(19) SUOMI - FINLAND
(FI)

PATENTTI- JA REKISTERIHALLITUS
PATENT- OCH REGISTERSTYRELSEN
FINNISH PATENT AND REGISTRATION OFFICE

(10) **FI 896238 A7**

(12) **JULKISEKSI TULLUT PATENTTIHAKEMUS**
PATENTANSÖKAN SOM BLIVIT OFFENTLIG
PATENT APPLICATION MADE AVAILABLE TO THE PUBLIC

(21) Patenttihakemus - Patentansökan - Patent application 896238

(51) Kansainvälinen patenttiluokitus - Internationell patentklassifikation - International patent classification
C07K 5/06
C07K 5/08

(22) Tekemispäivä - Ingivningsdag - Filing date **22.12.1989**

(23) Saapumispäivä - Ankomstdag - Reception date **22.12.1989**

(41) Tullut julkiseksi - Blivit offentlig - Available to the public **28.06.1990**

(43) Julkaisupäivä - Publiceringsdag - Publication date **12.06.2019**

(32) (33) (31) Etuoikeus - Prioritet - Priority

27.12.1988 US 290079

(71) Hakija - Sökande - Applicant

1 • **American Cyanamid Company,** One Cyanamid Plaza, Wayne, NJ 07470-8426, AMERIKAN YHDYSVALLAT, (US)

(72) Keksijä - Uppfinnare - Inventor

1 • **Albright, Jay D.,** Nanuet, NY 10954, AMERIKAN YHDYSVALLAT, (US)
2 • **Sum, Fuk-Wah,** USA, AMERIKAN YHDYSVALLAT, (US)
3 • **Howell, Charles Frederick,** USA, AMERIKAN YHDYSVALLAT, (US)

(74) Asiamies - Ombud - Agent

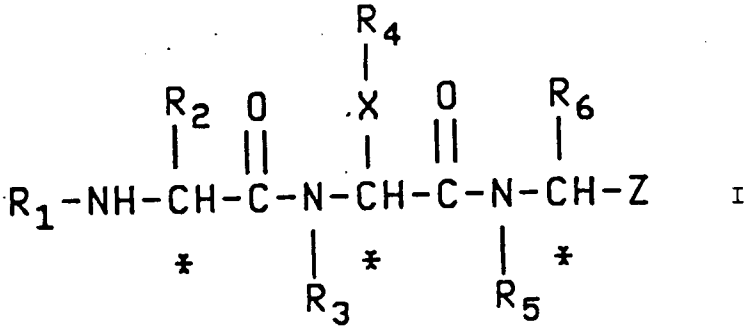
Kolster Oy Ab, Salmisaarenaukio 1, 00180 Helsinki

(54) Keksinnön nimitys - Uppfinningens benämning - Title of the invention
Reniini-inhibiittoreita

Renininhibitorer

Reniini-inhibiittoreita

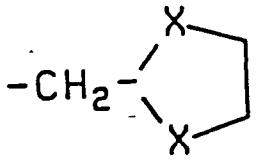
Tämä keksintö koskee uusia dipeptidi- ja tripeptidijohdannaisia, joilla on kaava I



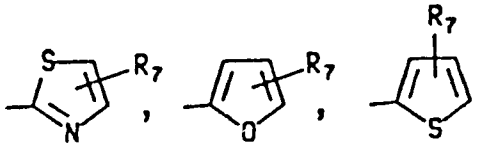
I

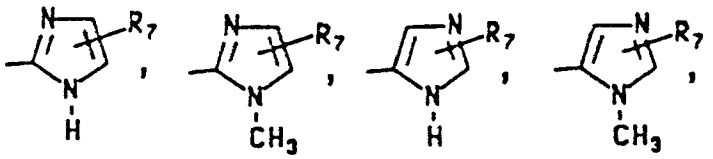
jossa

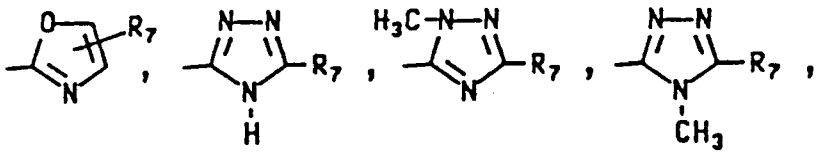
R_1 on vety, (C_{1-8})-alkyyli-C(=O)-, (C_{1-8})-alkyyli-OC(=O)-, fenyyli-$(CH_2)_nOC$(=O)-, metyyli-$(CH_2)_n$OC(=O)- tai fenyyli-C(=O)-, jolloin n on kokonaisluku 1 - 4 tai ryhmät R_1-L-prolyyli, R_1-L-tioprolyyli, R_1-L-metionyyli, R_1-L-alanyyli, R_1-L-fenyylialanyyli, R_1-L-(s-bentsyyli)kysteiini, R_1-L-histidyyli tai R_1-L-glysyyli; R_2 on fenyylimetyyli, (2-tienyyli)CH_2, (3-indolyyli)CH_2 tai -CH_2-naftyyli; R_3 on vety tai metyyli; R_4 on (C_{1-8})-alkyyli, -$(CH_2)_nNH_2$, (4-imidatsolyyli)CH_2-, fenyylimetyyli, fenyyli, sykloheksyyli, CH_2CH_2N-[(C_{1-3})-alkyyli]$_2$ tai $(CH_2)_n$-X-(C_{1-3})-alkyyli; R_5 on vety tai metyyli; R_6 on (C_{1-6})-alkyyli, fenyylimetyyli, sykloheksyylimetyyli, -$(CH_2)_n$-X-(C_{1-3})-alkyyli tai

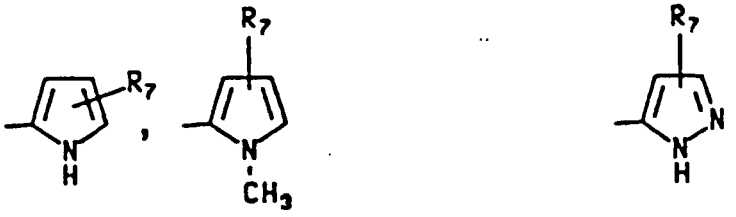


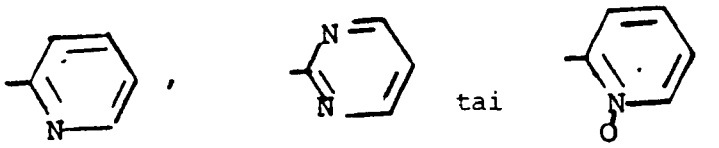
X on -O- tai -S-; Z on -CHO tai -CH(OH)a, jolloin A on





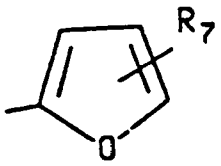




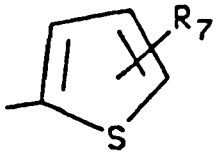


tai

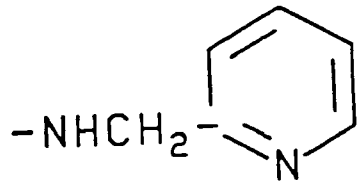
sillä edellytyksellä, että kun A on



tai



X kaavassa I voi myös olla yksöissidos, R_7 on vety, (C_{1-3})-alkyyli tai COR_8 ja R_8 on NH_2, OH, $-O-(C_{1-4})$-alkyyli, $-N[(C_{1-3})\text{-alkyyli}]_2$ tai

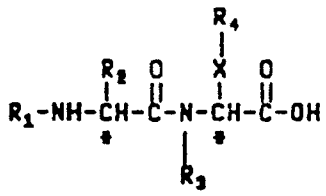


Kaavassa I tähdet merkitsevät asymmetrisiä hiiliatomeja.

Kaavan I mukaisten yhdisteiden ryhmässä tietyt yhdisteiden alaryhmät ovat edullisia. Laajasti edullisia

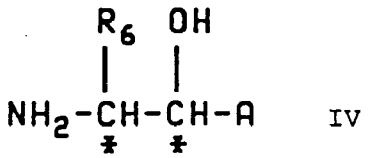


Missing page/ pages



III

tai sen kemiallinen ekvivalentti reagoimaan kaavan IV mukaisen 1-amino-2-hydroksiyhdisteen kanssa



IV

Siten kaavan III mukainen dipeptidi saatetaan reagoimaan peptidikytkentäreagenssin kanssa karboksyyliryhmän muuttamiseksi aktivoiduksi johdannaiseksi, joka sitten saatetaan reagoimaan kaavan IV mukaisen yhdisteen tai sen kemiallisen ekvivalentin kanssa, jolloin saadaan tämän keksinnön mukaisia tuotteita.

Edullisia peptidikytkentäreagensseja ovat sellaiset yhdisteet, jotka eivät aiheuta rasemoitumista tähdellä merkityissä hiiliatomeissa. Sopivia peptidikytkentäreagensseja ovat esimerkiksi:

1) N,N'-disykloheksyylikarbodi-imidi ja 1-hydroksibentsotriatsoli

2) Bentsotriatsol-1-yylioksitris(dimetyyliamino)-fosfoniumheksafluorifosfaatti (BOP-reagenssi)

3)N,N'-bis[2-okso-3-oksatsolidinyyli]fosforidiamidikloridi (BOC-Cl)

4) Difenyylifosfinyylikloridi (DPP-Cl)

5) Dietoksifosforyylikloridi

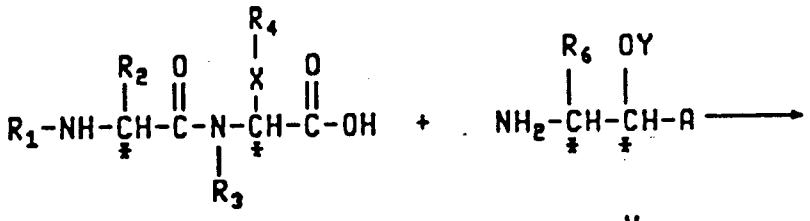
6) 2-kloori-1-metyylipyridiniumjodidi

7) Fenyylidikloorifosfaatti ja imidatsoli

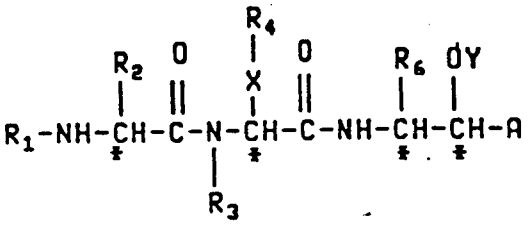
Kaavan III mukaisissa yhdisteissä, joissa R_4 on 4-imidatsolyylimetyyli, imidatsolin typpi estetään sopivalla

ryhmällä, kuten tosyylillä, 2,4-dinitrofenyylillä, bentsyylillä tai bentsyylioksimetyylillä, ennen kytkemistä kaavan IV mukaisiin yhdisteisiin. Sopiva estoryhmä valitaan siten, että olosuhteet sen poistamiseksi sopivat yhteen muiden rakenteellisten piirteiden kanssa kaavan I mukaisessa tuotteessa.

Vaihtoehtoisesti kaavan III mukainen peptidi aktivoidaan sopivalla peptidikytkentäreagenssilla ja saatetaan sitten reagoimaan kaavan V mukaisen yhdisteen kanssa, jossa hydroksiryhmä on suojattu poistettavalla estoryhmällä Y. Sopivia estoryhmiä ovat trimetyylisilyyli-, t-butyylidimetyylisilyyli, tetrahydropyranyyli, asetyyli, bentsoyyli ja vastaavat. Hydroksyylin estoryhmän poisto tuottaa sitten kaavan I mukaisia yhdisteitä, joissa Z on -CH(OH)A

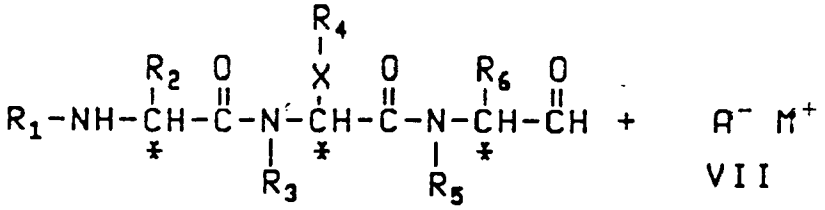


III V

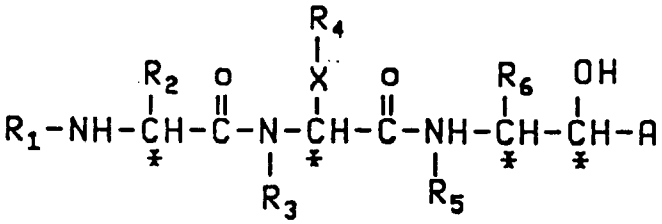


I (estetty) [Z=CH(OY)A]

Vaihtoehtoisesti valmistetaan kaavan VI mukaisia N-estettyjä tripeptidialdehydejä ja saatetaan ne ragoimaan kaavan VII mukaisen yhdisteen kanssa, joissa M^+ on metalli, kuten natrium, kalium, litium ja vastaavat, jolloin saadaan kaavan I mukaisia yhdisteitä, joissa Z on -CH(OH)A

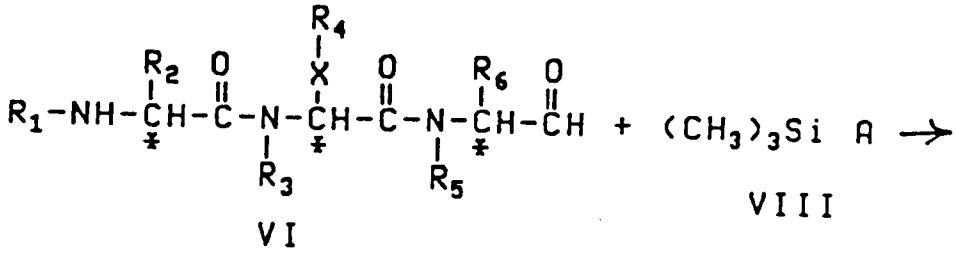


VI VII

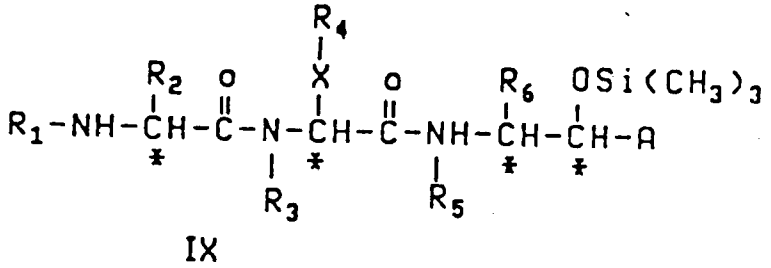


I

Edullisesti kaavan VI mukaiset tripeptidialdehydit saatetaan reagoimaan kaavan VIII mukaisten trimetyylisilyylijohdannaisten kanssa tetrabutyyliammoniumfluoridin, kesiumfluoridin tai vastaavan fluoridianionilähteen läsnä tai poissa ollessa, jolloin saadaan kaavan IX mukaisia O-trimetyylisilyylijohdannaisia tai kaavan IX mukaisia desilyloituja johdannaisia.



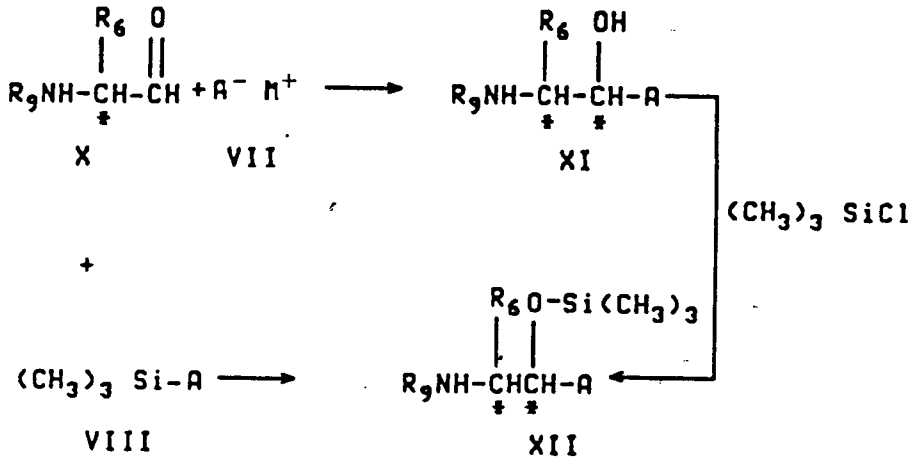
VI VIII



IX

Trimetyylisilyyliryhmän poistaminen normaaliolosuhteissa, kuten käsittelemällä laimealla hapolla tai tetrabutyyliammoniumfluoridilla, tuottaa kaavan I mukaisia yhdisteitä, joissa Z on -CH(OH)A.

Kaavan XI tai XII mukaiset välituotteet valmistetaan saattamalla kaavan X mukainen N-estetty α-aminoaldehydi, jolloin R_9 on t-butyylioksikarbonyyli, bentsyylioksikarbonyyli, trifenyylimetyyli tai vastaava, reagoimaan kaavan VII tai VIII mukaisten yhdisteiden kanssa

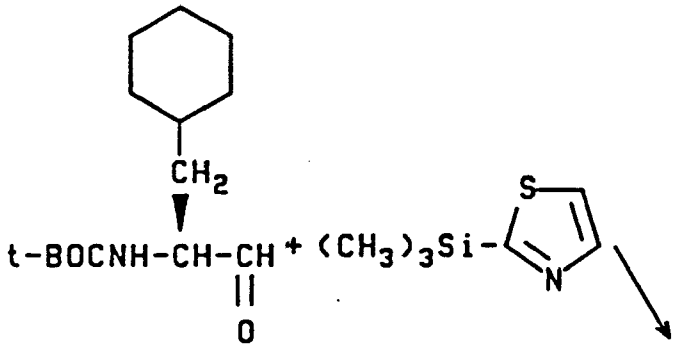


Edullisimpia kaavan X mukaisia yhdisteitä ovat ne, joilla on L(S)-konfiguraatio, jolloin reaktiossa yhdisteen VII tai VIII kanssa saadaan diastereomeeripari. Diastereomeeripari voidaan erottaa kromatografisesti silikageelillä ja kytkeä kaavan III mukaiseen peptidiryhmään, kuten aikaisemmin on kuvattu.

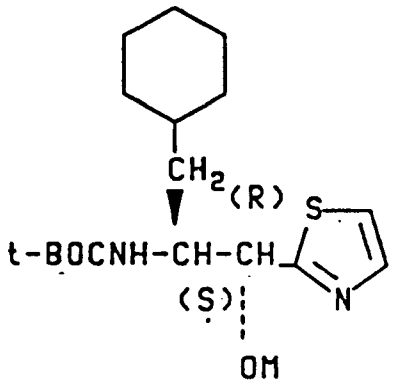
Edustavina esimerkkeinä yllä olevasta menetelmästä (kaavio A) 2-trimetyylisilyylitiatsoli 1 saatetaan reagoimaan L-t-butoksikarbonyylifenyylialanaalin 2 tai L-t-butoksikarbonyylileusinaalin 3 kanssa dikloorimetaanissa, jolloin saadaan diastereomeerit 4, 5 ja 6, 7, vastaavasti. Trimetyylisilyyliryhmän poisto fluoridianionilla tuottaa vapaat hydroksiyhdisteet 4b, 5b ja 6b, 7b, vastaavasti. Diastereomeerien erottaminen suoritetaan kromatografises-

ti. Edullisimpia diastereomeerejä ovat (S)2-(t-butoksikarbonyyli)amino-3-fenyyli-(R)1-(2-tiatsolyyli)propan-1-oli ja(S)2-(t-butoksikarbonyyli)amino-4-metyyli-(R)1-(2-tiatsolyyli)pentan-1-oli 6b.

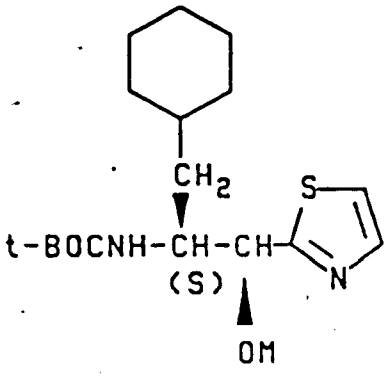
Kaavio A



2 1

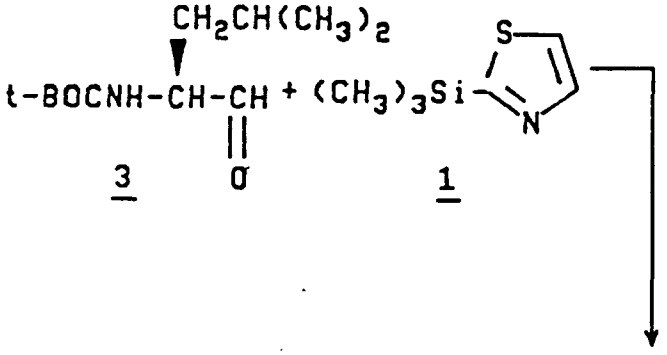


4a M=Si(CH$_3$)$_3$
4b M=H

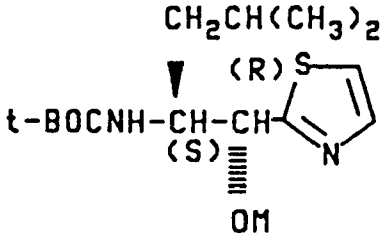


5a M=Si(CH$_3$)$_3$
5b M=H

Kaavio A (jatkoa)

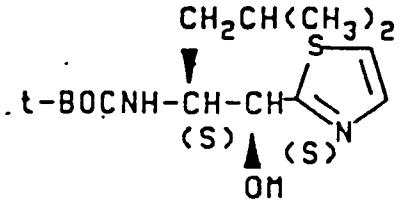


3 1



6a M=$(CH_3)_3Si$

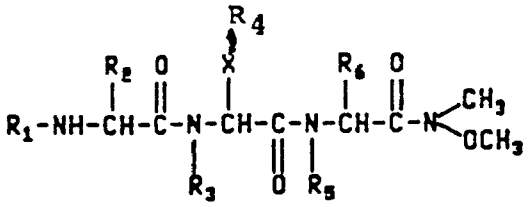
6b M=H



7a M=$(CH_3)_3Si$

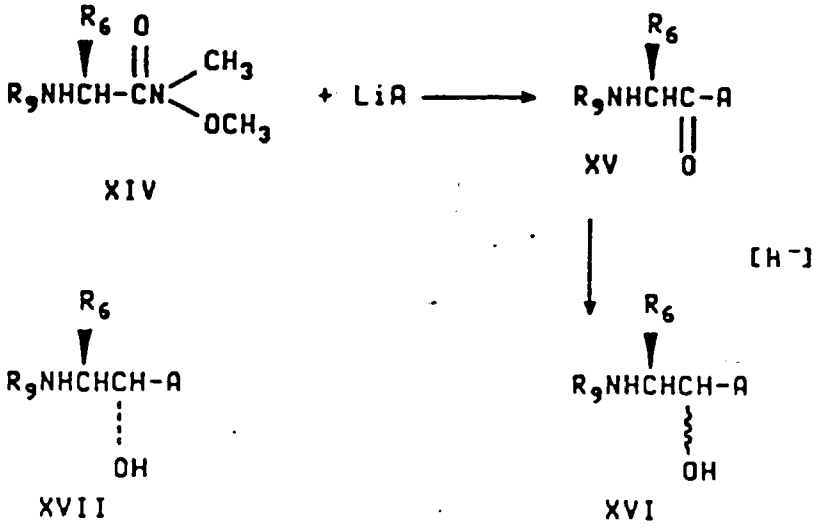
7b M=H

Kaavan I mukaiset yhdisteet, joissa Z on -CHO, valmistetaan pelkistämällä kaavan XIII mukaiset N-metyyli-N-metoksiamidit litiumaluminiumhydridillä



XIII

Kaavan XVI mukaiset välituotteet voidaan valmistaa LiA:n (jolloin A on edellä määritelty ryhmä) reaktiolla kaavan XIV mukaisten N-metyyli-N-metoksiamidien kanssa, jolloin saadaan ketojohdannaiset XV. Ketojohdannaisen XV pelkistys hydrideillä, kuten natriumboorihydridillä, litium- tai kalium-tri-sek-butyyliboorihydridillä ja trietyylisilaanilla, tuottaa välituotteet XVI diastereomeeriparina. Kunkin diastereomeerin, jota edustaa kaava XVI, määrä seoksessa riippuu hydridipelkistysreagenssin rakenteesta ja reaktio-olosuhteista. Yleisesti litium- ja kaliumtri-sek-butyyliboorihydridit tuottavat selektiivisesti diastereomeerin XVII



XIV XV XVII XVI

Kaavan I mukaiset yhdisteet ovat aktiivisia reniini-inhibiittoreita.

Reniini on endopeptidaasi, jolla on tärkeä rooli verenpaineen kontrolloinnissa. Reniini-angiotensiini-systeemi on monisäädelty proteolyyttinen kaskadi, jossa reniini pilkkoo proteiinisubstraatin, angiotensiinin, jolloin saadaan angiotensiini. Angiotensiiniä muuttava entsyymi (ACE) katalysoi terminaalisen dipeptidin poistoa dekapeptidi angiotensiini I:stä, jolloin muodostuu angiotensiini II, jolla on voimakas painetta aiheuttava aktiivisuus.

Reniini on aspartyyliproteaasi, joka on erittäin substraattispesifinen ja se on ensimmäinen proteolyyttinen vaihe reniini-angiotensiini-systeemissä, joka on mukana verenpaineen säätelyssä.

Reniini-inhibiittoreiden on osoitettu alentavan verenpainetta kädellisissä [J. Hypertension 1 (1983) 399, J. Hypertension 1 (suppl. 2) (1983) 189] ja ihmisissä [Lancet II (1983) 1486, Trans. Assoc. Am. Physicians 96 (1983) 365, J. Hypertension 3 (1985) 653] ja siten niitä voidaan käyttää korkean verenpaineen kontrollointiin.

Kaavan I mukaiset uudet yhdisteet ovat uusia peptidireniini-inhibiittoreita ja ne ovat käyttökelpoisia korkean verenpaineen hoidossa lämminverisillä eläimillä, kuten seuraava koe osoittaa.

Radioimmunologinen määritysmenetelmä reniini-inhibiittoreiden seulomiseksi

In vitro -menetelmä antireniiniyhdisteiden seulomiseksi käsittää ensin angiotensiini I:n muodostamisen ja sitten tuotetun angiotensiini I:n kvantitoinnin radioimmunologisella määrityksellä.

Angiotensiini I:n muodostaminen

Inkubointiväliaine sisälsi 20 µg puhdistettua ihmisen plasman angiotensiiniä (1), 10 µg ihmisen munuaisten reniiniä (2), 5 µl fenyylimetyylisulfonyylifluoridia, 10 µl dinatrium-EDTA:ta (10 mmol/l), 10 µl antireniiniyhdistettä (5×10^{-3}, 5×10^{-4}, 5×10^{-5}) dimetyyliformamidissa

tai etanolissa ja sopivan määrän maleaattipuskuria (77 mmol/l, pH 6,0) lopullisen tilavuuden saattamiseksi 500 µl:ksi. Reaktioseosta inkuboitiin yhden tunnin ajan 37 °C:ssa ja entsyymireaktio pysäytettiin viemällä putki jääkylmään veteen. Inkuboinnin aikana muodostunut angiotensiini I mitattiin radioimmunologisella määritysmenetelmällä plasman reniiniaktiivisuus -testipakkausta (Clinical Assays, Inc.) käyttäen.

Radioimmunologinen määritysmenetelmä

Inkubointiväliaine sisälsi joko 100 µl:n määrät yllä olevaa reaktioseosta tai vakiomäärän angiotensiini I:tä, 1 000 µl fosfaattipuskuria (100 mmol/l, pH 7,6) ja 100 µl (^{125}I)angiotensiiniä gamma-laskentaputkessa (gamma-coat tube). Kun putkia oli inkuboitu kolme tuntia huoneenlämpötilassa, ne dekantoitiin ja kunkin putken radioaktiivisuus mitattiin gammalaskijassa. Kaksoismääritykset suoritettiin jokaiselle inkuboinnille. Tulokset ilmaistiin ng:ina muodostunutta angiotensiiniä (ng/AI/ml/h) ja inhibitio-% saatiin seuraavasti: inhibitio-%=

$$100 - \left(\frac{\text{Reniiniaktiivisuus koeyhd. läsnä ollessa}}{\text{Reniiniaktiivisuus ilman koeyhdistettä}}\right) \times 100$$

Tämän kokeen tulokset tämän keksinnön mukaisille edustaville yhdisteille on esitetty taulukossa I ilmaistuina IC_{50}-arvona.

(1) Ihmisen plasman angiotensiini, joka saatiin ehkäisypillereitä nauttivan naisen verestä, puhdistettiin kromatografisesti pepstatiini-aminoheksyyli-agaroosipylväällä.

(2) Ihmisen reniini valmistettiin ihmisen munuaisista.

Taulukko I

Yhdiste	Moolinen pitoisuus	Reniini-inhibitio-%	IC_{50}-moolinen pitoisuus
N-[(fenyylimetoksi-karbonyyli]-L-fenyylialanyyli-L-2-(2-metyylipropoksi)-glysyyli-(1R,2S)-2-amino-3-fenyyli-1-(2-tiatsolyyli)propan-1-oli	$1x10^{-4}$	85,0	$4,7x10^{-7}$
	$1x10^{-5}$	84,6	
	$1x10^{-6}$	76,2	
N-[(fenyylimetoksi)-karbonyyli]-L-fenyylialanyyli-D-2-(2-metyylipropoksi)glysyyli-(1R,2S)-2-amino-3-fenyyli-1-(2-tiatsolyyli)-propan-1-oli	$1x10^{-4}$	74,6	
	$1x10^{-5}$	69,2	
	$1x10^{-6}$	41,0	
N-[(fenyylimetoksi)-karbonyyli]-L-fenyylialanyyli-L-2-(syklohek-syylioksi)glysyyli-(1R,2S)-2-amino-4-metyyli-1-(2-tiatsolyyli)pentan-1-oli			$8,5x10^{-6}$
N-[N-[fenyylimetoksi)karbonyyli]-L-fenyylialanyyli-L-2-(1-metyylietoksi)glysyyli-(S)-2-amino-4-metyyli-(R)-1-(2-tiatsolyyli)-pentan-1-oli			$2,8x10^{-7}$

Taulukko I

Yhdiste	Moolinen pitoisuus	Reniini-inhibitio-%	IC_{50}-moolinen pitoisuus
N-[(fenyylimetoksi)karbonyyli]-L-fenyylialanyyli-L-2-(2-metyylipropoksi)glysyyli-(1R,2S)-2-amino-3-sykloheksyyli-1-(2-tiatsolyyli)propan-1-oli			$8,7x10^{-8}$
N-[(fenyylimetoksi)karbonyyli]-L-fenyylialanyyli-D-2-(2-metyylipropoksi)glysyyli-(1R,2S)-2-amino-3-sykloheksyyli-1-(2-tiatsolyyli)-propan-1-oli			$1,1x10^{-5}$
N-[N-(bentsyylioksikarbonyyli)-L-fenyylialanyyli-L-2-(2-metyylipropoksi)glysyyli-(S)-2-amino-4-metyyli-(R)1-(1-metyyli-1H-1,2,4-triatsol-5-yyli)pentan-1-oli	$1x10^{-4}$	32	
N-[(fenyylimetoksi)karbonyyli]-L-fenyylialanyyli-N-[(S)-(1-formyyli-2-fenyylietyyli]-L-2-(2-metyylipropoksi)glysiiniamidi	$1x10^{-4}$ $1x10^{-5}$	66 59	

Taulukko I

Yhdiste	Moolinen pitoisuus	Reniini-inhibitio-%	IC_{50}-moolinen pitoisuus
N-[(fenyylimetoksi)karbonyyli]-L-fenyylialanyyli-N-[(S)-1-formyyli-3-metyylibutyyli]-L-2-(2-metoksipropoksi)glysiiniamidi	$1x10^{-4}$	70	
	$1x10^{-5}$	50	
N-[(fenyylimetoksi)karbonyyli]-L-fenyylialanyyli-N-[(S)-1-formyyli-3-metyylibutyyli-L-2-(1-metyylietoksi)glysiiniamidi			$1x10^{-5}$
N-[N-[t-butoksikarbonyyli)-L-fenyylialanyyli-L-leusyyli]-(S)2-amino-4-metyyli-(R)1-(2-tienyyli)pentan-1-oli			$4,5x10^{-6}$
N-[N-(bentsyylioksikarbonyyli)-L-fenyylialanyyli-L-2-(1-metyylietoksi)glysyyli-(S)2-amino-4-metyyli-(R)1-(2-tiatsolyyli)pentan-1-oli			$2,8x10^{-7}$

Tämän keksinnön mukaisten uusien yhdisteiden on havaittu olevan erittäin käyttökelpoisia alentamaan kohonnutta verenpainetta imettäväisissä annettuna määrinä noin 5 - 50 mg/kg ruumiinpainoa päivää kohti.

Tämän keksinnön mukaiset yhdisteet annetaan edullisesti ruoansulatuskanavan ulkopuolista reittiä käyttäen,

kuten suoneen, lihakseen tai ihon alle, mutta ne voidaan haluttaessa antaa suun kautta.

Tämän keksinnön mukaiset koostumukset, joilla on haluttu kirkkaus, stabiilius ja soveltuvuus ruoansulatuskanavan ulkopuoliseen käyttöön, saadaan liuottamalla noin 0,10 - 10 paino-% aktiivista ainetta vehikkeliin, joka sisältää polyhydristä alifaattista alkoholia tai tällaisten alkoholien seosta. Erityisen tyydyttäviä ovat glyseriini, propyleeniglykoli ja polyetyleeniglykolit. Vaikka erilaisia polyetyleeniglykolien seoksia voidaan käyttää, on edullista käyttää seosta, jonka keskimääräinen molekyylipaino on noin 200 - 400.

Aktiivisen aineen lisäksi parenteraaliset liuokset voivat sisältää myös erilaisia säilöntäaineita bakteerikasvun estämiseksi samoin kuin antioksidantteja stabiiliuden edistämiseksi.

Lihakseen injektiota varten edullinen aktiivisen aineen pitoisuus on 0,25 - 0,50 mg/ml valmiista koostumuksesta.

Tämän keksinnön mukaiset uudet yhdisteet sopivat yhtä hyvin suoneenantoon laimennettuna vedellä tai laimennusaineilla, joita käytetään intravenöösiin hoitoon, kuten isotoniseen glukoosiin. Suoneenantoa varten alkuperäiset pitoisuudet alennettuna noin 0,05 - 0,25 mg/ml:aan aktiivista ainetta ovat tyydyttäviä.

Seuraavat vertailuesimerkit valaisevat keksinnössä käyttökelpoisten välituoteyhdisteiden valmistusta.

Vertailuesimerkki 1

N^{α}-[(fenyylimetoksi)karbonyyli]-L-fenyylialaniiniamidi

18 g N^{α}-[((fenyylimetoksi)karbonyyli]-L-fenyylialaniinia ja 6,6 ml N-metyylimorfoliinia liuotettiin 150 ml:aan tetrahydrofuraania ja liuosta sekoitettiin -10 °C:ssa samalla kun 8,04 ml isobutyyli-klooriformaattia lisättiin. Yhden minuutin kuluttua seoksen läpi kuplitet-

tiin ammoniakkikaasua, kunnes se kyllästyi. Seosta sekoitettiin vielä 30 minuuttia, jonka jälkeen se kaadettiin jääveteen. Valkoinen kiinteä aine kerättiin talteen, jolloin saatiin 16,76 g haluttua yhdistettä, sp. 164 - 165 °C.

Vertailuesimerkki 2

N-[(fenyylimetoksi)karbonyyli]-L-fenyylialanyyli-D,L-2-hydroksiglysiini

Liuosta, joka sisälsi 16,8 g N^{α}-[(fenyylimetoksi)-karbonyyli]-L-fenyylialaniiniamidia ja 6,06 g glyoksyylihappoa 90 ml:ssa asetonia, kuumennettiin palautusjäähdyttäen kuuden tunnin ajan, jonka jälkeen se kaadettiin jääveteen ja sekoitettiin. Syntynyt valkoinen kiinteä aine kerättiin talteen ja kuivattiin, jolloin saatiin 16,8 g haluttua yhdistettä, sp. 137 - 141 °C.

Vertailuesimerkki 3

N-[(fenyylimetoksi)karbonyyli]-L-fenyylialanyyli-D,L-2-(2-metyylipropoksi)glysiinin2-metyylipropyyliesteri

Seosta, joka sisälsi 9,2 g N-[(fenyylimetoksi)-karbonyyli]-L-fenyylialanyyli-D,L-2-hydroksiglysiiniä 120 ml:ssa 0,5 ml väkevää rikkihappoa sisältävää isobutanolia, sekoitettiin 30 minuutin ajan, jonka jälkeen sitä lämmitettiin höyryhauteella neljä tuntia, jäähdytettiin ja kaadettiin kylmään, kyllästettyyn natriumbikarbonaattiliuokseen. Tämä seos uutettiin kolmesti etyyliasetaatilla. Uutokset yhdistettiin, kuivattiin, suodatettiin ja haihdutettiin, jolloin saatiin kiinteä aine, joka kiteytettiin uudelleen etanolista, jolloin saatiin haluttu yhdiste. Kun kiinteä aine oli kiteytetty uudelleen vesipitoisesta etanolista, se suli 120 - 123 °C:ssa.

Vertailuesimerkki 4

N-[(fenyylimetoksi)karbonyyli]-L-fenyylialanyyli-D,L-2-(2-metyylipropoksi)glysiini

Liuosta, joka sisälsi 7,3 g N-[(fenyylimetoksi)karbonyyli]-L-fenyylialanyyli-D,L-2-(2-metyylipropoksi)gly-

siinin 2-metyylipropyyliesteriä, 15 ml 1 mol/l natriumhydroksidia ja 150 ml metanolia, sekoitettiin 15 tunnin ajan, jonka jälkeen se tehtiin happamaksi 3 mol/l kloorivetyhapolla ja haihdutettiin öljyksi. Veden lisääminen tuotti kiinteän aineen, joka kerättiin talteen, jolloin saatiin 6,1 g haluttua yhdistettä, sp. 99 - 109 °C.

Vertailuesimerkki 5

N-metoksi-N-metyyli-L-fenyylialaniiniamiditrifluoriasetaatti

21,75 g:aan N-metoksi-N-metyyli-L-t-butoksikarbonyylifenyylialaniiniamidia jäähdytettynä jää-metanolihauteessa, lisättiin sekoittaen 50 ml trifluorietikkahappoa. Kolmen tunnin kuluttua liuotin poistettiin tyhjössä. Eetteriä lisättiin kahdesti ja liuotin poistettiin, jonka jälkeen lisättiin 100 ml eetteriä ja seos jäähdytettiin. Syntynyt kiinteä aine kerättiin talteen, pestiin eetterillä ja kuivattiin ilmassa, jolloin saatiin 19 g haluttua yhdistettä kiteinä, sp. 123 - 124 °C.

Vertailuesimerkki 6

N-[(fenyylimetoksi)karbonyyli]-L-fenyylialanyyli-L-2-(2-metyylipropoksi)glysyyli-N-metoksi-N-metyyli-L-fenyylialaniiniamidi ja N-[(fenyylimetoksi)-karbonyyli]-L-fenyylialanyyli-D-2-(2-metyylipropoksi)glysyyli-N-metoksi-N-metyyli-L-fenyylialaniiniamidi

Liuokseen, joka sisälsi 3 g N-[(fenyylimetoksi)karbonyyli]-L-fenyylialanyyli-D,L-2-(2-metyylipropoksi)glysiiniä, 1,73 g 2-etoksi-1(2H)-kinoliinikarboksyylihapon etyyliesteriä ja 70 ml dikloorimetaania, lisättiin liuos, joka sisälsi 2,25 g N-metoksi-N-metyyli-L-fenyylialaniiniamidi-trifluoriasetaattia ja 1,2 ml trietyyliamiinia 35 ml:ssa dikloorimetaania. Tätä seosta sekoitettiin 20 tuntia ja sitten se haihdutettiin. Jäljelle jääneeseen öljyyn lisättiin kloroformia, jonka jälkeen tämä liuos pestiin kolmesti 3 mol/l kloorivetyhapolla, kolmesti kyl-

lästetyllä natriumbikarbonaattiliuoksella ja kolmesti kyllästetyllä natriumkloridiliuoksella ja sitten kuivattiin, suodatettiin ja haihdutettiin, jolloin saatiin 4,8 g öljyä. Tämä öljy yhdistettiin 5,7 g:aan samalla tavalla valmistettua öljyä, vietiin 30 x 2 cm:n silikageelipylvääseen ja eluoitiin etyyliasetaatti-heksaani-seoksella (1:1).

Toinen fraktio tuotti 1,16 g N-[(fenyylimetoksi)karbonyyli]-L-fenyylialanyyli-L-2-(2-metyylipropoksi)glysyyli-N-metoksi-N-metyyli-L-fenyylialaniiniamidin amorfisena kiinteänä aineena, R_f = 0,55 (etyyliasetaatti-heksaani, 1:1), $[\alpha]_D^{26}$ = -11 ± 3° (c, 0,35, metanoli).

Kun välifraktiot oli poistettu, toinen yhdiste, N-[(fenyylimetoksi)karbonyyli]-L-fenyylialanyyli-D-2-(2-metyylipropoksi)glysyyli-N-metoksi-N-metyyli-L-fenyylialaniiniamidi, kerättiin talteen 1,25 g:na amorfista kiinteää ainetta, R_f = 0,33 (etyyliasetaatti-heksaani, 1:1), $[\alpha]_D^{26}$ = 0° (c, 0,3, metanoli).

Vertailuesimerkki 7

N-metoksi-N-metyyli-L-leusiiniamiditrifluoriasetaatti

Seosta, joka sisälsi 2 g N-metoksi-N-metyyli-t-butoksikarbonyyli-L-leusiiniamidia ja 20 ml trifluorietikkahappo-vesi-seosta (9:1), sekoitettiin 0 °C:ssa neljän tunnin ajan. Liuotin poistettiin tyhjössä ja öljymäinen jäännös trituroitiin eetterin kanssa. Syntynyt kiinteä aine kerättiin talteen ja kuivattiin ilmassa, jolloin saatiin 1,7 g haluttua yhdistettä valkoisena kiinteänä aineena, sp. 96 - 98 °C.

Vertailuesimerkki 8

N-[(fenyylimetoksi)karbonyyli]-L-fenyylialanyyli-L-2-(2-metyylipropoksi)glysyyli-N-metoksi-N-metyyli-L-leusiiniamidi ja N-[(fenyylimetoksi)karbonyyli]-L-fenyylialanyyli-D-2-(2-metyylipropoksi)glysyyli-N-metoksi-N-metyyli-L-leusiiniamidi

Liuokseen, joka sisälsi 3 g N-[(fenyylimetoksi)karbonyyli]-L-fenyylialanyyli-D,L-2-(2-metyylipropoksi)gly-

siiniä, 1,73 g 2-etoksi-1(2H)-kinoliinikarboksyylihapon etyyliesteriä ja 70 ml dikloorimetaania, lisättiin liuos, joka sisälsi 2,08 g N-metoksi-N-metyyli-L-leusiiniamiditrifluoriasetaattia ja 1,2 ml trietyyliamiinia 35 ml:ssa dikloorimetaania. Tätä seosta sekoitettiin 17 tuntia ja sitten se haihdutettiin. Jäljelle jääneeseen öljyyn lisättiin kloroformia, jonka jälkeen saatu liuos pestiin kolmesti sekä 3 mol/l kloorivetyhapolla, kyllästetyllä natriumbikarbonaattiliuoksella että kyllästetyllä natriumkloridiliuoksella ja sitten kuivattiin, suodatettiin ja haihdutettiin. Jäljelle jäänyt öljy vietiin 30 x 2 cm:n silikageelipylvääseen ja eluoitiin etyyliasetaatti-heksaaniseoksella (1:1) keräten 25 ml:n fraktioita. Fraktiot 8 - 10 yhdistettiin ja haihdutettiin, jolloin saatiin 0,76 g N-[(fenyylimetoksi)karbonyyli]-L-fenyylialanyyli-L-2-(2-metyylipropoksi)glysyyli-N-metoksi-N-metyyli-L-leusiiniamidia öljynä, R_f = 0,60 (etyyliasetaatti-heksaani, 1:1), $[\alpha]_D^{26}$ = -29 ± 3° (c, 0,35, metanoli).

Fraktiot 12 - 17 yhdistettiin ja haihdutettiin, jolloin saatiin 1,16 g N-[(fenyylimetoksi)karbonyyli]-L-fenyylialanyyli-D-(2-metyylipropoksi)glysyyli-N-metoksi-N-metyyli-L-leusiiniamidia öljynä, R_f = 0,43 (etyyliasetaatti-heksaani, 1:1), $[\alpha]_D^{26}$ = -7 ± 2° (c, 0,635, metanoli).

Vertailuesimerkki 9

N-[(fenyylimetoksi)karbonyyli]-L-fenyylialanyyli-D,L-2-metoksiglysiinin metyyliesteri

Liuosta, joka sisälsi 0,4 g N-[(fenyylimetoksi)karbonyyli]-L-fenyylialanyyli-D,L-2-hydroksiglysiiniä, 50 ml metanolia ja 0,3 ml väkevää rikkihappoa, sekoitettiin kaksi päivää, jonka jälkeen liuos kaadettiin kylmään, kyllästettyyn natriumbikarbonaattiliuokseen. Saatu suspensio uutettiin etyyliasetaatilla. Uutos kuivattiin, suodatettiin ja haihdutettiin. Jäännös kiteytettiin uudelleen ve-

sipitoisesta metanolista, jolloin saatiin 0,25 g haluttua yhdistettä, sp. 128 - 132 °C.

Vertailuesimerkki 10

N-[(fenyylimetoksi)karbonyyli]-L-fenyylialanyyli-D,L-2-metoksiglysiini

Liuosta, joka sisälsi 0,47 g D,L-2-metoksi-N-[(N-[(fenyylimetoksi)karbonyyli]-L-fenyylialanyyli]glysiinin metyyliesteriä 15 ml:ssa metanolia ja 1,2 ml 1 mol/l natriumhydroksidia, sekoitettiin yhden tunnin ajan, jonka jälkeen se tehtiin happamaksi ja haihdutettiin. Jäännökseen lisättiin vettä. Saatu kiinteä aine kiteytettiin uudelleen vesipitoisesta metanolista, jolloin saatiin 0,2 g haluttua yhdistettä kiinteänä aineena, sp. 75 - 90 °C.

Vertailuesimerkki 11

N-[(fenyylimetoksi)karbonyyli]-L-fenyylialanyyli-D,L-2-etoksiglysiinin etyylieetteri

Liuosta, joka sisälsi 3,7 g N-[(fenyylimetoksi)-karbonyyli]-L-fenyylialanyyli-D,L-2-hydroksiglysiiniä 50 ml:ssa etanolia ja 0,3 ml väkevää rikkihappoa, sekoitettiin 18 tuntia, jonka jälkeen sitä kuumennettiin palautusjäähdyttäen 48 tuntia. Kirkas liuos kaadettiin kylmään, kyllästettiin natriumbikarbonaattiliuokseen ja uutettiin sitten kolmesti etyyliasetaatilla. Uutokset yhdistettiin, pestiin vedellä, kuivattiin, suodatettiin ja haihdutettiin. Öljymäinen jäännös jähmettyi ja se kiteytettiin uudelleen kloroformi-heksaani-seoksesta, jolloin saatiin 1,7 g haluttua yhdistettä, sp. 99 - 110 °C (haj.).

Vertailuesimerkki 12

N-[(fenyylimetoksi)karbonyyli]-L-fenyylialanyyli-D,L-2-etoksiglysiini

Liuosta, joka sisälsi 1,5 g N-[(fenyylimetoksi)karbonyyli]-L-fenyylialanyyli-D,L-2-etoksiglysiininetyyliesteriä, 50 ml metanolia ja 3,5 ml 1 mol/l natriumhydroksidia, sekoitettiin yli yön, jonka jälkeen se tehtiin happamaksi 6 mol/l kloorivetyhapolla ja haihdutettiin öljyksi.

Vettä lisättiin ja seosta sekoitettiin, kunnes öljy jähmettyi. Yksi uudelleenkiteytys kloroformi-heksaani-seoksesta tuotti 1 g:n haluttua yhdistettä valkoisena, kiinteänä aineena, sp. 138 - 143 °C (haj.).

Vertailuesimerkki 13

N-[(fenyylimetoksi)karbonyyli]-L-fenyylialanyyli-D,L-2-(1-metyylietoksi)glysiinin1-metyylietyyliesteri

Seosta, joka sisälsi 3,7 g N-[(fenyylimetoksi)karbonyyli]-L-fenyylialanyyli-D,L-2-hydroksiglysiiniä, 50 ml isopropanolia ja 0,3 ml väkevää rikkihappoa, sekoitettiin huoneenlämpötilassa 17 tuntia, lämmitettiin höyryhauteella puoli tuntia ja sekoitettiin sitten huoneenlämpötilassa 48 tuntia. Tämä seos suodatettiin ja suodos haihdutettiin öljyksi, joka jähmettyi sen jälkeen, kun se oli pesty natriumbikarbonaattiliuoksella ja vedellä. Tämä kiinteä aine kromatografoitiin 30 x 2 cm:n silikageelipylväässä eluoiden etyyliasetaatti-heksaani-seoksella (1:1) ja 25 ml:n fraktioita kerättiin. Ensimmäiset kaksi fraktiota yhdistettiin ja haihdutettiin, jolloin saatiin 0,6 g haluttua yhdistettä, sp. 103 - 111 °C, R_f = 0,87 (etyyliasetaatti-heksaani, 1:1), $[\alpha]_D^{26}$ = +5 ± 1° (c, 1,1, metanoli).

Vertailuesimerkki 14

N-[(fenyylimetoksi)karbonyyli]-L-fenyylialanyyli-D,L-2-(1-metyylietoksi)glysiini

Liuosta, joka sisälsi 1,4 g N-[(fenyylimetoksi)-karbonyyli]-L-fenyylialanyyli-D,L-2-(1-metyylietoksi)glysiinin 1-metyylietyyliesteriä, 45 ml metanolia ja 3 ml 1 mol/l natriumhydroksidia, sekoitettiin 20 tunnin ajan, jonka jälkeen se tehtiin happamaksi 6 mol/l kloorivetyhapolla ja haihdutettiin. Jäännökseen lisättiin vettä ja seosta sekoitettiin, kunnes valkoinen kiinteä aine erottui. Tämä kiinteä aine kiteytettiin uudelleen kloroformi-heksaani-seoksesta, jolloin saatiin 0,7 g haluttua yhdis-

tettä valkoisena kiinteänä aineena, sp. 122 - 128 °C (haj.).

Vertailuesimerkki 15

N-[(fenyylimetoksi)karbonyyli]-L-fenyylialanyyli-L-2-(1-metyylietoksi)glysyyli-N-metoksi-N-metyyli-L-leusiiniamidi

Liuos, joka sisälsi 1,37 g N-metoksi-N-metyyli-L-leusiiniamidi-trifluoriasetaattia, 0,7 ml trietyyliamiinia ja 10 ml dikloorimetaania, lisättiin liuokseen, joka sisälsi 1,9 g N-[(fenyylimetoksi)karbonyyli]-L-fenyylialanyyli-D,L-2-(1-metyylietoksi)glysiiniä ja 1,14 g 2-etoksi-1(2H)-kinoliinikarboksyylihapon etyyliesteriä 25 ml:ssa dikloorimetaania. Tätä seosta sekoitettiin 18 tuntia, jonka jälkeen se haihdutettiin öljyksi. Öljy pestiin kolmesti sekä 3 mol/l kloorivetyhapolla, natriumbikarbonaattiliuoksella sekä natriumkloridiliuoksella, kuivattiin, suodatettiin ja haihdutettiin. Öljymäinen jäännös kromatografoitiin 40 x 3 cm:n silikageelipylväässä eluoiden etyyliasetaatti-heksaani-seoksella ja 50 ml:n fraktioita kerättiin. Fraktiot 4 - 6 yhdistettiin ja haihdutettiin, jolloin saatiin 0,9 g haluttua yhdistettä amorfisena kiinteänä aineena, R_f = 0,5 (etyyliasetaatti-heksaani, 1:1), $[\alpha]_D^{26}$ = -45 ± 2° (c, 0,645, metanoli).

Vertailuesimerkki 16

N-[(fenyylimetoksi)karbonyyli]-L-fenyylialanyyli-D,L-2-(fenyylimetoksi)glysiininfenyylimetyylieste-ri

Suspensio, joka sisälsi 37 g N-[(fenyylimetoksi)-karbonyyli]-L-fenyylialanyyli-D,L-2-hydroksiglysiiniä 250 ml:ssa bentsyylialkoholia, käsiteltiin 3 ml:lla väkevää rikkihappoa, kuumennettiin höyryhauteessa 1,5 tuntia, laimennettiin heksaanilla ja jäähdytettiin. Kiinteä aine kerättiin talteen, pestiin eetterillä ja kiteytettiin uudelleen etyyliasetaatti-eetteri-seoksesta, jolloin saatiin 27,5 g haluttua yhdistettä, sp. 130 - 140 °C.

Vertailuesimerkki 17

N-[(fenyylimetoksi)karbonyyli]-L-fenyylialanyyli-D,L-2-(fenyylimetoksi)glysiini

Suspensioon, joka sisälsi 29,9 g N-[(fenyylimetoksi)karbonyyli]-L-fenyylialanyyli-D,L-2-(fenyylimetoksi)-glysiinin fenyylimetyyliesteriä 500 ml:ssa metanolia, lisättiin 60 ml 1 mol/l natriumhydroksidia sekoittaen. Sekoitusta jatkettiin 1,5 tuntia, jonka jälkeen seos kuumennettiin kiehuvaksi liuoksen saamiseksi, suodatettiin ja suodos tehtiin happamaksi pH-arvoon 1,5 1 mol/l kloorivetyhapolla, jonka jälkeen lisättiin vettä, kunnes liuos sameni. Saatu suspensio jäähdytettiin ja kiinteä aine kerättiin talteen ja kuivattiin, jolloin saatiin 22,34 g haluttua yhdistettä, sp. 139 - 142 °C.

Vertailuesimerkki 18

(-)-N-[(fenyylimetoksi)karbonyyli]-L-fenyylialanyyli-[R-(tai S)]-2-(fenyylimetoksi)glysyyli-N-metoksi-N-metyyli-L-fenyylialaniiniamidi ja (+)-N-[(fenyylimetoksi)karbonyyli]-L-fenyylialanyyli-[R-(tai S)]-2-(fenyylimetoksi)glysyyli-N-metoksi-N-metyyli-L-fenyylialaniiniamidi

Suspensioon, joka sisälsi 12,47 g N-[(fenyylimetoksi)karbonyyli]-L-fenyylialanyyli-D,L-2-(fenyylimetoksi)-glysiiniä 140 ml:ssa dikloorimetaania, lisättiin 7,4 g 2-etoksi-1(2H)-kinoliinikarboksyylihapon etyyliesteriä. Seosta sekoitettiin viisi minuuttia, jonka jälkeen siihen lisättiin liuos, joka sisälsi 8,7 g N-metoksi-N-metyyli-L-fenyylialaniiniamiditrifluoriasetaattia ja 3,8 ml trietyyliamiinia 50 ml:ssa dikloorimetaania ja sekoitusta jatkettiin yli yön. Liuos konsentroitiin öljyksi, joka liuotettiin 100 ml:aan etyyliasetaattia, pestiin 2 mol/l dikloorimetaaniolla, natriumbikarbonaattiliuoksella ja suolavedellä, kuivattiin, suodatettiin ja konsentroitiin öljyksi.

Tämä öljy kromatografoitiin kahdessa erässä HPLC:llä käyttäen Waters Prep 520 -pylvästä (silikageeli) ja etyyliasetaatti-dikloorimetaani-seosta (1:4) eluointiliuoksena. 10 pylvään tilavuuden (hold-back volumes) jälkeen vähiten poolinen komponentti eluoitiin etyyliasetaatti-dikloorimetaani-seoksella (1:1). Nämä fraktiot konsentroitiin tyhjössä ja jäännös kiteytettiin ensin dikloorimetaani-di-isopropyylieetteri-seoksesta ja sitten etyyliasetaatti-di-isopropyylieetteri-seoksesta, jolloin saatiin 4,0 g (+)-N-[(fenyylimetoksi)karbonyyli]-L-fenyylialanyyli-[R-(tai S)]-2-(fenyylimetoksi)glysyyli-N-metoksi-N-metyyli-L-fenyylialaniiniamidia, sp. 135 - 140 °C, $[\alpha]_D^{26}$ = +17 ± 0,5° (c, 0,12, kloroformi).

Poolisemman komponentin sisältävät fraktiot konsentroitiin tyhjössä ja jäännös kiteytettiin di-isopropyylieetteri-dikloorimetaani-seoksesta, jolloin saatiin 5,73 g(-)-N-](fenyylimetoksi)karbonyyli]-L-fenyylialanyyli-[R-(tai S)]-2-(fenyylimetoksi)glysyyli-N-metoksi-N-metyyli-L-fenyylialaniiniamidia, sp. 138 - 139 °C, $[\alpha]_D^{26}$ = -30 ± 1° (c, 1,385, metanoli).

Vertailuesimerkki 19

N-[(fenyylimetoksi)karbonyyli]-L-fenyylialanyyli-D-2-(fenyylimetoksi)glysyyli-N-metoksi-N-metyyli-L-leusiiniamidi ja N-[(fenyylimetoksi)karbonyyli]-L-fenyylialanyyli-L-2-(fenyylimetoksi)glysyyli-N-metoksi-N-metyyli-L-leusiiniamidi

Suspensioon, joka sisälsi 13,9 g N-[(fenyylimetoksi)karbonyyli]-L-fenyylialanyyli-D,L-2-(fenyylimetoksi)-glysiiniä 60 ml:ssa dikloorimetaania, lisättiin 7,4 g 2-etoksi-1(2H)-kinoliinikarboksyylihapon etyyliesteriä. Kun suspensio oli kokonaan liuennut, siihen lisättiin liuos, joka sisälsi 8,8 g N-metoksi-N-metyyli-L-leusiiniamiditrifluoriasetaattia ja 4,1 ml trietyyliamiinia 58 ml:ssa dikloorimetaania. Tätä liuosta sekoitettiin yli yön, jonka jälkeen se pestiin kolmesti 60 ml:n annoksilla sekä

2 mol/l dikloorimetaanipoa, 1 mol/l natriumbikarbonaattia että natriumkloridiliuosta. Orgaaninen kerros kuivattiin, suodatettiin ohuen, dikloorimetaanilla pestyn vesipitoisen magnesiumsilikaattipatsaan läpi ja konsentroitiin tyhjössä, jolloin saatiin 16,1 g öljyä. Tämä öljy kromatografoitiin HPLC:llä käyttäen Water Prep 520 -pylvästä (silikageeli) ja etyyliasetaatti-dikloorimetaani-seosta (1:4) liuottimena. Kaksi komponenttia (A ja B) erotettiin kahdesta pääpiikistä.

Komponentin A sisältävät fraktiot yhdistettiin ja konsentroitiin tyhjössä, jolloin saatiin öljy, joka kiteytettiin eetteristä, jolloin saatiin 4,46 g N-[(fenyylimetoksi)karbonyyli]-L-fenyylialanyyli-L-2-(fenyylimetoksi)-glysyyli-N-metoksi-N-metyyli-L-leusiiniamidia valkoisina kiteinä, sp. 88 - 89 °C, $[\alpha]_D^{26}$ = -39 ± 1° (c, 0,96, metanoli).

Komponentin B sisältävät fraktiot yhdistettiin ja liuotin poistettiin tyhjössä, jolloin saatiin 7,1 g N-[(fenyylimetoksi)karbonyyli]-L-fenyylialanyyli-D-2-(fenyylimetoksi)glysyyli-N-metoksi-N-metyyli-L-leusiiniamidia öljynä.

Vertailuesimerkki 20

N-[(fenyylimetoksi)karbonyyli]-L-fenyylialanyyli-D,L-2-(sykloheksyylimetoksi)glysiinin sykloheksyylimetyyliesteri

Seosta, joka sisälsi 30 g N-[(fenyylimetoksi)karbonyyli]-L-fenyylialanyyli-D,L-2-hydroksiglysiiniä, 100 g sykloheksyylimetanolia ja 2,4 ml väkevää rikkihappoa, sekoitettiin ja kuumennettiin 90 - 100 °C:ssa neljä tuntia. Sitten seos jäähdytettiin ja sitä sekoitettiin yli yön huoneenlämpötilassa. Heksaania lisättiin ja kiinteä aine kerättiin talteen, pestiin heksaanilla, kylmällä vedellä, kyllästetyllä natriumbikarbonaattiliuoksella ja uudelleen vedellä. Tämä kiinteä aine kromatografoitiin silikageelipylväällä eluoiden dikloorimetaani-etyyliasetaatti-seok-

sella (98:2). Tuotefraktiot yhdistettiin, haihdutettiin ja jäännös trituroitiin heksaanin kanssa. Suodatus tuotti 19,1 g haluttua yhdistettä valkoisina kiteinä, sp. 122 - 125 °C, $[\alpha]_D^{26}$ = -8 ± 1° (c, 1,14, asetoni).

Vertailuesimerkki 21

N-[(fenyylimetoksi)karbonyyli]-L-fenyylialanyyli-D,L-2-(sykloheksyylioksi)glysiininsykloheksyyliesteri

Seosta, joka sisälsi 3,7 g N-[(fenyylimetoksi)karbonyyli]-L-fenyylialanyyli-D,L-2-hydroksiglysiiniä, 50 ml sykloheksanolia ja 0,3 ml väkevää rikkihappoa, kuumennettiin höyryhauteella kahden tunnin ajan, jonka jälkeen sitä jäähdytettiin yli yön. 50 ml:n annos etyyliasetaattia lisättiin, seos pestiin natriumbikarbonaattiliuoksella ja suolavedellä ja kuivattiin. Liuos suodatettiin ohuen, vesipitoisen magnesiumsilikaattipatsaan läpi ja suodos konsentroitiin tyhjössä öljyksi. Öljy kiteytettiin heksaanista jäähdyttäen ja kiteytettiin uudelleen metanolista, jolloin saatiin 2,2 g haluttua yhdistettä valkoisina kiteinä, sp. 106 - 118 °C.

Vertailuesimerkki 22

N-[(fenyylimetoksi)karbonyyli]-L-fenyylialanyyli-D,L-2-(sykloheksyylioksi)glysiini

Liuokseen, joka sisälsi 4,5 g N-[(fenyylimetoksi)-karbonyyli]-L-fenyylialanyyli-D,L-2-(sykloheksyylioksi)-glysiinin sykloheksyyliesteriä 40 ml:ssa lämmintä metanolia, lisättiin 9,2 ml 1 mol/l natriumhydroksidia. Tätä seosta sekoitettiin kaksi tuntia, jonka jälkeen se tehtiin happamaksi 5 ml:lla 2 mol/l kloorivetyhappoa ja laimennettiin vedellä, kunnes se sameni. Seosta laimennettiin edelleen vedellä, sekoitettiin, jäähdytettiin ja kiinteä aine kerättiin talteen. Tämä kiinteä aine kiteytettiin uudelleen kloroformi-heksaani-seoksesta, jolloin saatiin 3,28 g haluttua yhdistettä, sp. 119 - 121 °C, $[\alpha]_D^{26}$ = -3 ± 2° (c, 0,539, metanoli).

Vertailuesimerkki 23

5-[(S)2-t-butoksikarbonyyliamino-(R,S)1-hydroksi-4-metyylipentyyli]-2-tiopeenikarboksyylihappo

Liuos, joka sisälsi 3,9 g kuivaa, tislattua diisopropyyliamiinia 10 ml:ssa kuivaa tetrahydrofuraania argonin alla, jäähdytettiin -70 °C:seen ja liuokseen lisättiin 11,81 ml 2,36 mol/l n-butyylilitiumia tetrahydrofuraanissa ruiskun avulla. Liuosta sekoitettiin 20 minuuttia, jonka jälkeen siihen lisättiin ruiskun avulla liuos, joka sisälsi 1,7 g 2-tiopeenikarboksyylihappoa 10 ml:ssa tetrahydrofuraania. Kun seosta oli sekoitettu 40 minuuttia -70 °C:ssa, siihen lisättiin liuos, joka sisälsi 1,5 g N-t-butoksikarbonyyli-L-leusinaalia 10 ml:ssa tetrahydrofuraania. Seosta sekoitettiin -70 °C:ssa yhden tunnin ajan ja reaktio pysäytettiin 10-%:isella ammoniumkloridiliuoksella. Seoksen annettiin lämmetä huoneenlämpötilaan ja liuotin poistettiin tyhjössä. Jäännös uutettiin eetterillä. Yhdistetyt eetteriuutokset pestiin 1 mol/l dikloorimetaaniolla, kyllästetyllä natriumbikarbonaattiliuoksella ja kyllästetyllä natriumkloridiliuoksella ja kuivattiin. Liuotin poistettiin tyhjössä ja jäännös kromatografoitiin silikageelipylväässä käyttäen heksaani-etyyliasetaatti-etikkahappo-seosta (1:1:0,002) eluointiliuoksena. Tuotteen sisältävät fraktiot yhdistettiin ja liuotin poistettiin, jolloin saatiin 0,28 g kumia; TLC (silikageeli) heksaani-etyyliasetaatti-etikkahappo-seos (1:1:0,002) liuottimena: R_f = 0,36.

Vertailuesimerkki 24

(S)2-t-butoksikarbonyyliamino-4-metyyli-(R,S)1-(2-furanyyli)pentan-1-oli

0,545 ml:aan furaania 10 ml:ssa kuivaa tetrahydrofuraania argonin alla jäähdytettynä -20 °C:seen lisättiin 3,35 ml 2,36 mol/l n-butyylilitiumia heksaanissa. Liuoksen annettiin lämmetä 10 °C:seen ja sitä sekoitettiin kaksi tuntia. Liuos jäähdytettiin -70 °C:seen (kuiva jää/ase-

toni) ja 1,70 g N-t-butoksikarbonyyli-L-leusinaalia 10 ml:ssa tetrahydrofuraania lisättiin. Tunnin kuluttua -70 °C:ssa 10 ml 10-%:ista ammoniumkloridia lisättiin. Seos konsentroitiin tyhjössä, laimennettiin vedellä ja uutettiin eetterillä. Yhdistetyt eetteriuutokset kuivattiin ja konsentroitiin. Jäännös puhdistettiin kahdesti ohutlevykromatografisesti silikageelilevyillä, jolloin saatiin 0,20 g tuotetta kumina; R_f = 0,22 ohutlevykromatografialla (silikageeli) heksaani-etyyliasetaatti-seos (4:1) liuottimena.

Vertailuesimerkki 25

(S)2-t-butoksikarbonyyliamino-4-metyyli-(R,S)1-(2-tienyyli)pentan-1-oli

Liuokseen, joka sisälsi 1,4 g tiopeenia 20 ml:ssa kuivaa tetrahydrofuraania typen alla, lisättiin 7,05 ml 2,36 mol/l n-butyylilitiumia tetrahydrofuraanissa. Liuosta sekoitettiin huoneenlämpötilassa 45 minuuttia, jonka jälkeen se jäähdytettiin -70 °C:seen (kuiva jää/asetoni-haude). Liuos, joka sisälsi 1,79 g N-t-butoksikarbonyyli-L-leusinaalia 10 ml:ssa kuivaa tetrahydrofuraania, lisättiin ruiskun avulla. Seosta sekoitettiin (-68 °C) yhden tunnin ajan ja reaktio pysäytettiin 10-%:isella ammoniumkloridiliuoksella. Kun liuos oli lämmennyt huoneenlämpötilaan, liuotin (tetrahydrofuraani) poistettiin tyhjössä. Jäljelle jäänyt vesipitoinen seos uutettiin eetterillä. Yhdistetyt eetteriuutokset pestiin 50 ml:lla 1 mol/l kloorivetyhappoa, kyllästettyä natriumbikarbonaattiliuosta ja kyllästettyä natriumkloridiliuosta ja kuivattiin. Liuotin poistettiin ja jäännös kromatografoitiin silikageelipylväässä käyttäen heksaani-etyyliasetaatti-seosta (gradienttieluutio) liuottimena. Tuote eluoitiin heksaani-etyyliasetaatti-seoksella (4:1). Tuotteen sisältävät fraktiot yhdistettiin ja liuotin poistettiin tyhjössä, jolloin saatiin 1,15 g kumia; R_f = 0,34 TLC:llä (silikageeli) heksaani-etyyliasetaatti-seos (4:1) liuottimena.

Vertailuesimerkki 26

5-[(S)2-bentsyylioksikarbonyyliamino-(R,S)1-hydroksi-4-metyylipentyyli]-2-tiofeenikarboksyylihappo

Liuokseen, joka sisälsi 3,74 ml kuivaa, tislattua di-isopropyyliamiinia 10 ml:ssa kuivaa tetrahydrofuraania -70 °C:ssa argonin alla, lisättiin 11,33 ml 2,36 mol/l n-butyylilitiumia tetrahydrofuraanissa ruiskun avulla. Kun seosta oli sekoitettu 20 minuuttia, liuos, joka sisälsi 1,71 g 2-tiogeenikarboksyylihappoa 10 ml:ssa tetrahydrofuraania, lisättiin ruiskun avulla. Seosta sekoitettiin -70 °C:ssa 40 minuuttia, jonka jälkeen lisättiin 1,66 g N-t-butoksikarbonyyli-L-leusinaalia 10 ml:ssa tetrahydrofuraania. Liuosta sekoitettiin -70 °C:ssa yhden tunnin ajan ja reaktio pysäytettiin 10-%:isella ammoniumkloridiliuoksella. Seoksen annettiin lämmetä huoneenlämpötilaan ja tetrahydrofuraani poistettiin tyhjössä. Jäljelle jäänyt vesipitoinen seos uutettiin eetterillä ja yhdistetyt eeterіuutokset pestiin 1 mol/l kloorivetyhapolla ja kyllästetyllä natriumkloridiliuoksella. Uutos kuivattiin ja liuotin poistettiin. Jäännös kromatografoitiin silikageelipylväässä eluoiden heksaani-etyyliasetaatti-seoksella (1:1), joka sisälsi 0,5 % etikkahappoa. Tuotteen sisältävät fraktiot yhdistettiin, jolloin saatiin 0,23 g kiteitä, sp. 113 - 117 °C.

Massaspektri (FAB-alhainen res.) 378 (M+H).

Analyysi yhdisteelle $C_{19}H_{23}NSO_5$:

Laskettu: C 60,5 H 6,1 N 3,7

Saatu: C 60,5 H 6,5 N 4,0

Vertailuesimerkki 27

(S)2-amino-4-metyyli-(R)1-(2-tiatsolyyli)-pentan-1-oli

2-trimetyylisilyylitiatsoli [Medici, A. et al., Chem. Com. 655 (1981)] valmistettiin seuraavasti: Yhden litran kolmikaulaiseen pulloon, joka oli varustettu kahdella kumieristimellä, matalassa lämpötilassa toimivalla

(-100 °C) lämpömittarilla ja magneettisekoittajalla ja kuivattu lämpöpistoolilla ja kuivattu typpivirralla, lisättiin ruiskun avulla 150 ml juuri avatusta pullosta otettua dietyylieetteriä. 32,8 g:n annos 2-bromitiatsolia lisättiin ja sitten lisättiin vielä 50 ml eetteriä. Seos jäähdytettiin -65 °C:seen kuiva jää/isopropanoli-hauteessa ja 87 ml 2,3 mol/l n-butyylilitiumia heksaanissa lisättiin hyvin hitaasti käyttäen 50 ml:n ruiskua, joka oli varustettu pitkällä, nro 18 neulalla sekoittaen ja pitäen lämpötila alle -50 °C:ssa. Saatua tummanruskeaa liuosta sekoitettiin -65 °C:ssa yksi tunti, jonka jälkeen se käsiteltiin 25,4 ml:lla trimetyylisilyylikloridia ruiskun avulla. Seosta sekoitettiin 30 minuuttia sekä -60 °C:ssa, -30 °C:ssa että 0 °C:ssa. Seos pestiin 200 ml:lla 0,5 mol/l natriumbikarbonaattia ja sitten suolaliuosta, kuivattiin, käsiteltiin hiilellä, suodatettiin vesipitoisen magnesiumsilikaattipatsaan läpi ja konsentroitiin öljyksi. Öljy fraktioitiin hitaasti ja varovasti 10 cm:n Vigreux-pylväässä, jolloin saatiin 18 g 2-trimetyylisilyylitiatsolia värittömänä öljynä, kp. 55 - 60 °C.

Liuokseen, joka sisälsi 10,8 g t-butoksikarbonyyli-L-leusinaalia 40 ml:ssa dikloorimetaania, lisättiin 9,4 g 2-trimetyylisilyylitiatsolia 10 ml:ssa dikloorimetaania. Reaktioseoksen annettiin seistä 48 tuntia, jonka jälkeen se jäähdytettiin jäähauteessa ja käsiteltiin varovasti 30 ml:lla 1 mol/l tetra-n-butyyliammoniumfluoridia tetrahydrofuraanissa. Tätä seosta kuumennettiin palautusjäähdyttäen 1,5 tuntia ja konsentroitiin sitten öljyksi. Öljy liuotettiin 100 ml:aan etyyliasetaattia, pestiin 50 ml:lla sekä 2N sitruunahappoa, 1 mol/l natriumbikarbonaattia että suolaliuosta ja kuivattiin. Liuos käsiteltiin aktiivihiilellä, suodatettiin vedettömän magnesiumsilikaattipatsaan läpi ja konsentroitiin öljyksi. Tämä öljy liuotettiin 50 ml:aan 10-%:ista etyyliasetaattia dikloorimetaanissa ja kromatografoitiin kahdessa pylväässä samassa liuottimessa.

Refraktioindeksiä monitoroitiin arvossa S 20, 250 ml/min. Pääpiikki pylvään tilavuuksissa (hold-back volumes) 6 - 10 jaettiin yhden litran annoksiin, jotka haihdutettiin erikseen. Näistä kolme ensimmäistä kiteytyivät ja kiinteät aineet kiteytettiin uudelleen isopropyylieetteristä ja heksaanista, jolloin saatiin 0,7 g (S)2-(t-butoksikarbonyyli)amino-4-metyyli-(S)1-(2-tiatsolyyli)pentan-1-olia kiteinä, sp. 121 - 122 °C.

Kolmen ensimmäisen jaoksen ja myöhempien jaosten emoliuoksista saatiin 5,7 g (S)2-(t-butoksikarbonyyli)amino-4-metyyli-(R)1-(2-tiatsolyyli)pentan-1-olia öljynä.

5,2 g:aan tätä öljyä lisättiin 100 ml vedetöntä 2 mol/l kloorivetyhappoa etyyliasetaatissa sekoittaen. Kun seosta oli sekoitettu yksi tunti, se laimennettiin 100 ml:lla heksaania, jäähdytettiin jää-metanoli-hauteessa -10 °C:ssa ja kiinteä aine kerättiin talteen, jolloin saatiin 4,34 g (S)2-amino-4-metyyli-(R)1-(2-tiatsolyyli)pentan-1-olin hydrokloridia kiteinä, sp. 134 - 144 °C.

Liuokseen, joka sisälsi 3,5 g tätä hydrokloridia 12 ml:ssa vettä, lisättiin tipoittain 1,8 ml 15 mol/l ammoniumhydroksidia. Jäähdytys ja suodatus tuotti 1,55 g kiinteää ainetta. Uudelleenkiteytys isopropanolista tuotti halutun yhdisteen kiteinä, sp. 81 - 82 °C, $[\alpha]_D^{26}$ = -12 ± 1° (c, 1,0, metanoli).

Vertailuesimerkki 28

t-butoksikarbonyyli-L-sykloheksyylialaninaali

5,13 g:n annos L-sykloheksyylialaniinia liuotettiin seokseen, joka sisälsi 60 ml p-dioksaania, 30 ml vettä ja 30 ml 1-mol/l natriumhydroksidia. Tähän liuokseen lisättiin sekoittaen ja jäähauteessa jäähdyttäen 7,19 g di-t-butyylidikarbonaattia. Suspensio muodostui muutaman minuutin kuluttua ja seosta sekoitettiin 0 °C:ssa yhden tunnin ajan, jonka jälkeen se konsentroitiin vakuumissa noin 40 ml:ksi. 150 ml:n annos etyyliasetaattia lisättiin ja seosta sekoitettiin ja jäähdytettiin jäähauteessa, samalla

kun pH säädettiin arvoon 2 kaliumvetysulfaatilla. Vesipitoinen kerros erotettiin ja uutettiin kahdella 75 ml:n annoksella etyyliasetaattia. Orgaaninen kerros ja uutokset yhdistettiin, pestiin kahdella 100 ml:n annoksella suolaliuosta, kuivattiin ja haihdutettiin tyhjössä, jolloin saatiin 8,0 g N^{α}-t-butoksikarbonyyli-L-sykloheksyylialaniinia värittömänä kumina, $[\alpha]_D^{26}$ = -2 ± 1° (c, 1,0, kloroformi).

Liuokseen, joka sisälsi 9,52 g imidatsolia 80 ml:ssa dikloorimetaania argonin alla, lisättiin liuos, joka sisälsi 6,22 g fenyylidikloorifosfaattia 20 ml:ssa dikloorimetaania. Kun seosta oli sekoitettu yhden tunnin ajan, se jäähdytettiin 0 °C:seen ja liuos, joka sisälsi 7,6 g N^{α}-t-butoksikarbonyyli-L-sykloheksyylialaniinia 20 ml:ssa dikloorimetaania, lisättiin 10 minuutin aikana. Tätä seosta sekoitettiin 1,5 tuntia 0 - 5 °C:ssa, jonka jälkeen siihen lisättiin 3,28 g N,O-dimetyylihydroksyyliamiinihydrokloridia. Tätä seosta sekoitettiin 19 tuntia 0 - 5 °C:ssa, jonka jälkeen se laimennettiin 100 ml:lla dikloorimetaania ja pestiin 100 ml:lla 1 mol/l kloorivetyhappoa, 80 ml:lla 0,5 mol/l kloorivetyhappoa, kahdella 80 ml:n annoksella 50-%:isesti kyllästettyä kaliumkarbonaattiliuosta ja 80 ml:lla suolaliuosta. Orgaaninen kerros kuivattiin ja haihdutettiin, jolloin saatiin 8,38 g N-metoksi-N-metyyli-N^{α}-butoksikarbonyyli-L-sykloheksyylialaniiniamidia värittömänä kumina, $[\alpha]_D^{26}$ = -10 ± 1° (c, 1,0, kloroformi).

Suspensioon, joka sisälsi 1,25 g litiumaluminiumhydridiä 100 ml:ssa dietyylieetteriä argonin alla, jäähdytettynä 0 °C:seen, lisättiin liuos, joka sisälsi 7,85 g N-metoksi-N-metyyli-N^{α}-t-butoksikarbonyyli-L-sykloheksyylialaniiniamidia 20 ml:ssa dietyylieetteriä. Tätä seosta sekoitettiin 0 °C:ssa 0,5 tuntia, jonka jälkeen siihen lisättiin hyvin hitaasti liuos, joka sisälsi 19 g kaliumvetysulfaattia 100 ml:ssa vettä. Kun lisäys oli tehty,

sekoitusta jatkettiin puoli tuntia jäähdyttämättä. Vesipitoinen kerros erotettiin ja uutettiin kolmella 50 ml:n annoksella dietyylieetteriä. Orgaaninen kerros ja uutokset yhdistettiin, pestiin kahdella 50 ml:n annoksella 1 mol/l kloorivetyhappoa, 50 ml:lla kyllästettyä natriumbikarbonaattia ja 50 ml:lla suolavettä, kuivattiin ja liuotin poistettiin tyhjössä, jolloin saatiin 6,5 g haluttua yhdistettä värittömänä kumina, $[\alpha]_D^{26}$ = +12 ± 1° (c, 1,135, kloroformi).

Vertailuesimerkki 29

(S)2-amino-3-sykloheksyyli-(R)1-(2-tiatsolyyli)propan-1-oli ja (S)2-amino-3-sykloheksyyli-(S)1-(2-tiatsolyyli)propan-1-oli

Liuokseen, joka sisälsi 6,35 g 1,1-dimetyylietyyli(S)-(2-sykloheksyyli-1-formyylietyyli)karbamaattia 15 ml:ssa dikloorimetaania argonin alla, lisättiin 5,89 g 2-trimetyylisilyylitiatsolia sekoittaen ja jäähdyttäen jäävesihauteessa. Sitten liuosta sekoitettiin argonin alla huoneenlämpötilassa 2,5 päivää, jonka jälkeen se jäähdytettiin jäävesihauteessa ja 38 ml 1 mol/l tetra-n-butyyliammoniumfluoridia tetrahydrofuraanissa lisättiin. Kun seosta oli pidetty huoneenlämpötilassa 15 minuuttia, haihtuvat aineet poistettiin tyhjössä. Jäännös erotettiin 150 ml:n etyyliasetaattia ja 50 ml:n vettä välille. Orgaaninen kerros erotettiin, pestiin kahdella 50 ml:n annoksella vettä ja 50 ml:lla suolaliuosta, kuivattiin ja liuotin poistettiin tyhjössä, jolloin saatiin 8,19 g vaaleankeltaista kumia. 7,48 g:n annos tätä kumia liuotettiin seokseen, joka sisälsi 20 ml dikloorimetaania ja 8,5 ml trifluorietikkahappoa ja seosta sekoitettiin kaksi päivää. Seos kaadettiin 120 ml:aan 1 mol/l natriumhydroksidia. Orgaaninen kerros erotettiin ja vesipitoinen kerros uutettiin kahdella 75 ml:n annoksella dikloorimetaania. Orgaaninen kerros ja uutokset yhdistettiin, pestiin 60 ml:lla suolaliuosta, kuivattiin ja liuotin poistettiin tyhjössä.

Saatu 5,69 g kiinteää jäännöstä flash-kromatografoitiin käyttäen 220 g silikageeliä (230 - 600 mesh). Eluointi 4-%:isella metanolilla etyyliasetaatissa tuotti ensimmäisessä pääfraktiossa 2,63 g (S)2-amino-3-sykloheksyyli-(R)1-(2-tiatsolyyli)propan-1-olia valkoisena kiinteänä aineena, $[\alpha]_D^{26}$ = -18 ± 1° (c, 0,743, metanoli).

Eluointi 6-%:isella metanolilla etyyliasetaatissa tuotti 0,65 g (S)2-amino-3-sykloheksyyli-(S)1-(2-tiatsolyyli)propan-1-olia värittömänä kumina.

Vertailuesimerkki 30

(S)2-(t-butoksikarbonyyli)amino-3-fenyyli-(R,S)1-(2-tiatsolyyli)propan-1-oli

Liuokseen, joka sisälsi 8,26 g 2-bromitiatsolia 100 ml:ssa eetteriä -78 °C:ssa argonin alla, lisättiin 21,7 ml n-butyylilitiumia heksaanissa. Seosta sekoitettiin -78 °C:ssa 45 minuuttia, jonka jälkeen siihen lisättiin 6,8 ml trimetyylisilyylikloridia. Tätä seosta sekoitettiin -78 °C:ssa yhden tunnin ajan, lämmitettiin -30 °C:seen tunnin kuluessa, sitten 0 °C:seen puolen tunnin kuluessa ja pidettiin 0 °C:ssa yksi tunti. Reaktio pysäytettiin 50 ml:lla 50-%:isesti kyllästettyä natriumbikarbonaattia, jonka jälkeen se laimennettiin 50 ml:lla eetteriä. Eetteriliuos pestiin 50 ml:lla suolaliuosta, kuivattiin, suodatettiin ja haihdutettiin, jolloin saatiin 10,81 g 2-trimetyylisilyylitiatsolia meripihkanvärisenä öljynä.

Liuos, joka sisälsi 10,55 g fenyylidikloorifosfaattia 50 ml:ssa dikloorimetaania, lisättiin tipoittain liuokseen, joka sisälsi 17,0 g imidatsolia 150 ml:ssa dikloorimetaania. Saatua suspensiota sekoitettiin argonin alla 20 minuuttia, jonka jälkeen siihen lisättiin 13,27 g N^{α}-t-butoksikarbonyyli-L-fenyylialaniinia pieninä annoksina ja sekoitusta jatkettiin yhden tunnin ajan. 5,85 g:n annos N,O-dimetyylihydroksyyliamiinihydrokloridia lisättiin ja sekoitusta jatkettiin 21 tuntia, jonka jälkeen seos laimennettiin 100 ml:lla dikloorimetaania ja pestiin kolmella

100 ml:n annoksella 1 mol/l kloorivetyhappoa, 100 ml:lla vettä, kahdella 100 ml:n annoksella 50-%:isesti kyllästettyä natriumbikarbonaattiliuosta ja 100 ml:lla suolaliuosta. Sitten seos kuivattiin ja haihdutettiin, jolloin saatiin 15,87 g N-metoksi-N-metyyli-N^{α}-t-butoksikarbonyyli-L-fenyylialaniiniamidia.

Valmistettiin suspensio, joka sisälsi 2,38 g litiumaluminiumhydridiä 300 ml:ssa eetteriä 0 °C:ssa argonin alla ja sitä sekoitettiin. Tähän liuokseen lisättiin hitaasti liuos, joka sisälsi 15,5 g N-metoksi-N-metyyli-N^{α}-t-butoksikarbonyyli-L-fenyylialaniiniamidia 80 ml:ssa tetrahydrofuraania. Tätä seosta sekoitettiin 0 °C:ssa kaksi tuntia, jonka jälkeen siihen lisättiin hitaasti liuos, joka sisälsi 37 g kaliumbifosfaattia 100 ml:ssa vettä. Kun lisäys oli tehty, seosta sekoitettiin huoneenlämpötilassa 30 minuuttia. Orgaaninen faasi erotettiin. Vesipitoinen faasi uutettiin kahdella 200 ml:n annoksella eetteriä. Yhdistetyt orgaaninen faasi ja uutokset pestiin 200 ml:n annoksilla 1 mol/l kloorivetyhappoa, 200 ml:lla natriumbikarbonaattiliuosta ja 200 ml:lla suolaliuosta, kuivattiin ja haihdutettiin. Jäännös pestiin petrolieetterillä (30 - 60 °C), jolloin saatiin 10,1 g valkoita kiinteää ainetta. Liuokseen, joka sisälsi 3,74 g tätä kiinteääa inetta 20 ml:ssa dikloorimetaania, lisättiin 5,5 g 2-trimetyylisilyylitiatsolia. Kun seosta oli sekoitettu 1,5 tuntia, siihen lisättiin toinen, 1,57 g:n annos 2-trimetyylisilyylitiatsolia ja sekoitusta jatkettiin 20,5 tuntia. liuos, joka sisälsi 20 ml 1 mol/l tetrabutyyliammoniumfluoridia tetrahydrofuraanissa, lisättiin, seosta sekoitettiin 10 minuuttia ja liuottimet haihdutettiin. Jäännös otettiin talteen 100 ml:aan etyyliasetaattia, pestiin kahdella 50 ml:n annoksella vettä ja sitten 50 ml:lla suolaliuosta, kuivattiin ja haihdutettiin, jolloin saatiin 5,83 g haluttua yhdistettä meripihkanvärisenä kumina.

Vertailuesimerkki 31

(S)2-amino-4-metyyli-(S)1-(1-metyyli-1H-1,2,4-triatsol-5-yyli)pentan-1-oli ja (S)2-amino-4-metyyli-(R)1-(1-metyyli-1H-1,2,4-triatsol-5-yyli)pentan-1-oli

Suspensioon, joka sisälsi 15,2 g natriumhydridiä (60 % öljyssä, pesty heksaanilla) 100 ml:ssa tetrahydrofuraania argonin alla, lisättiin hitaasti 0 - 10 °C:ssa liuos, joka sisälsi 25 g 1,2,4-triatsolia 100 ml:ssa metanolia. Tähän liuokseen lisättiin tipoittain 25 ml metyylijodidia puolen tunnin aikana. Seosta sekoitettiin 0 °C:ssa yhden tunnin ajan, jonka jälkeen sitä kuumennettiin palautusjäähdyttäen 15 minuuttia. Liuos konsentroitiin alennetussa paineessa, kunnes natriumjodidi alkoi saostua. Seos laimennettiin 100 ml:lla sekä eetteriä että dikloorimetaania, suodatettiin ja suodos konsentroitiin kuiviin. Jäljelle jäänyt kiinteä aine trituroitiin dikloorimetaanin (100 ml) kanssa ja suodatettiin. Suodos kuivattiin molekyylisiivilöillä (3A) ja vietiin ohuen vedettömän magnesiumsilikaattipatsaan läpi. Liuotin poistettiin tyhjössä ja jäännös sublimoitiin, jolloin saatiin 7,72 g 1-metyyli-1,2,4-triatsolia, sp. 18 - 20 °C.

Liuokseen, joka sisälsi 5,3 g 1-metyyli-1,2,4-triatsolia 100 ml:ssa tetrahydrofuraania typen alla -75 °C:ssa, lisättiin ruiskun avulla 25,6 ml n-butyylilitiumia. Liuosta sekoitettiin 1,5 tuntia -75 °C:ssa, jonka jälkeen siihen lisättiin 6,9 g N-t-butoksikarbonyyli-L-leusinaalia 25 ml:ssa tetrahydrofuraania -75 °C:ssa. Seosta sekoitettiin puoli tuntia sekä -75 °C:ssa että -23 °C:ssa. Seos käsiteltiin 10 ml:lla kyllästettyä ammoniumkloridia ja konsentroitiin. Jäännös 100 ml:ssa etyyliasetaattia pesiin 50 ml:lla sekä vettä, 2N sitruunahappoa, 1 mol/l natriumbikarbonaattia että suolaliuosta ja kuivattiin. Liuos suodatettiin ja konsentroitiin, jolloin saatiin 8,41 g (88 %) väritöntä öljyä, joka osittain kitey-

tyi. Kaksi uudelleenkiteytystä isopropyyliasetaatista tuotti 1,85 g (S)2-(t-butoksikarbonyyli)amino-4-metyyli-(R)1-(1-metyyli-1H-1,2,4-triatsol-5-yyli)pentan-1-olia, sp. 144 - 145 °C, $[\alpha]_D^{26}$ = -26 ± 1° (c, 1,1, MeOH).

Yhdistetty emoliuosfraktio (5,47 g) kromatografoitiin silikageelillä käyttäen etyyliasetaatti-dikloorimetaani-seosta (2:3) liuottimena Waters Prep 500 -laitteella. Vähemmän poolisen diastereomeerin sisältävät fraktiot yhdistettiin ja kiteytettiin eetter-heksaani-seoksesta, jolloin saatiin 0,67 g (7 %:n saanto) (S)2-(t-butoksikarbonyyli)amino-4-metyyli-(S)1-(1-metyyli-1H-1,2,4-triatsol-5-yyli)pentan-1-olia kiteinä, sp. 114 - 116 °C, $[\alpha]_D^{26}$ = -38 ± 1° (c, 1,2, MeOH).

Suspensioon, joka sisälsi 2,34 g (S)2-(t-butoksikarbonyyli)amino-4-metyyli-(R)1-(1-metyyli-1H-1,2,4-triatsol-5-yyli)pentan-5-olia 3,5 ml:ssa etyyliasetaattia, lisättiin 25 ml vedetöntä 2 mol/l vetykloridia etyyliasetaatissa. Liuosta sekoitettiin yksi tunti huoneenlämpötilassa ja liuotin poistettiin tyhjössä. Jäännös liuotettiin 3 ml:aan vettä ja 1 ml väkevää ammoniumhydroksidia lisättiin. Seos uutettiin kolmella 12 ml:n annoksella dikloorimetaania. Uutos kuivattiin ja liuotin poistettiin tyhjössä, jolloin saatiin 1,75 g (S)2-amino-4-metyyli-(R)1-(1-metyyli-1H-1,2,4-triatsol-5-yyli)pentan-1-olia öljynä.

Vertailuesimerkki 32

(S)2-amino-4-metyyli-(R)1-(2-tienyyli)pentan-1-oli

0,81 g:n annos (S)2-(t-butoksikarbonyyli)amino-4-metyyli-(R,S)1-(2-tienyyli)pentan-1-olia(vertailuesimerkki 25) liuotettiin 5 ml:aan dikloorimetaania ja 2,1 ml trifluorietikkahappoa lisättiin. Tätä seosta sekoitettiin kolme tuntia, jonka jälkeen se kaadettiin sekoittaen 15 ml:aan jääkylmää, 2 mol/l natriumhydroksidia. Tämä seos laimennettiin 25 ml:lla dikloorimetaania, orgaaninen kerros erotettiin ja vesipitoinen kerros uutettiin 25 ml:lla dikloorimetaania. Orgaaninen kerros ja uutos yhdistettiin,

pestiin kyllästetyllä natriumkloridiliuoksella, kuivattiin ja liuotin poistettiin tyhjössä. Jäännös kromatografoitiin silikageelipylväällä eluoiden etyyliasetaatti-heksaani-seoksella (1:4), jolloin saatiin 0,72 g valkoista kiinteää ainetta, $[\alpha]_D^{26}$ = -141 ± 2° (c, 0,570, metanoli), joka identifioitiin (NMR-spektri) (4S-trans)-4-(2-metyylipropyyli)-5-(2-tienyyli)-2-oksatsolidinoniksi.

0,23 g:n annos yllä saatua oksatsolidionia liuotettiin 5 ml:aan etanolia ja 5 ml 1 mol/l natriumhydroksidia lisättiin. Tätä liuosta kuumennettiin palautusjäähdyttäen 16 tuntia, jonka jälkeen se konsentroitiin tyhjössä. Jäännös uutettiin kahdella 10 ml:n annoksella dikloorimetaania. Uutokset yhdistettiin, kuivattiin ja liuotin poistettiin tyhjössä, jolloin saatiin 0,2 g haluttua yhdistettä, R_f = 0,045 (silikageelilevy, etyyliasetaatti-heksaani-seos, 1:2).

Vertailuesimerkki 33

(S)2-amino-3-sykloheksyyli-(R)1-(2-tienyyli)propan-1-oli

Liuokseen, joka sisälsi 1,57 g N-metoksi-N-metyyli-N^{α}-butoksikarbonyyli-L-sykloheksyylialaniiniamidia (ks. vertailuesimerkki 28) 10 ml:ssa dietyylieetteriä jäähdytettynä -78 °C:seen, lisättiin argonin alla 2,1 ml 2,35 mol/l n-butyylilitiumia heksaanissa. Kun seosta oli sekoitettu yksi tunti, sen annettiin lämmetä 0 °C:seen. Tähän liuokseen lisättiin liuos, joka sisälsi 2-litiumtiofeenia eetterissä (valmistettu 0,64 g:sta tiofeenia 5 ml:ssa eetteriä ja 3,2 ml:sta 2,35 mol/l n-butyylilitiumia heksaanissa sekoittaen 0 °C:ssa yhden tunnin ajan). Tätä seosta sekoitettiin 0 °C:ssa kaksi tuntia, jonka jälkeen reaktio pysäytettiin 15 ml:lla 1 mol/l kloorivetyhappoa ja liuos laimennettiin 25 ml:lla eetteriä. Orgaaninen kerros erotettiin, pestiin peräkkäin 15 ml:lla 1 mol/l kloorivetyhappoa, 10 ml:lla vettä ja 15 ml:lla kyllästettyä vesipitoista natriumbikarbonaattia, kuivattiin ja suo-

datettiin lyhyen vedettömän magnesiumsilikaattipatsaan läpi. Suodatinpatsas pestiin eetterillä ja suodos ja pesuliuos yhdistettiin. Liuotin poistettiin tyhjössä ja jäännös pestiin heksaanilla, jolloin saatiin 1,38 g nahkanväristä kiinteää ainetta. Tämä kiinteä aine kromatografoitiin 50 g:lla silikageeliä eluoiden etyyliasetaatti-heksaani-seoksella (1:20), jolloin saatiin 1,2 g kiinteää ainetta. Tämä kiinteä aine kiteytettiin heksaanista, joka sisälsi pienen määrän eetteriä, jolloin saatiin (S)1,1-dimetyylietyyli-[1-(sykloheksyylimetyyli)-2-okso-2-tienyylietyyli]karbamaatti, $[\alpha]_D^{26}$ = +24 ± 1° (c, 1,10, metanoli).

Liuos, joka sisälsi 0,51 g yllä saatua karbamaattia 8 ml:ssa kuivaa tetrahydrofuraania, jäähdytettiin -78 °C:seen argonin alla ja 3 ml 1 mol/l K-Selectrideä tetrahydrofuraanissa lisättiin tipoittain. Tätä seosta sekoitettiin -78 °C:ssa neljä tuntia, jonka jälkeen reaktio pysäytettiin 5 ml:lla kyllästettyä vesipitoista ammoniumkloridiliuosta. Kun liuos oli lämmennyt huoneenlämpötilaan, tetrahydrofuraani poistettiin tyhjössä. Vesipitoinen jäännös laimennettiin 5 ml:lla vettä ja 20 ml etyyliasetaattia lisättiin. Orgaaninen kerros erotettiin, pestiin peräkkäin kahdella 5 ml:n annoksella kyllästettyä, vesipitoista ammoniumkloridia, 5 ml:lla kyllästettyä, vesipitoista natriumbikarbonaattia ja 5 ml:lla kyllästettyä natriumkloridiliuosta, kuivattiin ja liuotin poistettiin tyhjössä, jolloin saatiin (S)2-t-butoksikarbonyyliamino-3-sykloheksyyli-(R)1-(2-tienyyli)propan-1-oli kumina.

Tätä kumia sekoitettiin trifluorietikkahapon kanssa dikloorimetaanissa, kuten vertailuesimerkissä 32 on kuvattu, jolloin saatiin haluttu yhdiste kiinteänä aineena.

Seuraavat esimerkit valaisevat keksinnön mukaisten yhdisteiden valmistusta.

Esimerkki 1

N-[(fenyylimetoksi)karbonyyli]-L-fenyylialanyyli-N-[(S)-1-formyyli-2-fenyylietyyli]-L-2-(2-metyylipropoksi)glysiiniamidi

Liuos, joka sisälsi 1,16 g N-[(fenyylimetoksi)karbonyyli]-L-fenyylialanyyli-L-2-(2-metyylipropoksi)glysyyli-N-metoksi-N-metyyli-L-fenyylialaniiniamidia 20 ml:ssa eetteriä ja riittävästi tetrahydrofuraania, jotta saatiin liuos, lisättiin tipoittain seokseen, joka sisälsi 0,1 g litiumaluminiumhydridiä 20 ml:ssa eetteriä, sekoittaen argonatmosfäärissä. Kun lisäys oli tehty, sekoitusta jatkettiin vielä neljä tuntia, jonka jälkeen seos jäähdytettiin ja käsiteltiin liuoksella, joka sisälsi 0,48 g kaliumbisulfaattia 20 ml:ssa vettä. Lisää eetteriä ja vettä lisättiin, kerrokset erotettiin ja vesipitoinen kerros uutettiin kolmesti eetterillä. Eetteriuutokset ja -kerros yhdistettiin, pestiin kolmesti sekä 3 mol/l kloorivetyhapolla, natriumbikarbonaattiliuoksella että kyllästetyllä natriumkloridiliuoksella, kuivattiin, suodatettiin ja haihdutettiin, jolloin saatiin 0,53 g haluttua yhdistettä lasina, $[\alpha]_D^{26}$ = -19 ± 3° (c, 0,32, metanoli).

Esimerkki 2

N-[(fenyylimetoksi)karbonyyli]-L-fenyylialanyyli-N-[(S)-1-formyyli-2-fenyylietyyli]-D-2-(2-metyylipropoksi)glysiiniamidi

1,2 g:n annos N-[(fenyylimetoksi)karbonyyli]-L-fenyylialanyyli-D-2-(2-metyylipropoksi)glysyyli-N-metoksi-N-metyyli-L-fenyylialaniiniamidia käsiteltiin litiumaluminiumhydridillä tetrahydrofuraanissa, kuten esimerkissä 1 on kuvattu, jolloin saatiin 0,76 g haluttua yhdistettä lasina, joka muuttui amorfiseksi kiinteäksi aineeksi, kun se trituroitiin heksaanin kanssa, $[\alpha]_D^{26}$ = 0° (c, 0,3, metanoli).

Esimerkki 3

N-[(fenyylimetoksi)karbonyyli]-L-fenyylialanyyli-N-[(S)-1-formyyli-3-metyylibutyyli]-L-(2-metyylipropoksi)glysiiniamidi

Liuos, joka sisälsi 0,74 g N-[(fenyylimetoksi)karbonyyli]-L-fenyylialanyyli-L-2-(2-metyylipropoksi)glysyyli-N-metoksi-N-metyyli-L-leusiiniamidia 10 ml:ssa eetteriä ja 10 ml:ssa tetrahydrofuraania, lisättiin tipoittain sekoitettuun litiumaluminiumhydridiseokseen 20 ml:ssa eetteriä argonarmosfäärissä. Kun lisäys oli tehty, seosta sekoitettiin vielä neljä tuntia, jonka jälkeen se jäähdytettiin ja käsiteltiin liuoksella, joka sisälsi 0,31 g kaliumbisulfaattia 15 ml:ssa vettä. Vesipitoinen kerros erotettiin, uutettiin eetterillä ja eetteriuutokset yhdistettiin eetterikerrokseen. Eetteriliuos pestiin kolmesti sekä 6 mol/l kloorivetyhapolla, kyllästetyllä natriumbikarbonaattiliuoksella että kyllästetyllä natriumkloridiliuoksella, kuivattiin, suodatettiin ja haihdutettiin. Saatu lasi trituroitiin heksaanin kanssa, jolloin saatiin 0,28 g haluttua yhdistettä valkoisena, amorfisena kiinteänä aineena, $[\alpha]_D^{26}$ = -23 ± 7° (c, 0,13, metanoli).

Esimerkki 4

N-[(fenyylimetoksi)karbonyyli]-L-fenyylialanyyli-N-[(S)-1-formyyli-3-metyylibutyyli]-D-2-(2-metyylipropoksi)glysiiniamidi

1,16 g:n annos N-[(fenyylimetoksi)karbonyyli]-L-fenyylialanyyli-D-2-(2-metyylipropoksi)glysyyli-N-metoksi-N-metyyli-L-leusiiniamidia saatettiin reagoimaan litiumaluminiumhydridin kanssa eetterissä, kuten esimerkissä 1 on kuvattu, jolloin saatiin 0,75 g haluttua yhdistettä amorfisena kiinteänä aineena, $[\alpha]_D^{26}$ = 0° (c, 0,1, metanoli).

Esimerkki 5

N-[(fenyylimetoksi)karbonyyli]-L-fenyylialanyyli-N-[(S)-1-formyyli-2-fenyylialanyyli]-L-2-(2-metyylipropoksi)glysiiniamidi

1,2 g:aan N-[(fenyylimetoksi)karbonyyli]-L-fenyylialanyyli-L-2-(2-metyylipropoksi)glysyyli-N-metoksi-N-metyyli-L-fenyylialaniiniamidia 20 ml:ssa eetteriä jäähdytettynä 0 °C:seen argonin alla lisättiin0,18 g litiumaluminiumhydridiä. 20 minuutin kuluttua lisättiin 0,09 g litiumaluminiumhydridiä. 15 minuutin kuluttua lisättiin etyyliasetaattia ja seos työstettiin, kuten esimerkissä 1 on kuvattu. Saatu lasi kiteytettiin heksaanista, joka sisälsi pienen määrän etyyliasetaattia, jolloin saatiin 0,47 g haluttua yhdistettä kiteisenä kiinteänä aineena, sp. 164 - 168 °C. Etyyliasetaatti-heksaani-seoksesta uudelleenkiteytetty näyte tuotti kiteitä, sp. 172 - 174 °C, $[\alpha]_D^{26}$ = -38 ± 1° (c, 0,1, metanoli).

Esimerkki 6

N-[(fenyylimetoksi)karbonyyli]-L-fenyylialanyyli-N-[(S)-1-formyyli-3-metyylibutyyli]-L-2-(1-metyylietoksi)glysiiniamidi

Liuos, joka sisälsi 0,7 g N-[(fenyylimetoksi)karbonyyli]-L-fenyylialanyyli-L-2-(1-metyylietoksi)glysyyli-N-metoksi-N-metyyli-L-leusiiniamidia 10 ml:ssa eetteriä ja 10 ml tetrahydrofuraania, lisättiin sekoitettuun seokseen, joka sisälsi 0,6 g litiumaluminiumhydridiä 20 ml:ssa eetteriä argonatmosfäärissä. Tätä seosta sekoitettiin neljä tuntia, jonka jälkeen se jäähdytettiin ja käsiteltiin liuoksella, joka sisälsi 0,31 g kaliumbisulfaattia 25 ml:ssa vettä. Kerrokset erotettiin, vesipitoinen kerros uutettiin kerran eetterillä ja tämä uutos yhdistettiin eetterikerrokseen. Eetteriliuos pestiin kolmesti sekä 3 mol/l kloorivetyhapolla, natriumbikarbonaattiliuoksella että kyllästetyllä natriumkloridiliuoksella, kuivattiin, suodatettiin ja haihdutettiin. Jäljelle jäänyt lasi lie-

tettiin useita kertoja heksaaniin ja kuivattiin sitten perusteellisesti, jolloin saatiin haluttu yhdiste amorfisena kiinteänä aineena, $[\alpha]_D^{26}$ = -24 ± 4° (c, 0,26, metanoli).

Esimerkki 7

N-[(fenyylimetoksi)karbonyyli]-L-fenyylialanyyli-N-[(S)-1-formyyli-3-metyylibutyyli]-D-2-(fenyylimetoksi)glysiiniamidi

8 g:n annos N-[(fenyylimetoksi)karbonyyli]-L-fenyylialanyyli-D-2-(fenyylimetoksi)glysyyli-N-metoksi-N-metyyli-L-leusiiniamidia liuotettiin 50 ml:aan vedetöntä eetteriä. 25 ml:aan tätä liuosta typen alla lisättiin 0,38 g litiumaluminiumhydridiä. Seosta sekoitettiin yhden tunnin ajan, jonka jälkeen reaktio pysäytettiin etyyliasetaatilla, seos käsiteltiin 37 ml:lla 0,35 mol/l kaliumbisulfaattia, suodatettiin pimaan läpi ja pestiin eetterillä. Sitten yhdistetyt eetteriliuokset pestiin kolmesti 3 mol/l kloorivetyhapolla, kahdesti 1N natriumbikarbonaatilla ja kerran natriumkloridiliuoksella. Eetteripitoinen liuos kuivattiin, suodatettiin ja haihdutettiin. Kiinteä aine kiteytettiin eetteristä, jolloin saatiin 0,9 g haluttua yhdistettä, sp. 109 - 114 °C, $[\alpha]_D^{26}$ = +0,5 ± 1° (c, 1,05, metanoli).

Esimerkki 8

N-[(fenyylimetoksi)karbonyyli]-L-fenyylialanyyli-N-[(S)-1-formyyli-3-metyylibutyyli]-L-2-(fenyylimetoksi)glysiiniamidi

Suspensioon, joka sisälsi 3,3 g N-[(fenyylimetoksi)karbonyyli]-L-fenyylialanyyli-L-2-(fenyylimetoksi)glysyyli-N-metoksi-N-metyyli-L-leusiiniamidia 50 ml:ssa eetteriä 3 °C:ssa typen alla, lisättiin 0,52 g litiumaluminiumhydridiä. Seosta pidettiin 0 - 6 °C:ssa ja 20 minuutin kuluttua 0,26 g litiumaluminiumhydridiä lisättiin. Seosta pidettiin 0 °C:ssa 15 minuuttia, jonka jälkeen lisättiin etyyliasetaattia ja dikloorimetaania ja sen jälkeen kolme

20 ml:n annosta 3 mol/l kloorivetyhappoa. Orgaaninen kerros erotettiin, pestiin kolmella 20 ml:n annoksella 1N natriumbikarbonaattia ja suolaliuoksella, kuivattiin, laimennettiin etyyliasetaatilla ja suodatettiin lyhyen, 200 - 340 meshin silikageelipatsaan läpi. Silikageeli pestiin etyyliasetaatilla ja yhdistetty suodos ja pesuliuos konsentroitiin kuiviin tyhjössä. Jäännös kiteytettiin etyyliasetaatti-di-isopropyylieetteri-seoksesta, jolloin saatiin 1,35 g haluttua yhdistettä kiteinä, sp. 134 - 137 °C, $[\alpha]_D^{26}$ = -44 ± 1° (c, 1,25, metanoli).

Esimerkki 9

N-[N-(t-butoksikarbonyyli)-L-fenyylialanyyli-L-leusyyli]-(S)2-amino-4-metyyli-(R,S)1-(2-furanyyli)pentan-1-oli

1 mmoolin näytettä (S)2-t-butoksikarbonyyliamino-4-metyyli-(R,S)1-(2-furanyyli)pentan-1-olia sekoitettiin viiden ekvivalentin trifluorietikkahappoa kanssa 16 tunnin ajan. Seos kaadettiin 6 ml:aan 1 mol/l natriumhydroksidia ja seos uutettiin dikloorimetaanilla. Uutos kuivattiin ja liuotin poistettiin. (S)2-amino-4-metyyli-(R,S)1-(2-furanyyli)pentan-1-oli käytettiin puhdistamatta ja kytkettiin t-butoksikarbonyyli-L-fenyylialanyyli-L-leusiiniin, kuten aikaisemmin on kuvattu.

Tuote puhdistettiin pylväskromatografisesti silikageeliä käyttäen (etyyliasetaatti-heksaani-seosta eluointiliuoksena), jolloin saatiin kiinteä aine.

Esimerkki 10

N,N-dietyyli-N-[N-(t-butoksikarbonyyli)-L-fenyylialanyyli-L-leusyyli]-5-[(S)2-amino-(R,S)1-hydroksi-4-metyylipentyyli]-2-tiofeenikarboksamidi

1 mmoolin näytettä N,N-dietyyli-5-[(S)2-t-butoksikarbonyyliamino-(R,S)1-hydroksi-4-metyylipentyyli]-2-tiofeenikarboksamidia sekoitettiin viiden ekvivalentin trifluorietikkahappoa kanssa 24 tuntia. Seos kaadettiin 6 ml:aan 1 mol/l natriumhydroksidia ja uutettiin dikloori-

metaanilla. Uutos kuivattiin ja liuotin poistettiin. Raaka N,N-dietyyli-5-[(S)2-amino-(R,S)1-hydroksi-4-metyylipentyyli]-2-tiofeenikarboksamidi käytettiin puhdistamatta ja kytkettiin t-butoksikarbonyyli-L-fenyylialanyyli-L-leusiiniin, kuten aikaisemmin on kuvattu. Raakatuote puhdistettiin kromatografisesti käyttäen silikageeliä (etyyliasetaatti-heksaani), jolloin saatiin kiinteä aine.

Esimerkki 11

N-[N-(bentsyylioksikarbonyyli)-L-fenyylialanyyli-L-2-(2-metyylipropoksi)glysyyli]-(S)2-amino-4-metyyli-(R)1-(1-metyyli-1H-1,2,4-triatsol-5-yyli)pentan-1-oli ja N-[N-(bentsyylioksikarbonyyli)-L-fenyylialanyyli-D-2-(2-metyylipropoksi)glysyyli]-(S)2-amino-4-metyyli-(R)1-(1-metyyli-1H-1,2,4-triatsol-5-yyli)pentan-1-oli

Sekoitettuun suspensioon, joka sisälsi 2,34 g N-(bentsyylioksikarbonyyli)-L-fenyylialanyyli-(D,L)-2-(2-metyylipropoksi)glysiiniä 6 ml:ssa dikloorimetaania, lisättiin 0,78 ml trietyyliamiinia ja 2,42 g bentsotriatsol-1-yylioksitris(dimetyyliamino)fosfoniumheksafluorifosfaattia. Kolmen minuutin kuluttua lisättiin 1,04 g (S)2-amino-4-metyyli-(R)1-(1-metyyli-1H-1,2,4-triatsol-5-yyli)pentan-1-olia 6 ml:ssa dikloorimetaania. Kun liuosta oli sekoitettu yli yön, sitä kuumennettiin palautusjäähdyttäen 30 minuuttia ja konsentroitiin. Jäännös liuotettuna 50 ml:aan etyyliasetaattia pestiin 25 ml:lla sekä 1 mol/l kloorivetyhappoa, 1 mol/l natriumbikarbonaattia että suolaliuosta. Orgaaninen kerros kuivattiin ja konsentroitiin, jolloin saatiin 4 g diastereomeerien öljymäistä seosta.

Preparatiivinen korkeapainenestekromatografia silikageeliä ja heksaani-etyyliasetaatti-seosta, 4:1, käyttäen tuotti vähemmän poolisen fraktion, 0,66 g, sp. 70 - 74 °C, $[\alpha]_D^{26}$ = -34 ± 1° (c, 1,2, metanoli), joka identifioitiin N-[N-(bentsyylioksikarbonyyli)-L-fenyylialanyyli-L-2-(2-

metyylipropoksi)glysyyli]-(S)2-amino-4-metyyli-(R)1-(1-metyyli-1H-1,2,4-triatsol-5-yyli)pentan-1-oliksi.

Poolisempi isomeeri, 0,7 g, sp. 135 - 139 °C, $[\alpha]_D^{26}$ = -4 ± 2° (c, 1, metanoli), identifioitiin N-[N-(bentsyylioksikarbonyyli)-L-fenyylialanyyli-D-2-(2-metyylipropoksi)glysyyli]-(S)2-amino-4-metyyli-(R)1-(1-metyyli-1H-1,2,4-triatsol-5-yyli)pentan-1-oliksi.

Esimerkki 12

N-[N-(bentsyylioksikarbonyyli)-L-fenyylialanyyli-L-2-(2-metyylipropoksi)glysyyli]-(S)2-amino-3-fenyyli-(R)1-(2-tiatsolyyli)propan-1-oli ja N-[N-(bentsyylioksikarbonyyli)-L-fenyylialanyyli-D-2-(2-metyylipropoksi)glysyyli]-(S)2-amino-3-fenyyli-(R)1-(2-tiatsolyyli)propan-1-oli

Liuos, joka sisälsi 0,51 g N-(bentsyylioksikarbonyyli)-L-fenyylialanyyli-(D,L)-2-(2-metyylipropoksi)glysiiniä 2 ml:ssa dikloorimetaania, lisättiin valmistettuun liuokseen, joka sisälsi 0,26 genyylidikloorimetaania ja 0,40 g imidatsolia 4 ml:ssa dikloorimetaania. Tähän liuokseen lisättiin 0,24 g (S)2-amino-3-fenyyli-(R)1-(2-tiatsolyyli)propan-1-olia ja seosta sekoitettiin 24 tuntia huoneenlämpötilassa. Seokseen lisättiin 20 ml 0,5 mol/l kloorivetyhappoa ja 30 ml etyyliasetaattia. Orgaaninen kerros erotettiin ja pestiin 15 ml:lla 0,5 mol/l kloorivetyhappoa, 30 ml:lla kyllästettyä kaliumkarbonaattia ja 15 ml:lla suolaliuosta. Orgaaninen kerros kuivattiin ja liuotin poistettiin, jolloin saatiin 1,04 g kiinteää ainetta. tämä kiinteä aine kromatografoitiin flash-kromatografisesti käyttäen silikageeliä (230 - 400 mesh) ja etyyliasetaatti-heksaani-seosta (1:1) liuottimena, jolloin saatiin 0,28 g L,L-isomeeria (ensimmäinen fraktio): $[\alpha]_D^{26}$ = -23 ± 1° (c, 1,04, kloroformi) ja 0,10 g L,D-isomeeria (toinen fraktio), $[\alpha]_D^{26}$ = -43 ± 2° (c, 0,57, kloroformi).

Esimerkki 13

N-[N-(bentsyylioksikarbonyyli)-L-fenyylialanyyli-L-2-(2-metyylipropoksi)glysyyli]-(S)2-amino-3-fenyyli-(R)1-(2-tiatsolyyli)propan-1-oli

Sekoitettuun suspensioon, joka sisälsi 0,18 g N-[(fenyylimetoksi)karbonyyli]-L-fenyylialanyyli-N-[(S)-1-formyyli-2-fenyylietyyli]-L-2-(2-metyylipropoksi)glysiiniamidia 0,5 ml:ssa dikloorimetaania, lisättiin 51 mg 2-trimetyylisilyylitiatsolia 0,5 ml:ssa dikloorimetaania. Kolmen tunnin kuluttua maitomainen suspensio laimennettiin 2 ml:lla dikloorimetaania ja sitä sekoitettiin yli yön. Seosta kuumennettiin palautusjäähdyttäen 15 minuuttia, jonka jälkeen se jäähdytettiin jäähauteessa. Tetra-n-butyyliammoniumfluoridia (0,5 ml 2,5 mol/l liuosta tetrahydrofuraanissa) lisättiin ja liuosta kuumennettiin palautusjäähdyttäen 1,5 tuntia. Liuos konsentroitiin ja jäännös 5 ml:ssa etyyliasetaattia pestiin 5 ml:lla sekä 2N sitruunahappoa, 1 mol/l natriumbikarbonaattia että suolaliuosta. Liuos kuivattiin, suodatettiin ohuen kerroksen läpi vedettöntä magnesiumsilikaattia ja konsentroitiin, jolloin saatiin 0,13 g kumia. Tämä kumi kromatografoitiin kolmella 20 x 20 x 0,2 cm:n preparatiivisella silikageelilevyllä käyttäen heksaani-etyyliasetaatti-seosta (1:1) kehitysliuoksena ja etyyliasetaattia eluointiliuoksena. Eluointiliuottimen (etyyliasetaatti) haihdutus tuotti 25 mg tuotetta kumina, joka identifioitiin esimerkin 12 L,L-isomeeriksi (PMR-spektri). Vertailu ohutlevykromatografisesti silikageeliä ja etyyliasetaatti-heksaani-seosta (1:1) käyttäen osoitti identtiset R_f:t.

Esimerkki 14

N-[N-(bentsyylioksikarbonyyli)-L-fenyylialanyyli-L-2-(sykloheksyylioksi)glysyyli]-(S)2-amino-4-metyyli-(R)1-(2-tiatsolyyli)pentan-1-oli ja N-[N-(bentsyylioksikarbonyyli)-L-fenyylialanyyli-D-2-(sykloheksyylioksi)glysyyli]-(S)2-amino-4-metyyli-(R)1-(2-tiatsolyyli)pentan-1-oli

Suspensioon, joka sisälsi 2,3 g N-[N-(bentsyylioksikarbonyyli)-L-fenyylialanyyli]-(D,L)-2-(sykloheksyylioksi)glysiiniä 6 ml:ssa dikloorimetaania, lisättiin 0,71 g trietyyliamiinia. Tähän liuokseen lisättiin 2,25 g bentsotriatsol-1-yylioksitris(dimetyyliamino)fosfoniumheksafluorifosfaattia ja sen jälkeen kaksi minuuttia myöhemmin 1 g (S)2-amino-4-metyyli-(R)1-(2-tiatsolyyli)pentan-1-olia.

Kun liuosta oli sekoitettu yli yön, sitä kuumennettiin palautusjäähdyttäen yhden tunnin ajan ja konsentroitiin tyhjössä. Jäännös liuotettiin 50 ml:aan etyyliasetaattia ja pestiin peräkkäin 1 mol/l kloorivetyhapolla, 1 mol/l natriumbikarbonaatilla ja suolaliuoksella. Väritön liuos kuivattiin, suodatettiin ohuen vedettömän magnesiumsilikattipatsaan läpi ja konsentroitiin öljyksi (4,55 g). Edellä saatu öljy 30 ml:ssa heksaani-etyyliasetaatti-seosta (1:1) suodatettiin ja kromatografoitiin käyttäen liuottimena etyyliasetaati-heksaani-seosta (1:1) kahdessa sarjaan kytketyssä Prep 500 -silikageelipylväässä korkeassa paineessa. Pylvään tilavuudet 4 - 7 (fraktio A) ja 9 - 12 (fraktio B) sisälsivät tuotteet. Liuokset konsentroitiin erikseen, jolloin fraktiosta A saatiin 1,1 g N-[N-(bentsyylioksikarbonyyli)-L-fenyylialanyyli-L-2-(sykloheksyylioksi)glysyyli]-(S)2-amino-4-metyyli-(R)1-(2-tiatsolyyli)-pentan-1-oli lasina, $[\alpha]_D^{26}$ = -54 ± 1° (c, 1,3, metanoli), R_f = 0,39 silikageelilevyillä käyttäen liuottimena etyyliasetaatti-heksaani-seosta (1:1).

Fraktio B:n konsentrointi tuotti 1,11 g N-[N-(bentsyylioksikarbonyyli)-L-fenyylialanyyli-D-2-(sykloheksyyli-

oksi)glysyyli]-(S)2-amino-4-metyyli-(R)1-(2-tiatsolyyli)-pentan-1-olia lasina, $[\alpha]_D^{26}$ = -3 ± 1° (c, 1,4, metanoli), R_f = 0,19 silikageelilevyillä käyttäen liuottimena etyyliasetaatti-heksaani-seosta (1:1).

Esimerkki 15

N-[N-(bentsyylioksikarbonyyli)-L-fenyylialanyyli-L-2-(1-metyylietoksi)glysyyli]-(S)2-amino-4-metyyli-(R)1-(2-tiatsolyyli)pentan-1-oli ja N-[N-(bentsyylioksikarbonyyli)-L-fenyylialanyyli-D-2-(1-metyylietoksi)glysyyli]-(S)2-amino-4-metyyli-(R)1-(2-tiatsolyyli)pentan-1-oli

Suspensioon, joka sisälsi 1,7 g N-[N-(bentsyylioksikarbonyyli)-L-fenyylialanyyli-(D,L)-2-(1-metyylietoksi)-glysiiniä 4 ml:ssa dikloorimetaania, lisättiin 0,56 ml trietyyliamiinia. Saatuun liuokseen lisättiin 1,8 g bentsotriatsol-1-yylioksitris(dimetyyliamino)fosfoniumheksafluorifosfaattia ja kahden minuutin kuluttua 0,8 g (S)2-amino-4-metyyli-(R)1-(2-tiatsolyyli)pentan-1-olia 1 ml:ssa dikloorimetaania. Reaktioseosta sekoitettiin yli yön, kuumennettiin palautusjäähdyttäen 30 minuuttia ja laimennettiin 50 ml:lla etyyliasetaattia. Kun liuos oli pesty 10 ml:lla sekä 1 mol/l kloorivetyhappoa, 1 mol/l natriumbikarbonaattia että suolaliuosta, se kuivattiin ja suodatettiin hiilen kanssa ohuen vedettömän magnesiumsilikaattipatsaan läpi. Suodos konsentroitiin tyhjössä, jolloin saatiin 2,5 g kumia. Korkeapainenestekromatografia (kaksi Prep 500 -silikageelipylvästä) heksaani-etyyliasetaatti-seoksella (1:1) tuotti kaksi hyvin toisistaan erottunutta (refraktioindeksi-detektio) piikkiä. Pylvään tilavuuksien 6 - 9 (fraktio A) konsentrointi tuotti 0,76 g N-[N-(bentsyylioksikarbonyyli)-L-fenyylialanyyli-L-2-(1-metyylietoksi)glysyyli]-(S)2-amino-4-metyyli-(R)1-(2-tiatsolyyli)pentan-1-olin kiiltävänä vaahtona, $[\alpha]_D^{26}$ = -56 ± 1° (c, 1,5, metanoli), R_f = 0,32 silikageelilevyillä käyttäen etyyliasetaatti-heksaani-seosta (1:1) liuottimena.

Pylvääntilavuuksien 12 - 15 (fraktio B) konsentrointi tuotti kiinteän aineen, joka kiteytyi isopropyyliasetaatista, jolloin saatiin 0,83 g N-[N-(bentsyylioksikarbonyyli)-L-fenyylialanyyli-D-2-(1-metyylietoksi)glysyyli]-(S)2-amino-4-metyyli-(R)1-(2-tiatsolyyli)pentan-1-olia kiteinä, sp. 163 - 164 °C, $[\alpha]_D^{26}$ = -8 ± 2° (c, 0,5, metanoli), R_f = 0,20 silikageelilevyillä käyttäen etyyliasetaatti-heksaani-seosta (1:1) liuottimena.

Esimerkki 16

N-[N-(butoksikarbonyyli)-L-fenyylialanyyli-L-leusyyli]-(S)2-amino-4-metyyli-(R)1-(2-tienyyli)pentan-1-oli

Seosta, joka sisälsi 0,16 g fenyylidikloorifosfaattia ja 0,26 g imidatsolia 2 ml:ssa dikloorimetaania, sekoitettiin puoli tuntia, jonka jälkeen se jäähdytettiin 0 °C:seen ja 0,28 g N-(t-butoksikarbonyyli)-L-fenyylialanyyli-L-leusiinia 2 ml:ssa dikloorimetaania lisättiin. Tätä seosta sekoitettiin -15 °C:ssa yhden tunnin ajan. 0,1 g:n annos (S)2-amino-4-metyyli-(R)1-(2-tienyyli)pentan-1-olia lisättiin, tätä seosta sekoitettiin -15 °C:ssa 20 tuntia, jonka jälkeen se laimennettiin 10 ml:lla vettä ja 20 ml:lla etyyliasetaattia. Kun seos oli lämmennyt huoneenlämpötilaan, orgaaninen kerros erotettiin, pestiin kahdella 10 ml:n annoksella 0,5 mol/l kloorivetyhapoa, 10 ml:lla 1 mol/l natriumhydroksidia ja 10 ml:lla kyllästettyä natriumkloridiliuosta, kuivattiin ja liuotin poistettiin tyhjössä. 0,31 g jäännöstä liuotettiin 2 ml:aan metanolia, 1 ml 1 mol/l natriumhydroksidia lisättiin, seosta sekoitettiin yhden tunnin ajan, jonka jälkeen se laimennettiin 2 ml:lla vettä. Metanoli poistettiin ja vesipitoinen suspensio uutettiin 15 ml:lla etyyliasetaattia. Uutos pestiin kyllästetyllä natriumkloridiliuoksella, kuivattiin ja suodatettiin ohuen vedettömän magnesiumsilikaattipatsaan läpi. Patsas pestiin etyyliasetaatilla. Suodos ja pesuliuos yhdistettiin ja konsentroitiin tyhjössä.

Kiinteä jäännös pestiin heksaanilla, jolloin saatiin 0,27 g haluttua tuotetta valkoisena kiinteänä aineena, R_f = 0,72 (silikageelilevy, etyyliasetaatti-heksaani-seos 1:1), $[\alpha]_D^{26}$ = -34 ± 2° (c, 0,48, metanoli).

Esimerkki 17

N-[N-(t-butoksikarbonyyli)-L-fenyylialanyyli-L-leusyyli]-(S)2-amino-3-sykloheksyyli-(R)1-(2-furanyyli)propan-1-oli

A. 1,1-dimetyylietyyli-(S)-[1-(sykloheksyylimetyyli)-2-(2-furanyyli)-2-oksoetyyli]karbamaatti

Liuos, joka sisälsi 1,57 g N-metoksi-N-metyyli-N^{α}-t-butoksikarbonyyli-L-sykloheksyylialaniiniamidia 15 ml:ssa kuivaa tetrahydrofuraania, jäähdytettiin -78 °C:seen argonin alla. Liuokseen lisättiin tipoittain 5,9 g sekundaarista butyylilitiumia (0,85 mol/l heksaanissa). Viskoosia seosta sekoitettiin -78 °C:ssa 1,5 tuntia, jonka jälkeen se lämmitettiin 0 °C:seen ja sitä sekoitettiin viisi minuuttia (liuos A).

Liuos, joka sisälsi 0,73 ml furaania 5 ml:ssa kuivaa tetrahydrofuraania, jäähdytettiin 0 °C:seen ja 3,8 ml n-butyylilitiumia (2,35 mol/l heksaanissa) lisättiin. Keltaista suspensiota sekoitettiin 0 °C:ssa 1,7 tuntia, jonka jälkeen sen annettiin lämmetä huoneenlämpötilaan 15 minuuttia (keltainen liuos B).

Keltainen liuos B lisättiin liuokseen A ja seosta sekoitettiin 0 °C:ssa 1,5 tuntia. Seos pysäytettiin 5 ml:lla kyllästettyä, vesipitoista ammoniumkloridia ja huoneenlämpötilaliuotin poistettiin tyhjössä. Jäännös laimennettiin 50 ml:lla etyyliasetaattia ja 20 ml:lla 1 mol/l kloorivetyhappoa. Orgaaninen faasi erotettiin ja pestiin peräkkäin 20 ml:lla 1 mol/l kloorivetyhappoa, 20 ml:lla vettä, 20 ml:lla kyllästettyä natriumbikarbonaattia ja 20 ml:lla suolaliuosta ja kuivattiin natriumsulfaatilla. Liuotin poistettiin tyhjössä, jolloin saatiin 1,63 vaaleanruskeaa kumia. Tämä kumi liuotettiin eetteri-heksaani-

seokseen (1:5) ja liuos suodatettiin ohuen vedettömän magnesiumsilikaattipatsaan läpi. Patsas pestiin eetteri-heksaani-seoksella (1:5) ja suodos konsentroitiin. Jäännös trituroitiin heksaanin kanssa, jolloin saatiin 1,23 g vaaleankeltaisia kiteitä. $[\alpha]_D^{26}$ = +41 ± 1° (c, 1,14, metanoli).

B. (S)2-(N-t-butoksikarbonyyli)amino-3-sykloheksyyli-(R,S)1-(2-furanyyli)propan-1-oli

Liuos, joka sisälsi 0,16 g 1,1-dimetyylietyyli-(S)-[1-(sykloheksyylimetyyli)-2-(2-furanyyli)-2-oksoetyyli]-karbamaattia 2 ml:ssa kuivaa tetrahydrofuraania ja 0,2 ml:ssa metanolia, jäähdytettiin 0 °C:seen argonin alla ja 23 mg natriumboorihydridiä lisättiin. Liuosta sekoitettiin 0 °C:ssa yhden tunnin ajan, jonka jälkeen reaktio pysäytettiin 2 ml:lla kyllästettyä ammoniumkloridin vesiliuosta. Orgaaninen liuotin poistettiin tyhjössä ja jäännös laimennettiin 5 ml:lla vettä ja uutettiin 10 ml:lla etyyliasetaattia. Orgaaninen kerros erotettiin, pestiin peräkkäin 5 ml:lla 0,5 mol/l kloorivetyhappoa, 5 ml:lla kyllästettyä natriumbikarbonaattia ja 5 ml:lla suolaliuosta ja kuivattiin natriumsulfaatilla. Liuotin poistettiin tyhjössä, jolloin saatiin 0,19 g kumimaista kiinteää ainetta.

C. (4S-trans)-4-(sykloheksyylimetyyli)-5-(2-furanyyli)-2-oksatsolidioni

Liuokseen, joka sisälsi 0,23 g (S)2-(N-t-butoksikarbonyyli)amino-3-sykloheksyyli-(R,S)1-(2-furanyyli)propan-1-olia 3 ml:ssa dikloorimetaania, lisättiin 0,06 ml trifluorietikkahappoa. Liuosta sekoitettiin 23 tuntia huoneenlämpötilassa, pestiin 1 mol/l natriumhydroksidilla, kuivattiin natriumsulfaatilla ja liuotin poistettiin, jolloin saatiin 0,17 g kiinteää ainetta.

D. (S)2-amino-3-sykloheksyyli-(R)1-(2-furanyyli)-propan-1-oli

Näyte, joka sisälsi 0,15 g (4S-trans)-4-(sykloheksyylimetyyli)-5-(2-furanyyli)-2-oksatsolidinonia, liuotet-

tiin seokseen, joka sisälsi 3 ml etanolia ja 3 ml 1 mol/l natriumhydroksidia. Liuosta kuumennettiin palautusjäähdyttäen 17 tuntia, laimennettiin 3 ml:lla vettä ja konsentroitiin tyhjössä etanolin poistamiseksi. Vesipitoinen jäännös uutettiin kahdella 5 ml:n annoksella dikloorimetaania ja uutokset kuivattiin natriumsulfaatilla. Liuotin poistettiin, jolloin saatiin 0,15 g kiinteää ainetta, joka pestiin heksaanilla, jolloin saatiin 0,13 g valkoista kiinteää ainetta, $[\alpha]_D^{26}$ = -10 ± 2° (c, 0,507, metanoli).

E. Seos, joka sisälsi 0,12 g fenyylidikloorifosfaattia ja 0,12 g imidatsolia 2,5 ml:ssa dikloorimetaania, sekoitettiin huoneenlämpötilassa yhden tunnin ajan, jonka jälkeen se jäähdytettiin -15 °C:seen argonin alla. 0,21 g N-(t-butoksikarbonyyli)-L-fenyylialanyyli-L-leusiinia lisättiin annoksina ja seosta sekoitettiin yhden tunnin ajan. Yllä olevaan seokseen lisättiin 80 mg (S)2-amino-3-sykloheksyylimetyyli-(R)1-(2-furanyyli)propan-1-olia 0,5 ml:ssa dikloorimetaania. Seosta sekoitettiin -15 °C:ssa 23 tuntia ja laimennettiin 15 ml:lla etyyliasetaattia ja 10 ml:lla 0,5 mol/l kloorivetyhappoa. Orgaaninen kerros erotettiin ja pestiin peräkkäin 5 ml:lla 0,5 mol/l kloorivetyhappoa, 5 ml:lla 1 mol/l natriumhydroksidia ja 5 ml:lla suolaliuosta ja kuivattiin natriumsulfaatilla. Liuotin poistettiin tyhjössä, jolloin saatiin 0,24 g kiinteää ainetta. Tämä kiinteä aine liuotettiin 2 ml:aan metanolia ja 1 ml:aan 1 mol/l natriumhydroksidia ja seosta sekoitettiin yhden tunnin ajan. Seos laimennettiin 4 ml:lla vettä ja konsentroitiin metanolin poistamiseksi. Jäännös uutettiin 10 ml:lla etyyliasetaattia ja uutos kuivattiin natriumsulfaatilla. Uutos suodatettiin ohuen vedettömän magnesiumsilikattipatsaan läpi ja patsas pestiin etyyliasetaatilla. Suodos konsentroitiin tyhjössä, jolloin saatiin 0,16 g kiinteää ainetta. Kiinteän aineen pesu heksaanilla tuotti 0,15 g esimerkin tuotetta valkoisena kiinteänä aineena, $[\alpha]_D^{26}$ = -31 ± 2° (c, 0,58, metanoli).

Esimerkki 18

N-[(fenyylimetoksi)karbonyyli]-L-fenyylialanyyli-L-2-(2-metyylipropoksi)glysyyli]-(1R,2S)-2-amino-3-sykloheksyyli-1-(2-tiatsolyyli)propan-1-oli ja N-[(fenyylimetoksi)karbonyyli]-L-fenyylialanyyli-D-2-(2-metyylipropoksi)glysyyli]-(1R,2S)-2-amino-3-sykloheksyyli-1-(2-tiatsolyyli)propan-1-oli

Liuokseen, joka sisälsi 0,19 g N,N-karbonyylidi-imidatsolia 3 ml:ssa dikloorimetaania argonin alla, lisättiin 0,51 g N-[(fenyylimetoksi)karbonyyli]-L-fenyylialanyyli-D,L-2-(2-metyylipropoksi)glysiiniä. Liuosta sekoitettiin yhden tunnin ajan, jonka jälkeen siihen lisättiin 0,24 g (S)2-amino-3-sykloheksyyli-(R)1-(2-tiatsolyyli)propan-1-olia. Kun liuosta oli sekoitettu yhden päivän ajan, siihen lisättiin liuos, joka sisälsi 0,26 g N-[(fenyylimetoksi)karbonyyli]-L-fenyylialanyyli-D,L-2-(2-metyylipropoksi)glysiiniä, joka oli aktivoitu 0,10 g:lla N,N-karbonyylidi-imidatsolia. Kun seosta oli sekoitettu 21 tuntia, lisäys toistettiin. Liuosta sekoitettiin yli yön, jonka jälkeen se laimennettiin 40 ml:lla etyyliasetaattia ja pestiin kahdesti 20 ml:lla 0,5 mol/l kloorivetyhappoa, kahdesti 20 ml:lla 50-%:isesti kyllästettyä kaliumkarbonaattiliuosta ja 20 ml:lla suolaliuosta. Orgaaninen kerros kuivattiin ja haihdutettiin tyhjössä. Jäännös kromatografoitiin silikageelillä eluoiden etyyliasetaatti-heksaaniseoksella (2:3), jolloin saatiin 0,21 g N-[(fenyylimetoksi)karbonyyli]-L-fenyylialanyyli-L-2-(2-metyylipropoksi)-glysyyli]-(1R,2S)-2-amino-3-sykloheksyyli-1-(2-tiatsolyyli)propan-1-olia valkoisena kiinteänä aineena, $[\alpha]_D^{26}$ = -48 ± 3° (c, 0,365, metanoli) ja 0,14 g N-[(fenyylimetoksi)karbonyyli]-L-fenyylialanyyli-D-2-(2-metyylipropoksi)-glysyyli]-(1R,2S)-2-amino-3-sykloheksyyli-1-(2-tiatsolyyli)propan-1-olia valkoisena kiinteänä aineena, $[\alpha]_D^{26}$ = -19 ± 3° (c, 0,366, metanoli).

Esimerkki 19

N-[N-(fenyylimetoksi)karbonyyli]-L-fenyylialanyyli-D,L-2-(isopropyylitio)glysyyli]-(S)2-amino-3-syklo-heksyyli-(R)1-(2-tiatsolyyli)propan-1-oli

Liuokseen, joka sisälsi 4,1 g N-(fenyylimetoksi)-karbonyyli-3-L-fenyylialanyyli-D,L-2-hydroksiglysiiniä 50 ml:ssa metanolia (jäähdytettynä jäähauteessa) lisättiin 0,3 ml väkevää rikkihappoa. Seosta jäähdytettiin 16 tunnin ajan 0 - 5 °C:ssa, suodatettiin ja kiinteä aine pestiin eetterillä, jolloin saatiin 2,67 g N-[N-(fenyylimetoksi)-karbonyyli-L-fenyylialanyyli]-2-hydroksiglysiininmetyyli-esteriä valkoisina kiteinä, sp. 117 - 127 °C, $[\alpha]_D^{26}$ = +4 ± 2° (c, 0,52, metanoli).

Liuosta, joka sisälsi 0,30 g edellä saatua yhdistettä, 0,722 ml isopropyylimerkaptaania ja 16 mg 1-naftyleenisulfonihappoa 6 ml:ssa dikloorimetaania, kuumennettiin palautusjäähdyttäen argonin alla yli yön. Vielä 0,725 ml isopropyylimerkaptaania lisättiin ja seosta kuumennettiin palautusjäähdyttäen 24 tuntia. Liuotin poistettiin ja jäännös liuotettiin kloroformiin. Liuos pestiin 10-%:isella natriumkarbonaatilla (emulsio, metanolia lisätty). Orgaaninen kerros erotettiin ja vesipitoinen kerros uutettiin kloroformilla. Yhdistetyt orgaaninen kerros ja uutokset pestiin kyllästetyllä natriumkloridiliuoksella, kuivattiin ($MgSO_4$) ja liuotin poistettiin tyhjössä. Jäännös (0,36 g) kromatografoitiin flas-kromatografisesti silikageelillä käyttäen kloroformia eluointiliuoksena, jolloin saatiin 0,13 g N-[(fenyylimetoksi)karbonyyli]-L-fenyylialanyyli-D,L-2-(isopropyylitio)glysiininmetyyliesteriä valkoisina kiteinä, sp. 100 - 103 °C.

Edellä saatu yhdiste metanolissa yhden moolisen ekvivalentin kanssa 1 mol/l natriumhydroksidia tuottaa N-[(fenyylimetoksi)karbonyyli]-L-fenyylialanyyli-D,L-2-(isopropyylitio)glysiinin lasina.

Edellä saatu yhdiste valmistettiin myös seuraavalla tavalla. Liuokseen, joka sisälsi 0,5 g N-[(fenyylimetoksi)karbonyyli]-3-1-fenyylialanyyli-D,L-2-hydroksiglysiiniä ja 0,624 ml isopropyylimerkaptaania 5 ml:ssa etikkahappoa argonin alla, lisättiin 0,15 ml rikkihappoa. Seosta sekoitettiin huoneenlämpötilassa kaksi päivää (kaikki kiinteät aineet liukenivat) ja se kaadettiin jääveteen. Seos uutettiin etyyliasetaatilla (useita kertoja). Yhdistetyt uutokset pestiin vedellä. Orgaaninen kerros kuivattiin ($MgSO_4$) ja liuotin poistettiin, jolloin saatiin 0,48 g N-[(fenyylimetoksi)karbonyyli]-L-fenyylialanyyli-D,L-2-(isopropyylitio)glysiiniä kirkkaana lasina.

Edellä oleva yhdiste aktivoitiin N,N-karbonyylidiimidatsolilla dikloorimetaanissa ja saatettiin reagoimaan (S)2-amino-3-sykloheksyyli-(R)1-(2-tiatsolyyli)propan-1-olin kanssa esimerkissä 18 kuvatulla tavalla, jolloin saatiin N-[(fenyylimetoksi)karbonyyli]-L-fenyylialanyyli-D,L-2-(isopropyylitio)glysyyli]-(S)2-amino-3-sykloheksyyli-(R)1-(2-tiatsolyyli)propan-1-oli lasina.

Esimerkki 20

N-[N-[(fenyylimetoksi)karbonyyli]-L-fenyylialanyyli-D,L-2-(2-metyylipropoksi)glysyyli]-(1R,2S)-2-amino-4-metyyli-1-(2-imidatsolyyli)pentan-1-oli

Liuos, joka sisälsi 18,4 g 1-[[2-(trimetyylisilyyli)metoksi]metyyli]-1H-imidatsolia 80 ml:ssa tetrahydrofuraania argonin alla, jäähdytettiin -75 °C:seen ja liuokseen lisättiin 37,2 ml n-butyylilitiumia heksaanissa (2,5 mol/l). Kun seosta oli sekoitettu -78 °C:ssa yksi tunti, siihen lisättiin liuos, joka sisälsi 10,0 g N-t-butoksikarbonyyli-L-leusinaalia 20 ml:ssa tetrahydrofuraania. Seosta sekoitettiin -78 °C:ssa 1,5 tuntia, jäähdytyshaude poistettiin viideksi minuutiksi ja seos pysäytettiin 30 ml:lla kyllästettyä ammoniumkloridiliuosta. Tetrahydrofuraani poistettiin tyhjössä ja vesipitoinen jäännös laimennettiin 30 ml:lla vettä ja uutettiin sitten 300 ml:lla

etyyliasetaattia. Orgaaninen kerros pestiin kyllästetyllä natriumbikarbonaatilla (50 ml) ja kyllästetyllä natriumkloridiliuoksella ja kuivattiin (Na_2SO_4). Liuotin poistettiin tyhjössä, jolloin saatiin 29,0 g meripihkanväristä öljyä. Kromatografia silikageelillä eluoiden etyyliasetaatti-heksaani-seoksella (2:3) tuotti 8,2 g kiinteää ainetta. Tämä kiinteä aine kromatografoitiin silikageelillä käyttäen eluointiliuoksena etyyliasetaatti-heksaani-seosta (3:2), jolloin saatiin 4,14 g (S)2-(t-butoksikarbonyyli)-amino-4-metyyli-(R)1-[2-[N-[2-(trimetyylisilyyli)etoksi)-metyyli]imidatsolyyli]pentan-1-olia valkoisena kiinteänä aineena, $[\alpha]_D^{26}$ = 8 ± 2° (c, 0,583, metanoli). 0,21 g:aan edellä saatua yhdistettä 1 ml:ssa dikloorimetaania lisättiin 0,39 g trifluorietikkahappoa ja liuosta sekoitettiin kahden tunnin ajan huoneenlämpötilassa argonin alla. Seos laimennettiin 10 ml:lla dikloorimetaania ja kaadettiin jääkylmään 1 mol/l natriumhydroksidiin. Orgaaninen kerros erotettiin ja vesipitoinen kerros uutettiin dikloorimetaanilla. Orgaaninen kerros ja uutokset yhdistettiin, kuivattiin (Na_2SO_4) ja liuotin poistettiin, jolloin saatiin 0,15 g(S)2-amino-4-metyyli-(R)1-[2-[2-trimetyylisilyyli)-etoksi]metyyli]imidatsolyyli]pentan-1-olia valkoisena kiinteänä aineena.

Kuten esimerkissä 18 kuvattiin, N-[(fenyylimetoksi)karbonyyli]-L-fenyylialanyyli-D,L-2-(2-metyylipropoksi)glysiini aktivoitiin N,N-karbonyylidi-imidatsolilla 3 ml:ssa dikloorimetaania ja tähän liuokseen lisättiin 0,15 g (S)2-amino-4-metyyli-(R)1-[1-[2-[N-[2-(trimetyylisilyyli]etoksi]metyyli]imidatsolyyli]pentan-1-olia. Kun seosta oli sekoitettu yli yön, se laimennettiin etyyliasetaatilla, pestiin peräkkäin 0,5 mol/l kloorivetyhapolla, 50-%:isesti kyllästetyllä kaliumkarbonaattiliuoksella ja kyllästetyllä natriumkloridiliuoksella. Orgaaninen kerros kuivattiin, liuotin poistettiin ja jäännös liuotettiin tetrahydrofuraaniin. Liuokseen lisättiin 3 ml tetra-n-

butyyliammoniumfluoridia tetrahydrofuraanissa (1,0 mol/l), 0,4 ml trietyyliamiinia ja 0,4 ml vettä. Seosta kuumennettiin palautusjäähdyttäen 24 tuntia ja konsentroitiin tyhjössä. Vesipitoinen jäännös uutettiin etyyliasetaatilla, uutos kuivattiin ja liuotin poistettiin, jolloin saatiin N-[(fenyylimetoksi)karbonyyli]-L-fenyylialanyyli-D,L-2-(2-imidatsolyyli)pentan-1-oli valkeana lasina.

Esimerkki 21

N-[N-[(fenyylimetoksi)karbonyyli]-L-fenyylialanyyli-D,L-2-etoksiglysyyli]-(S)2-amino-4-metyyli-(R)1-(2-pyridinyyli)pentan-1-oli

2-bromipyridiiniin (3,16 g) 20 ml:ssa kuivaa tetrahydrofuraania jäähdytettynä -78 °C:seen argonin alla, lisättiin hitaasti 11,2 ml n-butyylilitiumia tetrahydrofuraanissa (2 mol/l). Liuosta sekoitettiin viisi minuuttia, jonka jälkeen lisättiin 2,1 g N-t-butoksikarbonyyli-L-leusinaalia 10 ml:ssa tetrahydrofuraania. Seosta sekoitettiin 35 minuuttia, jolloin reaktio pysäytettiin 10 ml:lla kyllästettyä natriumsulfaattiliuosta, lämmitettiin huoneenlämpötilaan ja kaadettiin 50 ml:aan vettä. Seos uutettiin etyyliasetaatilla. Uutos kuivattiin (Na_2SO_4) ja liuotin poistettiin tyhjössä. Jäännös kromatografoitiin silikageelillä käyttäen etyyliasetaatti-heksaani-seosta (1:1) eluointiliuoksena, jolloin saatiin 0,62 g (S)-2-t-butoksikarbonyyliamino-4-metyyli-(R,S)1-(2-pyridinyyli)pentan-1-olia keltiasena öljynä, $[\alpha]_D^{26}$ = -21 ± 3° (c, 0,329, dikloorimetaani). 4,12 näytettä edellä saatua yhdistettä seoksessa, joka sisälsi 15 ml dikloorimetaania ja 5 ml etikkahappoanhydridiä, sekoitettiin huoneenlämpötilassa 22 tuntia. Seos konsentroitiin tyhjössä. Jäännös liuotettiin dikloorimetaaniin ja liuos pestiin kyllästetyllä natriumkarbonaatin vesiliuoksella, kuivattiin (Na_2SO_4) ja liuotin poistettiin. Jäännös kromatografoitiin silikageelillä käyttäen 30-%:ista etyyliasetaattia heksaanissa, jolloin saatiin 1,55 g (S)-2-t-butoksikarbonyyliamino-4-metyyli-

(S)1-(2-pyridinyyli)pentan-1-olin O-asetaattia kiteinä, sp. 83 - 85 °C, $[\alpha]_D^{26}$ = -62 ± 1° (c, 1,01, dikloorimetaani) ja (S)-2-t-butoksikarbonyyliamino-4-metyyli-(R)1-(2-pyridinyyli)pentan-1-olin O-asetaattia meripihkanvärisenä öljynä, $[\alpha]_D^{26}$ = +3 ± 1° (c, 1,066, metanoli).

3,32 g:n näyte (S)-2-t-butoksikarbonyyliamino-4-metyyli-(R)1-(2-pyridinyyli)pentan-1-olin O-asetaattia liuotettiin seokseen, joka sisälsi 3 ml metanolia ja 8 ml 5 mol/l natriumhydroksidia. Liuosta sekoitettiin 10 °C:ssa kaksi tuntia, jonka jälkeen se uutettiin dikloorimetaanilla. Uutos kuivattiin (Na_2SO_4) ja liuotin poistettiin tyhjössä, jolloin saatiin 2,69 g (S)-2-t-butoksikarbonyyliamino-4-metyyli-(R)1-(2-pyridinyyli)pentan-1-olia öljynä. Edellä saatuun yhdisteeseen (2,69 g) lisättiin 15 ml 2 mol/l vedetöntä kloorivetyhappoa etyyliasetaatissa. Kun seosta oli sekoitettu huoneenlämpötilassa, liuotin poistettiin tyhjössä, jolloin saatiin 2,46 g (S)-2-amino-4-metyyli-(R)1-(2-pyridinyyli)pentan-1-olin dihydrokloridia vaaleanruskeina kiteinä, sp. 152 - 154 °C. Liuokseen, joka sisälsi N-[(fenyylimetoksi)karbonyyli]-L-fenyylialanyyli-D,L-2-etoksiglysiiniä (2,0 g, 5 mmol, vertailuesimerkki 12) ja 5 mmoolia 2-etoksi-1(2H)-kinoliinikloorivetyhapon etyyliesteriä 50 ml:sa dikloorimetaania, lisättiin 5 mmoolia (S)-2-amino-4-metyyli-(R)1-(2-pyridinyyli)pentan-1-olin dihydrokloridia ja 4 ml trietyyliamiinia 25 ml:ssa dikloorimetaania. Seosta sekoitettiin huoneenlämpötilassa 20 tuntia ja työstettiin vertailuesimerkissä 8 kuvatulla tavalla, jolloin saatiin N-[N-[(fenyylimetoksi)karbonyyli]-L-fenyylialanyyli-D,L-2-etoksiglysyyli]-(S)2-amino-4-metyyli-(R)1-(2-pyridinyyli)pentan-1-oli kiinteänä aineena.

Esimerkki 22

N-[N-(fenyylimetoksi)karbonyyli]-L-fenyylialanyyli-D,L-2-(2-metyylipropoksi)glysyyli]-(S)2-amino-3-sykloheksyyli-(R)1-(2-pyridinyyli)propan-1-oli

Liuokseen, joka sisälsi 3,16 g 2-bromipyridiiniä 20 ml:ssa kuivaa tetrahydrofuraania jäähdytettynä -78 °C:seen argonin alla, lisättiin 11,6 ml n-butyylilitiumia tetrahydrofuraanissa (2,0 mol/l). Kun seosta oli sekoitettu viisi minuuttia, siihen lisättiin 3,14 g N-metoksi-N-metyyli-N^{α}-t-butoksikarbonyyli-L-sykloheksyylialaniiniamidia 20 ml:ssa kuivaa tetrahydrofuraania. Tummaa liuosta sekoitettiin yksit unti -78 °C:ssa, jonka jälkeen reaktio pysäytettiin 20 ml:lla kyllästettyä natriumsulfaattiliuosta. Seoksen annettiin lämmetä huoneenlämpötilaan ja se kaadettiin 50 ml:aan vettä. Seos uutettiin etyyliasetaatilla ja uutos kuivattiin (Na_2SO_4). Liuotin poistettiin tyhjössä ja jäännös kromatografoitiin silikageelipylväässä käyttäen etyyliasetaatti-heksaani-seosta (1:1) liuottimena, jolloin saatiin 2,01 g 1,1-dimetyylietyyli-(S)-[1-(sykloheksyylimetyyli)-2-okso-2-(2-pyridinyyli)etyyli]karbonaattia öljynä, $[\alpha]_D^{26}$ = +35 ± (c, 0,812, metanoli). Liuos, joka sisälsi 1,35 g edellä saatua yhdistettä 30 ml:ssa kuivaa tetrahydrofuraania argonin alla, jäähdytettiin -78 °C:seen ja 7,5 ml litiumtri-sek-butyylihydridiä tetrahydrofuraanissa (1,0 mol/l) lisättiin. Seosta sekoitettiin viisi tuntia -78 °C:ssa ja 12 tuntia huoneenlämpötilassa. Jäähdytetty reaktioseos (jäähaude) pysäytettiin vedellä (8 ml), jonka jälkeen lisättiin tipoittain 8 ml 30-%:ista vetyperoksidia. Seos uutettiin etyyliasetaatilla, uutos kuivattiin (Na_2SO_4) ja liuotin poistettiin tyhjössä. Jäännös kromatografoitiin silikageelipylväässä käyttäen etyyliasetaatti-heksaani-seosta (2:3) liuottimena, jolloin saatiin 0,27 g (S)-2-t-butoksikarbonyyliamino-3-sykloheksyyli-(R)1-(2-pyridinyyli)propan-1-olia valkoisena kiinteänä aineena.

3,12 g:n näyte kiteytettiin uudelleen heksaanista, jolloin saatiin 1,52 g valkoisia kiteitä, sp. 68 - 69 °C, $[\alpha]_D^{26}$ = +9 ± 1° (c, 1,07, metanoli).

2,36 g:aan edellä saatua yhdistettä lisättiin 32 ml 2 mol/l kloorivetyhappoa etyyliasetaatissa. Kun seosta oli sekoitettu yli yön siihen lisättiin 10 ml 6 mol/l kloorivetyhappoa. Liuosta sekoitettiin huoneenlämpötilassa kolme tuntia, se konsentroitiin, tehtiin emäksiseksi väkevällä ammoniumhydroksidilla ja uutettiin dikloorimetaanilla. Uutos kuivattiin kaliumkarbonaatilla ja liuotin poistettiin, jolloin saatiin 1,39 g öljyä. Öljy kiteytettiin diisopropyylieetteristä, jolloin saatiin kiteitä, jotka sublimoitiin alennetussa paineessa, jolloin saatiin (S)2-amino-3-sykloheksyyli-(R)1-(2-pyridinyyli)propan-1-oli valkoisina kiteinä, sp. 57 - 59 °C, $[\alpha]_D^{26}$ = +6 ± 1° (c, 1,045, metanoli).

Liuokseen, joka sisältää 1,0 g N-[(fenyylimetoksi)karbonyyli]-L-fenyylialanyyli-D,L-2-(2-metyylipropoksi)glysiiniä (vertailuesimerkki 4) ja 0,58 g (EEDQ) 2-etoksi-1(2H)-kinoliinikarboksyylihapon etyyliesteriä 25 ml:ssa dikloorimetaania, lisättiin 2,33 mmoolia (S)2-amino-3-sykloheksyyli-(R)1-(2-pyridinyyli)propan-1-olia 15 ml:ssa dikloorimetaania. Seosta sekoitettiin 15 tuntia ja liuotin poistettiin. Jäännös työstettiin vertailuesimerkissä 8 kuvatulla tavalla, jolloin tuote saatiin kiinteänä aineena.

Esimerkki 23

N-[N-[(fenyylimetoksi)karbonyyli]-L-fenyylialanyyli-D,L-2-(2-metyylipropoksi)glysyyli]-(S)2-amino-3-sykloheksyyli-(R)1-(2-tienyyli)propan-1-oli

N-[(fenyylimetoksi)karbonyyli]-L-fenyylialanyyli-D,L-2-(2-metyylipropoksi)glysiinin aktivointi N,N-karbonyylidi-imidatsolilla esimerkissä 18 kuvatulla tavalla ja reaktio (S)2-amino-3-sykloheksyyli-(R)1-(2-tienyyli)propan-1-olin kanssa esimerkin 18 (S)2-amino-3-sykloheksyyli-

(R)1-(2-tiatsolyyli)propan-1-olin sijasta tuotti esimerkin tuotteen kiinteänä aineena.

Esimerkki 24

N-[N-[(fenyylimetoksi)karbonyyli]-L-fenyylialanyyli-D,L-2-(2-metyylipropoksi)glysyyli]-(S)2-amino-3-sykloheksyyli-(R)1-(2-furanyyli)propan-1-oli

N-[(fenyylimetoksi)karbonyyli]-L-fenyylialanyyli-D,L-2-(2-metyylipropoksi)glysiinin aktivointi N,N-karbonyylidi-imidatsolilla esimerkissä 18 kuvatulla tavalla ja reaktio (S)2-amino-3-sykloheksyyli-(R)1-(2-furanyyli)propan-1-olin kanssa esimerkin 18 (S)2-amino-3-sykloheksyyli-(R)1-(2-tiatsolyyli)propan-1-olin sijasta tuotti esimerkin tuotteen kiinteänä aineena.

Esimerkki 25

N-[N-[(fenyylimetoksi)karbonyyli]-L-fenyylialanyyli-D,L-2-(isopropyylitio)glysyyli-(S)2-amino-3-sykloheksyyli-(R)1-(2-tienyyli)propan-1-oli

N-[(fenyylimetoksi)karbonyyli]-L-fenyylialanyyli-D,L-2-(isopropyylitio)glysiinin aktivointi N,N-karbonyylidi-imidatsolilla ja reaktio (S)2-amino-3-sykloheksyyli-(R)1-(2-tienyyli)propan-1-olin kanssa esimerkissä 18 kuvatulla tavalla tuotti esimerkin tuotteen kiinteänä aineena.

Esimerkki 26

N-[N-[(fenyylimetoksi)karbonyyli]-L-fenyylialanyyli-D,L-2-(isopropyylitio)glysyyli]-(S)2-amino-3-sykloheksyyli-(R)1-(2-furanyyli)propan-1-oli

N-[(fenyylimetoksi)karbonyyli]-L-fenyylialanyyli-D,L-2-(isopropyyligio)glysiinin aktivointi N,N-karbonyylidi-imidatsolilla ja reaktio (S)2-amino-3-sykloheksyyli-(R)1-(2-furanyyli)propan-1-olin kanssa esimerkissä 18 kuvatulla tavallat uotti esimerkin tuotteen kiinteänä aineena.

Esimerkki 27

N-[N-[(fenyylimetoksi)karbonyyli]-D,L-2-(isopropyylitio)glysyyli]-(S)2-amino-4-metyyli-(R)1-(2-tiatsolyyli)pentan-1-oli

Liuokseen, joka sisälsi 0,15 g N-[(fenyylimetoksi)-karbonyyli]-L-fenyylialanyyli-D,L-2-(isopropyylitio)glysiiniä 5 ml:ssa dikloorimetaania argonin alla, lisättiin 86,3 mg 2-etoksi-1(2H)-kinoliinikarboksyylihapon etyyliesteriä (EEDQ). Kun liuosta oli sekoitettu 15 minuuttia, siihen lisättiin (S)2-amino-4-metyyli-(R)1-(2-tiatsolyyli)pentan-1-olin liuos 2 ml:ssa dikloorimetaania. Liuosta sekoitettiin yli yön huoneenlämpötilassa, jonka jälkeen se pestiin 3 mol/l kloorivetyhapolla, 10-%:isella natriumbikarbonaatilla ja suolaliuoksella ja kuivattiin magnesiumsulfaatilla. Liuotin poistettiin tyhjössä, jolloin saatiin 0,180 g kirkasta vaahtoa. Ohutlevykromatografia silikageelilevyillä eluoiden etyyliasetaatti-heksaani-seoksella (1:1) erotti kaksi diastereomeeria, N-[N-[(fenyylimetoksi)karbonyyli]-L-fenyylialanyyli-D-2-(isopropyylitio)glysyyli]-(S)2-amino-4-metyyli-(R)1-(2-tiatsolyyli)pentan-1-olin kitein, sp. 163 - 164 °C ja N-[N-[(fenyylimetoksi)-karbonyyli]-L-fenyylialanyyli-L-2-(isopropyylitio)glysyyli]-(S)2-amino-4-metyyli-(R)1-(2-tiatsolyyli)pentan-1-oli kirkkaana vaahtona.

Esimerkki 28

N-[N-[(fenyylimetoksi)karbonyyli]-L-fenyylialanyyli-D,L-2-(2-N,N-dimetyyliaminoetyylitio)glysyyli]-(S)2-amino-4-metyyli-(R)1-(2-tiatsolyyli)pentan-1-oli

Seosta, joka sisälsi 0,5 g N-[(fenyylimetoksi)-karbonyyli]-L-fenyylialanyyli-D,L-2-hydroksiglysiiniä ja 0,212 g 2-dimetyyliaminoetaanitiolin hydrokloridia 6 ml:ssa kuivaa etikkahappoa argonin alla, sekoitettiin hitaasti. Seokseen lisättiin 1 ml etikkahappoa, joka oli kyllästetty kuivalla, kaasumaisella kloorivetyhapolla.

Paksua liuosta sekoitettiin huoneenlämpötilassa 20 tuntia (kolmen tunnin kuluttua kiinteät aineet olivat liuenneet). Seos konsentroitiin tyhjössä. Jäännökseen lisättiin kuivaa etikkahappoa ja seos konsentroitiin tyhjössä. Tolueenia ja etanolia lisättiin jäännökseen, jonka jälkeen liuotin poistettiin. Etanolia lisättiin ja sitten poistettiin ja jäännöstä pumpattiin kolmen päivän ajan tyhjössä, jolloin saatiin 0,75 g N-[(fenyylimetoksi)karbonyyli]-L-fenyylialanyyli-D,L-2-(2-N,N-dimetyyliaminoetyylitio)glysiinin hydrokloridia viskoosina öljynä. 1,38 g:n näyte edellä saatua yhdistettä puhdistettiin kromatografisesti silikageelipylväässä käyttäen kloroformia ja sitten metanoli-kloroformi-seosta (1:4) eluointiliuoksena. Tuotteen sisältävät fraktiot yhdistettiin ja liuotin poistettiin, jolloin saatiin 0,57 g valkoista kiinteää ainetta.

0,47 g:n näyte edellä saatua yhdistettä liuotettiin 25 ml:aan N,N-dimetyyliformamidia argonin alla. Liuokseen lisättiin 0,154 g N,N-karbonyylidi-imidatsolia ja kun seosta oli sekoitettu kaksi tuntia, siihen lisättiin 0,19 g (S)2-amino-4-metyyli-(R)1-(2-tiatsolyyli)pentan-1-olia. Seosta sekoitettiin yli yön ja liuottimet poistettiin korkeassa vakuumissa. Jäännös liuotettiin kloroformiin ja liuos pestiin kyllästetyllä natriumbikarbonaatilla (emulsio, vettä oli lisätty ja seos suodatettu emulsion rikkomiseksi) ja sitten suolaliuoksella (emulsio). Orgaaninen kerros erotettiin, kuivattiin magnesiumsulfaatilla ja liuotin poistettiin, jolloin saatiin 0,65 g esimerkin tuotetta vaaleanruskeana öljynä.

Esimerkki 29

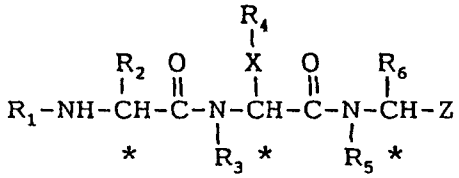
N-[N-[(fenyylimetoksi)karbonyyli]-L-fenyylialanyyli-L-2-(1-metyylietoksi)glysyyli]-(S)2-amino-3-sykloheksyyli-(R)1-(2-pyridinyyli)propan-1-oli ja N-[N-[(fenyylimetoksi)karbonyyli]-L-fenyylialanyyli-D-2-(1-metyylietoksi)glysyyli]-(S)2-amino-3-sykloheksyyli-(R)1-(2-pyridinyyli)propan-1-oli

Lietteeseen, joka sisälsi 0,30 g N-[N-[(fenyylimetoksi)karbonyyli]-L-fenyylialanyyli-D,L-2-(1-metyylietoksi)glysiiniä 10 ml:ssa dikloorimetaania, lisättiin 0,179 g 2-etoksi-1(2H)-kinoliinikarboksyylihapon etyyliesteriä (EEDQ). Kun seosta oli sekoitettu 30 minuuttia, kiinteä aine liukeni ja 0,169 g (S)2-amino-3-sykloheksyyli-(R)1-(2-pyridinyyli)propan-1-olia 2 ml:ssa dikloorimetaania lisättiin. Liuosta sekoitettiin 16 tuntia, jonka jälkeen se pestiin 10-%:isella natriumbikarbonaatilla ja suolaliuoksella ja kuivattiin magnesiumsulfaatilla. Liuotin poistettiin, jolloin saatiin 0,52 g vaaleanruskeaa vaahtoa. 1,02 g:n näyte edellä saatua yhdistettä kromatografoitiin silikageelipylväässä käyttäen etyyliasetaatti-dikloorimetaani-seosta (4:6) liuottimena Waters Prep 500 -laitteessa. Vähemmän poolisen diastereomeerin sisältävät fraktiot yhdistettiin, jolloin saatiin 0,18 g valkoista vaahtoa. Poolisemman diastereomeerin sisältävät fraktiot yhdistettiin, jolloin saatiin 0,17 g valkoista vaahtoa.

L7

Reniini-inhibiittoreita

Tämä keksintö koskee uusia dipeptidi- ja tripeptidijohdannaisia, joilla on kaava I



(I)

jossa

R_1 on vety, (C_{1-8})-alkyyli-C(=O)-, (C_{1-8})-alkyyli-OC(=O)-, fenyyli-$(CH_2)_n$OC(=O)-, naftyyli-$(CH_2)_n$-OC(=O)- tai fenyyli-C(=O)-, jolloin n on kokonaisluku 1 - 4, tai ryhmät R_1-L-prolyyli, R_1-L-tioprolyyli, R_1-L-seryyli, R_1-L-metionyyli, R_1-L-alanyyli, R_1-L-fenyylialanyyli, R_1-L-(S-bentsyyli)kysteinyyli, R_1-L-histidyyli tai R_1-L-glysyyli;

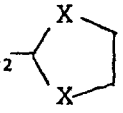
R_2 on fenyylimetyyli, (2-tienyyli)CH_2, (3-indolyyli)CH_2 tai -CH_2-naftyyli;

R_3 on vety tai metyyli;

R_4 on (C_{1-8})-alkyyli, -$(CH_2)_n NH_2$, (4-imidatsolyyli)CH_2-, fenyylimetyyli, fenyyli, sykloheksyyli, CH_2CH_2N-[(C_{1-3})-alkyyli]$_2$ tai $(CH_2)_n$-X-(C_{1-3})-alkyyli;

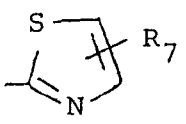
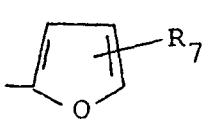
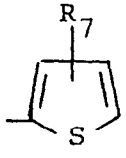
R_5 on vety tai metyyli;

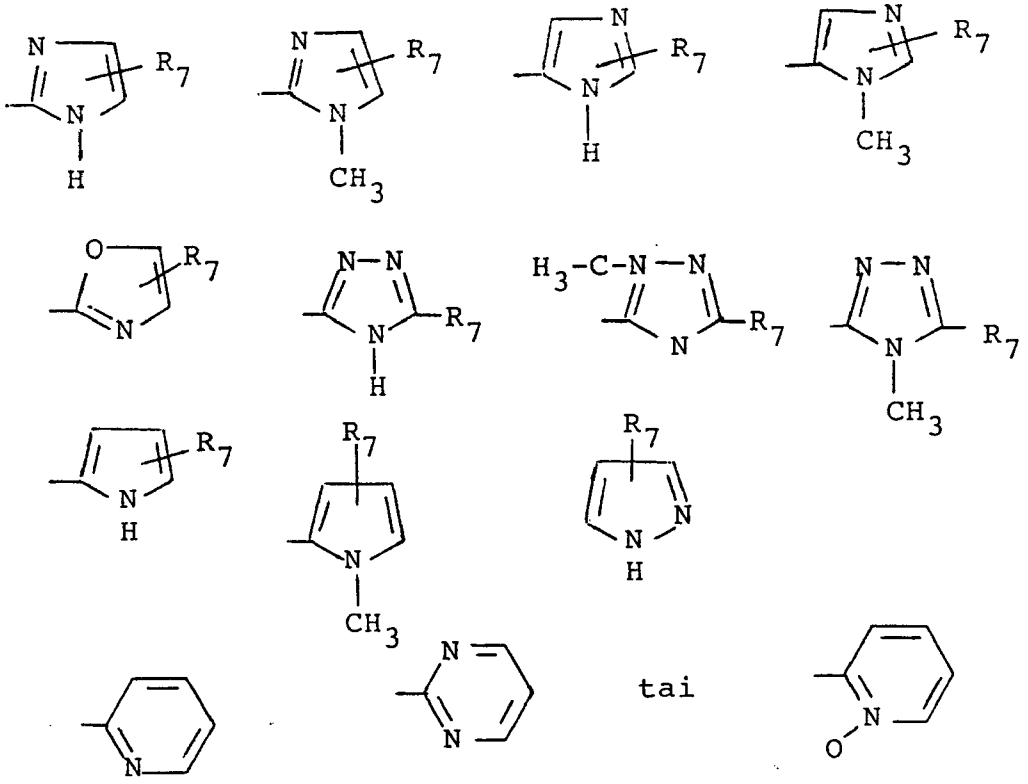
R_6 on (C_{1-6})-alkyyli, fenyylimetyyli, sykloheksyylimetyyli,

-$(CH_2)_n$-X-(C_{1-3})-alkyyli tai 

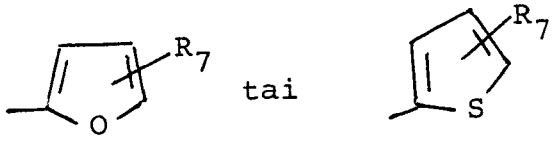
X on -O- tai -S-; ja

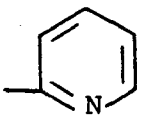
Z on -CHO tai -CH(OH)A, jolloin A on



sillä edellytyksellä, että kun A on

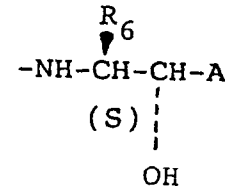


X kaavassa I voi myös olla yksöissidos, R_7 on vety, (C_{1-3})-alkyyli tai COR_8 ja R_8 on NH_2, OH, $-O-(C_{1-4})$-alkyyli, $-NH-(C_{1-4})$-alkyyli, $-N[(C_{1-3})\text{-alkyyli}]_2$ tai $-NHCH_2$-

Kaavassa I tähdet merkitsevät asymmetrisiä hiiliatomeja.

Kaavan I mukaisten yhdisteiden ryhmässä tietyt yhdisteiden alaryhmät ovat edullisia. Laajasti edullisia

ovat ne yhdisteet, joissa α-aminohapoilla on luonnollinen L-konfiguraatio. Siten edullisimpia ovat ne yhdisteet, joissa dipeptidi- tai tripeptidiyksikkö on L,L- tai L,L,L-konfiguraatiossa. Erityisen edullisia C-terminaalisissa yksiköissä ovat yhdisteet, joissa C-terminaalisilla yksiköillä on kaava II

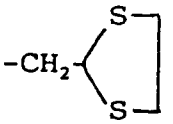


II

jossa on anti(treo)suhde aminoryhmän ja hydroksyyliryhmän välillä. Edullisimpia kaavan II mukaisia 1-amino-2-hydroksiyhdisteitä ovat ne diastereomeerit, joilla on 1S-konfiguraatio.

Edullisimpia kaavan I mukaisia yhdisteitä, joissa C-terminaalinen ryhmä on kaavan II mukainen, ovat yhdisteet, joissa

R_1 on $-\overset{O}{\overset{\|}{C}}-O-(C_{1-8})$-alkyyli, $-\overset{O}{\overset{\|}{C}}-O-CH_2$-fenyyli tai $-\overset{O}{\overset{\|}{C}}-O-CH_2$-naftyyli, R_2 on fenyylimetyyli, (3-indolyyli)CH_2-, (2-tienyyli)CH_2 tai CH_2-naftyyli, R_3 on vety, R_4 on (C_{1-8})-alkyyli, (4-imidtasolyyli)CH_2 tai $CH_2CH_2N[(C_{1-3})\text{-alkyyli}]_2$, R_5 on vety,

R_6 on (C_{1-8})-alkyyli, sykloheksyylimetyyli tai 

Z on -CH(OH)-A, jolloin A, R_7 ja X ovat kuten aikaisemmin on määritelty ja R_8 on NH_2, OH, $-O-(C_{1-4})$-alkyyli tai $-NH-(C_{1-4})$-alkyyli.

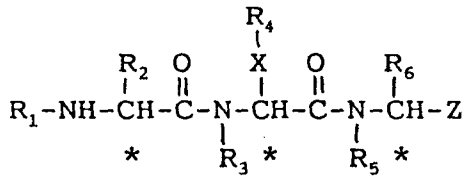
Kaavan I mukaiset tuotteet ja edulliset alaryhmät voidaan valmistaa erilaisia synteesimenetelmiä käyttäen.

Tuotteet voidaan esimerkiksi valmistaa saattamalla kaavan III mukainen N-suojattu dipeptidi:

L8

Patenttivaatimukset

1. Yhdiste, jolla on kaava I



(I)

jossa

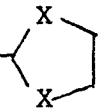
R_1 on vety, (C_{1-8})-alkyyli-C(=O)-, (C_{1-8})-alkyyli-OC(=O)-, fenyyli-$(CH_2)_n$OC(=O)-, naftyyli-$(CH_2)_n$-OC(=O)- tai fenyyli-C(=O)-, jolloin n on kokonaisluku 1 - 4, tai ryhmät R_1-L-prolyyli, R_1-L-tioprolyyli, R_1-L-seryyli, R_1-L-metionyyli, R_1-L-alanyyli, R_1-L-fenyylialanyyli, R_1-L-(S-bentsyyli)kysteinyyli, R_1-L-histidyyli tai R_1-L-glysyyli;

R_2 on fenyylimetyyli, (2-tienyyli)CH_2, (3-indolyyli)CH_2 tai -CH_2-naftyyli;

R_3 on vety tai metyyli;

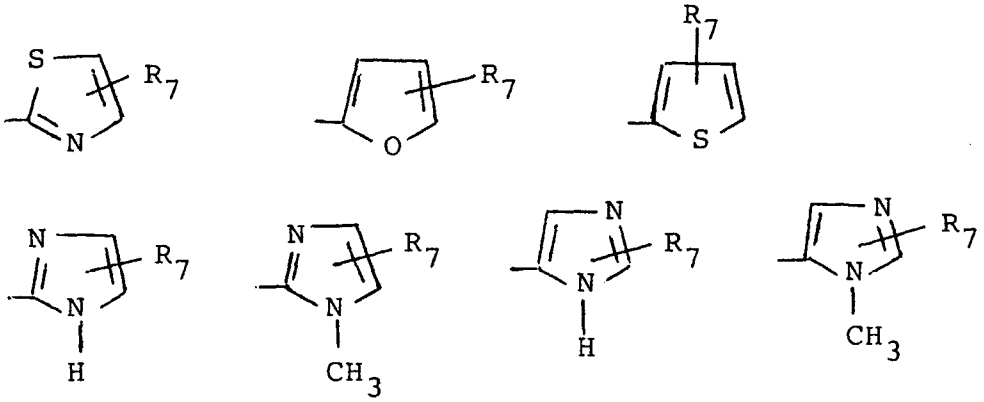
R_4 on (C_{1-8})-alkyyli, -$(CH_2)_nNH_2$, (4-imidatsolyyli)CH_2-, fenyylimetyyli, fenyyli, sykloheksyyli, CH_2CH_2N-[(C_{1-3})-alkyyli]$_2$ tai $(CH_2)_n$-X-(C_{1-3})-alkyyli;

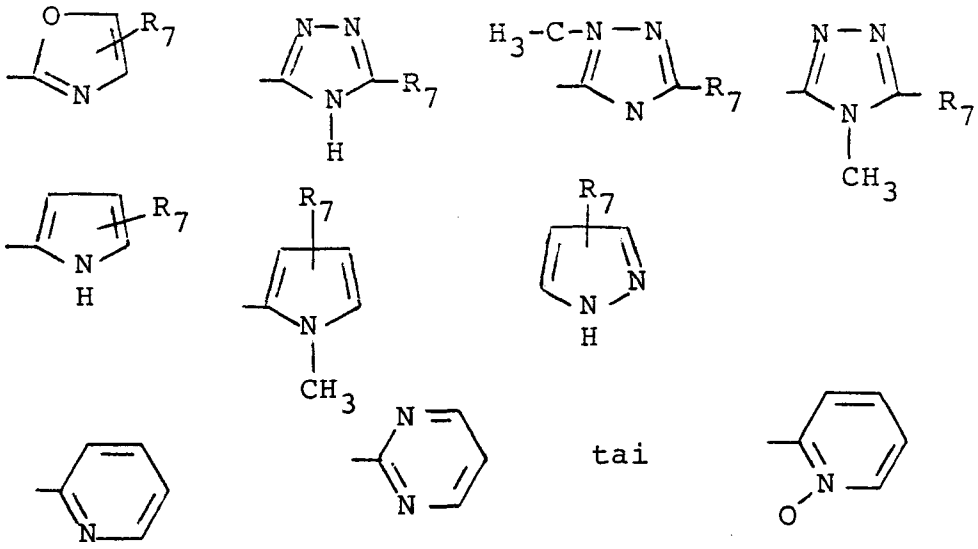
R_5 on vety tai metyyli;

R_6 on (C_{1-6})-alkyyli, fenyylimetyyli, sykloheksyylimetyyli, -$(CH_2)_n$-X-(C_{1-3})-alkyyli tai 

X on -O- tai -S-; ja

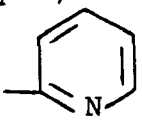
Z on -CHO tai -CH(OH)A, jolloin A on





sillä edellytyksellä, että kun A on



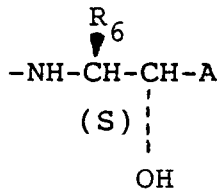
X kaavoissa voi olla myös yksöissidos, R_7 on vety, (C_{1-3})-alkyyli tai COR_8 ja R_8 on NH_2, OH, $-O-(C_{1-4})$-alkyyli, $-NH-(C_{1-4})$-alkyyli, $-N[(C_{1-3})\text{-alkyyli}]_2$ tai $-NHCH_2$-

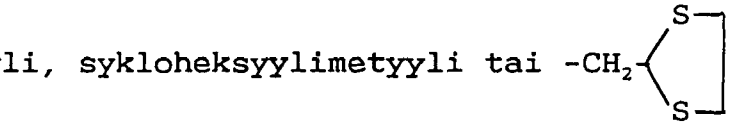
ja tähdet merkitsevät asymmetrisiä hiiliatomeja.

2. Patenttivaatimuksen 1 mukainen yhdiste, t u n n e t t u siitä, että α-aminohapoilla on luonnollinen L-konfiguraatio.

3. Patenttivaatimuksen 1 mukainen yhdiste, t u n n e t t u siitä, että dipeptidi- tai tripeptidiyksikön konfiguraatio on L,L- tai L,L,L-konfiguraatio.

4. Patenttivaatimuksen 1 mukainen yhdiste, t u n n e t t u siitä, että C-terminaalinen ryhmä on



R_1 on $-\overset{O}{\overset{\|}{C}}-O-(C_{1-8})$-alkyyli, $-\overset{O}{\overset{\|}{C}}-O-CH_2$-fenyyli tai $-\overset{O}{\overset{\|}{C}}-O-CH_2$-naftyyli, R_2 on fenyylimetyyli, (3-indolyyli)CH_2-, (2-tienyyli)CH_2 tai CH_2-naftyyli, R_3 on vety, R_4 on (C_{1-8})-alkyyli, (4-imidtasolyyli)CH_2 tai $CH_2CH_2N[(C_{1-3})$-alkyyli$]_2$, R_5 on vety, R_6 on (C_{1-8})-alkyyli, sykloheksyylimetyyli tai 

5. Patenttivaatimuksen 4 mukainen yhdiste N-[N-(t-butoksikarbonyyli)-L-fenyylialanyyli-L-leusyyli]-(S)2-amino-3-sykloheksyyli-(R)1-(2-furanyyli)pentan-1-oli.

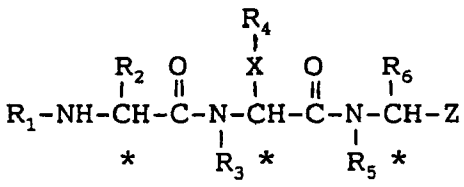
6. Patenttivaatimuksen 4 mukainen yhdiste N-[N-[fenyylimetoksi)karbonyyli]-L-fenyylialanyyli-L-2-(1-metyylietoksi)glysyyli]-(S)-2-amino-3-sykloheksyyli-(R)1-(2-pyridinyyli)propan-1-oli.

7. Patenttivaatimuksen 4 mukainen yhdiste N-[N-[fenyylimetoksi)karbonyyli]-L-fenyylialanyyli-L-2-(isopropyylitio)glysyyli]-(S)2-amino-3-sykloheksyyli-(R)1-(2-imidatsolyyli)propan-1-oli.

8. Patenttivaatimuksen 3 mukainen yhdiste N-[N-[(metyylipropyyli)karbonyyli]-L-fenyylialanyyli-L-histidyyli]-(S)2-amino-3-sykloheksyyli(R)1-(2-tienyyli)propan-1-oli.

9. Patenttivaatimuksen 3 mukainen yhdiste N-[N-[(2-metyylipropyyli)karbonyyli]-L-tryptofyyli-L-histidyyli]-(S)2-amino-3-sykloheksyyli-(R)1-(2-tienyyli)propan-1-oli.

10. Menetelmä yhdisteen valmistamiseksi, jolla on kaava I



(I)

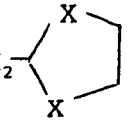
jossa R_1 on vety, (C_{1-8})-alkyyli-C(=O)-, (C_{1-8})-alkyyli-OC(=O)-, fenyyli-$(CH_2)_n$OC(=O)-, naftyyli-$(CH_2)_n$-OC(=O)- tai fenyyli-C(=O)-, jolloin n on kokonaisluku 1 - 4, tai ryhmät R_1-L-prolyyli, R_1-L-tioprolyyli, R_1-L-seryyli, R_1-L-metionyyli, R_1-L-alanyyli, R_1-L-fenyylialanyyli, R_1-L-(S-bentsyyli)kysteinyyli, R_1-L-histidyyli tai R_1-L-glysyyli;

R_2 on fenyylimetyyli, (2-tienyyli)CH_2, (3-indolyyli)CH_2 tai -CH_2-naftyyli;

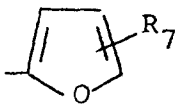
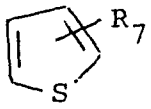
R_3 on vety tai metyyli;

R_4 on (C_{1-8})-alkyyli, -$(CH_2)_n$$NH_2$, (4-imidatsolyyli)$CH_2$-, fenyylimetyyli, fenyyli, sykloheksyyli, CH_2CH_2N-[(C_{1-3})-alkyyli]$_2$ tai $(CH_2)_n$-X-(C_{1-3})-alkyyli;

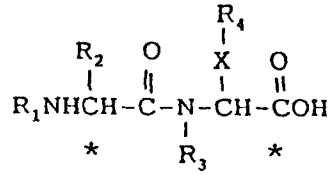
R_5 on vety tai metyyli;

R_6 on (C_{1-6})-alkyyli, fenyylimetyyli, sykloheksyylimetyyli, -$(CH_2)_n$-X-(C_{1-3})-alkyyli tai 

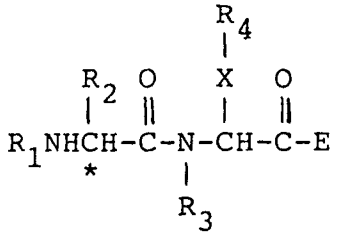
X on -O- tai -S-; ja

Z on -CHO tai -CH(OH)A, jolloin A on  tai 

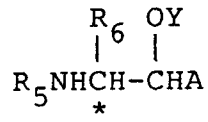
t u n n e t t u siitä, että aktivoidaan yhdiste, jolla on kaava



peptidikytkentäreagenssilla N,N'-disykloheksyylikarbodi-imidi, N,N'-disykloheksyylikarbodi-imidi ja N-hydroksisukkinimidi, N,N'-disykloheksyylikarbodi-imidi ja 1-hydroksibentsotriatsoli, 1-bentsotriatsolyylidietyylifosfaatti, 1-kloori-N,N,2-trimetyyli-1-propen-1-amiini, difenyylifosforyyliatsidi, dietyylifosforiklooridaatti, di(alempi C_{1-8}-alkyyli)fosforiklooridaatit, difenyylifosforiklooridaatti, fenyylifosforidiklooridaatti, bentsotriatsol-1-yylioksi-tris(dimetyyliamino)fosfoniumheksafluorifosfaatti, N-etoksikarbonyyli-2-etoksi-1,2-dihydrokinoliini, N,N'-bis-[2-okso-2-oksatsolidinyyli]fosforidiamidikloridi, difenyylifosfinyylikloridi, dietoksifosforyylisyanidi tai N,N-karbonyylidi-imidatsoli, isobutyyliklooriformaatti ja N-metyylimorfoliini, 2-kloori-1-metyylipyridiniumjodidi, jolloin saadaan välituote, jolla on kaava

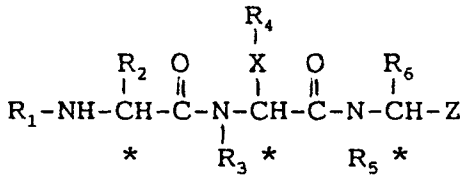


(jossa E on aktivoiva ryhmä),
saatetaan välituote reagoimaan -10 - 25 °C:ssa reagoimaan tetrahydrofuraanissa, dioksaanissa, dikloorimetaanissa, etyyliasetaatissa tai N,N-dimetyyliformamidissa 1-amino-2-hydroksiyhdisteen kanssa, jolla on kaava



jossa Y on vety tai poistettava estoryhmä, joka voi olla trimetyylisilyyli, t-butyylidimetyylisilyyli, tetrahydropyranyyli, asetyyli tai bentsoyyli,
ja kun Y on suojaryhmä, poistetaan hydroksyylin suojaryhmä.

11. Menetelmä yhdisteen valmistamiseksi, jolla on kaava I



(I)

jossa

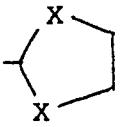
R_1 on vety, (C_{1-8})-alkyyli-C(=O)-, (C_{1-8})-alkyyli-OC(=O)-, fenyyli-$(CH_2)_n$OC(=O)-, naftyyli-$(CH_2)_n$-OC(=O)- tai fenyyli-C(=O)-, jolloin n on kokonaisluku 1 - 4, tai ryhmät R_1-L-prolyyli, R_1-L-tioprolyyli, R_1-L-seryyli, R_1-L-metionyyli, R_1-L-alanyyli, R_1-L-fenyylialanyyli, R_1-L-(S-bentsyyli)kysteinyyli, R_1-L-histidyyli tai R_1-L-glysyyli;

R_2 on fenyylimetyyli, (2-tienyyli)CH_2, (3-indolyyli)CH_2 tai -CH_2-naftyyli;

R_3 on vety tai metyyli;

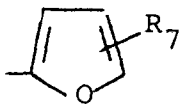
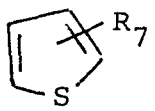
R_4 on (C_{1-8})-alkyyli, -$(CH_2)_n$$NH_2$, (4-imidatsolyyli)$CH_2$-, fenyylimetyyli, fenyyli, sykloheksyyli, CH_2CH_2N-[(C_{1-3})-alkyyli]$_2$ tai $(CH_2)_n$-X-(C_{1-3})-alkyyli;

R_5 on vety tai metyyli;

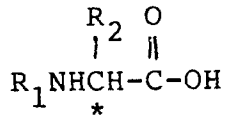
R_6 on (C_{1-6})-alkyyli, fenyylimetyyli, sykloheksyylimetyyli, -$(CH_2)_n$-X-(C_{1-3})-alkyyli tai -CH_2-

X on -O- tai -S-; ja

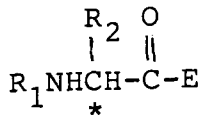
Z on -CHO tai -CH(OH)A, jolloin A on

 tai 

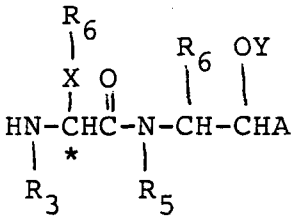
t u n n e t t u siitä, että aktivoidaan yhdiste, jolla on kaava



peptidikytkentäreagenssilla N,N'-disykloheksyylikarbodi-imidi, N,N'-disykloheksyylikarbodi-imidi ja N-hydroksisukkinimidi, N,N'-disykloheksyylikarbodi-imidi ja 1-hydroksibentsotriatsoli, 1-bentsotriatsolyylidietyylifosfaatti, 1-kloori-N,N,2-trimetyyli-1-propen-1-amiini, difenyylifosforyyliatsidi, dietyylifosforiklooridaatti, di(alempi C_{1-8}-alkyyli)fosforiklooridaatit, difenyylifosforiklooridaatti, fenyylifosforidiklooridaatti, bentsotriatsol-1-yylioksitris(dimetyyliamino)fosfoniumheksafluorifosfaatti, N-etoksikarbonyyli-2-etoksi-1,2-dihydrokinoliini, N,N'-bis-[2-okso-2-oksatsolidinyyli]fosforidiamidikloridi, difenyylifosfinyylikloridi, dietoksifosforyylisyanidi tai N,N-karbonyylidi-imidatsoli, isobutyyliklooriformaatti ja N-metyylimorfoliini, 2-kloori-1-metyylipyridiniumjodidi, jolloin saadaan välituote, jolla on kaava



(jossa E on aktivoiva ryhmä),
ja saatetaan välituote reagoimaan yhdisteen kanssa, jolla on kaava



jolloin Y on vety tai poistettava estoryhmä, joka voi olla trimetyylisilyyli, t-butyylidimetyylisilyyli, tetrahydropyranyyli, asetyyli tai bentsoyyli,
ja kun Y on suojaryhmä, poistetaan hydroksyylin suojaryhmä.