



SUOMI-FINLAND

(FI)

Patentti- ja rekisterihallitus
Patent- och registerstyrelsen

(B) (11) KUULUTUSJULKAISU
UTLAGGNINGSSKRIFT

81781

C (11) 07D 207/36
Date of publication 10.10.1989

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

C 07D 207/36 // C 12Q 1/34

(21) Patenttihakemus - Patentansökning	851353
(22) Hakemispäivä - Ansökningsdag	03.04.85
(24) Alkuperäisyys - Löpdatum	03.04.85
(41) Tullut julkiseksi - Blivit offentlig	07.10.85
(44) Nähtävöksiannon ja kuul.julkaisun pvm. - Ansökan utlagd och utl.skriften publicerad	31.08.90
(32) (33) (31) Etuoikeus - Prioritet	06.04.84 US 597337 P

(71) Hakija - Sökande

1. Miles Inc., Elkhart, Ind., USA, (US)

(72) Keksijä - Uppfinnare

1. Ward, Frederick E., USA, (US)

2. Yip, Kin Fai, 51194 Creekhaven Drive, Elkhart, Ind., USA, (US)

(74) Asiamies - Ombud: Oy Kolster Ab

(54) Keksinnön nimitys - Uppfinningens benämning

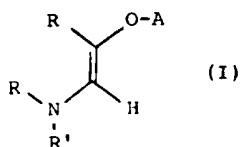
Menetelmä 3-(N-tosyyli-L-alaninyylioksi)-5-fenyylipyrrolijohdannaisten valmistamiseksi
Förfarande för framställning av 3-(N-tosyl-L-alaninyloxi)-5-fenylpyrrolderivat

(56) Viitejulkaisut - Anförda publikationer

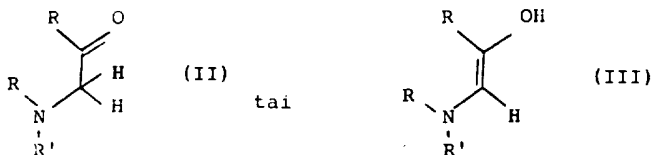
FI C 77229 (C 07D 209/36)

(57) Tiivistelmä - Sammandrag

Keksinnön kohteena on menetelmä esterin valmistamiseksi, jolla on kaava:



jossa A on happotähde; R, samanlaiset tai erilaiset, on H, alempi alkyyli tai aryyli tai molemmat P't yhdessä muodostavat renkasrakenteen ja P' on H, alempi alkyyli tai aryyli. Menetelmä käsittää ensimmäisen yhdisteen, jolla on kaava:



ja toisen yhdisteen, joka on asyylihalidi, joka vastaa A:ta, yhdistämisen, jolloin tämä yhdistäminen suoritetaan orgaanisen hapon läsnäollessa.

Uppfinningen avser ett förfarande för framställning av en ester med formeln (I) där A är en syrest; R, lika eller olika, är H, lägre alkyl eller aryl eller båda P tillsammans bildar en ringstruktur och R' är H, lägre alkyl eller aryl. Förfarandet omfattar kombinerings av en första förening med formeln (II, III) och en andra förening som är en acylhalid som motsvarar A, varvid kombinerings genomförs i närvaro av en organisk syra.

Menetelmä 3-(N-tosyyli-L-alaninyylioksi)-5-fenyylipyrrolidijohdannaisten valmistamiseksi

5 Keksinnön kohteena on menetelmä uusien esteriyhdisteiden valmistamiseksi, jotka ovat käyttökelpoisia testinäytteiden analysoimiseksi analyyttien kuten valkosolujen, esteraasin ja proteaasin läsnäolon suhteen. Keksintö on erityisen käyttökelpoinen valkosolutasojen havaitsemiseksi kehon nesteissä kuten virtsassa, ja se pelkistää laboratoriotyöprosessin tällaista analyysiä varten hankalasta laskentamenetelmästä, joka vaatii mikroskooppista tutkimista, nopeaksi, helpoksi kasta- ja lue-toimitukseksi.

15 Epänormaalien korkean valkosolutason läsnäolo jonkun potilaan virtsassa on mahdollinen osoitus sellaisista sairaustiloista kuin munuaisen tai virtsa- ja sukupuolielinalueen infektiot tai muu toimintahäiriö. Siten tarkka virtsan valkosolu-informaatio voi olla verraton työväline lääkärille tällaisten tautien diagnoosissa ja hoidossa.

20 Perinnäisesti lääkintäammattikunta on luottanut näkömäärittämismenetelmiin valkosolu-populaation laskemiseksi virtsalaskeutumassa tai linkoamattomassa virtsassa, menetelmään, joka vaatii kalliita laitteita kuten sentrifugin ja mikroskoopin, sekä myös klinikolta kohtuuttomasti ajan kuluttamista. Lisäksi perinnäisiä menetelmiä rasittaa se haitta, että ainoastaan ehyet solut määritetään. Virtsaelinryhmässä esiintyvät valkosolut ovat alttiina olosuhteille, jotka voivat edistää laajaa solun hajoamista. Esimerkiksi, on tunnettua, että virtsoissa, joissa on epänormaalien korkea pH, valkosolun puoliintumisikä voi olla niinkin lyhyt kuin 60 minuuttia. Koska hajonneet solut välttyvät havaitsemiselta näkö tutkimusmenetelmissä, voi seurauksena olla erheellisen alhaisia määrityksiä ja vääriä negatiivisia tuloksia.

35 Mikroskooppisen valkosoluanalyysin kahdesta mene-

telmästä - virtsalaskeutumasta ja linkoamattomasta, homogeenoidusta virtsasta - edellinen on selvästi haluttavin. Vaikka luotettavat tulokset voivat totuttaa jälkimmäiseen, käytetään virtsan sedimentti-tutkimusta ylivoimaisesti pääosassa tapauksia. Se vaatii, että virtsanäyte lingotaan ja laskeuma eristetään ja saatetaan mikroskooppitutkimukseen. Analyysin tekijä laskee sitten näkökenttään ilmestyneet valkosolut. Tätä tehtävää vaikeuttaa vielä muiden virtsaaineosien läsnäolo laskeutumassa, kuten epiteelisolujen ja suolaosasten läsnäolo. Laskeutuman aineosien vaihteleva sisältö yhdessä muiden vaikeuttavien tekijöiden kuten näytteen epähomogeenisyyden ja vaihtelevien optisten tehojen kanssa mikroskooppi-laitteistossa voi johtaa suunnattomiin virheisiin lopullisessa määrittäyksessä.

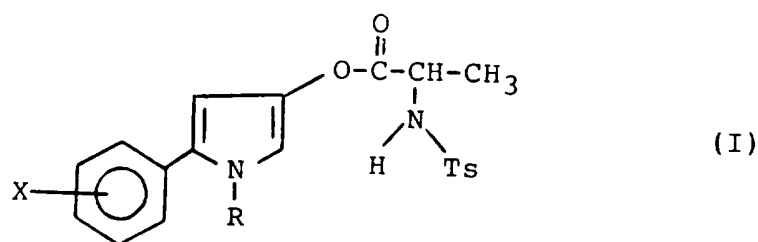
Siten on selvää, että nopea, helppo menetelmä valkosolujen määrittämiseksi, menetelmä, joka poistaisi aikaavievien menetelmien samoin kuin kalliiden laitteiden tarpeen ja joka antaisi tarkkoja vasteita esteraasille, proteaasille tai valkosoluille, olivatpa solut ehjiä tai hajonneita, olisi todella mittava edistys tekniikan tasolla. Tämä keksintö antaa tällaisen edun. Lisäksi se perustuu, ei kykyyn nähdä valkosoluja, vaan entsymaattiseen aktiivisuuteen, joka niillä on, ja siten se on pääasiallisesti vapaa edellä kuvatuista epätarkkuuksista.

Perinnäisesti esteröimisreaktiot asyylihalidien ja alkoholien (tai fenolien) välillä estereiden muodostamiseksi on saatettu tapahtumaan emäksisissä väliaineissa. Näin ensisijaisesti esteröinnissä muodostuneen halogeenihapon (HCl, HF, HBr jne) neutraloimiseksi siirtäen siten tasapainoa esterin muodostumisen eduksi.

Tapauksessa, jossa halutaan valmistaa aminoalkoholien estereitä on kuitenkin ollut tarpeen korvata aminoosa N-suojaryhmällä, kuten asetyyllillä, tosyylillä tai tertbutyylioksidikarbonyyllillä. Muussa tapauksessa yhdiste

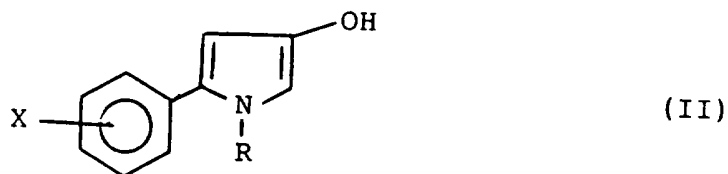
asyloituu sekä hydroksyyli- että amiiniryhmillä. Lisäksi, kun yhdiste on enolialkoholi, keto-muoto estää o-asyloimisen ja sivureaktioiden nukleofiilisemmilla funktionaalisilla ryhmillä tapahtuminen on todennäköistä.

Lyhyesti esitettynä tämän keksinnön kohteena on menetelmä 3-(N-tosyyli-L-alaninyylioksi)-5-fenyylipyrrolijohdannaisten valmistamiseksi, joiden kaava on



jossa R on vety tai metyyli ja X on vety tai kloori,

Keksinnölle on tunnusomaista, että 3-hydroksi-5-fenyylipyrrolijohdannainen, jonka kaava on



jossa R ja X tarkoittavat samaa kuin edellä, saatetaan reagoimaan N-tosyyli-L-alaninyylikloridin kanssa, kun läsnä on liuotinta, joka on tetrahydrofuraani, metyleenikloridi, kloroformi, aseton, dietyylieetteri tai bentseeni, ja heikkoa orgaanista emästä, joka on pyridiini tai 2,6-lutidiini, sekä noin 2,4 ekvivalenttia trifluoretikkahappoa, laskettuna noin 1,2 ekvivalentista N-tosyyli-L-alaninyylikloridia.

FI-patentista 77 229 tunnetussa menetelmässä, joka koskee 3-(N-tolueeni-4'-sulfonyyli)-1-alanyylioksi)indolin valmistusta (käyttämättä orgaanista happoa), on saanto 18 %. Sitä vastoin voidaan eristää jopa 68 % puhdasta tuotetta, kun reaktioon esillä olevan keksinnön mukaisesti sisällytetään orgaanista happoa. Näin ollen esillä olevan keksinnön ansiosta saadaan puhdasta tuotetta melkein 3,7 kertaa niin paljon kuin tunnetulla menetelmällä. On yllättävää, että parannus on melkein 400 % tunnettuun tekniikkaan verrattuna. Mainitussa FI-patentissa ei ole kuvattu esillä olevassa keksinnössä käytettyjä lähtöaineita eikä menetelmällä saatuja tuotteita.

Lämpötilan, jossa esillä olevan keksinnön mukainen reaktio saatetaan tapahtumaan, tulisi varmistaa reagoivien aineiden sekä myös tuotteiden pysyvyys ja voidaan siten rutiininomaisesti määrittää tapaus tapaukselta. Edullinen lämpötila-alue on noin -30°C:sta huoneen lämpötilaan. Ihanteellisesti reaktio saatetaan tapahtumaan noin 0°C:ssa.

Liuottimet, joita käytetään esteröintiä varten, ovat vedettömiä ja niiden tulisi olla suhteellisen vapaat veden jäljistä. Edullinen liuotin on tetrahydrofuraani (THF).

Aineita, jotka takaavat vedettömät olosuhteet, kuten vedetöntä $MgSO_4$ ja molekyylliseuloja, voidaan myös lisätä reaktioseokseen.

Orgaaninen happo, joka on olennainen osa keksinnön menetelmässä määritellään melko väljästi. Se käsittää alkaanihappoja, substituoituja alkaanihappoja, aromaattisia karboksyylihappoja ja substituoituja aromaattisia karboksyylihappoja. Spesifisiä yhdisteitä "orgaanisen hapon" piiristä ovat trifluorietikkahappo, oksaali-, sitruuna-, etikka-, bentsoe-, 2,4-dinitrobentsoemetaanisulfonihappo yms.

Seuraavat esimerkit annetaan auttamaan lukijaa

edelleen ymmärtämään ja käyttämään tätä keksintöä. Siten edulliset suoritustavat selostetaan kokeellisen yksityiskohtaisesti ja tulokset analysoiden. Esimerkit on tarkoitettu olemaan pelkästään kuvaavia eikä niiden mil-
5 lään tavalla ole tarkoitettu rajoittavan tässä selostetun ja vaaditun keksinnön piiriä.

Seuraavassa kokeellisessa osassa käytetään lyhen- teitä seuraavasti:

g = gramma

10 kg = kilogramma

l = litra

ml = millilitra

M = moolinen

mM = millimoolinen

15 N = normaalisuus

eq = ekvivalenttia

mol = grammamolekyylikaava (mooleja)

mmol = grammamolekyylikaava $\times 10^{-3}$ (millimooleja)

aq = vesipitoinen

20 hr = tunti

TLC = ohutlevykromatografia

Infrapuna (IR)-kirjoja saatiin Perkin-Elmer Model 710B tai 237 infrapuna-spektrofotometrillä liuoksina CHCl_3 :ssa, ellei toisin ole esitetty; polystyreenikalvon
25 1602 cm^{-1} -nauhaa käytettiin ulkopuolisena kalibrointi- standardina. Signaalit on esitetty yksikössä cm^{-1} .

Protonimagneettiset resonanssi(^1H NMR)-kirjot saatiin 89,55 MHz:ssa käyttäen JEOL FX-900 spektrometriä tai MHz:ssa käyttäen Varian-T60 spektrometriä; kirjot saa-
30 tiin CDCl_3 -liuoksissa ellei toisin ole esitetty. Kemial- liset muutokset on ilmoitettu miljoonasosina alaspäin si- säisestä standardi-tetrametyylisilaanista.

Hiili- ^{13}C -magneettiset resonanssi(^{13}C NMR)-kirjot saatiin 22,5 MHz:ssa käyttäen JEOL FX 900-spektrometriä
35 Fourier-muunnoksella ja täys-protonilaajakaistakohinan

irtikytkennällä; kirjot saatiin CDCl_3 -liuoksessa, ellei toisin ole esitetty. Hiili-muutokset esitetään miljoonasosina alaspäin sisäisestä standardi-tetrametyylisilaanista.

5 Orgaaniset reagenssit saatiin firmasta Aldrich Chemical Company ja niitä käytettiin puhdistamatta, ellei toisin ole esitetty. Epäorgaaniset reagenssit olivat ACS reagenssi-asteisia firmasta Fischer Scientific Company tai muilta päämyyjiltä. Reaktioliuottimet olivat ACS-reagenssiasteisia; tetrahydrofuraani (THF) oli HPLC-asteista
10 firmasta J.T. Baker Chemical Company. Suolaliuos tarkoittaa kyllästettyä vesipitoista natriumkloridi-liuosta.

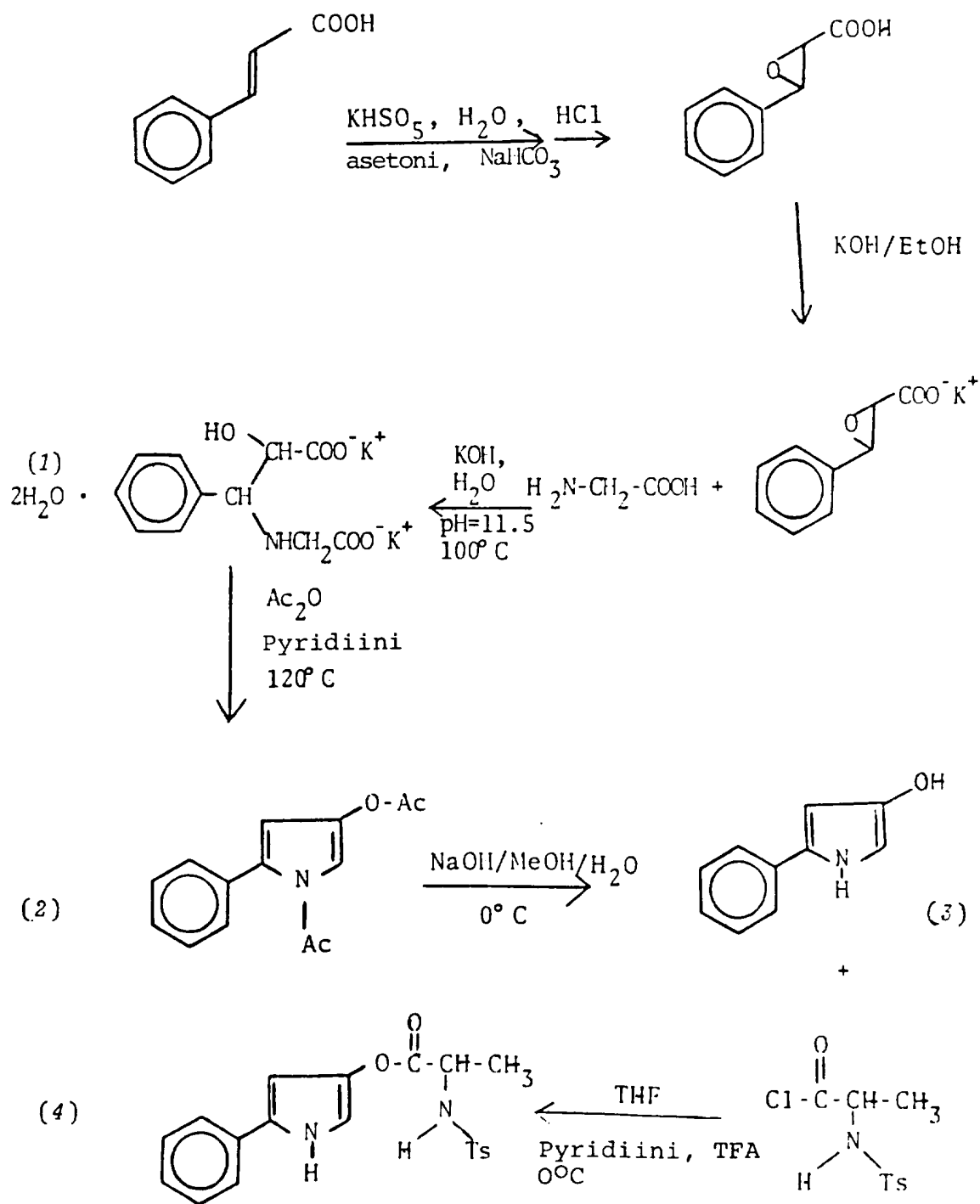
 Ohutlevykromatografia (TLC) suoritettiin käyttäen piihappogeeli 60F-254-levyjä firmasta E.Merck. Pylväskromatografia suoritettiin käyttäen E. Merck Silica Gel 60
15 (seulaluku 70-230 mesh). Kaikki esitetyt sulamispisteet ja kiehumapisteet ovat korjaamattomia.

 Käytettiin seuraavaa suurpaine-nestekromatografia (HPLC)-menetelmää. HPLC-pylväs, mitoiltaan 250 x 4,6 mm,
20 täytetty silanoidulla piihappogeelillä (Partisil, saatu firmasta Waters and Associates), jonka keskimääräinen osaskoko oli 5 mikronia. Eluentti eli liikkuva faasi oli nheksaanin ja etyyliasetaatin seos (7:3 tilavuusosaa). Virtausmäärä oli 1,5 ml/min 6,895 MPa:n (1000 psi) paineessa. Eluoidut komponentit havaittiin käyttäen Varian
25 Aerographlaitetta (Varian Associates) lukemalla 254 nanometrin aallonpituudella.

 Kaikissa tapauksissa määritettiin puhdistetun tuotteen pidättymisaika tämän tuotteen läsnäolon takaamiseksi reaktioseoksia analysoitaessa. Pidätysaika indoksyyli-N-tosyyli-L-alaninaatille oli noin 9 minuuttia.
30

3-(N-tosyyli-L-alaninyylioksi)-5-fenyylipyrro-
lin (4) synteesi

3-(N-tosyyli-L-alaninyylioksi)-5-fenyylipyrrolin
synteesi on esitetty seuraavassa reaktiosekvenssissä:



N-tosyyli-L-alaniini

L-alaniinia (100 g; 1,11 moolia) liuotettiin 2,25 l:aan 1N natriumhydroksidia (aq), jäähdytettiin 5°C:seen ja sekoitettiin samalla kun lisättiin hitaasti liuos, jossa oli p-tolueenisulfonyylikloridia (218 g; 1,11 moolia) liuotettuna 450 ml:aan tolueenia. Seosta sekoitettiin ympäristön lämpötilassa 20 tuntia. Kerrokset erotettiin ja jäähdytetty vesipitoinen kerros tehtiin happameksi pH 1:een väkevällä kloorivetyhapolla. Valkoinen kiinteä otsik-
 10 koyhdiste koottiin suodattamalla, pestiin vedellä ja kuivattiin. Saanto 178,5 g (66 %), sp 134-5°C.
 IR (CHCl₃) cm⁻¹ 1726, 1340, 1165, 1095;
 1H NMR (DMSO-D₆) δ 1,20 (d, J=7, 3H), 2,40 (s, 3H), 3,85 (p, J=8, 1H), 6,4 (br s, 1H) (CO₂H), 7,41 (d, J_{AB}=8, 2H) ja 7,75 (d, J_{AB}=8, 2H) [mallin keskus: 7,58; ΔV_{AB}=20,49 Hz], 8,03 (br d, J=8, 1H) (NH).

N-tosyyli-L-alaninyyli-kloridi

Menetelmä A

N-tosyyli-L-alaniinin (12,4 g; 0,05 moolia) ja tio-
 20 nylykloridin (25 ml) seosta kuumennettiin 90 minuuttia 55°C:ssa ja haihdutettiin sitten pyörivällä haihduttimella 40°C:ssa. Punainen kiinteä jäännös liuotettiin 200 ml:aan kiehuvaan CCl₄, poistettiin väri 20 g:lla uunikuivattua Norit[®] 211-aktiivihieiltä (American Norit Co, Inc.), suodattiin ja jäähdytettiin. Kermanvärinen kiinteä otsikko-
 25 tuote koottiin suodattamalla, pestiin heksaanilla ja kuivattiin. Saanto 8,48 g (65 %), sp 101-101,5°C;
 IR (CHCl₃) cm⁻¹ 3360, 3260, 3025, 1775, 1605, 1350, 1170, 910;
 30 1H NMR (DCD₃) 1,48 (d, J=7, 3H) 2,43 (s, 3H), 4,33 (p, J=8, 1H), 5,98 (br d, J=8, 1H) (NH), 7,31 (d, J_{AB}=8, 2H) ja 7,76 (d, J_{AB}=8, 2H) [mallin keskus: 7,53; ΔV_{AB}=26,83 Hz].

Analyysi yhdisteelle C₁₀H₁₂ClNO₃S:

35 Laskettu: C 45,89, H 4,62, N 5,35

Löydetty: C 46,63, H 4,90, N 5,19

Menetelmä B

N-tosyyli-L-alaniinin (3,1 g; 13 mmoolia) ja tio-nyylikloridin (6 ml) seosta kuumennettiin 90 minuuttia 50°C:ssa ja laimennettiin sitten 50 ml:lla kuivaa heksaania.

5 Seosta sekoitettiin nopeasti, jäädytettiin ja kiinteä tuote suodatettiin. Saanto 3,15 g (93 %), sp 99-100°C. IR-kirjo oli samanlainen kuin menetelmällä A valmistetun uudelleenkiteytetyn aineen vastaava kirjo. 2-hydroksi-3(karboksimetyyliamino)-hydrokanelihappo-dikaliumsuoladihydraatti (1).

10 Sekoituksenalaista lietettä, jossa oli 1,0 kg trans-kanelihappoa (6,75 moolia) 4,5 l:ssa asetonia, käsiteltiin ensin NaHCO₃:lla (2,47 kg; 29,4 moolia; 4,36 ekv) ja sitten varovasti vedellä (4,5 l). Syntynyttä paksua seosta käsiteltiin tiputtaen, 1,5-2,0 tunnin ajan, liuoksella, jossa oli OXONE[®] (DuPont CO)-monopersulfaatti-yhdistettä (3,78 kg; sisältää 1,825 ekv KHSO₅) 0,4 mM vesipitoisessa dinatrium-etyleenidiamiinitetraetikkahapossa (EDTA) (14,5 l; valmistettu liuottamalla 2,17 g dinatrium-EDTA-dehydraattia 14,5 l:aan tislattua vettä). [J.O. Edwards, et al., Photochem. Photobiol. 30, 63 (1979); R. Curci, et al., J.Org.Chem. 45, 4758 (1980)]. Tämän lisäämisen aikana reaktiolämpötila pidettiin 24-27°C:ssa käyttäen vesihaudetta; reaktion pH:n havaittiin olevan noin 7,4. Kun lisääminen oli loppuunsa saatu, seosta sekoitettiin vielä 0,5 tun-
25 tia ja jäädytettiin sitten noin 10°C:seen. Reaktioseos tehtiin happameksi väkevällä HCl:llä (noin 1,2 l) pH 2:een pitäen lämpötila noin 10°C:ssa ja käsiteltiin sitten CH₂Cl₂:lla (5,05 l) ja sekoitettiin voimakkaasti 10 minuut-
30 tia.

Kun seos oli saanut laskeutua, vesipitoinen kerros dekantoitiin pois ja orgaaninen kerros, joka sisälsi liukenevattomia suoloja, suodatettiin paperin läpi imua käyttäen. Suodatettu sakka pestiin CH₂Cl₂:lla (1,9 l) ja vesipitoista
35 kerrosta uutettiin tällä suodoksella. Suodatettu sakka pes-

tiin jälleen CH_2Cl_2 :lla (3,15 l) ja vesipitoinen kerros uutettiin tällä suodoksella. Yhdistetyt CH_2Cl_2 -kerrokset uutettiin liuoksella, jossa oli KOH (593,3 g) vedessä (6,31 l) - lievä lämmitys noin 40°C :seen tarvitaan usein emäsuuton aikana erottuvan sakan liuottamiseksi. CH_2Cl_2 -kerros uutettiin sitten liuoksella, jossa oli KOH (99 g) vedessä (1,5 l) ja yhdistettyjä emäsuutteita käsiteltiin glysiinillä (481,7 g; 6,416 moolia; 0,95 ekv); orgaaninen kerros hylättiin.

10 Liuoksen pH asetettiin 11,5:een 25 %:sella vesipitoisella KOH ja kuumennettiin sitten kiehuvaaksi. Noin 900 ml matalalla kiehuva nestettä (asetonia ja vettä) tislautui pois ennenkuin veden lämpötila saavutti 99°C , minkä jälkeen seosta keitettiin palautusjäähdyttään 2 tun-
15 tia. Jäähdyttämisen jälkeen reaktioseos uutettiin CH_2Cl_2 :lla (3,15 l), CH_2Cl_2 -faasi hylättiin ja vesipitoinen faasi haihdutettiin kuiviin alennetussa paineessa 70°C :lla haulteella. Jäännöstä keitettiin 95 %:ssa EtOH:ssa (8,83 l) 30 minuuttia, annettiin sitten hitaasti jäähtyä sekoit-
20 taen, minkä jälkeen tuote erottuu hienoina kiteinä. Nämä suodatettiin, pestiin tuoreella 95 %:lla EtOH:lla (1,26 l) ja kuivattiin $50-60^\circ\text{C}$:ssa uunissa antamaan otsikkoyhdiste (1,77 g; 74,6 %) valkoisina kiteinä, joiden sp oli = 120-
25 2°C (korjaamaton).

IR(KBr) cm^{-1} 3420 (br), 1590 (br), 1410, 1130, 710;
1H NMR (D_2O -TSP) δ 3,1 (s, 2H), 3,89 (d, $\text{J}_{\text{AB}}=4$, 1H) ja 4,52 (d, $\text{J}_{\text{AB}}=4$, 1H) (mallin keskus: 4,21; $\Delta\nu_{\text{AB}}=18,83$ Hz), 4,68 (s, 6H, vaihdettavia protoneja), 7,4 (s, 5H);
TLC Rf = 0,59 (EtOH:lm trietyyliammoniumbikarbonaatti,
30 7:3).

Analyysi yhdisteelle $\text{C}_{11}\text{H}_{15}\text{NO}_7\text{K}_2$:

Laskettu: C 37,59, H 4,30, N 3,99 %

Löydetty: C 37,22, H 4,24, N 3,96 %

N-asetyyli-3-asetoksi-5-fenyylipyrroli (2)

35 Suspensiota, jossa oli 2-hydroksi-3-(karboksimeyy-

liamino)-hydrokanelihappo-dikaliumsuola-dihydraattia (1) (1,0 kg; 2,87 moolia) pyridiinissä (3,0 l), käsiteltiin etikkahapon anhydridillä (4,0 l) ympäristön lämpötilassa inertissä kaasuatmosfäärissä. Tuloksena oli lievä eksoterminen reaktio ja reaktiolämpötila nousi eksponentiaalisesti 60-70°C:seen 1,5-2,5 tunnin aikana. Kun reaktio alkoi jäähtyä, seosta kuumennettiin 120-123°C:ssa 15 minuuttia, annettiin sitten jäähtyä ympäristön lämpötilaan 1 tunnin aikana, jona aikana pyridiniumasetatti erottui kiteinä. Seos suodatettiin paperin läpi imua käyttäen ja suolat pestiin EtOAc:lla kunnes olivat värittömiä; suodos haihdutettiin kuiviin tyhjössä.

Tummanpunainen jäännös liuotettiin EtOAc:iin (3,0 l) pestiin kolme kertaa vedellä (1,0 l kulloinkin), kuivatettiin MgSO₄:llä ja käsiteltiin Darco-G60[®]-aktiivihieilellä (ICI Americas, Inc) (300 g). 30 minuutin sekoittamisen jälkeen seos suodatettiin Celite^R:n (Johns-Manville) läpi ja haihdutettiin kuiviin tyhjössä antamaan punertavan oranssinvärinen öljy. Tämä öljy liuotettiin lämpimään 2-propanoliin (1,2 l), annettiin sitten jäähtyä hitaasti ympäristön lämpötilaan yli yön, minkä jälkeen erottuu kiinteä aine. Kiteinen tuote suodatettiin, pestiin 50 %:lla vesipitoisella 2-propanolilla ja kuivatettiin tyhjössä antamaan otsikkoyhdiste (417 g; 60 %), sp = 58-60°C (korjaamaton). Tästä koottiin annos Et₂O:iin, käsiteltiin Norit 211:llä, suodatettiin ja haihdutettiin alennetussa paineessa; 0°C:ssa seisomisen jälkeen erottui värittömiä pieniä neulasia. Nämä suodatettiin, pestiin Et₂O/heksaanilla (1:1) ja tyhjökuivatettiin antamaan analyttinen näyte, jonka sp oli = 60-62,5°C (korjaamaton).

IR (CHCl₃) cm⁻¹ 3020, 1760, 1730, 1595, 1378, 1320, 1220 (br), 1030, 960, 903;

¹H NMR (CDCl₃) δ 2,23 (s, 3H), 2,27 (s, 3H), 6,18 (d, J=2, 1H), 7,35 (s, 5H) 7,42 (d, J=2, 1H); TLC R_f = 0,56 (tolueeni: dioksaani, 4:1).

Analyysi yhdisteelle $C_{14}H_{13}NO_3$:

Laskettu: C 69,12, H 5,38, N 5,76

Löydetty: C 68,88, H 5,25, N 5,53

3-hydroksi-5-fenyylipyrroli (3)

- 5 Hienojakoinen annos N-asetyyli-3-asetoksi-5-fenyylipyrroolia (2) (36,8 g; 0,16 moolia) vapautettiin hapestta sekoittamalla virtaavassa argonvirrassa 10 minuuttia, suspendoitiin sitten MeOH:iin (379 ml), josta happi oli poistettu, jäähdytettiin $-6^{\circ}C$:seen ($-15^{\circ}C$:ssa metanoli
- 10 (MeOH)/hiilihapojää-kylvyssä) inerttikaasuatmosfäärissä ja käsiteltiin nopeasti jääkylmällä deoksygenoidulla 2N NaOH-liuoksella (300 ml). Reaktiolämpötila nousi välittömästi emäksen lisäämisen jälkeen $18^{\circ}C$:seen ja noin 3 minuutin kuluttua reaktioseos muuttui homogeeniseksi. Kun reaktioseos jäähdyi, yhdiste 3 erottui hienoina kiteinä. 15 minuutin kuluttua lisättiin kylmän deoksygenoidun 2M sitruunahapon liuos (150 ml), syntynyttä seosta sekoitettiin 10 minuuttia ja suodatettiin sitten. Sakka pestiin perusteellisesti deoksygenoidulla vedellä (200 ml), altistaen tuote mahdollisimman vähän ilmalle, kuivattiin sitten tyh-
jössä yli yön antamaan otsikkoyhdiste (22,3 g; 93,6 %) vaaleanpunaisina pieninä neulasina.
- 20 IR (KBr) cm^{-1} 3400, 3110, 2900, 1600, 1580, 1555, 1480, 1268, 1180, 742, 640;
- 25 1H NMR (DMSO- d_6) δ 6,1 (m, 1H), 6,3 (m, 1H), 7,0-7,7 (m, 5H), 8,0 (s, 1H), 10,4 (br s, 1H); TLC R_f = 0,20-0,28 (EtOH:CHCl₃, 1:9).

Analyysi yhdisteelle $C_{10}H_9NO$:

Laskettu: C 75,45, H 5,70, N 8,80

- 30 Löydetty: C 75,30, H 5,69, N 8,67

3-(N-tosyyli-L-alaninyylioksi)-5-fenyylipyrroli (4)

- Liuosta, jossa oli vedetöntä tetrahydrofuraania (THF, 450 ml), pyridiiniä (43,8 ml; 0,542 moolia; 1,2 ekv) ja trifluorietikkahappoa (85,0 ml; 1,10 moolia; 2,4 ekv)
- 35 ja jota pidettiin $0^{\circ}C$:ssa inertissä kaasuatmosfäärissä,

käsiteltiin yhtenä annoksena 3-hydroksi-5-fenyyli-pyrrolin (3) (71,5 g; 0,45 moolia; 1,0 ekv) kanssa, minkä jälkeen lisättiin välittömästi tiputtaen, 5-10 minuutin aikana liuos, jossa oli vastavalmistettua N-tosyyli-L-alaninyylikloridia (141,0 g; 0,54 moolia; 1,2 eq) vedettömässä THF:ssä (450 ml). Syntynyttä seosta sekoitettiin 15 minuuttia 0°C:ssä. Reaktio tukahdutettiin sitten lisäämällä liuos, jossa oli 1,0 M vesipitoista sitruunahappoa (315 ml) ja EtOAc (1,35 l). Lyhyen sekoittamisen jälkeen faasit erotettiin ja orgaaninen kerros pestiin vesipitoisella NaCl-liuoksella (360 ml; 0,8 g NaCl/ml vettä). Sitten orgaanista kerrosta uutettiin kahdesti 5 %:lla vesipitoisella NaHCO₃-liuoksella (1,35 l kummallakin kerralla) ja pestiin sitten toisella annoksella vesipitoista NaCl (360 ml; 0,18 g NaCl/ml vettä). Punertavan ruskeata orgaanista kerrosta sekoitettiin ympäristön lämpötilassa 15 minuuttia MgSO₄:n (101 g) ja Darco-G60 (143 g) kanssa, suodatettiin sitten Celite'n läpi ja haihdutettiin kuiviin tyhjöissä 37°C:lta hauteelta antamaan (4) punertavan valkeana kiinteänä aineena. Raaka tuote jauhettiin jauheeksi ja liuotettiin lämpimään (50°C) THF:iin (250 ml), sekoitettiin voimakkaasti ja laimennettiin n-heksaanilla (250 ml). Sekoittamista jatkettiin 1 tunti ympäristön lämpötilassa kun tuote kiteytyi. Sakka suodatettiin, pestiin tolueenilla (noin 1,0 l) kunnes suodosta oli väritön, kuivattiin sitten tyhjöissä yli yön antamaan otsikkoyhdiste (112 g; 65 %) valkoisena jauheena, jonka sp oli = 154,5-155°C. IR (KCl) cm⁻¹ 3350, 3325, 1760, 1508, 1320, 1155, 770; ¹H NMR (DMSO-d₆) δ 1,33 (d, J=7, 3H), 2,36 (s, 3H), 4,13 (p, J=8, 1H), 6,25 (m, 1H), 6,73 (m, 1H), 7,05-7,50 (m, 5H), 7,5-7,85 (m, 4H), 8,42 (d, J=8, 1H), 11,18 (br s, 1H); ¹³C NMR (DMSO-d₆) ppm 18,335, 21,001, 51,370, 98,061, 108,336, 125,423, 126,024, 126,610, 128,560, 128,756, 129,601, 132,397, 137,600, 138,380, 142,737, 169,919; [α]_D²⁰ = -70° (c = 1,11, MeOH); TLC R_f = 0,45 (EtOAc:hek-

saani, 1:1); TLC Rf = 0,40 (tolueeni:dioksaani, 4:1).

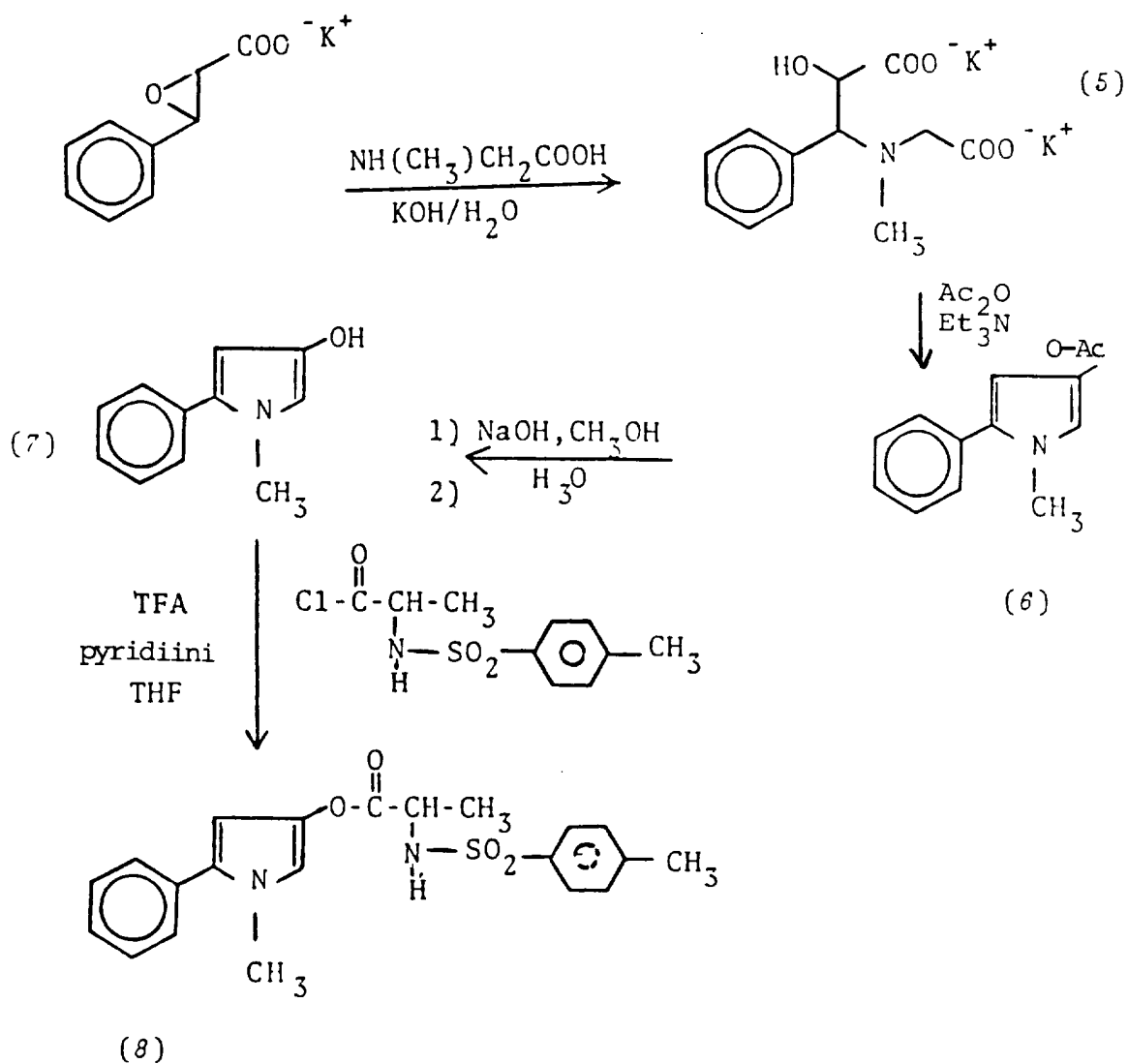
Analyysi yhdisteelle $C_{20}H_{20}N_2O_4S$:

Laskettu: C 62,48, H 5,24, N 7,29

Löydetty: C 62,62, H 5,27, N 7,30

3-(N-tosyyli-L-alaninyylioksi)-1-metyyli-5-fenyyli-
lipyrrolin (8) synteesi

3-(N-tosyyli-L-alaninyylioksi)-1-metyyli-5-fenyyli-
lipyrrolin (8) synteesi kuvataan seuraavassa reaktiosek-
venssissä:



2-hydroksi-3-(N-metyylikarboksimeetyyliamino)-
hydro-kanelihappo-dikaliumsuola (5)

Seosta, jossa oli β -fenyyli glysidihappo-kalium-
suolaa (30 g; 0,15 moolia), N-metyyli glysiiniä (13,2 g;
5 0,15 moolia), tislattua vettä (119 ml) ja KOH-liuosta
(9N; 22,3 ml), keitettiin palautusjäähdyttään 3 tuntia an-
tamaan vaaleankeltainen liuos. Reaktioseos haihdutettiin
kuiviin alennetussa paineessa 70°C:ssa. Jäännös kiteytet-
tiin sitten 95 %:sesta EtOH:sta (100 ml) antamaan valkoi-
10 nen sakka, joka kuivaamisen jälkeen yli yön alennetussa
paineessa 110°C:ssa, antoi 30,8 g valkoista kiinteätä ai-
netta (5), saanto 63 %.

IR (KCl) cm^{-1} 3360 (br), 1580, 1405, 705;
 ^1H NMR (CD_3OD) δ 2,30 (s, 3H), 2,98 (s, 2H), 3,70 (d,
15 J=3 Hz, 1H), 4,48 (d, J=3 Hz, 1H), 4,92 (s, 1H), 7,40
(s, 5H); TLC R_f = 0,51 (EtOH:1M trietyyliammoniumbikarbo-
naatti, 7:3). (Tuotteella ei ollut sulamispistettä 270°C:
n alapuolella).

3-asetoksi-N-metyyli-5-fenyyli pyrroli (6)

20 Seosta, jossa oli 2-hydroksi-3-(N-metyylikarboksi-
metyyliamino)-hydro-kanelihappo-dikaliumsuolaa (5) (15,2 g,
46 mmoolia), etikkahapon anhydridiä (173 ml) ja trietyyli-
amiinia (308 ml), kuumennettiin 90°C:ssa 19 tuntia. Reak-
tioseos, joka muuttui syvän ruskeaksi väriltään, suodatet-
25 tiin ja sakka pestiin eetterillä. Suodos haihdutettiin
alennetussa paineessa antamaan syvän ruskea jäännös, joka
koottiin eetteriin (300 ml) ja veteen (200 ml). Kerrokset
erotettiin ja eetteri-kerros pestiin toisella annoksella
vettä (200 ml). Eetteriliuos kuivatettiin sitten MgSO_4 :llä,
30 suodatettiin ja haihdutettiin alennetussa paineessa anta-
maan 10,7 g ruskeata jäännöstä, joka puhdistettiin haihdut-
tavalla tislauksella (120-135°C; 0,03 torria) ja kiteyttä-
minen eetteristä antoi 3,0 g valkeita kiteitä (6) (saanto
30 %), sp = 64-65°C.

IR (CHCl₃) cm⁻¹ 2990, 1750, 1570, 1518, 1482, 1375, 1240 (br), 1024, 910, 700;

¹H NMR (CDCl₃) δ 2,20 (s, 3H), 3,58 (s, 3H), 6,10 (d, J=2 Hz, 1H), 6,75 (d, J=2 Hz, 1H), 7,35 (s, 5H); TLC

5 Rf = 0,58 (Heksaani:EtOAc 7:3).

Analyysi yhdisteelle C₁₃H₁₃NO₂:

Laskettu: C 72,54, H 6,10, N 6,44

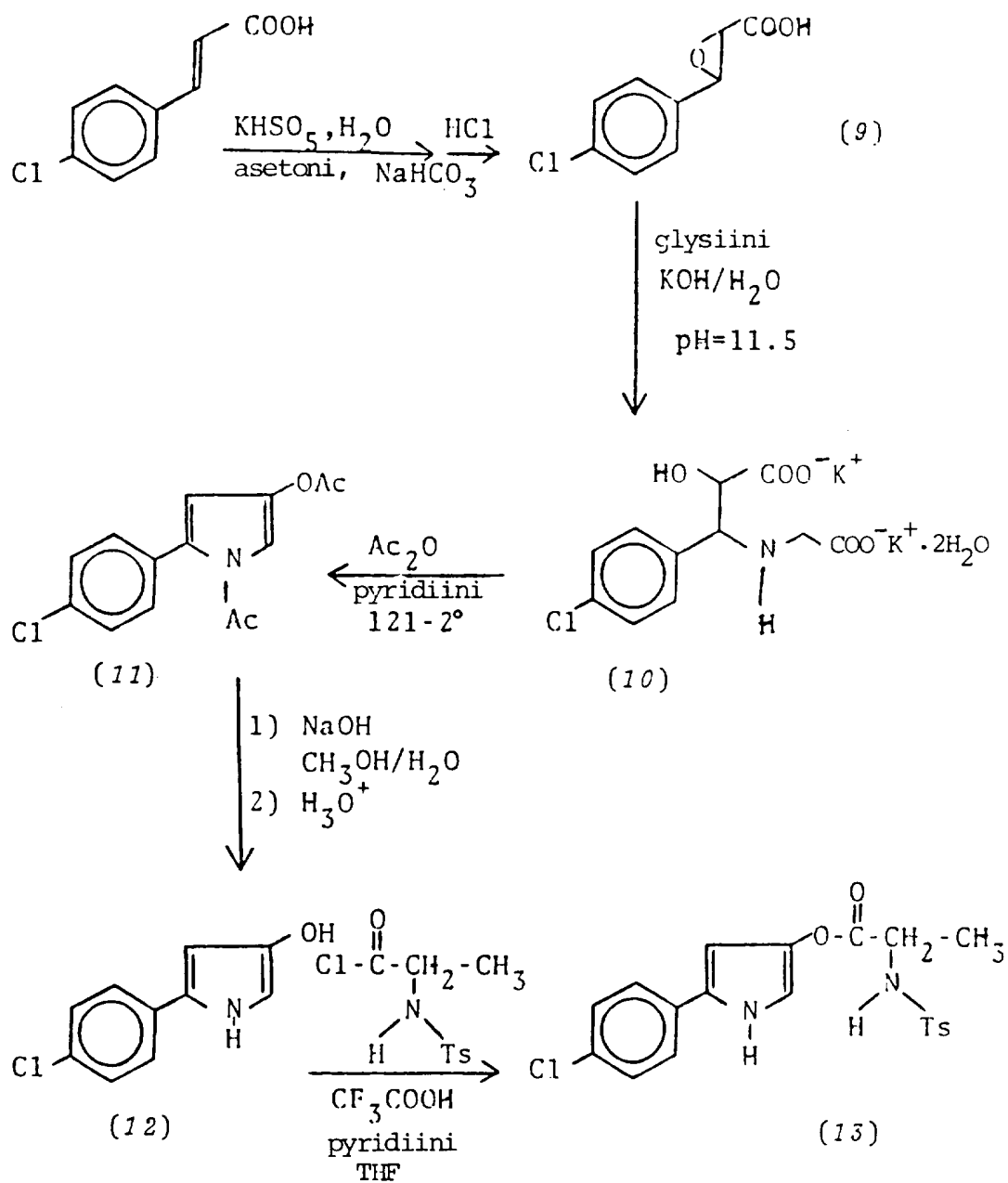
Löydetty: C 72,57, H 6,09, N 6,51

10 3-(N-tosyyli-L-alaninyylioksi)-l-metyyli-5-fenyylipyrroli (8)

Seokseen, jossa oli metanolia (15,5 ml), josta happi oli poistettu, ja 3-asetoksi-l-metyyli-5-fenyylipyrroli (6) (1,3 g, 6,2 mmoolia), argonatmosfäärissä, lisättiin deoksygenoitua NaOH (2N, 12,5 ml). Reaktioseosta sekoitettiin jäähauteella 15 minuuttia. Lisättiin sitruunahappoa (2M, 7 ml), josta happi oli poistettu, ja syntynyttä seosta sekoitettiin jäähauteella 8 minuuttia. Reaktioseos haihdutettiin alennetussa paineessa, sitten lisättiin 20 ml vettä ja uutettiin kahdesti etyyliasetaatilla (EtOAc) (50 ml). EtOAc-kerrokset yhdistettiin, kuivattiin MgSO₄:llä, suodatettiin ja haihdutettiin alennetussa paineessa antamaan 3-hydroksi-N-metyyli-5-fenyylipyrroli (7) oranssinvärisenä jäännöksenä. Tähän oranssinväriseen jäännökseen lisättiin argon-atmosfäärissä kylmä liuos, jossa oli vedetöntä THF (12,4 ml), pyridiiniä (0,6 ml, 7,4 mmoolia, 1,2 ekv) ja trifluorietikkahappoa (1,2 ml, 15 mmoolia, 2,4 ekv), mitä seurasi välittömästi liuoksen lisääminen, jossa oli vastavalmistettua N-tosyyli-L-alaninyylikloridia (1,2 g, 7,4 mmoolia, 1,2 ekv) vedettömässä THF:ssä (12,4 ml). Syntynyttä seosta sekoitettiin 1 tunti 0°C:ssa. Reaktio tukahdutettiin sitten lisäämällä vesipitoista sitruunahappoa (1M, 5 ml) ja EtOAc (30 ml). Lyhyen sekoittamisen jälkeen kerrokset erotettiin ja orgaaninen kerros pestiin peräkkäin kyllästetyllä NaCl-liuoksella, kahdesti 5 %:lla NaHCO₃-liuoksella ja jälleen kyl-

35

- löstetyllä NaCl-liuoksella. EtOAc-uute kuivattiin sitten MgSO_4 :llä, käsiteltiin Norit 211:llä, suodatettiin ja haihdutettiin alennetussa paineessa antamaan raaka tuote
- 5 (8) oranssinvärisenä jäännöksenä. Tämä liuotettiin heksaani/EtOAc:iin (1:1) (5 ml) ja kromatografoitiin pylväällä (SiO_2 , 100 g) eluoiden heksaani/EtOAc:lla (7:3) antamaan 1 g (8) paksuna vaalean oranssinvärisenä öljynä. Annos tätä raakatuotetta puhdistettiin edelleen puolivalmistavalla HPLC:lla (pylväs, IBM piidioksidi, 1 cm x 25 cm; liikkuva
- 10 faasi, heksaani/EtOAc 8:2, virtausmäärä 4,0 ml/min; paine $1,38 \times 10^3$ Pa (0,2 psi) antamaan hunajan värinen paksu (8).
- IR (filmi) cm^{-1} 3260, 2950, 1760, 1520, 1350, 1170, 770;
 ^1H NMR ($\text{DMSO}-d_6$) δ 1,28 (d, $J=7$, Hz, 3H), 2,36 (s, 3H),
 15 3,58 (s, 3H), 5,85 (d, $J=2$, Hz, 1H), 6,15 (m, 1H), 6,74 (d, $J=2$ Hz, 1H), 7,30-7,80 (m, 9H), 8,37 (d, $J=8$ Hz, 1H);
 ^{13}C NMR ($\text{DMSO}-d_6$) δ 18,205, 20,936, 34,917, 51240, 100,598, 113,148, 126,544, 127,000, 128,105, 128,560, 129,601, 130,910, 132,202, 135,714, 138,315, 142,672, 169,724;
 20 TLC R_f = 0,52 (tolueeni:dioksaani 4:1), suurerottelumassakirjo, $\text{C}_{21}\text{H}_{22}\text{N}_2\text{O}_4\text{S}$ vaatii m/e 398,1300, Löydetty m/e 398,1297.
- 3-(N-tosyyli-L-alaninyylioksi)-5-(p-kloorifenyyli)-pyrroli (13)
- 25 3-(N-tosyyli-L-alaninyylioksi)-5-(p-kloorifenyyli)-pyrrolin (13) synteesi on kuvattu seuraavassa reaktio-kaaviossa:



Trans- β - (p-kloorifenyyli)glysidihappo (9)

Sekoituksenalaiseen lietteeseen, jossa oli p-kloorikanelihappoa (68,5 g; 0,375 moolia) 260 ml:ssa asetonia, lisättiin NaHCO_3 (137 g; 1,63 moolia), minkä jälkeen lisättiin hitaasti 260 ml vettä. Tähän seokseen lisättiin 2,5 tunnin aikana 22-27°C:ssa seos, jossa oli OXONE'a (211 g; 0,343 moolia), 120 mg dinatrium-EDTA ja 805 ml vettä. 5 tunnin kuluttua seos tehtiin happameksi 70 ml:lla kylmää 12 N HCl pienentämään pH noin 2,5:een ja sitten uutettiin 700 ml:lla etyyliasetaatia. Uute pestiin suolaliuoksella, 10 kuivattiin MgSO_4 :llä, suodatettiin ja suodos haihdutettiin kuiviin tyhjössä. Valkoinen sakka kiteytettiin etyyliasetaatista: sp 121-5°C (72,2 g; 97 %:n saanto).

^1H NMR ($\text{CDCl}_3/\text{DMSO}-d_6$) δ 7,3 (m, 4H), 4,05 (d, J=2, 1H), ja 3,4 (d, J=2, 1H).

Analyysi yhdisteelle $\text{C}_9\text{H}_7\text{ClO}_3$:

Laskettu: C 54,43, H 3,55, Cl 17,85

Löydetty: C 54,53, H 3,80, Cl 17,91

2-hydroksi-3-(karboksimeetyyliamino)-p-kloorihydrokanelihappo-dikaliumsuola-dihydraatti (10)

Liuokseen, jossa oli KOH (85 %) (46,7 g; 0,709 moolia) ja 400 ml vettä, lisättiin glysiiniä (25,9 g; 0,345 moolia), mitä seurasi trans- β -p-kloorifenyyli glysidihappo (9) (72,2 g; 0,3635 moolia). Tätä seosta kuumennettiin 100°C:ssa 2 tuntia, jäähdytettiin huoneen lämpötilaan ja lisättiin riittävästi KOH nostamaan pH 12:een. Sameata liuosta uutettiin kolme kertaa etyyliasetaatilla, joka uute sitten hylättiin; kirkas vesipitoinen liuos (noin 500 ml) haihdutettiin tyhjössä kuiviin käyttäen 70°C:sta vesihaudetta. Sakka liuotettiin noin 350 ml:aan kuumaa etanolia, suodatettiin ja suodosta jäähdytettiin jäähauteella useita tunteja. Kiteytynyt sakka koottiin suodattamalla ja pestiin pienellä määrällä kylmää etanolia; sp 93-5°C dekarboksyloituen 185°C:ssa (57,2 g; 41 %).

^1H NMR (D_2O -TSP) δ 7,4 (s, 4H), 4,4 (d, J=4, 1H),
4,05 (d, J=4, 1H), ja 3,1 (s, 2H).

Analyysi yhdisteelle $\text{C}_{11}\text{H}_{10}\text{ClNO}_5\text{K}_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$:

Laskettu: C 34,24, H 3,66, N 3,63

5 Löydetty: C 34,40, H 4,03, N 3,42

N-asetyyli-3-asetoksi-5-(p-kloorifenyyli)pyrro-
li (11)

2-hydroksi-3-(karboksimeetyliamino)-p-kloorihydro-
kanelihappo-dikaliumsuola-dihydraattiin (10) (10 g; 0,02591
10 moolia) lisättiin etikkahapon anhydridiä (40 ml) ja pyri-
diiniä (30 ml). Tätä seosta lämmitettiin lievästi 35°C :
seen, jossa pisteessä liuos muuttui eksotermiseksi 67°C :
seen, alkoi sitten jäähtyä, minkä jälkeen kuumentaminen
aloitettiin uudelleen. Seosta kuumennettiin $121-2^\circ\text{C}$:ssa
15 (sisäinen lämpötila) yksi tunti ja jäähdytettiin sitten.
Reaktioseokseen lisättiin noin 30 ml etyyliasetaattia,
joka saosti suurimman osan pyridiniumasetaatti-suolasta;
tämä suola koottiin suodattamalla ja pestiin pienellä mää-
rällä etyyliasetaattia. Suodos haihdutettiin sitten tyh-
20 jössä öljyksi ja lisättiin jäävettä. Tuotetta uutettiin
eetterillä ja eetteri-uutteet pestiin peräkkäin kahdesti
kylmällä laimealla sitruunahapolla, kylmällä vedellä, 3
kertaa kylmällä laimealla vesipitoisella NaHCO_3 :lla, kyl-
mällä vedellä ja suolaliuoksella, minkä jälkeen kuivat-
25 tiin MgSO_4 :llä ja suodatettiin. Tuotetta käsiteltiin 10
g:lla Darco, sekoitettiin 20 minuuttia ja suodatettiin
sitten. Suodos haihdutettiin tyhjössä öljyksi. Öljyyn li-
sättiin 25 ml 2-propanolia. Syntynyt liuos antoi, jääh-
dyttäen ja raaputtaen vaaleankeltaisia kiteitä: sp $69-71^\circ\text{C}$
30 (3,4 g; 47 %); TLC $R_f = 0,61$ (tolueeni/dioksaani, 95:5).
Analyttinen näyte kiteytettiin uudelleen 2-propanolista,
mutta sulamispisteessä ei havaittu muutosta.

IR (KCl) cm^{-1} 1755 (C=O, esteri) ja 1730 (C=O, amidi);

^1H NMR (CDCl_3) δ 7,4 (m, 5H), 6,2 (d, J=2, 1H), 2,4 (s,
35 3H) ja 2,3 (s, 3H).

Analyysi yhdisteelle $C_{14}H_{12}ClNO_3$:

Laskettu: C 60,55, H 4,36, N 5,04

Löydetty: C 60,65, H 4,55, N 5,07

3-hydroksi-5-(p-kloorifenyyli)pyrroli (12)

- 5 N-asetyyli-3-asetoksi-5-p-kloorifenyylipyrrolin (11) näytteestä (2,8 g; 0,01 moolia) poistettiin happia 10 minuutin ajan N_2 -virralla. Kiinteät aineet liuotettiin sitten metanoliin (30 ml), josta happi oli poistettu ja joka sitten jäähdytettiin $-8^{\circ}C$:seen. Yhdellä kerralla lisättiin kylmä deoksygenoitu liuos, jossa oli NaOH (1,6 g; 0,04 moolia) 20 ml:ssa H_2O , jota liuosta sitten lämmitettiin lyhyesti $15^{\circ}C$:seen ja jäähdytettiin sitten välittömästi $-5^{\circ}C$:seen; 25 minuutin kuluttua kirkasta liuosta käsiteltiin kylmällä sitruunahapon (4,2 g; 0,02 moolia)
- 15 liuoksella, josta happi oli poistettu, 15 ml:ssa H_2O . Lämpötila nousi lyhyeksi ajaksi $5^{\circ}C$:seen. 0,5 tunnin sekoittamisen jälkeen $-5^{\circ}C$:ssa sakka koottiin suodattamalla ja pestiin kylmällä deoksygenoidulla H_2O :lla. Vaalean vihreätä tuotetta kuivattiin tyhjössä huoneen lämpötilassa P_2O_5 :
- 20 llä useita päiviä (1,3 g; 68 %); TLC $R_f = 0,19$ ($CHCl_3$:EtOH, 9:1); IR (KCL) ei osoittanut merkkejä C=O-absorptiosta.

Analyysi yhdisteelle $C_{10}H_8ClNO \cdot 1/6H_2O$:

Laskettu: C 61,08, H 4,27, N 7,12

Löydetty: C 61,36, H 4,44, N 6,85

- 25 3-(N-tosyyli-L-alaninyylioksi-5-(p-kloorifenyyli)-pyrroli (13)

- THF:iin (15 ml), josta happi oli poistettu N_2 :lla, lisättiin pyridiiniä (0,65 ml; 0,008 moolia), trifluoretikkahappoa (1,27 ml; 0,0164 moolia) ja 3-hydroksi-5-p-kloorifenyylipyrrolia (12) (1,3 g; 0,0065 moolia). Liuos jäähdytettiin noin $0- -4^{\circ}C$:seen ja 10 minuutin aikana lisättiin N-tosyyli-L-alaninyylikloridin (2,1 g; 0,008 moolia) jäähdytetty liuos, josta happi oli poistettu N_2 :lla, 15 ml:ssa THF. Senjälkeen kun seosta oli pidetty $0^{\circ}C$:ssa
- 35 1 tunti, lisättiin seos, jossa oli jäätä ja 100 ml 1 N

5 sitruunahappoa. Tämä seos uutettiin etyyliasetaatilla ja uute pestiin kerran kylmällä suolaliuoksella, kahdesti kylmällä laimealla NaHCO_3 :lla ja kerran kylmällä suolaliuoksella, minkä jälkeen se kuivattiin MgSO_4 :llä ja suodatettiin. Suodosta käsiteltiin 2 g:lla Darco'a ja sekoitettiin 10 minuuttia, suodatettiin ja suodos haihdutettiin tyhjössä punertavanruskeaksi öljyksi. Toinen käsittely 1,3 g:lla Darco'a antoi vaaleanpunertavan öljyn. Öljy liuotettiin tolueeni/sykloheksaaniin, (4:1) ja pantiin jääkaappiin yöksi. Saatiin vaalean lohenpunaisia kiteitä (1,45 g; 53 %; sp 113-5°C).

10 TLC $R_f=0,47$ (Et_2O); IR (KCl) cm^{-1} 1740 (C=O, esteri); ^1H NMR (CDCl_3) δ 8,4 (br, s, 1H), 7,8-7,2 (m, 8H), 6,7 (m, 1H), 6,2 (m, 1H), 5,5 (d, $J=9$, 1H), 4,2 (p, $J=8$, 1H), 2,4 (s, 3H), 1,4 (d, 3H); MS (EI, DIP) m/e 418 (M^+ , 2,3 %) ja 420 (M^+ , 0,8 %).

Analyysi yhdisteelle $\text{C}_{20}\text{H}_{19}\text{ClN}_2\text{O}_4\text{S}$:

Laskettu: C 57,34, H 4,57, N 6,69

Löydetty: C 57,53, H 4,58, N 6,67

Seuraavat kokeet osoittavat, että orgaanisen hapon läsnäolo ohjaa asyloinnin pääasiallisesti hydroksyyli-ryhmään antamaan haluttu tuote (15) vähäisellä N-asyloinnilla (16).

5 Sitruunahapon käyttö

Sekoituksenalaista kylmää (-25°C) seosta, jossa oli 1,33 g (10 mmoolia) indoksyyliä (14), 3,6 ml pyridiiniä, 27 ml kuivaa THF, 0,6 g (3 mmoolia), vedetöntä sitruunahappoa ja 1,2 g vedetöntä MgSO_4 , käsiteltiin tiputtaen (argon-atmosfäärissä) liuoksella, jossa oli 3,93 g (15 mmoolia) N-tosyyli-L-alaninyylikloridia 15 ml:ssa THF, 1 tunnin ajan. HPLC-analyysi osoitti 31 %:n konversiota halutuksi esteriksi (15).

Oksaalihapon käyttö

15 Kylmää (0°C), sekoituksenalaista seosta, jossa oli 3,0 g (22,5 mmoolia) indoksyyliä (14), 7,2 ml pyridiiniä, 54 ml kuivaa THF, 0,9 g (10 mmoolia) oksaalihappoa ja 1,2 g MgSO_4 , käsiteltiin tiputtaen (argonatmosfäärissä) 8,64 g:lla (33 mmoolia) N-tosyyli-L-alaninyylikloridia
20 liuotettuna 30 ml:aan kuivaa THF 30 minuutin ajan. 1 tunnin kuluttua 0°C :ssa HPLC-analyysi osoittaa (15):n 57,5 %:n saantoa.

Trifluorietikkahapon käyttö

25 Kylmään (0°C), sekoituksenalaiseen seokseen, jossa oli 594 ml pyridiiniä, 35 g MgSO_4 , 1320 ml THF ja 107 ml trifluorietikkahappoa, argonatmosfäärissä, lisättiin 167 g (1 mooli, puhtaus 79 %) indoksyyliä (14), minkä jälkeen lisättiin välittömästi nopeasti 392,6 g (1,5 moolia) N-tosyyli-L-alaninyylikloridia liuotettuna 880 ml:aan THF sellaisella lisäämisnopeudella, että reaktion lämpötila pysyi
30 alle 10°C :n. Seosta sekoitettiin 0°C :ssa 1,5 tuntia ja sitten huoneen lämpötilassa 1 tunti. Haihtuvat aineet poistettiin pyörivällä haihduttimella 45°C :ssa. Tumma viskoosinen jäännös jaettiin 2 l:n etyyliasetaattia ja 2 l:n kylmää 1N sitruunahappoa kesken, suodatettiin aktiivihiehen
35

läpi emulsion murtamiseksi ja kerrokset erotettiin.
 Etyyliasetaatifaasi pestiin kahdesti 1 l:n annoksilla
 1N sitruunahappoa, sitten kahdesti 1 l:n annoksilla kyl-
 lästettyä suolaliuosta, 3 kertaa 1 l:n annoksilla 5 %:sta
 5 natriumbikarbonaattiliuosta ja lopuksi kahdesti 2 l:n
 annoksilla suolaliuosta. Orgaaninen faasi kuivattiin
 (CaCl_2), suodatettiin ja haihdutettiin. Tumma viskoosi-
 nen jäännös liuotettiin 4 l:aan eetteriä, lisättiin 500 g
 Darco-G60, suodatettiin 300 g:n Darco G-60 läpi, suodatus-
 10 kakku pestiin 2 l:lla eetteriä ja suodos haihdutettiin tum-
 maksi viskoosiseksi öljyksi. Öljy kiteytettiin 500 ml:sta
 tolueenia antamaan 270 g (75 %:n saanto) 15, sp 99-101°C.
 Uudelleenkiteyttäminen kuumasta tolueenista antoi 243,2 g
 (68 %), sp 101,5-102,5°C.

15 Analyysi yhdisteelle $\text{C}_{18}\text{H}_{18}\text{N}_2\text{O}_4\text{S}$:

Laskettu: C 60,32; H 5,06; N 7,82

Löydetty: C 59,74, H 5,26, N 7,90

CH_2Cl_2 :n käyttö liuottimena

Kylmää (0°C) sekoituksenalaista seosta, jossa oli
 20 217 g (20 mmoolia) 14, 25 ml kuivaa dikloorimetaania, 7,2
 ml kuivaa pyridiiniä ja 1,8 ml trifluorietikkahappoa, kä-
 siteltiin tiputtaen (argonatmosfäärissä) 7,68 g:lla (30
 mmoolia) N-tosyyli-L-alaninyylikloridia, liuotettuna 20
 ml:aan kuivaa dikloorimetaania, 10 minuutin ajan. Seosta
 25 sekoitettiin 30 minuuttia 5°C:ssa ja sitten 1 tunti 25°C:
 ssa. Seos pestiin kyllästetyllä natriumbikarbonaatilla ja
 suolaliuoksella, kuivattiin sitten (MgSO_4), suodatettiin
 ja haihdutettiin. Jäännös liuotettiin eetteriin, poistet-
 tiin väri hiilellä, suodatettiin ja haihdutettiin. Ki-
 30 teyttäminen tolueenista antoi 2,54 g (36 %) 15, sp
 96-98°C.

Di-isopropylietyyliamiinin käyttö

Sekoituksenalaista, kylmää (0°C) seosta, jossa
 oli 3,35 g (25 mmoolia) 1, 5,1 g (39 mmoolia) di-iso-
 35 propyylietyyliamiinia, 80 ml kuivaa THF ja 1 g vedetöntä

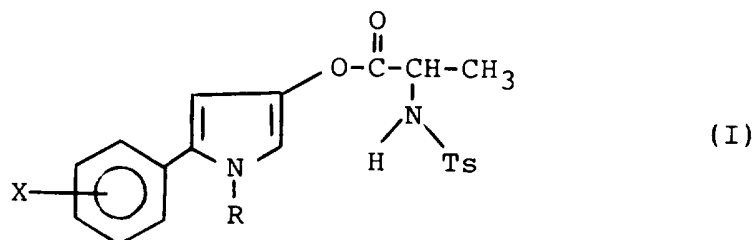
MgSO₄, käsiteltiin tiputtaen (argonatmosfäärissä) 9,81 g:lla (37,5 mmoolia) N-tosyyli-L-alaninyylikloridia liuotettuna 30 ml:aan kuivaa THF, 20 minuutin ajan. HPLC-analyysi osoitti 3-hydroksi-1-(N-p-tosyylisulfonyyli)alaninyyli-indolin (16) 80 %:n saantoa (HPLC-pidätysaika 10,5 min), jolloin oli muodostunut ainoastaan jälkiä 15:sta. Siten orgaanisen hapon poissaolosta oli tuloksena ainoastaan jälki halutusta esteristä.

Pyridiinin käyttö

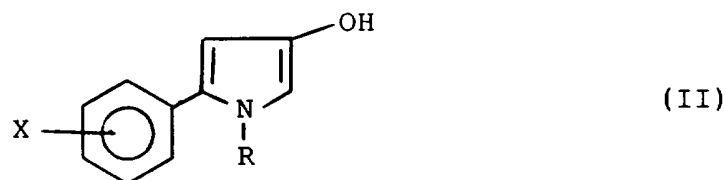
10 Sekoituksenalaista, kylmää (0°C) seosta, jossa oli 3,35 g (25 mmoolia) 14, 8 ml (100 mmoolia) kuivaa pyridiiniä, 80 ml kuivaa THF ja 1 g vedetöntä MgSO₄ (1 g), käsiteltiin tiputtaen (argonatmosfäärissä) 9,81 g:lla (37,5 mmoolia) N-tosyyli-L-alaninyyli-kloridia liuotettuna 30 ml:aan kuivaa THF, 20 minuutin ajan. HPLC-analyysi osoitti 16:n 80 %:n saantoa ja ainoastaan jälkiä 15:sta. Orgaanisen hapon poissaolosta oli tuloksena ainoastaan jälki halutusta esteristä.

Patenttivaatimukset

1. Menetelmä 3-(N-tosyyli-L-alaninyylioksi)-5-fenyyli-
 5 nnylipyrrolijohdannaisten valmistamiseksi, joiden kaava
 on



jossa R on vety tai metyyli ja X on vety tai kloori,
 15 t u n n e t t u siitä, että 3-hydroksi-5-fenyylipyrroli-
 johdannainen, jonka kaava on

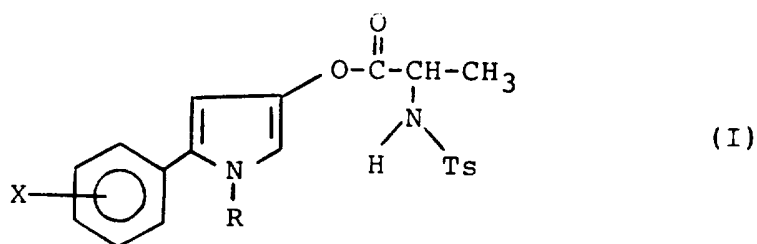


jossa R ja X tarkoittavat samaa kuin edellä, saatetaan
 25 reagoimaan N-tosyyli-L-alaninyylikloridin kanssa, kun
 läsnä on liuotinta, joka on tetrahydrofuraani, metyleeni-
 kloridi, kloroformi, asetoni, dietyylieetteri tai bent-
 seeni, ja heikkoa orgaanista emästä, joka on pyridiini
 tai 2,6-lutidiini, sekä noin 2,4 ekvivalenttia trifluori-
 30 etikkahappoa, laskettuna noin 1,2 ekvivalentista N-tosyy-
 li-L-alaninyylikloridia.

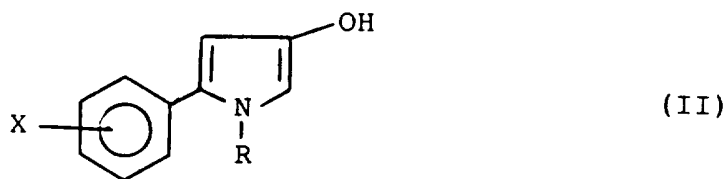
2. Patenttivaatimuksen 1 mukainen menetelmä,
 t u n n e t t u siitä, että reaktio suoritetaan pyridii-
 nin ja trifluorietikkahapon läsnäollessa, jolloin pyri-
 35 diinin ja trifluorietikkahapon välinen moolisuhde on eni-
 ntään noin 4:1.

Patentkrav

1. Förfarande för framställning av 3-(N-tosyl-L-alaninyloxi)-5-fenylpyrrolderivat med formeln



vari R är väte eller metyl och X är väte eller klor,
k ä n n e t e c k n a d därav, att ett 3-hydroxi-5-
15 fenylpyrrolderivat med formeln



vari R och X har ovan angivna betydelse, omsätts med N-
tosyl-L-alaninylnklorid, i närvaro av ett lösningsmedel,
25 vilket utgörs av tetrahydrofuran, metylenklorid, kloro-
form, aceton, dietyleter eller bensen, och en svag orga-
nisk bas, vilken utgörs av pyridin eller 2,6-lutidin,
samt cirka 2,4 ekvivalent trifluorättiksyra beräknat på
cirka 1,2 ekvivalent N-tosyl-L-alaninylnklorid.

30 2. Förfarande enligt patentkravet 1, k ä n n e -
t e c k n a d därav, att reaktionen genomförs i närvaro
av pyridin och trifluorättiksyra, varvid molförhållandet
mellan pyridin och trifluorättiksyra är högst cirka 4:1.