



NORGE

KORRIGERT FORSIDE/ CORRECTED FRONT COVER

(12) PATENT

(19) NO

(11) 311361

(13) B1

(51) Int Cl⁷ C 07 K 5/06, A 61 K 38/05, A 61 P 7/02

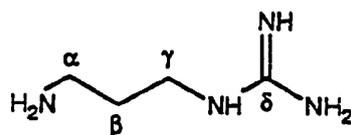
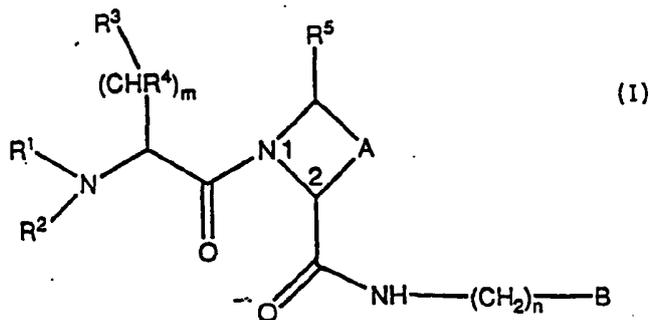
Patentstyret

(21) Søknadsnr	19942066	(86) Int. inng. dag og søknadsnummer	1992.12.01, PCT/SE92/00832
(22) Inng. dag	1994.06.03	(85) Videreføringsdag	1994.06.03
(24) Løpedag	1992.12.01	(30) Prioritet	1991.12.04, SE, 9103612
(41) Alm. tilgj.	1994.06.03		
(45) Meddelt dato	2001.11.19		
(71) Patenthaver	AB Astra, S-151 85 Södertälje, SE		
(72) Oppfinner	Ann-Catrine Elisabeth Teger-Nilsson, Mölndal, SE Ruth Elvy Bylund, Västra Frölunda, SE		
(74) Fullmektig	Bryns Zacco AS, 0106 Oslo		

(54) Benevnelse **Peptidderivater, fremgangsmåte for fremstilling, farmasøytisk preparat og anvendelse av peptidderivatene**

(56) Anførte publikasjoner Ingen

(57) Sammendrag Nye peptidinhibitorer av trombin, fremstilling derav, farmasøytiske sammensetninger inneholdende forbindelsene som aktive ingredienser og anvendelse av forbindelsene som antikoaguleringsmidler for profylakse og behandling av tromboemboliske sykdommer, ifølge formel I hvor A betyr en metylengruppe, en etylengruppe eller en propylengruppe, som kan være substituert eller A betyr -CH₂-O-CH₂-, -CH₂-S-CH₂-, -CH₂-SO-CH₂-, eller A betyr -CH₂-O-, CH₂-SO-, med heteroatomfunksjonalitet i posisjon 4, eller n er et tall 2 til 6; og B betyr -N(R⁶)-C(NH)-NH₂, hvor R⁶ er H eller en metylgruppe, eller B betyr -S-C(NH)-NH₂, eller -C(NH)-NH₂ er beskrevet. Ny anvendelse ved syntese av farmasøytiske forbindelser av en forbindelse med formel (II) er også beskrevet.



Foreliggende oppfinnelse vedrører nye konkurrerende inhibitorer til trombin, fremstilling derav, farmasøytiske sammensetninger inneholdende forbindelser som aktive ingredienser og anvendelse av forbindelsene som anti-koaguleringsmidler for profylakse og behandling av tromboemboliske sykdommer så som venøs trombose, lunge emboli, arteriell trombose, spesielt hjerte infarkt og cerebral trombose, generelle hyper koagulerbare tilstander og lokale hyperkoagulerbare tilstander, for eksempel etter angioplasti og coronare bypass operasjoner.

Oppfinnelsen vedrører også ny anvendelse av en forbindelse som et utgangsmateriale ved fremstilling av en serin protease inhibitor. Oppfinnelsen vedrører videre et nytt strukturelt fragment i en serin protease inhibitor.

Blodkoagulasjonen er hovedprosessen involvert i både haemostase (dvs. forhindring av blodtap fra et skadet kar) og trombose (dvs. patologisk okklusjon av et blodkar med en blodkoagel). Koagulasjon er resultatet av en omfattende serie enzymatiske reaksjoner hvor en av slutt trinnene er omdanning av proenzymet protrombin til det aktive enzymet trombin.

Trombin spiller en sentral rolle i koagulasjonen. Det aktiverer blodplater, omdanner fibrinogen til fibrinmonomerer som polymeriserer spontant til filamenter og aktiverer faktor XIII, som igjen kryssbinder polymeren til uoppløselig fibrin. Trombin aktiverer videre faktor V og faktor VIII i en positiv feed back reaksjon. Inhibitorer av trombin er derfor ventet å være effektive antikoaguleringsmidler ved inhibisjon av blodplater, fibrin dannelse og fibrin stabilisering. Ved inhibering av den positive feed back mekanismen er det ventet at de utviser inhibisjon tydelig i kjeden av hendelser som fører til koagulasjon og trombose.

Inhibitorer av trombin basert på aminosyresekvensen rundt spaltningssetet for fibrinogen A α kjeden ble først rapportert

av Blomback et al i J. Clin. Lab. Invest. 24, suppl 107, 59, (1969) som foreslo sekvensen Phe-Val-Arg (P9-P2-P1, heri referert til som P3-P2-P1 sekvensen) som beste inhibitor.

5 I US-PS 4.346.078 (Richter Gedon Vegyeszeti Gyar R T, priority date 7.10.1980) og i Peptides 1983 til Walter de Gruyter & Co, Berlin, s. 643-647, S. Bajusz et al beskrev trombininhibitoren H-DPhe-Pro-Agm, et dipeptidylderivat med en aminoalkylguanidin i P1-posisjonen.

10

S. Bajusz et al. rapporterte også i J. Med. Chem. 1990, 33, 1729-1735 og i EP-A20,185,390 (Richter Gedeon Vegyeszeti Gyar R T) (prioritetsdato 21.12.84) at erstatning av agmatin med et arginin aldehyd ga en trombininhibitor som har mye høyere
15 potens.

Grunnen for den økte aktiviteten til denne trombininhibitoren antas å være forårsaket av interaksjon av aldehydfunksjonen med Ser-OH i aktiveringssetet til enzymet som danner et
20 hemiacetal. Det er ikke mulig å ha samme type interaksjon i dipeptidderivatet H-DPhe-Pro-Agm på grunn av at det ikke har et aminosyrederivat med en karbonylgruppe i P1 posisjonen.

I annet arbeid innen trombin inhibitor feltet innbefatter
25 inhibitorer av serinproteaser som er basert på elektrofille ketoner i stedenfor aldehyder i P1-posisjonen følgende:

E. N. Shaw et al. (Research Corporation) US-4,318,904 (prioritetsdato 25.04.80) som beskriver peptid klor-metyl-
30 ketoner for eksempel H-DPhe-Pro-Arg-CH₂Cl.

M. Szelke og D.M. Jones i EP-A1-0,118,280 (prioritetsdato 04.03.83) som beskriver forbindelser avledet fra P₃ - P₂' pentapeptidsekvensen til fibrinogenet A α kjeden hvor den
35 spaltbare P₁ - P₁' peptidbindingen ble erstattet med -CO-CH₂-delen, som danner en ketonisoster til tilsvarende peptider.

M. Kolb et al. (Merrell-Dow) EP-A2-0.195.212 (prioritetsdato 04.02.85) beskriver peptidyl α -ketonestere og amider.

5 B. Imperiali og R.H. Ables, Biochemistry 1986. 25. 3760 beskriver peptidylfluoralkylketoner.

D. Schirlin et al. (Merrell-Dow) EP-A1-0.362.002 (prioritetsdato 01.09.88) beskriver fluoralkylamidketoner.

10 P. Bey et al., (Merrell-Dow) EP-A2-0,364,344 (prioritetsdato 01.09.88) beskriver α, β, δ -triketo forbindelser.

Ueda et al., Biochem. J. 1990, 265, 539 beskriver også peptidylfluoralkylketoner.

15

Inhibitorer av trombin basert på C-terminale borsyrederivater av arginin og isotiouromianaloger derav er blitt beskrevet av A.D. Kettner et al. (Du Pont) EP-A2-0,293,881 (prioritetsdato 05.06.87 og 06.04.88).

20

En hensikt ifølge foreliggende oppfinnelse er å tilveiebringe nye og potente trombininhibitorer som konkurrerende inhibitorisk aktivitet mot deres enzym, dvs. forårsaker reversibel inhibisjon. En ytterligere hensikt er å oppnå 25 inhibitorer som er oralt biotilgjengelige og selektive ved inhibering av trombin over andre serin proteaser. Stabilitet, virkningsvarighet og lav toksisitet ved terapeutiske doseringer er også hensikter ifølge oppfinnelsen.

30 Forbindelser

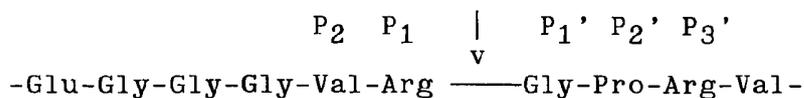
Forbindelsene ifølge oppfinnelsen vedrører peptidsekvensen til human fibrinogen A α kjeden som representerer modifiserte sub-setene P $_9$, P $_2$ og P $_1$:

35

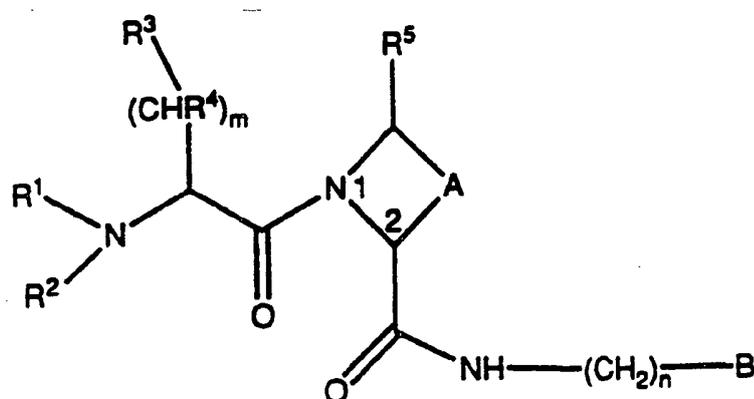
P $_9$

H-Ala-Asp-Ser-Gly-Glu-Gly-Asp-Phe-Leu-Ala-

4



5 Ifølge oppfinnelsen er det blitt oppdaget at forbindelsene med generell formel I, enten slik eller i form av fysiologiske akseptable salter og innbefattende stereoisomerer, er potente inhibitorer av trombin:



20 hvor:

A betyr en metylengruppe eller

25 A betyr etylengruppe og den resulterende 5-leddede ringen kan inneholde en eller to fluoratomer, en hydroksygruppe eller en oksogruppe i posisjon 4, eller er/er ikke umettet, eller

A betyr $-\text{CH}_2\text{-O-}$, $-\text{CH}_2\text{-S-}$, $-\text{CH}_2\text{-SO-}$, med heteroatomfunksjonaliteten i posisjon 4, eller

30 A betyr en n-propylengruppe og den resulterende 6-leddede ringen kan bære i posisjon 5 et fluoratom, en hydroksygruppe eller en okso gruppe, bærende to fluoratomer i en av posisjonene 4 eller 5 eller være umettet i posisjon 4 og 5, eller bærer i posisjon 4 en alkylgruppe med 1 til 4 karbon-
35 atomer, eller

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

R¹ betyr H, en alkylgruppe med 1 til 4 karbonatomer, en hydroksyalkylgruppe med 2-3 karbonatomer eller R¹¹OOC-alkyl-, hvor alkylgruppen har 1 til 4 karbonatomer og R¹¹ er H eller en alkylgruppe med 1 til 4 karbonatomer eller en alkylen-
 5 gruppe med 2-3 karbonatomer intramolekylært bundet alfa til karbonylgruppe i R¹, eller

R¹ betyr R¹²OOC-1,4-fenyl-CH₂-, hvor R¹² er H eller en alkylgruppe med 1 til 4 karbonatomer, eller

10 R¹ betyr R¹³-NH-CO-alkyl-, hvor alkylgruppen har 1 til 4 karbonatomer og er muligens substituert alfa til karbonyl end en alkylgruppe med 1 til 4 karbonatomer og hvor R¹³ er H eller en alkylgruppe med 1 til 4 karbonatomer eller-
 15 CH₂COOR¹² hvor R¹² er som definert ovenfor, eller

R¹ betyr -R¹²OOC-CH₂-OOC-alkyl-, hvor alkylgruppen har 1 til 4 karbonatomer og er muligens substituert alfa til karbonyl med en alkylgruppe med 1 til 4 karbonatomer og hvor R¹² er
 20 som definert ovenfor, eller

R¹ betyr CH₃SO₂-, eller

25 R¹ betyr R¹²OC(O)C(O)- hvor R¹² er som definert ovenfor, eller

R¹ betyr -CH₂PO(OR²¹⁴)₂, -CH₂SO₃H eller -CH₂-(5-(1H)-tetrazolyl) hvor R¹⁴ er, individuelt ved hvert tilfelle, H, metyl eller etyl,

30 R² betyr H eller en alkylgruppe med 1 til 4 karbonatomer eller R²¹OOC-alkyl-, hvor alkylgruppen har 1 til 4 karbonatomer og er muligens substituert i posisjonen som er alfa til karbonylgruppen, og alfasubstituenten er en gruppe R²²-(CH₂)_p-, hvor p = 0-2 og R²² er metyl, fenyl, OH, COOR²¹ og
 35 R²¹ er H eller en alkylgruppe med 1 til 4 karbonatomer;

m er 0, 1 eller 2, R^3 betyr en sykloheksylgruppe og R^4 betyr H, eller

m er 1 og R^3 betyr en sykloheksyl eller fenylgruppe og R^4
 5 danner et etylenbro sammen med R^1 , eller

m er 1 og R^3 og R^4 er hver en sykloheksyl eller fenylgruppe;

R^5 betyr H eller en alkylgruppe med 1 til 4 karbonatomer;

10

n er et tall 2 til 6 og

B betyr $-N(R^6)-C(NH)-NH_2$, hvor R^6 er H eller en metylgruppe,
 eller

15

B betyr $-S-C(NH)-NH_2$, eller $-C(NH)-NH_2$.

En alkylgruppe kan være lineær eller forgrenet dersom ikke
 annet er angitt. Alkylgrupper med 1 til 4 karbonatomer er
 20 metyl, etyl, n-propyl, i-propyl, n-butyl, i-butyl, s-butyl og
 t-butyl.

Når ikke-metning blir referert til menes en karbon-karbon
 dobbelt binding. Forkortelsene er oppført i slutten av
 25 beskrivelsen.

Ifølge en foretrukket utførelsesform vedrører oppfinnelsen
 forbindelser med formel I, hvor R^1 betyr $R^{11}OOC$ -alkyl-, hvor
 alkylgruppen har 1 til 4 karbonatomer og R^{11} er H. Av disse
 30 forbindelsene er forbindelser hvor A er etylen og R^5 er H
 eller en alkylgruppe med 1 til 4 karbonatomer, spesielt hvor
 R^5 er H foretrukket.

Av forbindelsen med formel I er forbindelser hvor R^3 er
 35 sykloheksyl, m er 1 eller 2, spesielt m er 1 og R^4 er H en
 annen foretrukket subklasse.

En annen foretrukket gruppe av forbindelser er forbindelser hvor A er n-propylen og den resulterende 6-leddede ringen kan i posisjon bære en alkylgruppe med 1 til 4 karbonatomer og R⁵ er H eller en alkylgruppe med 1 til 4 karbonatomer, spesielt de hvor R⁵ er H.

Ifølge en annen foretrukket utførelsesform er n 3.

Forbindelser med formel I med S-konfigurasjon på α -aminosyren i P2-posisjonen er foretrukne og av de forbindelsene som også har R-konfigurasjon på α -aminosyren i P3-posisjonen er spesielt foretrukket. Foretrukne forbindelser ifølge oppfinnelsen er: Eller = el.

Eksempel nr.	Forbindelse
1	H-(R)Cha-Pro-Agm
2	Me-(R)Cha-Pro-Agm
3	HO-(CH ₂) ₃ -(R)Cha-Pro-Agm
4	HOOC-CH ₂ -(R)Cha-Pro-Agm
5	ⁱ PrOOC-CH ₂ -(R)Cha-Pro-Agm
6	HOOC-CH ₂ -(Me)(R)Cha-Pro-Agm
7	HOOC-(R,S)CH(Me)-(R)Cha-Pro-Agm
8	HOOC-(Rel.S)CH(Me)-(R)Cha-Pro-Agm/a
9	HOOC-(Rel.S)CH(Me)-(R)Cha-Pro-Agm/b
10	HOOC-(Rel.S)CH(ⁿ Pr)-(R)Cha-Pro-Agm/a
11	HOOC-(Rel.S)CH(ⁿ Pr)-(R)Cha-Pro-Agm/b
12	HOOC-(Rel.S)CH(Ph)-(R)Cha-Pro-Agm/b
13	HOOC-(R,S)CH(CH ₂ CH ₂ Ph)-(R)Cha-Pro-Agm
14	HOOC-(Rel.S)CH(CH ₂ CH ₂ Ph)-(R)Cha-Pro-Agm/a
15	HOOC-CH ₂ -CH ₂ -(R)Cha-Pro-Agm
16	EtOOC-CO-(R)Cha-Pro-Agm
17	(R,S)Bla-(R)Cha-Pro-Agm
18	HOOC-(Rel.S)CH(CH ₂ CH ₂ Ph)-(R)Cha-Pro-Agm/b
19	H-(R)Cha-Pro-Nag
20	ⁿ Bu-(R)Cha-Pro-Nag
21	HO-(CH ₂) ₃ -(R)Cha-Pro-Nag
22	HOOC-CH ₂ -(R)Cha-Pro-Nag
23	EtOOC-CH ₂ -(R)Cha-Pro-Nag
24	ⁱ PrOOC-CH ₂ -(R)Cha-Pro-Nag

25	$t\text{BuOOC-CH}_2\text{- (R) Cha-Pro-Nag}$
26	$\text{HOOC-CH}_2\text{-OOC-CH}_2\text{- (R) Cha-Pro-Nag}$
27	$\text{H}_2\text{N-CO-CH}_2\text{- (R) Cha-Pro-Nag}$
5 28	$\text{HOOC-CH}_2\text{-NH-CO-CH}_2\text{- (R) Cha-Pro-Nag}$
29	$(\text{HOOC-CH}_2)_2\text{- (R) Cha-Pro-Nag}$
30	$\text{HOOC-CH}_2\text{- (Me) (R) Cha-Pro-Nag}$
31	$\text{HOOC-CH}_2\text{- (nBu) (R) Cha-Pro-Nag}$
32	$\text{HOOC- (R, S) CH (Me) - (R) Cha-Pro-Nag}$
10 33	$\text{HOOC- (Rel.S) CH (Me) - (R) Cha-Pro-Nag/a}$
34	$\text{HOOC- (Rel.S) CH (Me) - (R) Cha-Pro-Nag/b}$
35	$\text{EtOOC- (R, S) CH (Me) - (R) Cha-Pro-Nag}$
36	$\text{HOOC- (Rel.S) CH (}^n\text{Pr) - (R) Cha-Pro-Nag/a}$
37	$\text{HOOC- (R) CH (CH}_2\text{-OH) - (R) Cha-Pro-Nag}$
15 38	$\text{HOOC- (R, S) CH (Ph) - (R) Cha-Pro-Nag}$
39	$\text{HOOC- (S) CH (CH}_2\text{CH}_2\text{Ph) - (R) Cha-Pro-Nag}$
40	$\text{HOOC- (R) CH (CH}_2\text{CH}_2\text{Ph) - (R) Cha-Pro-Nag}$
41	$\text{HOOC-CH}_2\text{-CH}_2\text{- (R) Cha-Pro-Nag}$
42	$\text{EtOOC-CH}_2\text{-CH}_2\text{- (R) Cha-Pro-Nag}$
20 43	$\text{HOOC- (CH}_2)_3\text{- (R) Cha-Pro-Nag}$
44	$\text{EtOOC- (CH}_2)_3\text{- (R) Cha-Pro-Nag}$
45	$\text{HOOC-CO- (R) Cha-Pro-Nag}$
46	$\text{MeOOC-CO- (R) Cha-Pro-Nag}$
47	$(\text{R, S) Bla- (R) Cha-Pro-Nag}$
25 48	$\text{HOOC- (R, S) CH (CH}_2\text{COOH) - (R) Cha-Pro-Nag}$
49	$\text{MeOOC- (R, S) CH (CH}_2\text{COOMe) - (R) Cha-Pro-Nag}$
50	$\text{HOOC-Ph-4-CH}_2\text{- (R) Cha-Pro-Nag}$
51	$(\text{HO})_2\text{P(O)-CH}_2\text{- (R) Cha-Pro-Nag}$
30 52	$\text{EtO (HO) P(O)-CH}_2\text{- (R) Cha-Pro-Nag}$
53	$(\text{EtO})_2\text{P(O)-CH}_2\text{- (R) Cha-Pro-Nag}$
54	$\text{HOOC-CH}_2\text{- (R) Cha-Pro-Mag}$
55	$\text{H- (R, S) Pro (3-Ph) -Pro-Agm}$
56	$\text{H- (R, S) Pro (3- (trans) Ch) -Pro-Agm}$
35 57	$\text{HOOC-CH}_2\text{- (R, S) Pro (3- (trans) Ph) -Pro-Agm}$
58	$\text{HOOC-CH}_2\text{- (R, S) Pro (3- (trans) Ph) -Pro-Nag}$
59	$\text{HOOC-CH}_2\text{- (R) Cha-Pic-Agm}$
60	$\text{HOOC-CH}_2\text{- (Me) (R) Cha- (R, S) Pic-Agm}$
61	$\text{HOOC- (R, S) CH (Me) - (R) Cha-Pic-Agm}$

62	HOOC-(R _{el} ,S)CH(Me)-(R)Cha-Pic-Agm/a
63	HOOC-(R _{el} ,S)CH(Me)-(R)Cha-Pic-Agm/b
5 64	HOOC-CH ₂ -CH ₂ -(R)Cha-Pic-Agm
65	H-(R)Cha-Pic-Nag
66	Me-(R)Cha-(R,S)Pic-Nag
67	HOOC-CH ₂ -(R)Cha-Pic-Nag
68	MeOOC-CH ₂ -(R)Cha-Pic-Nag
10 69	¹ PrOOC-CH ₂ -(R)Cha-Pic-Nag
70	HOOC-CH ₂ -(Me)(R)Cha-(R _{el} ,S)Pic-Nag/b
71	HOOC-(R,S)CH(Me)-(R)Cha-(R,S)Pic-Nag
72	HOOC-(R _{el} ,S)CH(Me)-(R)Cha-(R _{el} ,S)Pic-Nag/c
73	HOOC-(R _{el} ,S)CH(Me)-(R)Cha-(R _{el} ,S)Pic-Nag/d
15 74	HOOC-CH ₂ -CH ₂ -(R)Cha-Pic-Nag
75	HOOC-CH ₂ -(R)Cha-(R,S)Mor-Agm
76	HOOC-CH ₂ -(R)Cha-(R _{el} ,S)Mor-Nag
77	H-(R)Cha-Aze-Nag
78	HOOC-CH ₂ -(R)Cha-Aze-Nag
20 79	H-(R)Cha-Pro(5-(S)Me)-Nag
80	HOOC-CH ₂ -(R)Cha-Pro(5-(S)Me)-Nag
81	HOOC-CH ₂ -(R)Cha-(R _{el} ,S)Pic(4,5-dehydro)-Nag/b
82	HOOC-CH ₂ -(R)Cha-Pic(4-(S)Me)-Nag
83	HOOC-CH ₂ -(R)Cha-(R)Pic(4-(R)Me)-Nag
25 84	HOOC-CH ₂ -(R)Cgl-Pic-Nag
85	H-(R)Hoc-Pro-Nag
86	HOOC-CH ₂ -(R)Hoc-Pro-Nag
87	HOOC-CH ₂ -(R)Hoc-Pic-Nag
88	HOOC-CH ₂ -(R)Dph-Pic-Nag
30 89	HOOC-CH ₂ -(R)Dch-Pic-Nag
90	HOOC-CH ₂ -(R)Cha-Pro(5-(R,S)Me)-Nag
91	H-(R)Cha-Pic(4-(R)Me)-Nag
92	HOOC-CH ₂ -(R)Cha-Pic(4-(R)Me)-Nag
35 93	HOOC-CH ₂ -(R)Cha-Pic(6-(S)Me)-Nag

Av disse forbindelsene er forbindelsene med eksempel nr. 4, 6, 9, 22, 30, 34, 59, 63, 67, 73, 80 og 82 spesielt foretrukne og de med følgende forbindelser er mest foretrukne:

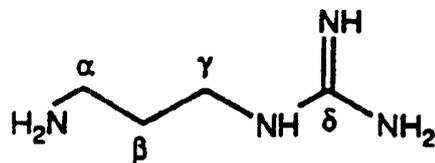
5	30	HOOC-CH ₂ -(Me) (R)Cha-Pro-Nag
	34	HOOC-(RellerS)CH(Me)-(R)Cha-Pro-Nag/b
	67	HOOC-CH ₂ -(R)Cha-Pic-Nag

I ovennevnte tabeller av forbindelsene refererer bokstavene /a, /b, /c og /d en vesentlig ren stereoisomer ved karbonatomet angitt "RellerS". Stereoisomeren kan bli identifisert for hver forbindelse med referanse til den eksperimentelle delen heri. "R,S" refererer til en blanding av stereoisomerer.

15

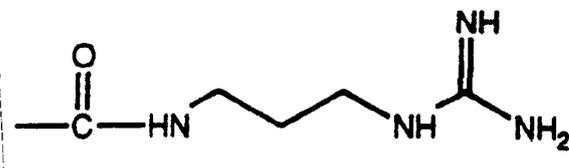
Oppfinnelsen vedrører videre ny anvendelse av en forbindelse med formel:

20



som et utgangsmateriale for fremstilling av en serinprotease inhibitor og spesielt for fremstilling av en trombininhibitor. Den kan bli anvendt slik eller kan ha guanidinogruppen enten monobeskyttet ved δ-nitrogen eller avspaltet ved δ-nitrogenene eller λ, δ-nitrogenene, fortrinnsvis med en beskyttende gruppe så som benzyloksykarbonyl. Beskyttelse av noragmatinderivatene blir utført ifølge fremgangsmåten kjent innenfor fagområdet for guanidinoforbindelsene. Denne forbindelsen er betegnet "noragmatin" eller "Nag" heri. Forbindelsen er tidligere blitt beskrevet som en hårblekingsaksellerator i GB 1,599,324 (Henkel, prioritetsdato 05.02.1977). Det strukturelle fragmentet med formel

35



har derimot ikke tidligere vært beskrevet som et strukturelt element i en farmasøytisk aktiv forbindelse. Som strukturelt element gir "noragmatin" fragmentet en serin protease inhibitor og spesielt en trombininhibitor.

5

Medisinsk og farmasøytisk anvendelse

Oppfinnelsen vedrører videre anvendelse av forbindelsene til behandling, av menneske eller dyreorganismer, tilstander hvor inhibisjon av trombin er nødvendig. Forbindelsene ifølge oppfinnelsen er ventet å være nyttige spesielt i dyr, inkludert mennesker for behandling eller profylakse av trombose og hyperkoagulabilitet i blod og vev. Det er videre ventet å være nyttig i situasjoner hvor det er et uønsket overskudd av trombin uten tegn på hyperkoagulabilitet. Sykdomstilstander hvor forbindelsene har en potensiell anvendbarhet er ved behandling og/eller profylakse, inkludert venøs trombose og lungeemboli, arteriell trombose, så som ved hjerteinfarkt, ustabil angina, trombose-basert slag og perifer arteriell trombose. Forbindelsene har ventet anvendbarhet ved profylakse av aterosklerotiske sykdommer så som coronar arteriell sykdom, cerebral arteriell sykdom og perifer arteriell sykdom. Forbindelsene er ventet å være nyttige sammen med trombolytiske midler i trombose sykdommer, spesielt hjerteinfarkt. Forbindelsene har videre ventet anvendbarhet i profylakse for reokklusjon etter trombolyse, perkutan trans-luminal angioplasti, (PTCA) og coronare bypass operasjoner. Forbindelsene har videre ventet anvendbarhet for forhindring av retrombose etter mikrokirurgi. Forbindelsene er ventet å være nyttige for antikoaguleringsbehandling i sammenheng med kunstige organer og hjerteklaffer. Forbindelsene har videre ventet anvendbarhet ved antikoaguleringsmiddel behandling i haemodialyse og disseminert intravaskulær koagulasjon.

En annen ventet anvendbarhet er ved skylling av kateteret av mekaniske innretninger anvendt i pasienter in vivo, og som et

antikoaguleringsmiddel for konservering av blod, plasma og andre blodprodukter in vitro.

Farmasøytiske preparater

5 Forbindelsene med formel I vil normalt bli administrert oralt, rektalt, dermalt, nasalt eller parenteralt i form av farmasøytiske preparater omfattende det aktive ingredienset enten som en fri base eller et farmasøytisk akseptabelt ikke-toksisk syreaddisjonssalt, for eksempel hydroklorid, 10 hydrobromid, laktat, acetat, sitrat, p-toluensulfonat, trifluoracetat og lignende i en farmasøytisk akseptabel doseringsform.

Doseringsformen kan være et fast, halvfast eller flytende 15 preparat fremstilt ifølge kjente teknikker. Vanligvis vil den aktive forbindelsen utgjøre mellom 0,1 og 99 vekt-% av preparatet, mer spesifikt mellom 0,1 og 50 vekt-% for preparatet ment for parenteral administrering og mellom 0,2 og 75 vekt-% for preparatene egnet for oral administrering.

20 Egnede daglige doser av forbindelsene ifølge oppfinnelsen ved terapeutisk behandling av mennesker er omtrent 0,001-100 mg/kg kroppsvekt ved peroral administrering og 0,001-50 mg/kg kroppsvekt ved parenteral administrering.

Fremstilling

En annen hensikt ifølge oppfinnelsen er en fremgangsmåte for fremstilling av forbindelsene kjennetegnet ved å koble en N-terminalt beskyttet aminosyre eller dipeptid eller et 30 fordannet, N-terminalt alkylert beskyttet dipeptid til en forbindelse



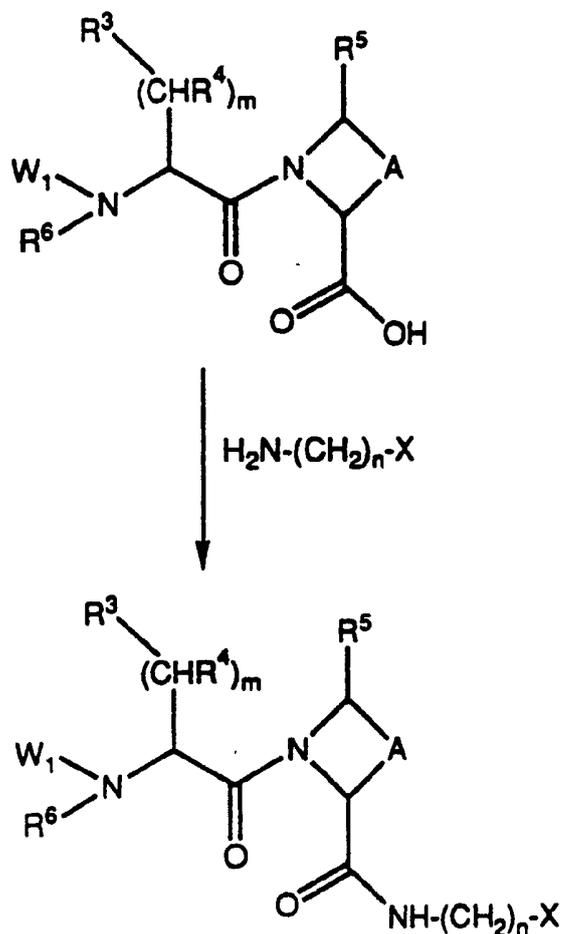
35 hvor n er et tall 2-6 og X er en ubeskyttet eller beskyttet guanidinogruppe eller en beskyttet aminogruppe, eller en gruppe som kan overføres til en aminogruppe, hvor amino-

gruppen deretter blir overført til en guanidinogruppe, og om ønskelig dannes et fysiologisk akseptabelt salt, og i de tilfellene hvor reaksjonen resulterer i en blanding av stereoisomerer, blir disse eventuelt separert ved standard-kromatografiske eller rekrystalliseringsteknikker, og om ønskelig blir en enkel stereoisomer isolert.

Koblingen blir dermed utført ved en av følgende metoder:

10 Metode I

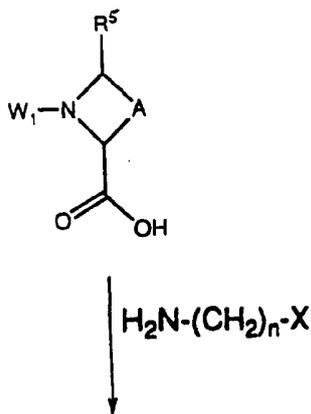
Kobling av et N-terminalt beskyttet dipeptid, fremstilt ifølge standard peptidkobling, med enten et beskyttet eller ubeskyttet aminoguanidin eller en rettkjedet alkylamin som bærer en beskyttet eller maskert aminogruppe ved den terminale enden av alkylkjeden ved anvendelse av standard peptid kobling, vist i formelen

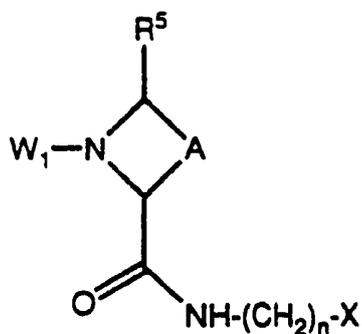


hvor R^3 , R^4 , R^5 , n , m og A er som definert i formel I, R^6 er H eller alkyl, W_1 er en amino beskyttende gruppe så som tertiar metoksykarbonyl og benzyloksykarbonyl og X er $-NH-C(NH)NH_2$, $-NH-C(NH)NH-W_2$, $-N(W_2)-C(NH)NH-W_2$, $-NH-C(NW_2)NH-W_2$ eller $-NH-W_2$, hvor W_2 er en aminbeskyttende gruppe så som tertiar metoksykarbonyl eller benzyloksykarbonyl, eller X er en maskert aminogruppe så som azid, for å tilveiebringe det beskyttede peptidet. Sluttforbindelsene kan bli fremstilt på hvilke som helst av de følgende måtene, avhengig av naturen til X - gruppen som blir anvendt: fjerning av den beskyttende gruppen(ene) (når $X= -NH-C(NH)NH_2$, $-N(W_2)-C(NH)NH-W_2$, $-NH-C(NW_2)NH-W_2$ eller $-NH-C(NH)NH-W_2$), eller en selektiv avspaltning av W_1 -gruppen (for eksempel når $X= -NH-C(NH)NH-W_2$, $-N(W_2)-C(NH)NH-W_2$, $-NH-C(NW_2)NH-W_2$, W_2 i dette tilfellet må være orthogonal for W_1) etterfulgt av alkylering av det N-terminale nitrogen og avspaltning eller en selektiv avspaltning/av-maskering av den terminale alkylaminofunksjonen ($X=NH-W_2$, W_2 må i dette tilfellet være orthogonalt for W_1 eller $X=$ en maskert aminogruppe, så som azid) etterfulgt av en guanideringsreaksjon, ved anvendelse av standardmetoder, av det frie aminet og avspaltning av W_1 -gruppen.

Metode II

Kobling av en N-terminalt beskyttet aminosyre fremstilt ifølge standardmetoder, med enten et beskyttet eller avspaltet aminoguanidin eller et lineært alkylamin inneholdende en beskyttet eller maskert aminogruppe ved den terminale enden av alkylkjeden ved anvendelse av standard-peptidkobling vist i formelen

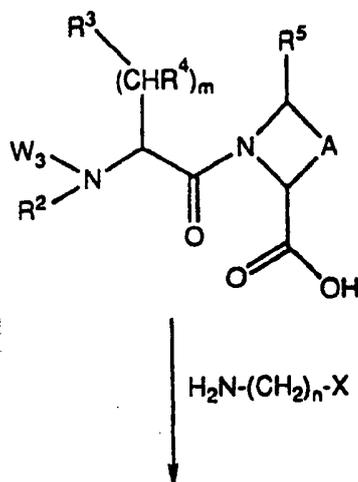


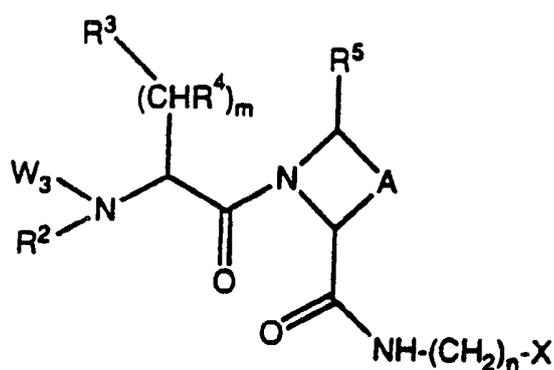


15 hvor W_1 , A, R^5 og X er som definert ovenfor etterfulgt av avspaltning av W_1 -gruppen og kobling med den N-terminale aminosyren, i en beskyttet form, som fører til det beskyttede peptidet beskrevet i fremgangsmåte I eller fremgangsmåte III, avhengig av valg av substitusjonspartneren på nitrogenet til den N-terminale aminosyren anvendt i koblingen. Syntesen blir deretter fortsatt ifølge metode I eller metode III for å tilveiebringe sluttpeptidene.

20 Metode III

25 Kobling av et fordannet N-terminalt alkylert og beskyttet dipeptid, fremstilt ved standardpeptidkobling, med enten et beskyttet eller ubeskyttet aminoguanidin eller en linear kjede alkylamin som bærer en beskyttet eller maskert aminogruppe ved den terminale enden av alkylkjeden ved anvendelse av standardpeptid kobling, vist i formelen





15 hvor R^2 , R^3 , R^4 , R^5 , n , m , A og X er definert som ovenfor forutsatt at R^2 er forskjellig fra H og W_3 er en acylbeskyttende gruppe så som trifluoracyl.

20 Sluttforbindelsene kan bli fremstilt på hvilke som helst av følgende måter avhengig av naturen til X -gruppen som blir anvendt: fjerning av beskyttende grupper (når $X = \text{NH-C}(\text{NH})\text{NH}_2$, $\text{NH-C}(\text{NH})\text{NH-W}_2$, $\text{N}(\text{W}_2)\text{-C}(\text{NH})\text{NH-W}_2$, $\text{NH-C}(\text{NW}_2)\text{NH-W}_2$ eller NH-W_2) eller en selektiv avspaltnings/ikke-maskering av den terminale alkylamino funksjonen ($X = \text{NH-W}_2$, W_2 må i dette tilfellet være ortogonalt for W_3 eller $X =$ en maskert aminogruppe så som azid) etterfulgt av en guaniderings-
25 avspaltnings av W_3 gruppen.

Følgende beskrivelse skal illustrere aspektene ifølge oppfinnelsen.

30 Eksperimentell del

Fremstilling av forbindelsene ifølge oppfinnelsen er illustrert i skjemaene I til VI.

Generelle eksperimentelle prosedyrer

35 ^1H NMR og ^{13}C NMR målingene ble utført på BRUKER AC-P 300 og BRUKER AM 500 spektrometerene, i det førstnevnte blir drevet ved en ^1H frekvens på 500.14 MHz og en ^{13}C frekvens på 125.76

MHz og sistnevnte ved ^1H og ^{13}C frekvenser av henholdsvis 300.13 MHz og 75.46 MHz.

Prøvene inneholdt 10-50 mg løst opp i 0,6 ml av en av følgende oppløsningsmidler; CDCl_3 (isotopisk renhet > 99,8%, Dr. Glaser AG Basel), CD_3OD (isotopisk renhet > 99,95%, Dr. Glaser AG Basel) eller D_2O (isotopisk renhet > 99,98%, Dr. Glaser AG Basel).

^1H og ^{13}C kjemiske skiftverdier i CDCl_3 og CD_3OD er relativt til tetrametylsilan som en ytre standard. ^1H kjemiske skift i D_2O er relativt til natriumsaltet av 3-(trimetylsilyl)- d_4 -propansyre og ^{13}C kjemiske skift i D_2O blir referert relativt til 1,4-dioksan (67,3 ppm), begge som ytre standarder. Kalibrering med en ytre standard kan i noen tilfeller forårsake mindre skiftforskjeller sammenlignet med en indre standard, men forskjellen i ^1H kjemisk skift er mindre enn 0,02 ppm og i ^{13}C mindre enn 0,1 ppm.

^1H NMR spekteret til peptidsekvensene inneholdende en prolinrest utviser ofte to sett av resonanser. Dette tilsvarer til eksistensen av to bidragende konformeringer som med hensyn på rotasjon rundt amidbindingen var prolin i N-delen av amidbindingen. Formene blir betegnet cis og trans. I våre forbindelser gir sekvensene (R)Cha-Pro- og (R)Cha-Pic-ofte opphav til en cis-trans likevekt med en form som viktigste form (>90%). I de tilfellene blir bare ^1H kjemiske skift av hovedrotamer rapportert.

Tynnsljikt-kromatografi ble utført på kommersiell merck Silicagel 60F₂₅₄ belagt glass eller aluminiumplater. Visualisering var ved en kombinasjon av UV-lys etterfulgt av spraying med en oppløsning dannet ved blanding av 372 ml EtOH (95%), 13,8 ml konsentrert H_2SO_4 , 4,2 ml konsentrert eddiksyre og 10,2 ml p-metoksybenzaldehyd eller fosfomolybdensyrereagens (5-10 vekt-% i EtOH (95%)) og oppvarming.

Flammekromatografi ble utført på Merck Silicagel 60 (40-63 mm, 230-400 mesh) under N₂ trykk.

5 Revers fase høy-ytelse væskkromatografi (i eksemplene referert til som RPLC) ble utført på et Waters M-590 instrument utstyrt med tre revers fase Kromasil 100, C8 kolonner (Eka-Nobel) med forskjellige dimensjoner for analytisk (4,6 mm x 250 mm), semipreparativ (1" x 250 mm) og preparativ (2" x 500 mm) kromatografi detektering ved 226 nm.

10

Frysetørking ble utført på en Leybold-Heraeus, modell Lyovac GT 2, apparatur.

Beskyttelsesprosedyrer

15

Boc-(R)Cha-OH

Til en oppløsning av H-(R)Cha-OH, 21,55 g (125,8 mmol) i 130 ml 1 M NaOH og 65 ml THF ble det tilsatt 30 g (137,5 mmol) 20 (Boc)₂O og blandingen ble omrørt i 4,5 timer ved romtemperatur. THF ble avdampet og ytterligere 150 ml vann ble tilsatt. Den alkaliske vandige fasen ble vasket to ganger med EtOAc og deretter surgjort med 2 M KHSO₄ og ekstrahert med 3 x 150 ml EtOAc. Den kombinerte organiske fasen ble vasket med vann, 25 saltvann og tørket (Na₂SO₄). Avdampning av oppløsningsmiddelet ga 30,9 g (90,5 %) av tittelforbindelsen som et hvitt fast stoff.

Z-(R)Cha-OH

30

Samme prosedyre som beskrevet i Bodanszky M. og Bodanszky A. "The Practice of Peptide Synthesis", Springer-Verlag, 1984, s. 12, ble anvendt begynnende med H-(R)Cha-OH.

35 Boc-(Me)Phe-OH

Fremstilt på samme måte som Boc-(R)Cha-OH fra Me-(R)Phe-OH.

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

Til en godt omrørt oppløsning av 2,0 g (8,8 mmol, 1 ekv.) H-(R,S)Pro(3-(trans)Ph)-OH x HCl (fremstilt som beskrevet i J. Org. Chem., 55, s. 270-75, 1990 og J. Org. Chem., 39, 1710-1716, 1974), i 17,6 ml 1 N NaOH, 12 ml H₂O og 12 ml THF ved +5°C ble det tilsatt 2,33 g (Boc)₂O (10,7 mmol, 1,2 ekv.). Reaksjonen ble latt stå ved romtemperatur og omrøringen ble fortsatt i ytterligere 18 timer. Det organiske oppløsningsmiddelet ble avdampet og 40 ml H₂O ble tilsatt til resten. Den basiske vannfasen ble vasket med 2 x 50 ml EtOAc og surgjort med 2 M KHSO₄ (pH omtrent 1). Den sure vannfasen ble ekstrahert med 4 x 75 ml EtOAc og den kombinerte organiske fasen ble vasket med 1 x 40 ml H₂O, 1 x 40 ml saltvann og tørket (MgSO₄). Avdampning av oppløsningsmiddelet ga 2,0 g (78%) av det rene produktet som et hvitt fast stoff.

²⁰ 1H-NMR (CDCl₃, 50 MHz, blanding av to rotamerer: δ 1,4 og 1,5 (2s, 9H), 2,0-2,1 (m, 1H), 2,3-2,4 (m, 1H), 3,45-3,88 (m, 3H), 4,3 og 4,45 (2d, 1H), 7,2-7,4 (m, 5H).

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

²⁵ Fremstilt som ovenfor begynnende fra en cis/trans blanding av H-(R,S)Pro(3-Ph)-OH.

Boc-(R)Dph-OH

³⁰ Fremstilt ifølge samme fremgangsmåte som beskrevet for K. Hsich et al. i J. Med. Chem., 32. s. 898 (1989) fra H-(R)Dph-OH.

Boc-(R)Hop-OH

³⁵ Fremstilt ifølge samme fremgangsmåte som beskrevet for Boc-(R)Cha-OH begynnende fra H-(R)Hop-OH.

$^1\text{H-NMR}$ (300 MHz, CDCl_3): δ 1,45 (s, 9H), 2,00 (m, 1H), 2,22 (m, 1H), 2,75 (bt, 2H), 4,36 (bs, 1H), 5,05 (bs, 1H), 7,15-7,33 (m, 5H).

5 Avspaltningsprosedyrer

(a) Det beskyttede peptidet ble løst opp i EtOH (95%) og hydrogenert over 5% Pd/C ved atmosfærisk trykk i nærvær av et overskudd TFA eller HOAc (> 2 ekv.) i omtrent 1-4 timer. Katalysatoren ble filtrert ut, oppløsningsmiddelet avdampet og sluttpeptidet (TFA eller HOAc saltet) ble isolert som et hvitt pulver etter frysetørking (H_2O)

(b) samme som i (a) med unntagelse av at EtOH/ H_2O (ca 5:1) ble anvendt som oppløsningsmiddel.

15 (c) Samme prosedyre som i (a), men MeOH ble anvendt som oppløsningsmiddel.

(d) Samme prosedyre som i (a), men 2 M HCl ble anvendt som syre for å gi HCl-saltet.

(e) Hydrolyse av esterene, et illustrerende eksempel:

EtOOC- CH_2 -(R)Cha-Pro-Nag x 2 HOAc (0,4 mmol) ble løst opp i 1,5 ml MeOH og 1,2 ml (1,2 mmol) 1 M NaOH ble tilsatt ved romtemperatur. Etter 3 timer ble metanol avdampet og et overskudd HOAc ble tilsatt til resten og blandingen ble frysetørket og rensset ifølge RPLC ($\text{CH}_3\text{CN}/0,1$ M NH_4OAc (70/30)). Det rene produktet ble oppnådd som et pulver i 73% utbytte etter frysetørking fra vann.

(f) Spaltning av t-butylestere, et illustrerende eksempel:

35 t-butylester ble løst opp i et overskudd TFA. Etter omrøring i 2 timer ved romtemperatur ble TFA avdampet. Rensing ved behandling med aktivert trekull i vann-etanol ble etterfulgt

av frysetørking fra vann for å tilveiebringe de ønskede forbindelsene.

Fremstilling av utgangsmaterialene

5

H-Pic-OEt x HCl

10

L-pipecolinsyre, 4,0 g (0,031 mol) ble oppslemmet i 100 ml abs. etanol og HCl (g) ble forsiktig boblet gjennom helt til en klar oppløsning ble oppnådd. Den ble avkjølt i et isbad og 17 ml tionylklorid ble dråpevis tilsatt over 15 min. Isbadet ble fjernet og blandingen ble tilbakestrømmet i 2,5 timer. Oppløsningsmiddelet ble avdampet og produktet ble oppnådd som hydrokloridsaltet i et kvantitativt utbytte.

15

$^1\text{H-NMR}$ (300 MHz, D_2O): δ 1,33 (t, 3H), 1,8-2,1 (m, 5H), 2,3-2,5 (m, 1H), 3,1-3,3 (m, 1H), 3,5-3,7 (m, 1H), 4,14 (dd, 1H), 4,44 (q, 2H).

20

H-Pic-OMe x HCl

Fremstilt på samme måte som beskrevet for H-Pic-OEt x HCl ved erstatning av EtOH med MeOH.

25

H-Aze-OEt x HCl

Fremstilt på samme måte som beskrevet for H-Pic-OEt x HCl fra H-Aza-OH.

30

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

Fremstilt på samme måte som beskrevet for H-Pic-OEt x HCl fra H-(R)Pic(4-(R)Me)OH (oppnådd fra Synthelec, Lund, Sverige).

35

H-(R)Dph-OH

Fremstilt ifølge den generelle metoden til A. Evans et al. *JACS*, 112, 4011 (1990).

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

5

H-(R,S)Pic(4,5-dehydro)-OH, 3,05 g (18,1 mmol) (fremstilt ifølge fremgangsmåten til Burgstahler et al. *J. org. Chem.* 25, 4, s. 489-92 (1960), ble løst opp i 75 ml EtOH/HCl (mettet) og blandingen ble tilbakestrømmet i 5 timer. 10 Oppløsningsmiddelet ble avdampet og den gjenværende resten ble løst opp i vann, gjort alkalisk med natriumhydroksid (aq) og ekstrahert tre ganger med etylacetat. Tørring (Na_2SO_4) og forsiktig avdampning ga 2,05 g (71%) av tittelforbindelsen.

15 $^1\text{H-NMR}$ (CDCl_3): δ 1,28 (t, 3H), 1,88 (bs, NH), 2,2-2,4 (m, 2H), 3,45 (bs, 2H), 3,57 (dd, 1H), 4,21 (q, 2H), 5,68-5,82 (m, 2H).

Boc-(R)Cgl-OH

20

Boc-(R)Pgl-OH ble hydrert over 5% Rh/ Al_2O_3 i MeOH ved 5 MPa. Filtrering og avdampning av oppløsningsmiddelet ga tittel- forbindelsen som ble anvendt uten ytterligere rensning.

25 $^1\text{H-NMR}$ (300 MHz, CDCl_3): δ 0,9-1,7 (m, 20H), 4,0-4,2 (m, 1H), 5,2 (d, 1H).

Boc-(R)Dch-OH

30 Boc-(R)Dph-OH, 0,75 g (2,2 mmol) ble løst opp i 25 ml MeOH og en katalytisk mengde 5% Rh/ Al_2O_3 ble tilsatt. Blandingens ble hydrert ved 5 MPa, 50°C i 40 timer, filtrert og avdampet til 0,72 g (93%) av tittelforbindelsen.

35 $^1\text{H-NMR}$ (CDCl_3): δ 0,9-2,0 (m, 32H), derav 1,45 (bs, 9H), 4,55 (bd) og 4,9 (bd), to rotamerer integrerte i totalt 1H, 5,7-6,1 (bred, NH).

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

Fremstilt ifølge fremgangsmåten til B. Gopalan et al. i J.
5 Org. Chem., 51, 2405, (1986).

H-Mor-OH

Fremstilt ifølge fremgangsmåten til K. Nakajima et al. Bull.
10 Chem. Soc. Jpn., 51 (5), 1577-78, 1978 og ibid 60, 2963-2965,
1987.

H-Mor-OEt x HCl

15 Fremstilt på samme måte som H-Pic-OEt x HCl fra H-Mor-OH.

Boc-(R)Cha-OSu

Boc-(R)Cha-OH (1 ekv.), HOSu (1,1 ekv.) og DCC eller CME-CDI
20 (1,1 ekv.) ble løst opp i acetonitril (omtrent 2,5 ml/mmol
syre) og omrørt ved romtemperatur over natt. Presipitatet som
ble dannet i løpet av reaksjonen ble filtrert ut, opp-
løsningsmiddelet avdampet og produktet tørket i vakuum. (Når
CME-CDI ble anvendt i reaksjonen ble resten etter avdampning
25 av CH₃CN løst opp i EtOAc og den organiske fasen vasket med
vann og tørket. Avdampning av oppløsningsmiddelet ga
tittelforbindelsen).

¹H-NMR (500 MHz, CDCl₃, 2 rotamerer ca: 1:1 forhold) δ 0,85-
30 1,1 (m, 2H), 1,1-1,48 (m, 4H), 1,5-1,98 (m, 16H, derav 1,55
(bs, 9H)), 2,82 (bs, 4H), 4,72 (bs, 1H, hoved rotamer), 4,85
(bs, 1H, mindre).

Boc-(Me)(R)Cha-OSu

35

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

En oppløsning bestående av 11,9 g (42,6 mmol) Boc-(Me)(R)Phe-OH i 150 ml MeOH ble hydrogenert over 5% Rh/Al₂O₃ ved 0,28 MPa i 24 timer. Filtrering av katalysatoren og avdampning av oppløsningsmiddelet ga produktet som et hvitt fast stoff (95%
5 utbytte) som ble anvendt i det følgende trinnet uten ytterligere rensning.

¹H-NMR (500 MHz, CDCl₃, blanding av to rotamerer ca: 1/1). δ 0,8-1,1 (m, 2H), 1,1-1,9 (m, 20H derav 1,47 og 1,45 (s, 9H),
10 2,82 og 2,79 (s, total 3H), 4,88 og 4,67 (m, total 1H).

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

Fremstilt på samme måte som beskrevet for Boc-(R)Cha-OSu- fra
15 Boc-(Me)(R)Cha-OH.

Boc-(R)Cha-Pro-OSu

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

20 H-(S)Pro-OH (680 mmol) ble løst opp i 0,78M natriumhydroksid (750 ml). Boc-(R)Cha-OSu (170 mmol) løst opp i DMF (375 ml) og tilsatt dråpevis i løpet av 20 min. Reaksjonsblandingen ble omrørt ved romtemperatur i 20 timer. Blandingen ble
25 surgjort (2M KHSO₄) og ekstrahert tre ganger med etylacetat. De organiske lagene ble kombinert og vasket tre ganger med vann og en gang med saltvann. Etter tørking over natrium-sulfat og avdampning av oppløsningsmiddelet ble den sirupholdige oljen løst opp i dietyleter, oppløsningsmiddelet
30 avdampet og til slutt ble produktet tørket i vakuum for å tilveiebringe Boc-(R)Cha-Pro-OH som et hvitt pulver i et nesten kvantitativt utbytte.

¹H-NMR (500 MHz, CDCl₃, mindre rotamer 10%) δ 0,8-1,05 (m,
35 2H), 1,05-1,55 (m, 15H, derav 1,5 (bs, 9H)), 1,55-1,8 (m, 5H), 1,8-2,15 (m, 3H), 2,47 (m, 1H), 3,48 (m, 1H), 3,89 (m,

1H), 4,55 (m, 2H), 5,06 (m, 1H), mindre rotamer signaler 2,27 (m, 1H), 3,58 (m, 1H), 4,33 (m, 1H), 5,0 (m, 1H)

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

5

Fremstilt på samme måte som beskrevet for Boc-(R)Cha-OSu- fra Boc-(R)Cha-Pro-OH.

¹H-NMR (500 MHz, CDCl₃, 2 rotamerer, 5:1 forhold) δ 0,78-1,05 (m, 2H), 1,05-1,83 (m, 20H, derav 1,43 (bs, 9H)), 1,83-2,26 (m, 3H), 2,32 (m, 1H), 2,72-2,9 (m, 4H), 3,2 (m, 1H), mindre rotamer), 3,52 (m, 1H hoved), 3,68 (m, 1H, mindre rotamer=, 3,89 (m, 1H hoved), 4,31 (bq, 1H, mindre rotamer), 4,56 (bq, 1H, hoved), 4,71 (bt, 1H, hoved rotamer), 4,93 (bt, 1H, mindre), 5,22 (bd, 1H, hoved rotamer), 5,44 (bd, 1H, mindre).

15

Z-(R)Cha-Pro-OSu

Fremstilt på samme måte som Boc-(R)Cha-Pro-Psu fra Z-(R)Cha-OH.

20

Boc-(R)Cha-Pic-OSu

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

25

Boc-(R)Cha-OH, 6,3 g (0,023 mol) ble løst opp i 150 ml CH₂Cl₂. Oppløsningen ble avkjølt i et isbad og 6,3 g (0,047 mol) N-hydroksybenzotriazol og 11,2 g (0,0265 mol) CME-CDI ble tilsatt. Isbadet ble fjernet etter 15 min. og reaksjonsblandingene ble omrørt i 4 timer ved romtemperatur. Opp-løsningsmiddelet ble avdampet og resten løst opp i 150 ml DMF og avkjølt i et isbad. H-Pic-OEt₃HCl, 4,1 g (0,021 mol) ble tilsatt og pH justert til omtrent 9 ved tilsetning av N-metylmorfolin. Isbadet ble fjernet etter 15 min. og reaksjonsblandingene ble omrørt i 3 dager. Oppløsningsmiddelet ble avdampet og resten ble løst opp i etylacetat og vasket med fortennet KHSO₄ (aq), NaHCO₃ (aq) og vann. Det organiske

35

laget ble tørket (Na_2SO_4) og avdampet til 7,7 g (89%) Boc-(R)Cha-Pic-OEt som ble anvendt uten ytterligere rensning.

$^1\text{H-NMR}$ (500 MHz, CDCl_3 , 2 rotamerer, 3:1 forhold) δ 0,7-1,0 (m, 2H), 1,1-1,9 (m, 29H, derav 1,28 (t, 3H)), 1,45 (bs, 9H), 2,01 (bd, 1H, hoved rotamer), 2,31 (bd, 1H), 2,88 (bt, 1H, mindre), 3,30 (bt, 1H, hoved), 3,80 (bd, 1H, hoved), 4,15-4,3 (m, 2H), 4,5-4,7 (m, 2H, mindre), 4,77 (bq, 1H, hoved), 4,90 (bd, 1H, mindre), 5,28 (bd, 1H, hoved), 5,33 (bd, 1H, hoved).

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

Boc-(R)Cha-Pic-OEt, 5,6 g (0,014 mol) blandet med 100 ml THF, 100 ml vann og 7 g LiOH. Blandingen ble omrørt ved romtemperatur over natt. THF ble avdampet og den vandige oppløsningen ble surgjort med KHSO_4 (aq) og ekstrahert tre ganger med etylacetat. Den kombinerte organiske fasen ble vasket med vann, tørket (Na_2SO_4) og avdampet til 4,9 g (94%) Boc-(R)Cha-Pic-OH som ble anvendt uten ytterligere rensning. Forbindelsen kan bli krystallisert fra diisopropyl eter/heksan.

$^1\text{H-NMR}$ (500 MHz, CDCl_3 , 2 rotamerer, 2,5:1 forhold) δ 0,8-1,1 (m, 2H), 1,1-2,1 (m, 27H; derav 1,43 (s, 9H, hoved rotamer), 1,46 (s, 9H, mindre)), 2,33 (bd, 1H), 2,80 (bt, 1H, mindre), 3,33 (bt, 1H, hoved), 3,85 (bd, 2H, hoved), 4,57 (bd, 1H mindre), 4,68 (m, 1H, mindre), 4,77 (bq, 1H, hoved), 5,03 (bs, 1H, mindre), 5,33 (bd, 1H, hoved), 5,56 (m, 1H, hoved).

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

Boc-(R)Cha-Pic-OH (1 g, 2,6 mmol) ble løst opp i DMF (15 ml) ved romtemperatur og deretter avkjølt til -18°C , en temperatur som ble opprettholdt i løpet av tilsetning av reaktantene. Hydroskysuccinimid (0,60 g, 5,2 mmol) ble tilsatt og reaksjonsblandingen ble omrørt i noen minutter helt til krystallene var oppløst. Disykloheksylkarbodiimid (0,56 g, 2,7 mmol) oppløst i DMF (10 ml) og foravkjølt og ble tilsatt

dråpevis til reaksjonsblandingen. Etter noen få minutter ved -18°C ble reaksjonsblandingen plassert i et vannbad ved 20°C i 2 timer under omrøring. Oppløsningsmiddelet ble avdampet, etylacetat (40 ml) ble tilsatt og presipitert urea ble filtrert ut. Den organiske fasen ble vasket en gang med vann, to ganger med 0,3 MKHSO₄, to ganger med fortynnet NaHCO₃, en gang vann, en gang med saltvann og tørket (Na₂SO₄). Oppløsningsmiddelet ble avdampet og produktet tørket i vakuum for å tilveiebringe 1,16 g (93%) av produktet. Ifølge ¹H-NMR inneholdt produktet to diastereomerer (epimerer i Pic, S/R) i et forhold på 95/5.

¹H-NMR (300 MHz, CDCl₃, hoved diastereomer) δ 0,7-2,0 (m, 27H, derav 1,46 (bs, 9H)), 2,29 (bd, 1H), 2,85 (bs, 4H), 3,40 (m, 1H), 4,5-4,8 (m, 1H), 5,1-5,4 (m, 1H), 5,70 (bd, 1H, hoved).

Boc-(R)Cha-Mor-OSu

Fremstilt på samme måte som Boc-(R)Cha-Pic-OSu fra H-Mor-OEt x HCl med unntagelse av at CH₃CN ble anvendt som oppløsningsmiddel i stedet for DMF ved dannelsen av OSu-esteren.

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

Fremstilt på samme måte som Boc-(R)Cha-Pro-OSu fra Boc-(Me)-(R)Cha-OH.

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

Fremstilt på samme måte som Boc-(R)Cha-Pic-OSu fra Boc-(Me)(R)Cha-OH.

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

Fremstilt på samme måte som Boc-(R)Cha-Pro-OSu fra Boc-(R,S)Pro(3-Ph)-OH.

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

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

5

Til en oppslemning av 1,0 g Boc-(R,S)Pro(3-(trans)Ph)-OH (3,43 mmol, 1 ekv.). 1,04 g H-Pro-OBn x HCl (4,29 mmol, 1,25 ekv.), 0,04 g HOBt (0,24 mmol, 0,07 ekv.) i 15 ml DMF ble tilsatt 1,83 g CME-CDI (4,29 mmol, 1,25 ekv.) og 0,525 ml NMM (4,73 mmol, 1,38 ekv.) ved romtemperatur. Etter omrøring i ytterligere 4 dager ble oppløsningsmiddelet avdampet og resten tatt opp i 200 ml EtOAc. Den organiske fasen ble vasket med 2x40 ml H₂O, 2x25 ml 1M KHSO₄, 2x25 ml 1M NaOH, 2x25 ml H₂O og tørket (MgSO₄). Avdampning av oppløsningsmiddel og flammekromatografi (CH₂Cl₂/MeOH, 97/3) ga det rene produktet (44% utbytte) som en ca: 1:1 blanding av diastereomerer.

10

15

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

20

Benzylester fra det tidligere trinnet ble fjernet ved hydrogenering over 5% Pd/C i EtOH ved atmosfærisk trykk i 4 timer. Filtrering og avdampning ga det rene produktet som en ca: 1:1 blanding av diastereomerer i kvantitativt utbytte.

25

¹H-NMR (CDCl₃, 500 MHz, to diastereomerer hver bestående av to rotamerer: δ 1,3-2,4 (m + 4s fra Boc gruppene, total 14H), 2,5-2,9 (m, total 1H), 3,2-3,9 (m, total 5H), 4,3-4,65 (m, total 2H), 7,2-7,5 (m, 5H).

30

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

Fremstilt ifølge fremgangsmåten beskrevet for Boc-(R)Cha-OSu fra Boc-(R,S)Pro(3-(trans)Ph)-Pro-OH.

35

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

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

Boc-(R,S)Pro(3-(trans)Ph)-Pro-OH ble hydrogenert over 5% Rh/Al₂O₃ i metanol sammen med en liten mengde HOAc i 7 dager ved 0,34 MPa. Filtrering av katalysatoren, avdampning av oppløsningsmiddelet og flammekromatografu (CH₂Cl₂/MeOH, 94/6 ga det rene produktet som et hvitt fast stoff (blanding av to diastereomerer).

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

Fremstilt ifølge fremgangsmåten beskrevet for Boc-(R)Cha-OSu fra Boc-(R,S)Pro(3-(trans)Ch)-Pro-OH.

15 Boc-(R)Hoc-Pro-OH

(i) Boc-(R)Hoc-OH

Boc-(R)Hop-OH, 3,2 g (11,46 mmol) ble løst opp i metanol (75 ml). Rhodium på aktivert aluminiumoksid (Rh/Al₂O₃), 0,5 g ble tilsatt og blandingen omrørt i hydrogenatmosfære ved 0,41 MPa i 18 timer. Katalysatoren ble filtrert av gjennom celit og oppløsningsmiddelet avdampet og ga produktet i nesten kvantitativt utbytte.

¹H-NMR (500 MHz, CDCl₃): δ 0,90 (m, 2H), 1,08-1,33 (m, 6H), 1,43 (s, 9H), 1,60-1,74 (m, 6H), 1,88 (bs, 1H), 4,27 (bs, 1H).

30 (ii) Boc-(R)Hoc-OSu

Fremstilt på samme måte som beskrevet for Boc-(R)Cha-OSu fra Boc-(R)Hoc-OH.

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

Fremstilt på samme måte som beskrevet for Boc-(R)Cha-Pro-OH fra Boc-(R)Hoc-OSu.

¹H-NMR (500 MHz, CDCl₃): δ 0,80-0,94 (m, 2H), 1,05-1,36 (m, 7H), 1,36-1,48 (bs, 9H), 1,48-1,78 (m, 7H), 1,98-2,14 (m, 2H), 2,34 (m, 1H), 3,48 (m, 1H), 3,85 (m, 1H), 4,43 (m, 1H), 4,52 (bd, 1H), 5,26 (bd, 1H), signaler fra en mindre rotamer fremkom ved: δ 1,92, 2,25, 3,58, 4,20 og 4,93.

10 Boc-(R)Hoc-Pic-OH

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

15 Fremstilt på samme måte som beskrevet for Boc-(R)Cha-Pic-OEt fra Boc-(R)Hoc-OH og H-Pic-OMe x HCl-

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

20 Fremstilt på samme måte som beskrevet for Boc-(R)Cha-Pic-OH fra Boc-(R)Hoc-Pic-OMe.

¹H-NMR (500 MHz, CDCl₃): δ 0,82-0,97 (m, 2H), 1,10-1,36 (m, 7H), 1,36-1,50 (bs, 9H), 1,50-1,82 (m, 11H), 2,35 (bd, 1H), 3,28 (bt, 1H), 3,85 (bd, 1H), 4,63 (m, 1H), 5,33 (bs, 1H), 5,44 (bd, 1H), signaler fra en mindre rotamer fremkom ved: δ 1,88, 2,80, 4,25, 4,55 og 4,97.

Boc-(R)Cha-Aze-OH

30 Fremstilt på samme måte som beskrevet for Boc-(R)Cha-Pic-OH fra H-Aze-OEt x HCl.

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

35 Fremstilt på samme måte som beskrevet for Boc-(R)Cha-Pic-OH fra H-Pic(4-(S)Me)-OEt x HCl med unntagelse av at CH₂Cl₂ ble anvendt som oppløsningsmiddel.

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

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

5 Fremstilt på samme måte som beskrevet for Boc-(R)Cha-Pic-OEt fra H-(R)Pic(4-(R)Me)-OEt x HCl.

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

10 Fremstilt ved anvendelse av avspaltning (e) på produktet (i) ovenfor.

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

15 Fremstilt på samme måte som beskrevet for Boc-(R)Cha-Pic-OSu fra Boc-(R)Cha-(R)Pic(4-(R)Me)-OH.

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

20 Fremstilt ifølge fremgangsmåten beskrevet for Boc-(R)Cha-Pic-OH fra H-(R,S)Pic(4,5-dehydro)-OEt.

Boc-(R)Cgl-Pic-OH

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

Pivaloylklorid (1.000 ml, 8,1 mmol) ble tilsatt til en oppløsning bestående av Boc-(R)Cgl-OH (2,086 g, 8,1 mmol) og trietylamin (1,13 ml, 8,1 mmol) i toluen (25 ml) og DMF (5
30 ml). En blanding av H-Pic-OMe x HCl (1,46 g, 8,1 mmol) og trietylamin (1,13 ml, 8,1 mmol) i DMF (20 ml) ble deretter tilsatt ved isbad temperatur. Reaksjonsblandingen ble forsiktig oppvarmet til romtemperatur og etter 24 timer ble den fortynnet med vann og ekstrahert med toluen. Etter
35 vasking med 0,3 M KSHO₄, 10% Na₂CO₃ og saltvann ble oppløsningsmiddelet fjernet i vakuum for å tilveiebringe 2,52 g

(81%) av en farveløa olje som ble anvendt uten ytterligere rensning.

5 $^1\text{H-NMR}$ (500 MHz, CDCl_3 , 2 rotamerer, 5:1 forhold) δ 0,8-1,8 (m, 25H), 2,25 (d, 1H), 2,75 (t, 1H, mindre rotamer), 3,3 (t, 1H), 3,7 (s, 3H), 3,85 (s, 1H), 4,3 (t, 1H, mindre rotamer), 4,5-4,6 (m, 1H), 5,25 (s, 1H), 5,30 (d, 1H).

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

Fremstilt ifølge fremgangsmåten for hydrolyse av Boc-(R)Cha-Pic-OEt ved anvendelse av produktet fra (i) ovenfor. Produktet ble krystallisert fra diisopropyleter og heksan.

15 $^1\text{H-NMR}$ (500 MHz, CDCl_3 , 2 rotamerer, 5:1 forhold) δ 0,8-1,8 (m, 25H), 2,3 (d, 1H), 2,8 (t, 1H, mindre rotamer), 3,3 (t, 1H), 3,9 (d, 1H), 4,4 (t, 1H, mindre), 4,5-4,6 (m, 1H), 5,1 (s, 1H, mindre rotamer), 5,3 (d, 1H), 5,40 (d, 1H).

20 Boc-(R)Dph-Pic-OH

Fremstilt på samme måte som beskrevet for Boc-(R)Cha-Pic-OH fra Boc-(R)Dph-OH.

25 Boc-(R)Dch-Pic-OH

Fremstilt på samme måte som beskrevet for Boc-(R)Cha-Pic-OH fra Boc-(R)Dch-OH.

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

Fremstilt på samme måte som beskrevet for Boc-(R)Cha-Pic-OH fra H-Pro(5-(S)Me)-OMe.

35 Boc-Nag(Z)

(i) N-benzyloksykarbonyl-O-metyl isourea

Til en omrørt oppløsning av konsentrert vandig NaOH (2,8 l 50% vekt/vekt, 19,1 M, 53 mol) og vann (32 l) ved 18°C ble tilsatt i to porsjoner O-metylisourea hemisulfat (1,7 kg, 94%, 13,0 mol) og O-metylisourea hydrogensulfat (1,57 kg, 99%, 9,0 mol). Reaksjonsblandingen ble avkjølt til 3-5°C. Benzylklorformiat (3,88 kg, 92%, 20,9 mol) ble tilsatt over en periode på 20 minutter under avkjøling og omfattende omrøring. Reaksjonstemperaturen gikk fra 3-8°C i løpet av tilsetningen av Z-Cl. Trakten for tilsetning ble skylt med 5 liter vann som ble tilsatt til reaktoren. Reaksjonsblandingen ble omrørt ved 0-3°C i 18 timer, filtrert og krystallene ble vasket med avkjølt (3°C) vann (10 l). Vakuumsørling (25°C, 10-20 mbar) i 48 timer ga 3,87 kg (89%) av tittelforbindelsen som et hvitt krystallinsk pulver.

(ii) Noc-Nag(Z)

Til en omrørt oppløsning av Boc-NH-(CH₂)₃-NH₂ x HCl (fremstilt ifølge Mattingly P.G., Synthesis, 367 (1990)) (3,9 kg, 18,5 mol) i iso-propanol (24 kg) ved 60-70°C ble det tilsatt i porsjoner over en 30 minutters periode K₂CO₃ (4,2 kg, 42 mol). En sakte utvikling av CO₂ (g) oppstår. Blandingen ble omrørt i ytterligere 30 minutter etterfulgt av tilsetning i porsjoner over en 30 minutters periode N-benzyloksykarbonyl-O-metylisourea (3,74 kg, 18,0 mol). Reaksjonsblandingen ble omrørt ved 65-70°C i 16 timer, avkjølt til 20°C og filtrert. Presipitatet ble vasket med isopropanol (10 + 5 l). Kombinerte filtrater ble konsentrert ved redusert trykk ved å holde varmekappen på en temperatur som ikke er varmere enn 65-70°C. Når omtrent 45 liter ble destillert ut ble EtOAc (90 l) tilsatt. Reaksjonsblandingen ble avkjølt til 20-25°C, vasket med vann (10 og 5 l) og saltvann (5 l) og tørket med Na₂SO₄ (2 kg). Etter omrøring ble reaksjonsblandingen filtrert og filterkaken ble vasket med EtOAc (11 og 7 l). De kombinerte filtratene ble konsentrert ved redusert trykk ved å holde varmekappen på ikke mer enn 40-50°C. Når omtrent 90

liter EtOAc var destillert av ble toluen (25 l) tilsatt og avdampningen fortsatt. Etter oppsamling av ytterligere 18 liter destillat ble toluen (20 l) tilsatt under omfattende omrøring og den resulterende blandingen ble avkjølt til -1
5 til 0°C og forsiktig omrørt over natt (17 timer). Krystall-
oppslemningen ble filtrert og produktet ble vasket med avkjølt toluen (10 og 5 l).

Vakuamtørking (10-20 mbar, 40°C) i 24 timer ga 4,83 kg (13,8 mol, 76%) Boc-Nag(Z).

10

$^1\text{H-NMR}$ (300 MHz, CDCl_3): δ 1,41 (s, 9H), 1,6-1,7 (m, 2H), 3,0-3,3 (m, 4H), 4,8-5,0 (bs, 1H), 5,10 (s, 2H), 7,2-7,4 (m, 5H).

15 Boc-Agm(Z)

(i) Boc-Agm

Til en oppslemming av 14,95 g (65,5 mmol, 1ekv.) agmatin-
20 sulfat (Aldrich), 13,7 ml Et_3N (98,25 mmol, 1,5 ekv.), 165 ml H_2O og 165 ml THF ble det tilsatt 21,5 g (98,25 mmol, 1,5 ekv.) $(\text{Boc})_2\text{O}$ i løpet av 5 minutter ved romtemperatur. Blandingen ble omfattende omrørt over natt, avdampet til tørrhet og resten ble vasket med 2x100 ml Et_2O for å
25 tilveiebringe Boc-Agm som et hvitt pulver som ble anvendt uten ytterligere rensning i det nesete trinnet.

(ii) Boc-Agm(Z)

30 Til en kald (+5°C) oppslemming av urensset Boc-Agm fra det foregående trinnet (ca: 65,5 mmol) i 180 ml 4N NaOH og 165 ml THF ble det tilsatt 24 ml (169 mmol, 2,5 ekv.= benzylklorformat i løpet av 10 minutter. Etter omrøring ved romtemperatur i 4 timer ble metanol (150 ml) tilsatt og
35 omrøringen ble fortsatt i ytterligere 20 timer ved romtemperatur. Det organiske oppløsningsmiddelet ble avdampet og 200 ml H_2O ble tilsatt til resten. Den basiske vannfasen ble

ekstrahert med 1x300 ml og 2x200 ml EtOAc. Kombinerte organiske faser ble vasket med H₂O (2x100 ml), saltvann (1x100 ml) og tørket (MgSO₄). Avdampning av oppløsningsmiddelet og flammekromatografi (CH₂Cl₂/MeOH, en trinnvis gradient på 97/3, 95/5 og 9/1 ble anvendt) ga 14,63 g (58%) ren Boc-Agm(Z) som et hvitt pulver.

¹H-NMR (CDCl₃, 500 MHz): δ 1,35-1,40 (m, 2H), 1,45 (s, 9H), 1,5-1,6 (m, 2H), 3,0-3,2 (m, 4H), 4,65 (bs, 1H), 5,1 (s, 2H), 7,25-7,40 (m, 5H).

¹³C-NMR (CDCl₃, 75,5 MHz): δ 25,44, 27,36, 28,21, 65,83, 79,15, 127,47, 127,66, 128,14, 137,29, 156,47, 161,48, 163,30.

Boc-NH-(CH₂)₃-N₃

Fremstilt ifølge metoden beskrevet av Mattingly P. G., i Synthesis 1990, 367.

Z-NH-(CH₂)₂-NH₂

Til en kald oppløsning av 6 g etylendiamin (0,1 mol) og 22 ml trietylamin i 20 ml kloroform ble det tilsatt 2,5 g Z-OSu oppløst i 5 ml kloroform. Blandingen ble omsatt ved romtemperatur og latt stå over natt under omrøring. Filtrering, avdampning av oppløsningsmiddelet og flammekromatografi (CH₂Cl₂/MeOH(NH₃-mettet), 95/5) ga 0,9 g (46%) av tittel-forbindelsen.

¹H-NMR (300 MHz, CDCl₃): δ 1,27 (s, 2H), 2,85 (t, 2H), 3,24 (q, 2H), 5,14 (s, 2H), 7,22-7,40 (m, 5H).

Agm x HCl

Fremstilt fra Agm x H₂SO₄ (Aldrich) ved utveksling av hydrogensulfationet med klorid på en ionebytte kolonne.

N-Nag(Z) x 2 HCl

5 Fremstilt ved bobling av HCl (e) inn i en oppløsning av Boc-Nag(Z) i EtOAc etterfulgt av avdampning av oppløsningsmiddelet.

BnOOC-CH₂-NH-CO-CH₂-Br

10 Til en oppløsning av pTsOH x H-Gly-OBn (5 mmol) og trietylamin (5 mmol) i 10 ml CH₂Cl₂ ble det tilsatt 2-bromeddiksyre (5 mmol) oppløst i 10 ml CH₂Cl₂ og disykloheksylkarbodiimid (5 mmol). Blandingen ble omrørt ved romtemperatur over natt og filtrert. Den organiske fasen ble vasket to ganger med 0,2
15 M KHSO₄, 0,2 M NaOH, saltvann og tørket. Avdampning og flammekromatografi (CH₂Cl₂/MeOH, 95/5) ga et kvantitativt utbytte av den ønskede forbindelsen.

1H-NMR (300 MHz, CDCl₃): δ = 3,89 (s, 2H), 4,05-4,11 (s, 2H),
20 5,19 (s, 2H), 7,06 (bs, 1H), 7,3-7,4 (m, 5H).

BnOOC-CH₂-OCO-CH₂-Br

En blanding av 2,8 g (0,020 mmol) bromeddiksyre, 4,2 g (0,020
25 mmol) benzylbromacetat og 2,0 g (0,020 mmol) trietylamin u 25 ml EtOAc ble tilbakestrømmet i 3 timer. Det ble fortynnet med ytterligere EtOAc og avkjølt. Oppløsningen ble vasket med fortynnet HCl og deretter med NaHCO₃(aq) og til slutt med vann. Tørking (Na₂SO₄) og avdampning etterfulgt av flamme-
30 kromatografi (heptan/etylacetat, 75/25) ga tittelforbindelsen i 26% utbytte.

1H-NMR (500 MHz, CDCl₃): δ 3,95 (s, 2H), 4,75 (s, 2H), 5,23
(s, 2H), 7,35-7,45 (m, 5H).

35

BnO-(CH₂)₃-OTf

Propandiolmonobenzyleter (0,83 g, 5 mmol) ble løst opp i tørr pyridin (0,6 g, 7 mmol) og diklormetan (20 ml) og avkjølt til -15°C . Triflic anhydrid, foravkjølt til -15°C ble tilsatt og reaksjonsblandingen omrørt i 45 minutter hvorpå temperaturen ble økt til 15°C . Oppløsningsmiddelet ble avdampet og produktet løst opp i heksan/etylacetat 4:1 (10 ml) og filtrert gjennom silika. Til slutt ble oppløsningsmiddelet avdampet og produktet tørket i vakuum for å tilveiebringe 0,95 g (64%) 1-benzyloksi 3-trifluormetansulfonylpropan som ble anvendt direkte (se eksempel 21).

$^1\text{H-NMR}$ (500 MHz, CDCl_3): δ 2,12 (m, 2H), 3,6 (t, 2H), 4,51 (s, 2H), 4,72 (t, 2H), 7,22-7,42 (m, 5H).

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

Fremstilt ifølge Swern oksidasjon (beskrevet av D. Swern et al., J. Org. Chem., 1978, 2480-82) $\text{BnO}-(\text{CH}_2)_3-\text{OH}$.

$^1\text{H-NMR}$ (300 MHz, CDCl_3): δ 2,63 (dt, 2H), 3,80 (t, 2H), 4,51 (s, 2H), 7,30 (m, 5H), 9,76 (bt, 1H).

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

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

O-benzylserin (3,9 g, 19 mmol) i vann (10 ml) ble tilsatt til en oppløsning av natriumbromid (11 g, 107 mmol) i vann (20 ml) og svovelsyre (2 g, 20 mmol). Reaksjonsblandingen ble avkjølt til -10°C og NaNO_2 (1,73 g, 25 mmol) ble tilsatt under omfattende omrøring. En ytterligere porsjon vann ble tilsatt til den tykke blandingen som etter noen få minutter ble etterfulgt av H_2SO_4 (1 g, 10 mmol). Blandingen ble omrørt ved romtemperatur over natt hvor på den ble ekstrahert to ganger med EtOAc (100 ml). Den kombinerte organiske fasen ble vasket to ganger med vann og en gang med saltvann og tørket (Na_2SO_4). Avdampning av oppløsningsmiddelet ga 3,7 g

(75%) av tittelforbindelsen som en gul olje som var ren nok til å bli anvendt direkte i det neste trinnet.

(ii) Br-(S)CH(CH₂OBn)-COOBn

5

Til en oppløsning av råproduktet fra (i) ovenfor (2,6 g, 10 mmol) i tørr benzen (25 ml) ble det tilsatt oksalyklorid (2,6 g, 20,5 mmol) og molekylære sikter (4 Å, 1 g). Blandingen ble omrørt ved romtemperatur under en argonatmosfære i 10 18 timer. Molekylære sikter ble fjernet ved filtrering og oppløsningsmiddelet avdampet. Resten som var svak gul ble løst opp i CH₃CN (10 ml) og benzyalkohol (1 g, 9,2 mmol) ble tilsatt. Blandingen ble omrørt ved romtemperatur i 5 timer. Oppløsningsmiddelet ble avdampet og resten løst opp Et₂O og 15 vasket en gang med 1 M NaOH, vann, saltvann og tørket (Na₂SO₄). Avdampning av oppløsningsmiddelet etterfulgt av flammekromatografu (CH₂Cl₂/MeOH, 95/5) ga 1,8 g (67 %) av den ønskede forbindelsen.

20 ¹H-NMR (500 MHz, CDCl₃): δ 3,82 (dd, 1H), 3,99 (ss, 1H), 4,38 (dd, 1H), 4,56 (s, 2H), 5,23 (s, 2H), 7,23-7,46 (m, 5H).

25

30

35

ArbeidseksemplerEksempel 15 **H-(R)Cha-Pro-Agm x 2 HOAc**

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

10 Boc-(R)Cha-Pro-OSu (1,7 mmol) og agmatin dihydroklorid (2,0 mmol, 1,18 ekv.) ble løst opp i DMF/H₂O 95:5 (35 ml). Trietylamin ble tilsatt for å justere pH til omtrent 10 og oppløsningen ble omrørt ved romtemperatur i 2 dager. Oppløsningen ble avdampet (5 mm Hg/60°C) helt til tørrhet og råproduktet ble rensert ved RPLC (CH₃CN/NH₄OAc (0,1 M),
15 38:62). Den ønskede forbindelsen ble oppnådd som et hvitt pulver etter frysetørking.

¹H-NMR (500 MHz, CDCl₃/DMSO-d₆ 5:2, to rotamerer, 9:1 δ (hoved rotamer): 0,75-0,90 (m, 2H), 1,1-2,05 (m, 19H), 1,35
20 (s, 9H) 2,98-3,14 (m, 4H), 3,37 (q, 1H), 3,76 (m, 1H), 4,20 (m, 1H), 4,33 (dd, 1H), 6,30 (d, 1H), 7,05-7,80 (bred m, 5H), 8,67 (bred d, 1H).

Utvekslings brede signaler av mindre rotamer blir observert
25 ved δ 3,44 (m, 1H), 3,62 (m, 1H), 4,10 (m, 1H), 4,64 (m, 1H), 5,56 (d, 1H), 9,08 (m, 1H).

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

30 En oppløsning av Boc-(R)Cha-Pro-Agm (0,2 mmol) i TFA (2 ml) ble omrørt ved romtemperatur i 4,5 timer. Oppløsningsmiddelet ble avdampet og den gjenværende oljen ble utsatt for RPLC (CH₃CN/NH₄OAc (0,1 M), 25:75). Diacetatsaltet ble oppnådd som et hvitt pulver etter gjentatt frysetørking.

35 ¹H-NMR (500,13 MHz, D₂O): δ 0,80-0,95 (m, 2H), 1,00-1,21 (m, 3H), 1,32 (m, 1H), 1,40-1,78 (m, 12H), 1,83-2,00 (m, 2H),

1,90 (s, acetat=, 2,20 (m, 1H), 3,06-3,14 (m, 4H), 3,50 (m, 1H), 3,67 (m, 1H), 4,20-4,30 (m, 2H).

¹³C NMR (75,6 MHz, D₂O): guanidin: δ 157,4, karbonylkarboner: δ 169,9, 174,5.

Eksempel 2

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

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

Til en oppløsning av 479,6 mg (1 mmol, 1 ekv.) Boc-(Me)(R)-Cha-Pro-OSu og 500 ml NMM i 16 ml DMF/H₂O (15/1) ble det tilsatt 166,5 mg (1,2 mmol, 1,2 ekv.) Agm x HCl ved romtemperatur. Reaksjonen ble omrørt i ytterligere 70 timer og oppløsningsmiddelet ble avdampet for å tilveiebringe et råprodukt som en olje. Dette ble anvendt uten rensing i det neste trinnet.

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

Den urensede oljen fra det foregående trinnet ble løst opp i 10 ml TFA/CH₂Cl₂ (1:4) ved romtemperatur. Etter omrøring i 2 timer og 25 minutter ble oppløsningsmiddelet avdampet og råproduktet ble rensert med RPLC (CH₃CN/NH₄OAc(0,1M), 35/65) for å tilveiebringe det ønskede produktet som et hvitt pulver etter frysetørrking.

¹H-NMR (500 MHz, D₂O): δ 0,93-1,05 (m, 2H), 1,10-1,29 (m, 3H), 1,33-1,43 (m, 1H), 1,50-1,80 (m, 12H), 1,88-2,10 (m, 2H), 1,92 (s, acetat), 2,27-2,36 (m, 1H), 2,68 (s, 3H), 3,15-3,23 (m, 3H), 3,24-3,31 (m, 1H), 3,57-3,66 (m, 1H), 3,76-3,83 (m, 1H), 4,28 (t, 1H), 4,39 (dd, 1H).

¹³C-NMR (125,76 MHz, D₂O): guanidin: δ 157,24; karbonylkarboner: δ 174,03, 168,24.

Eksempel 3**HO-(CH₂)₃-(R)-Cha-Pro-Agm x 2 HCl**

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

Boc-Agm(Z) (1 ekv.) ble løst opp i TFA/CH₂Cl₂ (1:4, ca: 6 ml/mmol) og omrørt ved romtemperatur i ca 2 timer. Opp-
løsningsmiddelet ble avdampet og produktet løst opp sammen
10 med Boc-(R)Cha-Pro-OSu (1 ekv.) i DMF (ca: 1 ml/mmol), pH
justert med NMM til ca 9 og blandingen ble omrørt ved
romtemperatur i 20 timer. Oppløsningsmiddelet ble avdampet i
vakuum, råproduktet løst opp i CH₂Cl₂ og vasket tre ganger
15 med vann og en gang med saltvann. Etter tørking (natrium-
sulfat) ble oppløsningsmiddelet avdampet og produktet
flammekromatografert (CH₂Cl₂/MeOH) ifølge Boc-(R)Cha-Pro-
Agm(Z) som et hvitt pulver.

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

20 Boc-(R)Cha-Pro-Agm(Z) ble løst opp i TFA/CH₂Cl₂ (1:4, ca 6
ml/mmol) og omrørt ved romtemperatur i 2 timer. Oppløsnings-
middelet ble avdampet, produktet løst opp i 0,2M NaOH (20
ml/mmol) og ekstrahert to ganger med diklormetan. De
25 organiske lagene ble kombinert og vasket med saltvann,
tørket (natriumsulfat) og oppløsningsmiddelet avdampet for å
tilveiebringe H-(R)Cha-Pro-Agm(Z) som et hvitt pulver.

(iii) BnO-(CH₂)₃-(R)Cha-Pro-Agm(Z)

30 H-(R)Cha-Pro-Agm(Z) (1 mmol) ble løst opp i metanol (10 ml).
Trimetylammoniumhydroklorid (1 mmol), natriumcyanoborhydrid
(0,7 mmol) og deretter BnO-(CH₂)₂-CHO (1,05 mmol) ble tilsatt
og reaksjonsblandingen omrørt ved romtemperatur over natt.
35 Oppløsningsmiddel ble avdampet og råproduktet løst opp i
etylacetat, vasket to ganger med vann, en gang med saltvann
og tørket over natriumsulfat. Oppløsningsmiddelet ble

avdampet og råproduktet ble renset ved flammekromatografi (EtOAc/MeOH).

(iv) HO-(CH₂)₃-(R)Cha-Pro-Agm x 2 HCl

5

Fremstilt ved anvendelse av avspaltningsprosedyren (d) på produktet (iii) ovenfor.

10

¹H-NMR (500 MHz, D₂O): δ 0,72 (m, mindre rotamer), 0,84 (m, mindre rotamer), 0,87-1,03 (m, 2H), 1,03-1-26 (m, 2H), 1,28-1,40 (bs, 1H), 1,44-1,80 (m, 11H), 1,80-1,95 (bs, 3H), 1,95-2,10 (bs, 2H), 2,28 (m, 1H), 3,04 (m, 1H), 3,08-3,27 (m, 5H), 3,58 (bs, 1H), 3,67 (bs, 2H), 3,78 (m, 1H), 4,12 (bd, mindre rotamer), 4,30 (m, 1H), 4,37 (m, 1H).

15

¹³C-NMR (125 MHz, D₂O): guanidin: δ 157,26, karbonylkarboner: δ 174,06; 168,36.

Eksempel 4

20

HOOC-CH₂-(R)Cha-Pro-Agm x HOAc

Generell prosedyre for alkylering av N-terminalen.

25

Denne prosedyren er beskrevet i mere generelle termer og vil bli referert til i eksemplene nedenfor sammen med alkyleringsmiddelet anvendt i hvert spesifikke eksempel.

30

Peptidet som skulle bli alkylert (1 ekv.) og alkyleringsmiddelet (1,1-1,2 ekv.) ble løst opp i acetonitril (ca 10 ml/mmol). Kaliumkarbonat (2,0-2,2 ekv.) ble tilsatt og reaksjonsblandingen omrørt ved 50-60°C helt til utgangsmaterialet var konsumert (TLC, vanligvis 1-5 t.). Filtrering, avdampning av oppløsningsmiddelet og flammekromatografi (CH₂Cl₂/MeOH, CH₂Cl₂/MeOH(NH₃-mettet) eller EtOAc/MeOH, ca 9/1) ga det alkylerte produktet etter avdampning av oppløsningsmiddelet.

35

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

Fremstilt fra $\text{H-(R)Cha-Pro-Agm(Z)}$ (se eksempel 3) og $\text{Br-CH}_2\text{COOBn}$ ifølge fremgangsmåten beskrevet ovenfor.

5

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

Fremstilt ved anvendelse av avspaltningsprosedyre (b) på produktet (i) ovenfor.

10

$^1\text{H-NMR}$ (300 MHz, MeOD): δ 0,9-1,1 (m, 2H), 1,1-2,3 (m, 19H), 1,95 (s, acetat), 3,1-3,2 (m, 4H), 3,2-3,65 (m, 3H), 3,85 (m, 1H), 4,0 (bt, 1H), 4,35 (dd, 1H).

15

$^{13}\text{C-NMR}$ (75 MHz, D_2O): guanidin: δ 157,55, karbonylkarboner: δ 168,71, 171,37 og 174,3.

Eksempel 5

20

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

Alkylering som i eksempel 4 ved anvendelse av $\text{H-(R)Cha-Pro-Agm(Z)}$ (se eksempel 3) og $\text{Br-CH}_2\text{COO}^i\text{Pr}$ etterfulgt av avspaltningsprosedyren (b) ga tittelforbindelsen-

25

$^1\text{H-NMR}$ (500 MHz, MeOD), δ 0,85-1,05 (m, 2H), 1,1-1,35 (m, 9H), derav 1,23 (d, 3H), 1,25 (d, 3H), 1,35-2,02 (m, 14H), 1,92 (s, acetat), 2,08 (m, 1H), 2,2 (m, 1H), 3,07-3,45 (m, 6H), 3,55 (m, 1H), 3,7-3,8 (m, 2H), 4,3 (dd, 1H), 5,05 (m, 1H).

30

$^{13}\text{C-NMR}$ (125 MHz, D_2O): guanidin: δ 157,39, karbonylkarboner: δ 171,10, 172,76 og 174,44.

35

Eksempel 6**HOOC-CH₂-(Me)(R)Cha-Pro-Agm x 2 TFA**

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

Fremstilt fra Boc-(Me)(R)Cha-Pro-OSu på samme måte som beskrevet for H-(R)Cha-Pro-Agm(Z) i eksempel 3.

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

Alkylering som i eksempel 4 ved anvendelse av Me-(R)Cha-Pro-Agm(Z) og Br-CH₂COOBn etterfulgt av avspaltningsprosedyre (b) ga tittelforbindelsen.

15

¹H-NMR (300 MHz, D₂O): δ 0,9-1,35 (m, 6H), 1,5-2,2 (m, 14H), 2,25-2,45 (m, 1H), 3,12 (s, 3H), 3,15-3,35 (m, 4H), 3,6-3,75 (m, 1H), 3,8-3,95 (m, 1H), 4,22 (apparent bs, 2H), 4,45 (m, 1H), 4,6 (bt, 1H).

20

¹³C-NMR (75,47 MHz, D₂O): guanidin: δ 157,52, karbonylkarboner: δ 173,86, 168,79, 167,38.

Eksempel 7

25

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

Alkylering som i eksempel 4 ved anvendelse av H-(R)Cha-Pro-Agm(Z) (se eksempel 3) og Br-CH(Me)COOBn etterfulgt av avspaltningsprosedyre (a) ga tittelforbindelsen som en blanding av to diastereomerer.

30

35

Eksempel 8**HOOC-(RellerS)CH(Me)-(R)Cha-Pro-Agm/a x HOAc**

5 Oppnådd ved separering av diastereomerer dannet i eksempel 7 ved anvendelse av (CH₃CN/NH₄OAc (0,1M), 1/4). Denne diastereomeren kom først av de to ut av kolonnen.

¹H-NMR (500 MHz, D₂O, 2 rotamerer ca: 5:1 forhold): δ 0,74
10 (m, mindre rotamer), 1,01 (m, 2H), 1,10-1,33 (m, 3H), 1,48-1,88 (m, 15H), derav 1,51 (d, 3H), 1,92-2,12 (m, 3H), 1,96 (s, acetat), 2,30 (m, 1H), 3,20 (m, 3H), 3,38 (m, 1H), 3,47 (q, mindre rotamer), 3,53-3,68 (m, 2H), 3,73 (m, 1H), 4,20 (d, mindre rotamer), 4,33 (m, 1H), 4,38 (m, 1H), 4,51 (d,
15 mindre rotamer).

¹³C-NMR (125 MHz, D₂O): guanidin: δ 157,38, karbonylkarboner: δ 174,11, 173,45, 168, 64.

20 Eksempel 9

HOOC-(RellerS)CH(Me)-(R)Cha-Pro-Agm/b x HOAc

Diastereomeren som kom ut etter den første fra kolonnen ved
25 separeringen i eksempel 8 er tittelforbindelsen ovenfor.

¹H-NMR (500 MHz, D₂O, 2 rotamerer ca 9:1 forhold): δ 0,88 (m, mindre rotamer), 1,05 (m, 2H), 1,12-1,33 (m, 3H), 1,42 (bs, 1H), 1,50-1,88 (m, 15H), derav 1,55 (d, 3H), 1,93-2,13 (m, 3H),
30 1,95 (s, acetat), 2,30 (m, 1H), 2,40 (m, mindre rotamer), 3,22 (t, 2H), 3,28 (t, 2H), 3,64 (m, 1H), 3,70 (q, 1H), 3,98 (t, mindre rotamer), 4,35 (t, 1H), 4,41 (dd, 1H).

Eksempel 10**HOOC-(RellerS)CH(ⁿPr)-(R)Cha-Pro-Agm/a x HOAc**

5 Alkylering som i eksempel 4 ved anvendelse av H-(R)Cha-Pro-Agm(Z) (se eksempel 3) og Br-CH(ⁿPr)COOEt og avspaltningsprosedyre (e) etterfulgt av avspaltningsprosedyre (b) ga
10 HOOC-(R,S)CH(ⁿPr)-(R)Cha-Pro-Agm. Tittelforbindelsen ble oppnådd ved separering av diastereomerene ved RPLC (CH₃CN/-NH₄OAc (0,1 M), 1/4) og frysetørking (H₂O) etter avdampning av oppløsningsmiddelet. Denne diastereomeren kom først ut av de to fra kolonnen.

¹H-NMR (300 MHz, MeOD): δ 0,8-1,1 (m, 5H, derav 0,92 (t, 3H)), 1,1-2,1 (m, 22H) 1,95 (s, acetat), 2,2 (m, 1H), 3,1-3,35 (m, 5H), 3,48 (m, 1H), 3,88 (m, 1H), 4,0 (m, 1H), 4,4 (dd, 1H).

¹³C-NMR (75 MHz, D₂O): guanidin: δ 157,50, karbonylkarboner: δ 168,55 og 174,16.

Eksempel 11**HOOC-(RellerS)CH(ⁿPr)-(R)Cha-Pro-Agm/b x HOAc**

25 Den andre diastereomeren fra separeringen i eksempel 10 som kom ut etter den første fra kolonnen er tittelforbindelsen angitt ovenfor.

30 ¹H-NMR (500 MHz, MeOD): δ 0,85-1,05 (m, 5H, derav 0,95 (t, 3H)) 1,1-2,08 (m, 22H) 1,9 (s, acetat), 2,14 (m, 1H), 3,1-3,4 (m, 5H), 3,45 (m, 1H), 3,62 (m, 1H), 3,80 (m, 1H), 4,34 (dd, 1H).

35 ¹³C-NMR (75 MHz, D₂O): guanidin: δ 157,53, karboksykarboner: δ 169,01 og 174,27.

Eksempel 12**HOOC-(RellerS)CH(Ph)-(R)Cha-Pro-Agm/b x HOAc**

5 (i) ^tBuOOC-(RellerS)CH(Ph)-(R)Cha-Pro-Agm(Z)

En blanding av H-(R)Cha-Pro-Agm(Z) (se eksempel 3) (0,55 mmol), tert.butyl-(R,S)fenylbromacetat (0,66 mmol), K₂CO₃ (1,4 mmol) i CH₃CN (10 ml) ble omrørt ved romtemperatur i 28
10 timer og ytterligere 5 timer ved 60°C. Diastereomerblandingen (ca: 3:1, ifølge NMR) ble filtrert og avdampet. Den gjenværende oljen ble to ganger utsatt for flammekromatografi (CH₂Cl₂/MeOH, 92/8), som resulterte i en fullstendig separasjon av de to diastereomerene (R_f=0,36 (mindre isomer) og 0,27 (hoved isomer)).
15

¹H-NMR hoved isomer (500.13 MHz, CDCl₃): δ 0,79 (quart, 1H), 0,90 (quart, 1H), 1,06-1,70 (m, H), 1,37 (s, 9H), 1,85-2,03 (m, 3H), 2,20 (m, 1H), 3,10-3,24 (m, 3H), 3,25-3,38, (m, 2H),
20 3,42 (m, 1H), 3,53 (m, 1H), 4,30 (s, 1H), 4,49 (dd, 1H), 5,08 (s, 2H), 7,19-7,40 (m, 10H), brede NH signaler er observert i regionen 6,7-8,6.

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

25 Hoved isomeren (50 mmol) og tioanisol (0,5 mmol) oppløst i TFA ble oppbevart ved romtemperatur i 8 timer. Etter avdampning (0,1 mm Hg) i 5 timer ble den gjenværende oljen rensert på RPLC (CH₃CN/NH₄OAc (0,1 M), 2:3) for tilveiebringe
30 tittelforbindelsen etter avdampning av oppløsningsmiddelet og frysetørking.

¹H-NMR (500,13 MHz, MeOD): δ 0,84-1,01 (m, 2H), 1,13-1,38 (m, 4H), 1,53-2,05 (m, 14H), 1,92 (s, acetat) 2,18 (m, 1H), 3,08-
35 3,26 (m, 3H), 3,32-3,45 (m, 2H), 3,64 (m, 1H), 3,93 (t, 1H), 4,37 (dd, 1H), 4,43 (s, 1H), 7,28-7,50 (m, 5H).

^{13}C NMR (125,6 MHz, MeOD): guanidin: δ 158,7, karbonylkarboner: 173,8, 174,7, 177,0.

Eksempel 13

5

HOOC-(R,S)CH(CH₂CH₂Ph)-(R)Cha-Pro-Agm x HOAc

Alkylering som i eksempel 4 anvendelse av H-(R)Cha-Pro-Agm(Z) (se eksempel 3) og Br-CH(CH₂-CH₂-Ph)COOEt og avspaltningsprosedyre (a) etterfulgt av avspaltningsprosedyre (e) ga
10 HOOC-(R,S)CH(CH₂-CH₂-Ph)-(R)Cha-Pro-Agm.

Eksempel 14

15

HOOC-(RellerS)CH(CH₂CH₂Ph)-(R)Cha-Pro-Agm/a x 2 TFA

Tittelforbindelsen ble oppnådd ved separering av diastereomerene oppnådd i eksempel 13 ved RPLC (CH₃CN/NH₃OAc (0,1 M), 2/3) og frysetørking (H₂O/TFA) etter avdampning av oppløsningsmiddelet. Denne diastereomeren kom ut først av de to
20 fra kolonnen og er tittelforbindelsen ovenfor.

^1H -NMR (500 MHz, MeOD): δ 0,93-1,11 (m, 2H), 1,24 (m, 1H), 1,29-1,40 (m, 2H), 1,52-1,85 (m, 11H), 1,89-2,11 (m, 4H),
25 2,14-2,32 (m, 3H), 2,83 (t, 2H), 3,14 (t, 2H), 3,24 (t, 2H), 3,50 (q, 1H), 3,70 (m, 1H), 4,00 (t, 1H), 4,36-4,42 (m, 2H), 7,17-7,31 (m, 5H).

^{13}C -NMR (125 MHz, MeOD): guanidin: δ 158,66, karbonylkarboner, δ 168,08, 171,53, 174,16.
30

Eksempel 15

HOOC-CH₂-CH₂-(R)Cha-Pro-Agm x HOAc

35

(i) BnOOC-CH₂-CH₂-(R)Cha-Pro-Agm(Z)

Benzylakrylat (1.1 ekv.) og H-(R)Cha-Pro-Agm(Z) (se eksempel 3) (1 ekv.) ble løst opp i etanol (20 ml/mmol) og omrørt ved romtemperatur i 20 timer. Oppløsningsmiddelet ble avdampet og råproduktet renses ved flammekromatografi (CH₂Cl₂/MeOH(NH₃-mettet), 95/5). Til slutt ble oppløsningsmiddelet avdampet og produktet tørket i vakuum.

¹H-NMR (500 MHz, CDCl₃): δ 0,7-0,95 (m, 2H), 1,0-1,5 (m, 10H), 1,5-1,75 (m, 5H), 1,75-1,92 (m, 2H), 2,0 (m, 1H), 2,17 (bs, 1H), 2,45 (m, 2H), 2,63 (m, 1H), 2,79 (m, 1H), 2,97-3,25 (m, 4H), 3,33 (m, 2H), 3,52 (bt, 1H), 4,45 (bd, 1H), 4,95-5,12 (m, 4H), 7,13-7,4 (m, 10H).

(ii) HOOC-CH₂-CH₂-(R)Cha-Pro-Agm x HOAc

Fremstilt ved anvendelse av avspaltningsprosedyren (a) på produktet (i) ovenfor.

¹H-NMR (500 MHz, D₂O): δ 0,88 (m, 2H), 1,00-1,23 (m, 3H), 1,33 (bs, 1H), 1,42-1,72 (m, 11H), 1,78-2,00 (m, 3H), 1,94 (s, acetat), 2,18 (m, 1H), 2,52 (m, 2H), 3,03-3,20 (m, 6H), 3,50 (m, 1H), 3,72 (m, 1H), 4,23 (m, 1H), 4,30 (m, 1H).

¹³C-NMR (125 MHz, D₂O): guanidin: δ 157,25, karbonylkarboner: δ 178,07; 173,96, 168,24.

Eksempel 16

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

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

Til en kald (-10°C) oppløsning av H-(R)Cha-Pro-Agm(z) (se eksempel 3) (0,46 g, 0,89 mmol og NMM (199 mg, 1,97 mmol) i 10 ml THF ble det tilsatt Cl-CO₂COEt (134 mg, 0,98 mmol) oppløst i 3 ml THF. Blandingen ble oppbevart ved -10°C i 1 time og ble deretter omrørt ved romtemperatur i en ytter-

ligere time. Oppløsningsmiddelet ble avdampet og resten ble løst opp i etylacetat. Den organiske fasen ble vasket to ganger med vann og tørket (Na_2SO_4). Avdampning av oppløsningsmiddelet og krystallisering fra EtOAc ga 0,275 g (50%) av tittelforbindelsen som hvite krystaller.

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

Fremstilt ved anvendelse av avspaltningsprosedyren (b) på produktet (i) ovenfor.

$^1\text{H-NMR}$ (300 MHz, MeOD): δ 0,9-2,25 (m, 24H, derav 1,17 (t, 3H)), 1,90 (s, acetat), 3,1-3,25 (m, 4H), 3,5-3,65 (m, 3H, derav 3,59 (q, 2H), 3,88 (m, 1H), 4,35 (m, 1H), 4,69 (dd, 1H).

$^{13}\text{C-NMR}$ (75,5 MHz, MeOD): guanidin: δ 157,56 og karbonylkarboner: δ 159,21, 160,74, 172, 81, 174,56.

Eksempel 17

(R,S)Bla-(R)Cha-Pro-Agm x 2 TFA

Alkylering som i eksempel 4 ved anvendelse av H-(R)Cha-Pro-Agm(Z) (se eksempel 3) og α -brombutyrolakton etterfulgt av avspaltningsprosedyren (a) ga tittelforbindelsen som en blanding av to diastereomerer.

$^1\text{H-NMR}$ (500 MHz, D_2O , blanding av diastereomerer ca: 1/1): δ 0,93-1,06 (m, 2H), 1,09-1,30 (m, 3H), 1,37-1,49 (m, 1H), 1,50-1,87 (m, 11H), 1,89-2,10 (m, 3H), 2,24-2,36 (m, 1H), 2,44-2,56 (m, 1H), 2,72-2,85 (m, 1H), 3,10-3,30 (m, 4H), 3,56-3,65 (m, 1H), 3,75-3,84 (m, 1H), 4,2-5,0 (m, 5H, delvis skjult av H-O-D signalet).

$^{13}\text{C-NMR}$ (125,76 MHz, D_2O) guanidin: δ 157,34 (topper som overlapper), karbonylkarboner: δ 174,34, 173,90, 173,62, 167,88, 167,58 (to topper som overlapper).

Eksempel 18**HOOC-(RellerS)CH(CH₂CH₂Ph)-(R)Cha-Pro-Agm/b x 2 TFA**

5 Tittelforbindelsen ble oppnådd ved behandling av diastereomeren i eksempel 13 på samme måte som beskrevet i eksempel 14. Denne diastereomeren kom ut etter den første fra kolonnen.

10 ¹H-NMR (500 MHz, MeOD): δ 0,95-1,06 (m, 2H), 1,14-1,40 (m, 4H), 1,48-1,84 (m, 11H), 1,87-2,30 (m, 6H), 2,72-2,90 (m, 2H), 3,12-3,32 (m, 4H), 3,52 (m, 1H), 3,72 (m, 1H), 4,04 (dd, 1H), 4,27 (t, 1H), 4,37 (dd, 1H), 7,17-7,32 (m, 5H).

15 ¹³C-NMR (125 MHz, MeOD): guanidin: δ 158,68; karbonylkarboner: δ 168,14, 171,46, 174,03.

Eksempel 19**H-(R)Cha-Pro-Nag x 2 HOAc**

(i) Z-(R)Cha-Pro-NH-(CH₂)₃-NH(Boc)

25 Til en oppløsning av Z-(R)Cha-Pro-OSu (1 mmol) i 1 ml DMF ved 0°C ble det tilsatt H₂N-(CH₂)₃-NH(Boc) (se fremstilling av utgangsmaterialet) oppløst i 1 ml DMF og pH ble justert til ca: 9 med NMM. Reaksjonen ble omrørt ved romtemperatur i 3 dager hvoretter den ble helt ut på vann. Den vandige fasen ble ekstrahert 4 ganger med EtOAc. Den kombinerte organiske
30 fasen ble vasket to ganger med 0,3 M KSHO₄, 0,2 M NaOH, saltvann og tørket. Avdampning og flammekromatografi (EtOAc/petroleumeter, 4/1) ga tittelforbindelsen i 59% utbytte.

35 (ii) Z-(R)Cha-Pro-NH-(CH₂)₃-NH₂

Z-(R)Cha-Pro-NH-(CH₂)₃-NH(Boc) (0,6 mmol) ble løst opp i CH₂Cl₂ (8 ml). TFA (2 ml) ble tilsatt og reaksjonsblandingen ble omrørt i 1 time. Oppløsningsmiddelet ble avdampet og resten ble løst opp i CH₂Cl₂, vasket to ganger med 0,2 M NaOH og tørket (Na₂SO₄). Avdampning av oppløsningsmiddelet ga aminet i 93% utbytte.

¹H-NMR (500 MHz, CDCl₃): δ 0,79-1,03 (m, 2H), 1,05-1,75 (m, 15H), 1,84-2,08 (m, 4H), 2,36 (m, 1H), 2,66 (m, 2H), 3,25 (m, 2H), 3,43 (q, 1H), 3,85 (m, 1H), 4,45 (m, 1H), 4,56 (d, 1H) 5,09 (m, 2H), 5,35 (d, 1H), 7,30-7,45 (m, 5H).

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

Z-(R)Cha-Pro-NH-(CH₂)₃-NH₂ (0,55 mmol, 1 ekv.) ble løst opp i DMF (2 ml) og pH justert med trietylamin til 8-9. 3,5-dimetyl-1-pyrazolylformamidiniumnitrat (0,55 mmol, 1 ekv.) løst opp i DMF (1 ml) ble tilsatt og reaksjonsblandingen omrørt ved romtemperatur i 3 dager. Oppløsningsmiddelet ble avdampet, råproduktet fryse-tørket (H₂O) og renset med RPLC (CH₃CN/NH₄OAc (0,1M), 4/6 for å tilveiebringe tittel-forbindelsen i 93% utbytte etter avdampning av oppløsningsmiddelet og frysetørking (H₂O).

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

Fremstilt ved anvendelse av avspaltningsprosedyren (a) på produktet (iii) ovenfor.

¹H-NMR (500 MHz, D₂O): δ 0,82-1,03 (m, 2H), 1,03-1,28 (m, 3H), 1,35 (m, 1H), 1,53-1,82 (m, 9H), 1,82-2,05 (m, 3H), 1,89 s, acetat), 2,24 (m, 1H), 3,15 (t, 2H), 3,23 (q, 2H), 3,55 (m, 1H), 3,72 (m, 1H), 4,27-4,34 (m, 2H).

¹³C-NMR (125 MHz, D₂O): guanidin: δ 157,37, karbonylkarboner: δ 169,81, 174,52.

Eksempel 20**ⁿBu-(R)Cha-Pro-Nag x 2 HOAc**

5 (i) H-(R)Cha-Pro-Nag(Z).

Fremstilt fra Boc-(R)Cha-Pro-OSu og Boc-Nag(Z) på samme måte som beskrevet for H-(R)Cha-Pro-Agm(Z) i eksempel 3.

10 ¹H-NMR (500 MHz, CDCl₃): δ 0,8-1,03 (m, 2H), 1,10-1,50 (m, 6H), 1,60-1,83 (m, 8H), 1,87-2,20 (m, 3H), 3,15 (m, 1H), 3,25 (m, 2H), 3,42 (m, 2H), 3,63 (dd, 1H), 3,70 (m, 1H), 4,36 (bs, 1H), 5,07 (s, 2H), 7,22-7,43 (m, 5H).

15 (ii) ⁿBu-(R)Cha-Pro-Nag(Z)

H-(R)Cha-Pro-Nag(Z) (0,5 g, 1 mmol) ble løst opp i metanol (10 ml). Trietylammoniumhydroklorid (0,1 g, 1 mmol), natriumcyanoborhydrid (44 mg, 0,7 mmol) og deretter ble
20 smøresyrealddehyd (76 mg, 1,05 mmol) tilsatt og reaksjonsblandingens omrørt ved romtemperatur i 20 timer. Oppløsningsmiddelet ble avdampet og råproduktet løst opp i etylacetat, vasket to ganger med vann, en gang med saltvann og tørket over natriumsulfat. Oppløsningsmiddelet ble avdampet og
25 råproduktet renses ved flammekromatografi (EtOAc/EtOH/Et₃N, 88/10/2). Til slutt ble oppløsningsmiddelet avdampet og produktet tørket i vakuum for å tilveiebringe 0,22 g (40%) ⁿBu-(R)Cha-Pro-Nag(Z).

30 ¹H-NMR (500 MHz, CDCl₃): δ 0,82-1,0 (m, 5H, derav 0,88 (t, 3H)), 1,08-1,49 (m, 10H), 1,58-1,8 (m, 7H), 1,88-2,22 (m, 3H), 2,4 (m, 1H), 2,5 (m, 1H), 3,05 (bs, 1H), 3,3 (m, 1H), 3,4-3,53 (m, 3H), 3,73 (m, 1H), 4,42 (bs, 1H), 5,1 (s, 2H), 7,25-7,43 (m, 5H).

35

(iii) ⁿBu-(R)Cha-Pro-Nag x 2 HOAc

Fremstilt ved anvendelse av avspaltningsprosedyren (a) på produktet (ii) ovenfor.

¹H-NMR (300 MHz, D₂O): δ 0,94 (t, 2H), 1,10-1,31 (m, 3H),
5 1,38 (m, 3H), 1,55-1,88 (m, 11H), 1,88-2,15 (m, 3H), 1,95 (s, acetat), 2,34 (m, 1H), 2,95 (m, 1H), 3,08 (m, 1H), 3,24 (t, 2H), 3,30 (m, 2H), 3,66 (m, 1H), 3,82 (m, 1H), 4,32 (t, 1H), 4,41 (dd, 1H).

10 ¹³C-NMR (125 MHz, D₂O): guanidin: δ 1,57,40, karbonylkarboner: δ 180,39, 174,28, 168,55.

Eksempel 21

15 **HO-(CH₂)₃-(R)Cha-Pro-Nag x 2 TFA**

(i) BnO-(CH₂)₃-(R)Cha-Pro-Nag(Z)

1-benzyloksi 3-trifluormetansulfonylpropan (se fremstilling
20 av utgangsmaterialene) (0,5 g, 1 mmol) og H-(R)Cha-Pro-Nag(Z) (se eksempel 20) ble løst opp i tetrahydrofuran (10 ml). Kaliumkarbonat (0,28 g, 2mmol) ble tilsatt og reaksjonsblandingen ble omrørt ved romtemperatur i 2 timer. Oppløsningsmiddelet ble avdampet og råproduktet ekstrahert med
25 etylacetat/vann. Den organiske fasen ble vasket en gang med vandig natriumhydrogenkarbonat, en gang med vann og en gang med saltvann. Etter tørking overnatriumsulfat ble oppløsningsmiddelet avdampet og råproduktet flammekromatografert
(CH₂CH₂/MeOH(NH₃-mettet), 95:5). Til slutt ble oppløsnings-
30 middelet avdampet og produktet tørket i vakuum for å tilveiebringe 0,29 g (45%) av tittelforbindelsen.

¹H-NMR (500 MHz, CDCl₃): δ 0,77-1,03 (m, 2H), 1,03-2,18 (m, 19H), 2,52 (m, 1H), 2,64 (m, 1H), 3,03 (bs, 1H), 3,1-3,6 (m, 7H), 3,66 (m, 1H), 4,41 (bs, 1H), 4,46 (s, 2H), 5,08 (s, 2H),
35 7,2-7,4 (m, 5H), 7,55 (m, 1H).

(ii) HO-(CH₂)₃-(R)Cha-Pro-Nag x 2 TFA

Fremstilt ved anvendelse av avspaltningsprosedyren (a) på produktet (i) ovenfor.

5

¹H-NMR (500 Mhz, D₂O): δ 1,00 (bs, 2H), 1,10-1,32 (m, 3H), 1,40 (bs, 1H), 1,55-2,15 (m, 14H), 2,30 (m, 1H), 3,05-3,35 (m, 6H), 3,57-3,75 (m, 3H), 3,81 (bs, 1H), 4,35 (bs, 1H), 4,42 (bs, 1H).

10

Eksempel 22

HOOC-CH₂-(R)Cha-Pro-Nag x HOAc

15 (i) H-(R)Cha-Pro-NH-(CH₂)₃-N₃

Fremstilt på samme måte som H-(R)Cha-Pro-Agm(Z) (se eksempel 3) begynnende fra Boc-(R)Cha-Pro-OSu og Boc-NH-(CH₂)₃-N₃ (for erstatning av Boc-Agm(Z)).

20

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

Alkylering som i eksempel 4 ved anvendelse av H-(R)Cha-Pro-NH-(CH₂)₃-N₃ og EtOOC-CH₂-Br etterfulgt av avspaltningsprosedyren (a) for å redusere azidet ga tittelforbindelsen.

25

(iii) EtOOC-CH₂-(R)Cha-Pro-Nag x HOAc

Den samme prosedyren som beskrevet i eksempel 19 (iii) for Z-(R)Cha-Pro-Nag ble anvendt for å oppnå guanidering av amindet fra (ii) ovenfor. Tittelforbindelsen ble oppnådd i en ren form etter RPLC (CH₃CN/NH₄OAc (0,1 M), 3/7 avdampning av oppløsningsmiddelet og frysetørking (H₂O)).

35 (iv) HOOC-CH₂-(R)Cha-Pro-Nag x HOAc.

Fremstilt ved anvendelse av avspaltningsprosedyren (e) på produktet (iii) ovenfor.

^1H NMR (500 MHz, D_2O): δ 0,99 (m, 2H), 1,09-1,30 (m, 3H),
5 1,44 (m, 1H), 1,59-2,09 (m, 12H), 1,92 (s, acetat), 2,29 (m,
1H), 3,20 (t, 2H), 3,28 (m, 2H), 3,52-3,63 (m, 3H), 3,76 (m,
1H), 4,38 (dd, 1H), 4,42 (t, 1H).

^{13}C -NMR (125 MHz, D_2O): guanidin: δ 175,43; karbonylkarboner:
10 δ 168,72, 171,36, 174,35.

Eksempel 23

EtOOC-CH₂-(R)Cha-Pro-Nag x HOAc

15

Fremstilt ifølge eksempel 22 (iii).

^1H -NMR (300 MHz, D_2O): δ 1,07 (m, 2H), 1,17-1,59 (m, 7H);
derav 1,38 (t, 3H), 1,60-2,24 (m, 12H), 2,04 (s, acetat),
20 2,39 (m, 1H), 3,31 (t, 2H); 3,39 (t, 2H), 3,63-3,90 (m, 4H),
4,12 (t, 1H), 4,36 (q, 2H), 4,46 (dd, 1H).

^{13}C -NMR (75 MHz, D_2O): guanidin: δ 157,37; karbonylkarboner:
25 δ 173,73, 175,09, 175,70.

Eksempel 24

ⁱPrOOC-CH₂(R)Cha-Pro-Nag x HOAc

30 Alkylering som i eksempel 4 ved anvendelse av H-(R)Cha-Pro-Nag(Z) (se eksempel 20) og Br-CH₂COOⁱPr etterfulgt av avspaltningsprosedyren (b) ga tittelforbindelsen.

^1H -NMR (500 MHz, MeOD): δ 0,85-1,05 (m, 2H), 1,1-2,15 (m,
35 22H); derav 1,23 (d, 3H), 1,25 (d, 3H), 1,92 (s, acetat),
2,2 (m, 1H), 3,10-3,35 (m, 5H), 3,4 (m, 1H), 3,55 (m, 1H),
3,65-3,8 (m, 2H), 4,28 (dd, 1H), 5,03 (m, 1H).

^{13}C -NMR (125 MHz, D_2O): guanidin: δ 157,39; karbonylkarboner: δ 170,40, 172,00 og 174,50.

Eksempel 25

5

$^t\text{BuOOC-CH}_2\text{-(R)Cha-Pro-Nag} \times 2 \text{ TFA}$

10

Alkylering som i eksempel 4 ved anvendelse av H-(R)Cha-Pro-Nag(Z) (se eksempel 20) og $\text{Br-CH}_2\text{COO}^t\text{Bu}$ etterfulgt av avspaltningsprosedyre (b) ga tittelforbindelsen.

15

^1H -NMR (300 MHz, MeOD): δ 0,9-1,15 (m, 2H), 1,15-2,15 (m, 25H; derav 1,55 (bs, 9H)), 2,3 (m, 1H), 3,15-3,45 (m, 4H), 3,55 (m, 1H), 3,7-3,95 (m, 3H), 4,3-4,4 (m, 2H).

^{13}C -NMR (75 MHz, D_2O): guanidin: δ 157,55; karbonylkarboner: δ 166,55, 168,13 og 174,33.

Eksempel 26

20

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

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

25

30

H-(R)Cha-Pro-Nag(Z) (se eksempel 20), 0,20 g (0,40 mmol) ble blandet med 0,115 g (0,40 mmol) benzyloksykarbonylmetylbromacetat, 55 mg K_2CO_3 (0,40 mmol) og 5 ml CH_3CN . Blandingen ble omrørt ved romtemperatur i 6 timer. Oppløsningsmidlet ble avdampet og råproduktet kromatografert ($\text{CH}_2\text{Cl}_2/\text{MeOH}$, 9/1) for å tilveiebringe 0,20 g (71 %) av den ønskede forbindelsen etter avdampning av oppløsningsmidlet.

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

35

Fremstilt ved anvendelse av avspaltningsprosedyren (a) på produktet (i) ovenfor.

$^1\text{H-NMR}$ (500 MHz, MeOD): δ 0,85-1,1 (m, 2H), 1,1-1,6 (m, 8H), 1,6-2,15 (m, 10H) 1,99, (s, acetat), 2,23 (m, 1H), 3,1-3,4 (m, 4H), 3,45-3,65 (m, 4H), 3,7-3,9 (m, 3H), 4,34 (m, 1H), 4,48 (dd, 2H).

$^{13}\text{C-NMR}$ (125 MHz, MeOD), guanidin: δ 158,8, karbonylkarboner: δ 176,1, 175,2, 174,9, 173,1.

Eksempel 27

$\text{H}_2\text{N-CO-CH}_2\text{-(R)Cha-Pro-Nag x HOAc}$

Alkylering som i eksempel 4 ved anvendelse av H-(R)Cha-Pro-Nag(Z) (se eksempel 20) og $\text{Cl-CH}_2\text{CONH}_2$, i nærvær av en katalyttisk (10 mol-%) mengde KI i reaksjonen, etterfulgt av avspaltningsprosedyre (a) ga tittelforbindeslen.

$^1\text{H-NMR}$ (500 MHz, D_2O): δ 1,02 (m, 2H), 1,12-1,34 (m, 3H), 1,46 (m, 1H), 1,61-2,13 (m, 9H), 1,99 (s, acetat), 2,34 (m, 1H), 3,25 (t, 2H), 3,33 (t, 2H), 3,60-3,82 (m, 4H), 4,22 (t, 1H), 4,41 (dd, 1H).

$^{13}\text{C-NMR}$ (75 MHz, D_2O): guanidin: δ 157,5; karbonylkarboner δ 168,94, 169,40, 174,43.

Eksempel 28

$\text{HOOC-CH}_2\text{-NH-CO-CH}_2\text{-(R)Cha-Pro-Nag x 2 TFA}$

Alkylering som i eksempel 4 ved anvendelse av H-(R)Cha-Pro-Nag(Z) (se eksempel 20) og $\text{Br-CH}_2\text{CONHCH}_2\text{COOBn}$ (se prep. av utgangsmaterialene) etterfulgt av avspaltningsprosedyren (a) ga tittelforbindelsen.

$^1\text{H-NMR}$ (500 MHz, MeOD): δ 1,01 (m, 2H); 1,15-1,38 (m, 3H), 1,47 (m, 1H), 1,64-2,13 (m, 12H), 2,27 (m, 1H), 3,17-3,26 (m,

3H), 3,37 (m, 1H), 3,51 (m, 1H), 3,83 (m, 1H), 3,88 (s, 2H),
3,94-4,06 (m, 2H), 4,35-4,45 (m, 2H).

^{13}C -NMR (75 MHz, MeOD): guanidin: δ 158,71; karbonylkarboner:
5 δ 166,94, 168,35, 172,44, 174,17.

Eksempel 29

(HOOC-CH₂)₂-(R)Cha-Pro-Nag x HOAc

10

(i) (EtOOC-CH₂)₂-(R)Cha-Pro-NH-(CH₂)₃-NH₂ x HOAc

15

Alkylering som i eksempel 4 ved anvendelse av H-(R)Cha-Pro-NH-(CH₂)₃-N₃ (se eksempel 22) og Br-CH₂COOEt (10 ekv. ble
15 anvendt for å oppnå dialkylering) etterfulgt av avspaltningsprosedyre (a) ga tittelforbindelsen.

(ii) (EtOOC-CH₂)₂-(R)Cha-Pro-Nag x HOAc

20

Den samme prosedyren som beskrevet i eksempel 19 (iii) for Z-(R)Cha-Pro-Nag ble anvendt for å oppnå guanidering av aminet
angitt ovenfor. Rensing av forbindelsen ble utført med RPLC (CH₃CH/NH₄OAc (0,1 M), 4:6)

25

(iii) (HOOC-CH₂)₂-(R)Cha-Pro-Nag x HOAc

30

Hydrolyse av estergruppene ble utført ifølge avspaltningsprosedyre (e) ved anvendelse av en dobbelt mengde NaOH.
Sluttforbindelsen ble oppnådd ren etter RPLC (CH₃CN/NH₄OAc (0,1 M), 2:8), avdampning av oppløsningsmidlet og fryse-
30 tørking (H₂O).

35

^1H -NMR (300 MHz, D₂O): δ 0,92-1,49 (m, 6H), 1,60-2,54 (m, 10H), 2,05 (s, acetat), 3,25-3,50 (m, 4H), 3,65-4,03 (m, 6H;
35 derav 3,95 (s, 4H)), 4,49 (m, 1H), 4,71 (m, 1H; delvis skjult av H-O-D-toppen).

^{13}C -NMR (75 MHz, D_2O): guanidin: δ 157,64; karbonylkarboner: δ 168,62, 171,39 174,30.

Eksempel 30

5

$\text{HOOC-CH}_2\text{-(Me)(R)Cha-Pro-Nag x 2 TFA}$

(i) $\text{Me-(R)Cha-Pro-Nag(Z)}$

10 Fremstilt fra Boc-(Me)(R)Cha-Pro-OSu og Boc-Nag(Z) på samme måte som beskrevet for H-(R)Cha-Pro-Agm(Z) i eksempel 3.

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

15 Alkylering som i eksempel 4 ved anvendelse av Me-(R)Cha-Pro-Nag(Z) og Br- CH_2COOBn etterfulgt av avspaltningsprosedyre (b) ga tittelforbindelsen.

1 ^1H -NMR (500 MHz, D_2O): δ 0,8-1,06 (m, 2H), 1,08-1,27 (m, 4H),
20 1,55-2,10 (m, 12H), 2,30 (m, 1H), 3,04 (s, 3H), 3,14-3,33 (m, 4H), 3,63 (m, 1H), 3,81 (m, 1H), 4,13 (tilsynelatende bs, 2H), 4,38 (br.dd, 1H), 4,56 (bt, 1H).

1 ^3C -NMR (125,76 MHz, D_2O): guanidin: δ 157,40; karbonylkarboner: δ 174,05, 168,83, 167,44

25

Eksempel 31

$\text{HOOC-CH}_2\text{-(}^n\text{Bu)(R)Cha-Pro-Nag x 2 TFA}$

30

Alkylering som i eksempel 4 ved anvendelse av $^n\text{Bu-(R)Cha-Pro-Nag(Z)}$ (se eksempel 20) og Br- CH_2COOBn etterfulgt av avspaltningsprosedyren (a) ga tittelforbindelsen.

35 1 ^1H -NMR (500 MHz, D_2O): δ 0,78-0,88 (m, 3H), 0,88-1,02 (m, 2H), 1,02-1,23 (m, 4H), 1,23-1,38 (m, 2H), 1,45-1,84 (m, 11H), 1,84-2,10 (m, 3H), 2,24 (m, 1H), 3,05-3,18 (m, 3H),

3,18-3,38 (m, 3H), 3,57 (m, 1H), 3,77 (m, 1H), 4,05-4,25 (m, 2H), 4,32 (m, 1H), 4,50 (m, 1H).

¹³C-NMR (125 MHz, D₂O): guanidin: δ 159,17; karbonylkarboner:
5 δ 175,66, 171,13, 169,31.

Eksempel 32

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

10

Alkylering som i eksempel 4 ved anvendelse av (H-(R)Cha-Pro-Nag(Z) (se eksempel 20) og Br-CH(Me)COOBn fulgt av avspaltningprosedyren (a) ga tittelforbindelsen som en blanding av to diastereomerer.

15

Eksempel 33

HOC-(RellerS)CH(Me)-(R)Cha-Pro-Nag/a x HOAc

20

Oppnådd ved separering av diastereomerene dannet i eksempel 32 ved anvendelse av RPLC (CH₃CN/NH₄OAc (0,1 M), 1/4) etterfulgt av avdampning av oppløsningsmidlet. Denne diastereomeren kom ut først av de to fra kolonnen.

25

¹H-NMR (300 MHz, D₂O, 2 rotamerer ca: 9:1 forhold): δ 0,78 (m, mindre rotamer), 1,07 (m, 2H), 1,17-1,42 (m, 3H), 1,48-1,64 (m, 4H); derav 1,56 (d, 3H), 1,64-1,95 (m, 9H), 1,95-2,20 (m, 3H), 2,00 (s, acetat), 2,37 (m, 1H), 3,28 (t, 2H), 3,38 (t, 2H), 3,53 (m, mindre rotamer), 3,63 (m, 2H), 3,77
30 (m, 1H), 4,24 (d, mindre rotamer), 4,35-4,50 (m, 2H), 4,60 (d, mindre rotamer).

35

Eksempel 34**HOOC-(RellerS)CH(Me)-(R)Cha-Pro-Nag/b x HOAc**

5 Tittelforbindelsen ble oppnådd ved anvendelse av samme prosedyre som beskrevet i eksempel 33 på forbindelsen dannet i eksempel 32. Diastereomeren kom ut etter den første fra kolonnen.

10 $^1\text{H-NMR}$ (300 MHz, D_2O , 2 rotamerer ca: 9:1 forhold): δ 0,95 (m, mindre rotamer), 1,12 (m, 2H), 1,22-1,40 (m, 3H), 1,40-1,67 (m, 4H; derav 1,60 (d, 3H)), 1,67-2,00 (m, 9H), 2,00-2,25 (m, 3H), 2,03 (s, acetat), 2,40 (m, 1H), 3,25-3,48 (m, 4H), 3,66-3,84 (m, 2H), 3,93 (m, 1H), 4,38 (m, 1H), 4,50 (m, 15 1H), 4,93 (m, mindre rotamer).

$^{13}\text{C-NMR}$ (75,5 MHz, D_2O): δ 157,42; karbonylkarboner: δ 168,05, 171,99, 174,04.

20 Eksempel 35

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

Fremstilt på samme måte som beskrevet for eksempel 22 ved 25 anvendelse av EtOOC-CH(Me)-Br i stenden for $\text{Br-CH}_2\text{-COOEt}$ i alkyleringen.

$^1\text{H-NMR}$ (500 MHz, MeOD, 2 diastereomerer ca: 2,5:1 forhold og 4 rotamerer): δ 0,88-2,43 (m, 25H), 3,1-4,55 (m, 11H).

30

$^{13}\text{C-NMR}$ (75 MHz, MeOD): guanidin: δ 158,65; karbonylkarboner: δ 174,33, 170,66, 168,20.

35

Eksempel 36**HOOC-(RellerS)CH(nPr)-(R)Cha-Pro-Nag/a x HOAc**

5 Alkylering som beskrevet i eksempel 4 ved anvendelse av H-(R)Cha-Pro-Nag(Z) (se eksempel 20) og Br-CH(ⁿPr)COOEt og avspaltningsprosedyren (e) etterfulgt av avspaltningsprosedyren (b) ga HOOC-(R,S)CH(ⁿPr)-(R)Cha-Pro-Agm. Tittelforbindelsen ble oppnådd ved separering av diastereomerene (denne
10 diastereomeren kom ut først av de to fra kolonnen) ved RPLC (CH₃CH/NH₄OAc (0,1 M), 1/4) og frysetørking (H₂O) etter avdampning av oppløsningsmidlet.

¹H-NMR (500 MHz, MeOD): δ 0,85-1,05 (m, 5H; derav 0,95 (t, 3H)); 1,1-2,05 (m, 20H); 1,95 (s, acetat), 2,18 (m, 1H), 3,15-3,3 (m, 4H), 3,35 (m, 1H), 3,46 (m, 1H), 3,85 (m, 1H), 4,04 (m, 1H), 4,38 (dd, 1H).

¹³C-NMR (125 MHz, MeOD): guanidin: δ 158,73; karbonylkarboner: δ 171,63, 174,43 og 176,78.

Eksempel 37**HOOC-(R)CH(CH₂-OH)-(R)Cha-Pro-Nag x 2 TFA**

25 Alkylering som i eksempel 4 ved anvendelse av H-(R)-Cha-Pro-Nag(Z) (se eksempel 20) og Br-(S)CH(CH₂-OBn)-COOBn etterfulgt av avspaltningsprosedyren (a) ga tittelforbindelsen.

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

35 Alkylering som i eksempel 4 ved anvendelse av H-(R)Cha-Pro-Nag(Z) (se eksempel 20) og Br-CH(Ph)COO^tBu og avspaltningsprosedyren (a) etterfulgt av (f) ga tittelforbindelsen som en blanding av to diastereomerer.

$^1\text{H-NMR}$ (300 MHz, MeOD): δ 0,8-1,1 (m, 2H), 1,1-2,18 (m, 16H), 2,26 (m, 1H), 3,04-3,35 (m, 5H), 3,45 (m, 1H), 3,7 (m, 1H), 4,35 (m, 1H), 4,85 (s, 1H, en isomer), 5,05 (s, 1H, den andre isomeren), 7,4-7,6 (m, 5H), 7,75 (bt, 1H).

$^{13}\text{C-NMR}$ (75 MHz, D_2O): guanidin: δ 158,68; karbonylkarboner: δ 174,39, 174,15 og 170,5, 170,06 og 168,32, 167,78.

Eksempel 39

$\text{HOOC-(S)CH(CH}_2\text{CH}_2\text{Ph)-(R)Cha-Pro-Nag x HOAc}$

Alkylering som i eksempel 21 ved anvendelse av H-(R)Cha-Pro-Nag(Z) (se eksempel 20) og TfO-(R)(CH(CH₂CH₂Ph)-COOEt og avspaltningsprosedyre (e) etterfulgt av (a) ga tittelforbindelsen.

$^1\text{H-NMR}$ (300 MHz, MeOD): δ 0,77-1,05 (m, 2H), 1,05-1,35 (m, 5H), 1,35-2,16 (m, 14H), 1,88 (s, acetat), 2,71 (t, 2H), 3,07-3,52 (m, 7H), 3,73 (m, 1H), 4,32 (m, 1H), 7,03-7,25 (m, 5H).

$^{13}\text{C-NMR}$ (75 MHz, MeOD): guanidin: δ 158,71; karbonylkarboner: δ 174,15, 177,31, 182,61.

Eksempel 40

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

Alkylering som i eksempel 4 ved anvendelse av H-(R)Cha-Pro-Nag(Z) (se eksempel 20) og Br-CH(CH₂CH₂Ph)COOEt etterfulgt av avspaltningsprosedyren (a) og (e) ga HOOC-(R,S)CH(CH₂-CH₂-Ph)-(R)Cha-Pro-Nag. Tittelforbindelsen ble oppnådd ved separering av de to diastereomerene med RPLC ($\text{CH}_3\text{CN/NH}_4\text{OAc}$ (0,1 M), 2/3) og frysetørking (H_2O etter avdampning av oppløsningsmidlet).

$^1\text{H-NMR}$ (300 MHz, MeOD): δ 0,97 (m, 2H), 1,10-1,41 (m, 3H), 1,42-2,30 (m, 16H), 1,96 (s, acetat), 2,70 (m, 2H), 3,06-3,26 (m, 3H), 3,28-3,66 (m, 3H), 3,84 (m, 1H), 4,14 (bt, 1H), 4,39 (dd, 1H), 7,11-7,28 (m, 5H).

5

$^{13}\text{C-NMR}$ (75 MHz, MeOD): guanidin: δ 158,66.

Eksempel 41

10 **HOOC-CH₂-CH₂-(R)Cha-Pro-Nag x HOAc**

(i) EtOOC-CH₂-CH₂-(R)Cha-Pro-NH-(CH₂)₃-NH₂.

Alkylering som beskrevet i eksempel 15 ved anvendelse av H-(R)Cha-Pro-NH-(CH₂)₃-NH₃ i steden for H-(R)Cha-Pro-Agm(Z)

15 etterfulgt av avspaltningsprosedyren (a) ga tittelforbindelsen.

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

20 Guanidering av aminet ovenfor på samme måte som beskrevet i eksempel 19 for Z-(R)Cha-Pro-Nag ga tittelforbindelsen (ii).

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

25 Fremstilt ved anvendelse av avspaltningsprosedyren (e) på produktet (ii) ovenfor.

$^1\text{H-NMR}$ (500 MHz, D₂): δ 1,12 (m, 2H), 1,22-1,48 (m, 3H), 1,54 (bs, 1H), 1,70-2,37 (m, 12H), 2,14 (s, acetat), 2,53 (m, 1H), 30 2,70 (bs, 2H), 3,15 (t, 1H), 3,25-3,55 (m, 5H), 3,75 (m, 1H), 3,93 (m, 1H), 4,43 (t, 1H), 4,52 (m, 1H).

Eksempel 42

35 **EtOOC-CH₂-CH₂-(R)Cha-Pro-Nag x HOAc**

Fremstilt ifølge eksempel 41 (ii).

$^1\text{H-NMR}$ (500 MHz, D_2O): δ 0,97 (m, 2H), 1,11-1,39 (m, 7H; derav 1,30 (t, 3H)), 1,50 (t, 2H), 1,62-1,76 (m, 5H), 1,76-2,14 (m, 5H), 1,93 (s, acetat), 2,29 (m, 1H), 2,62 (t, 2H), 2,77-2,94 (m, 2H), 3,23 (t, 2H), 3,32 (t, 2H), 3,60-3,87 (m, 3H), 4,20 (q, 2H), 4,36 (dd, 1H).

$^{13}\text{C-NMR}$ (125 MHz, D_2O): guanidin; δ 157,39; karbonylkarboner: δ 182,05, 175,13, 175,02.

10 Eksempel 43

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

(i) $\text{Et-OOC-CH=CH-CH}_2-(\text{R})\text{Cha-Pro-Nag(Z)}$

15

H-(R)Cha-Pro-Nag(Z) (se eksempel 20) (1 ekv.) og etyl-3-bromkrotonat (1,1 ekv.) ble oppløst i acetonitril (15 ml/mmol). Kaliumkarbonat ble tilsatt og reaksjonsblandingen ble omrørt ved romtemperatur i 2 timer. Etter filtrering og avdampning av oppløsningsmidlet ble råproduktet rensert ved flammekromatografi ($\text{CH}_2\text{Cl}_2/\text{MeOH}$). Til slutt ble oppløsningsmidlet avdampet og produktet tørket i vakuum.

20

$^1\text{H-NMR}$ (500 MHz, CDCl_3): δ 0,73-1,0 (m, 2H), 1,0-1,4 (m, 8H; derav 1,33 (t, 3H)), 1,43-2,15 (m, 12H), 2,96 (bs, 1H), 3,12 (dd, 1H), 3,16-3,48 (m, 6H), 3,56 (m, 1H), 4,15 (q, 2H), 4,35 (bs, 1H), 5,03 (s, 1H), 6,0 (d, 1H), 6,85 (dt, 1H), 7,05 (bs, 1H), 7,17-7,37 (m, 5H), 7,5 (bs, 1H).

25

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

Fremstilt ved anvendelse av spaltningsprosedyren (a) på produktet (i) ovenfor.

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

Fremstilt ved avnendelse av avspaltningsprosedyren (e) på produktet (ii) ovenfor.

¹H-NMR (500 MHz, D₂O): δ 1,02 (bs, 2H); 1,08-1,32 (m, 3H), 1,42 (bs, 1H), 1,55-2,15 (m, 14H), 1,93 (s, acetat), 2,33 (bs, 3H), 3,00 (bs, 1H), 3,07 (bs, 1H), 3,18-3,40 (m, 4H), 3,62 (bs, 1H), 3,82 (bs, 1H), 4,33 (bs, 1H), 4,40 (bs, 1H).

¹³C-NMR (125 MHz, D₂O): guanidin: δ 157,42; karbonylkarboner: δ 181,87, 174,34, 168,64.

Eksempel 44

EtOOC-(CH₂)₃-(R)Cha-Pro-Nag x 2 TFA

Fremstilt ifølge eksempel 43 (ii).

¹H-NMR (300 MHz, MeOD/D₂O): δ 0,63-1,30 (m, 9H; derav 1,02 (t, 3H)), 1,30-1,97 (m, 14H), 2,06 (bs, 1H), 2,28 (m, 2H), 2,72-3,20 (m, 6H), 3,36 (m, 1H), 3,60 (m, 1H), 3,94 (m, 2H), 4,06 (m, 1H), 4,17 (m, 1H).

¹³C-NMR (75 MHz, MeOD/D₂O): guanidin: δ 158,10; karbonylkarboner: δ 175,40, 174,23, 168,54.

Eksempel 45

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

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

H-(R)Cha-Pro-Nag(Z), 0,50 g (0,97 mmol) ble oppløst i 0,54 ml trietylamin og 8 ml CH₂Cl₂. Etyloksalylklorid, 0,146 g (1,07 mmol) oppløst i 2 ml CH₂Cl₂ ble tilsatt mens temperaturen økte fra 22-28°C og reaksjonen ble omrørt ved romtemperatur i 2 timer. Den organiske fasen ble vasket to ganger med vann tørket (Na₂SO₄) og flammekromatografert (EtOAc/EtOH

(99 %), 9/1) for å tilveiebringe 92 mg (15 %) av tittelforbindelsen.

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

5

Ved anvendelse av avspaltningsprosedyre (b) etterfulgt av (e) ble tittelforbindelsen oppnådd.

10

$^1\text{H-NMR}$ (300 MHz, MeOD): δ 0,88-1,14 (m, 2H), 1,15-1,5 (m, 4H), 1,5-2,3 (m, 13H); 1,9 (s, acetat), 3,1-3,43 (m, 4H), 3,6 (m, 1H), 4,05 (m, 1H), 4,43 (dd, 1H), 4,5 (m, 1H).

15

$^{13}\text{C-NMR}$ (75 MHz, D_2O): guanidin: δ 157,57; karbonylkarboner: δ 165,94, 173,95, 174,85 og 181,22.

Eksempel 46

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

20

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

25

Metylester ble oppnådd ved transforestring av EtOOC-CO-(R)Cha-Pro-Nag(Z) (se eksempel 45) på kolonnen iløpet av flammekromatografi når EtOAc/MeOH (9:1) ble anvendt som elueringsmiddel. Utbytte 55 %.

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

30

Fremstilt ved anvendelse av avspaltningsprosedyre (b) på produktet (i) ovenfor.

35

$^1\text{H-NMR}$ (300 MHz, MeOD): δ 0,9-1,1 (m, 1H), 1,1-2,3 (m, 17H), 1,9 (s, acetat), 3,12-3,4 (m, 4H), 3,52-3,67 (m, 2H), 3,9 (s, 3H), 4,35 (m, 1H), 4,65 (m, 1H).

$^{13}\text{C-NMR}$ (75 MHz, D_2O): guanidin: δ 157,52; karbonylkarboner: δ 159,11, 161,20, 173,17 og 174,90.

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

5 Alkylering som i eksempel 4 ved anvendelse av H-(R)Cha-Pro-Nag(Z) (se eksempel 20) og α -brombutyrolakon etterfulgt av avspaltningsprosedyre (a) ga tittelforbindelsen som en blanding av to diastereomerer.

10 $^1\text{H-NMR}$ (300 MHz, D_2O , blanding av diastereomerer): δ 1,0-1,43 (m, 5H), 1,45-1,60 (br.s, 1H), 1,64-2,28 (m, 12H), 2,31-2,50 (m, 1H), 2,80-2,98 (m, 1H), 3,23-3,46 (m, 4H), 3,66-3,79 (m, 1H), 3,82-3,96 (m, 1H), 4,33-5,08 (m, 5H, delvis skjult av H-O-D-signalet).

15

Eksempel 48**HOOC-(R,S)CH(CH₂COO)-(R)Cha-Pro-Nag x HOAc**

i) $\text{BnOOC}-(\text{R,S})\text{CH}(\text{CH}_2\text{COOBn})-(\text{R})\text{Cha-Pro-Nag}(\text{Z})$

20

H-(R)Cha-Pro-Nag(Z) (se eksempel 20), 0,21 g (0,42 mmol) og 0,12 g (0,42 mmol) dibenzylmaleat ble løst opp i 10 ml CH_3CN . Blandingen ble tilbakestrømmet over natt, avdampet og flammekromatografert ($\text{CH}_2\text{Cl}_2/\text{MeOH}$, 94/6). Avdampning av oppløsningsmidlet ga den ønskede forbindelsen i 22 % utbytte.

25

(ii) $\text{HOOC}-(\text{R,S})\text{CH}(\text{CH}_2\text{COOH})-(\text{R})\text{Cha-Pro-Nag x HOAc}$

Fremstilt ved anvendelse av avspaltningsprosedyre (a) på produktet (i) ovenfor.

30

$^1\text{H-NMR}$ (500 MHz, MeOD): δ 0,9-2,4 (m, 19H), 2,00 (s, acetat), 2,7-3,0 (m, 2H), 3,1-3,6 (m, 5H), 3,75-3,9 (m, 2H), 4,2-4,5 (m, 2H).

35

Eksempel 49**MeOOC-(R,S)CH(CH₂COOMe)-(R)Cha-Pro-Nag x HOAc**

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

H-(R)Cha-Pro-Nag(Z) (se eksempel 20), 0,21 g (0,42 mmol) og
0,24 g (1,7 mmol) dimetylmaleat ble løst opp i 15 ml MeOH.
Blandingen ble tilbakestrømmet over natt, avdampet og
10 flammekromatografert (CH₂Cl₂/MeOH, 9/1). Avdampning av
oppløsningsmidlet ga den ønskede forbindelsen i 45 % utbytte.

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

15 Fremstilt ved anvendelse av avspaltningprosedyre (c) på
produktet (i) ovenfor.

¹H-NMR (500 MHz, MeOD): δ 0,85-1,1 (m, 2H), 1,15-2,3 (m,
17H), 1,91 (s, acetat), 2,6-2,8 (m, 2H), 3,1-3,5 (m, 5H),
20 3,5-3,8 (m, 10H, derav 4 singletter 3,66, 3,68, 3,71, 3,73),
4,29 (m, 1H).

Eksempel 50

25 **HOOC-Ph-4-CH₂-(R)Cha-Pro-Nag x 2 TFA**

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

H-(R)Cha-Pro-NH-(CH₂)₃-N₃ (se eksempel 22), 0,39 g (1,1 mmol)
30 og 0,33 g (1,2 mmol) tertiarybutyl-p-brommetylbenzoat ble
oppløst i 10 ml CH₃CH og 0,19 g (2,4 mmol) K₂CO₃ ble tilsatt.
Blandingen ble tilbakestrømmet over natt og avdampet.
Råproduktet ble flammekromatografert (CH₂Cl₂/MeOH, 92:8) for
opnåelse av 0,50 g (84 %) av tittelforbindelsen.

35

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

Til en oppløsning av 0,60 g (1,8 mmol) bis-fenyltiostannan, 0,20 g (1,8 mmol) tiofenol og 0,18 g (1,8 mmol) trietylamin i 50 ml CH₂Cl₂ ved 0°C ble det tilsatt 0,50 g (0,92 mmol) ^tBuOOC-Ph-4-CH₂-(R)Cha-Pro-NH-(CH₂)₃-N₃. Blandingen ble omrørt ved 0°C i 30 min og ved romtemperatur i 4 timer. Den ble deretter fortynnet med CH₂Cl₂ og vasket med vandig natriumbikarbonat og deretter tre ganger med 2 % H₂O₂. Det organiske laget ble ekstrahert med fortynnet HCl. Den kombinerte sure vannfasen ble vasket med EtOAc og deretter gjort alkalisk med NaOH(aq). Det vandige laget ble ekstrahert to ganger med etylacetat. Det kombinerte organiske laget ble tørket (Na₂SO₄) og avdampet. Flammekromatografi (CH₂Cl₂/MeOH (NH₃-mettet), 8:2) ga 0,12 g (26 %) av tittelforbindelsen.

(iii) HOOC-Ph-4-CH₂-(R)Cha-Pro-Nag x 2 TFA

Guanidering av amino ovenfor på samme måte som beskrevet i eksempel 19 for Z-(R)Cha-Pro-Nag etterfulgt av avspaltningsprosedyre (f) ga tittelforbindelsen.

¹H-NMR (500 MHz, MeCD): δ 0,9-1,5 (m, 7H), 1,4-1,9 (m, 9H), 1,95-2,1 (m, 2H), 2,16 (m, 1H), 2,32 (m, 1H), 3,2-3,3 (m, 3H), 3,42 (pentet, 1H), 3,53 (m, 1H), 3,77 (m, 1H), 4,2-4,3 (m, 3H), 4,42 (dd, 1H), 7,15 (d, 2H), 8,10 (d, 2H).

¹³C-NMR (125 MHz, MeOD), guanidin: δ 160,8; karbonylkarboner: δ 174,3, 168,9, 168,2.

Eksempel 51

(HO)₂P(O)-CH₂-(R)Cha-Pro-Nag x HOAc

(EtO)₂PO-CH₂-(R)Cha-Pro-Nag(Z) (se eksempel 53), 60 mg (92 mmol) ble oppløst i 3 ml CH₃CN. Trimetylsilylbromid, 0,15 ml ble tilsatt og blandingen ble latt stå ved romtemperatur i 21 timer. Etter avdampning og NMR analyse ble det oppdaget at noe ester var igjen. Råmaterialet ble på ny løst opp i 3 ml

CH₃CN og 0,15 ml trimetylsilylbromid ble tilsatt. Etter 5 timer ble blandingen avdampet og rensset med RPLC (CH₃CN/NH₄-OAc (0,1 M), 30:70) for å tilveiebringe sluttforbindelsen etter filtrering, avdampning og frysetørking i et 8 %
5 utbytte.

¹H-NMR (500 MHz, MeOD): δ 0,8-1,1 (m, 2H), 1,15-1,4 (m, 4H), 1,5-1,9 (m, 10H), 1,9-2,1 (m, 4H), 1,96 (s, acetat), 2,20 (m, 1H), 2,95 (m, 1H), 3,0-3,2 (m, 3H), 3,4-3,5 (m, 2H), 4,09 (m,
10 1H), 4,39 (bd, 1H), 4,59 (m, 1H).

¹³C-NMR (125 MHz, MeOD): guanidin: δ 158,6; karbonylkarboner: δ 174,2, 170,6.

15 Eksempel 52

EtO(HO)P(O)-CH₂-(R)Cha-Pro-Nag x 2 HOAc

(i) (EtO)(HO)PO-CH₂-(R)Cha-Pro-Nag(Z)

20 (EtO)₂PO-CH₂-(R)Cha-Pro-Nag(Z) (se eksempel 53), 50 mg (77 mmol) ble løst opp i 2 ml EtOH og 2 ml 2 M NaOH. Blandingen ble omrørt over natt og avdampet. Råmaterialet ble rensset med RPLC (CH₃CN/NH₄OAc (0,1 M), 30:70) for å tilveiebringe
25 tittelforbindelsen etter filtrering og avdampning av oppløsningsmidlet.

(ii) (EtO)(HO)PO-CH₂-(R)Cha-Pro-Nag x 2 HOAc

30 Fremstilt ved anvendelse av avspaltningsprosedyren (c) på produktet (i) ovenfor.

¹H-NMR (500 MHz, MeOD): δ 0,9-1,1 (m, 2H), 1,15-1,35 (m, 6H; derav 1,28 (t, 3H)), 1,35-1,5 (m, 2H), 1,5-1,6 (m, 1H), 1,65-
35 1,8 (m, 6H), 1,9-2,1 (m, 3H), 1,91, (s, acetat), 2,19 (m, 1H), 2,8-3,0 (m, 2H), 3,1-3,25 (m, 2H), 3,27 (m, 1H), 3,36 (m, 1H), 3,48 (m, 1H), 3,9-4,05 (m, 4H), 4,36 (bd, 1H).

^{13}C -NMR (125 MHz, MeOD): guanidin: δ 158,6; karbonylkarboner: δ 157,0, 174,7.

Eksempel 53

5

(EtO) $_2$ P(O)-CH $_2$ -(R)Cha-Pro-Nag x HOAc

(i) (EtO) $_2$ PO-CH $_2$ -(R)Cha-Pro-Nag(Z)

10 H-(R)Cha-Pro-Nag(Z) (se eksempel 20), 0,2 g (0,40 mmol) ble oppløst i 5 ml THF og 0,11 g (0,80 mmol) kaliumkarbonat og 0,12 g (0,40 mmol) dietyltriflylmetylfosfonat ble tilsatt. Blandingen ble omrørt ved romtemperatur i 2 timer. Reaksjonen ble opparbeidet med vann og ekstrahering av det vandige laget
15 tre ganger med EtOAc. Det kombinerte organiske laget ble tørket (Na $_2$ SO $_4$) og avdampet for å tilveiebringe 0,14 g (53 %) av tittelforbindelsen.

(ii) (EtO) $_2$ PO-CH $_2$ -(R)Cha-Pro-Nag x HOAc

20

Fremstilt ved anvendelse av avspaltningsprosedyren (c) på produktet (i) ovenfor.

25 ^1H -NMR (500 MHz, MeOD): δ 0,85-1,05 (m, 2H), 1,15-1,3 (m, 5H), 1,34 (t, 6H), 1,5-1,85 (m, 8H), 1,9-2,05 (m, 3H), 1,91 (s, acetat), 2,10 (m, 1H), 2,22 (m, 1H), 2,90 (dd, 1H), 3,05 (dd, 1H), 3,1-3,3 (m, 3H), 3,42 (m, 1H), 3,53 (m, 1H), 3,71 (dd, 1H), 3,82 (m, 1H), 4,1-4,2 (m, 4H), 4,28 (dd, 1H).

30 ^{13}C -NMR (125 MHz, MeOD), guanidin: δ 158,7; karbonylkarboner: δ 176,1, 175,1.

Eksempel 54

35 **HOOC-CH $_2$ -(R)Cha-Pro-Mag x HOAc**

(i) H-(R)Cha-Pro-NH-(CH $_2$) $_2$ -NH(Z)

Fremstilt fra Boc-(R)Cha-Pro-OSu og $\text{H}_2\text{N-CH}_2)_2\text{-NH(Z)}$ på samme måte som beskrevet for H-(R)Cha-Pro-Agm(Z) i eksempel 3.

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

Alkylering som i eksempel 4 etterfulgt av avspaltningsprosedyren (a) ga tittelforbindelsen.

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

Guanidering av aminet ovenfor på samme måte som beskrevet i eksempel 19 for Z-(R)Cha-Pro-Nag etterfulgt av avspaltningsprosedyre (e) ga tittelforbindelsen etter rensing ved RPLC ($\text{CH}_2\text{CN/NH}_4\text{Aoc}$ (0,1 M), 1/4) og frysetørking (H_2O).

$^1\text{H-NMR}$ (300 MHz, D_2O): δ 0,90-1,18 (m, 2H), 1,19-1,43 (m, 3H), 1,52 (m, 1H), 1,63-2,20 (m, 10H), 2,06 (s, acetat), 2,31-2,47 (m, 1H), 3,44 (m, 2H), 3,50 (m, 2H), 2,60-3,75 (m, 3H), 3,85 (m, 1H), 4,46-4,54 (m, 2H).

$^{13}\text{C-NMR}$ (75 MHz, D_2O): guanidin: δ 157-82; karbonylkarboner: δ 168,80, 171,42, 174,81.

Eksempel 55

H-(R,S)Pro(3-Ph)-Pro-Agm x 2 TFA

Fremstilt fra Boc-(R,S)Pro(3-Ph)-Pro-OSu (se fremstilling av utgangsmaterialene) på samme måte som beskrevet for H-(R)Cha-Pro-Agm(Z) i eksempel 3 etterfulgt av avspaltningsprosedyre (b).

$^1\text{H-NMR}$ (500 MHz, D_2O , blanding av to diastereomerer med ukjent relativ stereokjemi): δ 1,0-1,8 (m, 7H), 2,0-2,5 (m, 3H), 2,8-4,3 (m, 10H), 4,56 (d, 1H, hoved), 4,90 (d, 1H, hoved), 7,2-7,5 (m, 5H).

^{13}C -NMR (125,76 MHz, D_2O): guanidin: 157,36 (mindre og hoved); karbonylkarboner: δ 174,1 (hoved), 174,0 (mindre), 167,8 (hoved), 167,0 (mindre).

5 Eksempel 56

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

10 Fremstilt fra Boc-(R,S)Pro(3-(trans)Ch)-Pro-OSu (se fremstilling av utgangsmaterialer) på samme måte som beskrevet for H-(R)Cha-Pro-Agm(Z) i eksempel 3 etterfulgt av avspaltningprosedyre (b).

15 ^1H -NMR (500 MHz, D_2O , blanding av to diastereomerer, forhold, 1,8/1): δ 0,95-1,32 (m, 5H), 1,35-1,46 (m, 1H), 1,50-1,92 (m, 10H), 1,93-2,15 (m, 4H), 2,23-2,43 (m, 2H), 3,15-3,30 (m, 4H), 3,35-3,50 (m, 2H), 3,57-3,68 (m, 1H), 3,74-3,82 (m, 1H), 4,34-4,41 (m, 1H), 4,51 (d, 1H, mindre), 4,48 (d, 1H, hoved).

20 ^{13}C -NMR (125,76 MHz, D_2O): guanidin: δ 157,36 (mindre og hoved), karbonylkarboner: δ 174,34 (hoved), 174,07 (mindre), 168,94 (mindre og hoved).

Eksempel 57

25

HOOC-CH₂-(R,S)Pro(3-(trans)Ph)-Pro-Agm x 2 TFA

(i) H-(R,S)Pro(3-(trans)Ph)-Pro-Agm(Z)

30 Fremstilt fra Boc-(R,S)Pro(3-(trans)Ph)-Pro-OSu (se fremstilling av utgangsmaterialene) og Boc-Nag(Z) på samme måte som beskrevet for H-(R)Cha-Pro-Agm(Z) i eksempel 3.

(ii) HOOC-CH₂-(R,S)Pro(3-(trans)Ph)-Pro-Nag x 2 TFA

35

Alkylering som i eksempel 4 ved anvendelse av $\text{Br-CH}_2\text{ClIBn}$

etterfulgt av avspaltningsprosedyre (b) ga tittelforbindelsen som en blanding av to diastereomerer.

¹H-NMR (500 MHz, MeOD, blanding av to diastereomerer, forhold ca: 1,5/1): δ 1,40-1,85 (m, 4H), 1,90-2,00 (m, 1H), 2,10-2,30 (m, 1H), 2,45-2,70 (m, 2H), 3,08-3,46 (m, 6H), 3,57-3,70 (m, 2H), 3,90-4,0 (m, 1H), 4,32-4,40 (m, 1H), 4,04 og 4,29 (AB-kvartett, 2H hoved), 4,60 (d, 1H, hoved), 4,64 (d, 1H, mindre), 7,3-7,6 (m, 5H).

¹³C-NMR (125,76 MHz, D₂O): guanidin: δ 157,48 (begge isomerer); karbonylkarboner: δ 173,90, 173,71, 169,01, 168,94, 167,07 (begge isomerer).

Eksempel 59

HOOC-CH₂-(R)Cha-Pic-Agm x 2 TFA

(i) H-(R)Cha-Pic-Agm(Z)

Fremstilt fra Boc-(R)Cha-Pic-OSu (se fremstilling av utgangsmaterialer) på samme måte som beskrevet for H-(R)Cha-Pro-Agm(Z) i eksempel 3.

(ii) HOOC-CH₂-(R)Cha-Pic-Agm x 2 TFA

Alkylering som i eksempel 4 ved anvendelse av Br-CH₂COOBn etterfulgt av avspaltningsprosedyre (a) ga tittelforbindelsen.

¹H-NMR (300 MHz, MeOD): δ 1,02 (m, 2H), 1,13-2,00 (m, 20H), 2,24 (bd, 1H), 3,12-3,45 (m, 5H), 3,71 (bd, 1H), 3,87 (s, 2H), 4,65 (bt, 1H), 5,06 (m, 1H).

¹³C-NMR (75 MHz, D₂O): guanidin: δ 157,47; karbonylkarboner: δ 169,42, 170,03, 172,71.

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

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

Fremstilt fra Boc-(Me)(R)Cha-Pic-OSu på samme måte som beskrevet for H-(R)Cha-Pro-Agm(Z) i eksempel 3.

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

Alkylering som i eksempel 4 ved anvendelse av Br-CH₂COOBn etterfulgt av avspaltningsprosedyre (b) ga tittelforbindelsen.

15

Kommentar: En epimerisering av Pic oppsto i løpet av syntesen.

1^H-NMR spekteret er komplekset bestående av to diastereomerer ca 1:1 forhold og rotamerer derav.

20

1^H-NMR (500 MHz, MeOD): δ 0,75-2,15 (flere m, 20H), 1,95 (bs, acetat), 2,2-2,7 (6H, to bestemte sett av signaler blir observert i forholdet ca 1:1; derav 2,35 og 2,55 (s, 3H)), 3,0-3,5 (m, 6H), 3,9-4,17 (m, 2H; derav 4,14 (dd)), 4,4-4,5 (m, 1H), 4,97-5,15 (to bdd, 1H).

25

1³C-NMR (75 MHz, D₂O): guanidin: δ 157,50; karbonylkarboner: δ 169,65, 170,01, 170,54, 172,67, 172,89.

30

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

35 Alkylering som i eksempel 4 ved anvendelse av H-(R)Cha-Pic-Agm(Z) (se eksempel 59) og Br-CH(Me)COOBn etterfulgt av

avspaltningsprosedyre (a) ga tittelforbindelsen som en blanding av to diastereomerer.

Eksempel 62

5

HOOC-(RellerS)CH(Me)-(R)Cha-Pic-Agm/a x 2 TFA

Oppnådd ved separering av diastereomerene dannet i eksempel 61 ved avnendelse av RPLC (CH₃CN/NH₄OAc (0,1 M), 1/3) etterfulgt av avdampning av oppløsningsmidlet og frysetørking fra H₂O/TFA. Denne diastereomeren kom ut først av de to fra kolonnen.

¹H-NMR (300 MHz, D₂O, 2 rotamerer ca: 5:1 forhold): δ 0,70 (m, mindre rotamer), 0,75-1,0 (m, 2H), 1,0-1,28 (m, 3H), 1,29-1,83 (m, 20H; derav 1,57 (d, 3H)), 2,14 (bd, 1H), 2,92 (t, mindre rotamer), 3,03-3,32 (m, 5H), 3,59 (bd, 1H), 3,85 (q, mindre rotamer), 3,98 (q, 1H), 4,30-4,50 (m, mindre rotamer), 4,54 (m, 1H), 4,95 (s, 1H).

20

¹³C-NMR (75 MHz, D₂O): guanidin: δ 157,39; karbonylkarboner: δ 172,26 (2 karboner), 169,92.

Eksempel 63

25

HOOC-(RellerS)CH(Me)-(R)Cha-Pic-Agm/b x 2 TFA

Tittelforbindelsen ble oppnådd ved anvendelse av samme prosedyre som beskrevet i eksempel 62 på forbindelsen dannet i eksempel 61. Denne diastereomeren kom ut etter den første fra kolonnen.

¹H-NMR (500 MHz, D₂O, 2 rotamerer ca: 5:1 forhold): δ 0,72 (m, mindre rotamer), 0,82 (m, mindre rotamer), 0,97 (m, 2H), 1,0-1,23 (m, 3H), 1,23-1,40 (m, 2H), 1,40-1,83 (m, 18H; derav 1,63 (d, 3H)), 2,11-1,40 (m, 2H), 2,17 (d, mindre rotamer), 2,92 (t, mindre rotamer), 3,05-3,25 (m, 4H), 3,29 (t, 1H),

35

3,74 (d, 1H), 4,02 (q, 1H), 4,34 (d, mindre rotamer), 4,41 (dd, mindre rotamer), 4,52 (t, 1H), 4,95 (s, 1H).

¹³C-NMR (135 MHz, D₂O): guanidin: δ 154,68; karbonylkarboner: δ 169,60, 167,36.

Eksempel 64

HOOC-CH₂-CH₂-(R)Cha-Pic-Agm x 2 TFA

Fremstilt fra H-(R)Cha-Pic-Agm(Z) (se eksempel 59) på samme måte som beskrevet for HOOC-CH₂-CH₂-(R)Cha-Pro-Agm i eksempel 15 ved anvendelse av 1,2 ekv benzylkarylat i stedet for 1,1 ekv.

¹H-NMR (500 MHz, D₂O, 2 rotamerer ca: 4:1 forhold): δ 0,70-0,90 (m, mindre rotamer), 0,90-1,0 (m, 2H), 1,05-1,25 (m, 3H), 1,30-1,45 (m, 2H), 1,45-1,85 (m, 15H), 2,1 (bd, 1H), 2,2 (bd, mindre rotamer), 2,75 (t, 2H), 2,95 (t, mindre rotamer), 3,1-3,4 (m, 7H), 3,75 (bd, 1H), 4,55 (t, 1H), 4,95 (m, 1H).

¹³C-NMR (75 MHz, D₂O): guanidin: δ 157,48; karbonylkarboner: δ 170,10, 172,58, 174,75.

Eksempel 65

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

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

(1a) Fremstilt ved å begynne fra Boc-(R)Cha-Pic-OSu ved anvendelse av den samme prosedyre som beskrevet for Boc-(R)Cha-Pro-Agm(Z) i eksempel 3.

(ib) Fremstilt ved å begynne fra Bov-(R)Cha-Pic-OH

Difenylfosforylazid (0,432 ml, 2 mmol) ble tilsatt til en omrørt oppløsning av Boc-(R)Cha-Pic-OH (765 mg, 2 mmol) i 5 mL DHF ved -10°C . Etter 10 min. ble H-Nag(Z) x 2 HCl (600 mg, 2,1 mmol), se fremstilling av utgangsmaterialet) i 5 ml DMF og trimetylamin (615 mg, 4,4 mmol) tilsatt. Reaksjonsblandingene ble oppbevart i et isbad i 3 timer og deretter ved romtemperatur i 12 timer og ble deretter helt ut i vann. Ekstrahering av vannfasen med EtOAc etterfulgt av tørking (MgSO_4) av den organiske fasen og avdampning av oppløsningsmidlet i vakuum ga 1,18 g (96 %) av produktet som en blanding av diastereomerer (epimerer i Pic) i et forhold på 97:3 (RS/RR).

(ic) Begynnende fra Boc-(R)Cha-Pic-OH

EDC hydroklorid (4,2 g, 21,9 mmol) ble tilsatt ved -15°C til en omrørt oppløsning av Boc-(R)Cha-Pic-OH (8 g, 20,9 mmol) DMAP (10,6 g, 88 mmol) og H-Nag-(Z) x 2 HCl (6,3 g, 19,5 mmol, se fremstilling av utgangsmaterialet) i acetonitril. Reaksjonsblandingene ble varmet opp til $+15^{\circ}\text{C}$ i løpet av 16 timer. Oppløsningsmidlet ble fjernet i vakuum og resten ble løst opp i etylacetat. Vasking med vann, 0,3 M KHSO_4 , 0,3 M NaHCO_3 , vann og saltvann etterfulgt av tørking (Na_2SO_4) og avdampning av oppløsningsmidlet ga 11,9 g (92,5 %) av produktet som en blanding av diastereomerer (epimerer i Pic) i et forhold på 98/2 (RS/RR).

$^1\text{H-NMR}$ (500 MHz, CDCl_3): δ 0,85-2,0 (m, 29H; derav, 1,40 (bs, 9H)), 2,46 (bd, 1H), 3,1-3,4 (m, 5H), 3,92 (bd, 1H), 4,53 (bq, 1H), 5,10 (s, 2H), 5,22 (bs, 1H), 5,29 (bd, 1H), 6,7-7,2 (b, 3H), 7,25-7,45 (m, 5H).

$^{13}\text{C-NMR}$ (125 MHz, CDCl_3): guanidin δ 156,9; karbonylkarboner: δ 173,6, 170,3, 163,7, 161,7.

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

Fremstilt på samme måte som beskrevet for H-(R)Cha-Pro-Agm(Z) i eksempel 3, begynnende fra Boc-(R)Cha-Pic-Nag(Z).

5

$^1\text{H-NMR}$ (500 MHz, CDCl_3) δ 0,8-2,0 (m, 22H), 2,24 (bd, 1H), 3,1-3,4 (m, 5H), 3,72 (bd, 1H), 3,84 (bq, 1H), 5,05 (bd, 1H), 5,08 (s, 2H), 7,3-7,5 (m, 5H).

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

Fremstilt ved anvendelse av avspaltningsprosedyren (a) på produktet (ii) ovenfor.

15

$^1\text{H-NMR}$ (500 MHz, MeOD): δ 0,9-1,1 (m, 2H), 1,2-2,0 (m, 18H), 2,32 (bd, 1H), 3,20 (t, 2H), 3,30 (t, 2H), 3,36 (m, 1H), 3,69 (bd, 1H), 4,49 (dd, 1H), 5,05 (bd, 1H).

$^{13}\text{C-NMR}$ (125 MHz, MeOD): guanidin: δ 158,7; karbonylkarboner: δ 172,7, 171,4.

20

Eksempel 66**Me-(R)Cha-(R,S)Pic-Nag x 2 TFA**

25

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

Fremstilt på samme måte som beskrevet for H-(R)Cha-Pro-Agm(Z) i eksempel 3 begynnende fra Boc-(Me)(R)Cha-Pic-OSu og Boc-Nag(Z). En epimerisering av Pic oppsto i løpet av syntesen og produktet ble oppnådd som blanding av to diastereomerer.

30

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

Fremstilt ved anvendelse av avspaltningsprosedyren (b).

35

$^1\text{H-NMR}$ spekteret er omfattende bestående av to diastereomere ca: 4:1 forhold og rotamerer derav.

¹H-NMR (500 MHz, MeOD): δ 0,8-1,08 (m, 2H), 1,15-2,4 (flere m, 19H), 2,6-2,75 og 2,9-2,95 (flere s, 3H) 3,1-3,6 (flere m, 5H), 3,75-4,1 (flere m, 1H), 4,4-4,7 (flere m, 1H), 5,05-5,15 (to dd, 1H).

¹³C-NMR (125 MHz, D₂O): guanidin: δ 154,84; karbonylkarboner: δ 167,60 og 169,99.

Eksempel 67

HOOC-CH₂-(R)Cha-Pic-Nag

(i) BnOOC-CH₂-(R)Cha-Pic-Nag(Z)

Alkylering som i eksempel 4 ved anvendelse av H-(R)Cha-Pic-Nag(Z) (se eksempel 65) og Br-CH₂COOBn ga tittelforbindelsen.

¹H-NMR (500 MHz, CDCl₃): δ 0,8-1,0 (m, 2H), 1,1-1,7 (m, 19H), 1,79 (bd, 1H), 2,3-2,5 (m, 2H; derav 2,38 (bd, 1H)), 3,00 (bt, 1H), 3,1-3,4 (m, 5H; derav 3,38 (d, 1H));, 3,58 (d, 1H), 3,6-3,7 (m, 2H), 5,06 (dd, 2H), 5,07 (s, 2H), 5,16 (bs, 1H), 6,7-7,1 (b, 1H), 7,15 (bs, 1H), 7,2-7,4 (m, 10H).

¹³C-NMR (125 MHz, CDCl₂) guanidin og karbonylkarboner: δ 176,0, 173,6, 170,8, 163,8, 161,7.

(iia) HOOC-CH₂-(R)Cha-Pic-Nag x 2 HCl

Avspaltningsprosedyre (a) etterfulgt av rensing med RPLC ved anvendelse av CH₃CN/0,1 M NH₄OAc, 1/3 som euleringmiddel, avdampning ved 40-50°C og frysetørking ga tittelforbindelsen som acetat. Behandling med et 20-ganger overskudd av saltsyre, avdampning og fornyet frysetørking ga bis-hydrokloridet av den ønskede forbindelsen.

$^1\text{H-NMR}$ (500 MHz, D_2O): guanidin δ : 157,4; karbonylkarboner: δ 169,9, 170,2, 173,0.

(iib) $\text{HOOC-CH}_2\text{-(R)Cha-Pic-Nag} \times 2 \text{ HBr}$

5

$\text{BnOOC-CH}_2\text{-(R)Cha-Pic-Nag(Z)}$ ble løst opp i $^1\text{Pr-OH/H}_2\text{O}$ (95/5) og hydrert over 5 % Pd/C ved atmosfærisk trykk i nærvær av HBr (2,2 ekv.). Katalysatoren ble filtrert ut og oppløsningsmidlet avdampet til en gul olje. (Alternativt kan syren ble tilsatt etter hydrering og filtrering). Krystallisering fra $^1\text{Pr-OH}$ (eller EtOH)/EtOAc (1/1) ga tittelforbindelsen som et hvitt krystallinsk pulver.

10

$^1\text{H-NMR}$ (500 MHz, D_2O , blandinger av to rotamerer): δ 1,15-2,0 (m, 20H), 2,30 (bd, 1H), 3,30 (m, 2H), 3,40-3,50 (m, 3H), 3,85-3,90 (m, 1H), 3,95 (tilsynelatende s, 2H), 4,75-4,85 (m, 1H, delvis skjult av H-O-D-linjen), 5,10 (bs, 1H).

15

$^{13}\text{C-NMR}$ (125 MHz, D_2O): guanidin: δ 157,6; karbonylkarboner: δ 169,7, 170,2, 173,0.

20

Eksempel 68

$\text{MeOOC-CH}_2\text{-(R)Cha-Pic-Nag} \times 2 \text{ TFA}$

25

Metylester $\text{MeOOC-CH}_2\text{-(R)Cha-Pic-Nag(Z)}$ ble oppnådd ved transforestring av $^1\text{PrOOC-CH}_2\text{-(R)Cha-Pic-Nag(Z)}$ (se eksempel 69) på kolonnen i løpet av flammekromatografi når $\text{CH}_2\text{Cl}_2/\text{MeOH}$ ble anvendt som elueringsmiddel. Tittelforbindelsen ble oppnådd ved avspaltningsprosedyren (a).

30

$^1\text{H-NMR}$ (500 MHz, MeOD): δ 0,95-1,15 (m, 2H), 1,2-1,6 (m, 6H), 1,65-2,0 (m, 13H), 2,25 (bd, 1H), 3,21 (t, 2H), 3,30 (t, 2H), 3,37 (m, 1H), 3,71 (m, 1H), 3,83 (s, 3H), 3,97 (dd, 2H), 4,67 (bt, 1H), 5,05 (bs, 1H).

35

^{13}C -NMR (125 MHz, MeOD), guanidin: δ 158,0; karbonylkarboner:
 δ 173,0, 171,1 168,3.

Eksempel 69

5

$^i\text{PrOOC-CH}_2\text{-(R)Cha-Pic-Nag x 2 TFA}$

Alkylering som beskrevet i eksempel 4 ved anvendelse av H-
(R)Cha-Pic-Nag(Z) (se eksempel 65) og $\text{Br-CH}_2\text{-COO}^i\text{Pr}$ etter-
10 fulgt av avspaltningsprosedyren (a) ga tittelforbindelsen.

^1H -NMR (500 MHz, MeOD): δ 0,95-1,1 (m, 2H), 1,15-1,6 (m, 12H;
derav 1,25 (d, 3H), 1,28 (d, 3H)), 1,65-1,95 (m, 12H), 2,28
(bd, 1H), 3,21 (t, 2H), 3,30 (t, 2H), 3,36 (m, 1H), 3,93 (dd,
15 2H), 4,67 (t, 1H), 5,04 (bs, 1H), 5,11 (pentet, 1H).

^{13}C -NMR (125 MHz, MeOD): guanidin: δ 157,9; karbonylkarboner:
 δ 173,1, 171,0, 168,3.

20

Eksempel 70

$\text{HOOC-CH}_2\text{-(Me)(R)Cha-(RellerS)Pic-Nag/b x 2 TFA}$

Alkylering som beskrevet i eksempel 4 ved avnendelse av
25 $\text{Me(R)Cha-(R,S)Pic-Nag(Z)}$ (se eksempel 66) og $\text{Br-CH}_2\text{COOBn}$
etterfulgt av avspaltningsprosedyre (b) ga $\text{HOOC-CH}_2\text{-(Me)(R)-}$
 Cha-(R,S)Pic-Nag . De to diastereomerene ble separert ved RPLC
($\text{CH}_3\text{CN/NH}_4\text{OAc}$, 1:3) etterfulgt av frysetørking fra $\text{H}_2\text{O/TFA}$.
Denne diastereomeren kom ut sist av de to fra kolonnen.

30

^1H -NMR (500 MHz, MeOD): δ 0,9-1,1 (m, 2H), 1,15-1,35 (m, 4H),
1,4-1,55 (m, 2H), 1,6-1,85 (m, 12H), 2,3 (m, 1H), 2,85 (s,
3H), 3,15-3,45 (m, 5H), 3,65 (bs, 2H), 4,0 (m, 1H), 4,65 (m,
1H), 5,08 (dd, 1H).

35

^{13}C -NMR (75 MHz, D_2O): guanidin: δ 157,65; karbonylkarboner:
 δ 169,86 og 172,48.

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

5 Alkylering som beskrevet i eksempel 4 ved anvendelse av H-(R)Cha-Pic-Nag(Z) (se eksempel 65) og Br-CH(Me)-COOBn etterfulgt av avspaltningsprosedyre (a) ga tittelforbindelsen som en blanding av fire diastereomerer.

Eksempel 72**HOOC-(RellerS)CH(Me)-(R)Cha-(RellerS)Pic-Nag/c x 2 TFA**

15 Oppnådd ved separering av diastereomerene dannet i eksempel 71 ved anvendelse av RPLC (CH₃CN/NH₄OAc (0,1 M), 1/4) etterfulgt av avdampning og frysetørking fra H₂O/TFA. Denne diastereomeren kom ut som nr 3 av de fire fra kolonnen.

20 ¹H-NMR (300 MHz, D₂O, rotamerer ca: 5:1 forhold): δ 0,88 (m, mindre rotamer), 0,98-1,63 (m, 7H), 1,63-2,02 (m, 16H; derav 1,68 (d, 3H), 2,28 (m, 1H), 3,10 (t, mindre rotamer), 3,25-3,50 (m, 5H; derav 3,33 (t, 2H) og 3,43 (t, 2H)), 3,82 (bd, 1H), 4,02 (q, 1H), 4,55 (d, mindre rotamer), 4,65 (t, mindre rotamer), 4,72 (m, 1H), 5,10 (m, 1H).

25

Eksempel 73**HOOC-(RellerS)-CH(Me)-(R)Cha-(RellerS)Pic-Nag/d x 2 TFA**

30 Oppnådd ved separering av diastereomerene dannet i eksempel 71 ved anvendelse av RPLC (CH₃CN/NH₄OAc (0,1 M), 1:4) etterfulgt av avdampning og frysetørking fra H₂O/TFA. Denne diastereomeren kom ut sist av de fire diastereomerene fra kolonnen.

35

¹H-NMR (500 MHz, D₂O, 2 rotamerer ca: 5:1 forhold): δ 0,80 (m, mindre rotamer), 0,90 (m, mindre rotamer), 1,03 (m, 2H),

1,10-1,33 (m, 3H), 1,42 (m, 2H), 1,51-1,92 (m, 16H, derav 1,57 (d, 3H)), 2,18 (d, 1H), 2,24 (d, mindre rotamer), 2,98 (t, mindre rotamer), 3,21 (t, 2H), 3,28-3,40 (m, 3H, derav 3,44 (t, 2H)), 3,82 (d, 1H), 4,02 (q, 1H), 4,42 (d, mindre rotamer), 4,50 (t, mindre rotamer), 4,62 (t, 1H), 4,67 (s, mindre rotamer), 5,03 (s, 1H).

Eksempel 74

10 HOOC-CH₂-CH₂-(R)Cha-Pic-Nag x 2 TFA

Fremstilt fra H-(R)Cha-Pic-Nag(Z) (se eksempel 65) på samme måte som beskrevet for HOOC-CH₂-CH₂-(R)Cha-Pro-Agm i eksempel 15 ved anvendelse av 1,2 ekv. benzylakrylat i stedet for 1,1 ekv.

1H-NMR (500 MHz, D₂O, 2 rotamerer ca: 4:1 forhold): δ 0,7-0,9 (m, mindre rotamer), 0,9-1,0 (m, 2H), 1,05-1,3 (m, 3H), 1,3-1,45 (m, 2H), 1,5-1,8 (m, 13H), 2,10 (d, 1H), 2,20 (s, mindre rotamer), 2,75 (t, 2H), 2,95 (t, mindre rotamer), 3,15 (t, 2H), 3,2-3,35 (m, 5H), 3,75 (d, 1H), 4,55 (t, 1H), 4,95 (m, 1H).

13C-NMR (75 MHz, D₂O): guanidin: δ 157,57, karbonylkarboner δ 170,16, 172,82, 174,75.

Eksempel 75

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

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

Fremstilt fra Boc-(R)Cha-Mor-OSu (se fremstilling av utgangsmaterialet) på samme måte som beskrevet for H-(R)Cha-Pro-Agm(Z) i eksempel 3.

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

Alkylering som i eksempel 4 ved anvendelse av Br-CH₂COOBn etterfulgt av avspaltningprosedyre (b) ga tittelforbindelse. En epimerisering av Mor var oppstått et eller annet sted i løpet av syntesen og en blanding av omtrent 9:1 av to diastereomerer ble observert i sluttproduktet.

¹H-NMR (300 MHz, MeOD): δ 0,92-1,95 (m, 17H), 3,12-3,39 (m, 4H), 3,44-4,05 (m, 7H), 4,37 (s, 1H), 4,63 (m, 1H), 4,79 (bd, 1H).

¹³C-NMR (75,47 MHz, MeOD): guanidin: δ 158,63, karbonylkarboner: δ 170,87, 170,82, 169,08 andre: δ 69,06, 67,01 (C-O-C).

Eksempel 76

HOOC-CH₂-(R)Cha-(RellerS)Mor-Nag x 2 TFA

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

Fremstilt fra Boc-(R)Cha-Mor-OSu (se fremstilling av utgangsmaterialet) og Boc-Nag(Z) på samme måte som beskrevet for H-(R)Cha-Pro-Agm(Z) i eksempel 3.

(ii) HOOC-CH₂-(R)Cha-(RellerS)Mor-Nag x 2 TFA

Alkylering som beskrevet i eksempel 4 ved anvendelse av Br-CH₂COOBn etterfulgt av avspaltningprosedyre (b) ga tittelforbindelsen.

¹H-NMR (300 MHz, MeOD): δ 0,92-1,13 (m, 2H), 1,15-1,42 (m, 3H), 1,50 (br.s, 1H), 1,62-1,95 (m, 9H), 3,14-3,40 (m, 4H), 3,46-4,13 (m, 7H), 4,41 (s, 1H), 4,63 (m, 1H), 4,80 (br. d, 1H).

¹³C-NMR (75,47 MHz, MeOD): guanidin: δ 158,68, karbonyl-

karboner: δ 171,19, 170,90, 169,46. andre: δ 68,81, 67,00 (C-O-C).

Eksempel 77

5

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

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

10

Fremstilt fra Boc-(R)Cha-Aze-OH på samme måde som beskrevet for Boc-(R)Cha-Pic-Nag(Z) ifølge eksempel 65 (ic.).

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

15

Fremstilt på samme måde som beskrevet for H-(R)Cha-Pro-Agm(Z) (se eksempel 3).

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

20

Fremstilt ved anvendelse af avspaltningsprosedyre (a) på produktet (ii) ovenfor.

$^1\text{H-NMR}$ (300 MHz, D_2O): δ 0,85-1,10 (m, 2H), 1,10-2,04 (m, 13H) 1,95 (s, acetat), 2,20-2,37 (m, 1H), 2,60-2,82 (m, 1H),
25 3,15-3,40 (m, 4H), 3,96-4,15 (m, 2H), 4,18-4,30 (m, 1H), 4,30-4,42 (m, 1H), signaler til en mindre rotamer fremkom ved: δ 0,70, 3,90 og 5,10.

$^{13}\text{C-NMR}$ (75 MHz, D_2O): guanidin: δ 157,39 og karbonylkarboner: δ 170,22 og 172, 38.

30

Eksempel 78

$\text{HOOC-CH}_2(\text{R})\text{Cha-Aze-Nag}$ x HOAc

35

(i) $\text{BnOOC-CH}_2-(\text{R})\text{Cha-Aze-Nag}(\text{Z})$

Fremstilt fra H-(R)Cha-Aze-Nag(Z) (se eksempel 77) ifølge fremgangsmåten beskrevet i eksempel 4.

(ii) HOOC-CH₂-(R)Cha-Aze-Nag x HOAc

5

Fremstilt ved anvendelse av avspaltning (a) på produktet (i) ovenfor.

10

¹H-NMR (500 MHz, MeOD): δ 0,90-1,10 (m, 2H), 1,15-2,00 (m, 13H), 1,95 (s, acetat), 2,20-2,30 (m, 1H), 2,58-2,70 (m, 1H), 3,17-3,30 (m, 4H), 3,35-3,50 (m, 2H), 3,55-3,68 (m, 1H), 4,10-4,20 (m, 1H), 4,30-4,38 (m, 1H), 4,65-4,77 (m, 1H), signaler til mindre rotamer fremkom ved: δ 3,75, 3,98, 4,03 og 5,08.

15

¹³C-NMR (75 MHz, D₂O): guanidin: δ 157,40 og karbonylkarboner: δ 169,16, 171,92 og 172,13.

Eksempel 79

20

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

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

25

Samme prosedyre som beskrevet for koblingen mellom Boc-(R)Cha-OH og H-Pic-OEt x HCl (se fremstilling av utgangsmaterialet) ble anvendt for å oppnå koblingen mellom Boc-(R)Cha-Pro(5-(S)Me)-OH og H-Nag(Z) x 2 HCl.

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

30

Samme prosedyre som beskrevet for syntese av H-(R)-Cgl-Pic-Nag(Z) (se eksempel 84 (ii) ble anvendt.

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

35

Fremstilt ved anvendelse av avspaltningprosedyre (d) på produktet (ii) ovenfor.

$^1\text{H-NMR}$ (300 MHz, D_2O): δ 1,0-2,3 (m, 21H), derav 1,47 (s, 3H), 2,4-2,55 (m, 1H), 3,3-3,6 (m, 4H), 4,30 (bt, 1H), 4,38(dd, 1H), 4,47 (bt, 1H).

5 $^{13}\text{C-NMR}$ (75 MHz, D_2O): guanidin: δ 157,6 karbonylkarboner: δ 174,6, 169,6.

Eksempel 80

10 $\text{HOOC-CH}_2\text{-(R)Cha-Pro(5-(S)Me)-Nag x HOAc}$

Alkylering som i eksempel 4 ved anvendelse av H-(R)Cha-Pro(5-(S)Me)-Nag(Z) (se eksempel 79) og Br- $\text{CH}_2\text{-COOBn}$ etterfulgt av avspaltningsprosedyre (a) ga tittelforbindelsen.

15

$^1\text{H-NMR}$ (300 MHz, D_2O), δ 0,9-1,9 (m, 19H), derav 1,34 (bd, 3H), 1,93 (s, acetat), 2,0-2,2 (m, 3H), 2,34 (m, 1H), 3,1-3,5 (m, 7H), 3,97 (m, 1H), 4,20 (m, 1H), 4,31 (bt, 1H).

20

$^{13}\text{C-NMR}$ (75 MHz, D_2O): guanidin: δ 157,4.

Eksempel 81

25 $\text{HOOC-CH}_2\text{-(R)Cha-(RellerS)Pic(4,5-dehydro)-Nag/b x HOAc}$

(i) Boc-(R)Cha-(R,S)Pic(4,5-dehydro)-Nag(Z)
Fremstilt fra Boc-(R)Cha-(R,S)Pic(4,5-dehydro)-OH på samme måte som beskrevet for Boc-(R)Cha-Pic-Nag(Z) (se eksempel 65 (ic)).

30

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

Fremstilt på samme måte beskrevet for H-(R)Cha-Pro-Agm(Z) (se eksempel 3).

35

(iii) $\text{BnOOC-CH}_2\text{-(R)Cha-(R,S)Pic(4,5-dehydro)-Nag(Z)}$

Fremstilt fra H-(R)Cha-(R,S)Pic(4,5-dehydro)-Nag(Z) ifølge fremgangsmåten beskrevet i eksempel 4.

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

En blanding av 356 mg (0,539 mmol) $\text{BnOOC-CH}_2\text{-(R)Cha-(R,S)Pic(4,5-dehydro)-Nag(Z)}$, 10,8 ml trifluoreddiksyre og 3,4 ml tioanisol ble omrørt ved romtemperatur i 3,5 timer. Vann ble
10 tilsatt og blandingen ble vasket to ganger med CH_2Cl_2 avdampning av oppløsningsmiddelet ga $\text{HOOC-CH}_2\text{-(R)Cha-(R,S)Pic(4,5-dehydro)-Nag}$. Tittelforbindelsen ble oppnådd evd separering av diastereomerene ved RPLC ($\text{CH}_3\text{CN}/\text{NH}_4\text{OAc}$ (0,1 M), 3/7) og frysetørking (H_2O) etter avdampning av oppløsnings-
15 middelet. Diastereomeren kom ut sist av de to fra kolonnen.

$^1\text{H-NMR}$ (300 MHz, D_2O) δ 0,85-1,95 (m, 15H), 2,50-2,80 (m, 2H), 3,25 (t, 2H), 3,35 (t, 2H), 3,55 (bs, 2H), 3,85-4,6 (m, 3H), 4,92 (mindre rotamer), 5,30 (d, 1H), 5,85-6,1 (m, 2H),

20

$^{13}\text{C-NMR}$ (75 MHz, D_2O): guanidin: δ 157,59, karbonylkarboner: δ 171,46, 172,58, 173.03.

Eksempel 82

25

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

(i) $\text{Boc-(R)Cha-Pic(4-(S)Me)-Nag(Z)}$

30

Fremstilt fra $\text{Boc-(R)Cha-Pic(4-(S)Me)-OH}$ på samme måte som beskrevet for $\text{Boc-(R)Cha-Pic-Nag(Z)}$ ifølge fremgangsmåten (ic) i eksempel 65.

(ii) $\text{H-(R)Cha-Pic(4-(S)Me)-Nag(Z)}$

35

Fremstilt på samme måte beskrevet for $\text{H-(R)Cha-Pro-Agm(Z)}$ (se eksempel 3).

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

Fremstilt fra $\text{H-(R)Cha-Pic(4-(S)Me)-Nag(Z)}$ ifølge fremgangsmåten beskrevet i eksempel 4.

5

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

Fremstilt ved anvendelse af avspaltningsprosedyren (d) på produkt (iii) ovenfor.

10

$^1\text{H-NMR}$ (500 MHz, D_2O): δ 0,95-2,05 (m, 22H, derav 1,05 (d, 3H)), 2,30-2,38 (bd, 1H), 3,28-2,36 (m, 2H), 3,36-3,50 (m, 3H), 3,85-3,95 (m, 1H), 3,98 (s, 2H), 4,70-4,90 (m, 1H, delvis gjemt bak HOD signalet), 5,22-5,27 (d, 1H), signalet til en mindre rotamer fremkommer ved δ 0,93. 3,13 og 4,57

15

$^{13}\text{C-NMR}$ (125 MHz, D_2O): guanidin: δ 157,58; karbonylkarboner: δ 170,12, 170,32 og 172,82.

20

Eksempel 83

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

(i) $\text{Boc-(R)Cha-(R)Pic(4-(R)Me)-Nag(Z)}$

25

Fremstilt fra $\text{Boc-(R)Cha-(R)Pic(4-(R)Me)-OSu}$ og Boc-Nag(Z) på samme måde som beskrevet for $\text{Boc-(R)Cha-Pro-Agm(Z)}$ (se eksempel 3).

30

(ii) $\text{H-(R)Cha-(R)Pic(4-(R)Me)-Nag(Z)}$

Fremstilt på samme måde som beskrevet for $\text{H-(R)Cha-Pro-Agm(Z)}$ (se eksempel 3).

35

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

Fremstilt fra H-(R)Cha-(R)Pic(4-(R)Me)-Nag(Z) ifølge fremgangsmåten beskrevet i eksempel 4.

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

5

Dannet ved anvendelse av avspaltningsprosedyren (d) på produktet (iii) ovenfor.

10

¹H-NMR (500 MHz, D₂O): δ 1,00-2,05 (m, 22H), 2,18-2,26 (bd, 1H), 3,28-3,36 (m, 2H), 3,36-3,55 (m, 3H), 3,85-4,05 (m, 3H), 4,70-4,90 (m, 1H, delvis gjemt bak HOD signalet), 5,35-5,30 (d, 1H), signaler til mindre rotamer fremkommer ved: δ 2,40, 2,90, 4,10, 4,42, 4,55 og 5,23.

15

¹³C-NMR (125 MHz, D₂O): guanidin: δ 157,56; karbonylkarboner: δ 169,69, 169,84 og 173,20.

Eksempel 84

20

HOOC-CH₂-(R)Cgl-Pic-Nag x 2 HCl

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

25

Fremstilt fra Boc-(R)Cgl-Pic-OH på samme måte som beskrevet for Boc-(R)Cha-Pic-Nag(Z) ifølge fremgangsmåten (ic) i eksempel 65.

30

¹H-NMR (300 MHz, CDCl₃): δ 0,9-1,8 (m, 27H), 2,4 (d, 1H), 3,1-3,3 (m, 5H), 3,9 (d, 1H), 4,2 (t, 1H), 5,1 (s, 2H), 5,2 (bd, 2H), 6,7-7,4 (m, 9H).

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

35

gassformig hydrogenklorid ble boblet gjennom en oppløsning av Boc-(R)Cgl-pic-Nag(Z) (1,38 g, 2,22 mol) i etylacetat (25 ml). Etter 10 minutter ble oppløsningsmiddelet avdampet og resten ble løst opp i etylacetat og 10% Na₂CO₃. Den organiske fasen ble separert, vasket med saltvann og tørket (MgSO₄).

Avdampning av oppløsningsmiddelet ga 1,02 g (92%) av tittelforbindelsen.

¹H-NMR (300 MHz, MeOD): δ 1,0-1,9 (m, 18H), 2,2-2,3 (m, 1H),
5 3,2-3,3 (m, 5H), 3,6 (s, 1H), 3,8-3,9 (bd, 1H), 4,2 (t, 1H),
4,7-4,8 (bs, 5H), 5,1 (s, 2H), 5,2 (s, 1H), 7,2-7,3 (m, 5H).

(iii) BnOOC-CH₂-(R)Cgl-Pic-Nag(Z)

10 En oppløsning av triflatester av benzylglycolat (291 mg, 0,98 mmol) i CH₂Cl₂ (2 ml) ble tilsatt ved -25°C til en omrørt blanding av H-(R)Cgl-Pic-Nag(Z) (0,52 g, 1,04 mmol) og K₂CO₃ (494 mg, 3,58 mmol) i acetonitril (5 ml) og CH₂Cl₂ (1 ml).
15 Temperaturen ble latt nå romtemperatur i løpet av noen timer og etter 5 dager ble reaksjonsblandingen fortynnet med vann og ekstrahert med EtOAc og toluen. Tørring av den organiske fasen (MgSO₄) og konsentrering av oppløsningen ga 319 mg (47%) farveløse krystaller.

20 ¹H-NMR (500 MHz, CDCl₃): δ 1,0-1,1 (m, 1H), 1,1-1,3 (m, 4H), 1,35-1,6 (m, 5H), 1,6-1,85 (m, 8H), 1,8-2,2 (bs, 1H), 2,23-2,5 (m, 2H), 2,9 (t, 1H), 3,1-3,5 (m, 6H), 3,6-3,7 (m, 2H), 5,0-5,1 (m, 4H), 5,2 (s, 1H), 6,5-7,4 (m, 13H).

25 (iv) HOOC-CH₂-(R)Cgl-Pic-Nag x 2 HCl

BnOOC-CH₂-(R)Cgl-Pic-Nag(Z) (319 mg, 0,49 mmol) ble løst opp ved oppvarming i isopropanol (50 ml) og vann (5 ml) og hydrogenert i 24 timer over 10% Pd/C (228 mg). Etter
30 filtrering og avdampning av oppløsningsmiddelet og påfølgende oppløsning i fortynnet saltsyre etterfulgt av frysetørring ble peptidet (223 mg, 91%) isolert som et hvitt pulver.

¹H-NMR (500 MHz, D₂O): δ 1,1-2,1 (m, 18H) 2,3 (d, 1H), 3,3
35 (t, 2H), 3,4 (t, 3H), 3,85-4,05 (m, 3H), 4,6 (d, 1H), 5,15 (s, 1H).

^{13}C -NMR (75 MHz, D_2O): guanidin: δ 157,43 karbonylkarboner: δ 169,2, 172,94.

Eksempel 85

5

H-(R)Hoc-Pro-Nag x 2 TFA

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

10 Fremstilt fra Boc-(R)Hoc-Pro-OH på samme måte som beskrevet for Boc-(R)Cha-Pic-Nag(Z) ifølge eksempel 65 (ic).

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

15 Fremstilt på samme måte som beskrevet for H-(R)Cha-Pro-Agm(Z) (se eksempel 3).

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

20 Fremstilt ved anvendelse av avspaltningsprosedyre (a) på produktet (ii) ovenfor.

^1H -NMR (300 MHz, D_2O): δ 0,90-1,05 (m, 2H), 1,16-1,48 (m, 6H), 1,48-1,84 (m, 6H), 1,84-2,24 (m, 6H), 2,40 (m, 1H),
25 3,25-3,45 (m, 4H), 3,74 (m, 1H), 3,85 (m, 1H), 4,42 (m, 1H), 4,51 (m, 1H).

Eksempel 86

30 $\text{HOOC-CH}_2\text{-(R)Hoc-Pro-Nag x HOAc}$

(i) $\text{BnOOC-CH}_2\text{-(R)Hoc-Pro-Nag(Z)}$

Fremstilt fra H-(R)Hoc-Pro-Nag(Z) (se eksempel 85) ifølge
35 prosedyren beskrevet i eksempel 4.

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

Fremstilt ved anvendelse av avspaltningsprosedyre (a) på produktet (i) ovenfor.

¹H-NMR (300 MHz, D₂O): δ 0,76-0,97 (m, 2H), 1,00-1,37 (m, 6H), 1,50-2,12 (m, 12H), 1,89 (s, acetat), 2,27 (m, 1H), 3,10-3,33 (m, 4H), 3,41 (bs, 2H), 3,61 (m, 1H), 3,77 (m, 1H), 4,12 (m, 1H), 4,37 (m, 1H).

¹³C-NMR (75 MHz, D₂O): guanidin: δ 157,4, karbonylkarboner: δ 170,8, 173,9, 174,5.

Eksempel 87

HOOC-CH₂-(R)Hoc-Pic-Nag x HOAc

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

Fremstilt fra Boc-(R)Hoc-Pic-OH på samme måte som beskrevet for Boc-(R)Cha-Pic-Nag(Z) ifølge fremgangsmåte(ic) i eksempel 65.

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

Fremstilt på samme måte som beskrevet for H-(R)Cha-Pro-Agm(Z) (se eksempel 3).

(iii) BnOOC-CH₂-(R)Hoc-Pic-Nag(Z)

Fremstilt ifølge fremgangsmåten beskrevet i eksempel 4.

(iv) HOOC-CH₂-(R)Hoc-Pic-Nag x HOAc

Fremstilt ved anvendelse av avspaltningsprosedyre (a) på produktet (iii) ovenfor.

¹H-NMR (300 MHz, D₂O): δ 0,75-0,95 (m, 2H), 1,00-1,30 (m, 6H), 1,30-1,50 (m, 2H), 1,50-1,82 (m, 12H), 1,82-1,95 (bs,

acetat), 2,23 (bd, 1H), 3,08-3,32 (m, 6H), 3,52 (bs, 2H),
3,77 (bd, 1H), 4,50 (bs, 1H), 5,00 (bs, 1H).

Eksempel 88

5

HOOC-CH₂-(R)Dph-Pic-Nag x 2 HCl

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

10

Fremstilt fra Boc-(R)Dph-Pic-OH på samme måte som beskrevet
for Boc-(R)Cha-Pic-Nag(Z) (se eksempel 65 (ic)).

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

15

Fremstilt på samme måte som beskrevet for H-(R)Cgl-Pic-Nag(Z)
(se eksempel 84 (ii)).

(iii) BnOOC-CH₂-(R)Dph-Pic-Nag(Z)

20

Fremstilt fra H-(R)Dph-Pic-Nag(Z) ifølge fremgangsmåten
beskrevet i eksempel 4.

(iv) HOOC-CH₂-(R)Dph-Pic-Nag x 2 HCl

25

Fremstilt ved anvendelse av avspaltningprosedyre (d) på
produktet (iii) ovenfor.

30

¹H-NMR (500 MHz, D₂O): δ 0,46 (m, 1H), 1,2-1,35 (m, 2H), 1,45
(m, 1H), 1,53 (m, 1H), 1,89 (pentet, 2H), 2,03 (bd, 1H), 3,24
(bt, 1H), 3,29 (t, 2H), 3,38 (t, 2H), 3,72 (d, 1H), 3,78 (d,
1H), 3,79 (m, 1H), 4,68 (d, 1H), 4,89 (m, 1H), 5,73 (d, 1H),
7,4-7,6 (m, 6H), 7,65 (t, 2H), 7,81 (s, 2H).

Eksempel 89

35

HOOC-CH₂-(R)Dch-Pic-Nag x HOAc

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

Fremstilt fra Boc-(R)Dch-Pic-OH på samme måte som beskrevet for Boc-(R)Cha-Pic-Nag(Z) (i eksempel 65 (ic)).

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

5

Fremstilt på samme måte som beskrevet for H-(R)Cgl-Pic-Nag(Z) (i eksempel 84 (ii)).

(iii) BnOOC-CH₂-(R)Dch-Pic-Nag(Z)

10

Fremstilt fra H-(R)Dch-Pic-Nag(Z) ifølge fremgangsmåten beskrevet i eksempel 4.

(iv) HOOC-CH₂-(R)Dch-Pic-Nag x HOAc

15

Fremstilt ved anvendelse av avspaltningsprosedyren (a) på produktet (iii) ovenfor.

¹H-NMR (500 MHz, D₂O): δ 1,2-2,0 (m, 30H), 2,09 (s, acetat),
20 2,30 (bd, 1H), 3,32 (t, 2H), 3,4-3,5 (m, 3H), 3,65 (d, 1H),
3,70 (d, 1H), 3,86 (bd, 1H), 4,86 (m, 1H), 5,09 (m, 1H).

¹³C-NMR (125 MHz, D₂O): guanidin: δ 159,4, karbonylkarboner:
δ 172,5, 173,3, 174,9.

25

Eksempel P1

Oppløsning for parenteral administrering

30 En oppløsning blir dannet fra følgende ingredienser:

HOOC-CH ₂ -(R)Cha-Pic-Nag x 2HBr	5 g
Natriumklorid for injeksjon	9 g
Eddiksyre	3 g
35 Vann for inj. opp til 1000 ml	

Den aktive substituenten, natriumklorid og eddiksyre blir løst opp i vann. pH blir justert med 2 M NaOH til pH 3-7. Oppløsningen blir filtrert gjennom et sterilt 0,2 μ m filter og blir aseptisk fylt inn i sterile ampuller.

5

Eksempel P2

Tabletter for oral administrering

10 1000 tabletter blir dannet fra følgende ingredienser:

Trombin inhibitor	100 g
Laktose	200 g
Polyvinyl pyrrolidon	30 g
15 MikrokrySTALLINSK cellulose	30 g
Magnesiumstearat	6 g

Den aktive konstituenten og laktose ble blandet med en vandig oppløsning av polyvinyl pyrrolidon. Blandingen blir tørket og malt for å danne granuler. MikrokrySTALLINSK cellulose og deretter magnesiumstearat blir blandet sammen. Blandingen blir deretter komprimert i en tablettmaskin til 1000 tabletter hver inneholdende 100 mg aktiv konstituent.

25 Biologi

Bestemmelse av trombinkoaguleringstiden og IC₅₀ TT:

Human trombin (T 6769, Sigma Chem Co) i bufferoppløsning, pH 7,4, 100 μ l og inhibitor oppløsning, 100 μ l, ble inkubert i 1 min. Sammenslått normal sitrat humant plasma, 100 μ l ble deretter tilsatt og koaguleringstiden målt i en automatisk innretning (KC 10, Amelung).

35 Koaguleringstiden i sekundet ble plottet mot inhibitor-konsentrasjon og IC₅₀TT ble bestemt ved interpolasjon.

IC₅₀TT er konsentrasjon av inhibitor som dobler trombin-koaguleringstiden for humant plasma. pIC₅₀TT er -log 10 til IC₅₀TT i mol/l. Foretrukne forbindelser ifølge oppfinnelsen har pIC₅₀TT i området 6,6 - 8,2-

5

Bestemmelse av aktivert partielt tromboplastintid (APTT)

APTT ble bestemt i sammenslått normalt humant sitrat behandlet plasma med reagenset PTT automatisert 5 fra Stago. Inhibitorene ble tilsatt til plasmaet (10 µl inhibitor oppløsning til 90 µl plasma) og APTT ble bestemt i blandingen ved anvendelse av koagulasjonsanalysator KC10 (Amelung) ifølge instruksjonene til reagensprodusenten. Koaguleringstiden i sekunder ble plottet mot inhibitor konsentrasjonen i plasmaet og IC₅₀APTT ble bestemt ved interpolasjon.

15

IC₅₀APTT er definert som konsentrasjonen av inhibitor i plasma som doblet den aktiverte partielle tromboplastin tiden. pIC₅₀APTT er -log 10 til IC₅₀APTT i mol/l. De foretrukne forbindelsene ifølge oppfinnelsen som ble testet viste en pIC₅₀APTT på 5,1-6,4.

20

25

30

35

FORKORTELSER

	Agm =	agamatin
	Agm(Z) =	ω -N-benzyloksykarbonylagamatin
5	AA ₁ =	aminosyre 1
	AA ₂ =	aminosyre 2
	Aze =	(S)-azetidin2-karboksytsyre
	Bla =	α -substituert butyrolakton
	Boc =	tertiær butoksykarbonyl
10	Brine =	mettet vann/NaCl oppløsning
	Bu =	butyl
	Bn =	benzyl
	Cgl =	(S)-cykloheksylglycin
	Ch =	cykloheksyl
15	Cha =	(S)- β -cykloheksylalanin
	CME-CDI =	1-cykloheksyl-3-(2-morfolinoetyl) karbodiimid-meto-p-toluensulfonat
	DDC =	dicykloheksylkarbodiimid
	Dch =	(S)-dicykloheksylalanin
20	DMAP =	N,N-dimetylaminopyridin
	DMF =	dimetylformamid
	DMSO =	dimetylsulfoksyd
	Dph =	(S)-difenylalanin
	EDC =	1-(3-dimetylaminopropyl)-3-etylkarbodiimid-
25		hydroklorid
	Et =	etyl
	EtOAc =	etylacetat
	HOAc =	eddiksyre
	HOBt =	N-hydroksybenzotriazol
30	Hoc =	(S)-homocykloheksylalanin
	Hop =	(S)-homofenylalanin
	HOSu =	N-hydroksysuksinimid
	Mag =	miniagmatin
	Me =	metyl
35	Mor =	(S)-morfolin-2-karboksytsyre
	MPa =	mega pascal
	Nag =	noragmatin

	Nag(Z)	δ -N-benzyloksykarbonyl-noragmatin
	NMM =	N-metylmorfolin
	Pgl =	(S)-fenylglycin
	Ph =	fenyl
5	Phe =	(S)-fenylalanin
	Pic =	pipecolin syre
	Pr =	propyl
	Pro =	(S)-prolin
	RPLC =	revers fase høy-ytelse væskrokromatografi
10	Tf =	trifluormetylsulfonyl
	TFA =	trifluoreddiksyre
	THF =	tetrahydrofuran
	p-TsOH =	para-toluensulfonsyre
	Val =	(S)-valin
15	Z =	benzyloksykarbonyl

Prefiksen n, s, i og t har de vanlige betydningene: normal, iso, sec og tertiær.

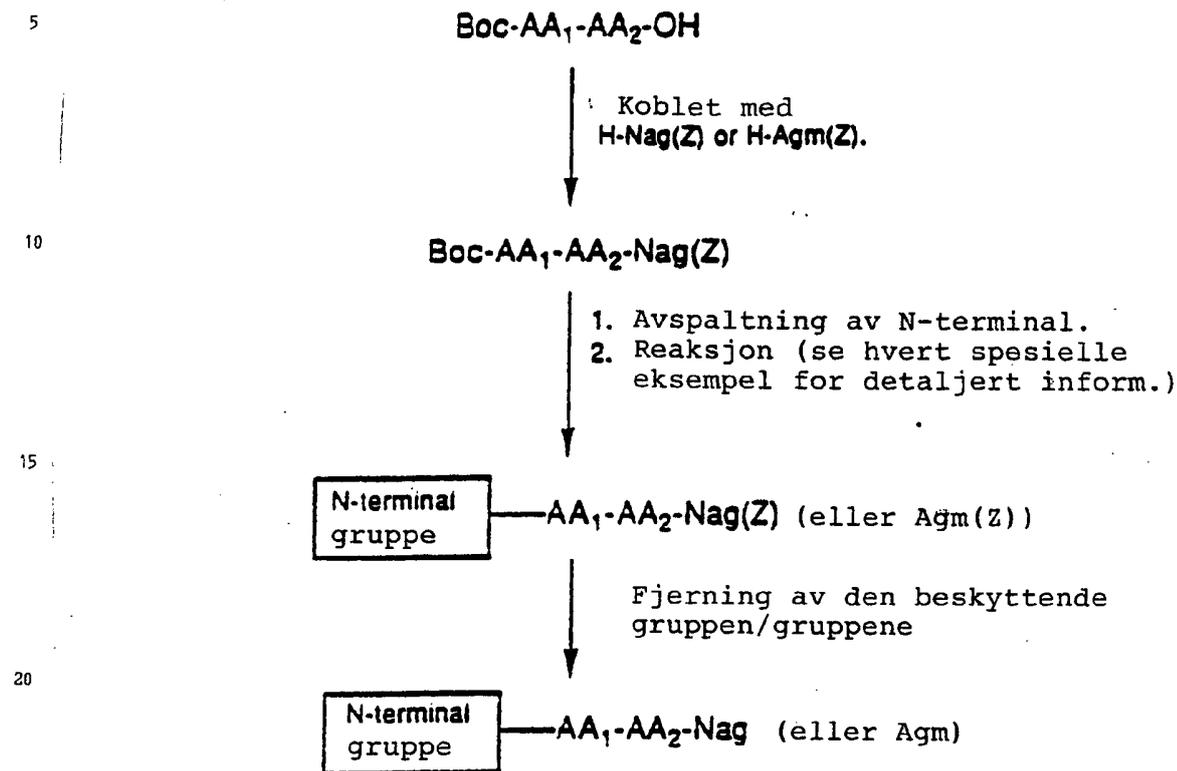
20

25

30

35

Skjema I (Eksempel 3-18, 20-21, 24-28, 30-34, 36-40, 43-49,
51-53, 57-64 og 67-93)



25

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

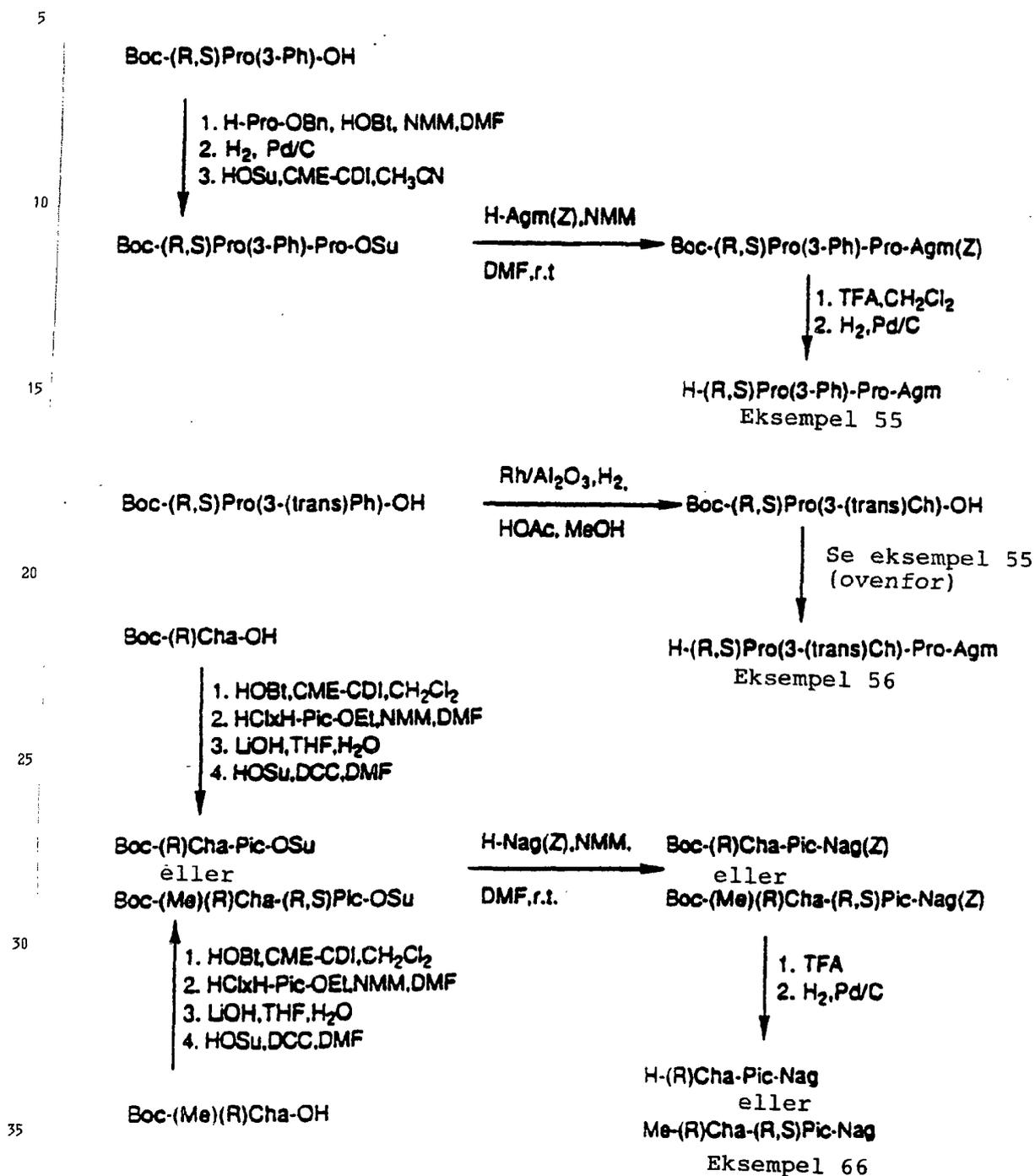
30

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

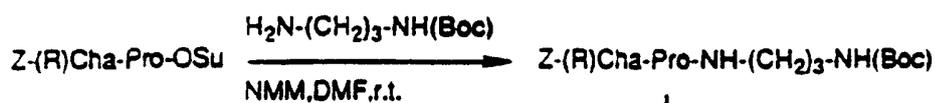
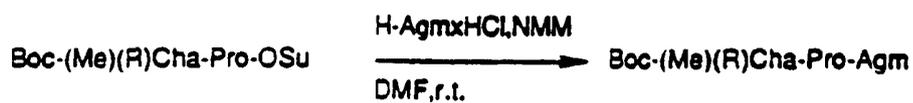
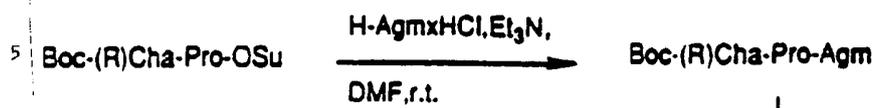
35

N-terminal gruppe i sluttforbindelsen
H, HO-(CH₂)₃-, ⁿBu-, HOOC-CH₂-, MeOOC-CH₂-, PrOOC-CH₂-, ^tBuOOC-CH₂-,
HOOC-CH(Me)-, HOOC-CH(ⁿPr)-, HOOC-CH(Ph)-, HOOC-CH(CH₂CH₂Ph)-
HOOC-CH₂CH₂-, HOOC-CH₂CH₂CH₂-, EtOOC-CH₂CH₂CH₂-, Bla,
HOOC-CH₂-OOC-CH₂-, EtOOC-CO-, MeOOC-CO-, HOOC-CO-, H₂NOC-CH₂-
HOOC-CH(CH₂COOH)-, MeOOC-CH(CH₂COOMe)-, HOOC-CH₂NH-CO-CH₂-,
HOOC-CH(CH₂OH)-, (HO)₂P(O)-CH₂-, EtO(HO)P(O)-CH₂-,
(EtO)₂P(O)-CH₂-.

Skjema II (Eksempel 55, 56, 65 og 66)



Skjema III (Eksempel 1 og 2)



- ↓
1. 3,5-dimetyl-1-pyrazolyl-formamidiniumnitrat,
Et₃N, DMF
 2. H₂, Pd/C



5

Skjema V (Eksempel 54)

Boc-(R)Cha-Pro-OSu

 \downarrow
H₂N-(CH₂)₂-NH(Z),
NMM, DMF, r.t.Boc-(R)Cha-Pro-NH-(CH₂)₂-NH(Z) \downarrow
1. TFA
2. BrCH₂COOEt, CH₃CN, K₂CO₃EtOOC-CH₂-(R)Cha-Pro-NH-(CH₂)₂-NH(Z) \downarrow
1. H₂, Pd/C
2. 3,5-dimetyl-1-pyrazolyl-
formamidiniumnitrat, Et₃N, DMF
3. NaOH/EtOHHOOC-CH₂-(R)Cha-Pro-Mag

Eksempel 54

10

15

20

25

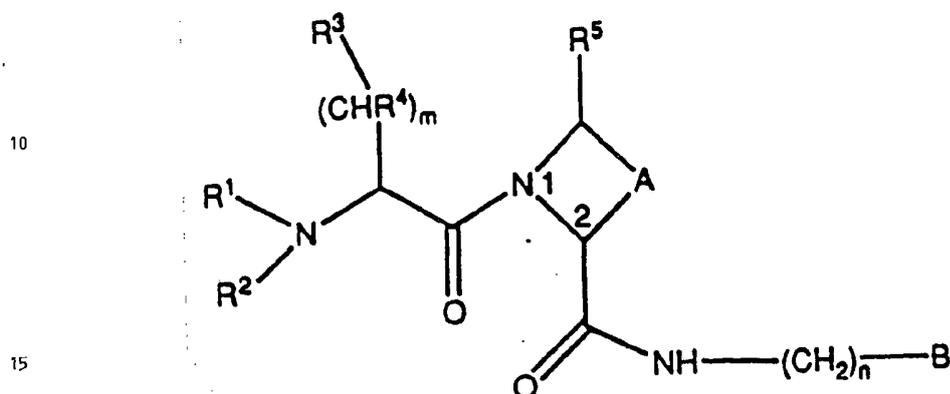
30

35

P a t e n t k r a v

1.

Forbindelse, karakterisert ved at den har
 5 den generelle formelen



formel I

20

hvor:

A er en metylengruppe, eller

25

A er en metylengruppe og den resulterende 5-leddede ringen
 kan bære en eller to fluoratomer, en hydroksygruppe eller en
 oksogruppe i posisjon 4, eller kan være umettet, eller

30

A betyr $-\text{CH}_2\text{-O-}$, $-\text{CH}_2\text{-S-}$, $-\text{CH}_2\text{-SO-}$, med heteroatomfunksjon-
 liteten i posisjon 4, eller

35

A betyr en n-propylengruppe og den resulterende 6-leddede
 ringen kan bære i posisjon 5 et fluoratom, en hydroksygruppe
 eller en oksogruppe, bære to fluoratomer i en av posisjonene
 4 eller 5 eller være umettet i posisjon 4 og 5, eller bære i
 posisjon 4 en alkylgruppe med 1 til 4 karbonatomer, eller

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

R¹ betyr H, en alkylgruppe med 1 til 4 karbonatomer, en hydroksyalkylgruppe med 2-3 karbonatomer eller R¹¹OOC-alkyl-, hvor alkylgruppen har 1 til 4 karbonatomer og R¹¹ er H eller en alkylgruppe med 1 til 4 karbonatomer eller en alkylengruppe med 2-3 karbonatomer intramolekylært bundet alfa til karbonylgruppen i R¹, eller

R¹ betyr R¹²OOC-1,4-fenyl-CH₂-, hvor R¹² er H eller en alkylgruppe med 1 til 4 karbonatomer, eller

R¹ betyr R¹³-NH-CO-alkyl-, hvor alkylgruppen har 1 til 4 karbonatomer og er muligens substituert alfa til karbonyl med en alkylgruppe med 1 til 4 karbonatomer og hvor R¹³ er H eller en alkylgruppe med 1 til 4 karbonatomer eller-CH₂COOR¹², hvor R¹² er som definert ovenfor, eller

R¹ representerer R¹²OOC-CH₂-OOC-alkyl- hvor alkylgruppen har 1 til 4 karbonatomer og er muligens substituert alfa til karbonyl med en alkylgruppe med 1 til 4 karbonatomer og hvor R¹² er som definert ovenfor, eller

R¹ er CH₃SO₂-, eller

R¹ er R¹²OC(O)C(O)- hvor R¹² er som definert ovenfor eller

R¹ er -CH₂PO(OR¹⁴)₂, -CH₂SO₃H eller -CH₂-(5-(1H)-tetrazolyl) hvor R¹⁴ er, individuelt ved hver forekomst, H, metyl eller etyl;

R² er H eller en alkylgruppe med 1 til 4 karbonatomer eller R²¹OOC-alkyl-, hvor alkylgruppen har 1 til 4 karbonatomer og er muligens substituert i posisjonen som er alfa for karbonylgruppen, og alfasubstituenten er en gruppe R²²-(CH₂)_p-, hvor p = 0-2 og R²² er metyl, fenyl, OH, COOR²¹ og R²¹ er H eller en alkylgruppe med 1 til 4 karbonatomer;

m er 0, 1 eller 2, R³ er en sykloheksylgruppe og

R^4 er H, eller

m er 1 og R^3 er en sykloheksyl eller fenylgruppe og R^4 danner en etylenbro sammen med R^1 , eller

5

m er 1 og R^3 og R^4 er hver en sykloheksyl eller fenylgruppe;

R^5 er H eller en alkylgruppe med 1 til 4 karbonatomer;

10

n er et tall 2 til 6; og

B er $-N(R^6)-C(NH)-NH_2$, hvor R^6 er H eller en metylgruppe, eller

15

B er $-S-C(NH)-NH_2$, eller $-C(NH)-NH_2$,

enten selve forbindelsen eller i form av et fysiologisk akseptabelt salt og inkluderer stereoisomerer.

20

2.

Forbindelse ifølge krav 1, karakterisert ved at R^1 er $R^{11}OOC$ -alkyl-, hvor alkylgruppen har 1 til 4 karbonatomer og R^{11} er H.

25

3.

Forbindelse ifølge krav 2, karakterisert ved at A er etylen og R^5 er H eller en alkylgruppe med 1 til 4 karbonatomer.

30

4.

Forbindelse ifølge krav 2, karakterisert ved at A er n-propylen og den resulterende 6-leddede ringen kan bære i posisjon 5 på alkylgruppen med 1 til 4 karbonatomer og R^5 er H eller en alkylgruppe med 1 til 4

35

karbonatomer.

5.

Forbindelse ifølge et eller flere av de foregående kravene, karakterisert ved at R^3 er sykloheksyl, mer 1, 2 og R^4 er H.

5

6.

Forbindelse ifølge et eller flere av de foregående kravene, karakterisert ved at n er 3.

10

7.

Forbindelse ifølge et eller flere av de foregående kravene, karakterisert ved at den har S-konfigurasjon på α -aminosyren i P2 posisjonen.

15

8.

Forbindelse ifølge krav 7, karakterisert ved at den har R-konfigurasjon på α -aminosyren i P3 posisjonen.

20

9.

Forbindelse ifølge krav 1, karakterisert ved at den er valgt fra

H-(R)Cha-Pro-Agm

Me-(R)Cha-Pro-Agm

25

HO-(CH₂)₃-(R)Cha-Pro-Agm

ⁱPrOOC-CH₂-(R)Cha-Pro-Agm

HOOC-(R,S)CH(Me)-(R)Cha-Pro-Agm

HOOC-(Rel.S)CH(Me)-(R)Cha-Pro-Agm/a

30

HOOC-(Rel.S)CH(ⁿPr)-(R)Cha-Pro-Agm/a

HOOC-(Rel.S)CH(ⁿPr)-(R)Cha-Pro-Agm/b

HOOC-(Rel.S)CH(Ph)-(R)Cha-Pro-Agm/b

HOOC-(R,S)CH(CH₂CH₂Ph)-(R)Cha-Pro-Agm

HOOC-(Rel.S)CH(CH₂CH₂Ph)-(R)Cha-Pro-Agm/a

35

HOOC-CH₂-CH₂-(R)Cha-Pro-Agm

EtOOC-CO-(R)Cha-Pro-Agm

(R,S)Bla-(R)Cha-Pro-Agm

HOOC - (Rel. S) CH(CH₂CH₂Ph) - (R) Cha-Pro-Agm/b
 H - (R) Cha-Pro-Nag
ⁿBu - (R) Cha-Pro-Nag
 HO - (CH₂)₃ - (R) Cha-Pro-Nag
 5 EtOOC-CH₂ - (R) Cha-Pro-Nag
ⁱPrOOC-CH₂ - (R) Cha-Pro-Nag
^tBuOOC-CH₂ - (R) Cha-Pro-Nag
 HOOC-CH₂-OOC-CH₂ - (R) Cha-Pro-Nag
 H₂N-CO-CH₂ - (R) Cha-Pro-Nag
 10 HOOC-CH₂-NH-CO-CH₂ - (R) Cha-Pro-Nag
 (HOOC-CH₂)₂ - (R) Cha-Pro-Nag
 HOOC-CH₂ - (nBu) (R) Cha-Pro-Nag
 HOOC - (R, S) CH(Me) - (R) Cha-Pro-Nag
 15 HOOC - (Rel. S) CH(Me) - (R) Cha-Pro-Nag/a
 EtOOC - (R, S) CH(Me) - (R) Cha-Pro-Nag
 HOOC - (Rel. S) CH(ⁿPr) - (R) Cha-Pro-Nag/a
 HOOC - (R) CH(CH₂-OH) - (R) Cha-Pro-Nag
 HOOC - (R, S) CH(Ph) - (R) Cha-Pro-Nag
 20 HOOC - (S) CH(CH₂CH₂Ph) - (R) Cha-Pro-Nag
 HOOC - (R) CH(CH₂CH₂Ph) - (R) Cha-Pro-Nag
 HOOC-CH₂-CH₂ - (R) Cha-Pro-Nag
 EtOOC-CH₂-CH₂ - (R) Cha-Pro-Nag
 HOOC - (CH₂)₃ - (R) Cha-Pro-Nag
 25 EtOOC - (CH₂)₃ - (R) Cha-Pro-Nag
 HOOC-CO - (R) Cha-Pro-Nag
 MeOOC-CO - (R) Cha-Pro-Nag
 (R, S) Bla - (R) Cha-Pro-Nag
 HOOC - (R, S) CH(CH₂COOH) - (R) Cha-Pro-Nag
 30 MeOOC - (R, S) CH(CH₂COOMe) - (R) Cha-Pro-Nag
 HOOC-Ph-4-CH₂ - (R) Cha-Pro-Nag
 (HO)₂P(O)-CH₂ - (R) Cha-Pro-Nag
 EtO(HO)P(O)-CH₂ - (R) Cha-Pro-Nag
 (EtO)₂P(O)-CH₂ - (R) Cha-Pro-Nag
 35 HOOC-CH₂ - (R) Cha-Pro-Mag
 H - (R, S) Pro(3-Ph) - Pro-Agm
 H - (R, S) Pro(3-(trans)Ch) - Pro-Agm
 HOOC-CH₂ - (R, S) Pro(3-(trans)Ph) - Pro-Agm
 HOOC-CH₂ - (R, S) Pro(3-(trans)Ph) - Pro-Nag

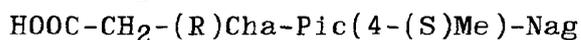
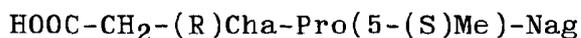
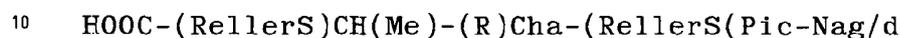
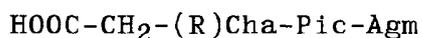
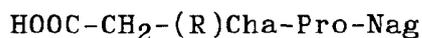
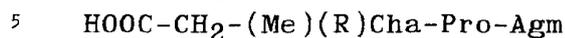
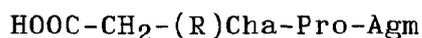
HOOC-CH₂-(Me) (R) Cha-(R, S) Pic-Agm
 HOOC-(R, S) CH(Me) - (R) Cha-Pic-Agm
 HOOC-(Rel.S) CH(Me) - (R) Cha-Pic-Agm/a
 HOOC-CH₂-CH₂-(R) Cha-Pic-Agm
 5 H-(R) Cha-Pic-Nag
 Me-(R) Cha-(R, S) Pic-Nag
 MeOOC-CH₂-(R) Cha-Pic-Nag
ⁱPrOOC-CH₂-(R) Cha-Pic-Nag
 HOOC-CH₂-(Me) (R) Cha-(Rel.S) Pic-Nag/b
 10 HOOC-(R, S) CH(Me) - (R) Cha-(R, S) Pic-Nag
 HOOC-(Rel.S) CH(Me) - (R) Cha-(Rel.S) Pic-Nag/c
 HOOC-CH₂-CH₂-(R) Cha-Pic-Nag
 HOOC-CH₂-(R) Cha-(R, S) Mor-Agm
 HOOC-CH₂-(R) Cha-(Rel.S) Mor-Nag
 15 H-(R) Cha-Aze-Nag
 HOOC-CH₂-(R) Cha-Aze-Nag
 H-(R) Cha-Pro(5-(S)Me) -Nag
 HOOC-CH₂-(R) Cha-(Rel.S) Pic(4,5-dehydro) -Nag/b
 20 HOOC-CH₂-(R) Cha-(R) Pic(4-(R)Me) -Nag
 HOOC-CH₂-(R) Cgl-Pic-Nag
 H-(R) Hoc-Pro-Nag
 HOOC-CH₂-(R) Hoc-Pro-Nag
 HOOC-CH₂-(R) Hoc-Pic-Nag
 25 HOOC-CH₂-(R) Dph-Pic-Nag
 HOOC-CH₂-(R) Dch-Pic-Nag
 HOOC-CH₂-(R) Cha-Pro(5-(R, S)Me) -Nag
 HOOC-CH₂-(R) Cha-Pic(4-(R)Me) -Nag
 H-(R) Cha-Pic(4-(R)Me) -Nag
 30 HOOC-CH₂-(R) Cha-Pic(6-(S)Me) -Nag

35

enten som dette eller i form av et fysiologisk akseptabelt salt og inkludert stereoisomerer.

10.

Forbindelse ifølge krav 1, karakterisert ved at den er valgt fra



enten slik eller i form av et fysiologisk akseptabelt salt og
15 inkludert stereoisomerer.

11.

Forbindelse ifølge krav 1, karakterisert ved at den er $\text{HOOC-CH}_2\text{-(Me)(R)Cha-Pro-Nag}$, enten slik
20 eller i form av et fysiologisk akseptabelt salt og inkluderer stereoisomerer.

12.

Forbindelse ifølge krav 1, karakterisert ved at den er $\text{HOOC-(RellerS)CH(Me)-(R)Cha-Pro-Nag/b}$,
25 enten slik eller i form av et fysiologisk akseptabelt salt og inkluderer stereoisomerer.

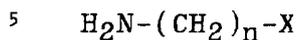
13.

Forbindelse ifølge krav 1, karakterisert ved at den er $\text{HOOC-CH}_2\text{-(R)Cha-Pic-Nag}$, enten slik eller
30 i form av et fysiologisk akseptabelt salt og inkluderer stereoisomerer.

35 14.

Fremgangsmåte for fremstilling av en forbindelse ifølge et hvilket som helst av kravene 1-13, karakteri-

s e r t v e d å koble en N-terminalt beskyttet aminosyre eller dipeptid eller et fordannet, N-terminalt alkylert beskyttet dipeptid til en forbindelse

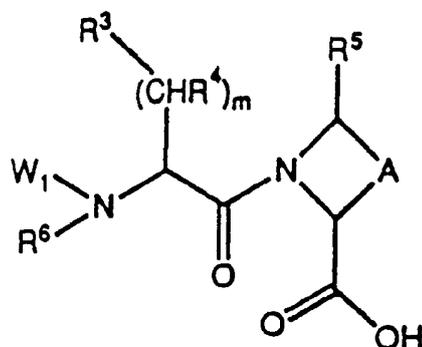


hvor n er et tall 2-6 og X er en ubeskyttet eller beskyttet guanidinogruppe eller en beskyttet aminogruppe, eller en gruppe som kan overføres til en aminogruppe, hvor amino-
 10 gruppen deretter blir overført til en guanidino gruppe, og om ønskelig dannes et fysiologisk akseptabelt salt, og i de tilfellene hvor reaksjonen resulterer i en blanding av stereoisomerer, blir disse eventuelt separert ved standard-kromatografiske eller rekrystalliseringsteknikker, og om
 15 ønskelig blir en enkel stereoisomer isolert.

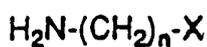
15.

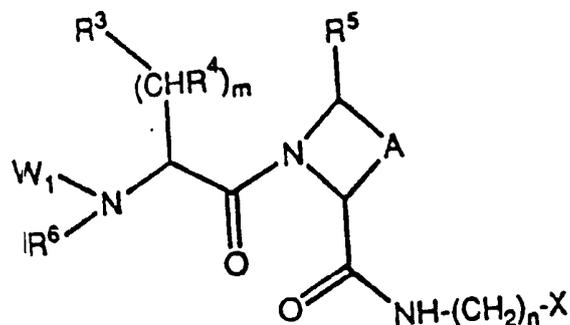
Frengangsmåte ifølge krav 14 for fremstilling av en forbindelse ifølge et hvilket som helst av kravene 1 til 13,
 20 k a r a k t e r i s e r t v e d a t d e n o m f a t t e r :

a) (metode I) kobling av et N-terminalt dipeptid med enten en beskyttet- eller ubeskyttet aminoguanidin eller et lineært alkylamin som bærer en beskyttet eller maskert aminogruppe ved den terminale enden av alkylkjeden, ved anvendelse av
 25 standardpeptidkobling som vist i formelen:



35

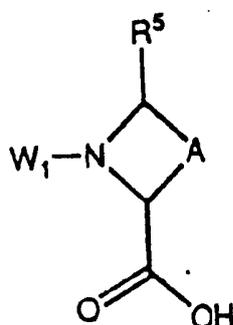




5
 10 hvor R^3 , R^4 og R^5 , n , m og A er som definert i formel I, R^6 er H eller alkyl, W_1 er en aminobeskyttende gruppe så som tertiærbutoksykarbonyl og benzyloksykarbonyl og X er $-NH-C(NH)NH_2$, $-NH-C(NH)NH-W_2$, $-N(W_2)-C(NH)NH-W_2$,

15 $-NH-C(NW_2)-NHW_2$ eller $-NH-W_2$, hvor W_2 er en amin beskyttende gruppe så som tertiærbutoksykarbonyl eller benzyloksykarbonyl, eller X er en maskert aminogruppe så som azid, som gir det beskyttede peptidet, eller

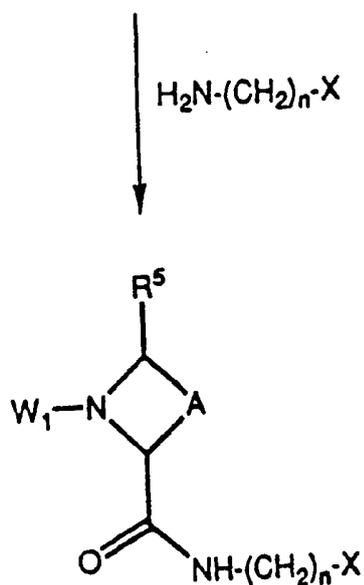
20 b) (metode II) kobling av en N-terminalt beskyttet aminosyre, med enten en beskyttet- eller ubeskyttet aminoguanidin eller en lineær alkylamin som bærer en beskyttet eller maskert aminogruppe ved den terminale enden av alkylkjeden, ved anvendelse av standardpeptidkobling, som vist i formelen



5

10

15



hvor W_1 , A, R^5 og X er som definert ovenfor etterfulgt av avspaltning av W_1 -gruppen og kobling med den N-terminale aminosyren, i en beskyttet form, eller

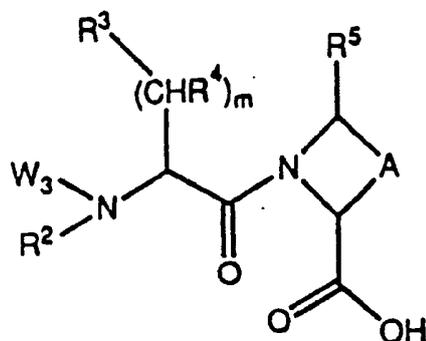
20

c) (metode III) kobling av et fordannet N-terminalt alkylert og beskyttet dipeptid, fremstilt ved standard peptidkobling, med enten et beskyttet eller ubeskyttet aminoguanidin eller et lineært alkylamin som bærer en beskyttet eller maskert aminogruppe ved den terminale enden av alkylkjeden, ved

25

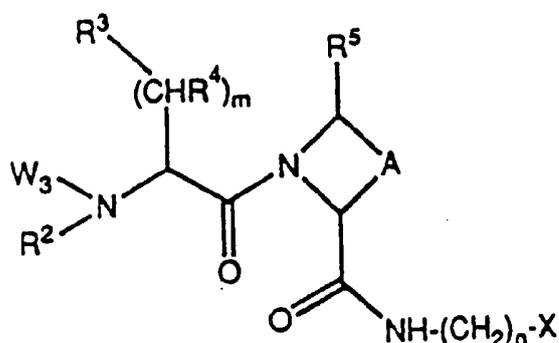
anvendelse av standard peptidkobling, som vist i formelen

30



35





5 hvor R², R³, R⁴, R⁵, n, m, A og X er definert som ovenfor forutsatt at R² er forskjellig fra H og W₃ er en acylgruppe så som trifluoracyl,

15 hvor den endelige forbindelsen blir dannet på hvilke som helst av følgende måter, avhengig av naturen til den anvendte X-gruppen: fjerning av den beskyttende gruppen (ene) (når X = -NH-C(NH)NH₂, NH-C(NH)NH-W₂, -N(W₂)-C(NH)NH-W₂, -NH-C(NW₂)NH-W₂) eller en selektiv avspaltning av W₁-gruppen (for
 20 eksempel når X = -NH-C(NH)NH-W₂, -N(W₂)-C(NH)NH-W₂, -NH-C(NW₂)NH-W₂, W₂ må i dette tilfellet være ortogonal for W₁) etterfulgt av alkylering av N-terminal nitrogen og avspaltning eller en selektiv avspaltning/demaskering av den terminale alkylaminofunksjonen (X = NH-W₂, W₂ må i dette
 25 tilfellet være ortogonal for W₁ og W₃, eller X = en maskert aminogruppe, så som azid) etterfulgt av en guanideringsreaksjon, ved anvendelse av standardmetoder, av det frie amidet og avspaltning av W₁- eller W₃ gruppen,

30 og om ønskelig danne et fysiologisk akseptabelt salt, og i de tilfellene hvor reaksjonen resulterer i en blanding av stereoisomerer, disse blir eventuelt separert ved standard-kromatografiske eller rekrystalliseringsteknikker, og om ønskelig blir en enkel stereoisomer isolert.

16.

Forbindelse, karakteriseret ved at den er δ -N-benzyloksykarbonyl-noragmatin enten slik eller i form av et salt, eller med ytterligere beskyttelse ved δ -nitrogen eller γ -nitrogen.

17.

Forbindelse ifølge krav 16, karakteriseret ved at den er δ -N-benzyloksykarbonyl-noragmatin.

18.

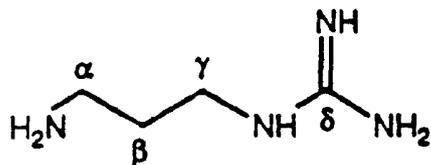
Forbindelse ifølge krav 16, karakteriseret ved at den er α -N-tert.butyloksykarbonyl- δ -N-benzyloksykarbonyl-noragmatin enten slik eller i form av et salt, eller med beskyttelse ved δ -nitrogen eller γ -nitrogen.

19.

Forbindelse ifølge krav 18, karakteriseret ved at den er α -N-tert.butyloksykarbonyl- δ -N-benzyloksykarbonyl-noragmatin.

20.

Anvendelse av en forbindelse med formel:



enten slik eller i form av et salt, og slik eller med guandiniogruppen enten monobeskyttet ved δ -nitrogen eller dibeskyttet δ -nitrogen eller γ , δ -nitrogener, som et utgangsmateriale for syntese av en serinproteaseinhibitor, og spesielt ved syntese av en trombin inhibitor.

21.

Anvendelse ifølge krav 20, hvor forbindelsen er δ -N-benzyl-
oksykarbonyl-noragmatin enten slik eller i form av et salt,
eller med beskyttelse ved δ -nitrogen eller γ -nitrogen.

5

22.

Anvendelse ifølge krav 21, hvor forbindelsen er α -N-tert.-
butyloksykarbonyl- δ -N-benzyl- δ -N-benzyl- δ -N-benzyl- δ -N-benzyl-
oksykarbonyl-noragmatin enten slik eller i form av et salt, eller ved beskyttelse ved δ -
nitrogen eller γ -nitrogen.

10

23.

Anvendelse ifølge krav 20, 21 og 22, hvor serinprotease
inhibitoren er en peptidisk forbindelse.

15

24.

Farmasøytisk preparat, k a r a k t e r i s e r t v e d a t
det omfatter en effektiv mengde av en forbindelse ifølge
kravene 1-13 sammen med en eller flere farmasøytiske bærere.

20

25.

Farmasøytisk preparat ifølge krav 24, k a r a k t e r i s e r t
v e d a t det skal anvendes som et antikoagu-
lerings- eller antitrombotisk middel.

25

26.

Anvendelse av forbindelse ifølge et hvilket som helst av
kravene 1-13 som et aktivt ingrediens for fremstilling av et
farmasøytisk preparat for inhibisjon av trombin i et menneske
eller i en dyreorganisme.

30

35