂COOBn)-(R)Cha-Pro-Nag(Z)

H-(R)Cha-Pro-Nag(Z) (glej Primer 20), 0.21 g (0.42 mmol) in 0.12 g (0.42 mmol) dibenzilmaleata smo raztopili v 10 ml CH₂CN. Zmes smo refluktirali čez noč, odparili topilo in "flash" kromatografirali (CH₂Cl₂/MeOH, 94/6). Po Odparitvi topila smo dobili željeno spojino z 22% izkoristkom.

(ii) HOOC-(R,S)CH(CH₂COOH)-(R)Cha-Pro-Nag x HOAc

Pripravljena iz zgornjega produkta (i), po odstranitvi zaščite, po postopku (a).

¹H-NMR (500 MHz, MeOD): δ 0.9–2.4 (m, 19H), 2.00 (s, acetat), 2.7–3.0 (m, 2H), 3.1–3.6 (m, 5H), 3.75–3.9 (m, 2H), 4.2–4.5 (m, 1H).

Primer 49: MeOCC-(R,S)CH(CH₂COOMe)-(R)Cha-Pro-Nag x HOAc

(i) MeOOC-(R,S)CH(CH₂COOMe)-(R)Cha-Pro-Nag(Z)

H-(R)Cha-Pro-Nag(Z) (glej Primer 20), 0.21 g (0.42 mmol) in 0.24 g (1.7 mmol) dimetil maleata smo raztopili v 15 ml MeOH. Reakcijsko zmes smo rafluktirali čez noč, odparili in "flash" kromatografirali (CH₂CN/MeOH, 9/1). Po odparevnaju topila, smo dobili željeno spojino, v 45% izkoristku.

(ii) MeOOC-(R,S)CH(CH₂COOMe)-(R)Cha-Pro-Nag x HOAc

Pripravljena iz zgornjega produkta (i), z odstranitvijo zaščite, po postopku (c).

¹H-NMR (500 MHz, MeOD): δ 0.85–1.1 (m, 2H), 1.15–2.3 (m, 17H), 1.91 (s, acetat), 2.6–2.8 (m, 2H), 3.1–3.5 (m, 5H), 3.5–3.8 (m, 10H; v primeru 4 singletov 3.66, 3.68, 3.71, 3.73), 4.29 (m, 1H).

Primer 50: **HOOC-Ph-4-CH₂-(R)Cha-Pro-Nag x 2 TFA**

(i) ^tBuOOC-Ph-4-CH₂-(R)Cha-Pro-NH-(CH₂)₃-N₃

H-(R)Cha-Pro-NH-(CH₂)₃-N (glej Primer 22) 0.39 g, (1.1 mmol) in 0.33 g (1.2 mmol) *t*-butil *p*-bromoetilbenzoat smo raztopili v 19 ml CH₃CN in dodali še 0.19 g (2.4 mmol) K₂CO₃. Reakcijsko zmes smo refluktirali čez noč in zgoščevali. Surov produkt smo "flash" kromatografirali (CH₂Cl₃/MeOH, 92:8), in dobili 0.50 g (84%) naslovne spojine,

(ii) ^tBuOOC-Ph-4-CH₂-(R)Cha-Pro-NH-(CH₂)₃-NH₂

V raztopino 0.60 g (1.8 mmol) bis-feniltiokositra 0.20 g, (1.8 mmol), tiofenola in 0.18 g (1.8 mmol) trietilamina v 50 ml CH₂Cl₂ pri 0°C smo dodali 0.50 g (0.92 mmol) ^tBuOOC-Ph-4-CH₂-(R)Cha-Pro-NH-(CH₂)₃-N₃. Reakcijsko zmes smo 30 minut mešali, pri 0°C, in 4 ure, pri sobni temperaturi. To smo nato redčili z CH₂Cl₃, sprali z vodno raztopino natrijevega bikarbonata in kasneje še z 2% H₂O₂. Organsko plast smo ekstrahirali, z razredčeno HCl. Združene nakisane organske faze smo sprali z EtOAc in jih nato naalkalili z NaOH (vodna raztopina). Vodno fazo smo 2-krat ekstrahirali z etilacetatom. Združene organske faze smo sušili (Na₂SO₄) in zgostili. Po "flash" kromatografiji (CH₂Cl₂/MeOH(NH₃-nasičena), 8:2) smo dobili 0.12 g (26%) naslovne spojine.

(iii) HOOC-Ph-4-CH₂-(R)Cha-Pro-Nag x TFA

Naslovno spojino smo dobili z gvanidiranjem, zgornjega amina, po postopku, ki je opisan v Primeru 19 za Z-(R)Cha-Pro-Nag, in odstranitvi zaščite, po postopku (f).

¹H-NMR (300 MHz, MeOD): δ 0.9-1.5 (m, 7H), 1.4-1.9 (m, 9H), 1.95-2.1 (m, 2H), 2.16 (m, 1H), 2.32 (m, 1H), 3.2-3.3 (m,

3H), 3.41 (pentet, 1H), 3.53 (m, 1H), 4.02-4.03 (m, 3H), 4.42 (dd, 1H), 7.15 (d, 2H), 7.15 (d, 2H), 8.10 (d, 2H).

^{13}C -NMR (125 MHz, MeOD): gvanidin: δ 160.8; karbonilni ogljiki: δ 174.3, 168.9, 168.2.

Primer 51: $(\text{HO})_2\text{P}(\text{O})-\text{CH}_2-(\text{R})\text{Cha-Pro-Nag} \times \text{HOAc}$

$(\text{EtO})_2\text{PO}-\text{CH}_2-(\text{R})\text{Cha-Pro-Nag}(\text{Z})$ (glej Primer 53), 60 mg (92 μmol), smo raztopili v 3 ml CH_3CN . Reakcijski zmesi smo dodali trimetilsililbromid, 0.15 ml, in jo pustili 21 ur stati, pri sobni temperaturi. Po zgoščevanju in NMR analizi smo ugotovili, da nekaj estrov ostalo. Surov material smo ponovno raztopili v 3 ml CH_3CN in 0.15 ml trimetilsililbromida. Po 5-ih urah mešanja, smo zmes zgostili in čistili z RPLC ($\text{CH}_2\text{CN}/\text{NH}_4\text{OAc}$ (0.1M), 30:70) in po filtriranju, zgoščevanju in sublimacijskem sušenju, dobili končno spojino, z 8% izkoristkom.

^1H -NMR (500 MHz, MeOD): δ 0.8-1.1 (m, 2H), 1.15-1.4 (m, 4H), 1.5-1.9 (m, 19H), 1.9-2.1 (m, 4H), 1.96 (s, acetat), 2.20 (m, 1H), 2.95 (m, 1H), 3.0-3.2 (m, 3H), 3.4-3.5 (m, 2H), 4.09 (m, 1H), 4.39 (bd, 1H), 4.59.

^{13}C -NMR (125 MHz, MeOD): gvanidin: δ 158.6; karbonilni ogljiki: δ 174.2, 170.6.

Primer 52: $\text{EtO}(\text{OH})\text{P}(\text{O})-\text{CH}_2-(\text{R})\text{Cha-Pro-Nag} \times 2 \text{HOAc}$

(i) $(\text{EtO})(\text{OH})\text{PO}-\text{CH}_2-(\text{R})\text{Cha-Pro-Nag}(\text{Z})$

$(\text{EtO})_2\text{PO}-\text{CH}_2-(\text{R})\text{Cha-Pro-Nag}(\text{Z})$ (glej Primer 53), 50 mg (77 μmol), smo raztopili v 2 ml EtOH in 2 ml 2M NaOH. Zmes smo mešali preko noči in zgostili. Surov produkt smo čistili z

RPLC ($\text{CH}_3\text{CN}/\text{NH}_4\text{OAc}$) (0.1M), 30:70), filtrirali in odparili topili, da smo dobili naslovno spojino.

(ii) $(\text{EtO})(\text{HO})\text{PO}-\text{CH}_2-(\text{R})\text{Cha-Pro-Nag} \times 2 \text{ HOAc}$

Pripravljena iz zgornjega produkta (i), z odstranitvijo zaščite, po postopku (c).

$^1\text{H-NMR}$ (500 MHz, MeOD): δ 0.9–1.1 (m, 2H), 1.15–1.35 (m, 6H; v primeru 1.28 (t, 3H)), 1.35–1.5 (m, 2H), 1.5–1.6 (m, 1H), 1.65–1.8 (m, 6H), 1.9–2.1 (m, 3H), 1.95 (s, acetat), 2.19 (m, 1H), 2.8–3.0 (m, 2H), 3.1–3.25 (m, 2H), 3.27 (m, 1H), 3.36 (m, 1H), 3.48 (m, 1H), 3.9–4.05 (m, 4H), 4.36 (bd, 1H).

$^{13}\text{C-NMR}$ (125 MHz, MeOD): gvanidin: δ 158.6; karbonilni ogljiki: δ 175.0, 174.7.

Primer 53: $(\text{EtO})_2\text{P}(\text{O})-\text{CH}_2-(\text{R})\text{Cha-Pro-Nag} \times \text{HOAc}$

(i) $(\text{EtO})_2\text{PO}-\text{CH}_2-(\text{R})\text{Cha-Pro-Nag}(\text{Z})$

H-(R)Cha-Pro-Nag(Z), (glej Primer 20), 0.2 g (0.40 mmol), smo raztopili v 5 ml THF, ter dodali 0.11 g (0.80 mmol) kalijevega karbonata in 0.12 g (0.40 mmol) dietil trimetilfosfonata. Zmes smo 2 uri mešali pri sobni temperaturi. Reakcijski zmesi smo dodali vodo in vodno fazo 3-krat ekstrahirali z EtOAc. Združeno organsko fazo smo sušili z (Na_2SO_4) in po zgoščevanju dobili 0.14 g (53%) naslovne spojine.

(ii) $(\text{EtO})_2\text{PO}-\text{CH}_2-(\text{R})\text{Cha-Pro-Nag} \times \text{HOAc}$

Pripravljena iz zgornjega produkta (i), z odstranitvijo zaščite po postopku (c).

$^1\text{H-NMR}$ (500 MHz, MeOD): δ 0.85–1.05 (m, 2H), 1.15–1.3 (m, 5H), 1.34 (t, 6H), 1.5–1.85 (m, 8H), 1.9–2.05 (m, 3H), 1.91 (s, acetat), 2.10 (m, 1H), 2.22 (m, 2H), 2.90 (dd, 1H), 3.05 (dd, 1H), 3.1–3.3 (m, 3H), 3.42 (m, 1H), 3.53 (m, 1H),

$^{13}\text{C-NMR}$ (125 MHz, MeOD): gvanidin: δ 158.7; karbonilni ogljiki: δ 176.1, 175.1.

Primer 54: **$\text{HOOC-CH}_2\text{-(R)Cha-Pro-Mag x HOAc}$**

(i) $\text{H-(R)Cha-Pro-NH-(CH}_2\text{)}_2\text{-NH(Z)}$

Pripravljena iz Boc-(R)Cha-Pro-OSu in $\text{H}_2\text{N-(CH}_2\text{)}_2\text{-NH(Z)}$, na enak način, kot $\text{H-(R)Cha-Pro-Agm(Z)}$ v Primeru 3.

(ii) $\text{EtOOC-CH}_2\text{-(R)Cha-Pro-NH-(CH}_2\text{)}_2\text{-NH(Z) x HOAc}$

Naslovno spojino smo dobili z alkiliranjem, kot v Primeru 4, in odstranitvijo zaščite po postopku (a).

(iii) $\text{HOOC-CH}_2\text{-(R)Cha-Pro-Mag x HOAc}$

Gvanidiranje zgornjega amina, na enak način kot je v Primeru 19 opisano za Z-(R)Cha-Pro-Nag, in odstranitev zaščite po postopku (e), nam je po čiščenju z RPLC ($\text{CH}_2\text{CN/NH}_4\text{OAc}$, (0.1M), 1/4) in sublimacijskem sušenju (H_2O), dalo naslovno spojino.

$^1\text{H-NMR}$ (300 MHz, D_2O): δ 0.90–1.18 (m, 2H), 1.19–1.43 (m, 3H), 1.52 (m, 1H), 1.63–2.20 (m, 10H), 2.06 (s, acetat), 2.31–2.45 (m, 1H), 3.44 (m, 2H), 3.50 (m, 2H), 3.60–3.75 (m, 3H), 3.85 (m, 1H), 4.46–4.54 (m, 2H).

$^{13}\text{C-NMR}$ (75 MHz, D_2O): gvanidin: δ 157.82; karbonilni ogljiki: δ 168.80, 171.41, 174.81.

Primer 55: H-(R,S)Pro(3-Ph)-Pro-Agm 2 TFA

Pripravljena iz Boc-(R,S)Pro(3-Ph)-Pro-OSu (glej Pripravo izhodnih materialov), na enak način, kot je opisan za H-(R)Cha-Pro-Agm(Z) v Primeru 3, temu je sledila odstranitev zaščite po postopku (b).

$^1\text{H-NMR}$ (500 MHz, D_2O , mešanica dveh diasteromer z neznano relativno stereokemijo): δ 1.0-1.8 (m, 7H), 2.0-2.5 (m, 3H), 2.8-4.3 (m, 10H), 4.56 (d, 1H, glavni), 4.90 (d, 1H, glavni), 7.2-7.5 (m, 5H).

$^{13}\text{C-NMR}$ (125.76 MHz, D_2O): gvanidin: δ 157.36 (stranski in glavni); karbonilni ogljiki: δ 174.1 (glavni), 174.0 (stranski), 167,8 (glavni), 167.0 (stranski).

Primer 56: H-(R,S)Pro(3-(trans)Ch)-Pro-Agm x 2 TFA

Pripravljena iz Boc-(R,S)Pro(3-(trans)Ch)-Pro-OSu, (glej Pripravo izhodnih materialov), na enak način, kot je opisano za H-(R)Cha-Pro-Agm(Z) v Primeru 3, temu je sledila odstranitev zaščite po postopku (b).

$^1\text{H-NMR}$ (500 MHz, D_2O , mešanica dveh diasteromer v razmerju 1.8/1): δ 0.95-1.32 (m, 5H), 1.35-1.46, (m, 1H), 1.50-1.92 (m, 10H), 1.93-2.15 (m, 4H), 2.23-2.43 (m, 2H), 3.15-3.30 (m, 4H), 3.35-3.50 (m, 2H), 3.57-3.68 (m, 1H), 3.74-3.82 (m, 1H), 4.34-4.41 (m, 1H), 4.51 (d, 1H, stranski), 4.48 (d, 1H, glavni).

$^{13}\text{C-NMR}$ (125.76 MHz, D_2O): gvanidin: δ 157.36 (stranski in glavni); karbonilni ogljiki: δ 174.1 (glavni), 174.07 (stranski), 168,94 (glavni in stranski).

Primer 57: $\text{HOOC-CH}_2\text{-(R,S)Pro(3-(trans)Ph)-Pro-Agm} \times 2 \text{ TFA}$

(i) $\text{H-(R,S)Pro(3-(trans)Ph)-Pro-Agm(Z)}$

Pripravljena iz Boc-(R,S)Pro(3-(trans)Ph)-Pro-OSu, (glej Pripravo izhodnega materiala), na enak način kot je opisano za H-(R)Cha-Pro-Agm(Z), v Primeru 3.

(ii) $\text{HOOC-CH}_2\text{-(R,S)Pro(3-(trans)Ph)-Pro-Agm} \times \text{TFA}$

Naslovno spojino smo dobili, z alkiliranjem, kot v Primeru 4, Br-CH₂COOBn, ki ji je sledila odstranitev zaščite po postopku (b), kot zmes dveh diastereomer.

¹H-NMR (500 MHz, MeOD, mešanica dveh diastereomer v razmerju 1.1/1): δ 1.40–1.82 (m, 6H), 1.85–2.05 (m, 1H), 2.10–2.30 (m, 1H), 2.50–2.65 (m, 2H), 3.10–3.40 (m, 6H), 3.50–3.70 (m, 2H), 3.9–4.40 (m, 4H), 4.63 (d, 1H, glavni), 4.67 (d, 1H, stranski), 7.30–7.60 (m, 5H).

¹³C-NMR (125.76 MHz, D₂O): gvanidin: δ 157.52 (obe izomeri); karbonilni ogljiki: δ 173.87, 173.73, 169.12, 168.94, 167.21, 167.00.

Primer 58: $\text{HOOC-CH}_2\text{-(R,S)Pro(3-(trans)Ph)-Pro-Nag} \times 2 \text{ TFA}$

(i) $\text{H-(R,S)Pro(3-(trans)Ph)-Pro-Nag(Z)}$

Pripravljena iz Boc-(R,S)Pro(3-(trans)Ph)-Pro-OSu, (glej Pripravo izhodnega materiala), in Boc-Nag(Z), na enak način kot je opisano za H-(R)Cha-Pro-Agm(Z), v Primeru 3.

(ii) $\text{HOOC-CH}_2\text{-(R,S)Pro(3-(trans)Ph)-Pro-Agm} \times \text{TFA}$

Naslovno spojino smo dobili, z alkiliranjem, kot v Primeru 4, $\text{Br-CH}_2\text{COOBn}$, ki ji je sledila odstranitev zaščite po postopku (b), kot zmes dveh diastereomer.

$^1\text{H-NMR}$ (500 MHz, MeOD, mešanica dveh diastereomer v razmerju 1.5/1): δ 1.40–1.85 (m, 4H), 1.90–2.00 (m, 1H), 2.10–2.30 (m, 1H), 2.45–2.70 (m, 2H), 3.08–3.46 (m, 6H), 3.57–3.70 (m, 2H), 3.90–4.0 (m, 1H), 4.32–4.40 (m, 1H), 4.04 in 4.29 (AB-kvartet, 2H, glavni), 4.64 (d, 1H, stranski), 7.3–7.6 (m, 5H).

$^{13}\text{C-NMR}$ (125.76 MHz, D_2O): gvanidin: δ 157.48 (obe izomeri); karbonilni ogljiki: δ 173.90, 173.71, 169.01, 168.94, 167.07.

Primer 59: **$\text{HOOC-CH}_2\text{-(R)Cha-Pic-Agm x 2 TFA}$**

(i) $\text{H-(R)Cha-Pic-Agm(Z)}$

Pripravljena iz Boc-(R)Cha-Pic-OSu (Glej Pripravo izhodnih materialov) na enak način, kot je opisano za H-(R)Cha-Pro-Agm(Z) v Primeru 3.

(ii) $\text{HOOC-CH}_2\text{-(R)Cha-Pic-Agm x 2 TFA}$

Naslovno spojino smo dobili z alkiliranjem, kot v primeru 4, z $\text{Br-CH}_2\text{COOBn}$, ki mu je sledila odstranitev zaščite po postopku (a).

$^1\text{H-NMR}$ (300 MHz, MeOD): δ 1.02 (m, 2H), 1.13–2.00, (m, 20H), 2.24 (bd, 1H), 3.12–3.45 (m, 5H), 3.71 (bd, 1H), 3.87 (s, 2H), 4.65 (bt, 1H), 5.06 (m, 1H).

$^{13}\text{C-NMR}$ (75 MHz, D_2O): gvanidin: δ 157.47; karbonilni ogljiki: δ 169.42, 170.03, 172,71.

Primer 60: **HOOC-CH₂-(Me)(R)Cha-(R,S)Pic-Agm x HOAc**

(i) Me-(R)Cha-(R,S)Pic-Agm(Z)

Pripravljena iz Boc-(Me)(R)Cha-Pic-OSu, na enak način, kot je opisano za H-(R)Cha-Pro-Agm(Z) v Primeru 3.

(ii) HOOC-CH₂-(Me)(R)Cha-(R,S)Pic-Agm x HOAc

Naslovno spojino smo dobili z alkiliranjem, kot v Primeru 4, z Br-CH₂-COOBn, ki ji je sledila odstranitev zaščite po postopku (b).

Komentar: Nekje med sintezo je prišlo do epimerizacije Pic.

¹H-NMR spekter je kompleksen in ustreza dvema diastereomerama v približnem razmerju 1:1 in njihovimi rotamerami.

¹H-NMR (500 MHz, MeOD): δ 0.75-2.15 (več m, 20H), 1.95 (bs, acetat), 2.2-2.7, (6H, opazili dva oddaljena niza signalov v približnem razmerju 1:1; v primeru 2.35 in 2.55 (s, 3H)), 3.9-4.175 (m, 2H; v primeru 4.14 (dd)), 4.4-4.5 (m, 1H), 4.97-5.15 (dva bdd, 1H).

¹³C-NMR (75 MHz, D₂O): gvanidin: δ 157.50; karbonilni ogljiki: δ 169.65, 170.01, 170.54, 172.67, 172.89.

Primer 61: **HOOC-(R,S)CH(Me)-(R)Cha-Pic-Agm x TFA**

Naslovno spojino smo dobili z alkiliranjem, kot v Primeru 4, H-(R)Cha-Pic-Agm(Z), (glej Primer 59) z Br-CH(Me)COOBn, ki ji sledi odstranitev zaščite po postopku (a), kot zmes dveh diastetomer.

Primer 62: HOOC-(RorS)CH(Me)-(R)Cha-Pic-Agm/a x 2 TFA

Diastereomere, ki smo jih izdelali v Primeru 61, smo ločili z RPLC (CH₃CN/NH₄OAc (0.1M), 1/3), odparili topilo, in sublimacijsko sušili iz H₂O/TFA. Ta diastereomera je prva pripotovala iz kolone.

¹H-NMR (300 MHz, D₂O, 2 rotameri v približnem razmerju 5:1): δ 0.70 (m, stranski rotamer), 0.75-1.0 (m, 2H), 1.0-1.28 (m, 3H), 1.28-1.83 (m, 20H; v primeru 1.57 (d, 3H)), 2.14, (bd, 1H), 2.92 (t, stranski rotamer), 3.03-3.32 (m, 5H), 3.9 (bd, 1H), 3.85 (q, stranski rotamer), 3.98 (q, 1H), 4.30-4.50 (m, stranski rotamer), 4.54 (m, 1H), 4.95 (s, 1H).

¹³C-NMR (75 MHz, D₂O): gvanidin: δ 157.39; karbonilni ogljiki: δ 172.26 (2 ogljika), 169.92.

Primer 63: HOOC-(RorS)CH(Me)-(R)Cha-Pic-Agm/b x 2 TFA

Naslovno spojino smo dobili tako, da smo spojino iz Primera 61 obdelali po enakem postopku kot v Primeru 62. Ta diastereomera je prva pripotovala po koloni.

¹H-NMR (500 MHz, D₂O, 2 rotameri v približnem razmerju 5:1): δ 0.72 (m, stranski rotamer), 0.80 (m, stranski rotamer), 0.97 (m, 2H), 1.0-1.23 (m, 3H), 1.23-1.40 (m, 2H), 1.40-1.83, (m, 18H; v primeru 1.63 (d, 3H)), 2.11 (d, 1H), 2.17 (d, stranski rotamer), 2.92 (t, stranski rotamer), 3.05-3.25 (m, 4H), 3.29 (t, 1H), 3.74 (d, 1H), 4.02 (q, 1H), 4.34 (d, stranski rotamer), 4.41 (dd, stranski rotamer), 4.52 (t, 1H), 4.95 (s, 1H).

¹³C-NMR (125 MHz, D₂O): gvanidin: δ 154.68; karbonilni ogljiki: δ 169.81, 169.60, 169.36.

Primer 64: HOOC-CH₂-CH₂-(R)Cha-Pic-Agm x 2 TFA

Pripravljena iz H-(R)Cha-Pic-Agm(Z), (glej Primer 59), na enak način kot HOOC-CH₂-CH₂-(R)Cha-Pro-Agm v Primeru 15, uporabili smo 1.2 ekv. namesto 1.1 ekv. benzilakrilata.

¹H-NMR (500 MHz, D₂O, 2 rotameri v približnem razmerju 4:1): δ 0.70-0.90 (m, stranski rotamer), 0.90-1.0 (m, 2H), 1.05-1.25 (m, 3H), 1.30-1.45 (m, 2H), 1.45-1.85 (m, 15H), 2.1 (bd, 1H), 2.2 (bd, stranski rotamer), 2.75, (t, 2H), 2.95 (t, stranski rotamer), 3.1-3.4 (m, 7H), 3.75 (bd, 1H), 4.55 (t, 1H), 4.95 (m, 1H).

¹³C-NMR (75 MHz, D₂O): gvanidin: δ 157.48; karbonilni ogljiki: δ 170.10, 172.58, 174.75.

Primer 65: H-(R)Cha-Pic-Nag x 2 TFA**(i) Boc-(R)Cha-Pic-Nag(Z)**

(ia) Pripravljena iz izhodne spojine Boc-(R)Cha-Pic-OSu, po enakem postopku, kot je opisano za Boc-(R)Cha-Pro-Agm(Z), v Primeru 3.

(ib) Pripravljena iz izhodne spojine Boc-(R)Cha-Pic-OH

Difenilfosforilazid, (0.432 ml, 2 mmol), smo dodali mešajoči se raztopini Boc-(R)Cha-Pic-OH, (765 mg, 2 mmol) v 5 ml DMF, pri -5°C. Po 10 minutah, smo dodali še H-Nag(Z) x 2 HCl (600 mg, 2.1 mmol, glej Pripravo izhodnih materialov), v 5 ml DMF in trietilamin (615 mg, 4.4 mmol). Reakcijsko zmes smo pustili stati na ledeni kopeli 3 ure in nato 12 ur na sobni temperaturi, nazadnje smo to zlili v vodo. Vodno fazo smo ekstrahirali z EtOAc, temu je sledilo sušenje (MgSO₄) organske faze in odparitev topila v vakumu,

da smo dobili 1.18 g (96%) produkta, kot zmes diastereomer (epimere v Pic) v razmerju 97:3 (RS/RR).

(ic) Izhodna spojina Boc-(R)Cha-Pic-OH

EDC klorid (4.2 g, 21.9 mmol) smo pri -15°C dodali mešajoči se raztopini Boc-(R)Cha-Pic-OH, (8 g, 20.9 mmol), DMAP, (10.6 g, 88 mmol) in H-Nag(Z) x 2 HCl, (6.3 g, 19.5 mmol, glej Pripravo izhodnih materialov), v acetonitrilu. Reakcijska temperatura se je v 16-ih urah lahko ogrela do $+15^{\circ}\text{C}$. Topilo smo odstranili z vakuumom in preostanek raztopili v etilacetatu. Po spiranju z vodo, 0.3M KHSO_4 , 0.3M NaHCO_3 , vodo in solnico in po sušenju (Na_2SO_4) ter odperitvi topila dobili 11.9 g, (92.5%) produkta, kot zmes dveh diastereomer (epimer v Pic) v razmerju 98/2 (RS/RR).

$^1\text{H-NMR}$ (500 MHz, CDCl_3): δ 0.85-2.0 (m, 29H, v primeru 1.40 (bs, 9H), 2.46, (bd, 1H), 3.1-3.4 (m, 5H), 3.92 (bd, 1H), 4.53 (bq, 1H), 5.10 (s, 2H), 5.22 (bs, 1H), 5.29 (bd, 1H), 6.7-7.2 (b, 3H), 7.25-7.45 (m, 5H).

$^{13}\text{C-NMR}$ (125 MHz, CDCl_3): gvanidin: δ 156.9; karbonilni ogljiki: δ 173.6, 170.3, 163.7, 161.7.

(ii) H-(R)Cha-Pic-Nag(Z)

Pripravljena po enakem postopku, kot je opisano za H-(R)Cha-Pro-Agm(Z), v Primeru 3, izhajajoč iz Bos-(R)Cha-Pic-Nag(Z).

$^1\text{H-NMR}$ (500 MHz, CDCl_3): δ 0.8-2.0 (m, 22H), 2.24, (bd, 1H), 3.1-3.4 (m, 5H), 3.72 (bd, 1H), 3.84 (bq, 1H), 5.05 (bd, 1H), 5.08 (s, 2H), 7.3-7.5 (m, 5H).

(iii) H-(R)Cha-Pic-Nag x 2 TFA

Pripravljena iz zgornjega produkta (ii), z odstranitvijo zaščite, po postopku (a)

$^1\text{H-NMR}$ (500 MHz, MeOD): δ 0.9–1.1 (m, 2H), 1.2–2.0 (m, 18H), 2.32 (bd, 1H), 3.20 (t, 2H), 3.30 (t, 2H), 3.36 (m, 1H), 3.69 (bd, 1H), 4.49 (dd, 1H), 5.05 (bd, 1H).

$^{13}\text{C-NMR}$ (125 MHz, MeOD): gvanidin: δ 158.7; karbonilni ogljiki: δ 172.7, 171.4.

Primer 66: Me-(R)Cha-(R,S)Pic-Nag x 2 TFA

(i) Me-(R)Cha-(R,S)Pic-Nag(Z)

Pripravljena, na način, ki je opisan za H-(R)Cha-Pro-Agm(Z), v Primeru 3, izhajajoč iz Boc-(Me)(R)Cha-Pic-OSu in Boc-Nag(Z). Med sintezo pride do epimerizacije Pic, zato dobimo produkt, kot zmes dveh diastereomer.

(ii) Me-(R)Cha-(R,S)Pic-Nag x 2 TFA

Pripravljena z odstranitvijo zaščite, po postopku (b).

$^1\text{H-NMR}$ spekter je kompleksen in ustreza dvema diastereomerama in njihovim rotameram.

$^1\text{H-NMR}$ (500 MHz, MeOD): δ 0.8–1.08 (m, 2H), 1.15–2.4 (več m, 19H), 2.6–2.75 in 2.9–2.95 (več s, 3H), 3.1–3.6 (več m, 5H), 3.75–4.1 (več m, 1H), 4.4–4.7 (več m, 1H), 5.05–5.15 (dva dd, 1H).

$^{13}\text{C-NMR}$ (125 MHz, D_2O): gvanidin: δ 1547.84; karbonilni ogljiki: δ 167.60 in 169.99.

Primer 67: HOOC-CH₂-(R)Cha-Pic-Nag(i) BnOOC-CH₂-(R)Cha-Pic-Nag(Z)

Naslovno spojino smo dobili z alkiliranjem, kot v Primeru 4, H-(R)Cha-Pic-Nag(Z), (glej Primer 65), z Br-CH₂COOBn.

¹H-NMR (500 MHz, CDCl₃): δ 0.8-1.0 (m, 2H), 1.1-1.7 (m, 19H), 1.79 (bd, 1H), 2.3-2.5, (m, 2H; v primeru 2.38 (bd, 1H)), 3.00 (bt, 1H), 3.1-3.4 (m, 5H; v priemeru 3.38 (d, 1H)), 3.58 (d, 1H), 3.6-3.7 (m, 2H), 5.06 (dd, 2H), 5.06 (dd, 2H), 5.07 (s, 2H), 5.16 (bs, 1H), 6.7-7.1 (b, 1H), 7.15 (bs, 1H), 7.2-7.4 (m, 10H).

¹³C-NMR (125 MHz, CDCl₃): gvanidin in karbonilni ogljiki: δ 176.0, 173.6, 170.8, 163.8, 161.7.

(iia) HOOC-CH₂-(R)Cha-Pic-Nag x 2 HCl

Naslovno spojino smo dobili z odstranitvijo zaščite, po postopku (a), čiščenju z RPLC z CH₃CN/0.1M NH₄OAc 1/3 kot eluentom, odparitvi topila, pri 40-50°C, in sublimacijskim sušenjem, kot acetat. Bis-hidroklorid željene spojine smo dobili z obdelovanjem z 20-kratnim presežkom klorovodikove kisline, zgoščevanjem in ponovnim sublimacijskim sušenjem spojine.

¹H-NMR (500 MHz, D₂O, zmes dveh rotamer): δ 0.7-2.0 (m, 20H), 2.17 (bd, 1H), 2.95 (t, glavni rotamer)), 3.17 (t, 2H), 3.25-3.35 (m, 3H), 3.72 (bd, 1H), 3.86 (dd, glavni rotamer), 3.90 (s, 2H), 4.72 (t, 1H), 4.99 (bs, 1H).

¹³C-NMR (125 MHz, D₃O): gvanidin δ 157.4 karbonilni ogljiki: δ 169.9, 170.2, 173.0.

(ii) HOOC-CH₂-(R)Cha-Pic-Nag x 2 HBr

BnOOC-CH₂-(R)Cha-Pic-Nag(Z) smo raztopili v ⁱPr-OH/H₂O (95/5) in hidrogenirali v prisotnosti 5% Pd/C, pri atmosferskem tlaku, v prisotnosti HBr (2.2 ekv.). Katalizator smo odfiltrirali in po odparitvi topila dobili rumeno olje. (Alternativni način priprave, kislino lahko dodamo po hidrogeniranju in filtraciji.) Kristalizirali smo iz ⁱPr-OH (ali EtOH)/EtOAc (1/1) in dobili naslovno spojino v obliki belega kristliničnega praška.

¹H-NMR (500 MHz, D₂O, zmes dveh rotamer): δ 1.15–2.0 (m, 20H), 2.30 (bd, 1H), 3.30 (m, 2H), 3.4–3.50 (m, 3H), 3.85–3.90 (m, 1H), 3.95 (navidezni s, 2H), 4.75–4.85 (m, 1H, delno zakrit za H-O-D linijo), 5.10 (bs, 1H).

¹³C-NMR (125 MHz, D₂O): gvanidin: δ 157.6; karbonilni ogljiki: δ 169.7, 170.2, 173.0.

Primer 68: MeOOC-CH₂-(R)Cha-Pic-Nag x 2 TFA

Metilni ester MeOOC-CH₂-(R)Cha-Pic-Nag(Z) smo dobili z trans esterifikacijo ⁱPrOOC-CH₂-(R)Cha-Pic-Nag(Z), (glej Primer 69) na koloni med "flash" kromatografijo, ko smo kot eluent uporabili CH₂Cl₂/MeOH. Naslovno spojino smo dobili po odstranitvi zaščite, po postopku (a).

¹H-NMR (500 MHz, MeOD): δ 0.95–1.15 (m, 2H), 1.2–1.6 (m, 6H), 1.65–2.0 (m, 13H), 2.25 (bd, 1H), 3.21 (t, 2H), 3.30 (t, 2H) 3.37 (m, 1H), 3.71 (m, 1H), 3.83 (s, 3H), 3.97 (dd, 2H), 4.67 (bt, 1H), 5.05 (bs, 1H).

¹³C-NMR (125 MHz, MeOD): gvanidin: δ 158.0, karbonilni ogljiki: δ 173.0, 171.1, 168.3.

Primer 69: ⁱPrOOC-CH₂-(R)Cha-Pic-Nag x 2 TFA

Naslovno spojino smo dobili z alkiliranjem, kot je opisano v Primeru 4, H-(R)Cha-Pic-Nag(Z), (glej Primer 65), z Br-CH₂-COOⁱPr in odstranitvijo zaščite po postopku (a).

¹H-NMR (500 MHz, MeOD): δ 0.95-1.1 (m, 2H), 1.15-1.6 (m, 12H; v priemru 1.25 (d, 3H), 1.28 (d, 3H)), 1.65-1.95 (m, 12H), 2.28 (bd, 1H), 3.21 (t, 2H), 3.30 (t, 2H), 3.36 (m, 1H), 3.93 (dd, 2H), 4.67 (t, 1H), 5.04 (bs, 1H), 5.11 (pentet, 1H).

¹³C-NMR (125 MHz, MeOD): gvanidin: δ 157.9; karbonilni ogljiki: δ 173.1, 171.0, 168.3.

Primer 70: HOOC-CH₂-(Me)(R)Cha-(RorS)Pic-Nag/b x TFA

Po alkiliranju, kot je opisano v Primeru 4, Me-(R)Cha-(R,S)Pic-Nag(Z), (glej Primer 66), z Br-CH₂-COOBn, in odstranitvijo zaščite po postopku (b) smo dobili HOOC-CH₂-(Me)(R)Cha-(R,S)Pic-Nag. Dve diastereomeri sta bili ločeni z RPLC (CH₃CN/NH₄OAc, 1:3) in sublimacijsekm sušenju iz H₂O/TFA. Ta diastereomera je zadnja pripotovala iz kolone.

¹H-NMR (500 MHz, MeOD): δ 0.9-1.0 (m, 2H), 1.15-1.35 (m, 4H), 1.4-1.55 (m, 2H), 1.6-1.85 (m, 12H), 2.3 (m, 1H), 2.85 (s, 3H), 3.15-3.45 (m, 5H), 3.65 (bs, 2H), 4.0 (m, 1H), 4.65 (m, 1H), 5.08 (dd, 1H).

¹³C-NMR (125 MHz, D₂O): gvanidin: δ 157.65; karbonilni ogljiki: δ 169.86 in 172.48.

Primer 71: HOOC-(R,S)CH(Me)-(R)Cha-(R,S)Pic-Nag x 2 TFA

Naslovno spojino smo dobili z alkiliranjem H-(R)Cha-Pic-Nag(Z), (glej Primer 65), kot Primeru 4, z Br-CH(Me)-COOBn

in odstranitvijo zaščite po postopku (a), kot zmes 4-ih diastereomer.

Primer 72: HOOC-(RorS)CH(Me)-(R)Cha-(RorS)Pic-Nag/c x 2 TFA

Diastereomere, ki smo jih izdelali v Primeru 71, smo ločili z RPLC (CH₃CN/NH₄OAc (0.1M), 1/4), odparili topilo in sublimacijsko sušili iz H₂O/TFA. Ta diastereomera je po koloni pripotovala kot tretja.

¹H-NMR (300 MHz, D₂O, 2 rotameri v približnem razmerju 5:1):
 δ 0.88 (m, stranski rotamer), 0.98-1.63 (m, 7H), 1.63-2.02 (m, 16H; v primeru 1.68 (d, 3H), 2.28 (m, 1H), 3.10 (t, stranski rotamer), 3.25-3.50 (m, 5H; v primeru 3.33 (t, 2H) in 3.43 (t, 2H)), 3.82 (bd, 1H), 4.02 (q, 1H), 4.55 (d, stranski rotamer), 4.65 (d, stranski rotamer), 4.72 (m, 1H), 5.10 (m, 1H).

Primer 73: HOOC-(RorS)CH(Me)-(R)Cha-(RorS)Pic-Nag/d x 2 TFA

Diastereomere, ki smo jih izdelali v Primeru 71, smo ločili z RPLC (CH₃CN/NH₄OAc (0.1M), 1:4), odparili topilo in sublimacijsko sušili iz H₂O/TFA. Ta diastereomera je po koloni pripotovala kot zadnja od štirih.

¹H-NMR (500 MHz, D₂O, 2 rotameri v približnem razmerju 5:1): δ 0.80 (m, stranski rotamer), 0.90 (m, stranski rotamer), 1.03 (m, 2H), 1.10-1.33 (m, 3H), 1.42 (m, 2H), 1.51-1.92 (m, 16H; v primeru 1.57 (d, 3H)), 2.18 (d, 1H), 2.24 (d, stranski rotamer), 2.98 (t, stranski rotamer), 3.21 (t, 2H), 3.28-3.40 (m, 3H; v primeru 3.44 (t, 2H)), 3.82 (d, 1H), 4.02 (q, 1H), 4.42 (d, stranski rotamer), 4.50 (t, stranski rotamer), 4.62 (t, 1H), 4.67 (s, stranski rotamer), 5.03 (s, 1H).

Primer 74: HOOC-CH₂-CH₂-(R)Cha-Pic-Nag x 2 TFA

Pripravljena iz H-(R)Cha-Pic-Nag(Z), (glej Primer 65), na enak način, kot HOOC-CH₂-CH₂-(R)Cha-Pro-Agm v Primeru 15, le da smo uporabili 1.2 ekv. benzilakrilata namesto 1.1 ekv.

¹H-NMR (500 MHz, D₂O, 2 rotameri v približnem razmerju 4:1): δ 0.7-0.9 (m, stranski rotamer), 0.9-1.0 (m, 2H), 1.05-1.3 (m, 3H), 1.3-1.45 (m, 2H), 1.5-1.8 (m, 13H), 2.10 (d, 1H), 2.20 (d, stranski rotamer), 2.75 (t, 2H), 2.95 (t, stranski rotamer), 3.15 (t, 2H), 3.2-3.35 (m, 5H), 3.75 (d, 1H), 4.55 (t, 1H), 4.95 (m, 1H).

¹³C-NMR (75 MHz, D₂O): gvanidin: δ 157.57; karbonilni ogljiki: δ 170.16, 172.82, 174.75.

Primer 75: HOOC-CH₂-(R)Cha-(R,S)Mor-Agm x 2 TFA**(i) H-(R)Cha-Mor-Agm(Z)**

Pripravljena iz Boc-(R)Cha-Mor-OSu (glej Pripravo izhodnih materialov) na enak način, kot je opisano za H-(R)Cha-Pro-Agm(Z), v Primeru 3.

(ii) HOOC-CH₂-(R)Cha-(R,S)Mor-Agm x 2 TFA

Naslovno spojino smo dobili z alkiliranjem, kot v Primeru 4, z Br-CH₂COOBn in odstranitvijo zaščite po postopku (b). Med sintezo je prišlo do epimerizacije Mor, zato smo pri končnem produktu opazili zmes dveh diastereomer v približnem razmerju 9:1.

$^1\text{H-NMR}$ (300 MHz, MeOD): δ 0.92–1.95 (m, 17H), 3.12–3.39 (m, 4H), 3.44–4.05 (m, 7H), 4.37 (d, 1H), 4.63 (m, 1H), 4.79 (bd, 1H).

$^{13}\text{C-NMR}$ (75.47 MHz, MeOD): gvanidin: δ 158.63; karbonilni ogljiki: δ 170.87, 170.82, 169.08, drugi δ 69.06, 67.01 ($\underline{\text{C}}$ -O- $\underline{\text{C}}$).

Primer 76: $\text{HOOC-CH}_2\text{-(R)Cha-(RorS)Mor-Nag x 2 TFA}$

(i) H-(R)Cha-Mor-Nag(Z)

Pripravljen iz Boc-(R)Cha-Mor-OSu, (glej Pripravo izhodnih materialov) in Boc-Nag(Z), na enak način, kot je opisano za H-(R)Cha-Pro-Agm(Z) v Primeru 3.

(ii) $\text{HOOC-CH}_2\text{-(R)Cha-(RorS)Mor-Nag x 2 TFA}$

Naslovno spojino smo dobili, z alkiliranjem, kot Primeru v 4, z $\text{Br-CH}_2\text{COOBn}$ in odstranitvijo zaščite po postopku (b).

$^1\text{H-NMR}$ (300 MHz, MeOD): δ 0.92–1.13 (m, 2H), 1.15–1.42 (m, 3H), 1.50 (br.s, 1H), 1.62–1.95 (m, 9H), 3.14–3.40 (m, 4H), 3.46–4.13 (m, 7H), 4.41 (d, 1H), 4.63 (m, 1H), 4.80 (br.d, 1H).

$^{13}\text{C-NMR}$ (75.47 MHz, MeOD): gvanidin: δ 158.68; karbonilni ogljiki: δ 171.19, 170.90, 169.46, drugi δ 68.81, 67.00 ($\underline{\text{C}}$ -O- $\underline{\text{C}}$).

Primer 77: $\text{H-(R)Cha-Aze-Nag x 2 HOAc}$

(i) Boc-(R)Cha-Aze-Nag(Z)

Pripravljena iz Boc-(R)Cha-Aze-OH na enak način, kot je opisano za Boc-(R)Cha-Pic-Nag(Z), v Primeru 65 (ic).

(ii) H-(R)Cha-Aze-Nag(Z)

Pripravljena na enak način, kot H-(R)Cha-Pro-Agm(Z), (glej Primer 3).

(iii) H-(R)Cha-Aze-Nag x 2 HOAc

Pripravljena iz zgornjega produkta (ii), z odstranitvijo zaščite po postopku (a).

$^1\text{H-NMR}$ (300 MHz, D_2O): δ 0.85–1.10 (m, 2H), 1.10–2.04 (m, 13H), 1.95 (s, acetat), 2.20–2.37 (m, 1H), 2.60–2.82 (m, 1H), 3.15–3.40 (m, 4H), 3.96–4.15 (m, 2H), 4.18–4.30 (m, 1H), 4.30–4.42 (m, 1H), signali stranskih rotamer se pojavijo pri: δ 0.70, 3.90 in 5.10.

$^{13}\text{C-NMR}$ (75 MHz, D_2O): gvanidin: δ 157.39 in karbonilni ogljiki: δ 170.22 in 172.38.

Primer 78: **HOOC-CH₂-(R)Cha-Aze-Nag x HOAc**

(i) BnOOC-CH₂-(R)Cha-Aze-Nag(Z)

Pripravljena iz H-(R)Cha-Aze-Nag(Z), (glej Primer 77), po postopku, ki je opisan v Primeru 4.

(ii) HOOC₂-CH-(R)Cha-Aze-Nag x HOAc

Pripravljena iz zgornjega produkta (i) z odstranitvijo zaščite po postopku (a).

$^1\text{H-NMR}$ (500 MHz, MeOD): δ 0.90–1.10 (m, 2H), 1.15–2.00 (m, 13H), 1.95 (s, acetat), 2.20–2.30 (m, 1H), 2.58–2.70 (m, 1H), 3.17–3.30 (m, 4H), 3.35–3.50 (m, 2H), 3.55–3.68 (m, 1H), 4.10–4.20 (m, 1H), 4.30–4.38 (m, 1H), 4.65–4.77 (m, 1H), signali stranskih rotamer se pojavijo pri: δ 3.75, 3.98, 4.03 in 5.08.

$^{13}\text{C-NMR}$ (75 MHz, D_2O): gvanidin: δ 157.40 in karbonilni ogljiki: δ 169.16, 171.92 in 172.13.

Primer 79: H-(R)Cha-Pro(5-(S)Me)-Nag x 2 HCl

(i) Boc-(R)Cha-Pro(5-(S)Me)-Nag(Z)

Enak postopek, kot za združitev Boc-(R)Cha-OH in H-Pic-OEt x HCl, (glej Pripravo izhodnih materialov), smo uporabili tudi za združitev Boc-(R)Cha-Pro(5-(S)Me)-OH in H-Nag(Z) x 2 HCl.

(ii) H-(R)Cha-Pro(5-(S)Me)-Nag(Z)

Uporabili smo enak postopek, kot je opisan za sintezo H-(R)Cgl-Pic-Nag(Z), (glej Primer 84 (ii)).

(iii) H-(R)Cha-Pro(5-(S)Me)-Nag x 2 HCl

Pripravljena iz zgornjega produkta (ii), z odstranitvijo zaščite po postopku (d).

$^1\text{H-NMR}$ (300 MHz, D_2O): δ 1.0–2.3 (m, 21H; v primeru 1.47 (d, 3H)), 2.04–2.55 (m, 1H), 3.3–3.6 (m, 4H), 4.30 (bt, 1H), 4.38 (dd, 1H), 4.47 (bt, 1H).

$^{13}\text{C-NMR}$ (75 MHz, D_2O): gvanidin: δ 157.6, karbonilni ogljiki: δ 174.6, 169.6.

Primer 80: $\text{HOOC-CH}_2\text{-(R)Cha-Pro(5-(S)Me-Nag x HOAc}$

Naslovno spojino smo dobili z alkiliranjem, kot v Primeru 4, H-(R)Cha-Pro(5-(S)Me)-Nag(Z), (glej Primer 79), z Br-CH-COObn in odstranitvijo zaščite po postopku (a).

$^1\text{H-NMR}$ (300 MHz, D_2O): δ 0.9–1.9 (m, 19H; v primeru 1.34 (bd, 3H)), 1.93 (s, acetat), 2.0–2.2 (m, 3H), 2.34 (m, 1H), 3.1–3.5 (m, 7H), 3.97 (m, 1H), 4.20 (m, 1H), 4.31 (bt, 1H), 4.47 (bt, 1H).

$^{13}\text{C-NMR}$ (75 MHz, D_2O): gvanidin: δ 157.4.

Primer 81: **$\text{HOOC-CH}_2\text{-(R)Cha-(RorS)Pic(4,5-dehidro)-Nag/b x HOAc}$** **(i) Boc-(R)Cha-(R,S)Pic(4,5-dehidro)-Nag(Z)**

Pripravljena iz Boc-(R)Cha-(R,S)Pic(4,5-dehidro)-OH na enak način, kot je opisano za Boc-(R)Cha-Pic-Nag(Z), (glej Primer 65 (ic)).

(ii) H-(R)Cha-(R,S)Pic(4,5-dehidro)-Nag(Z)

Pripravljena na enak način, kot je opisano za H-(R)Cha-Pro-Agm(Z), (glej Primer 3).

(iii) BnOOC-CH₂-(R)Cha-(R,S)Pic(4,5-dehidro)-Nag(Z)

Pripravljena iz H-(R)Cha-(R,S)Pic(4,5-dehidro)-Nag(Z), po postopku, ki je opisan v Primeru 4.

(iv) $\text{HOOC-CH}_2\text{-(R)Cha-(RorS)Pic(4,5-dehidro)-Nag/b x HOAc}$

Zmes, 356 mg (0.539 mmol) $\text{BnOOC-CH}_2\text{-(R)Cha-(R,S)Pic(4,5-dehidro)-Nag(Z)}$, 10 ml trifluoroocetne kisline in 3.4 ml tioanizola, smo pri sobni temperaturi mešali 3.5 ure. Dodali smo vodo in zmes 2-krat sprali z CH_2Cl_2 , odparili topilo in dobili $\text{HOOC-CH}_2\text{-(R)Cha-(R,S)Pic(4,5-dehidro)-Nag}$. Naslovno spojino smo dobili po ločitvi diastereomer z RPLC ($\text{CH}_3\text{CN}/\text{NH}_4\text{OAc}$ (0.1M), 3/7) in sublimacijskem sušenju (H_2O) po odparitvi topila. Diastereomera je pripotovala iz kolone kot druga.

$^1\text{H-NMR}$ (300 MHz, D_2O): δ 0.85–1.95 (m, 15H), 2.50–2.80 (m, 2H), 3.25 (t, 2H), 3.35 (t, 2H), 3.55 (bs, 2H), 3.85–4.6 (m, 3H), 4.92 (stranski rotamer), 5.30 (d, 1H), 5.85–6.1 (m, 2H).

$^{13}\text{C-NMR}$ (75 MHz, D_2O): gvanidin: δ 157.59; karbonilni ogljiki: δ 174.46, 172.58, 173.03.

Primer 82: $\text{HOOC-CH}_2\text{-(R)Cha-Pic(4-(S)Me)-Nag} \times 2 \text{ HCl}$

(i) Boc-(R)Cha-Pic(4-(S)Me)-Nag(Z)

Pripravljena iz Boc-(R)Cha-Pic(4-(S)Me)-OH, na enak način, kot je opisano za Boc-(R)Cha-Pic-Nag(Z), po metodi (ic), v Primeru 65.

(ii) H-(R)Cha-Pic(4-(S)Me)-Nag(Z)

Pripravljena na enak način, kot je opisano za H-(R)Cha-Pro-Agm(Z), (glej Primer 3).

(iii) BnOOC-CH}_2\text{-(R)Cha-Pic(4-(S)Me)-Nag(Z)}

Pripravljena iz H-(R)Cha-Pic(4-(S)Me)-Nag(Z), po postopku, opisanem v Primeru 4.

(iv) HOOC-CH₂-(R)Cha-Pic(4-(S)Me)-Nag x 2 HCl

Pripravljena iz zgornjega produkta (iii), z odstranitvijo zaščite , po postopku (d).

¹H-NMR (500 MHz, D₂O): δ 0.95-2.05 (m, 22H; v primeru 1.05 (d, 3H)), 2.30-2.38 (bd, 1H), 3.28-3.36 (m, 2H), 3.36-3.50 (m, 3H), 3.85-3.95 (m, 1H), 3.98 (s, 2H), 4.70-4.90 (m, 1H; delno zakrit s HOD signalom), 5.22-5.27 (d, 1H), signal stranske rotamere se pojavlja pri δ 0.93, 3.13 in 4.57.

¹³C-NMR (125 MHz, D₂O): gvanidin: δ 157.58, karbonilni ogljiki: δ 170.12, 170.32 in 172.82.

Primer 83: HOOC-CH₂-(R)Cha-Pic(4-(R)Me)-Nag x 2 HCl(i) Boc-(R)Cha-Pic(4-(R)Me)-Nag(Z)

Pripravljena iz Boc-(R)Cha-(R)Pic(4-(R)Me)-OSu in Boc-Nag(Z), na enak način, kot je opisano za Boc-(R)Cha-Pro-Agm(Z), (glej Primer 3).

(ii) H-(R)Cha-(R)Pic(4-(R)Me)-Nag(Z)

Pripravljena na enak način, kot je opisano za H-(R)Cha-Pro-Agm(Z), (glej Primer 3).

(iii) BnOOC-CH₂-(R)Cha-(R)Pic(4-(R)Me)-Nag(Z)

Pripravljena iz H-(R)Cha-(R)Pic(4-(R)Me)-Nag(Z), po postopku opisanem v Primeru 4.

(iv) HOOC-CH₂-(R)Cha-(R)Pic(4-(R)Me)-Nag x 2 HCl

Pripravljena iz zgornjega produkta (iii), z odstranitvijo zaščite , po postopku (d).

$^1\text{H-NMR}$ (500 MHz, D_2O): δ 1.00–2.05 (m, 22H), 2.18–2.26 (bd, 1H), 3.28–3.36 (m, 2H), 3.36–3.55 (m, 3H), 3.85–4.05 (m, 3H), 4.70–4.90 (m, 1H; delno zakrit s HOD signalom), 5.25–5.30 (d, 1H), signal stranske rotamere se pojavlja pri δ 2.40, 2.90, 4.42, 4.55 in 5.23.

$^{13}\text{C-NMR}$ (125 MHz, D_2O): gvanidin: δ 157.56, karbonilni ogljiki: δ 169.69, 169.84 in 173.20.

Primer 84: $\text{HOOC-CH}_2\text{-(R)Cga-Pic-Nag} \times 2 \text{ HCl}$

(i) Boc-(R)Cgl-Pic-Nag(Z)

Pripravljena iz Boc-(R)Cgl-Pic-OH, na enak način, kot je opisano za Boc-(R)Cha-Pic-Nag(Z), po metodi (ic), v Primeru 65.

$^1\text{H-NMR}$ (300 MHz, CDCl_3): δ 0.9–1.8 (m, 27H), 2.4 (d, 1H), 3.1–3.3 (m, 5H), 3.9 (d, 1H), 4.2 (t, 1H), 5.1 (s, 2H). 5.2 (bd, 2H), 6.7–7.4 (m, 9H).

(ii) H-(R)Cgl-Pic-Nag(Z)

Plin, klorovodik, smo uvajali v raztopino Boc-(R)Cgl-Pic-Nag(Z), (1.38 g, 2.22 mmol), v etilacetatu (25 ml). Po 10 minutah smo topilo odparili in preostanek raztopili v etilacetatu in 10% Na_2CO_3 . Organsko fazo smo ločili, sprali z solnico in sušili (MgSO_4). Po odparitvi topila smo dobili 1.02 g (92%) naslovne spojine.

$^1\text{H-NMR}$ (300 MHz, MeOD): δ 1.0–1.9 (m, 18H), 2.2–2.3 (m, 1H), 3.2–3.3 (m, 5H), 3.6 (d, 1H), 3.8–3.9 (bd, 1H), 4.2

(t, 1H), 4.7-4.8 (bs, 5H), 5.1 (s, 2H). 5.2 (s, 1H), 7.2-7.3 (m, 5H).

(iii) BnOOC-CH₂-(R)Cgl-Pic-Nag(Z)

Raztopino trojnega estra benzil glikolata (291 mg, 0.98 mmol) v CH₂Cl₂ (2 ml) smo pri -25°C dodali mešajoči se zmesi H-(R)Cgl-Pic-Nag(Z), (0.52 g, 1.04 mmol) in K₂CO₃ (494 mg, 3.58 mmol) v acetonitrilu (5 ml) in CH₂Cl₂ (1 ml). V nekaj urah se je temperatura lahko dvignila na sobno, po 5-ih dneha smo reakcijsko zmes redčili z vodo in ekstrahirali z EtOAc in toluenom. Organsko fazo smo sušili (MgSO₄) in po koncentriranju raztopine dobili 319 mg (47%) brezbarvnih kristalov.

¹H-NMR (500 MHz, CDCl₃): δ 1.0-1.1 (m, 1H), 1.1-1.3 (m, 4H), 1.35-1.6 (m, 5H), 1.6-1.85 (m, 8H), 1.8-2.2 (bs, 1H), 2.23-2.5 (m, 2H), 2.9 (t, 1H), 3.1-3.5 (m, 6H), 3.6-3.7 (m, 2H), 5.0-5.1 (m, 4H), 5.2 (s, 1H), 6.5-7.4 (m, 13H).

(iv) HOOC-CH₂-(R)Cgl-Pic-Nag x 2 HCl

BnOOC-CH₂-(R)Cgl-Pic-Nag(Z), (319 mg, 0.49 mmol), smo med segrevanjem raztopili v izopropanolu (50 ml) in vodi (5 ml), nato pa 24 ur hidrogenirali v prisotnosti 10% Pd/C (228 mg). Po filtriranju in odparitvi topila in kasnejšem raztapljanju, v razredčeni klorovodikovi kislini, ki mu je sledilo sublimacijsko sušenje, smo peptid (223 mg, 91%) izolirali kot bel prašek.

¹H-NMR (500 MHz, CDCl₃): δ 1.1-2.1 (m, 18H), 2.3 (d, 1H), 3.3 (t, 2H), 3.4 (t, 3H), 3.85-4.05 (m, 3H), 4.6 (d, 1H), 5.15 (s, 1H).

¹³C-NMR (75 MHz, D₂O): gvanidin: δ 157.43, karbonilni ogljiki: δ 169.2, 172.94.

Primer 85: **H-(R)Hoc-Pro-Nag x 2 TFA**

(i) Boc-(R)Hoc-Pro-Nag(Z)

Pripravljena iz Boc-(R)Hoc-Pro-OH, na enak način, kot je opisano za Boc-(R)Cha-Pic-Nag(Z), v Primeru 65 (ic).

(ii) H-(R)Hoc-Pro-Nag(Z)

Pripravljena na enak način, kot je opisano za H-(R)Cha-Pro-Agm(Z), (glej Primer 3).

(iii) H-(R)Hoc-Pro-Nag x TFA

Pripravljena iz zgornjega produkta (ii), z odstranitvijo zaščite po postopku (a).

¹H-NMR (300 MHz, D₂O): δ 0.90–1.05 (m, 2H), 1.16–1.48 (m, 6H), 1.48–1.84 (m, 6H), 1.84–2.24 (m, 6H), 2.40 (m, 1H), 3.25–3.45 (m, 4H), 3.74 (m, 1H), 3.85 (m, 1H), 4.42 (m, 1H), 4.51 (m, 1H).

Primer 86: **HOOC-CH₂-(R)Hoc-Pro-Nag x 2 HOAc**

(i) BnOOC-CH₂-(R)Hoc-Pro-Nag(Z)

Pripravljena iz H-(R)Hoc-Pro-Nag(Z), (glej Primer 85), na način, opisan v Primeru 4.

(ii) HOOC-CH₂-(R)Hoc-Pro-Nag x HOAc

Pripravljena iz zgornjega produkta (i), z odstranitvijo zaščite, po postopku (a).

^1H -NMR (300 MHz, D_2O): δ 0.76–0.97 (m, 2H), 1.00–1.37 (m, 6H), 1.50–2.12 (m, 12H), 1.89 (s, acetat), 2.27 (m, 1H), 3.10–3.33 (m, 4H), 3.41 (bs, 2H), 3.61 (m, 1H), 3.77 (m, 1H), 4.12 (m, 1H), 4.37 (m, 1H)

^{13}C -NMR (75 MHz, D_2O): gvanidin: δ 157.4, karbonilni ogljiki: δ 170.8, 173.9 in 174.5.

Primer 87: $\text{HOOC-CH}_2\text{-(R)Hoc-Pic-Nag} \times 2 \text{ HOAc}$

(i) Boc-(R)Hoc-Pic-Nag(Z)

Pripravljena iz Boc-(R)Hoc-Pic-OH, na enak način, kot je opisan za Boc-(R)Cha-Pic-Nag(Z), v Primeru 65 (ic).

(ii) H-(R)Hoc-Pro-Nag(Z)

Pripravljena na enak način, kot je opisano za H-(R)Cha-Pro-Agm(Z), (glej Primer 3).

(iii) BnOOC-CH₂-(R)Hoc-Pic-Nag(Z)

Pripravljena po postopku, ki je opisan v Primeru 4.

(iv) $\text{HOOC-CH}_2\text{-(R)Hoc-Pic-Nag} \times \text{HOAc}$

Pripravljena iz zgornjega produkta (iii), z odstranitvijo zaščite po postopku (a).

^1H -NMR (300 MHz, D_2O): δ 0.75–0.95 (m, 2H), 1.00–1.30 (m, 6H), 1.30–1.50 (m, 2H), 1.50–1.82 (m, 12H), 1.82–1.95 (bs, acetat), 2.23 (bd, 1H), 3.08–3.32 (m, 6H), 3.52 (bs, 2H), 3.77 (bd, 1H), 4.50 (bs, 1H), 5.00 (bs, 1H).

Primer 88: **HOOC-CH₂-(R)Dph-Pic-Nag x 2 HCl**

(i) Boc-(R)Dph-Pic-Nag(Z)

Pripravljena iz Boc-(R)Dph-Pic-OH, na enak način, kot je opisano za Boc-(R)Cha-Pic-Nag(Z), v Primeru 65 (ic).

(ii) H-(R)Dph-Pic-Nag(Z)

Pripravljena na enak način, kot je opisano za H-(R)Cgl-Pic-Nag(Z), (glej Primer 84 (ii)).

(iii) BnOOC-CH₂-(R)Dph-Pic-Nag(Z)

Pripravljena iz H-(R)Dph-Pic-Nag(Z) po postopku, opisanem v Primeru 4.

(iv) HOOC-CH₂-(R)Dph-Pic-Nag x 2 HCl

Pripravljena iz zgornjega produkta (iii), z odstranitvijo zaščite po postopku (d).

¹H-NMR (500 MHz, D₂O): δ 0.46 (m, 1H), 1.2-1.35 (m, 2H), 1.45 (m, 1H), 1.53 (m, 1H), 1.89 (pentet, 2H), 2.03 (bd, 1H), 3.24 (bt, 1H), 3.29 (t, 2H), 3.38 (t, 2H), 3.72 (d, 1H), 3.78 (d, 1H), 3.79 (m, 1H), 4.68 (d, 1H), 4.89 (m, 1H), 5.73 (d, 1H), 7.4-7.6 (m, 6H), 7.65 (t, 2H), 7.81 (d, 2H).

Primer 89: **HOOC-CH₂-(R)Dch-Pic-Nag x HOAc**

(i) Boc-(R)Dch-Pic-Nag(Z)

Pripravljena iz Boc-(R)Dch-Pic-OH, na enak način, kot je opisano za Boc-(R)Cha-Pic-Nag(Z), v Primeru 65 (ic).

(ii) H-(R)Dch-Pic-Nag(Z)

Pripravljena na enak način, kot je opisano za H-(R)Cgl-Pic-Nag(Z), (glej Primer 84 (ii)).

(iii) BnOOC-CH₂-(R)Dch-Pic-Nag(Z)

Pripravljena iz H-(R)Dch-Pic-Nag(Z), po postopku opisanem v Primeru 4.

(iv) HOOC-CH₂-(R)Dch-Pic-Nag x HOAc

Pripravljena iz zgornjega produkta (iii), z odstranitvijo zaščite po postopku (a).

¹H-NMR (500 MHz, D₂O): δ 1.2-2.0 (m, 30H), 2.09 (s, acetat), 2.30 (bd, 1H), 3.32 (t, 2H), 3.4-3.5 (m, 3H), 3.65 (d, 1H), 3.70 (d, 1H), 3.86 (bd, 1H), 4.86 (m, 1H), 5.09 (m, 1H).

¹³C-NMR (125 MHz, D₂O): gvanidin: δ 159.4, karbonilni ogljiki: δ 172.5, 173.3, 174.9.

Primer P1: Raztopina za parenteralno aplikacijo

Raztopino smo pripravili iz sledečih sestavin:

HOOC-CH ₂ -(R)Cha-Pic-Nag x 2 HBr	5 g
Natrijev klorid za injekcije	9 g
Ocetna kislina	3 g
Voda za injekcije	do 1000 ml

Aktivne sestavine, natrijev klorid in ocetno kislino, smo raztopili v vodi. pH smo uravnali z 2M NaOH na pH 3-7. Raztopino smo filtrirali preko sterilnega, 0.2 µm, filtra in aseptično polnili v sterilne ampule.

Primer P2: Tablete za peroralno aplikacijo

1000 tablet smo pripravili iz naslednjih sestavin:

Inhibitor trombina	100 g
Laktoza	200 g
Polivinilpirolidon	30 g
Mikrokristalinična celuloza	30 g
Magnezijev stearat	6 g

Aktivno substanco in laktozo smo zmešali z vodno raztopino polivinilpirolidona. Zmes smo sušili in mleli, da so nastale granule. Nato smo primešali še mikrokristalično celulozo in magnezije stearat. Po stiskanju zmesi na tabletirki, smo dobili 1000 tablet, vsaka je vsebovala 100 mg aktivne učinkovine.

Biologija

Določevanje trombinskega časa strjevanja in IC_{50}^{TT} :

Humani trombin (T 6769, Sigma Chem. Co.) v puferni raztopini, pH 7.4, 100 μ l, in raztopino inhibitorja, 100 μ l, smo inkubirali 1 minuto. Po dodatku normalne citratne humane plazme, 100 μ l, smo čas strjevanja merili na avtomatski napravi (KC 10, Amelung).

V grafu smo prikazali čas strjevanja v sekundah v odvisnosti od koncentracije inhibitorja in IC_{50}^{TT} smo določili z interpolacijo.

IC_{50}^{TT} je koncentracija inhibitorja, ki podvoji trombinski čas strjevanja za humano plazmo. pIC_{50}^{TT} je $-\log 10 IC_{50}^{TT}$ v mol/l. Spojine, označene v izumu, imajo pIC_{50}^{TT} v intervali 6.6–8.2.

Določevanje aktivnega parcialnega tromboplastinskega časa (APTT)

APTT smo določevali v normalni humani citratni plazmi z reagentom PTT Automated 5, ki ga proizvaja Stago. Po dodatku inhibitorja v plazmo (10 μ l raztopine inhibitorja v 90 μ l plazme) smo APTT v zmesi določevali z analizatorjem koagulacije KC10 (Amelung), po navodilih proizvajalca reagenta. V grafu smo prikazali čas strjevanja v sekundi v odvisnosti od koncentracije inhibitorja v plazmi in IC_{50}^{APTT} določili z interpolacijo.

IC_{50}^{APTT} je definirana, kot koncentracija inhibitorja v plazmi, ki podvoji aktiviran parcialni tromboplastinski čas. pIC_{50}^{APTT} je $-\log 10 IC_{50}^{APTT}$ v mol/l. V izumu

označene spojine, ki so bile testirane, so imele $pIC_{50}APTT$ v intervalu 5.1-6.4.

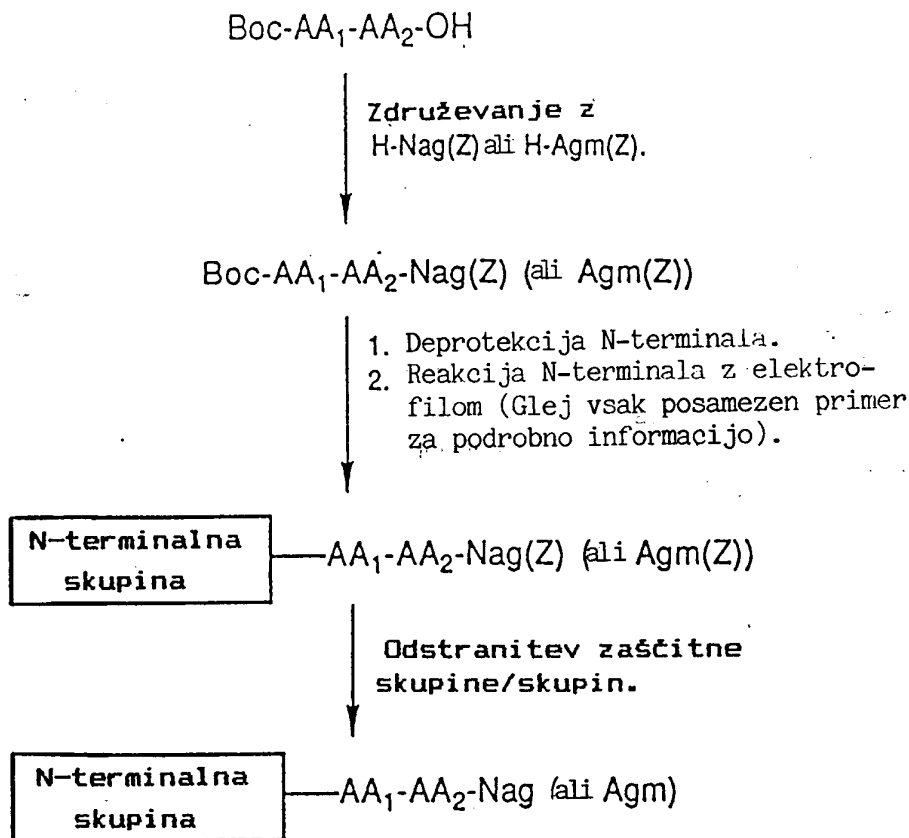
OKRAJŠAVE

Agm	agmatin
Agm(Z)	ω -N-benziloksikarbonil agmatin
AA ₁	amino kislina 1
AA ₂	amino kislina 2
Aze	(S)-azetidin-2-karboksilna kislina
Bla	α -substituiran butirolakton
Boc	tercialni butoksikarbonil
solnica	nasičena vodna raztopina natrijevega klorida-NaCl
Bu	butil
Bn	benzil
Cgl	(S)-cikloheksil glicin
Ch	cikloheksil
Cha	(S)- β -cikloheksil alanin
CME-CDI	1-cikloheksil-3-(2-morfolinoetil) karbodiimid meto-p-toluensulfonat
DCC	dicikloheksil karbodiimid
Dch	(S)-dicikloheksil alanin
DMAP	N,N-dimetilaminopiridin
DMF	dimetilformamid
DMSO	dimetilsulfoksid
Dph	(S)-difenilalanin
EDC	1-(3-dimetilaminopropil)-3-etilkarbodiimid klorid
Et	etil
EtOAc	etilacetat
HOAc	ocetna kislina
HOBT	N-hidroksibenzotriazol
Hoc	(S)-homocikloheksilalanin
Hop	(S)-homofenilalanin
HOSu	N-hidroksisukcinimid

Mag	miniagmatin
Me	metil
Mor	(S)-morfolin-2-karboksilna kislina
MPa	mega Pascal
Nag	nor-agmatin
Nag(Z)	δ -N-benziloksikarbonil-nor-agmatin
NMM	N-metilmorfolin
Pgl	(S)-fenilglicin
Ph	fenil
Phe	(S)-fenilalanin
Pic	(S)-pipekolinska kislina
Pr	propil
Pro	(S)-prolin
RPLC	obratno-fazna tekočinska kromatografija visoke ločljivosti
Tf	trifluorometil sulfonil
TFA	trifluoroocetna kislina
THF	tetrahidrofuran
p-TsOH	para-toluensulfonska kislina
Val	(S)-valin
Z	benziloksikarbonil

Predpone n, s, i in t imajo običajen pomen: normalni, izo, sekundarni in terciarni.

Shema I (Primer 3-18,20-21,24-28,30-34,36-40,43-49,
51-53,57-64 in 67-93)



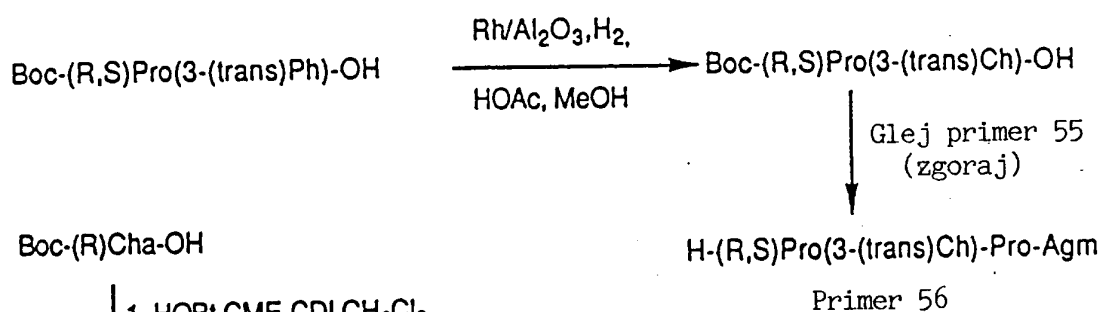
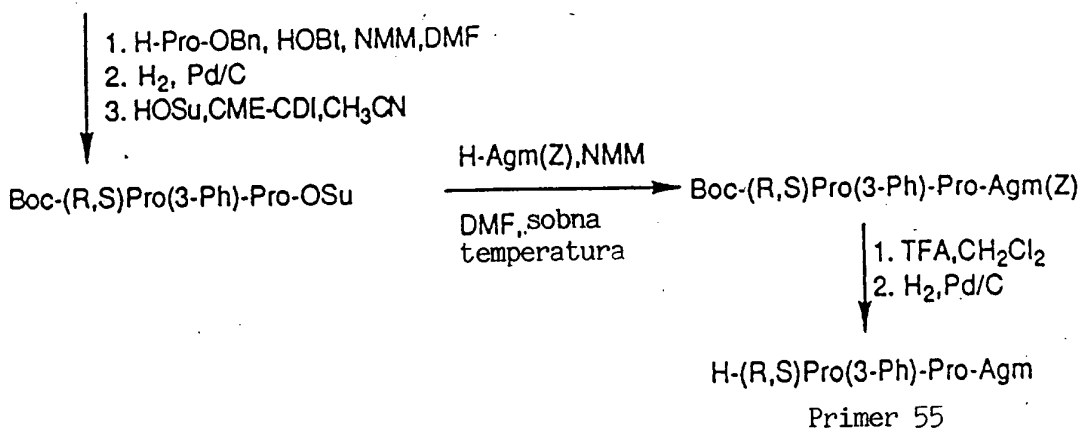
AA₁ = H-(R)Cha-OH, Me-(R)Cha-OH, H-(R,S)Pro(3-(trans)Ph)-OH,
H-(R)Hoc-OH, H-(R)Cgl-OH, H-(R)Dph-OH, H-(R)Dch-OH

AA₂ = H-Pro-OH, H-Pic-OH, H-Mor-OH, H-Aze-OH, H-Pic(4-(S)Me)-OH,
H-Pic(4-(R)Me)-OH, H-(R,S)Pic(4,5-dehidro)-OH,
H-(R)Pic(4-(R)Me)-OH, H-Pro(5-(R,S)Me)-OH,
H-Pro(5-(S)Me)-OH, H-Pic(6-(S)Me)-OH

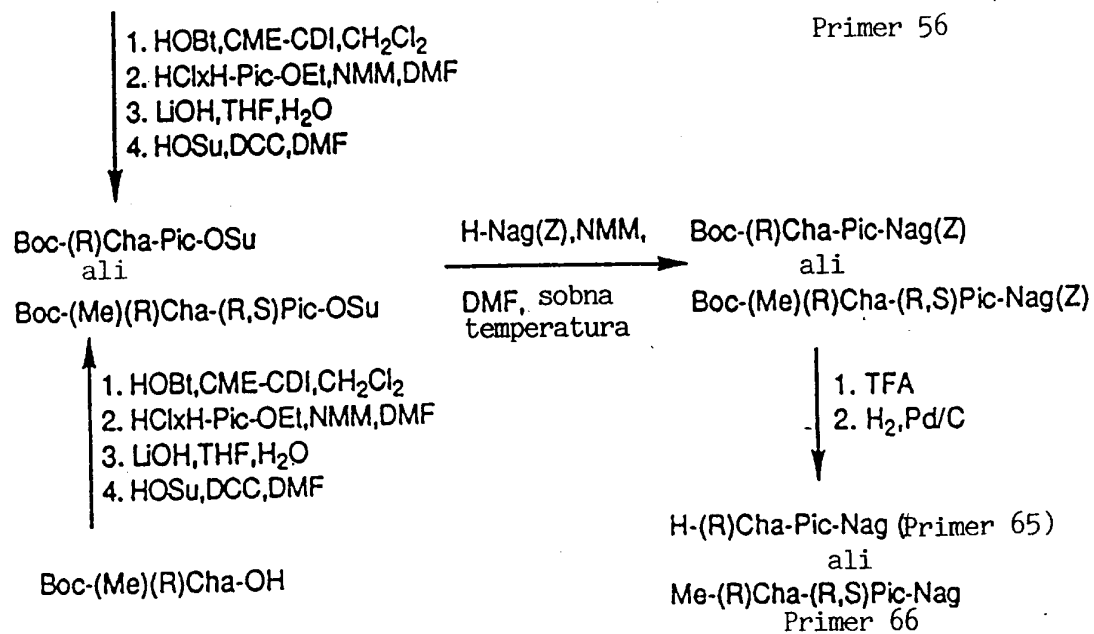
N-terminalna skupina v končni spojini =
H, HO-(CH₂)₃-, ⁿBu-, HOOC-CH₂-, MeOOC-CH₂-, ⁱPrOOC-CH₂-, ^tBuOOC-CH₂-,
HOOC-CH(Me)-, HOOC-CH(ⁿPr)-, HOOC-CH(Ph)-, HOOC-CH(CH₂CH₂Ph)-
HOOC-CH₂CH₂-, HOOC-CH₂CH₂CH₂-, EtOOC-CH₂CH₂CH₂-, Bla,
HOOC-CH₂-OOC-CH₂-, EtOOC-CO-, MeOOC-CO-, HOOC-CO-, H₂NOC-CH₂-
HOOC-CH(CH₂COOH)-, MeOOC-CH(CH₂COOMe)-, HOOC-CH₂-NH-CO-CH₂-,
HOOC-CH(CH₂OH)-, (HO)₂P(O)-CH₂-, EtO(HO)P(O)-CH₂-,
(EtO)₂P(O)-CH₂-,

Shema II (Primeri 55, 56, 65 in 66)

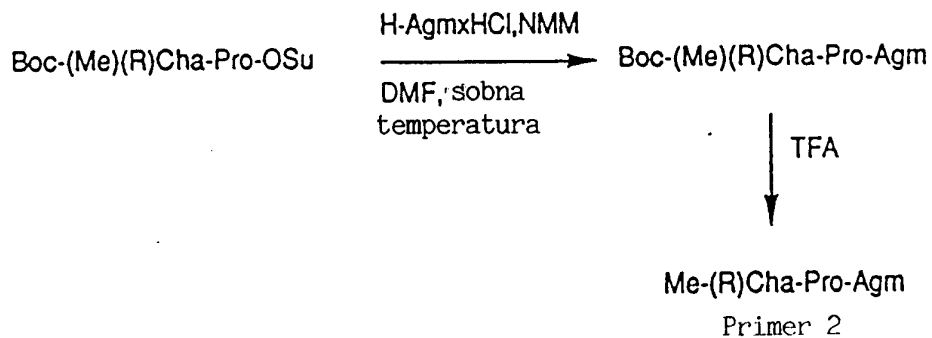
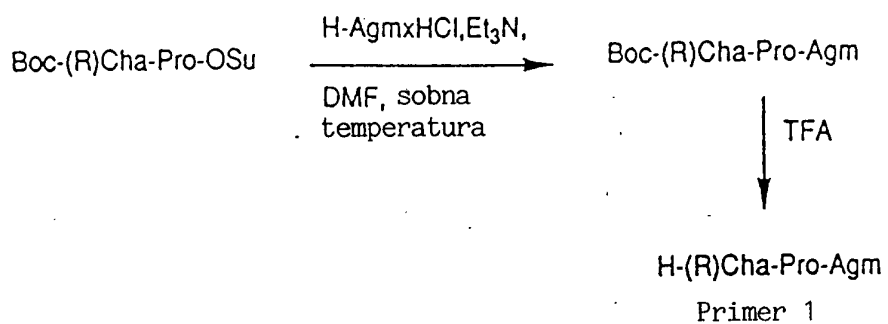
Boc-(R,S)Pro(3-Ph)-OH



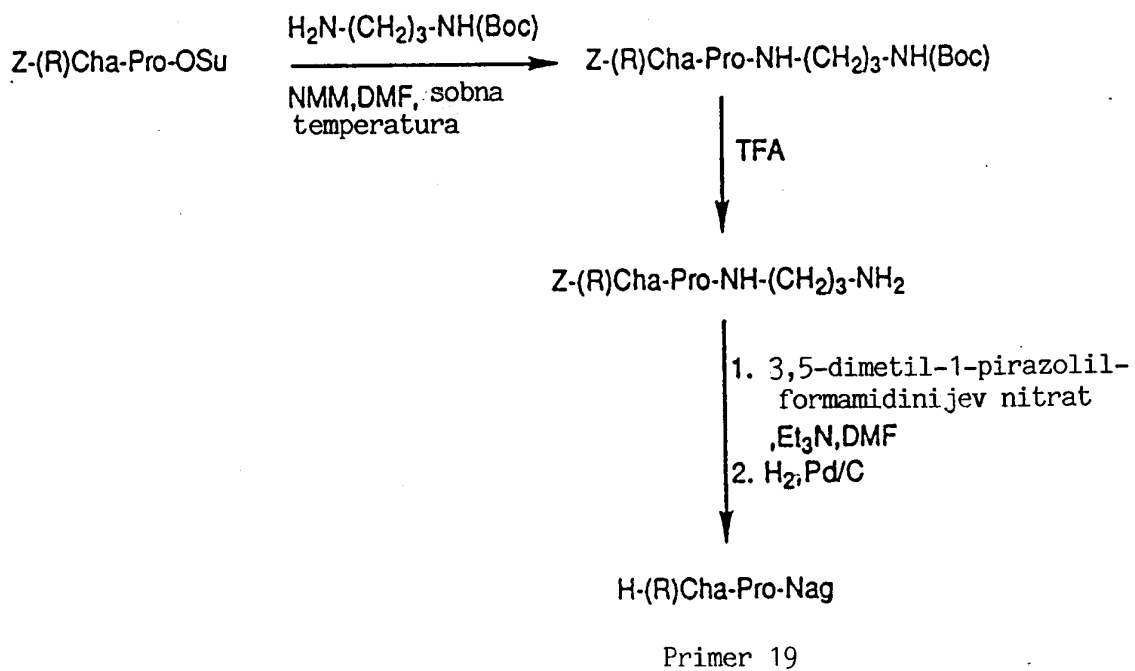
Boc-(R)Cha-OH



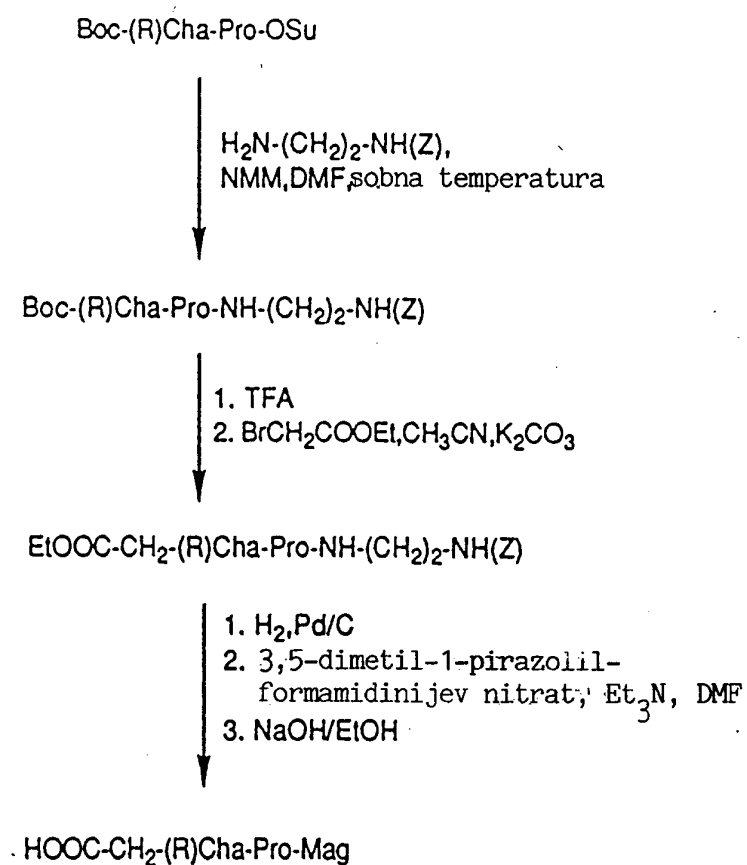
Shema III (Primer 1 in 2)



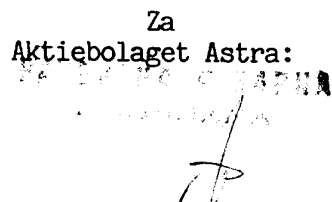
Shema IV (Primer 19)



Shema V (Primer 54)

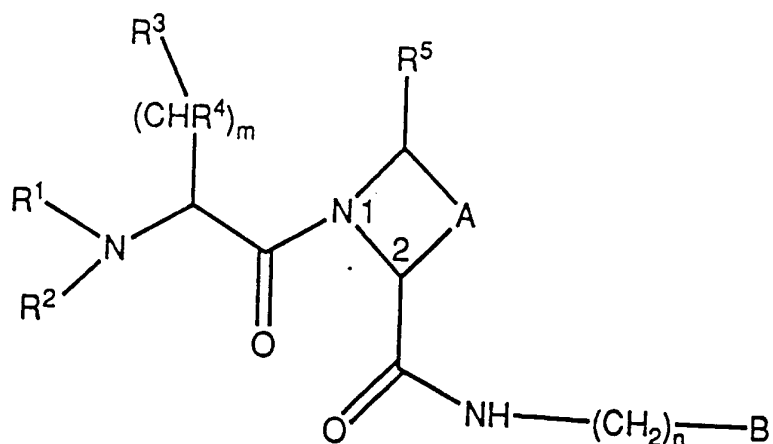


Primer 54



PATENTNI ZAHTEVKI

1. Spojina s splošno formulo



Formula I

kjer:

A pomeni metilensko skupino, ali

A pomeni etilensko skupino in 5 članski obroč, ki je posledica tega, lahko ima ali pa ne eden ali dva atoma fluora, hidroksi skupino ali okso skupino na položaju 4, in je ali pa ni nenasičen, ali

A pomeni $-\text{CH}_2-\text{O}-$, $\text{CH}_2-\text{S}-$, $\text{CH}_2-\text{SO}-$, s funkcionalno skupino, ki vsebuje heteroatom na položaju 4, ali

A pomeni n-propilensko skupino in 6 članski obroč, ki je posledica tega, lahko ima ali pa ne na položaju 5 en atom fluora, hidroksi skupino ali okso skupino, ima dva atoma fluora na enem od položajev 4 ali 5 ali je nenasičen na položaju 4 in 5, ali

ima na legi 4 alkilno skupino z 1 do 4 atomi ogljika, ali

A pomeni $-\text{CH}_2-\text{O}-\text{CH}_2-$, $-\text{CH}_2-\text{S}-\text{CH}_2-$, $-\text{CH}_2-\text{SO}-\text{CH}_2-$;

R^1 pomeni H, alkilno skupino, ki ima 1 do 4 ogljikova atoma, hidroksialkilno skupino, ki ima 2-3 ogljikova atoma ali $\text{R}^{11}\text{OOC-alkil-}$, kjer ima alkilna skupina 1 do 4 ogljikove atome in je R^{11} H ali alkilna skupina, ki ima 1 do 4 ogljikove atome ali alkilenska skupina, ki ima 2-3 ogljikova atoma intramolekulske vezane alfa v odnosu na karbonilno skupino v R^1 , ali

R^1 pomeni $\text{R}^{12}\text{OOC-1,4-fenil-CH}_2-$, kjer je R^{12} H ali alkilna skupina, ki ima 1 do 4 ogljikove atome, ali

R^1 pomeni $\text{R}^{13}\text{-NH-CO-alkil-}$, kjer ima alkilna skupina 1 do 4 ogljikove atome in je lahko substituirana alfa v odnosu na karbonil s alkilno skupino, ki ima 1 do 4 ogljikove atome in kjer je R^{13} H ali alkilna skupina, ki ima 1 do 4 ogljikove atome ali $-\text{CH}_2\text{COOR}^{12}$, kjer je R kot ga definiramo zgoraj, ali

R^1 pomeni $\text{R}^{12}\text{OOC-CH}_2\text{-COO-alkil-}$, kjer ima alkilna skupina 1 do 4 ogljikove atome in je lahko substituirana alfa v odnosu na karbonilno skupino z eno alkilno skupino, ki ima 1 do 4 ogljikove atome in kjer je R^{12} kot ga definiramo zgoraj, ali

R^1 pomeni CH_3SO_2- , ali

R^1 pomeni $\text{R}^{12}\text{OCOCO-}$ kjer je R^{12} kot ga definiramo zgoraj, ali

R^1 pomeni $-\text{CH}_2\text{PO}(\text{OR}^{14})_2$, $-\text{CH}_2\text{SO}_3\text{H}$ ali $-\text{CH}_2-(5-(1\text{H})\text{-tetrazolil})$ kjer je R^{14} , posamezno vsakič ko se pojavi, H, metil ali etil;

R^2 pomeni H ali alkilno skupino, ki ima 1 do 4 ogljikove

atome ali $R^{21}OOC$ -alkil-, kjer ima alkilna skupina 1 do 4 ogljikove atome in je lahko substituirana na legi, ki je alfa v odnosu na karbonilno skupino, in je alfa substituenta skupina $R^{22}-CH_2)_p$ -, kjer je $p = 0-2$ in je R^{22} metil, fenil, OH, $COOR^{21}$, in R^{21} je H ali alkilna skupina, ki ima 1 do 4 ogljikove atome;

m je 0, 1 ali 2, R^3 pomeni cikloheksilno skupino in R^4 pomeni H, ali

m je 1 in R^3 pomeni cikloheksil ali fenilno skupino in R^4 tvori etilenski most skupaj z R^1 , ali

m je 1 in R^3 in R^4 vsak pomeni cikloheksil ali fenilno skupino;

R^5 pomeni H ali alkilno skupino, ki ima 1 do 4 ogljikove atome;

n je celo število 2 do 6; in

B pomeni $-N(R^6)-C(NH)-NH_2$, kjer je R^6 H ali metilna skupina, ali

B pomeni $-S-C(NH)-NH_2$, ali $-C(NH)-NH_2$,

bodisi spojina kot taka ali v obliki fiziološko sprejemljive soli in vključno s stereoizomeri.

2. Spojina po zahtevku 1, označena s tem, da R^1 pomeni $R^{11}OOC$ -alkil-, kjer ima alkilna skupina 1 do 4 ogljikove atome in da je R^{11} H.

3. Spojina po zahtevku 2, označena s tem, da je A etilen in da je da je R^5 H ali alkilna skupina, ki ima 1 do 4 ogljikove atome.

4. Spojina po zahtevku 2, označena s tem, da je A n-propilen in da obroč, ki je posledica tega, lahko ima ali pa ne, na položaju 4 alkilno skupino z 1 do 4 ogljikovimi atomi in da je R^5 H ali alkilna skupina, ki ima 1 do 4 ogljikove atome.

5. Spojina po enem ali več predhodnih zahtevkov, označena s tem, da je R^3 cikloheksil, m je 1, 2 in R^4 H.

6. Spojina po enem ali več predhodnih zahtevkov, označena s tem, da je n 3.

7. Spojina po enem ali več predhodnih zahtevkov, označena s tem, da ima S-konfiguracijo na α -amino kislini na položaju P2.

8. Spojina po zahtevku 7, označena s tem, da ima R-konfiguracijo na α -amino kislini na položaju P3.

9. Spojina, označena s tem, da je izbrana izmed

H-(R)Cha-Pro-Agm

Me-(R)Cha-Pro-Agm

HO-(CH₂)₃-(R)Cha-Pro-Agm

ⁱPrOOC-CH₂-(R)Cha-Pro-Agm

HOOC-(R, S)CH(Me)-(R)Cha-Pro-Agm

HOOC-(RorS)CH(Me)-(R)Cha-Pro-Agm/a

HOOC-(RorS)CH(ⁿPr)-(R)Cha-Pro-Agm/a

HOOC-(RorS)CH(ⁿPr)-(R)Cha-Pro-Agm/b

HOOC-(RorS)CH(Ph)-(R)Cha-Pro-Agm/b

HOOC-(R, S)CH(CH₂CH₂Ph)-(R)Cha-Pro-Agm

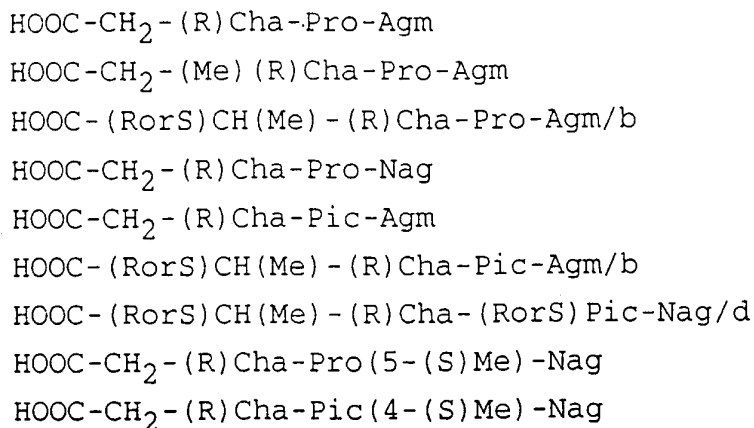
HOOC-(RorS)CH(CH₂CH₂Ph)-(R)Cha-Pro-Agm/a

$\text{HOOC-CH}_2\text{-CH}_2\text{-(R)Cha-Pro-Agm}$
 $\text{EtOOC-CO-(R)Cha-Pro-Agm}$
 $(\text{R}, \text{S})\text{Bla-(R)Cha-Pro-Agm}$
 $\text{HOOC-(RorS)CH(CH}_2\text{CH}_2\text{Ph)-(R)Cha-Pro-Agm/b}$
 H-(R)Cha-Pro-Nag
 $^n\text{Bu-(R)Cha-Pro-Nag}$
 $\text{HO-(CH}_2)_3\text{-(R)Cha-Pro-Nag}$
 $\text{EtOOC-CH}_2\text{-(R)Cha-Pro-Nag}$
 $^i\text{PrOOC-CH}_2\text{-(R)Cha-Pro-Nag}$
 $^t\text{BuOOC-CH}_2\text{-(R)Cha-Pro-Nag}$
 $\text{HOOC-CH}_2\text{-OOC-CH}_2\text{-(R)Cha-Pro-Nag}$
 $\text{H}_2\text{N-CO-CH}_2\text{-(R)Cha-Pro-Nag}$
 $\text{HOOC-CH}_2\text{-NH-CO-CH}_2\text{-(R)Cha-Pro-Nag}$
 $(\text{HOOC-CH}_2)_2\text{-(R)Cha-Pro-Nag}$
 $\text{HOOC-CH}_2\text{-(nBu) (R)Cha-Pro-Nag}$
 $\text{HOOC-(R, S)CH(Me)-(R)Cha-Pro-Nag}$
 $\text{HOOC-(RorS)CH(Me)-(R)Cha-Pro-Nag/a}$
 $\text{EtOOC-(R, S)CH(Me)-(R)Cha-Pro-Nag}$
 $\text{HOOC-(RorS)CH}(^n\text{Pr})\text{-(R)Cha-Pro-Nag/a}$
 $\text{HOOC-(R)CH(CH}_2\text{-OH)-(R)Cha-Pro-Nag}$
 $\text{HOOC-(R, S)CH(Ph)-(R)Cha-Pro-Nag}$
 $\text{HOOC-(S)CH(CH}_2\text{CH}_2\text{Ph)-(R)Cha-Pro-Nag}$
 $\text{HOOC-(R)CH(CH}_2\text{CH}_2\text{Ph)-(R)Cha-Pro-Nag}$
 $\text{HOOC-CH}_2\text{-CH}_2\text{-(R)Cha-Pro-Nag}$
 $\text{EtOOC-CH}_2\text{-CH}_2\text{-(R)Cha-Pro-Nag}$
 $\text{HOOC-(CH}_2)_3\text{-(R)Cha-Pro-Nag}$
 $\text{EtOOC-(CH}_2)_3\text{-(R)Cha-Pro-Nag}$
 $\text{HOOC-CO-(R)Cha-Pro-Nag}$
 $\text{MeOOC-CO-(R)Cha-Pro-Nag}$
 $(\text{R}, \text{S})\text{Bla-(R)Cha-Pro-Nag}$
 $\text{HOOC-(R, S)CH(CH}_2\text{COOH)-(R)Cha-Pro-Nag}$
 $\text{MeOOC-(R, S)CH(CH}_2\text{COOMe)-(R)Cha-Pro-Nag}$
 $\text{HOOC-Ph-4-CH}_2\text{-(R)Cha-Pro-Nag}$
 $(\text{HO})_2\text{P(O)-CH}_2\text{-(R)Cha-Pro-Nag}$
 $\text{EtO(HO)P(O)-CH}_2\text{-(R)Cha-Pro-Nag}$
 $(\text{EtO})_2\text{P(O)-CH}_2\text{-(R)Cha-Pro-Nag}$
 $\text{HOOC-CH}_2\text{-(R)Cha-Pro-Mag}$

H-(R,S)Pro(3-Ph)-Pro-Agm
 H-(R,S)Pro(3-(trans)Ch)-Pro-Agm
 HOOC-CH₂-(R,S)Pro(3-(trans)Ph)-Pro-Agm
 HOOC-CH₂-(R,S)Pro(3-(trans)Ph)-Pro-Nag
 HOOC-CH₂-(Me)(R)Cha-(R,S)Pic-Agm
 HOOC-(R,S)CH(Me)-(R)Cha-Pic-Agm
 HOOC-(RorS)CH(Me)-(R)Cha-Pic-Agm/a
 HOOC-CH₂-CH₂-(R)Cha-Pic-Agm
 H-(R)Cha-Pic-Nag
 Me-(R)Cha-(R,S)Pic-Nag
 MeOOC-CH₂-(R)Cha-Pic-Nag
ⁱPrOOC-CH₂-(R)Cha-Pic-Nag
 HOOC-CH₂-(Me)(R)Cha-(RorS)Pic-Nag/b
 HOOC-(R,S)CH(Me)-(R)Cha-(R,S)Pic-Nag
 HOOC-(RorS)CH(Me)-(R)Cha-(RorS)Pic-Nag/c
 HOOC-CH₂-CH₂-(R)Cha-Pic-Nag
 HOOC-CH₂-(R)Cha-(R,S)Mor-Agm
 HOOC-CH₂-(R)Cha-(RorS)Mor-Nag
 H-(R)Cha-Aze-Nag
 HOOC-CH₂-(R)Cha-Aze-Nag
 H-(R)Cha-Pro(5-(S)Me)-Nag
 HOOC-CH₂-(R)Cha-(RorS)Pic(4,5-dehydro)-Nag/b
 HOOC-CH₂-(R)Cha-(R)Pic(4-(R)Me)-Nag
 HOOC-CH₂-(R)Cgl-Pic-Nag
 H-(R)Hoc-Pro-Nag
 HOOC-CH₂-(R)Hoc-Pro-Nag
 HOOC-CH₂-(R)Hoc-Pic-Nag
 HOOC-CH₂-(R)Dph-Pic-Nag
 HOOC-CH₂-(R)Dch-Pic-Nag
 HOOC-CH₂-(R)Cha-Pro(5-(R,S)Me)-Nag
 HOOC-CH₂-(R)Cha-Pic(4-(R)Me)-Nag
 H-(R)Cha-Pic(4-(R)Me)-Nag
 HOOC-CH₂-(R)Cha-Pic(6-(S)Me)-Nag

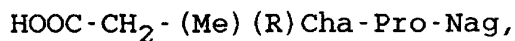
bodisi kot taka ali v obliki fiziološko sprejemljive soli in vključno s stereoizomeri.

10. Spojina, označena s tem, da je izbrana izmed



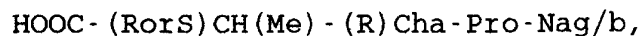
bodisi kot taka ali v obliki fiziološko sprejemljive soli in vključno s stereoizomeri.

11. Spojina s formulo



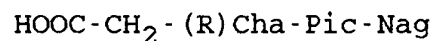
bodisi kot taka ali v obliki fiziološko sprejemljive soli in vključno s stereoizomeri.

12. Spojina s formulo



bodisi kot taka ali v obliki fiziološko sprejemljive soli in vključno s stereoizomeri.

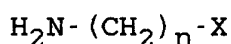
13. Spojina s formulo



bodisi kot taka ali v obliki fiziološko sprejemljive soli in

vključno s stereoizomeri.

14. Postopek za pripravo spojine po katerem koli od zahtevkov 1-13, označen s tem, da obsega sklapljanje N-terminalno zaščitene amino kisline ali dipeptida ali predhodno pripravljenega N-terminalno alkiliranega zaščenega dipeptida s spojino

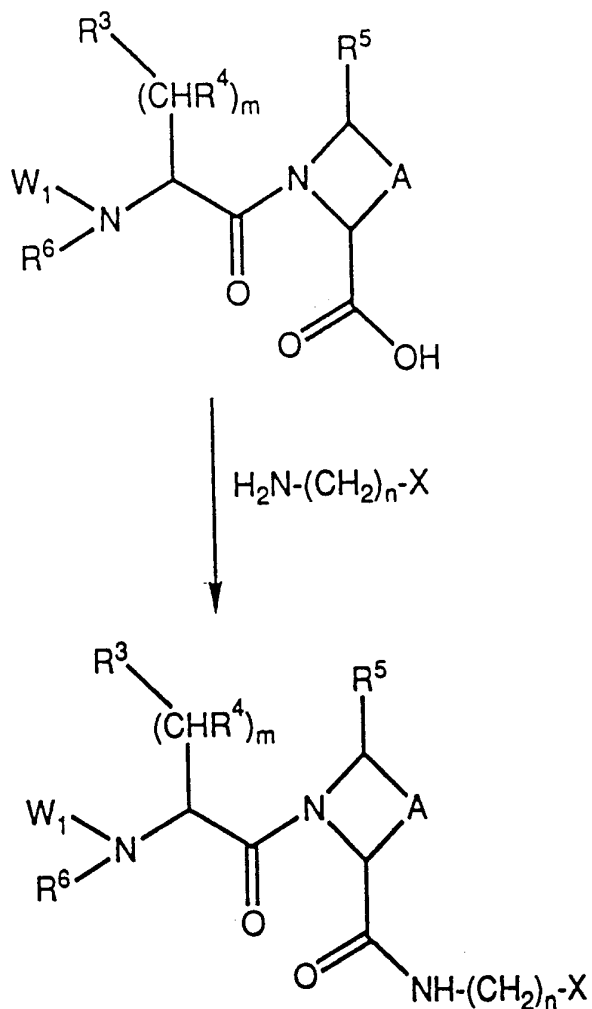


kjer je n celo število 2 do 6 in X nezaščitena ali zaščitena gvanidino skupina ali zaščitena amino skupina, ali skupina, ki jo lahko pretvorimo v amino skupino, kjer amino skupino naknadno pretvorimo v gvanidino skupino.

in ki, če je želeno, tvori fiziološko sprejemljivo sol in, v tistih primerih kjer je rezultat reakcije zmes stereoizomerov, te poljubno ločimo s standardnimi kromatografskimi ali rekristalizacijskimi tehnikami in, če je želeno, izoliramo en sam stereoizomer.

15. Postopek po zahtevku 14 za pripravo spojine po katerem koli od zahtevkov 1-13, označen s tem, da obsega:

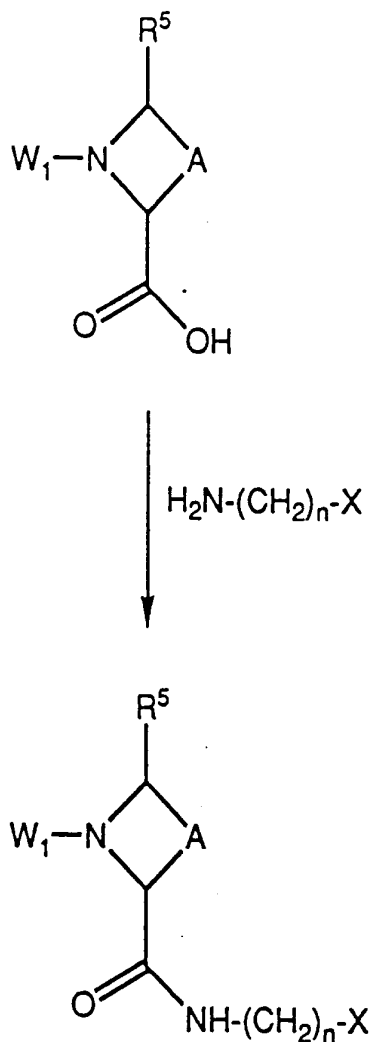
a) sklapljanje N-terminalno zaščenega dipeptida z bodisi zaščenim ali nezaščenim amino gvanidinom ali nerazvejeno alkilaminsko verigo, ki nosi zaščiteno ali maskirano amino skupino na terminalnem delu alkilne verige, s uporabo standardnega sklapljanja peptidov, kot je pokazano v formuli



kjer so R^3 , R^4 , R^5 , n , m in A kot jih definiramo v formuli I, R^6 je H ali alkil, W_1 je amino zaščitna skupina taka kot terciarni butoksi karbonil in benziloksi karbonil in X je $-\text{NH}-\text{C}(\text{NH})\text{NH}_2$, $-\text{NH}-\text{C}(\text{NH})\text{NH}-W_2$, $-\text{N}(W_2)-\text{C}(\text{NH})\text{NH}-W_2$, $-\text{NH}-\text{C}(\text{NW}_2)-\text{NHW}_2$ ali $-\text{NH}-W_2$, kjer je W_2 amino zaščitna skupina taka kot terciarni butoksi karbonil ali benziloksi karbonil, ali pa je X maskirana amino skupina taka kot je azid, ki daje zaščiteni peptid, ali

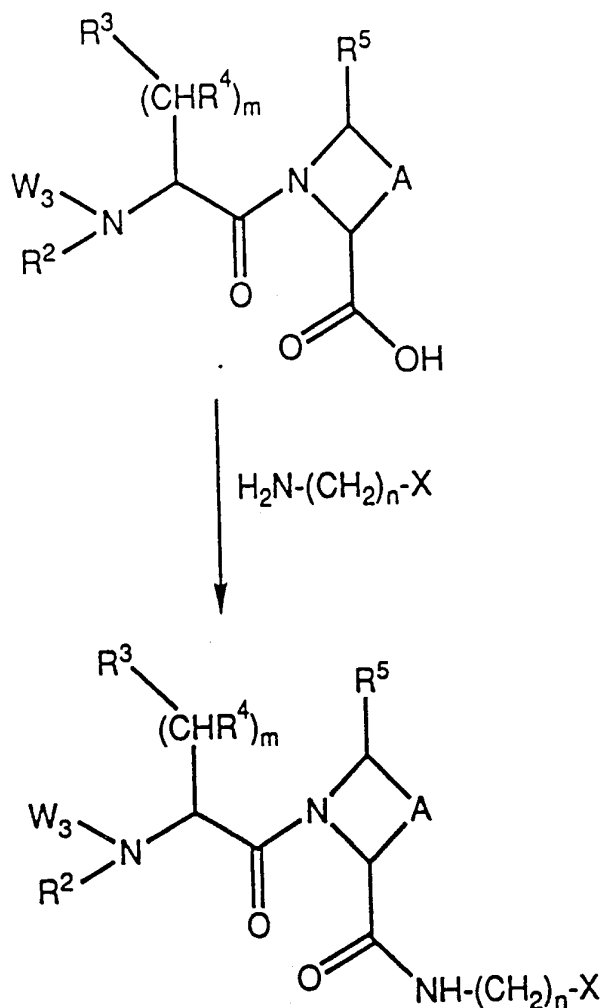
b) sklapljanje N-terminalno zaščitene amino kisline, z bodisi zaščitenim ali nezaščitenim amino gvanidinom ali nerazvejeno alkilaminsko verigo, ki nosi zaščiteni ali

maskirano amino skupino na terminalnem delu alkilne verige, s uporabo standardnega sklapljanja peptidov, kot je pokazano v formuli



kjer so W_1 , A , R^5 in X kot jih definiramo zgoraj, ki mu sle-
si deprotekcija W_1 skupine in sklapljanje z N-terminalno
amino kislino, v zaščiteni obliki, ali

c) sklapljanje predhodno N-terminalno alkiliranega in
zaščitenega dipeptida, ki ga pripravimo s standardnim
sklapljanjem peptidov, z bodisi zaščitenim ali nezaščitenim
amino gvanidinom ali nerazvejano alkilaminsko verigo, ki
nosi zaščiteno ali maskirano amino skupino na terminalnem
delu alkilne verige, s uporabo standardnega sklapljanja pep-
tidov, kot je pokazano v formuli



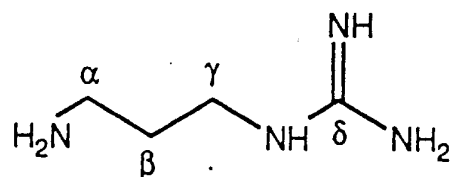
kjer so R^2 , R^3 , R^4 , R^5 , n , m , A in X kot jih definiramo zgoraj, če je preskrbljeno, da je R^2 drugačen od H in da je W_3 acilna zaščitna skupina taka kot trifluoroacil,

nakar končne spojine pripravimo na kateri koli od naslednjih načinov, odvisno od narave skupine X , ki smo jo uporabili: odstranitev zaščitne(ih) skupin(e) (kadar $\text{X} = -\text{NH}-\text{C}(\text{NH})\text{NH}_2$, $\text{NH}-\text{C}(\text{NH})\text{NH}-\text{W}_2$, $-\text{N}(\text{W}_2)-\text{C}(\text{NH})\text{NH}-\text{W}_2$, $-\text{NH}-\text{C}(\text{NW}_2)\text{NH}-\text{W}_2$ ali selektivna deprotekcija skupine W_1 (npr. kadar $\text{X} = -\text{NH}-\text{C}(\text{NH})\text{NH}-\text{W}_2$, $-\text{N}(\text{W}_2)-\text{C}(\text{NH})\text{NH}-\text{W}_2$, $-\text{NH}-\text{C}(\text{NW}_2)\text{NH}-\text{W}_2$, W_2 mora biti v tem primeru ortogonalno z ozirom na W_1), ki mu sledi alkiliranje N-terminalnega dušika in deprotekcija ali selek-

tivna deprotekcija/demaskiranje terminalne alkilamino funkcije ($X = \text{NH}-W_2$, W_2 mora v tem primeru biti ortogonalno z ozirom na W_1 oziroma W_3 , $X =$ maskirana amino skupina, taka kot azid), ki mu sledi reakcija gvanidiranja, s uporabo standardnih metod, prostega amina in deprotekcija W_1 - ali W_3 -skupine,

in, če je želeno, tvorbo fiziološko sprejemljive soli in v tistih primerih kjer je rezultat reakcije zmes stereoizomerov, te poljubno ločimo s standardnimi kromatografskimi ali rekristalizacijskimi tehnikami in, če je želeno, izoliramo en sam stereoizomer.

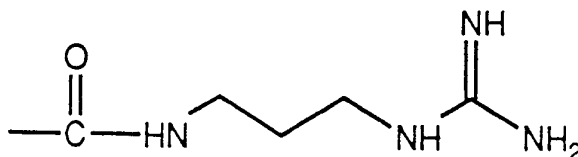
16. Uporaba spojine s formulo



bodisi take ali v obliki soli in kot take ali če ima gvanidino skupino bodisi mono zaščiteno na δ -dušiku ali dvakratno zaščiteno na δ -dušikih ali δ , γ - dušikih, kot začetne snovi v sintezi inhibitorjev serin proteaze in predvsem v sintezi inhibitorja trombina.

17. Uporaba po zahtevku 16 pri kateri je inhibitor serin proteaze peptidna spojina.

18. Struktur ni fragment s formulo



kot strukturni element v farmacevtsko aktivni spojini.

19. Strukturni fragment po zahtevku 18, označen s tem, da je farmacevtsko aktivna spojina peptidna spojina.

20. Spojina po katerem koli zahtevku 1-13, označena s tem, da jo uporabljamo pri zdravljenju.

21. Spojina po zahtevku 21, označena s tem, da jo uporabljamo kot protikoagulantno ali protitrombotično sredstvo.

22. Farmacevtski sestavek, označen s tem, da vsebuje učinkovito količino spojine kot smo jo opisali v zahtevkih 1-13, ki je kombinirana z enim ali večimi farmacevtskimi nosilci.

23. Farmacevtski pripravek po zahtevku 22, označen s tem, da ga uporabljamo kot protikoagulantno ali protitrombotično sredstvo.

24. Uporaba spojine po katerem koli od zahtevkov 1-13 kot aktivne sestavine za izdelavo farmacevtskega pripravka za inhibicijo trombina v človeškem ali živalskem organizmu.

Za
Aktiebolaget Astra:

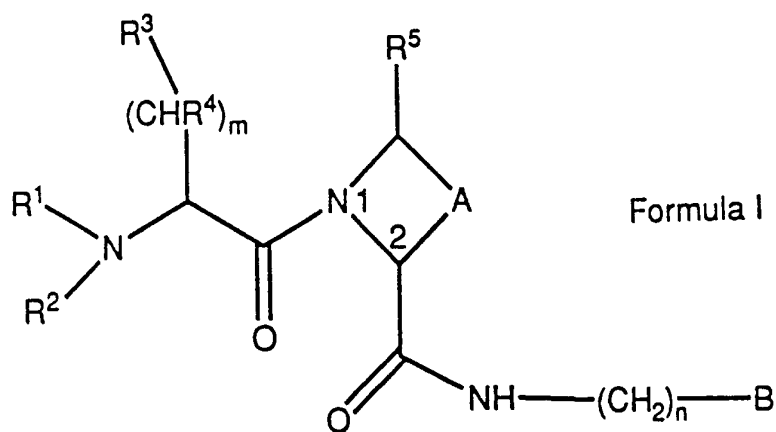
PATENTNA PISARNA
LJUBLJANA



Izvleček

NOVI DERIVATI PEPTIDOV

Izum se nanaša na nove kompetitivne inhibitorje trombina, njihovo sintezo, farmacevtske sestavke, ki vsebujejo te spojine kot aktivne sestavine in uporabo teh spojin kot antikoagulantov za profilakso in zdravljenje tromboemboličnih bolezni, po formuli



kjer A pomeni metilensko skupino, etilensko skupino, ali propilensko skupino, ki so lahko substituirane, ali

A pomeni $-\text{CH}_2-\text{O}-$, $\text{CH}_2-\text{S}-$, $\text{CH}_2-\text{SO}-$, ali

A pomeni $-\text{CH}_2\text{O}$, $\text{CH}_2-\text{S}-$, $-\text{CH}_2-\text{SO}$, s funkcionalno skupino, ki vsebuje heteroatom na legi 4, ali

n je celo število 2 do 6; in

B pomeni $-\text{N}(\text{R}^6)-\text{C}(\text{NH})-\text{NH}_2$, kjer je R^6 H ali metilna skupina, ali

B pomeni $-\text{S}-\text{C}(\text{NH})-\text{NH}_2$, ali $-\text{C}(\text{NH})-\text{NH}_2$.

Nadalje je opisana nova uporaba v sintezi farmacevtskih spo-

jin spojine s formulo:

