



C (15) Patentti- ja rekisterihallitus
Patent- och registerstyrelsen
Patent- och registerstyrelsen
Patent- och registerstyrelsen

(51) Kv.1k.5 - Int.cl.5

C 07K 5/06, 5/08, C 07C 125/065

(21) Patenttihakemus - Patentansökning 862434
(22) Hakemispäivä - Ansökningsdag 06.06.86
(24) Alkuperä - Löpdrag 06.06.86
(41) Tullut julkiseksi - Blivit offentlig 08.12.86
(44) Nähtäväsipanon ja kuul.julkaisun pvm. -
Ansökan utlagd och utl.skriften publicerad 15.07.92
(32) (33) (31) Etuoikeus - Prioritet

07.06.85 GB 8514436 P
07.06.85 GB 8514440 P

07.06.85 GB 8514438 P

SUOMI-FINLAND

(FI)

Patentti- ja rekisterihallitus
Patent- och registerstyrelsen

(71) Hakija - Sökande

1. ICI Americas Inc., Concord Pike and New Murphy Road, Wilmington, Del. 19897, USA, (US)

(72) Keksijä - Uppfinnare

1. Trainor, Diane Amy, Concord Pike and New Murphy Road, Wilmington, Del. 19897, USA, (US)
2. Stein, Mark Morris, Concord Pike and New Murphy Road, Wilmington, Del. 19897, USA, (US)

(74) Asiamies - Ombud: Oy Kolster Ab

(54) Keksinnön nimitys - Uppfinningens benämning

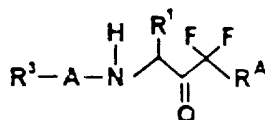
Menetelmä terapeutisesti aktiivisten difluoriketonipeptidijohdannaisten valmistamiseksi
Förfarande för framställning av terapeutiskt aktiva difluor-ketonpeptidderivat

(56) Viitejulkaisut - Anförda publikationer

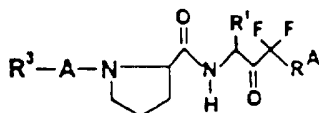
FI A 841601 (C 07D 207/16), FI A 865196, FI A 860484 (C 07K 5/00, PL 2 § 2. mom),
US A 4227395 (C 07C 103/52),
Biochem. 24 (8) 1985 pp. 1813-1817

(57) Tiivistelmä - Sammandrag

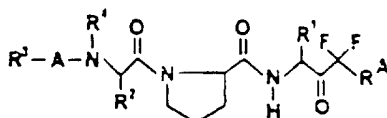
Keksinnön kohteena on menetelmä difluoriketonipeptidijohdannaisten valmistamiseksi, joilla on kaava Ia, Ib tai Ic,



Ia



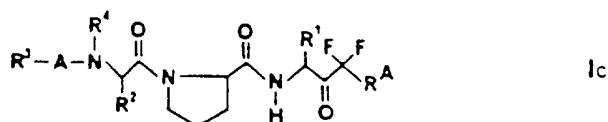
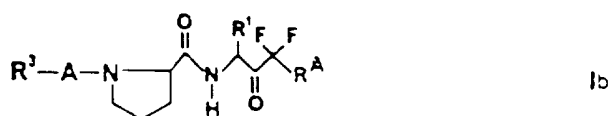
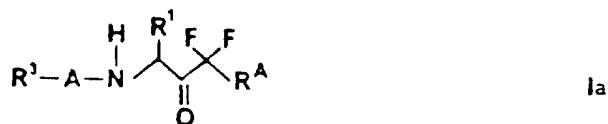
Ib



Ic

joissa R¹ on alkyyl-, R² on mahdollisesti substituoitu alkyyl- tai aryyli-, R³ on alkyyl-, mahdollisesti substituoitu heteroatomeja sisältävä alkyyl-, mahdollisesti substituoitu aryyli-, alkenyyli- tai sykloalkyyli-ryhmä tai mahdollisesti substituoitu alifaattinen tai aromaattinen heterosykli; R⁴ on H tai CH₃; A on >C=O, -NH-C=O-, -O-C=O tai O=S=O; R^A on CH₃, CH₂R^B tai O=C-X-R^B, jolloin X on CH₂ tai NR^C, R^C on H tai CH₃ ja R^B on alkyyl-, sykloalkyyli-, sykloalkyylialkyyli- tai mahdollisesti substituoitu aryyli- tai aryylialkyyli-ryhmä, ja niiden suolojen valmistamiseksi. Nämä yhdisteet ovat käyttökelpoisia estettäessä ihmisen leukosyytti-elastaasin vaikutus.

Uppfinningen avser ett förfarande för framställning av difluorketon-peptidderivat med formeln Ia, Ib eller Ic,



vari R^1 är alkyl, R^2 är eventuellt substituerad alkyl eller aryl; R^3 är alkyl, eventuellt substituerad och heteroatomer innehållande alkyl, eventuellt substituerad aryl, alkenyl eller cykloalkyl eller en eventuellt substituerad alifatisk eller aromatisk heterocyklisk grupp; R^4 är H eller CH_3 , A är C=O , $-\text{NH}-\text{C=O}$, $-\text{O}-\text{C=O}$ eller O=S=O ; R^A är CH_3 , CH_2R^B eller O=C-X-R^B , varvid X är CH_2 eller NR^C , R^C är H eller CH_3 och R^B är alkyl, cykloalkyl, cykloalkylalkyl, eller en eventuellt substituerad aryl- eller arylalkylgrupp, och av deras salt. Dessa föreningar är användbara vid hämmandet av inverkan från leukosyt-elastas hos människan.

Menetelmä terapeutteisesti aktiivisten difluoriketonipeptidijohdannaisten valmistamiseksi

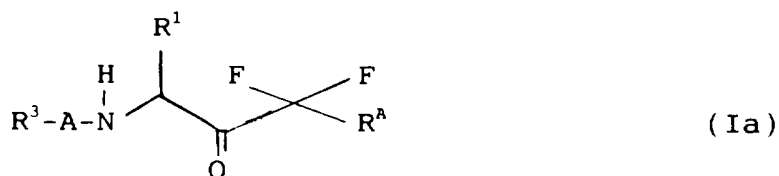
5 Esillä oleva keksintö koskee menetelmää tiettyjen difluoriketonipeptidijohdannaisten valmistamiseksi, jotka ovat ihmisen leukosyyttielastaasin (HLE) irreversiibeileitä inhibiittoreita, ja ne ovat myös käyttökelpoisia tutkimusvälineinä farmakologisessa ja sitä lähellä olevissa tutkimuksissa ja hoidettaessa kudoksen rappeutumissairauksia, 10 kuten keuhkolaajentumaa, valtimon hauraskovetustautia, nivelreumaa ja luu-niveltulehdusta lämminverisissä eläimissä.

Proliiniin perustuvia peptidialdehydejä on kuvattu EP-patenttihakemuksessa 84 302 621.2. Hydrolyyttisten entsyymien fluoriketoni-inhibiittoreita ovat kuvanneet Gelb, 15 M. H. et al. julkaisussa Biochemistry 24 (1985), ss. 1 813 - 1 817 koskien ei-seriiniproteaaseja. Imperiali, B. et al. ovat julkaisussa Tetra. Letters 27 (2) (1986), ss. 135 - 138 osoittaneet valikoituja fluorimetyyliketoneja. 20 Thaisrivongs, S. et al. kuvaavat julkaisussa J. Med., Chem. 28 (11) (1985), ss. 1 553 - 1 555 valikoituja fluoriketoneja reniinin inhibiittoreina.

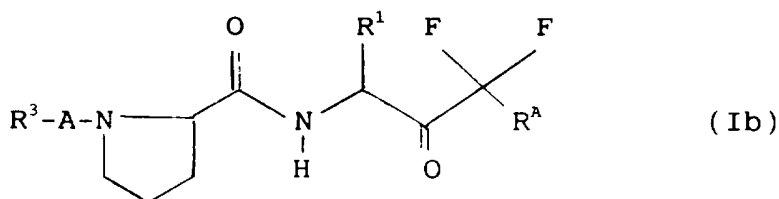
EP-julkaisusta A 130 679 tunnetaan yhdisteitä, jotka ovat joukon kysteiini- ja seriiniproteaaseja (esim. ke- 25 tepsiinit, trypsiini, kallikreiinit, plasmiini ja plasminogeeniaktivaattori sekä myös elastaasi) irreversiibeileitä inhibiittoreita. Haiman elastaasin irreversiibeileitä inhibiittoreita tunnetaan puolestaan US-patenttijulkaisusta 4 277 395.

30 FI-patenttihakemuksesta 84 1601 tunnetaan esillä olevan keksinnön mukaisia yhdisteitä rakenteeltaan muistuttavia, fluoria sisältämättömiä yhdisteitä, joissa on terminaalinen aldehydiryhmä.

Keksintö koskee menetelmää terapeutteisesti aktiivisen yhdisteen valmistamiseksi, jolla on kaava 35

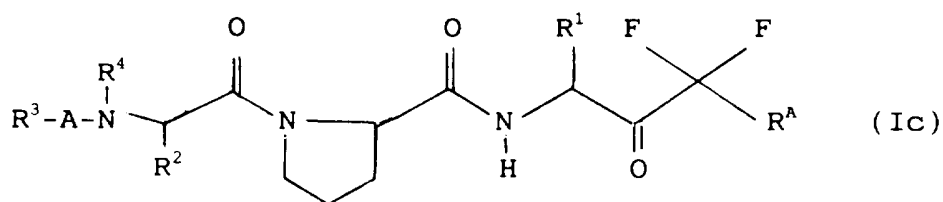


5



10

tai



15

20

jolloin

R^1 on 1 - 5 hiiliatomia sisältävä alkyyliryhmä;

kaavan $-NH.CHR^2.CO-$ mukainen ryhmä on alaniinista, valiinista, norvaliinista, leusiinista, isoleusiinista, norleusiinista, fenyylialaniinista, tyrosiinista, asparagiinista, glutamiinista, asparagiinihaposta, glutamiinihaposta, lysiinistä, treoniinista, seriinistä, α -aminovoihaposta tai fenyyloglysiinistä saatu aminohappotähde;

25

R^3 on 1 - 12 hiiliatomia sisältävä alkyyliryhmä,

30

jossa on

(1) fenyylikarbonyyliaminoryhmä, jossa mahdollisesti on karboksi-, C_{1-3} -alkoksikarbonyyli-, 5-tetratsolo- tai bentseenisulfonyyliaminokarbonyylisubstituentti, jolloin viimeksi mainittu on mahdollisesti substituoitu fluori-, kloori-, bromi- tai jodiatomilla tai nitryryhmällä; tai

35

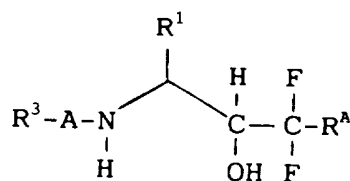
(2) fenyyli, joka on mahdollisesti substituoitu kloori-, bromi-, jodi- tai fluoriatomilla tai hydroksi-, trifluorimetyyli-, C_{1-6} -alkyyli-, C_{1-6} -alkoksi-, C_{2-6} -alkanoyylioksi-, C_{2-6} -alkoksikarbonyyli-, karboksi-, C_{2-6} -aminokarbonyylialkyyli-, karbamoyyli-, 5-tetratsolo- tai bentseenisulfonyyliaminokarbonyyliryhmällä, jolloin viimeksi mainittu on mahdollisesti substituoitu fluori-, kloori-, bromi- tai jodiatomilla tai nitroryhmällä; tai

R^3 on fenyyli, joka on mahdollisesti substituoitu fluori-, kloori-, bromi- tai jodiatomilla tai trifluorimetyyli-, hydroksi-, C_{1-6} -alkyyli-, C_{2-6} -alkanoyylioksi-, C_{1-6} -alkoksi-, C_{2-6} -alkoksikarbonyyli-, karboksi-, C_{2-7} -aminokarbonyylialkyyli-, 5-tetratsolo- tai bentseenisulfonyyliaminokarbonyyliryhmällä, jolloin viimeksi mainittu on mahdollisesti substituoitu fluori-, kloori-, bromi- tai jodiatomilla tai nitroryhmällä;

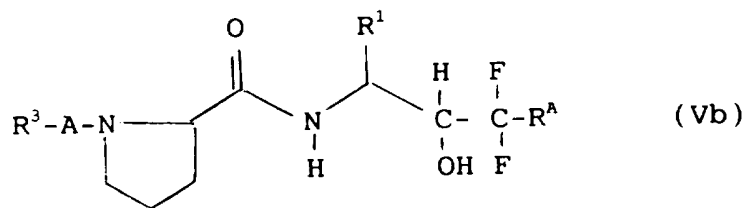
R^4 on vety;

R^A on ryhmä, jolla on kaava $-CH_2.R^B$, $-CO.CH_2.R^B$ tai $-CO.NH.R^B$, jolloin R^B on C_{1-10} -alkyyli, C_{5-15} -sykloalkyyli, C_{5-15} -sykloalkyyli- C_{1-6} -alkyyli, fenyyli tai fenyyli- C_{1-6} -alkyyli, jonka fenyyli-ryhmä on mahdollisesti substituoitu kloori-, bromi-, jodi- tai fluoriatomilla tai hydroksi-, trifluorimetyyli-, C_{1-6} -alkyyli-, C_{1-6} -alkoksi-, C_{2-6} -alkoksikarbonyyli-, karboksi-, 5-tetratsolo- tai bentseenisulfonyyliaminokarbonyyliryhmällä, jolloin viimeksi mainittu ryhmä on mahdollisesti substituoitu fluori-, kloori-, bromi- tai jodiatomilla tai nitroryhmällä; ja A on karbonyyli tai oksikarbonyyli; tai, kun on sopivaa, sen farmaseuttisesti hyväksyttävän suolan valmistamiseksi. Menetelmälle on tunnusomaista, että

(a) yhdiste, jolla on kaava



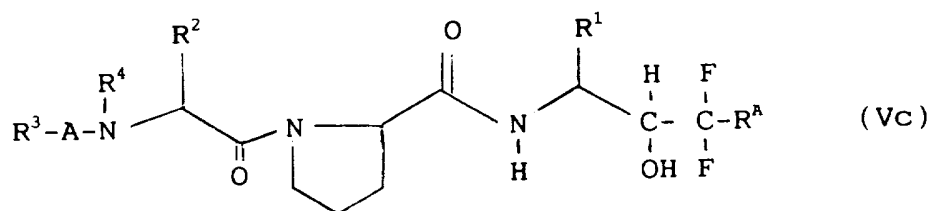
(Va)



5

tai

10



15

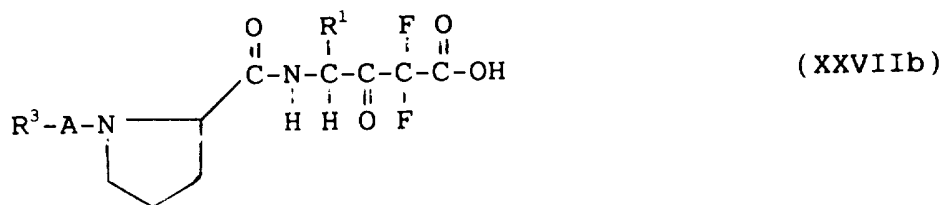
hapetetaan,

(b) happo, jolla on kaava

20

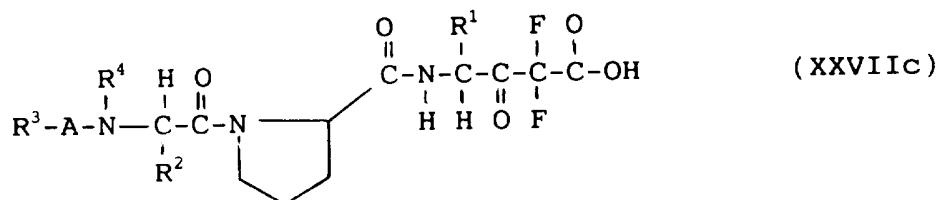


25



tai

30



35

kytketään amiiniin, jolla on kaava $\text{R}^B\text{.NH}_2$;

(c) yhdisteiden valmistamiseksi, joissa R^2 tai R^3 sisältää karboksiryhmän, hajotetaan vastaavan kaavan Ia, Ib tai Ic mukaisen yhdisteen esteri; tai

5 (d) yhdisteiden valmistamiseksi, joissa R^3 sisältää bentseenisulfonyyliaminokarbonyyliryhmän, joka on mahdollisesti substituoitu fluori-, kloori-, bromi- tai jodiato-

10 milla tai nitroryhmällä, saatetaan vastaava kaavan Ia, Ib tai Ic mukainen yhdiste, jossa R^3 sisältää karboksiryhmän, reagoimaan valitun sulfonamidin kanssa dehydratoivan aineen läsnä ollessa liuottimeissa tai laimentimissa;

15 minkä jälkeen, kun halutaan farmaseuttisesti hyväksyttävä suola, saatetaan saatu kaavan Ia, Ib tai Ic mukainen yhdiste reagoimaan sopivan hapon tai emäksen kanssa, joka tuottaa fysiologisesti hyväksyttävän anionin tai vastavasti kationin;

jolloin vaihtuvilla substituentteilla voi olla mitkä tahansa edellä mainituista merkityksistä, ellei toisin ole mainittu.

20 Kaavojen Ia, Ib ja Ic mukaisten yhdisteiden suolat ovat farmaseuttisesti hyväksyttäviä emäs- tai happoadditiosuoloja, kuten sellaisia, jotka on valmistettu mineraalihapon, esimerkiksi kloorivetyhapon, tai orgaanisen hapon, kuten sitruuna-, maleiini-, fumariini- tai etikkahapon kanssa. Emäsadditiosuolat ovat sellaisia, jotka on

25 valmistettu alkalimetallihydroksidien, kuten natriumhydroksidin, alkalimetallikarbonaattien tai -bikarbonaattien, maa-alkalimetallihydroksidien ja orgaanisten amiinisuolojen kanssa. Tällaiset suolat voidaan valmistaa liuottamalla peptidijohdannainen veden ja veteen sekoittuvan orgaanisen liuottimen seokseen, lisäämällä emäksen vesiliuos ja ottamalla talteen suola vesiliuoksesta.

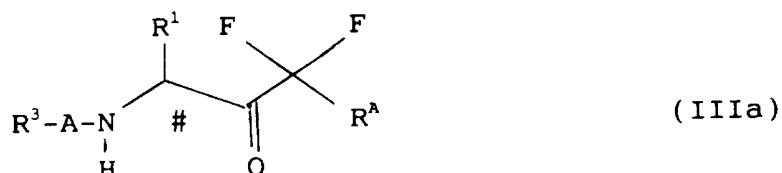
30

Keksinnön mukaisesti valmistetuilla edullisilla yhdisteillä on S-konfiguraatio (luonnossa esiintyvien L-aminohappojen konfiguraatio) kiraalikeskuksissa identifioituna merkillä * jäljempänä esitetyissä kaavoissa IIIa, IIIb ja IIIc, ja synteesimenetelmät tuottavat isomeerejä,

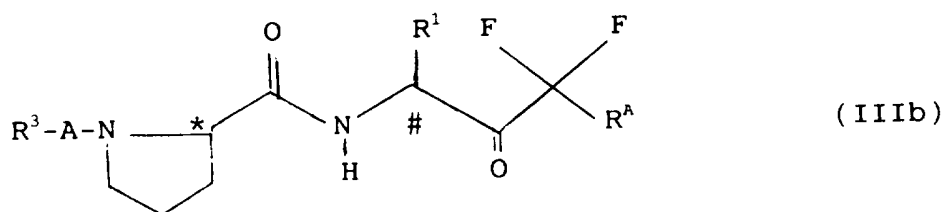
35

joilla on S-konfiguraatio kiraalikeskuksissa identifioituna symbolilla #, tai isomeeriseoksia tuloksena R- ja S-konfiguraatioista kiraalikeskuksessa identifioituna symbolilla #. Yleensä on edullista, että yhdisteillä on S-konfiguraatio keskuksessa identifioituna symbolilla #.

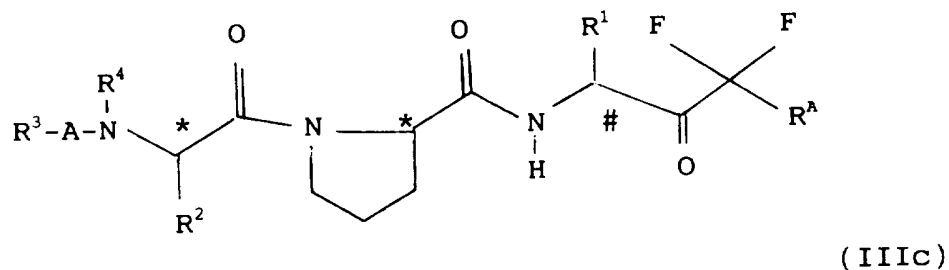
10



15



20



25

Kuten tällä alalla on tunnettua, yksittäisten isomeerien aktiviteetti ei ole sama ja siten on edullista käyttää hyväksi aktiivisempaa isomeeria. Esillä olevan keksinnön mukaisesti saadaan yhdisteitä, jotka on tuloksena S- ja/tai R-konfiguraatiosta kiraalikeskuksessa varustettu merkillä #.

30

Ryhmissä R^A , R^1 , R^2 ja R^3 voi olla kiraalikeskuksia. Esillä olevalla keksinnöllä saadaan kaavojen Ia, Ib ja Ic mukaisia yhdisteitä, joissa kiraalikeskukset ryhmissä R^A , R^1 , R^2 ja R^3 ovat S- ja/tai R-konfiguraatioita.

35

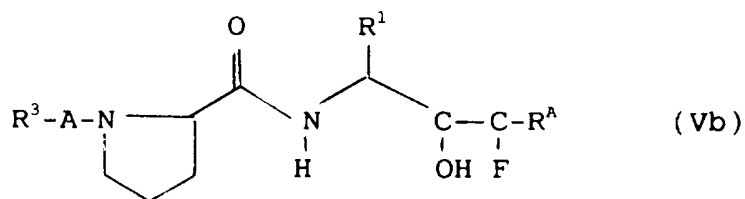
5



25

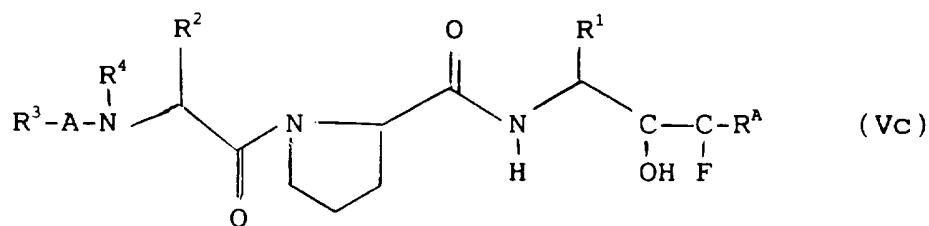
30





5

tai



10

15

Kaavan Ia, Vb tai Vc mukainen alkoholi muutetaan vastaavaksi kaavan Ia, Ib tai Ic mukaiseksi ketoniksi hapetusmenetelmällä. Käyttökelpoisiin menetelmiin kuuluvat oksalyylikloridin käyttö, DMSO ja tertiäärinen amiini (kts. Marx, M. et al., J. Org. Chem. 49 (1984), ss. 788 - 793; jolloin parhaat tulokset saadaan 10 - 20 ekvivalentilla hapetusainetta), etikkahapponanhydridin ja DMSO:n käyttö, kromitrioksidipyridiinikompleksin käyttö metyleenikloridissa ja Dess-Martin-perjodinaanin [1,1,1-triasetoksi-2,1-bentsoksijodol-3(3H)-oni] käyttö [Dess, D. B. et al.:n menetelmä; J. Org. Chem. 48 (1983), ss. 4 155 - 4 156].

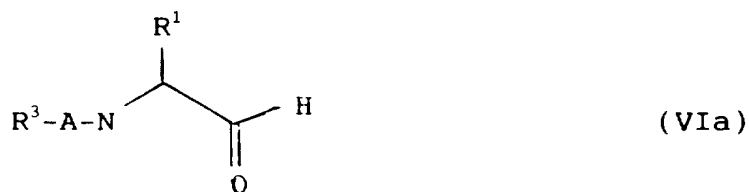
20

25

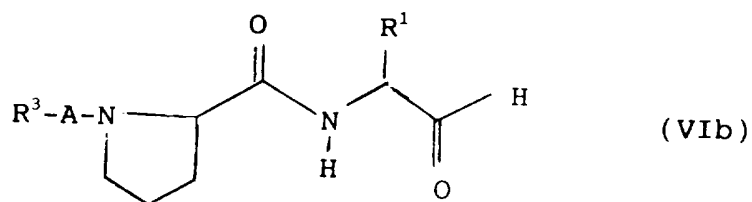
Kaavojen Va, Vb tai Vc mukaiset alkoholit voidaan valmistaa seuraavasti:

30

(i) Kun R^A on ryhmä, jolla on kaava $-\text{CO.NH.R}^B$, aldehydi, jolla on kaava

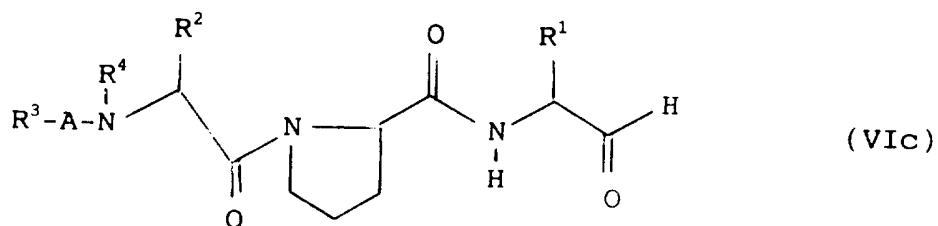


35



5

tai

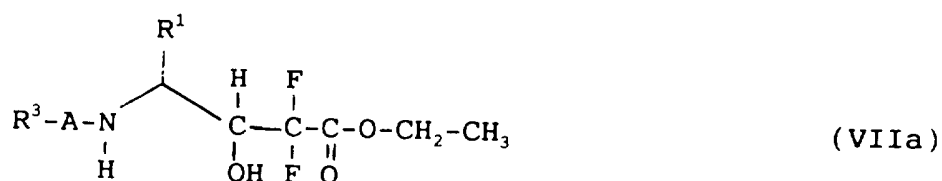


10

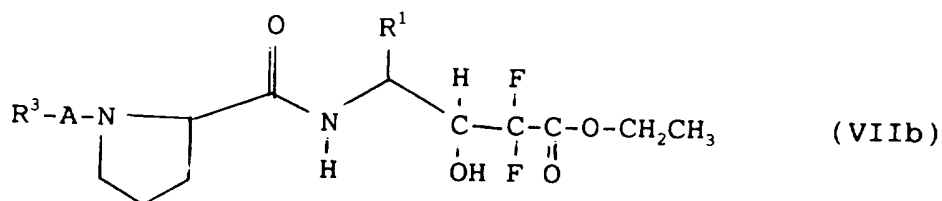
15

voidaan saattaa reagoimaan etyyli-2-bromi-2,2-difluoriase-
 taatin (saatu SCM:stä; Speciality Chemicals) ja Zn:n kans-
 sa palautusjäähdyttäen kuumennetussa THF:ssa (kts. Halli-
 nan, E. A. et al., Tetrahedron Letters 25 (22) (1984), ss.
 2 301 - 2 302] yhdisteen saamiseksi, jolla on kaava

20

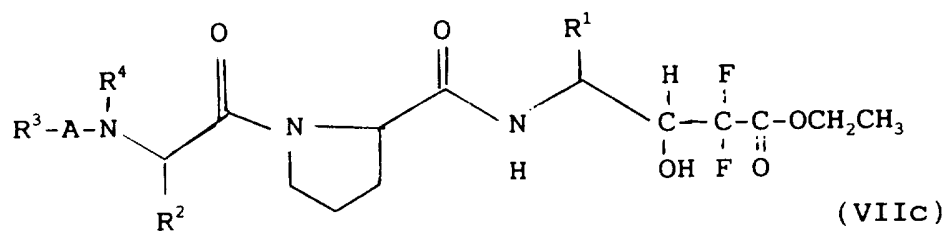


25



30

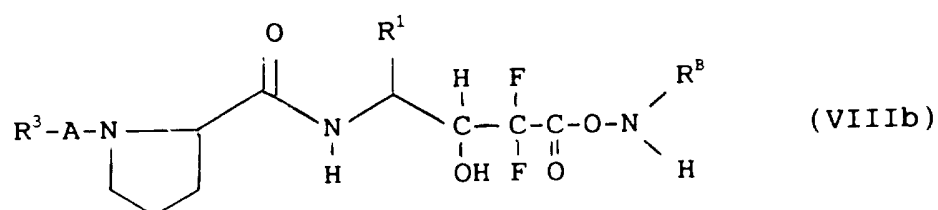
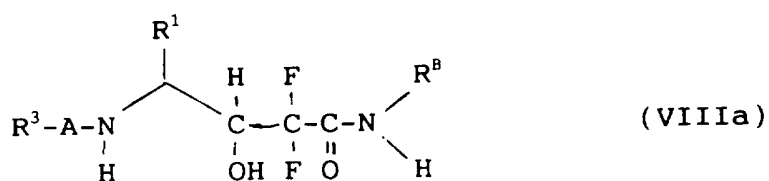
tai



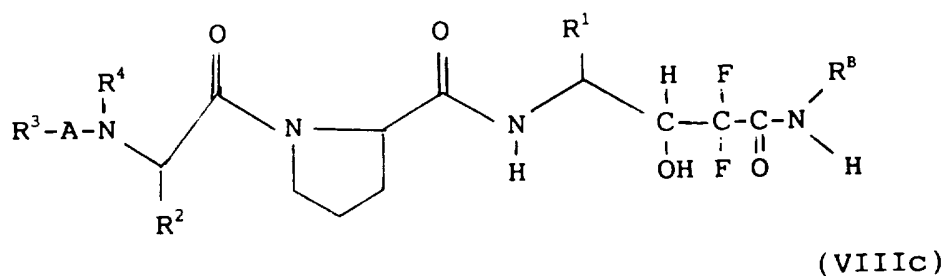
ja joka vuorostaan voidaan saattaa reagoimaan amiinin kanssa, jolla on kaava



etanolissa, jolloin saadaan vastaava alkoholi, jolla on kaava



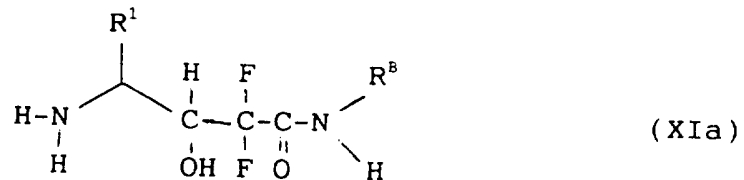
tai



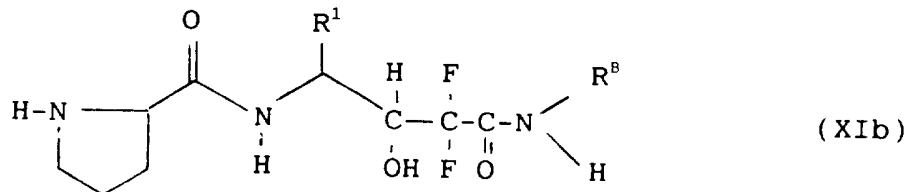
Kaavan VIIIA, VIIIB tai VIIIC mukainen yhdiste voidaan muuttaa kaavan VIIIA, VIIIB tai VIIIC mukaiseksi uudeksi yhdisteeksi, jossa ryhmä R³-A- on merkitykseltään erilainen, muodostamalla vastaava yhdiste, jolla on kaava

5

10

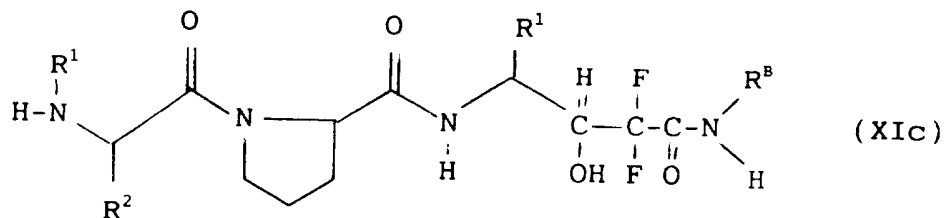


15



tai

20



25

ja saattamalla se reagoimaan tarkoituksenmukaisen aktivoituneen karbonyyli- tai sulfonyyliyhdisteen kanssa.

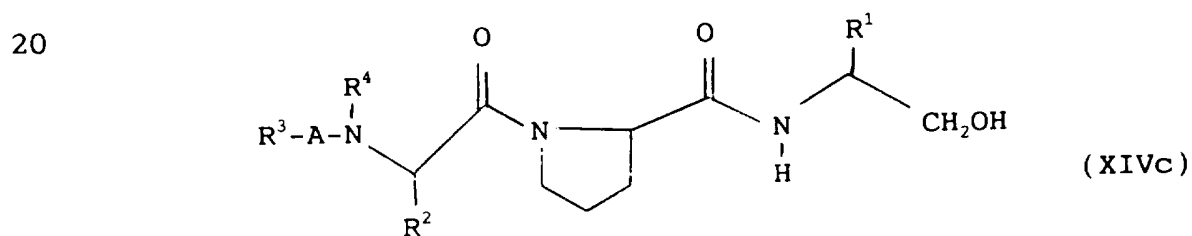
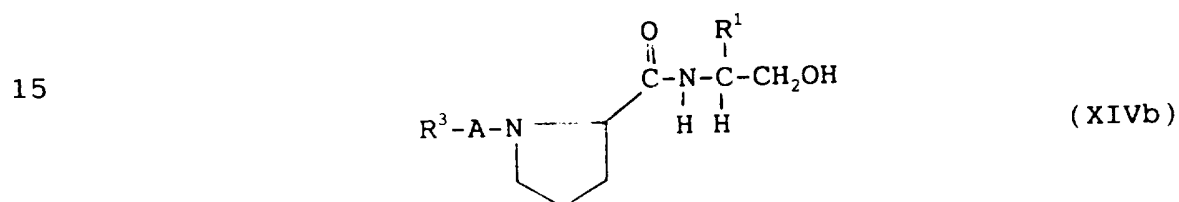
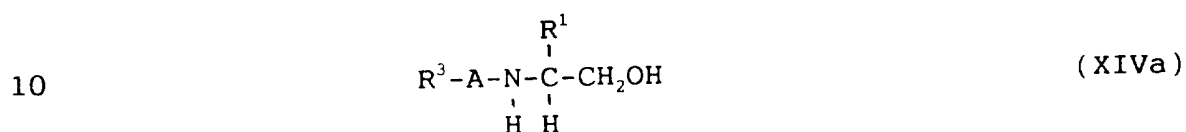
Esimerkiksi kaavojen VIIIA, VIIIB ja VIIIC mukaiset yhdisteet, joissa R³-A- on bentsyylioksikarbonyyli, voidaan muuttaa katalyyttisellä hydruuksella kaavojen XIa, XIb ja XIc mukaisiksi aminoamideiksi, jotka vuorostaan voidaan saattaa reagoimaan valikoidun aktivoituneen karbonyyli- tai sulfonyyliyhdisteen (esimerkiksi isosyanaatin, happokloridin, klooriformiaatin tai sulfonyylikloridin) kanssa tai kaavan R³COOH mukaisen hapon kanssa, käyttäen edellä kuvat-

30

35

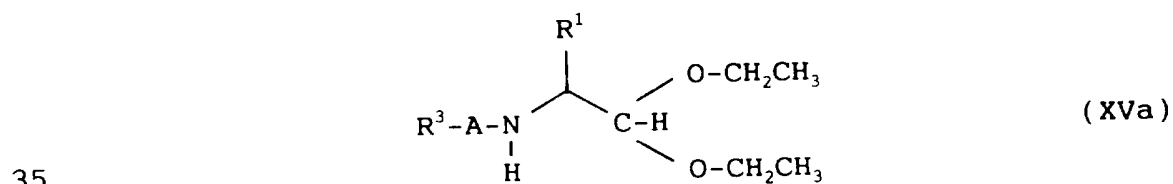
tuja normaaleja peptidikytkemismenetelmiä kaavan VIIIIa, VIIIIb ja VIIIIc mukaisten uusien yhdisteiden saamiseksi. Kaavojen VIIIIa, VIIIIb ja VIIIIc mukaiset yhdisteet ovat kaavojen Va, Vb ja Vc mukaisia valikoituja yhdisteitä, joissa R^A on $-CO.NH.R^B$.

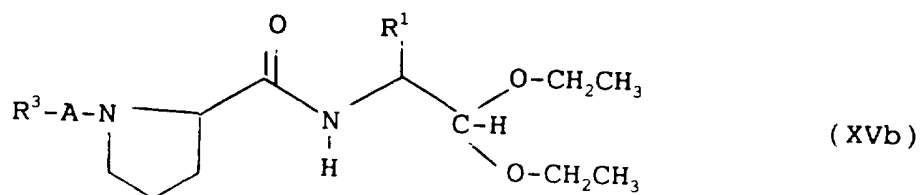
Kaavan VIa, VIb tai VIc mukaiset aldehydit voidaan valmistaa hapettamalla vastaava alkoholi, jolla on kaava



25

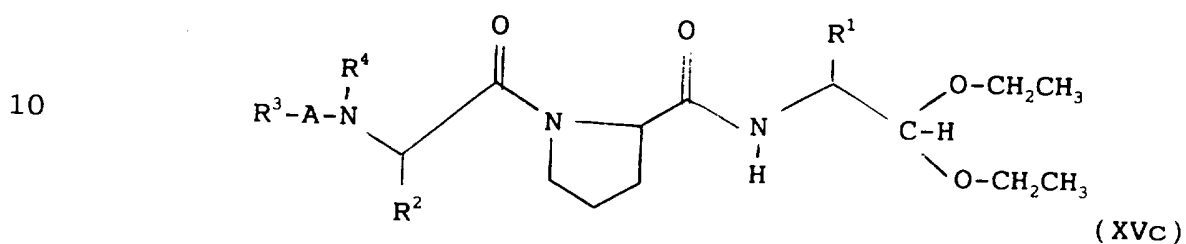
[esimerkiksi Marx, M. et al.:n kuvaamat hapetusolosuhteet julkaisussa J. Org. Chem. 49 (1984), ss. 788 - 793] tai hydrolysoimalla tai transasetaalisoimalla vastaava asetaali, jolla on kaava





5

tai



10

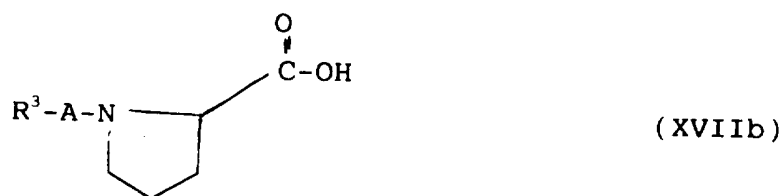
15 [kts. esimerkiksi tällaisten yhdisteiden valmistus kuvattuna EP-patenttihakemuksessa 84 302 621.2.]

20 Kaavan XIVb tai XIVc mukaiset yhdisteet (käytettäviksi kaavan VIb tai VIc mukaisten yhdisteiden valmistamiseksi) voidaan valmistaa saattamalla aminoalkoholi, jolla on kaava



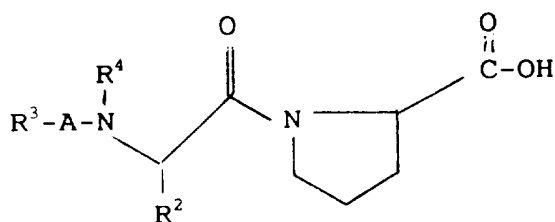
25

reagoimaan sopivan vapaan hapon kanssa, jolla on kaava



30

tai



(XVIIc)

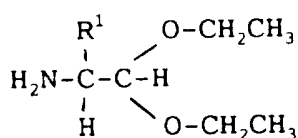
5

normaalin peptidikytkemistekniikan mukaan käyttämällä täl-
lä alalla tunnettuja tavanomaisia menetelmiä, kuten niitä,
10 jotka M. Bodanszky on kuvannut julkaisuissa Principles of
Peptide Synthesis, Springer-Verlag, Berlin (1984) ja The
Peptides, Analysis, Synthesis and Biology (toim. E. Gross
ja J. Meinhofer), Nit. 1 - 5, (Academic Press, New York)
1979 - 1983.

15 Kaavan XVIIb tai XVIIc mukainen yhdiste voidaan
valmistaa edellä kuvatuilla tavanomaisilla peptidikytke-
mis- ja suojauksenpoistomenetelmillä.

Kaavan XVI mukaiset aminoalkoholit (mikäli niitä ei
ole kaupallisesti saatavissa) voidaan valmistaa vastaavis-
20 ta α -aminohapoista, joilla on kaava H_2NHR^1COOH , saatta-
malla reagoimaan pelkistysaineen, kuten diboraanin kanssa
(kts. US-patenttijulkaisu 3 935 280). Kaavan XVIa mukainen
yhdiste voidaan valmistaa saattamalla kaavan XVI mukainen
yhdiste reagoimaan tarkoituksenmukaisen aktivoituneen karbo-
25 nyyli- tai sulfonyyliyhdisteen (esimerkiksi isosyanaatin,
karbonaatin, happokloridin, klooriformiaatin tai sulfonyy-
likloridin) kanssa tai saattamalla reagoimaan kaavan R^3COOH
mukaisen hapon kanssa käyttäen edellä kuvattuja tavanomai-
sia peptidikytkemismenetelmiä.

30 Vastaavasti kaavan XVb tai XVc mukainen yhdiste
voidaan valmistaa saattamalla aminoasetaali, jolla on kaa-
va

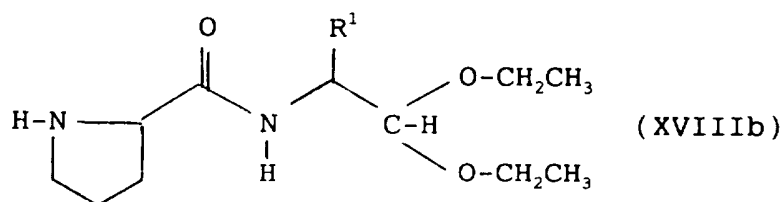


(XVIIIa)

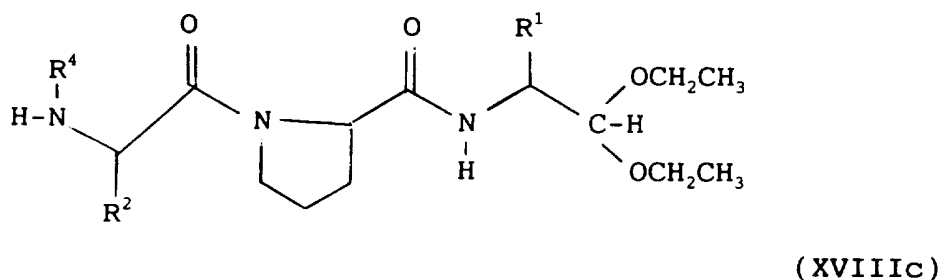
35

reagoimaan kaavan XVIIb tai XVIIc mukaisen hapon kanssa käyttäen tavanomaisia peptidikytkemismenetelmiä; ja kaavan XVa mukainen yhdiste voidaan valmistaa saattamalla yhdiste, jolla on kaava XVIIIa, reagoimaan aktivoituneen karbonyyli- tai sulfonyyliyhdisteen kanssa. Kaavan XVIIIa mukainen asetaali voidaan valmistaa jäljempänä olevissa esimerkeissä la - ld kuvatulla tavalla.

Kaavan XVa, XVb tai Xvc mukainen asetaali voidaan valmistaa tarvittaessa kaavan VIa, VIb tai VIc mukaisen yhdisteen hapolla katalysoidulla asetaalisoinimisella (esimerkiksi trietyyliortoformiaatilla absoluuttisessa etanolissa, joka sisältää p-tolueenisulfonihappoa, huoneen lämpötilassa) ja muuttamalla kaavan XVa, XVb tai Xvc mukaiseksi uudeksi yhdisteeksi, jossa R³-A- on merkitykseltään erilainen, muodostamalla vastaava yhdiste, jolla on kaava



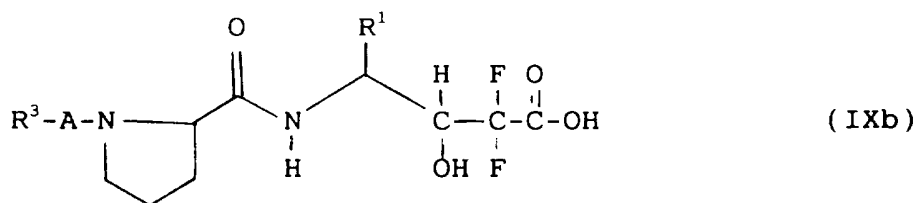
tai



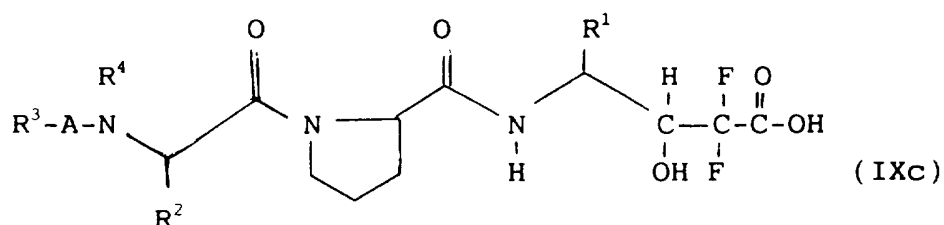
ja sen jälkeen saattamalla reagoimaan sopivan aktivoidun karbonyyli- tai sulfonyyliyhdisteen kanssa.

Esimerkiksi kaavan XVa, XVb ja XVc mukaiset yhdisteet, silloin kun R³-A- on bentsyylikarbonyyli, voidaan muuttaa katalyyttisellä hydrauksella kaavan XVIIIa, XVIIIb ja XVIIIc mukaisiksi aminoasetaeiksi, jotka vuorostaan voidaan saattaa reagoimaan valikoidun aktivoidun karbonyyli- tai sulfonyyliyhdisteen (esimerkiksi isosyanaatin, happokloridin, klooriformiaatin tai sulfonyylikloridin) kanssa tai saattaa reagoimaan kaavan R³COOH mukaisen hapon kanssa käyttäen edellä kuvattuja tavanomaisia peptidikyt-kemismenetelmiä kaavan XVa, XVb ja XVc mukaisten uusien yhdisteiden saamiseksi.

Vaihtoehtoinen menetelmä kaavan VIIb tai VIIc mukaisen yhdisteen valmistamiseksi kaavan VIIb tai VIIc mukaisesta yhdisteestä käsittää kaavan VIIb tai VIIc mukaisen yhdisteen reaktion noin 1,25 ekvivalentin kanssa 1 N NaOH:a CH₃OH:ssa yhdisteiden saamiseksi, joilla on kaava



tai



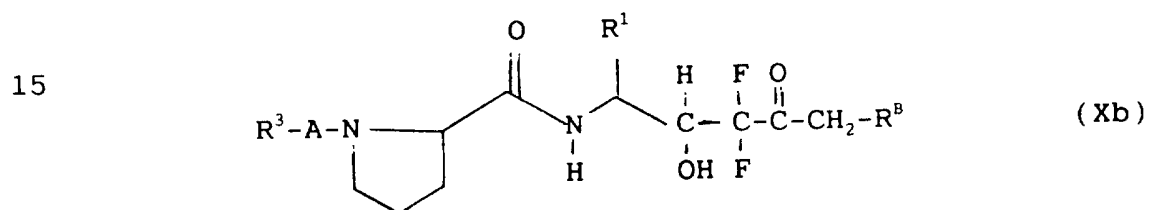
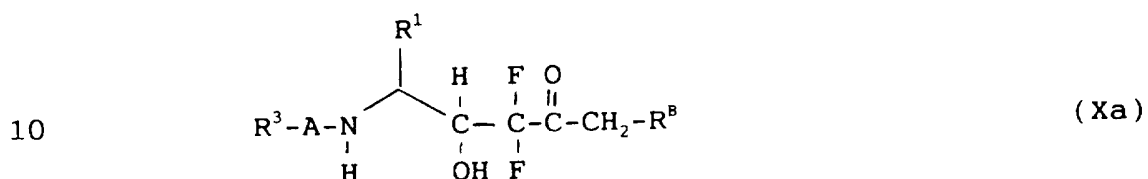
ja sen jälkeen kaavan IXb tai IXc mukaisen yhdisteen reaktion kaavan Vd mukaisen yhdisteen kanssa käyttäen reagensseja

a) HOBT, WSCDI ja THF tai

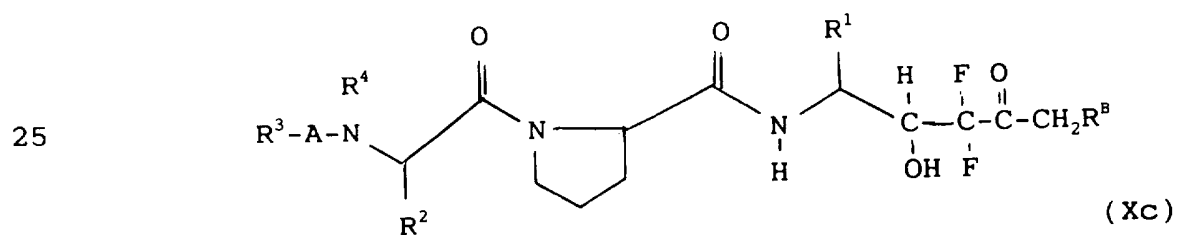
b) tetrametyyliguanidiini ja CHCl_3

0 °C:sta huoneen lämpötilaan yhdisteen saamiseksi, jolla on
kaava VIIIb tai VIIIc [kts. Abeles, R. H. et al., Bioche-
mistry 24 (1985), s. 1 813].

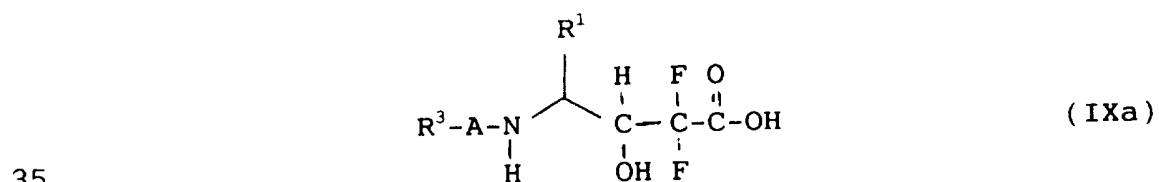
ii) Kun R^A on $-\text{CO}.\text{CH}_2.\text{R}^B$, alkoholi, jolla on kaava

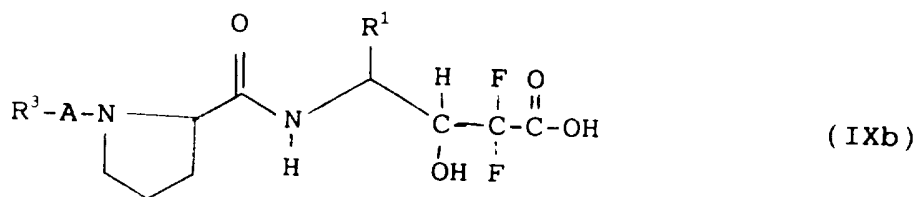


20 tai



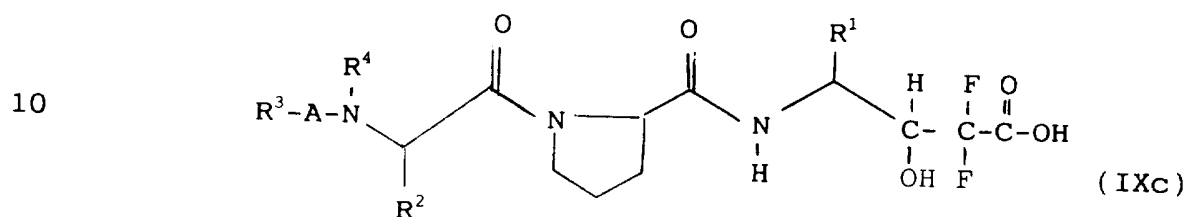
30 voidaan valmistaa saattamalla yhdiste, jolla on kaava



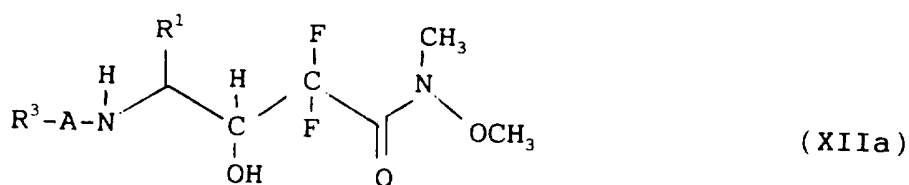


5

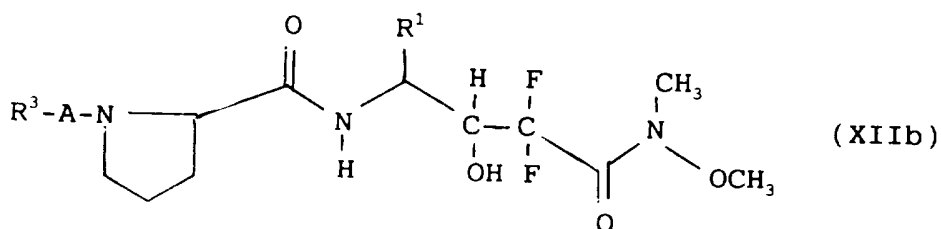
tai



15 (jolloin yhdiste IXa voidaan valmistaa yhdisteestä VIIa
edellä yhdisteiden IXb ja IXc yhteydessä kuvatulla taval-
la), reagoimaan N,O-dimetyylihydroksiamiinihydrokloridin,
WSCDI:n, HOBT:n ja N-metyylimorfoliinin kanssa CH₂Cl₂:ssa
[kts. Int. J. Protein Res. 26 (1985), ss. 236 - 241] yh-
20 disteen saamiseksi, jolla on kaava



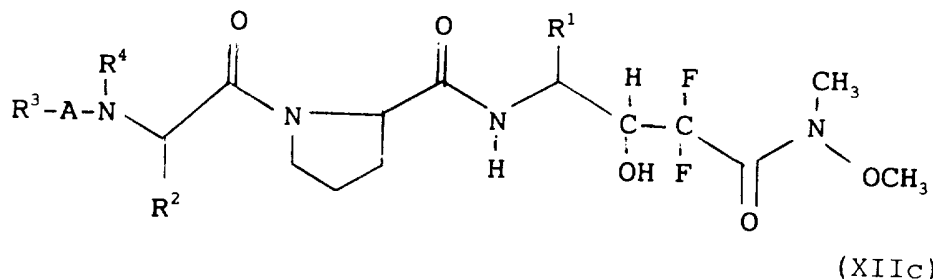
25



30

tai

5



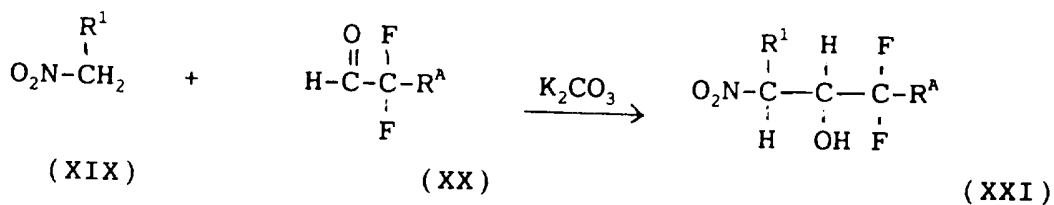
10 ja sen jälkeen saattamalla kaavan XIIa, XIIb tai XIIc mukainen yhdiste reagoimaan Grignard-reagenssin kanssa, jolla on kaava R^BCH_2MgBr , kaavan Xa, Xb tai vastaavasti Xc mukaisen yhdisteen muodostamiseksi.

iii) Kun R^A on $-CH_2R^B$, kaavan Va, Vb tai Vc mukaiset yhdisteet voidaan valmistaa seuraavasti.

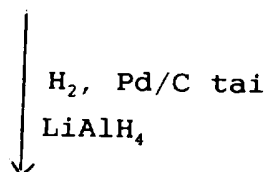
15 Kaavan Vc, jossa R^A on $-CH_2R^B$, mukaiset yhdisteet voidaan valmistaa seuraavan kaavion 1 mukaan.

Kaavio 1

20



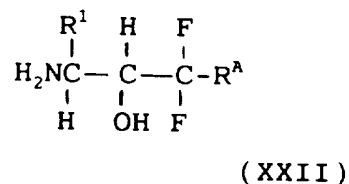
25



30

(Vc)

(XVIIc)



Kaaviossa 1 käytettävä kaavan XX mukainen lähtöaldehydi voidaan valmistaa vastaavasta alkyyliesteristä, jolla on kaava

5



10

jossa R^x on C_{1-3} -alkyyli (esimerkiksi etyyli), pelkistämällä suoraan (esimerkiksi di-isobutyrylialuminiumhydridillä) tai pelkistämällä NaBH_4 :llä etanolissa huoneen lämpötilassa vastaavaksi alkoholiksi ja sen jälkeen hapettamalla (oksalyylikloridi, DMSO) aldehydiksi, kuten Marx ja Tidwell ovat kuvanneet (viite edellä).

15

Kaavan XXIV mukainen difluoriesteri voidaan valmistaa α -ketoesteristä, jolla on kaava



20

saattamalla se reagoimaan dietyyliaminorikkitrifluoridin (DAST) kanssa [kts. Erni, B. ja Khorana, H. G., J. Amer. Chem. Soc., 102 (1980), s. 3 888].

25

Kaavan XXV mukaiset α -ketoesterit, silloin kun ne eivät ole kaupallisesti saatavissa, voidaan valmistaa vastaavista α -aminohapoista menetelmällä, jonka ovat kuvanneet Weygand, F. et al., Leibigs. Ann. Chem. Vol. 658 (1962), s. 128, ja esteröimällä sen jälkeen. Vaihtoehtoisesti kaavan XXV mukainen α -ketoesteri voidaan valmistaa yleisen menetelmän mukaan saattamalla alkyyli-1,3-ditiaani-2-karboksylaatti (esimerkiksi etyyliyhdiste) reagoimaan kaavan BrR^A mukaisen bromidin kanssa, siten kuin Eliel, D. H. et al. julkaisussa J. Org. Chem. 37 (1972), s. 505.

30

35

Kaavan XX mukainen aldehydi voidaan saattaa reagoimaan kaavan XIX mukaisen nitroyhdisteen ($\text{O}_2\text{N-CH}_2\text{-R}^1$) ja K_2CO_3 :n kanssa kaavan XXI mukaisen yhdisteen saamiseksi.

Kaavan XXI mukainen yhdiste voidaan pelkistää (esimerkiksi hydraamalla tai LiAlH_4) kaavan XXII mukaisen yhdisteen saamiseksi.

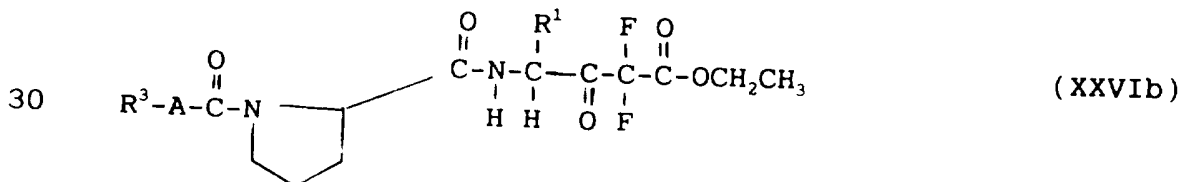
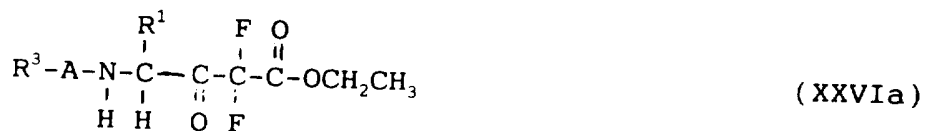
5 Kaavan XXII mukainen yhdiste voidaan saattaa reagoimaan kaavan XVIIIc mukaisen yhdisteen kanssa käyttäen tavanomaisia peptidikytkemisolosuhteita avainalkoholiväli-

10 tuotteen, kaavan Vc mukaisen yhdisteen, saamiseksi.
Kaavan Va mukaiset yhdisteet, joissa R^A on $-\text{CH}_2\text{R}^B$, voidaan valmistaa kaavan XXII mukaisista yhdisteistä saatamalla kaavan XII mukaiset yhdisteet reagoimaan sopivan aktivoidun karbonyyli- tai sulfonyyliyhdisteen kanssa.

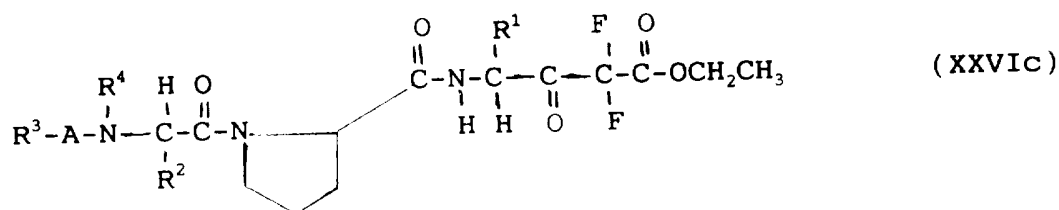
15 Kaavan Vb mukaiset yhdisteet, joissa R^A on $-\text{CH}_2\text{R}^B$, voidaan valmistaa kaavan XXII mukaisista yhdisteistä saatamalla kaavan XVII mukaiset yhdisteet reagoimaan sopivien kaavan XVIIb mukaisten yhdisteiden kanssa käyttämällä edellä yhdisteiden Vc yhteydessä kuvattuja tavanomaisia peptidikytkemisolosuhteita.

Menetelmä B

20 Kaavan Ia, Ib tai Ic mukainen yhdiste, jossa R^A on ryhmä $-\text{CO.NH.R}^B$, voidaan valmistaa esteristä, kuten etyyli-esteristä, jolla on kaava



tai



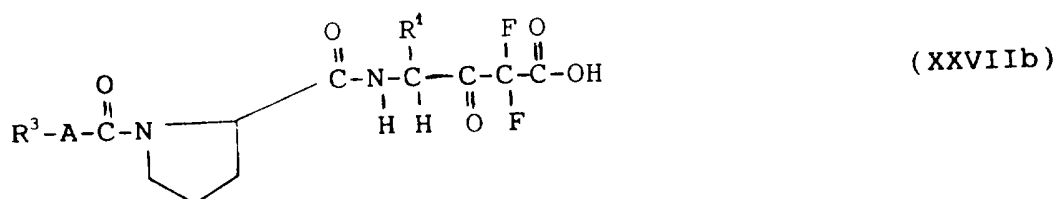
5

joko suoraan kuumentamalla esterää sopivan kaavan Vd mukaisen amiinin kanssa etanolissa kaavan Ia, Ib tai Ic mukaisen vastaavan yhdisteen saamiseksi tai keksinnön mukaisesti epäsuorasti ensiksi hydrolysoimalla esteri vastavaksi hapoksi, jolla on kaava

15

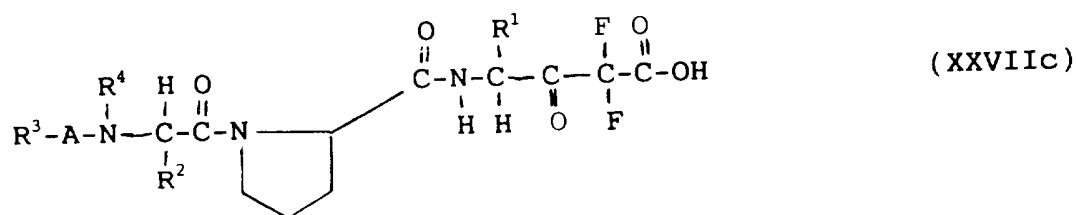


20



tai

25



30

(käyttäen samanlaista menetelmää kuin edellä on kuvattu hydrolysoitaessa kaavan VIIc mukainen yhdiste kaavan IXc mukaiseksi yhdisteeksi) ja sen jälkeen kytkemällä happo kaavan Vd mukaiseen amiiniin (käyttäen samanlaisia olosuhteita kuin edellä on kuvattu muutettaessa IXc yhdisteeksi VIIc) vastaavan kaavan Ia, Ib tai Ic mukaisen yhdisteen saamiseksi.

35

Kaavan XXVIa, XXVIb tai XXVIc mukainen lähtöesteri voidaan saada hapettamalla kaavan VIIa, VIIb tai VIIc mukainen vastaava alkoholi käyttäen menetelmässä A kuvattuja hapetusmenetelmiä.

5

Menetelmä C

Kaavan Ia, Ib tai Ic, jossa R^2 tai R^3 sisältää karboksiryhmän, mukainen yhdiste valmistetaan hajottamalla kaavan Ia, Ib tai Ic, jossa R^2 tai R^3 sisältää esteriryhmän, mukaisen vastaavan yhdisteen esteriryhmä.

10

Hajottaminen voidaan suorittaa käyttämällä mitä tahansa erilaista orgaanisen kemian sinänsä hyvin tunnettua menetelmää. Siten se voidaan suorittaa esimerkiksi tavanomaisella hydrolyysillä happamissa tai emäksisissä olosuhteissa, joita tarvittaessa voidaan säätää molekyylin muiden funktionaalisten ryhmien hydrolyyttisen poistumisen minimoimiseksi. Myös kun esteri on aralkoksikarbonyyliryhmä, kuten bentsyylioksikarbonyyli, voi olla mahdollista suorittaa hajottaminen pelkistämällä, esimerkiksi käyttämällä vetyä suunnilleen ilmakehän paineessa sopivan katalyytin, kuten palladiumin tai platinan ollessa läsnä sopivasti hiilikantajalla.

15

20

Edullisessa menetelmässä kaavan Ia, Ib tai Ic mukaisen esterin hajottamisessa saatetaan esteri reagoimaan sopivan emäksen, esimerkiksi alkali- tai maa-alkalimetallihydroksidin tai -karbonaatin (kuten litiumhydroksidin, kaliumhydroksidin, natriumhydroksidin, kalsiumhydroksidin tai kaliumkarbonaatin) kanssa sopivassa vesipitoisessa liuottimessa tai laimennusaineessa, esimerkiksi vedessä, mahdollisesti yhdessä veteen sekoittuvan orgaanisen liuotimen, kuten metanolin kanssa ja sopivasti ympäristön lämpötilassa tai lähellä sitä. Käytettäessä tällaista menetelmää kaavan Ia, Ib tai Ic mukainen karboksyylihapo, jossa R^2 tai R^3 sisältää karboksiryhmän, saadaan aluksi hydrolyysiin käytetyn emäksen vastaavana suolana ja se voidaan eristää sellaisenaan tai muuttaa vapaaksi hapoksi tekemällä happameksi tunnetulla tavalla.

25

30

35

Menetelmä D

Kaavan Ia, Ib tai Ic mukainen yhdiste, jossa R^2 tai R^3 sisältää bentseenisulfonyyliaminokarbonyyliryhmän, voidaan valmistaa saattamalla vastaava kaavan Ia, Ib tai Ic mukainen yhdiste, jossa R^2 tai R^3 sisältää karboksiryhmän, reagoimaan sopivan sulfonamidin kanssa dehydratoivan aineen, esimerkiksi 1-(3-dimetyyliaminopropyyli)-3-etyyli-karbodiimidin tai sen hydrokloridi- tai hydrobromidisuolan läsnä ollessa mahdollisesti yhdessä orgaanisen emäksen, esimerkiksi pyridiinin kanssa sopivan liuottimen tai laimennusaineen, esimerkiksi dikloorimetaanin läsnä ollessa, lämpötila-alueella esimerkiksi 10 - 50 °C, mutta edullisesti ympäristön lämpötilassa tai lähellä sitä.

Voi myös olla toivottua mahdollisesti käyttää suojaryhmää edellä kuvattujen menetelmien aikana kokonaisuudessaan tai niiden osissa; suojaryhmä voidaan sitten poistaa, kun lopputuote on muodostunut [kts. Greene, T. W., Protective Groups in Organic Synthesis, Wiley-Interscience, New York (1981)].

Inhibitiomittaukset

Keksinnön mukaisesti valmistettujen yhdisteiden kyky toimia elastaasi-inhibiittoreina voidaan aluksi määrittää tutkimalla keksinnön mukaisesti valmistetun yhdisteen kykyä inhiboida ihmisen leukosyyttielastaasin (HLE) vaikutus pienimolekyyllipainoisella peptidisubstraatilla. Inhibiittorin teho arvioidaan määrittämällä kineettisesti inhibiittorin ja HLE:n vuorovaikutuksesta syntyneen kompleksin dissosiaatiovakio K_i . Käytetty substraatti oli anilidi, metoksisukkinyyli-L-alanyyli-L-alanyyli-L-prolyyli-L-valiini-p-nitroanilidi, jonka ovat kuvanneet Nakajima, K. et al., J. Biol. Chem. 254 (1979), ss. 4 027 - 4 032, ja Teshima, T. et al., J. Biol. Chem., 257(9) (1982), ss. 5 085 - 5 091. Näissä kokeissa käytettyä HLE-entsyymiä voidaan saada valmistajalta Elastin Products, St. Louis, Missouri, tai entsyymi voidaan puhdistaa menetelmällä, jonka ovat esittäneet Viscarello, B. R. et al., Preparati-

ve Biochemistry 13 (1983), ss. 57 - 67, seuraavasti (kaikki toimenpiteet suoritettiin kylmähuoneessa 4 °C:ssa).

Suolauutto-DNAasikäsittely: lähtömateriaali, märkäinen yskös (193 g), homogenoitiin 200 ml:n kanssa kylmää tislattua vettä ja sentrifugoitiin 30 000 G:ssä 20 minuuttia 4 °C:ssa. Supernatantti hylättiin ja pelletti uutettiin korkealla suolapitoisuudella ja sitä käsiteltiin DNAasilla menetelmällä, jonka ovat kuvanneet Twumasi, D. Y. et al. julkaisussa J. Biol. Chem. 252 (1977), ss. 1 917 - 1 926.

Kromatografia elastiiniagarosilla: DNAasi-käsittelystä saatu sakka otettiin kahteen 40 ml:n erään liuosta, joka sisälsi 50 mM Tris:iä ja 1,0 M NaCl:a, pH 8, suspensio sentrifugoitiin ja saatu supernatantti vietiin suoraan kolonniin, joka sisälsi liukoista elastiini-Sepharose® 4B:tä (2,5 x 20 cm). Kolonni pestiin tasapainotuspuskurilla (50 mM Tris, 50 mM NaCl, pH 8,0), kunnes eluatin optinen tiheys aallonpituudella 280 nm (OD₂₈₀) palautui perusarvoon. Lisää epäpuhtautena olevaa proteiinia eluoi-
ttiin kahdella kolonnitilavuudella liuosta, joka sisälsi 50 mM asetaattia ja 1,0 M NaCl:a, pH 5,0. Elastaasi ja katepsiini G (HLC-G) eluoi-
ttiin lopuksi liuoksella, joka sisälsi 50 mM asetaattia, 1,0 M NaCl:a ja 20 % DMSO:ta, pH 5,0. Kolonni kehitettiin nopeudella 6 ml/min ja 10 ml:n fraktioita kerättiin. Aktiiviset fraktiot yhdistettiin, dialysoitiin kahta 6 litran erää vastaan liuosta, joka sisälsi 50 mM asetaattia ja 0,1 M NaCl:a, pH 5,5, ja konsentroidiin 40 ml:ksi Amicon®-ultrasuodatusyksikössä (YM-10-kalvo). CM-kromatografia: konsentroidu aktiivinen fraktio vietiin CM-Sephadex® C-50 -kolonniin (2,2 x 10 cm), joka oli etukäteen tasapainotettu liuoksella, joka sisälsi 50 mM asetaattia ja 0,1 M NaCl:a, pH 5,5, ja kolonni pestiin tällä puskurilla epäpuhtautena oleva proteiinin poistamiseksi. Eluointia jatkettiin liuoksella, joka sisälsi 50 mM asetaattia ja 0,2 M NaCl:a, pH 5,5, ja tulokseksi saatiin kokeessa Bz-L-Phe-L-Val-L-Arg-pNA:ta vastaan piikkiaktiivisuuden korvautuminen. HLE eluoi-
ttiin sitten asetaattipus-

kurilla, joka sisälsi 0,45 M NaCl:a, kun taas HLC-G:n eluointi vaati 1,0 M NaCl:n läsnäoloa puskurissa, kuten Martodam, R. et al., Preparative Biochemistry 9 (1979), ss. 15 - 31, ovat kuvanneet. Tämä kolonni kehitettiin nopeudella 30 ml/h ja 5,5 ml:n fraktioita kerättiin. Näin puhdistettua HLE:tä käytettiin mittaamaan p-nitroaniliinin standardi tuottamisnopeus; mittaus suoritettiin 25 °C:ssa spektrofotometrisesti näkyvän spektrin alueella aallonpituudella 410 nm käyttäen automaattista tulostusta (käytetty laite: Cary 210 -spektrofotometri, Varian Associates). Reaktiot saatettiin alkuun injektoimalla 10 µl HLE-liuosta 3 ml:n kyvetiin, joka sisälsi 2,89 ml puskuria (10 mM natriumfostaatti, 500 mM NaCl, pH 7,6), 50 µl substraattiliuosta DMSO:ssa ja 50 µl DMSO:ta. Aluksi laskettiin p-nitroaniliinin tuoton steady state -reaktionopeudet sovittamalla koetulokset lineaariseen riippuvuuteen ajasta käyttäen lineaarista pienimmän neliösumman menetelmää. Ilman inhibiittoria määritettyä nopeutta käytettiin standardina laskettaessa inhibiittorin K_i -arvoja.

Poikkeuksetta kaikkien keksinnön mukaisesti saatujen peptidijohdannaisten todettiin olevan HLE:n "hitaastisitovia" inhibiittoreita, ja sen vuoksi tarvittiin erityisiä analyysimenetelmiä, jotta voitaisiin tarkasti määrittää HLE-inhibition K_i -arvot määrittämiseen [katso Williams, J. W. ja Morrison, J. F., Meth. Enz. 63 (1979), s. 437, jossa on kuvattu näitä menetelmiä]. Tyypillisessä kokeessa 3 ml:n kyvetiin lisättiin 2,89 ml puskuria (10 mM natriumfosfaatti, 500 mM NaCl-liuos, pH 7,6), 50 µl inhibiittoriliuosta DMSO:ssa ja 50 µl substraattiliuosta DMSO:ssa. Kyveti suljettiin, sitä käännettiin useita kertoja sisällön sekoittamiseksi ja kyvetiä pidettiin spektrofotometrissä 25 °C:ssa. Viiden minuutin kuluttua, jona aikana reaktioliuoksen lämpötila oli tasoittunut, kyvetiin lisättiin 10 µl entsyymin kantaliuosta reaktion alkuunsaattamiseksi. Inhibiittoripitoisuudella nolla suoritettiin kaksois- tai kolmoismäärityksiä ja inhibiittorin eri pi-

toisuuksilla suoritettiin jokaisella vähintään kolme koetta. K_1 -arvot laskettiin käyttäen menetelmiä, joita on esitetty edellä mainitussa viitejulkaisussa Williams ja Morrison. K_1 -arvot valikoiduille kaavan Ia, Ib ja Ic mukaisille yhdisteille olivat luokka 10^{-1} M tai alle.

Eläinkokeet

Emfyseeman eläinmallikokeissa eläimille annetaan henkitorvensisäisestä (i.t.) elastolyyttistä proteaasia, joka aiheuttaa hitaasti etenevän, keuhkoja hajottavan vaurion. Nämä vauriot arvioidaan normaalisti joidenkin viikkojen tai kuukausien kuluttua alkuperäisestä käsittelystä. Nämä proteaasit aiheuttavat kuitenkin myös vaurioita, jotka voidaan havaita ensimmäisinä tunteina. Aikaisessa vauriossa esiintyy ensin verenvuotoa ja vaurio kehittyy ensimmäisen 24 tunnin kuluessa tulehdukselliseksi vaurioksi, joka häviää ensimmäisen viikon jälkeen. Tämän aikaisen vaurion toteamiseksi käytettiin seuraavaa koemallia.

Hamstereille annettiin ensin kevyt nukutus metoheksitaalilla (Brevital, valmistaja Eli Lilly). Sen jälkeen annosteltiin suoraan henkitorveen fosfaattipuskuroitua suolaliuosta (PBS), pH 7,4, joko yksin tai sisältäen 400 μ g ihmisen leukosyyttielastaasia (HLE). 24 tunnin kuluttua eläimet tapettiin, keuhkot poistettiin ja keuhkoista poistettiin varovasti ylimääräinen kudος. Keuhkon märkäpaino määritettiin, keuhkot huuhdottiin PBS:llä ja huuhtoutuneiden puna- ja valkosolujen kokonaismäärä määritettiin. Keuhkon märkäpainojen, huuhtoutuneiden punasolujen kokonaismäärä ja huuhtoutuneiden valkosolujen kokonaismäärä ovat HLE-annon jälkeen kohonneita annoksista riippuvalla tavalla. Yhdisteet, jotka ovat tehokkaita elastaasi-inhibiittoreita, pystyvät estämään tai vähentämään entsyymillä aiheutetun vaurion voimakkuutta, mikä alentaa keuhkon märkäpainoa ja pienentää huuhtoutuneiden puna- ja valkosolujen kokonaismäärää verrattuna pelkän HLE:n antoon. Yhdisteet voidaan arvioida antamalla niitä yhdessä HLE:n kanssa tai erilaisina ajankohtina ennen HLE-antoa niiden käyttö-

kelpoisuuden määrittämiseksi HLE-vaurion estäjinä. Keksinnön mukaisesti valmistetut yhdisteet aiheuttivat tilastollisesti merkitsevää alenemista keuhkojen märkäpainossa ja huuhtoutuneiden solujen kokonaismäärässä verrattuna pelk-

5

kään HLE:hen.

Kaavojen Ia, Ib ja Ic mukaisilla yhdisteillä oli aktiivisuutta ainakin yhdessä edellä kohdissa "Inhibitio-

mittaukset" tai "Eläinkokeet" kuvatussa kokeessa. On todettava, ettei aina saatu suoraa korrelaatiota yhdisteiden aktiivisuuksien (mitattuna K_i -arvoina inhibitiomittauksessa) ja eläinmallikokeissa saatujen huuhtoutuneiden solujen kokonaismäärän ja keuhkon märkäpainon alenemisen (verrattuna pelkästään HLE:n antoon) välille. Uskotaan, että eläinmallikoe ennakoi paremmin tällaisen yhdisteen

10

15

Farmakokinetiikka:

Urospuolisille Syyrian hamstereille (80 - 120 g) annetaan suonensisäisesti injektiona koeyhdistettä. Ennen injektiota ja eri ajankohtina sen jälkeen eläimet nukutetaan kevyesti eetterillä ja sydänpunktiolla otetaan noin 0,2 ml:n verinäytteitä. Veri pannaan 2 ml:n sentrifugiput-

20

kiin ja veren annetaan hyytyä tunnin ajan. Sitten näyte sentrifugoidaan ja seerumi poistetaan.

Lääkepitoisuudet määritetään inaktivoimalla ensin endogeeniset elastaasi-inhibiittorit inkuboimalla 50 μ l seerumia 5 minuuttia yhtä suuren tilavuuden kanssa puskuria, joka sisältää 5 mg/ml naudan haimatrypsiiniä. Trypsinillä inaktivoitu seerumi (10 μ l) lisätään sitten 0,52 ml:n kyvetiin, joka sisältää puskuria, joka on tehty 20

25

30

35

nM:ksi HLE-pitoisuuden suhteen. 30 minuutin lisäinkuboinnin jälkeen reaktio käynnistetään lisäämällä substraattia (350 μ l) (MeOSuc-L-Ala-L-Ala-L-Pro-L-Val-pNA, 1,6 mM) ja reaktiota seurataan spektrofotometrisesti aallonpituudella 410 nm. Vertailutarkoituksissa koeyhdisteiden seerumipysyvyys määritetään seuraavalla tavalla:

Seeruminäytteiden prosentuaalinen inhibitio laskettiin seuraavasti:

$$\text{Inhibitio-\%} = \frac{V_o - V_i}{V_o} \times 100$$

Keksinnön mukaisesti valmistettuja yhdisteitä voidaan antaa lämmilveriselle eläimelle, erityisesti ihmiselle, keuhkoemfyseeman, ateroskleroosin, nivelreuman ja luu-niveltulehduksen hoitoon, erityisesti keuhkoemfyseeman hoitoon. Antotapa voi olla suun kautta, parenteraalinen mukaan lukien ihonalainen anto osmoottisen pumpun avulla tai jauhe- tai neste-aerosoli. Yhdisteet voidaan formuloida tavanomaisella tavalla suun kautta annettaviksi tai parenteraalisiksi annosmuodoiksi yhdistämällä noin 10 - 250 mg yhdistettä annosyksikköä kohti tavanomaiseen väliaineeseen, täyteaineeseen, sideaineeseen, säilöntäaineeseen, stabilointiaineeseen, makuaineeseen ja vastaaviin aineisiin ym., kuten tavanomainen farmaseuttinen lääkevalmistus vaatii, esim. kuten US-patenttijulkaisussa 3 755 340 on kuvattu. Parenteraalisessa annossa potilaalle voidaan antaa yhdistettä 3 - 4 kertaa päivässä 1 - 10 ml suonensisäisesti, lihaksensisäisesti tai ihonalaisesti injektiona, joka sisältää noin 0,02 - 10 mg yhdistettä/kehonpainokg. Injektio voi sisältää yhdistettä vesipitoisessa isotonisessa, steriilissä liuoksessa tai suspensiossa, joka mahdollisesti sisältää säilöntäainetta, kuten fenolia, tai liukenevaksi tekevää ainetta, kuten etyleenidiamiinitetraetikkahappoa (EDTA). Jauheaerosolina yhdisteitä voidaan annostella samalla tavalla kuin cromolyn-natriumia Spinhaler®-turboinhalaatiolaitteen avulla (valmistaja Fisons Corp., Bedford, Massachusetts) annoksena noin 0,1 - 50 mg/kapseli, jolloin keskikokoisen aikuisen ihmisen annos on 1 - 8 kapselia/vrk. Jokainen Spinhaler®-laitteessa käytetty kapseli sisältää tarvittavan määrän yhdistettä, jol-

- loin loppuosa 20 mg:n kapselin sisällöstä on farmaseuttisesti hyväksyttävää kantaja-ainetta, kuten laktoosia. Nesteaerosolina yhdisteitä annostetaan noin 100 - 1 000 µg painallusta kohti eli standarditilavuuden ponnekaasua aktiivista vapautumista kohti. Nesteaerosolia voidaan antaa 1 - 8 annosta päivässä, jolloin annosten vaihtelut riippuvat hoidettavan tilan vakavuudesta, potilaan painosta ja aerosolihiukkasten hiukkaskokojakautumasta, sillä pienemmät hiukkaset tunkeutuvat syvemmälle keuhkoihin. Ponneaineita, esim. fluorattuja hiilivetyjä tai isobutaania, aerosolipulloja, -venttiilejä ja -painonappeja ovat Lachman, L. et al. kuvanneet teoksessa "The Theory and Practice of Industrial Pharmacy", Lea and Febiger, Philadelphia (1976).
- Seuraavissa esimerkeissä ja koko selityksessä käytetään seuraavia lyhenteitä ja merkintöjä: atm (atmosfääri), jolloin $1,013 \times 10^5$ Pascalia = 1 atm; kp. (kiehumispiste); °C (celsiusaste); g (gramma); h (tunti); mg (milligramma); min (minuutti); ml (millilitra); mol (mooli); mmol (millimooli); sp. (sulamispiste); N (normaalinen); nm (nanometri); nM (nanomolaarinen); R_f (suhteellinen liikkuvuus TLC:ssä); TLC (ohutlevykromatografia); DCC (disykloheksyylikarbodi-imidi); DMF (dimetyyliformamidi); DMSO (dimetyylisulfoksidi); Et_2O (dietyylieetteri); EtOAc (etyyliasetatti); HOAc (etikkahappo); WSCDI (vesiliukoinen karbodi-imidi:1-etyyli-3-(3-dimetyyliaminopropyyli)karbodi-imidihydrokloridi); Bz (bentsoyyli); HOBT (1-hydroksibentsotriatsoli); MeOH (metyylialkoholi); Pd/C (palladium/hiili-katalyytti); pNA (p-nitroanilidi); DMAP (4-dimetyyliaminopyridiini); NMM (N-metyylimorfoliini); THF (tetrahydrofuraani); CBZ (bentsyylioksidikarbonyyli); t-BOC (tert-butylioksidikarbonyyli); t_R (HPLC-retentioaika minuuteissa); HPLC (korkean suorituskyvyn nestekromatografia); TEA (trietyyliamiini); TFA (trifluoretikkahappo); Ac_2O (etikkahappoanhydridi); DAST (dietyyliaminorikkitrifluoridi); Dipal (di-isobutyylialuminiumhydridi); ja Zorbax® ODS

-analyttinen kolonni, 4,6 x 25 cm). Lisäksi käytetään tavanomaisia alkuaineiden symboleja C, H, N jne. ja tavanomaisia aminohappojen lyhennyksiä, esimerkiksi proliini (Pro), valiini (Val) jne. On ymmärrettävä, että yleiset termit, kuten C₁₋₁₀-alkyyli, käsittävät sekä suoraketjuiset että haarautuneet alkyyli- ja radikaalit, mutta viittaukset yksittäisiin alkyyli- ja radikaaleihin, kuten propyyli, tarkoittavat vain suoraketjuisia ("normaaleja") radikaaleja, jolloin haarautuneisiin isomeereihin, kuten isopropyyli, viitataan spesifisesti. ¹H-NMR-tiedot annetaan delta-arvoina käyttäen sisäisenä standardina tetrametyylisilaania.

Esimerkki 1

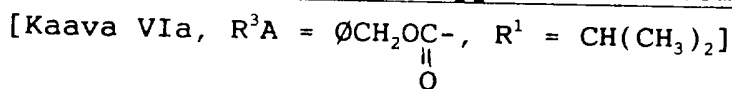
[3,3-difluori-1-(1-metyylietyyli)-2,4-diokso-4-
[(fenyylimetyyli)-amino]butyyli]karbamiinihappo-
fenyylimetyyliesteri

a) N-bentsyylioksikarbonyyli-L-valinoli

[Kaava XIVa, R³ = $\text{OCH}_2\text{OC}-$, R¹ = CH(CH₃)₂]

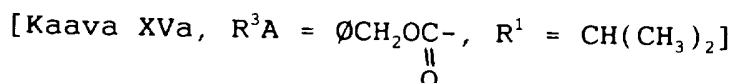
Bentsyyliklooriformiaattia (91,0 g, 0,532 mol, 95 %:n puhtaus) lisättiin pisaroittain 1 tunnissa L-valinolin (50,0 g, 0,484 mol) ja trietyyliamiinin (60,0 g, 0,6 mol) esijäähdytettyyn (0 °C) liuokseen CHCl₃:ssa (1 500 ml). Reaktioseosta sekoitettiin 1 tunti 0 °C:ssa ja sitten sen annettiin lämmitä huoneen lämpötilaan 2 tunnin aikana. Reaktioseos väkevöitiin tyhjössä. Saatuun jäännökseen lisättiin EtOAc:a (1 500 ml) ja orgaaninen liuos pestiin peräkkäin vesipitoisella 1 N NaOH:lla ja suolaliuoksella. Orgaaninen faasi kuivattiin MgSO₄:lla ja sitten suodatettiin ja väkevöitiin tyhjössä. Saatu jäännös puhdistettiin flash-kromatografiolla silikageelikolonniin (6 x 30 cm) käyttäen Et₂O/heksaanin (1:5) asteittaista gradienttia ja sen jälkeen puhdasta Et₂O:a, jolloin saatiin tuote (91,4 g) valkoisena vahamaisena aineena. TLC, R_f = 0,23, silikageeli, heksaani/Et₂O (50:50).

b) N-bentsyylioksikarbonyyli-L-valinaali



DMSO:n (107,2 g, 1,372 mol) liuos CH_2Cl_2 :ssa (150 ml) lisättiin pisaroittain 0,5 tunnissa oksalyylikloridin (87,1 g, 0,686 mol) esijäähdytettyyn (-60°C) sekoitettuun liuokseen CH_2Cl_2 :ssa (800 ml) typpi-atmosfäärissä. Seoksen lämpötila nousi -45°C :seen. Esimerkin la tuotteen (81,5 g, 0,343 mol) liuos CH_2Cl_2 :ssa (300 ml) lisättiin pisaroittain 45 minuutissa -30°C :ssa. Reaktioseosta sekoitettiin 50 minuuttia -25°C :ssa, jäähdytettiin -40°C :seen ja lisättiin pisaroittain 45 minuutissa -40°C :ssa di-isopropyylimiinin (177,4 g, 1,372 mol) liuos CH_2Cl_2 :ssa (250 ml). Reaktioseosta sekoitettiin 1 tunti sen lämmitessä huoneen lämpötilaan. Reaktioseos laimennettiin CH_2Cl_2 :lla (1 500 ml) ja orgaaninen faasi pestiin vesipitoisella 1 N HCl:lla ja sitten väkevöitiin tyhjössä tuotteen (98 g) saamiseksi vihreänä öljynä, jota käytettiin heti enempää puhdistamatta. TLC, $R_f = 0,48$, silikageeli, heksaani/ Et_2O (50:50).

c) N-bentsyylioksikarbonyyli-L-valinaali-dietyyliasetaaali



Trietyyliortoformiaattia (700 g, 4,723 mol), absoluuttista EtOH :a (800 ml) ja p-tolueenisulfonihappomono-hydraattia (5,0 g, 0,343 mol) lisättiin osaan esimerkin lb tuotetta (81 g, 0,343 mol). Seosta sekoitettiin 10 minuuttia huoneen lämpötilassa ja väkevöitiin sitten tyhjössä. Saatu jäännös liuotettiin Et_2O :iin ja pestiin kyllästetyllä vesipitoisella NaHCO_3 :lla. Orgaaninen faasi kuivattiin Na_2SO_4 :lla, suodatettiin ja väkevöitiin tyhjössä raakatuotteen saamiseksi. Tämä tuote puhdistettiin flash-kromatografialla silikageelillä käyttäen heksaanin asteettaista gradienttia CH_2Cl_2 /heksaanin ja $\text{EtOAc}/\text{CH}_2\text{Cl}_2$:n (30:70) seoksissa, jolloin tuote saatiin vaaleankeltaisena öljynä. TLC, $R_f = 0,21$, silikageeli, CH_2Cl_2 /petrolieetteri (50:50).

d) L-valinaalidietyyliasetaaali

[Kaava XVIIIa, $R^1 = \text{CH}(\text{CH}_3)_2$]

Seosta, jossa oli esimerkin 1c tuotetta (147,8 g, 0,478 mol) ja 10 % Pd/C:tä (10 g) EtOAc:ssa (1 500 ml), sekoitettiin vetyatmosfäärissä (1 atm), kunnes 2 500 ml vetyä oli kulunut. Kahdesti tänä aikana reaktio keskeytettiin ja lisättiin 10 % Pd/C:tä (10 g). Sitten reaktioseos suodatettiin piimaakerroksen lävitse. Lisättiin 10 % Pd/C:tä (10 g) ja reaktioseosta sekoitettiin, kunnes 10,92 litraa vetyä oli kulunut. Reaktioseos suodatettiin piimaan lävitse ja suodos väkevöitiin tyhjössä, jolloin saatiin tuote (78,8 g) vaaleankeltaisena öljynä $[\alpha]_D^{25} = +7,8^\circ$.

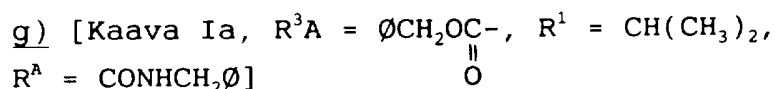
e) [Kaava VIIa, $R^3A = \text{OCH}_2\text{OC}-$, $R^1 = \text{CH}(\text{CH}_3)_2$]

Osa esimerkin 1b mukaisesta yhdisteestä (3,0 g, 12,7 mmol), etyyli-2-bromi-2,2-difluoriasetaattia (2,58 g, 12,7 mmol) ja Zn-pölyä (1,22 g) kuumennettiin palautusjäähdyttämällä THF:ssä (30 ml) 0,5 tuntia. Lisättiin lisää Zn-pölyä (1,22 g) ja etyyli-2-bromi-2,2-difluoriasetaattia (2,58 g, 12,7 mmol) ja saatua liuosta kuumennettiin palautusjäähdyttämällä vielä 1 tunti. Liuos jäähdytettiin huoneen lämpötilaan ja lisättiin etyyliasetaattia (150 ml). Etyyliasetaattiliuos pestiin peräkkäin 1 M KHSO_4 :lla ja suola-liuoksella. Orgaaninen kerros kuivattiin Na_2SO_4 :lla, suodatettiin ja liuotin poistettiin alennetussa paineessa raakatuotteen (2,4 g) saamiseksi. Tuote puhdistettiin flash-kromatografialla silikageelillä eluoimalla etyyliasetaatti/heksaanilla (35:65), jolloin lopputuote (0,9 g) saatiin öljynä. TLC, $R_f = 0,55$, silikageeli, etyyliasetaatti/heksaani (35:65).

f) [Kaava Va, $R^3A = \text{OCH}_2\text{OC}-$, $R^1 = \text{CH}(\text{CH}_3)_2$,
 $R^A = \text{CONHCH}_2\text{O}$]

Osa esimerkin 1e tuotteesta (0,5 g, 0,7 mmol), bentsyyliamiinia (240 ml) ja etanolia (20 ml) kuumennettiin 65°C :ssa 2 tuntia. Saatu liuos jäähdytettiin huoneen lämpötilaan ja liuotin poistettiin alennetussa paineessa

raakatuotteen saamiseksi. Tuote puhdistettiin flash-kromatografialla silikageelillä eluoimalla etyyliasetaatti/kloroformilla (15:85), jolloin saatiin tuote (0,56 g) kirkkaana öljynä. TLC, $R_f = 0,5$, silikageeli, etyyliasetaatti/-kloroformi (15:85).



Esimerkin 1f tuotetta (0,56 g, 1,34 mmol), etikkahappoanhydridiä (10 ml) ja dimetyylisulfoksidia (10 ml) sekoitettiin huoneen lämpötilassa typpiatmosfäärissä 24 tuntia. Lisättiin jäävettä (100 ml) ja liuosta sekoitettiin 3 tuntia. Kiinteä saostuma (0,3 g) otettiin talteen ja pestiin vedellä ja petrolieetterillä. Kiinteän tuotteen sulamispiste oli 78 - 80 °C.

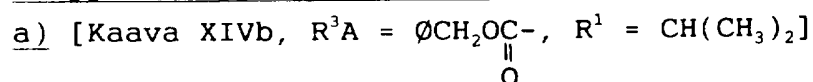
15 Analyysi yhdisteelle $\text{C}_{22}\text{H}_{24}\text{N}_2\text{O}_4\text{F}_2$:

Laskettu: C 63,1 H 5,78 N 6,69

Saatu: C 62,77, 62,98 H 5,67, 5,71 N 6,34, 6,20

Esimerkki 2

20 N-[3,3-difluori-1-(1-metyylietyyli)-2,4-diokso-4-[(fenyylimetyyli)amino]butyyli]-1-(1-okso-6-fenyliheksyyli)-2-pyrrolidiinikarboksiamidi



Isobutyliklooriformiaattia (5,4 g, 0,034 mol) lisättiin N-bentsyylioksidikarbonyyli-L-proliinin (9,8 g, 0,039 mol) ja N-metyylimorfoliinin (4,0 g, 0,039 mol) liuokseen kuivassa THF:ssä (150 ml) -20 °C:ssa typpiatmosfäärissä. Reaktioseosta sekoitettiin 10 minuuttia ja jäähdytettiin sitten -40 °C:seen. Lisättiin pisaroittain L-valinolin (4,06 g, 0,039 mol) liuos kuivassa THF:ssä (75 ml). Reaktioseoksen annettiin lämmetä huoneen lämpötilaan ja sekoitettiin yön yli. Reaktioseos suodatettiin ja liuottimet poistettiin tyhjössä. Jäännös otettiin EtOAc:iin ja pestiin peräkkäin vesipitoisella 1 N HCl:lla, kyllästetyllä vesipitoisella NaHCO_3 :lla ja suolaliuoksella. 35 Orgaaninen faasi kuivattiin Na_2SO_4 :lla, suodatettiin ja vä-

keväitiin tuotteen (12,64 g) saamiseksi valkoisena kiinteänä aineena. TLC, $R_f = 0,2$, silikageeli, MeOH/CHCl₃ (5:95).

b) Kaava VIb, $R^3A = \text{ØCH}_2\text{OC}-$, $R^1 = \text{CH}(\text{CH}_3)_2$

$$\begin{array}{c} \parallel \\ \text{O} \end{array}$$

5

DMSO:n (10,3 g, 0,132 mol) liuos kuivassa CH₂Cl₂:ssa (40 ml) lisättiin pisaroittain oksalyylikloridin (8,4 g, 0,006 mol) sekoitettuun liuokseen kuivassa CH₂Cl₂:ssa (100 ml) jäähdytettynä -60 °C:seen typpi-atmosfäärissä. Reaktioseosta lämmitettiin sitten -25 °C:seen ja lisättiin pisaroittain esimerkin 2a tuotteen (11,0 g, 0,033 mol) liuos kuivassa CH₂Cl₂:ssa (40 ml). Reaktioseosta sekoitettiin 30 minuuttia ja di-isopropyylietyyliamiinin (17,0 g, 0,132 mol) liuos kuivassa CH₂Cl₂:ssa (25 ml) lisättiin pisaroittain siten, että lämpötila pysyi alle -25 °C:n. Reaktioseos laimennettiin CH₂Cl₂:lla (300 ml) ja pestiin vesipitoisella 1 N HCl:lla ja sitten suolaliuoksella. Orgaaninen faasi kuivattiin Na₂SO₄:lla, suodatettiin ja väkevöitiin tyhjöissä, jolloin saatiin raakatuote (10,96 g) keltaisena öljynä, jota käytettiin heti seuraavassa reaktiossa esimerkissä 2c. TLC, $R_f = 0,56$, silikageeli, MeOH/CHCl₃ (5:95).

10

15

20

c) [Kaava XVb, $R^3A = \text{ØCH}_2\text{OC}-$, $R^1 = \text{CH}(\text{CH}_3)_2$]

$$\begin{array}{c} \parallel \\ \text{O} \end{array}$$

Lisättiin p-tolueenisulfonihappoa (0,475 g, 0,0025 mol) esimerkin 2b tuotteen (10,96 g, 0,033 mol) ja trietyyliortoformiaatin (48,8 g, 0,330 mol) liuokseen absoluuttisessa etanolissa (75 ml). Reaktioseosta sekoitettiin 15 minuuttia ja väkevöitiin sitten tyhjöissä. Jäännös otettiin EtOAc:iin ja pestiin peräkkäin kyllästetyllä vesipitoisella NaHCO₃:lla ja suolaliuoksella. Orgaaninen faasi kuivattiin Na₂SO₄:lla, suodatettiin ja väkevöitiin raakatuotteen saamiseksi keltaisena öljynä. Tuote puhdistettiin flash-kromatografialla silikageelillä käyttäen gradienttia alkaen CHCl₃:sta ja päättyen MeOH/CHCl₃:een (2,5:97,5) eluimisaineena, jolloin tuote (13,18 g) saatiin vaaleankel-

25

30

35

taisenä öljynä. TLC, $R_f = 0,54$, silikageeli, MeOH/CHCl₃ (2:98).

d) [Kaava XVIIIb, $R^1 = \text{CH}(\text{CH}_3)_2$]

Liuosta, jossa oli esimerkin 2c menetelmän mukaisesti valmistettua tuotetta (12,0 g, 0,0296 mol), absoluuttista etanolia (125 ml) ja 10 % Pd/C:tä (1,2 g, 0,0296 mol), sekoitettiin vetyatmosfäärissä noin 4 tuntia. Lisättiin lisää Pd/C:tä (1,2 g) ja reaktioseosta sekoitettiin yön yli 1 vetyatmosfäärissä. Lisättiin vielä erä 10 % Pd/C:tä (1,2 g) ja reaktioseosta sekoitettiin 1 vetyatmosfäärissä 5 tuntia. Sen jälkeen lisättiin vielä 10 % Pd/C:tä (1,2 g) ja reaktioseosta sekoitettiin yön yli 1 vetyatmosfäärissä. Reaktioseos suodatettiin piimaan lävitse ja väkevöitiin tyhjössä. Jäännös otettiin absoluuttiseen etanoliin (250 ml); lisättiin lisää 10 % Pd/C:tä (2,0 g) ja reaktioseosta sekoitettiin 1 vetyatmosfäärissä 2,5 tuntia. Reaktioseos suodatettiin ja väkevöitiin tyhjössä, jolloin tuote (7,42 g) saatiin keltaisena lasina. TLC, $R_f = 0,44$, silikageeli, CH₃OH/CHCl₃ (10:90).

e) [Kaava XVb, $R^3A = \text{O}(\text{CH}_2)_5\text{C}-$, $R^1 = \text{CH}(\text{CH}_3)_2$]

Fenyyliheksaanihapon (1,27 g, 1,4 mmol), karbonyyliidi-imidatsolin (CDI) (0,230 g, 1,4 mmol) ja THF:n (20 ml) liuosta sekoitettiin huoneen lämpötilassa typpiatmosfäärissä 1 tunti. Osa esimerkin 2d tuotteesta (0,387 g, 1,42 mmol) lisättiin ja saatua liuosta sekoitettiin huoneen lämpötilassa yön yli. Lisättiin kyllästettyä NaHCO₃:a ja vettä ja liuosta sekoitettiin 1 tunti. Liuotin poistettiin alennetussa paineessa ja lisättiin etyyliasetaattia (50 ml). Orgaaninen kerros otettiin talteen, kuivattiin Na₂SO₄:lla, suodatettiin ja liuotin poistettiin alennetussa paineessa, jolloin saatiin raakatuote vaaleankeltaisena öljynä. Tuote puhdistettiin flash-kromatografiolla silikageelillä eluoiden metanoli/kloroformilla (3:97), jolloin lopputuote saatiin kirkkaana öljynä (0,35 g). TLC, $R_f = 0,45$, silikageeli, etyyliasetaatti/heksaani (66:33).

f) [Kaava XVb, $R^3A = \text{O}(\text{CH}_2)_5\overset{\text{O}}{\underset{\text{O}}{\text{C}}}-$, $R^1 = \text{CH}(\text{CH}_3)_2$]

Esimerkin 2e tuotteen (0,33 g, 0,74 mmol), p-tolueenisulfonihapon (0,14 g, 0,75 mmol) ja asetonin (10 ml) liuosta sekoitettiin huoneen lämpötilassa 3 tuntia. Liuotin poistettiin alennetussa paineessa ja jäännös liuotettiin etyyliasetaattiin. Etyyliasetaattiliuos pestiin 5-%:isella vesipitoisella NaHCO_3 :lla ja suolaliuoksella ja orgaaninen kerros kuivattiin MgSO_4 :lla, suodatettiin ja liuotin poistettiin alennetussa paineessa, jolloin saatiin tuote (0,26 g) kirkkaana öljynä. TLC, $R_f = 0,28$, silikageeli, EtOAc/heksaani (2:1).

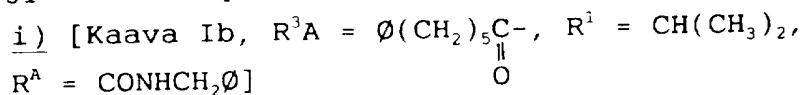
g) [Kaava VIIb, $R^3A = \text{O}(\text{CH}_2)_5\overset{\text{O}}{\underset{\text{O}}{\text{C}}}-$, $R^1 = \text{CH}(\text{CH}_3)_2$]

Esimerkin 2f tuotteen (0,26 g, 0,7 mmol), Zn-pölyn (0,077 g, 0,88 mmol) ja THF:n (10 ml) liuosta sekoitettiin palautuksella 0,5 tuntia. Lisättiin lisää Zn-pölyä (0,077 g, 0,88 mmol) ja etyyli-2-bromi-2,2-difluoriasetaattia (0,18 g, 0,88 mmol) ja liuosta sekoitettiin palautuksella vielä 2 tuntia. Liuos jäähdytettiin huoneen lämpötilaan ja lisättiin etyyliasetaattia (60 ml). Saatu liuos pestiin 1 M KHSO_4 :lla ja suolaliuoksella ja orgaaninen kerros otettiin talteen, kuivattiin Na_2SO_4 :lla, suodatettiin ja liuotin poistettiin alennetussa paineessa, jolloin saatiin tuote (0,350 g) öljynä. TLC, $R_f = 0,6$, silikageeli, etyyliasetaatte/heksaani (2:1).

h) [Kaava Vb, $R^3A = \text{O}(\text{CH}_2)_5\overset{\text{O}}{\underset{\text{O}}{\text{C}}}-$, $R^1 = \text{CH}(\text{CH}_3)_2$, $R^A = \text{CONHCH}_2\text{O}$]

Esimerkin 2g tuotteen (0,35 g, 0,7 mmol), bentsyyliamiinin (0,3 ml, 2,8 mmol) ja etanolin (10 ml) liuosta sekoitettiin 80 °C:ssa typpiatmosfäärissä 4 tuntia ja sitten sekoitettiin huoneen lämpötilassa yli yön. Etanoli poistettiin alennetussa paineessa, jolloin raakatuote saatiin keltaisena öljynä. Tuote puhdistettiin flash-kromatografiolla silikageelillä käyttäen eluenttina $\text{CH}_3\text{OH}/\text{CHCl}_3$:a

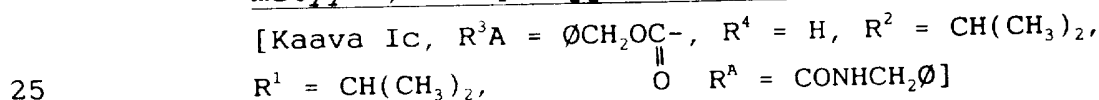
(3:97), jolloin saatiin lopputuote (0,25 g) vaaleankeltaisena öljynä. TLC, $R_f = 0,5$, silikageeli, $\text{CH}_3\text{OH}/\text{CHCl}_3$ (3:97).



5 Liuosta, jossa oli osa esimerkin 2h tuotetta (0,15 g, 0,27 mmol), DMSO:a (2,0 ml) ja etikkahappoanhydridiä (2,0 ml), sekoitettiin yön yli huoneen lämpötilassa. Lisättiin jäävettä (30 ml) ja liuosta sekoitettiin vielä 1 tunti. Lisättiin etyyliasetaattia (50 ml) ja orgaaninen
 10 kerros otettiin talteen, pestiin NaHCO_3 :n kyllästetyllä vesiliuoksella ja suolaliuoksella. Etyyliasetaattiliuos kuivattiin Na_2SO_4 :lla, suodatettiin ja liuotin poistettiin alennetussa paineessa raakatuotteen saamiseksi (0,12 g).
 15 Tuote puhdistettiin flash-kromatografialla silikageelillä, jolloin saatiin lopputuote öljynä (0,05 g). TLC, $R_f = 0,66$, silikageeli, EtOAc/heksaani (2:1). $^1\text{H-NMR}$ ($\text{DMSO}-d_6$): 0,83 (m, 6H), 1,2 - 2,2 (m, 13H), 2,5 (m, 2H), 3,4 (m, 2H), 4,0 - 4,5 (m, 6H), 4,75 (m, 1H), 7,2 (m, 10H), 8,3 - 8,55 (m, 1H) ja 9,7 (m, 1H).

20 Esimerkki 3

N-[(fenyyli)metoksi]karbonyyli-L-valyyli-N-[3,3-difluori-1-(1-metyylietyyli-2,4-diokso-4-[(fenyyli-metyyli)amino]butyyli)-L-proliiniamidi



a) N-bentsyylioksidikarbonyyli-L-valyyli-L-proliini-t-butyyliesteri

N-bentsyylioksidikarbonyyli-L-valiinin (56,25 g, 0,244 mol) ja HOBT:n (60,67 g, 0,45 mol) liuos DMF:ssa
 30 (565 ml) jäähdytettiin 5 °C:seen. Lisättiin yhdellä kertaa DCC:a (50,89 g, 0,247 mol). Seosta sekoitettiin 15 minuuttia 5 °C:ssa ja sitten lisättiin L-proliini-t-butyyliesteriä (38,36 g, 0,224 mol). Seosta sekoitettiin vielä 2 tuntia 5 °C:ssa ja sitten 48 tuntia huoneen lämpötilassa. Seos
 35 suodatettiin ja väkevöitiin tyhjössä. Öljymäinen jäännös liuotettiin EtOAc:iin (1 litra) ja pestiin peräkkäin

20-%:isella vesipitoisella sitruunahapolla, kyllästetyllä vesipitoisella NaHCO_3 :lla ja suolaliuoksella. Orgaaninen faasi kuivattiin Na_2SO_4 :lla, suodatettiin ja väkevöitiin tyhjössä, jolloin saatiin tuote (92 g) valkoisena vaahtona. TLC, $R_f = 0,9$, silikageeli, $\text{CHCl}_3/\text{EtOAc}$ (85:15).

b) N-bentsyylioksikarbonyyli-L-valyyli-L-proliini

[Kaava XVIIc, $R^3A = \text{OCH}_2\text{OC}-$, $R^4 = \text{H}$, $R^2 = \text{CH}(\text{CH}_3)_2$]



Trifluorietikkahappoa (70 ml, 0,90 mol) lisättiin osaan esimerkin 3a tuotetta (16,5 g, 39,2 mmol) CH_2Cl_2 :ssa (100 ml) huoneen lämpötilassa ja saatua seosta sekoitettiin 3 tuntia. Liuos laimennettiin tolueenilla (100 ml) ja väkevöitiin tyhjössä. Jäännös otettiin tolueeniin ja väkevöitiin 5 kertaa, jolloin tuote (12,85 g) saatiin nahanvärisenä kiinteänä aineena. TLC, $R_f = 0,45$, silikageeli, $\text{MeOH}/\text{CH}_2\text{Cl}_2$ (5:95).

c) N-bentsyylioksikarbonyyli-L-valyyli-L-prolyyli-L-valinaalidietyyliasetaaali

[Kaava XVc, $R^3A = \text{OCH}_2\text{OC}-$, $R^4 = \text{H}$, $R^2 = \text{CH}(\text{CH}_3)_2$, $R^1 = \text{CH}(\text{CH}_3)_2$]



HOBT:a (4,21 g, 31,1 mmol) lisättiin liuokseen, jossa oli osa esimerkin 3b tuotetta (5,17 g, 15,55 mmol) ja L-valinaalidietyyliasetaalaa (saatu esimerkin 1d mukaisesti) (2,73 g, 15,55 mmol) kuivassa THF:ssa (75 ml) 0 °C:ssa typpi-atmosfäärissä. Tätä liuosta sekoitettiin 15 minuuttia ja lisättiin 1-(3-dimetyyliaminopropyyli)-3-etyylikarbodi-imidi-hydrokloridia (3,28 g, 17,1 mmol) ja sen jälkeen N-metyylimorfoliinia (2,36 g, 23,3 mmol). Seosta sekoitettiin 1 tunti 0 °C:ssa ja 3 päivää huoneen lämpötilassa. Reaktioseos väkevöitiin tyhjössä ja jäännös jaettiin EtOAc:n ja veden kesken. Orgaaninen kerros eristettiin ja pestiin peräkkäin vesipitoisella 1 N HCl:lla, suolaliuoksella, kyllästetyllä NaHCO_3 :lla ja suolaliuoksella. Kuivattiin sitten MgSO_4 :lla, suodatettiin ja väkevöitiin viskoosiseksi öljyksi. Tuote puhdistettiin flash-

kromatografialla silikageelillä eluoiden $\text{CH}_2\text{Cl}_2/\text{Et}_2\text{O}/\text{MeOH}$:lla (75:25:0,5), jolloin saatiin väritön öljy (4,4 g). TLC, $R_f = 0,55$, silikageeli, $\text{CH}_2\text{Cl}_2/\text{Et}_2\text{O}/\text{MeOH}$ (75:25:0,5).

5 d) L-valyyli-L-prolyyli-L-valinaali-dietyyliasetaa-
li

[Kaava XVIIIc, $R^4 = \text{H}$, $R^2 = \text{CH}(\text{CH}_3)_2$, $R^1 = \text{CH}(\text{CH}_3)_2$]

Osa esimerkin 3c mukaista tuotetta (3,63 g, 7,18 mmol) ja 10 % Pd/C:tä (0,5 g) EtOH:ssa (75 ml) hydrattiin
10 Parr-ravistimessa (3 atm H_2). Kun teoreettinen määrä vetyä oli kulunut, seos suodatettiin piimaan lävitse ja väkevöitiin tyhjössä, jolloin saatiin tuote (2,5 g). TLC, $R_f = 0,3$, silikageeli, $\text{MeOH}/\text{CH}_2\text{Cl}_2$ (1:9).

15 e) N-bentsyylioksikarbonyyli-L-valyyli-L-prolyyli-
L-valinaali

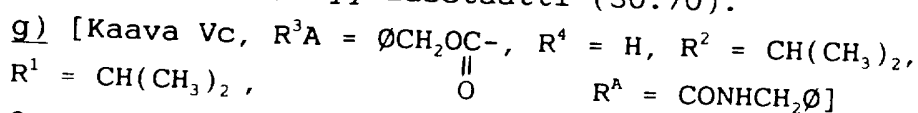
O
||
[Kaava VIc, $R^3A = \text{OCH}_2\text{OC}-$, $R^4 = \text{H}$, $R^2 = \text{CH}(\text{CH}_3)_2$,
 $R^1 = \text{CH}(\text{CH}_3)_2$]

Seosta, jossa oli p-tolueenisulfonihappoa (150 mg)
20 ja osa esimerkin 3c tuotetta (500 mg, 0,988 mmol) asetonissa (70 ml), sekoitettiin huoneen lämpötilassa 3 tuntia. Seos väkevöitiin tyhjössä ja jäännös liuotettiin EtOAc:iin. Tämä liuos pestiin 5-%:isella vesipitoisella NaHCO_3 :lla ja suolaliuoksella, kuivattiin MgSO_4 :lla, suodatettiin ja väkevöitiin, jolloin saatiin lasimainen tuote
25 (410 mg). TLC, $R_f = 0,60$, silikageeli, $\text{CH}_2\text{Cl}_2/\text{MeOH}$ (95:5).

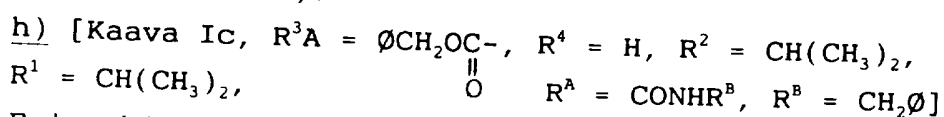
f) [Kaava VIIc, $R^3A = \text{OCH}_2\text{OC}-$, $R^4 = \text{H}$, $R^2 = \text{CH}(\text{CH}_3)_2$,
 $R^1 = \text{CH}(\text{CH}_3)_2$]
O

Esimerkin 3e mukaisella menetelmällä valmistettua
30 tuotetta (0,62 g, 1,5 mmol), Zn-pölyä (0,13 g), etyyli-2-bromi-2,2-difluoriasetaattia (0,336 g, 1,65 mmol) ja THF:a (9,0 ml) kuumennettiin palautuksella 0,5 tuntia. Lisättiin vielä Zn-pölyä (0,13 g) ja etyyli-2-bromi-2,2-difluoriasetaattia (0,33 g, 1,65 mmol) ja annettiin palautua vielä 1
35 tunti. Liuos jäähdytettiin huoneen lämpötilaan ja lisättiin etyyliasetaatia (70 ml). Saatu liuos pestiin 1 M

KHSO₄:lla ja suolaliuoksella ja orgaaninen kerros otettiin talteen, kuivattiin Na₂SO₄:lla, suodatettiin ja liuotin poistettiin alennetussa paineessa raakatuotteen saamiseksi, joka puhdistettiin flash-kromatografialla silikageelillä eluoimalla heksaani/etyyliasetaatilla (30:70), jolloin saatiin lopputuote (0,66 g) öljynä. TLC, R_f = 0,7, silikageeli, heksaani/etyyliasetaatilla (30:70).



Osa esimerkin 3f tuotetta (0,41 g, 0,74 mmol), bentsyyliamiinia (0,16 ml, 1,48 mmol) ja etanolia (5 ml) sekoitettiin 65 °C:ssa 5 tuntia. Saatu liuos jäähdytettiin huoneen lämpötilaan ja liuotin poistettiin alennetussa paineessa raakatuotteen saamiseksi. Tuote puhdistettiin flash-kromatografialla, jolloin saatiin lopputuote (0,3 g) kirkkaana öljynä. TLC, R_f = 0,6, silikageeli, heksaani/etyyliasetaatilla (30:70).



Esimerkin 3g tuotetta (0,30 g, 0,46 mmol), DMSO:a (4,0 ml) ja etikkahappoanhydridiä (4,0 ml) sekoitettiin yhdessä huoneen lämpötilassa typpi-atmosfäärissä 24 tuntia. Lisättiin jäävettä (80 ml) ja saatua liuosta sekoitettiin 3 tuntia. Lisättiin etyyliasetaatia (100 ml) ja orgaaninen kerros otettiin talteen ja pestiin NaHCO₃:n kyllästetyllä vesiliuoksella. Orgaaninen kerros otettiin talteen, kuivattiin Na₂SO₄:lla, suodatettiin ja liuotin poistettiin alennetussa paineessa raakatuotteen (0,26 g) saamiseksi. Tuote puhdistettiin flash-kromatografialla silikageelillä, jolloin saatiin lopputuote (0,2 g) valkoisena vaahtona. TLC, R_f = 0,5, silikageeli, etyyliasetaatilla/heksaani (50:50).

Analyysi yhdisteelle C₃₂O₆N₄ H₄₀F₂ · ½ H₂O:

Laskettu: C 61,62 H 6,62 N 8,98

Saatu: C 61,88, 61,57 H 6,52, 6,46 N 8,64, 8,73

Esimerkki 4

2-[[[3,3-difluori-1-(1-metyylietyyli)-2,4-diokso-
4-[(2-fenyylietyyli)amino]butyyli]amino]karbonyy-
li]-1-pyrrolidiinikarbonyylihappofenyyylimetyyli-
teri

[Kaava Ib, $R^A = \text{CONHR}^B$, $R^B = \text{CH}_2\text{CH}_2\emptyset$, $R^3A = \emptyset\text{CH}_2\text{OC}-$,
 $R^1 = \text{CH}(\text{CH}_3)_2$]

a) [Kaava VIb, $R^1 = \text{CH}(\text{CH}_3)_2$, $R^3 = \emptyset\text{CH}_2\text{OC}-$]

Esimerkin 2c mukaisella menetelmällä saadun tuotteen (24 g, 60 mmol), p-tolueenisulfonihapon (2,4 g) ja asetonin (1 600 ml) liuosta sekoitettiin huoneen lämpötilassa 5 tuntia. Asetoni poistettiin vesi-imutyhjössä, jolloin jäljelle jäi öljymäinen jäännös. Se otettiin kloroformiin ja kloroformiliuos pestiin kyllästetyllä NaHCO_3 :lla ja sitten suolaliuoksella ja kuivattiin MgSO_4 :lla. MgSO_4 suodatettiin pois ja suodos väkevöitiin tyhjössä, jolloin saatiin tuote (17,67 g, 91 %:n saanto) meripihkan värisenä öljynä. TLC, $R_f = 0,46$, silikageeli, $\text{CHCl}_3/\text{MeOH}$ (95:5).

b) [Kaava VIIb, $R^1 = \text{CH}(\text{CH}_3)_2$, $R^3A = \emptyset\text{CH}_2\text{OC}-$]

Seosta, jossa oli osa esimerkin 4a mukaisella menetelmällä saatua tuotetta (2,5 g, 7,75 mmol), etyyli-2-bromi-2,2-difluoriasetaattia (1,57 g, 7,75 mmol), aktivoitua sinkkiä (0,505 g, 7,75 mmol) ja kuivaa THF:a (125 ml), kuumennettiin lieväällä palautuksella typpi-atmosfäärissä 1 tunti. Sitten seoksen annettiin jäähtyä juuri palautusjäähdetyslämpötilan alapuolelle ja lisättiin lisää etyyli-2-bromi-2,2-difluoriasetaattia (1,57 g, 7,75 mmol) ja aktivoitua sinkkiä (0,505 g, 7,75 mmol). Reaktioseosta kuumennettiin uudelleen lieväällä palautuksella ja pidettiin palautuvana 3 tuntia. Seos jäädytettiin ja lisättiin etyyliasetaattia (400 ml). Etyyliasetaattiliuos pestiin 1 M KHSO_4 -liuoksella ja suolaliuoksella ja kuivattiin MgSO_4 :lla. MgSO_4 suodatettiin pois ja suodos väkevöitiin vesi-imutyhjössä raakatuotteen (3,7 g) saamiseksi. Se puh-

distettiin flash-kromatografialla (EtOAc/heksaani, 1:1, silika), jolloin saatiin 1,53 g (45 %:n saanto) haluttua tuotetta vaaleankeltaisena vahamaisena aineena. TLC, R_f = 0,45, silikageeli, petrolieetteri/EtOAc (33:66).

5 c) [Kaava VIIIB, $R^3A = \text{OCH}_2\text{OC}-$, $R^1 = \text{CH}(\text{CH}_3)_2$,
 $R^B = \text{CH}_2\text{CH}_2\text{O}$]

Seosta, jossa oli osa esimerkin 4b tuotetta (0,5 g, 1,09 mmol), 2-fenyyliamiinia (0,26 g, 2,18 mmol) ja abso-
 luuttista etanolia (20 ml), kuumennettiin lievällä palau-
 10 tuksella samalla sekoittaen typpiatmosfäärissä 4 tuntia. Sitten seoksen annettiin jäähtyä huoneen lämpötilaan ja sekoitettiin yön yli huoneen lämpötilassa. Seos väkevöi-
 tiin tyhjössä ja saatu jäännös liuotettiin CH_2Cl_2 :iin. CH_2Cl_2 -liuos pestiin 1 N HCl:lla ja suolaliuoksella, kui-
 15 vattiin MgSO_4 :lla, suodatettiin ja suodos väkevöitiin tyh-
 jössä, jolloin puhdistamisen jälkeen flash-kromatografial-
 la [$\text{CH}_3\text{Cl}/\text{MeOH}$ (98:2)] saatiin tuote (0,35 g, 60 %) valkoi-
 sena kiinteänä aineena. TLC, R_f = 0,2, silikageeli,
 $\text{CHCl}_3/\text{CH}_3\text{OH}$ (95:5).

20 d) [Kaava Ib, $R^A = \text{CONHR}^B$, $R^B = \text{CH}_2\text{CH}_2\text{O}$, $R^3A =$
 $\text{OCH}_2\text{OC}-$, $R^1 = \text{CH}(\text{CH}_3)_2$]

Dess-Martin-perjodinaanin (2,42 g, 5,72 mmol) ja
 kuivan CH_2Cl_2 :n (5 ml) liuos lisättiin esimerkin 4c tuot-
 25 teen (0,3 g, 0,57 mmol) ja kuivan CH_2Cl_2 :n (20 ml) sekoi-
 tettuun liuokseen huoneen lämpötilassa typpiatmosfäärissä. Lisättiin TFA:a (0,65 g, 5,72 mmol) ja saatua seosta se-
 koitettiin huoneen lämpötilassa yön yli. Etyyliasetaatia
 (25 ml) lisättiin reaktioseokseen ja seos uutettiin kyl-
 30 lästetyllä $\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_3$:lla, kyllästetyllä NaHCO_3 :lla ja suola-
 liuoksella. Kuivattiin MgSO_4 :lla, suodatettiin ja suodos
 väkevöitiin tyhjössä, jolloin puhdistamisen jälkeen
 flash-kromatografialla [$\text{MeOH}/\text{CHCl}_3$ (3:97)] saatiin tuote
 (0,1 g, 33 %). TLC, R_f = 0,74, silikageeli, $\text{CHCl}_3/\text{CH}_3\text{OH}$
 35 (95:5).

Analyysi yhdisteelle $C_{28}H_{33}F_2N_3O_6 \cdot 1,5 H_2O$:

Laskettu: C 60,42 H 6,50 N 7,55

Saatu: C 60,46 H 6,00 N 7,54

Esimerkki 5

5 2-[[[3,3-difluori-1-(1-metyylietyyli)-2,4-diokso-
 4-[(fenyylietyyli)amino]butyyli]amino]karbonyy-
 li]-1-pyrrolidiinikarboksylihappofenyylietyyli-
 esteri

[Kaava Ib, $R^A = CONHR^B$, $R^B = CH_2\emptyset$, $R^1 = CH(CH_3)_2$,

10 $R^3A = \emptyset CH_2OC-\overset{\overset{O}{\parallel}}{\quad}$

a) [Kaava VIIb, $R^3A = \emptyset CH_2OC-\overset{\overset{O}{\parallel}}{\quad}$, $R^1 = CH(CH_3)_2$,

$R^B = CH_2\emptyset$

15 Käyttäen esimerkin 4c mukaista menetelmää saatet-
 tiin esimerkin 4b mukaisella menetelmällä valmistettu tuo-
 te reagoimaan bentsyyliamiinin kanssa raakatuotteen saami-
 seksi, joka puhdistettiin flash-kromatografialla silika-
 geelillä eluoiden MeOH/ $CHCl_3$:lla (2:98), jolloin saatiin
 otsikoitu tuote (53 %). TLC, $R_f = 0,66$, silikageeli,
 20 MeOH/ $CHCl_3$ (5:95).

b) [Kaava Ib, $R^A = CONHR^B$, $R^B = CH_2\emptyset$, $R^1 = CH(CH_3)_2$,

$R^3A = \emptyset CH_2OC-\overset{\overset{O}{\parallel}}{\quad}$

25 Käyttäen esimerkin 4d menetelmää hapetettiin esi-
 merkin 5a tuote, jolloin puhdistamisen jälkeen flash-kro-
 matografialla [MeOH/ $CHCl_3$ (2:98)] saatiin otsikoitu tuote.
 TLC, $R_f = 0,68$, silikageeli, MeOH/ $CHCl_3$ (5:95).

Analyysi yhdisteelle $C_{27}H_{31}F_2N_3O_5$:

Laskettu: C 62,90 H 6,06 N 8,15

30 Saatu: C 62,71 H 6,15 N 7,98

Esimerkki 6

35 2-[[[3,3-difluori-1-(metyylietyyli)-2,4-diokso-
 4-[(1-trisyklo-[3.3.1.^{3.7}]dekyyli)metyyli]amino]-
 butyyli]amino]karbonyyli]-1-pyrrolidiinikarboksy-
 lihappofenyylietyyliesteri

[Kaava Ib, $R^A = \text{CONHR}^B$, $R^B = \text{CH}_2\text{-adamantyyli}$, $R^1 = \text{CH}(\text{CH}_3)_2$, $R^3A = \text{ØCH}_2\text{OC}-$]

$$\begin{array}{c} \text{O} \\ \parallel \\ \text{O} \end{array}$$

a) [Kaava XXVIb, $R^3A = \text{ØCH}_2\text{OC}-$, $R^1 = \text{CH}(\text{CH}_3)_2$]

$$\begin{array}{c} \text{O} \\ \parallel \\ \text{O} \end{array}$$

Esimerkin 4b mukaisella menetelmällä valmistetun tuotteen (3,0 g, 6,57 mmol) ja kuivan CH_2Cl_2 :n (10 ml) liuos lisättiin Dess-Martin-perjodinaanin (13,92 g, 32,85 mmol) ja kuivan CH_2Cl_2 :n (140 ml) sekoitettuun seokseen huoneen lämpötilassa typpi-atmosfäärissä. Seosta sekoitettiin huoneen lämpötilassa yön yli. Reaktioseokseen lisättiin etyyliasetaattia (200 ml) ja saatu seos uutettiin kyllästetyllä $\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_3$:lla, kyllästetyllä NaHCO_3 :lla ja suolaliuoksella. Kuivattiin sitten MgSO_4 :lla, suodatettiin ja suodos väkevöitiin tyhjössä, jolloin saatiin tuote (2,96 g, 98 %:n saanto). TLC, $R_f = 0,8$, silikageeli, $\text{CHCl}_3/\text{CH}_3\text{OH}$ (95:5).

b) [Kaava XXVIIIb, $R^3A = \text{ØCH}_2\text{OC}-$, $R^1 = \text{CH}(\text{CH}_3)_2$]

$$\begin{array}{c} \text{O} \\ \parallel \\ \text{O} \end{array}$$

1 N natriumhydroksidiliuos (0,55 g, 0,55 mmol) lisättiin sekoitettuun liuokseen, jossa oli osa esimerkin 6a tuotetta (1,0 g, 2,19 mmol) ja metanolia (3 ml) huoneen lämpötilassa. Saatua liuosta sekoitettiin huoneen lämpötilassa 3 tuntia, sitten käsiteltiin vedellä (20 ml) ja saatu liuos uutettiin EtOAc :lla. Vesikerros tehtiin happamaksi (pH 2) 1 N HCl :lla ja sitten uutettiin etyyliasetaatilla. Etyyliasetaattikerros pestiin suolaliuoksella ja kuivattiin (MgSO_4). MgSO_4 suodatettiin pois ja suodos väkevöitiin tyhjössä öljymäiseksi jäännökseksi, joka kuivattiin suurtyhjössä, jolloin saatiin tuote (0,17 g, 91 %). TLC, $R_f = 0,15$, silikageeli, $\text{CHCl}_3/\text{MeOH}/\text{HOAc}$ (95:5:0,5).

c) [Kaava Ib, $R^A = \text{CONHR}^B$, $R^B = \text{CH}_2\text{-adamantyyli}$, $R^3A = \text{ØCH}_2\text{OC}-$, $R^1 = \text{CH}(\text{CH}_3)_2$]

$$\begin{array}{c} \text{O} \\ \parallel \\ \text{O} \end{array}$$

WSCI:a (0,123 g, 0,645 mmol) lisättiin sekoitettuun liuokseen, jossa oli esimerkin 6b mukaisella menetel-

mällä valmistettua tuotetta (0,25 g, 0,586 mmol), 1-adamantyyli-metyyliamiinia (0,586 mmol), HOBT:a (87 g, 0,645 mmol) ja kuivaa THF:a (10 ml) typpi-atmosfäärissä huoneen lämpötilassa. Seosta sekoitettiin huoneen lämpötilassa yön yli. THF poistettiin tyhjiössä, jäännös liuotettiin etyyli-asetaattiin ja etyyliasetaattiliuos pestiin peräkkäin 1 N HCl:lla, kyllästetyllä NaHCO₃:lla ja suolaliuoksella. Orgaaninen liuos kuivattiin MgSO₄:lla, suodatettiin ja suodosta väkevöitiin tyhjiössä raakatuotteen (0,49 g) saamiseksi.

10 Puhdistamalla flash-kromatografiolla (CHCl₃) saatiin lopputuote (0,21 g, 63 %). TLC, R_f = 0,52, silikageeli, CHCl₃/CH₃OH (99:1).

Analyysi yhdisteelle C₃₁H₄₁F₂H₃O₅ · 0,25 H₂O:

Laskettu: C 64,39 H 7,23 N 7,26

15 Saatu: C 64,20 H 7,22 N 7,20

Esimerkki 7

2-[[[3,3-difluori-1-(1-metyylietyyli)-4-[[4-(1-metyylietyyli)fenyyli]amino]-2,4-dioksobutyyli]-amino]karbonyyli]-1-pyrrolidiinikarboksylihappo-fenyyli-metyyli-esteri

[Kaava Ib, R^A = CONHR^B, R^B = 4-[CH(CH₃)₂]Ø,

R^{3A} = ØCH₂OC-, R¹ = CH(CH₃)₂]



Käyttäen esimerkin 6c mukaista menetelmää saatettiin esimerkin 6b mukaisesti valmistettu tuote reagoimaan 4-isopropyylianiliinin kanssa, jolloin puhdistamisen jälkeen flash-kromatografiolla [MeOH/CHCl₃ (2:98)] saatiin tuote (48 %). TLC, R_f = 0,48, silikageeli, MeOH/CHCl₃ (2:98).

30 Analyysi yhdisteelle C₂₉H₃₅F₂N₃O₅ · 0,25 H₂O:

Laskettu: C 63,54 H 6,53 N 7,66

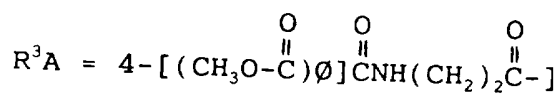
Saatu: C 63,41 H 6,49 N 7,57

Esimerkki 8

N-[4-metoksykarbonyyli]bentsoyyli]-β-alanyyli-N-[3,3-difluori-1-(1-metyylietyyli)-2,4-diokso-4-[(2-fenyylietyyli)amino]butyyli]-L-proliiniamidi

35

[Kaava Ib, $R^A = \text{CONHR}^B$, $R^B = \text{CH}_2\text{CH}_2\emptyset$, $R^1 = \text{CH}(\text{CH}_3)_2$,



a) [Kaava XIb, $R^B = \text{CH}_2\text{CH}_2\emptyset$, $R^C = \text{H}$, $R^1 = \text{CH}(\text{CH}_3)_2$]

5 Seos, jossa oli esimerkin 4c mukaisella menetelmälä valmistettua tuotetta, etanolia (100 ml) ja 10 % Pd/C:tä (0,2 g), pantiin vetyatmosfääriin (1 atm) 2 tunniksi. Reaktioseos suodatettiin piimaan lävitse pesten etanolilla. Suodos väkevöitiin tyhjössä, jolloin saatiin
10 tuote (0,64 g, 96 %). TLC, $R_f = 0,05$, silikageeli, $\text{CHCl}_3/\text{MeOH}$ (95:5).

b) [Kaava VIIb, $R^3A = \emptyset\text{CH}_2\text{OC}-\text{NH}(\text{CH}_2)_2\text{CO}-$,
 $R^B = \text{CH}_2\text{CH}_2\emptyset$, $R^1 = \text{CH}(\text{CH}_3)_2$]

Käyttäen esimerkin 6c menetelmää saatettiin esimerkin 8a tuote reagoimaan N-karbobentseenioksi- β -alaniinin kanssa (CBZ- β -alaniini), jolloin puhdistamisen jälkeen flash-kromatografialla [$\text{MeOH}/\text{CHCl}_3$ (3:97)] saatiin tuote
15 (68,9 %). TLC, $R_f = 0,40$, silikageeli, $\text{CHCl}_3/\text{MeOH}$ (95:5).

c) [Kaava VIIIb, $R^3A = \text{H}_2\text{N}(\text{CH}_2)_2-\overset{\text{O}}{\parallel}\text{C}-$,
 $R^B = \text{CH}_2\text{CH}_2\emptyset$, $R^1 = \text{CH}(\text{CH}_3)_2$]

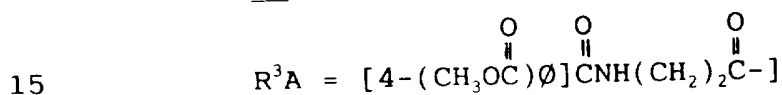
20 Seosta, jossa oli esimerkin 8b tuotetta, etanolia (25 ml) ja 10 % Pd/C:tä (0,1 g), sekoitettiin huoneen lämpötilassa vetyatmosfäärissä noin $1,013 \times 10^5$ Pascalia (15 naulaa/neliötuumaa) yön yli. Seos suodatettiin piimaan lävitse ja piimaa pestiin etanolilla. Yhdistetyt suodokset väkevöitiin tyhjössä, jolloin saatiin tuote (0,32 g,
25 82 %). $m/e = 469$; $^1\text{H-NMR}$ ($\text{DMSO}-d_6$): 0,84 (m, 6H), 1,98 - 2,5 (m, 9H), 2,74 (m, 4H), 3,3 (m, 4H), 3,3 (m, 4H), 4,2 (m, 2H), 6,0 (m, 1H), 7,23 (m, 5H), 7,5 (m, 1H) ja 8,74 (m, 1H).
30

d) [Kaava VIIb, $R^3A = [4-(\text{CH}_3\text{OC})\emptyset]\text{CNH}(\text{CH}_2)_2\overset{\text{O}}{\parallel}\text{C}-$,
 $R^B = \text{CH}_2\text{CH}_2\emptyset$, $R^1 = \text{CH}(\text{CH}_3)_2$]

35 WSCDI:a (0,114 g, 0,59 mmol) lisättiin sekoitettuun liuokseen, jossa oli 1,4-bentseenidikarboksyylihappo-monometyyliesteriä (valmistettu esimerkin 11a mukaisesti)

(97,4 mg, 0,54 mmol), esimerkin 8c tuotetta (0,254 g, 0,54 mmol), HOBT:a (0,146 g, 1,08 mmol) ja kuivaa THF:a (20 ml) 0 °C:ssa typpi-atmosfäärissä. Reaktioseosta sekoitettiin 0 °C:ssa 1 tunti; sitten sen annettiin tulla huoneen lämpötilaan ja sekoitettiin huoneen lämpötilassa yön yli. THF poistettiin tyhjössä. Jäännös liuotettiin etyyliasetaat-
 5 tiin. Liuos pestiin peräkkäin 1 N HCl:lla, kyllästetyllä NaHCO₃:lla ja suolaliuoksella ja kuivattiin sitten MgSO₄:lla. Suodatettiin ja suodos väkevöitiin tyhjössä,
 10 jolloin puhdistamisen jälkeen flash-kromatografialla [CHCl₃/MeOH (97:3)] saatiin tuote (0,219 g, 64 %). TLC, R_f = 0,42, silikageeli, CHCl₃/CH₃OH (95:5).

e) [Kaava Ib, R^A = CONHR^B, R^B = CH₂CH₂Ø,



Käyttäen esimerkin 6a menetelmää, mutta käyttäen 10 ekvivalenttia Dess-Martin-perjodinaania, hapetettiin esi-
 merkin 8d tuote, jolloin puhdistamisen jälkeen flash-kro-
 matografialla [CHCl₃/MeOH (97:3)] saatiin tuote (77 %).
 20 TLC, R_f = 0,46, silikageeli, CHCl₃/MeOH (95:5).

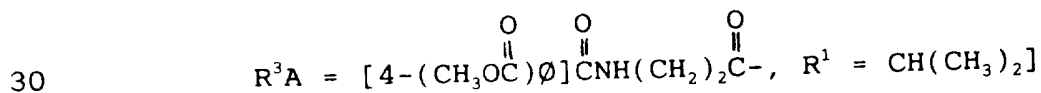
Analyysi yhdisteelle C₃₂H₃₈F₂N₄O₇ · 2 H₂O:

Laskettu: C 57,82 H 6,30 N 8,42

Saatu: C 57,90 H 5,86 N 8,36

Esimerkki 9

25 N-(4-karboksibentsoyyli)-β-alanyyli-N-[3,3-di-
 fluori-1-(1-metyylietyyli)-2,4-diokso-4-[(2-fe-
 nyylietyyli)amino]butyyli]-L-proliiniamidi
 [Kaava Ib, R^A = CONHR^B, R^B = CH₂CH₂Ø,



Liuosta, jossa oli esimerkin 8e tuotetta (0,105 g, 0,167 mmol), CH₃OH:a (1,0 ml), vettä (1,0 ml) ja 1 N NaOH:a (0,33 ml), sekoitettiin huoneen lämpötilassa 3 tuntia. Li-
 35 sätettiin vettä (3,0 ml) ja seos uutettiin EtOAc:lla. Vesi-
 pitoinen kerros saatettiin pH-arvoon 2,0 1 N HCl:lla ja
 uutettiin EtOAc:lla. EtOAc-kerros kuivattiin (MgSO₄), suo-

datettiin ja väkevöitiin tyhjössä, jolloin saatiin tuote (0,080 g, 78,8 %). TLC, $R_f = 0,33$, silikageeli, MeOH/ CHCl_3 -/HOAc (95:5:0,5).

Analyysi yhdisteelle $\text{C}_{30}\text{H}_{34}\text{N}_4\text{O}_7\text{F}_2 \cdot 0,75 \text{ H}_2\text{O}$:

5 Laskettu: C 59,27 H 6,02 N 8,91

Saatu: C 59,18 H 5,96 N 8,63

Esimerkki 10

10 N-[(fenyylimetoksi)karbonyyli]-L-valyyli-N-[3,3-difluori-1-(1-metyylietyyli)-2,4-diokso-4-[(fenyylimetyyli)amino]butyyli]-L-proliiniamidi

[Kaava Ic, $R^A = \text{CONHR}^B$, $R^B = \text{CH}_2\emptyset$, $R^3A = \emptyset\text{CH}_2\overset{\text{O}}{\parallel}\text{C}-$, $R^4 = \text{H}$, $R^2 = \text{CH}(\text{CH}_3)_2$, $R^1 = \text{CH}(\text{CH}_3)_2$]

15 a) N-bentsyylioksikarbonyyli-L-valyyli-L-proliini-t-butyyliesteri

20 N-bentsyylioksikarbonyyli-L-valiinin (56,25 g, 0,244 mol) ja HOBT:n (60,67 g, 0,45 mol) liuos DMF:ssa (565 ml) jäähdytettiin 5 °C:seen. Lisättiin yhtenä eränä DCC:a (50,89 g, 0,247 mol). Seosta sekoitettiin vielä 15 minuuttia 5 °C:ssa ja sitten lisättiin L-proliini-t-butyyliesteriä (38,36 g, 0,224 mol). Seosta sekoitettiin edelleen 2 tuntia 5 °C:ssa ja sitten 48 tuntia huoneen lämpötilassa. Seos suodatettiin ja väkevöitiin tyhjössä. Öljymäinen jäännös liuotettiin EtOAc:iin (1 litra) ja liuos pestiin peräkkäin 20-%:isella vesipitoisella sitruunahapolla, kyllästetyllä vesipitoisella NaHCO_3 :lla ja suolaliuoksella. Orgaaninen faasi kuivattiin Na_2SO_4 :lla, suodatettiin ja väkevöitiin tyhjössä, jolloin saatiin tuote (92 g) valkoisena vahtona. TLC, $R_f = 0,9$, silikageeli, CHCl_3 /EtOAc (85:15).

30 b) N-bentsyylioksikarbonyyli-L-valyyli-L-proliini
[Kaava XVIIc, $R^3A = \emptyset\text{-CH}_2\text{-O-}\overset{\text{O}}{\parallel}\text{C-}$, $R^4 = \text{H}$, $R^2 = \text{CH}(\text{CH}_3)_2$]

35 Trifluorietikkahappoa (70 ml, 0,90 mol) lisättiin liuokseen, jossa oli osa esimerkin 10a tuotetta (16,5 g, 39,2 mmol) CH_2Cl_2 :ssa (100 ml), huoneen lämpötilassa ja

saatua seosta sekoitettiin 3 tuntia. Liuos laimennettiin tolueenilla (100 ml) ja väkevöitiin tyhjössä. Jäännös otettiin tolueeniin ja väkevöitiin uudelleen viisi kertaa, jolloin saatiin tuote (12,85 g) nahanvärisenä kiinteänä aineena. TLC, $R_f = 0,45$, silikageeli, MeOH/CH₂Cl₂ (5:95).

c) L-valinaali-dietyyliasetaaali

[Kaava XVIIIa, $R^1 = \text{CH}(\text{CH}_3)_2$]

Seosta, jossa oli esimerkin 1c tuotetta (147,8 g, 0,478 mol) ja 10 % Pd/C:tä (10 g) EtOAc:ssa (1 500 ml), sekoitettiin vetyatmosfäärissä (1 atm), kunnes 2 500 ml H₂:ä oli kulunut. Kahdesti tänä aikana reaktio keskeytettiin ja lisättiin 10 % Pd/C:tä (10 g). Sitten reaktioseos suodatettiin piimaakerroksen lävitse. Lisättiin 10 % Pd/C:tä (10 g) ja reaktioseosta sekoitettiin, kunnes 10,92 litraa H₂:ä oli kulunut. Reaktioseos suodatettiin piimaan lävitse ja suodos väkevöitiin tyhjössä, jolloin saatiin tuote (78,8 g) vaaleankeltaisena öljynä. $[\alpha]_D^{25} = +7,8^\circ$.

d) N-bentsyylioksikarbonyyli-L-valyyli-L-prolyyli-L-valinaali-dietyyliasetaaali

[Kaava XVC, $R^3A = \text{OCH}_2\text{O}-\overset{\overset{\text{O}}{\parallel}}{\text{C}}-$, $R^4 = \text{H}$, $R^2 = \text{CH}(\text{CH}_3)_2$, $R^1 = \text{CH}(\text{CH}_3)_2$]

HOBT:a (4,21 g, 31,1 mmol) lisättiin liuokseen, jossa oli esimerkin 10b tuotetta (5,17 g, 15,55 mmol) ja esimerkin 10c tuotetta (2,73 g, 15,55 mmol) kuivassa THF:ssa (75 ml) 0 °C:ssa typpiatmosfäärissä. Tätä liuosta sekoitettiin 15 minuuttia ja lisättiin 1-(3-dimetyyliaminopropyyli)-3-etyylikarbodi-imidihydrokloridia (3,28 g, 17,1 mmol) ja sen jälkeen N-metyylimorfoliinia (2,36 g, 23,3 mmol). Seosta sekoitettiin 1 tunti 0 °C:ssa ja 3 päivää huoneen lämpötilassa. Reaktioseos väkevöitiin tyhjössä ja jäännös jaettiin EtOAc:n ja veden kesken. Orgaaninen kerros eristettiin ja sen jälkeen pestiin peräkkäin vesipitoisella 1 N HCl:lla, suolaliuoksella, kyllästetyllä vesipitoisella NaHCO₃:lla ja suolaliuoksella. Kuivattiin sitten MgSO₄:lla, suodatettiin ja väkevöitiin viskoosiseksi öljyksi. Tuote puhdistettiin flash-kromatografialla sili-

kageelillä eluoimalla $\text{CH}_2\text{Cl}_2/\text{Et}_2\text{O}/\text{MeOH}$:lla (75:25:0,5), jolloin saatiin väritön öljy (4,4 g). TLC, $R_f = 0,55$, silikageeli, $\text{CH}_2\text{Cl}_2/\text{Et}_2\text{O}/\text{MeOH}$ (75:25:1).

e) L-valyyli-L-prolyyli-L-valinaalidietyyliasetaaali

[Kaava VIIIC, $R^4 = \text{H}$, $R^2 = \text{CH}(\text{CH}_3)_2$, $R^1 = \text{CH}(\text{CH}_3)_2$]

Seos, jossa oli esimerkin 10d tuotetta (43,63 g, 7,18 mmol), 10 % PdC:tä (0,5 g) ja EtOH:a (75 ml), hydrattiin käyttäen Parr-ravistinta (3 atm H_2). Kun teoreettinen määrä H_2 :ä oli kulunut, seos poistettiin Parr-ravistimesta, suodatettiin piimaan lävitse ja väkevöitiin tyhjässä, jolloin saatiin tuote (2,5 g). TLC, $R_f = 0,3$, silikageeli, $\text{MeOH}/\text{CH}_2\text{Cl}_2$ (1:9).

f) N-bentsyylioksidikarbonyyli-L-valyyli-L-prolyyli-L-valinaali

Seosta, jossa oli p-tolueenisulfonihappoa (150 mg) ja osa esimerkin 10d tuotetta (500 mg, 0,988 mmol) asetonissa (70 ml), sekoitettiin huoneen lämpötilassa 3 tuntia. Seos väkevöitiin tyhjässä ja jäännös liuotettiin EtOAc:iin. EtOAc-liuos pestiin 5-%:isella vesipitoisella NaHCO_3 :lla ja suolaliuoksella, kuivattiin MgSO_4 :lla, suodatettiin ja väkevöitiin, jolloin tuote saatiin lasimaisena aineena (0,410 g). TLC, $R_f = 0,60$, silikageeli, $\text{CH}_2\text{Cl}_2/\text{MeOH}$ (95:5).

g) [Kaava VIIIC, $R^3\text{A} = \text{OCH}_2\text{O}-\text{C}-$, $R^4 = \text{H}$, $R^2 = \text{CH}(\text{CH}_3)_2$, $R^1 = \text{CH}(\text{CH}_3)_2$]

Esimerkin 10f tuotetta (0,62 g, 1,5 mmol), Zn-pölyä (0,13 g), etyyli-2-bromi-2,2-difluoriasetaattia (0,336 g, 1,65 mmol) ja THF:a (9,0 ml) kuumennettiin palautusjäähdyttämällä 30 minuuttia typpi-atmosfäärissä. Lisättiin lisää Zn-pölyä (0,13 g) ja etyyli-2-bromi-2,2-difluoriasetaattia (0,33 g, 1,65 mmol) ja seoksen annettiin palautua vielä 1 tunti. Liuos jäähdytettiin huoneen lämpötilaan ja lisättiin etyyliasetaaattia (70 ml). Saatu seos pestiin 1 M KHSO_4 :lla ja suolaliuoksella ja orgaaninen kerros otettiin talteen. Kuivattiin Na_2SO_4 :lla, suodatettiin ja liuotin poistettiin alennetussa paineessa, jolloin saatiin raaka-

tuote. Tuote puhdistettiin flash-kromatografiolla silikageelillä eluoiden heksaani/etyyliasetaatilla (30:70), jolloin saatiin lopputuote (0,66 g) öljynä. TLC, $R_f = 0,7$, silikageeli, heksaani/etyyliasetatti (30:70).

- 5 h) [Kaava Vc, $R^3A = \text{OCH}_2\text{O}-\overset{\overset{\text{O}}{\parallel}}{\text{C}}-$, $R^4 = \text{H}$, $R^2 = \text{CH}(\text{CH}_3)_2$,
 $R^1 = \text{CH}(\text{CH}_3)_2$, $R^A = \text{CONHCH}_2\text{O}$]

Osa esimerkin 10g tuotetta (0,41 g, 0,74 mmol), bentsyyliamiinia (0,16 ml, 1,48 mmol) ja etanolia (5 ml) sekoitettiin 65 °C:ssa 5 tuntia. Saatu liuos jäähdytettiin huoneen lämpötilaan ja liuotin poistettiin alennetussa paineessa raakatuotteen saamiseksi. Tuote puhdistettiin flash-kromatografiolla silikageelillä, jolloin saatiin lopputuote (0,3 g). TLC, $R_f = 0,6$, silikageeli, heksaani/-etyyliasetatti (30:70).

- 15 i) [Kaava Ic, $R^3A = \text{OCH}_2\text{O}-\overset{\overset{\text{O}}{\parallel}}{\text{C}}-$, $R^4 = \text{H}$, $R^2 = \text{CH}(\text{CH}_3)_2$,
 $R^1 = \text{CH}(\text{CH}_3)_2$, $R^A = \text{CONHCH}_2\text{O}$]

Esimerkin 10h tuotetta (0,30 g, 0,46 mmol), DMSO:a (4,0 ml) ja etikkahappoanhydridiä (4,0 ml) sekoitettiin huoneen lämpötilassa typpi-atmosfäärissä 24 tuntia. Lisättiin jäävettä (80 ml) ja saatua liuosta sekoitettiin 3 tuntia. Lisättiin etyyliasetattia (100 ml) ja orgaaninen kerros otettiin talteen ja pestiin NaHCO_3 :n kyllästetyllä vesiliuoksella. Orgaaninen kerros otettiin talteen, kuivatettiin Na_2SO_4 :lla, suodatettiin ja liuotin poistettiin alennetussa paineessa raakatuotteen (0,26 g) saamiseksi. Tuote puhdistettiin flash-kromatografiolla silikageelillä, jolloin saatiin lopputuote (0,2 g) valkoisena vaahtona. TLC, $R_f = 0,5$, silikageeli, etyyliasetatti/heksaani (50:50).

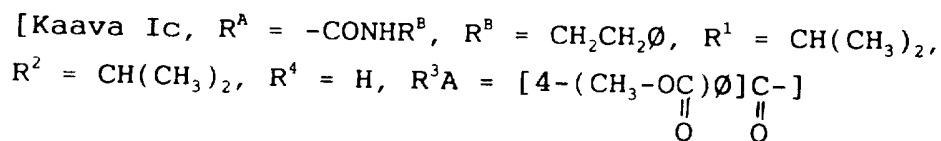
- 30 Analyysi yhdisteelle $\text{C}_{32}\text{O}_6\text{N}_4\text{H}_{40}\text{F}_2 \cdot \frac{1}{2} \text{H}_2\text{O}$:

Laskettu: C 61,62 H 6,62 N 8,98

Saatu: C 61,72 H 6,49 N 8,68

Esimerkki 11

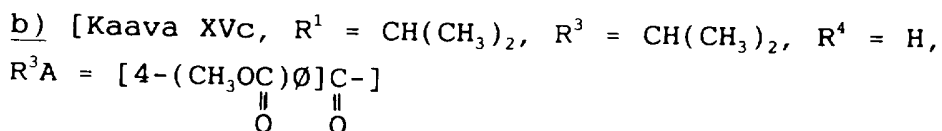
- 35 N-[4-(metoksikarbonyyli)bentsyyli]-L-valyyli-N-[3,3-difluori-1-(1-metyylietyyli)-2,4-diokso-4-[(2-fenyylietyyli)amino]butyyli]-L-proliiniamidi



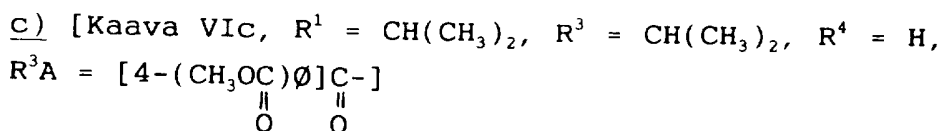
a) 4-metoksikarbonyylibentseenikarboksyylihappo-
tai

1,4-bentseenidikarboksyylihappomonometyyliesteri

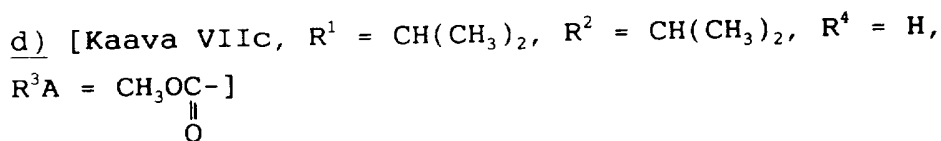
Väkevöityä rikkihappoa (277,5 ml, 5,2 mol) lisät-
 tiin pisaroittain $\frac{1}{2}$ tunnin aikana kromi(VI)oksidin (299,25
 g, 2,99 mol) ja veden (925 ml) sekoitettuun liuokseen
 0 °C:ssa. Saatu liuos lisättiin pisaroittain 1 tunnin aika-
 na metyyli-4-(hydroksimetyyli)bentsoaatin (92,5 g, 0,564
 mol) ja asetonin (4,6 l) sekoitettuun liuokseen 0 °C:ssa.
 Reaktioseoksen annettiin lämmetä huoneen lämpötilaan ja
 sekoitettiin yön yli. Päällä oleva neste dekantoitiin pois
 ennen kuin musta tervamainen jäännös uutettiin asetonilla.
 Päällä ollut dekantoitu neste ja asetoniuutteet yhdistet-
 tiin ja väkevöitiin tyhjässä tummanruskeaksi jäännökseksi,
 joka trituroitiin kylmän veden (4 l) kanssa. Muodostunut
 sakka otettiin talteen, pestiin kolmesti vedellä (1 l) ja
 kuivattiin, jolloin saatiin 94,6 g (94 %) otsikoitua yh-
 distettä valkoisina kiteinä; sp. 218 - 221 °C.



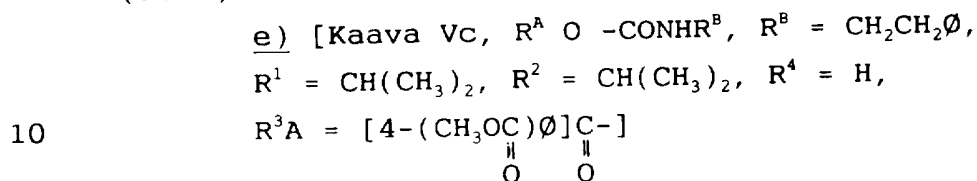
Käyttäen esimerkin 6c menetelmää saatettiin esimer-
 kin 11a mukaisesti valmistettu tuote reagoimaan esimerkin
 3d mukaisesti valmistetun tuotteen kanssa, jolloin saatiin
 lopputuote (83 %). TLC, $R_f = 0,45$, silikageeli, $CHCl_3/MeOH$
 (95:5).



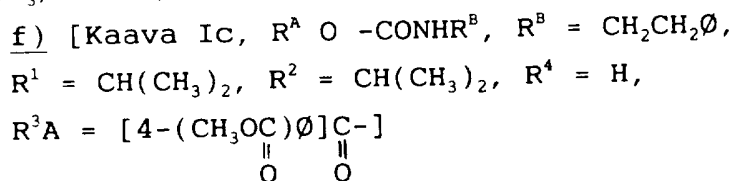
Käyttäen esimerkin 4a menetelmää esimerkin 11b me-
 netelmän mukaisesti valmistettu tuote muutettiin loppu-
 tuotteeksi (94 %). TLC, $R_f = 0,29$, silikageeli, $CHCl_3/MeOH$
 (95:5).



5 Käyttäen esimerkin 4b menetelmää esimerkin 11c me-
 netelmän mukaisesti valmistettu tuote muutettiin loppu-
 tuotteeksi (23 %). TLC, $R_f = 0,58$, silikageeli, $\text{CHCl}_3/\text{MeOH}$
 (95:5).



Käyttäen esimerkin 4c menetelmää saatettiin esimer-
 kin 11d tuote reagoimaan 2-fenetyyliamiinin kanssa, jol-
 loin saatiin lopputuote (64 %). TLC, $R_f = 0,52$, silikagee-
 15 li, $\text{CHCl}_3/\text{MeOH}$ (95:5).



20 Käyttäen esimerkin 4d menetelmää esimerkin 11e me-
 netelmän mukaisesti valmistettu tuote muutettiin loppu-
 tuotteeksi (66 %). TLC, $R_f = 0,6$, silikageeli, $\text{CHCl}_3/\text{MeOH}$
 (95:5).

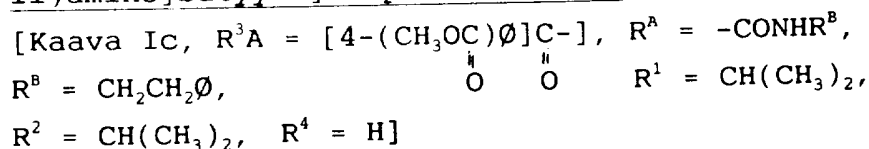
Analyysi yhdisteelle $\text{C}_{34}\text{H}_{42}\text{F}_2\text{N}_4\text{O} \cdot \frac{1}{2} \text{H}_2\text{O}$:

25 Laskettu: C 61,34 H 6,51 N 8,41

Saatu: C 61,48 H 6,39 N 8,06

Esimerkki 12

N-(4-karboksibentsoyyli)-L-valyyli-N-[3,3-difluori-
1-(1-metyylietyyli)-2,4-diokso-4-[(2-fenyylietyy-
 30 li)amino]butyyli]-L-proliiniamidi



35 Vettä (1,5 ml) lisättiin esimerkin 11f mukaisella
 menetelmällä valmistetun tuotteen (0,2 g, 0,3 mmol) ja
 CH_3OH :n (2,0 ml) sekoitettuun liuokseen huoneen lämpötilas-

sa. Lisättiin 1 N NaOH:n (0,68 ml, 0,68 mmol) liuos ja saatua liuosta sekoitettiin 5 tuntia huoneen lämpötilassa. Lisättiin vettä (25 ml) ja vesipitoinen liuos uutettiin EtOAc:lla. Vesipitoinen kerros tehtiin happamaksi 1 N HCl:lla pH-arvoon 2 ja liuos uutettiin kahdesti EtOAc:lla. EtOAc-uutteet yhdistettiin ja pestiin 1 N HCl:lla ja suolaliuoksella, kuivattiin MgSO_4 :lla, suodatettiin ja väkevöitiin tyhjössä, jolloin saatiin tuote (0,141 g, 73 %). TLC, $R_f = 0,52$, silikageeli, $\text{CHCl}_3/\text{MeOH}/\text{HOAc}$ (95:5,0:0,5).

Analyyysi yhdisteelle $\text{C}_{33}\text{H}_{40}\text{F}_2\text{N}_4\text{O}_7 \cdot \text{H}_2\text{O}$:

Laskettu: C 59,99 H 6,40 N 8,48

Saatu: C 60,09 H 6,29 N 8,13

Esimerkki 13

2-[[[3,3-difluori-5-metyyli-1-(1-metyylietyyli)-2-oksoheksyyli]amino]karbonyyli]-1-pyrrolidiini-karboksylihappofenyylimetyyliesteri

[Kaava Ib, $\text{R}^A = \text{CH}_2\text{CH}(\text{CH}_3)_2$, $\text{R}^1 = \text{CH}(\text{CH}_3)_2$,

$\text{R}^3\text{A} = \text{OCH}_2\text{OC}-$]
 $\begin{array}{c} \parallel \\ \text{O} \end{array}$

a) [Kaava XXV, $\text{R}^A = \text{CH}_2\text{CH}(\text{CH}_3)_2$, $\text{R}^X = \text{CH}_3$]

4-metyyli-2-oksopentaanihapon natriumsuolan (24,81 g, 0,163 mol) sekoitettuun liuokseen DMF/ H_2O :ssa (3:1, 160 ml) lisättiin metyylijodidia (34,72 g, 0,245 mol). Reaktioseosta sekoitettiin 72 tuntia ja lisättiin vettä (800 ml). Vesipitoinen liuos uutettiin Et_2O :lla. Yhdistetyt uutteet pestiin vedellä ja suolaliuoksella, kuivattiin (Na_2SO_4), suodatettiin ja väkevöitiin tyhjössä raakatuotteen saamiseksi. Tuote puhdistettiin tyhjötislauksella (vesi-imu), jolloin saatiin vaaleankeltainen neste (19,95 g); kp. 58 - 59 °C. $^1\text{H-NMR}$ (CDCl_3): 0,98 [d, ($J = 6,5$), 6H], 2,19 (m, 1H), 2,71 [d, ($J = 6,4$), 2H] ja 3,85 (s, 3H).

b) [Kaava XXIV, $\text{R}^A = \text{CH}_2\text{CH}(\text{CH}_3)_2$, $\text{R}^X = \text{CH}_3$]

Dietyyliaminorikkitrifluoridia (33,79 g, 0,210 mol) lisättiin esimerkin 13a tuotteen (19,95 g, 0,139 mol) jäähdytettyyn (0 °C) liuokseen CH_2Cl_2 :ssa (125 ml). Reaktioseoksen annettiin lämmetä huoneen lämpötilaan ja sekoitet-

tiin 72 tuntia. Reaktioseos kaadettiin varovaisesti jääve-
teen (1 l), neutraloitiin kiinteällä NaHCO_3 :lla ja uutet-
tiin CH_2Cl_2 :lla. Yhdistetyt uutteen pestiin vedellä ja suo-
laliuoksella, kuivatettiin (MgSO_4), suodatettiin ja väkevöi-
tiin tyhjössä raakatuotteen saamiseksi. Tuote puhdistet-
tiin tyhjötislauksella (vesi-imu), jolloin saatiin loppu-
tuote (16,93 g) kirkkaana nesteenä; kp. 39 - 40 °C. $^1\text{H-NMR}$
(CDCl_3): 0,99 [d, (J = 6,3), 6H], 1,97 (m, 3H) ja 3,87 (s,
3H).

10 c) [Kaava XX, $\text{R}^A = \text{CH}_2\text{CH}(\text{CH}_3)_2$]

Di-isobutyrylialuminiumhydridiä (1 M liuos heksaa-
nissa, 7,2 ml, 7,2 mmol) lisättiin hitaasti sekoitettuun,
jäähdytettyyn (-78 °C) liuokseen, jossa oli osa esimerkin
13b tuotetta (1,0 g, 6,0 mmol) kuivassa Et_2O :ssa (25 ml)
15 kuivassa typpiatmosfäärissä. Reaktioseosta sekoitettiin 2
tuntia -78 °C:ssa ja lisättiin 1 M vesipitoista H_2SO_4 :a (35
ml). Saatua seosta sekoitettiin 10 minuuttia, kerrokset
erotettiin ja vesipitoinen kerros uutettiin Et_2O :lla. Yh-
distetyt uutteen pestiin kyllästetyllä vesipitoisella
20 NaHCO_3 :lla ja suolaliuoksella, kuivatettiin (Na_2SO_4), suoda-
tettiin ja väkevöitiin tyhjössä raakatuotteen saamiseksi
kirkkaana öljynä (1,03 g), jota käytettiin puhdistamatta
edelleen. $^1\text{H-NMR}$ (CDCl_3): 1,0 [d, J = 6,4), 6H], 1,85 (m,
3H), 2,72 [d, (J = 10,45), 1H], 3,51 (s, 3H) ja 4,50 (m,
25 1H).

d) [Kaava XXI, $\text{R}^1 = \text{CH}(\text{CH}_3)_2$, $\text{R}^A = \text{CH}_2\text{CH}(\text{CH}_3)_2$]

Kaliumkarbonaattia (1,5 g, 0,011 mol) lisättiin
sekoitettuun seokseen, jossa oli nitroisobutaania (0,87 g,
0,0085 mol) ja esimerkin 13c tuotetta (1,85 g, 0,011 mol),
30 ja reaktioseosta sekoitettiin yön yli. Lisättiin vettä (10
ml) ja seos tehtiin happamaksi 1 N vesipitoisella HCl :lla.
Seos uutettiin Et_2O :lla ja yhdistetyt uutteen pestiin ve-
dellä ja suolaliuoksella, kuivatettiin (Na_2SO_4), suodatettiin
ja väkevöitiin raakatuotteen saamiseksi, joka puhdistet-
35 tiin flash-kromatografialla silikageelillä käyttäen

CH_2Cl_2 :a eluenttina, jolloin saatiin tuote (1,2 g). TLC, $R_f = 0,6$, silikageeli, CH_2Cl_2 .

e) [Kaava XXII, $R^1 = \text{CH}(\text{CH}_3)_2$, $R^A = \text{CH}_2\text{CH}(\text{CH}_3)_2$]

Esimerkin 13d tuotteen (0,72 g, 3,44 mmol) liuos
5 kuivassa Et_2O :ssa (5 ml) lisättiin pisaroittain sekoitet-
tuun suspensioon, jossa oli LiAlH_4 :a (0,39 g, 10,3 mmol)
kuivassa Et_2O :ssa (10 ml) kuivassa typpiatmosfäärissä.
Reaktioseosta sekoitettiin 1 tunti huoneen lämpötilassa ja
lisättiin varovasti vettä (1 ml) ja sen jälkeen 20-%:ista
10 vesipitoista natriumkaliumtartraattia (20 ml). Seos uutet-
tiin Et_2O :lla. Yhdistetyt uutteen pestiin suolaliuoksella,
kuivattiin (Na_2SO_4), suodatettiin ja väkevöitiin tuotteen
(0,49 g) saamiseksi, jota käytettiin puhdistamatta edel-
leen. TLC, $R_f = 0,42$, silikageeli, CH_2Cl_2 .

15 f) [Kaava Vb, $R^3A = \text{OCH}_2\text{OC}-$, $R^1 = \text{CH}(\text{CH}_3)_2$,
 $R^A = \text{CH}_2\text{CH}(\text{CH}_3)_2$]

Isobutyryliklooriformiaattia (0,097 ml, 0,75 mmol)
lisättiin esijäähdytettyyn (-15°C) liuokseen, jossa oli
CBZ-proliinia (80,185 g, 0,75 mmol), N-metyylimorfoliinia
20 (0,062 ml, 0,75 mmol) ja THF:a (5,0 ml), typpiatmosfääris-
sä ja seoksen annettiin sekoittua $\frac{1}{2}$ tuntia -15°C :ssa. Sit-
ten seos jäähdytettiin -40°C :seen ja lisättiin hitaasti
liuos, jossa oli esimerkin 13e tuotetta ja THF:a (2,0 ml).
Saadun seoksen annettiin lämmetä hitaasti huoneen lämpöti-
25 laan yön aikana. Seos suodatettiin ja THF poistettiin tyh-
jössä. Lisättiin EtOAc :a ja orgaaninen liuos uutettiin pe-
rälläkin 1 N HCl :lla, kyllästetyllä NaHCO_3 :lla ja suola-
liuoksella ja kuivattiin sitten Na_2SO_4 :lla, suodatettiin ja
30 EtOAc poistettiin tyhjössä, jolloin saatiin tuote. TLC, R_f
 $= 0,45$, silikageeli, $\text{MeOH}/\text{CHCl}_3$ (5:95).

g) [Kaava Ib, $R^3A = \text{OCH}_2\text{C}-$, $R^1 = \text{CH}(\text{CH}_3)_2$,
 $R^A = \text{CH}_2\text{CH}(\text{CH}_3)_2$]

Käyttäen esimerkin 1g menetelmää hapetettiin esi-
35 merkin 13f tuote, jolloin saatiin puhdistamisen jälkeen
flash-kromatografialla [$\text{MeOH}/\text{CHCl}_3$ (2:98)] tuote (40 %).

TLC, $R_f = 0,75$, silikageeli, MeOH/CHCl₃ (5:95). ¹H-NMR (d₆-DMSO): 0,87 (m, 12H), 1,9 (m, 8H), 3,4 (m, 2H), 4,4 (m, 1H), 4,65 (m, 1H), 5,0 (m, 2H), 7,3 (m, 5H) ja 8,39 (m, 1H).

5

Esimerkki 14

N-[4-[[[(4-kloorifenyyli)sulfonyyli]amino]karbo-
nyyli]bentsoyyli]-L-valyyli-N-[3,3-difluori-1-(1-
metyylietyyli)-2,4-diokso-4-[(2-fenyylietyyli)-
amino]butyyli]-1-proliiniamidi

10

[Kaava Ic, R^A = -CONHR^B, R^B = CH₂CH₂Ø, R¹ = CH(CH₃)₂,
 R² = CH(CH₃)₂, R⁴ = H,

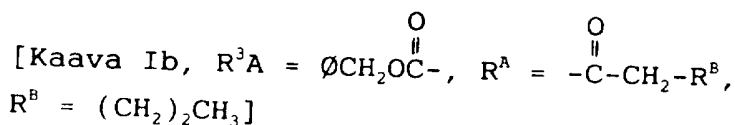
R³A = [4-[4-ClØS(O₂)NHC]Ø]C-]

$$\begin{array}{c} \text{O} \quad \text{O} \\ \parallel \quad \parallel \\ \text{O} \quad \text{O} \end{array}$$

DMAP:a (9,8 mg, 0,08 mmol) lisättiin sekoitettuun
 15 liuokseen, jossa oli p-klooribentseenisulfonamidia (14 mg, 0,073 mmol) ja kuivaa CH₂Cl₂:a (2,0 ml) huoneen lämpötilassa typpi-atmosfäärissä. Saatuun liuokseen lisättiin WSCDI:a (15,34 mg, 0,08 mmol) ja sen jälkeen osa esimerkin 12
 tuotteesta (47 mg, 0,073 mmol). Reaktioseosta sekoitettiin
 20 yön yli huoneen lämpötilassa. Lisättiin lisää CH₂Cl₂:a (20 ml) ja liuos pestiin 1 N HCl-liuoksella ja suolaliuoksella ja kuivattiin MgSO₄:lla. Liuos suodatettiin ja suodos väke-
 vöitiin tyhjöissä, jolloin jäljelle jäi 40 mg jäännöstä. Tämä jäännös puhdistettiin flash-kromatografialla [alhai-
 25 nen pH silika, CHCl₃/CH₃OH (99:1)], jolloin saatiin tuote (20,6 mg, 35 %) valkoisena jauheena. TLC, $R_f = 0,32$, sili-
 kageeli, CHCl₃/CH₃OH/HOAc (98:2:0,1). HPLC: $t_R = 21,01$ min; H₂O/CH₃OH/THF/TFA (55:35:15:0,1) 2 ml/min (Phenomenex[®] Zor-
 bax[®] C-8 analyttinen kolonni, 4,6 mm x 35 cm). ¹H-NMR
 30 (DMSO-d₆): 0,90 (m, 12H), 1,68 - 2,13 (m, 6H), 2,73 (m, 2H), 3,87 (m, 1H), 4,44 (m, 2H), 4,72 (m, 1H), 7,2 (m, 5H), 7,7 (m, 2H), 7,92 (m, 6H), 8,29 [d, J = 8,57), 1H], 8,73 [d, (J = 7,75), 1H] ja 9,19 (m, 1H).

Esimerkki 15

2-[[[3,3-difluori-1-(1-metyylietyyli)-2,4-diokso-
oktyyli]amino]karbonyyli]-1-pyrrolidiinikarboksy-
lihappofenyylimetyyliesteri



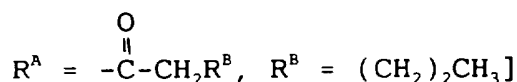
a) [Kaava IXb, $R^3A = \text{ØCH}_2\overset{\text{O}}{\underset{\text{O}}{\parallel}}\text{C}-$, $R^1 = \text{CH}(\text{CH}_3)_2$]

1 N NaOH:a (2,75 ml, 2,75 mmol) lisättiin sekoitet-
 tuun liuokseen, jossa oli esimerkin 4b tuotetta (1,0 g,
 2,19 mmol) ja metanolia (15 ml) huoneen lämpötilassa. Saa-
 tua liuosta sekoitettiin huoneen lämpötilassa 4 tuntia.
 Reaktioseosta käsiteltiin vedellä (7,5 ml) ja saatu liuos
 uutettiin EtOAc:lla. Vesipitoinen kerros tehtiin happamak-
 si (pH 2) 1 N HCl:lla. Tämä hapan vesipitoinen seos uutet-
 tiin etyyliasetaatilla. Etyyliasetaattikerros pestiin suo-
 laliuoksella, kuivattiin (MgSO_4), suodatettiin ja suodos
 väkevöitiin tyhjössä, jolloin saatiin tuote (0,883 g, 94,1
 %:n saanto) valkoisena kuivana vaahtona. TCL, $R_f = 0,1$,
 silikageeli, $\text{CHCl}_3/\text{CH}_3\text{OH}/\text{HOAc}$ (95:5:0,5).

b) [Kaava XIb, $R^3A = \text{ØCH}_2\overset{\text{O}}{\underset{\text{O}}{\parallel}}\text{C}-$, $R^1 = \text{CH}(\text{CH}_3)_2$]

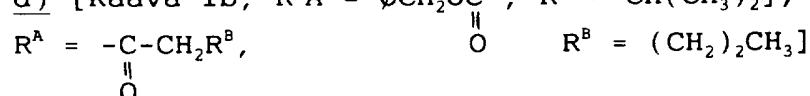
1-(3-dimetyyliaminopropyyli)-3-etyylikarbodi-imidi-
 hydrokloridi (0,24 g, 1,23 mmol) lisättiin suspensioon,
 jossa oli osa esimerkin 15a tuotetta (0,48 g, 1,12 mmol),
 O,N-dimetyylihydroksyyliamiinihydrokloridia (0,11 g, 1,12
 mmol), 1-hydroksibentsotriatsolia (0,3 g, 2,24 mmol) ja
 N-metyylimorfoliinia (0,11 g, 1,12 mmol) CH_2Cl_2 :ssa (10
 ml). Reaktioseosta sekoitettiin huoneen lämpötilassa yön
 yli ja väkevöitiin tyhjössä. Jäännös otettiin EtOAc:iin,
 pestiin kyllästetyllä vesipitoisella HCl:lla ja suola-
 liuoksella ja kuivattiin sitten (Na_2SO_4), suodatettiin ja
 väkevöitiin, jolloin saatiin tuote (0,42 g). TLC, $R_f =$
 0,38, silikageeli, $\text{MeOH}/\text{CHCl}_3$ (5:95).

c) [Kaava Vb, $R^3A = \text{OCH}_2\text{OC}-$, $R^1 = \text{CH}(\text{CH}_3)_2$],



5 n-butyylimagnesiumkloridia (0,65 ml, 2,6 M THF:ssa, 1,68 mmol) lisättiin pisaroittain liuokseen, jossa oli osa esimerkin 15B tuotteesta (0,2 g, 0,42 mmol) kuivassa THF:ssa 0 °C:ssa. Reaktioseosta sekoitettiin 1 tunti 0 °C:ssa. Lisättiin 1 N vesipitoista HCl:a (10 ml) ja liuos
10 uutettiin EtOAc:lla. Yhdistetyt uutteen pestiin suolaliuoksella, kuivattiin (Na_2SO_4), suodatettiin ja väkevöitiin raakatuotteen saamiseksi. Tuote puhdistettiin flash-kromatografialla käyttäen EtOAc/heksaania (2:3) eluenttina, jolloin tuote saatiin valkoisena kiinteänä aineena
15 (0,138 g). TLC, $R_f = 0,53$, silikageeli, EtOAc/heksaani (1:1).

d) [Kaava Ib, $R^3A = \text{OCH}_2\text{OC}-$, $R^1 = \text{CH}(\text{CH}_3)_2$],



20 Trifluorietikkahappoa (30 mg, 0,28 mmol) ja Dess-Martin-perjodinaania (0,24 g, 0,56 mmol) lisättiin liuokseen, jossa oli esimerkin 15c tuotetta (0,13 g, 0,28 mmol) kuivassa CH_2Cl_2 :ssa (2 ml). Reaktioseosta sekoitettiin yön yli, laimennettiin EtOAc:lla, pestiin kyllästetyllä vesipitoisella NaHCO_3 :lla ja suolaliuoksella, kuivattiin
25 (Na_2SO_4), suodatettiin ja väkevöitiin raakatuotteen saamiseksi. Tuote puhdistettiin flash-kromatografialla käyttäen eluenttina EtOAc/heksaania (30:70), jolloin saatiin tuote (0,125 g, 100 %) kirkkaana öljynä. TLC, $R_f = 0,3$, silikageeli, EtOAc/heksaani (30:70).
30

Analyysi yhdisteelle $\text{C}_{24}\text{H}_{32}\text{F}_2\text{N}_2\text{O}_5 \cdot \frac{1}{2} \text{H}_2\text{O}$:

Laskettu: C 60,62 H 6,99 N 5,89

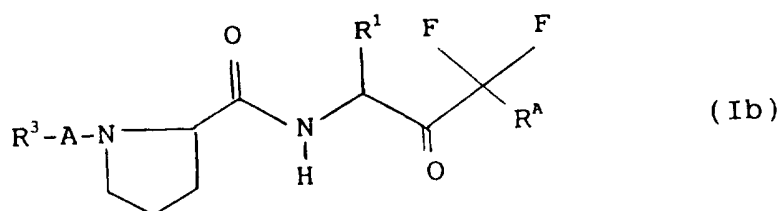
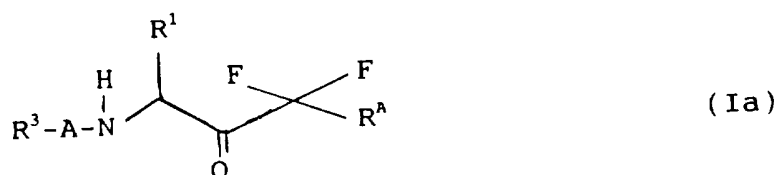
Saatu: C 60,51 H 6,80 N 5,82

Esimerkki 16

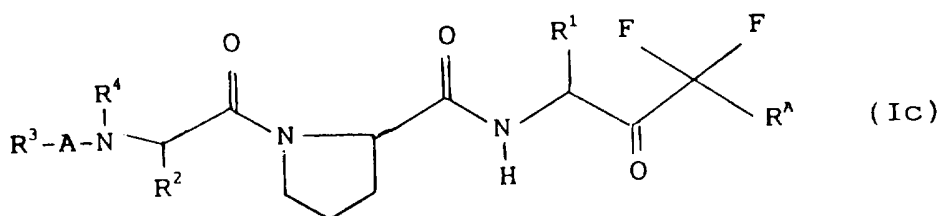
Käyttäen esimerkissä 14 kuvattua menetelmää, mutta käyttäen bentseenisulfonamidia p-klooribentseenisulfonamidin asemasta saatiin N-(4-[[(fenyylisulfonyyli)amino]-
 5 karbonyl]bentsoyyli)-L-valyyli-N-{3,3-difluori-1-(1-metyylietyyli)-2,4-diokso-4-[(2-fenyylietyyli)amino]butyyli}-L-proliiniamidi kiinteänä aineena; sp. 216 -217,5 °C.
 [Kaava Ic, $R^A = \text{CONHR}^B$, $R^B = \text{CH}_2\text{CH}_2\text{C}_6\text{H}_5$, $R^1 = \text{CH}(\text{CH}_3)_2$,
 $R^2 = \text{CH}(\text{CH}_3)_2$, $R^4 = \text{H}$, $R^3A = [4-(\text{O}\text{SO}_2\text{NHCO})\text{O}]-\text{CO}-]$

Patenttivaatimukset

1. Menetelmä terapeuttisesti aktiivisen difluorike-
tonipeptidijohdannaisen valmistamiseksi, jolla on kaava



tai



jolloin

R^1 on 1 - 5 hiiliatomia sisältävä alkyyliryhmä;

kaavan $-\text{NH}.\text{CHR}^2.\text{CO}-$ mukainen ryhmä on alaniinista, valiinista, norvaliinista, leusiinista, isoleusiinista, norleusiinista, fenyyialaniinista, tyrosiinista, asparagiinista, glutamiinista, asparagiinihaposta, glutamiinihaposta, lysiinistä, treoniinista, seriinistä, α -aminovoihaposta tai fenyylylglysiinistä saatu aminohappotähde;

R^3 on 1 - 12 hiiliatomia sisältävä alkyyliryhmä,

jossa on

(1) fenyylikarbonyyliaminoryhmä, jossa mahdollisesti on karboksi-, C_{1-3} -alkoksikarbonyyli-, 5-tetratsolo- tai bentseenisulfonyyliaminokarbonyylisubstituentti, jolloin viimeksi mainittu on mahdollisesti substituoitu fluori-,
5 kloori-, bromi- tai jodiatomilla tai nitroryhmällä; tai

(2) fenyyli, joka on mahdollisesti substituoitu kloori-, bromi-, jodi- tai fluoriatomilla tai hydroksi-, trifluorimetyyli-, C_{1-6} -alkyyli-, C_{1-6} -alkoksi-, C_{2-6} -alkanoyylioksi-, C_{2-6} -alkoksikarbonyyli-, karboksi-, C_{2-6} -aminokarbonyylialkyyli-, karbamoyyli-, 5-tetratsolo- tai bentseenisulfonyyliaminokarbonyyliryhmällä, jolloin viimeksi mainittu on mahdollisesti substituoitu fluori-, kloori-,
10 bromi- tai jodiatomilla tai nitroryhmällä; tai

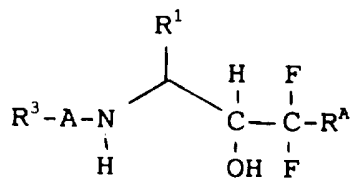
R^3 on fenyyli, joka on mahdollisesti substituoitu fluori-, kloori-, bromi- tai jodiatomilla tai trifluorimetyyli-, hydroksi-, C_{1-6} -alkyyli-, C_{2-6} -alkanoyylioksi-, C_{1-6} -alkoksi-, C_{2-6} -alkoksikarbonyyli-, karboksi-, C_{2-7} -aminokarbonyylialkyyli-, 5-tetratsolo- tai bentseenisulfonyyliaminokarbonyyliryhmällä, jolloin viimeksi mainittu on
20 mahdollisesti substituoitu fluori-, kloori-, bromi- tai jodiatomilla tai nitroryhmällä;

R^4 on vety;

R^A on ryhmä, jolla on kaava $-CH_2.R^B$, $-CO.CH_2.R^B$ tai $-CO.NH.R^B$, jolloin R^B on C_{1-10} -alkyyli, C_{5-15} -sykloalkyyli, C_{5-15} -sykloalkyyli- C_{1-6} -alkyyli, fenyyli tai fenyyli- C_{1-6} -alkyyli, jonka fenyyli-ryhmä on mahdollisesti substituoitu kloori-, bromi-, jodi- tai fluoriatomilla tai hydroksi-, trifluorimetyyli-, C_{1-6} -alkyyli-, C_{1-6} -alkoksi-, C_{2-6} -alkoksikarbonyyli-, karboksi-, 5-tetratsolo- tai bentseenisulfonyyliaminokarbonyyliryhmällä, jolloin viimeksi mainittu ryhmä on mahdollisesti substituoitu fluori-, kloori-, bromi- tai jodiatomilla tai nitroryhmällä; ja A on karbonyyli tai oksikarbonyyli; tai, kun on sopivaa, sen farmaseuttisesti hyväksyttävän suolan valmistamiseksi,
35 t u n n e t t u siitä, että

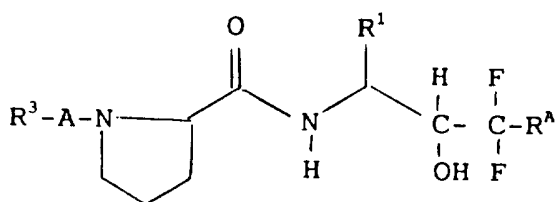
(a) yhdiste, jolla on kaava

5



(Va)

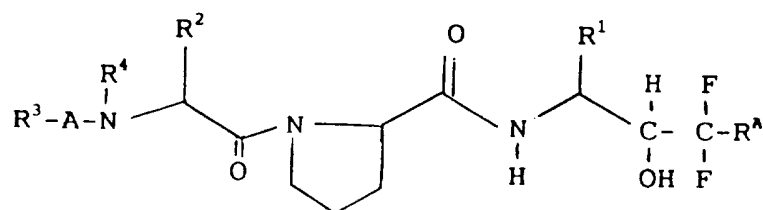
10



(Vb)

tai

15



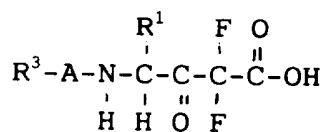
(Vc)

20

hapetetaan,

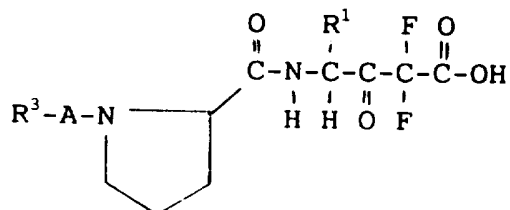
(b) happo, jolla on kaava

25



(XXVIIa)

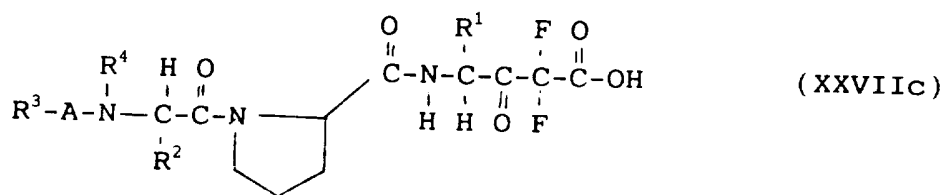
30



(XXVIIb)

35

tai



5

kytketään amiiniin, jolla on kaava $\text{R}^B.\text{NH}_2$;

(c) yhdisteiden valmistamiseksi, joissa R^2 tai R^3 sisältää karboksiryhmän, hajotetaan vastaavan kaavan Ia, Ib tai Ic mukaisen yhdisteen esteri; tai

(d) yhdisteiden valmistamiseksi, joissa R^3 sisältää bentseenisulfonyyliaminokarbonyyliryhmän, joka on mahdollisesti substituoitu fluori-, kloori-, bromi- tai jodiato-

milla tai nitroryhmällä, saatetaan vastaava kaavan Ia, Ib tai Ic mukainen yhdiste, jossa R^3 sisältää karboksiryhmän, reagoimaan valitun sulfonamidin kanssa dehydratoivan aineen läsnä ollessa liuottimessa tai laimentimessa;

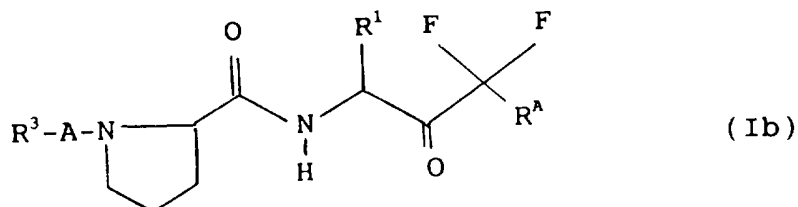
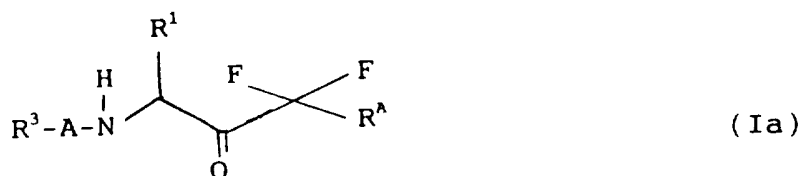
minkä jälkeen, kun halutaan farmaseuttisesti hyväksyttävä suola, saatetaan saatu kaavan Ia, Ib tai Ic mukainen yhdiste reagoimaan sopivan hapon tai emäksen kanssa, joka tuottaa fysiologisesti hyväksyttävän anionin tai vastavasti kationin;

jolloin vaihtuvilla substituentteilla voi olla mitkä tahansa edellä mainituista merkityksistä, ellei toisin ole mainittu.

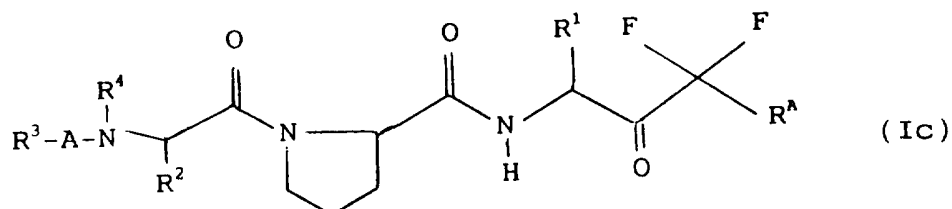
2. Patenttivaatimuksen 1 mukainen menetelmä, tunnettu siitä, että valmistetaan N-[4-([(4-kloorifenyyli)sulfonyyli]amino)karbonyyli)bentsoyyli]-L-valyyli-N-{3,3-difluori-1-(1-metyylietyyli)-2,4-diokso-4-[(2-fenyylietyyli)amino]butyl}-L-proliiniamidi tai sen farmaseuttisesti hyväksyttävä suola.

Patentkrav

1. Förfarande för framställning av ett terapeutiskt
aktivt difluorketonpeptidderivat med formeln



eller



25
varvid

R^1 är en alkylgrupp, som innehåller 1 - 5 kolatomer;

30 gruppen enligt formeln $-NH.CHR^2.CO-$ är en aminosyrest som erhållits från alanin, valin, norvalin, leucin, isoleucin, norleucin, fenylalanin, tyrosin, asparagin, glutamin, asparaginsyra, glutaminsyra, lysin, treonin, serin, α -aminosmörtsyra eller fenylglycin;

35 R^3 är en alkylgrupp, som innehåller 1 - 12 kolatomer och som har

(1) en fenylkarbonylaminogrupp, som eventuellt har en karboxi-, C₁₋₃-alkoxikarbonyl-, 5-tetrazolo- eller bensensulfonylaminokarbonylsubstituent, varvid den sistnämnda eventuellt är substituerad med en fluor-, klor-, brom- eller jodatom eller med en nitrogrupp; eller

(2) fenyl, som eventuellt är substituerad med en klor-, brom-, jod- eller fluoratom eller med en hydroxi-, trifluormetyl-, C₁₋₆-alkyl-, C₁₋₆-alkoxi-, C₂₋₆-alkanoyloxi-, C₂₋₆-alkoxikarbonyl-, karboxi-, C₂₋₆-aminokarbonylalkyl-, karbamoyl-, 5-tetrazolo- eller bensensulfonylaminokarbonylgrupp, varvid den sistnämnda eventuellt är substituerad med en fluor-, klor-, brom- eller jodatom eller med en nitrogrupp; eller

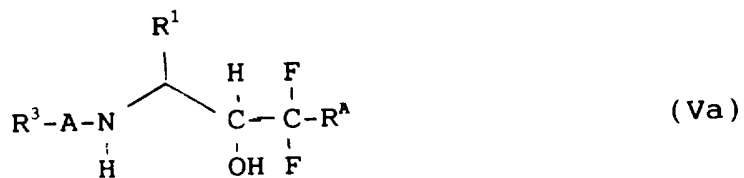
R³ är fenyl, som eventuellt är substituerad med en fluor-, klor-, brom- eller jodatom eller med en trifluormetyl-, hydroxi-, C₁₋₆-alkyl-, C₂₋₆-alkanoyloxi-, C₁₋₆-alkoxi-, C₂₋₆-alkoxikarbonyl-, karboxi-, C₂₋₇-aminokarbonylalkyl-, 5-tetrazolo- eller bensensulfonylaminokarbonylgrupp, varvid den sistnämnda eventuellt är substituerad med en fluor-, klor-, brom- eller jodatom eller med en nitrogrupp;

R⁴ är väte;

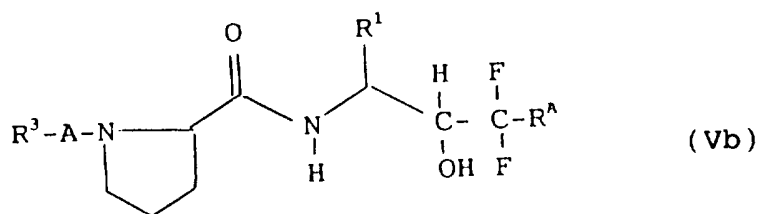
R^A är en grupp med formeln -CH₂.R^B, -CO.CH₂.R^B eller -CO.NH.R^B, varvid R^B är C₁₋₁₀-alkyl, C₅₋₁₅-cykloalkyl, C₅₋₁₅-cykloalkyl-C₁₋₆-alkyl, fenyl eller fenyl-C₁₋₆-alkyl, vars fenylgrupp eventuellt är substituerad med en klor-, brom-, jod- eller fluoratom eller med en hydroxi-, trifluormetyl-, C₁₋₆-alkyl-, C₁₋₆-alkoxi-, C₂₋₆-alkoxikarbonyl-, karboxi-, 5-tetrazolo- eller bensensulfonylaminokarbonylgrupp, varvid den sistnämnda gruppen eventuellt är substituerad med en fluor-, klor-, brom- eller jodatom eller med en nitrogrupp; och A är karbonyl eller oxikarbonyl; eller, då det är lämpligt, för framställning av dess farmaceutiskt godtagbara salt, k ä n n e t e c k n a t därav, att

(a) en förening med formeln

5

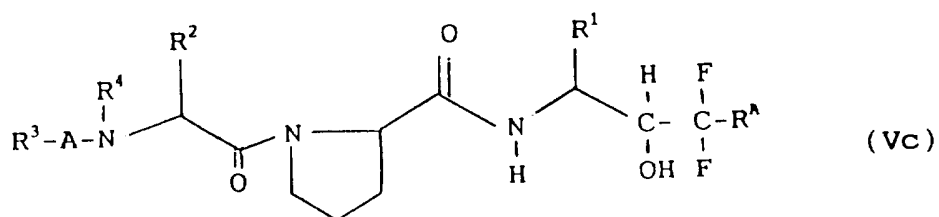


10



eller

15



20

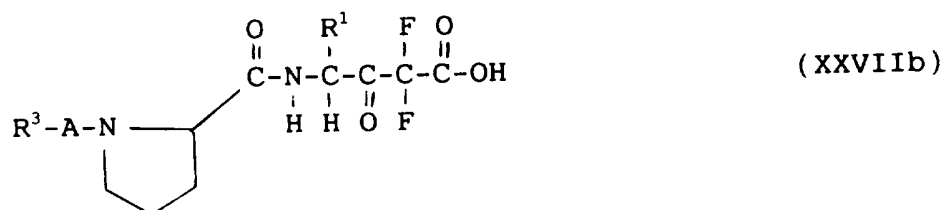
oxideras,

(b) en syra med formeln

25

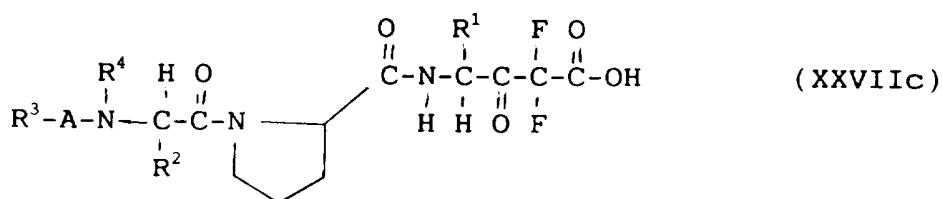


30



35

eller



5

kopplas till en amin med formeln $\text{R}^B \cdot \text{NH}_2$;

(c) för framställning av föreningar, i vilka R^2 eller R^3 innehåller en karboxigrupp, spjälkes en ester av en
10 motsvarande förening enligt formeln Ia, Ib eller Ic; eller

(d) för framställning av föreningar, i vilka R^3 innehåller en bensensulfonylaminokarbonylgrupp, som eventuellt är substituerad med en fluor-, klor-, brom- eller jodatomb
15 eller med en nitrogrupp, bringas en motsvarande förening enligt formeln Ia, Ib eller Ic, i vilken R^3 innehåller en karboxigrupp, att reagera med en vald sulfonamid i närvaro av ett dehydrerande medel i ett lösningsmedel eller en diluent;

varefter, då ett farmaceutiskt godtagbart salt önskas, den
20 erhållna föreningen med formeln Ia, Ib eller Ic bringas att reagera med en lämplig syra eller bas, som bildar en fysiologiskt godtagbar anjon respektive katjon; varvid de varierande substituenterna kan ha vilka som helst av de ovan nämnda betydelserna, om inte annat
25 nämnts.

2. Förfarande enligt patentkravet 1, k ä n n e -
t e c k n a t därav, att N-[4-(((4-klorfenyl)sulfonyl)-
amino)karbonyl]bensoyl]-L-valyl-N-{3,3-difluor-1-(1-mety-
letyl)-2,4-dioxo-4-[(2-fenyletyl)amino]butyl}-L-prolinamid
30 eller dess farmaceutiskt godtagbara salt framställs.