(19)

SUOMI - FINLAND
(FI)

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

(10) **FI 902006 A7**

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

(21) Patenttihakemus - Patentansökan - Patent application 902006

(51) Kansainvälinen patenttiluokitus - Internationell patentklassifikation - International patent classification
C07K 5/00

(22) Tekemispäivä - Ingivningsdag - Filing date **26.09.1988**

(23) Saapumispäivä - Ankomstdag - Reception date **20.04.1990**

(41) Tullut julkiseksi - Blivit offentlig - Available to the public **20.04.1990**

(43) Julkaisupäivä - Publiceringsdag - Publication date **13.06.2019**

(86) Kansainvälinen hakemus - Internationell ansökan - International application **26.09.1988 PCT/US1988/003274**

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

21.10.1987 US 111847

(71) Hakija - Sökande - Applicant

1 • **The Upjohn Company,** 3010 Henrietta Street, Kalamazoo, Mich. 49001, AMERIKAN YHDYSVALLAT, (US)

(72) Keksijä - Uppfinnare - Inventor

1 • **Gammill, Ronald B.,** Kalamazoo, MI 49002, AMERIKAN YHDYSVALLAT, (US)
2 • **Sawyer, Tomi K.,** USA, AMERIKAN YHDYSVALLAT, (US)

(74) Asiamies - Ombud - Agent

Berggren Oy Ab, Antinkatu 3 C, 00100 Helsinki

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

Menetelmä renniini-inhibiittoreiden valmistamiseksi, jotka sisältävät 1-amino-2-hydroksi-2-heterosyklisen etyylitähteen

Förfarande för framställning av renininhibitorer innehållande 1-amino- 2-hydroxi-2-heterocyklisk etylrest

Renniinin inhibiittoreita, jotka sisältävät (1-amino-2-hydroksi-3-heterosyklisen)etyyliosan

Esillä olevan keksinnön mukaisesti annetaan käyttöön uusia yhdisteitä. Esillä olevassa keksinnössä annetaan erityisemmin käyttöön uusia renniiniä inhiboivia peptidianalogeja ja niiden lisäksi välituotteita. Esillä olevassa keksinnössä annetaan erityisimmin käyttöön renniiniä inhiboivia yhdisteitä, joiden päätefunktio on (1-sykloheksyyli-metyyli-1-amino-2-hydroksi-2-(2-pyrrolidinyyli)etyyli. Tässä yhteydessä käyttöön annettavat renniinin inhibiittorit ovat käyttökelpoisia renniinistä riippuvaisen kohonneen verenpaineen ja muiden siihen liittyvien sairauksien diagnoosissa ja hillinnässä.

Renniini on endopeptidaasi, joka katkaisee spesifisesti substraattinsa (angiotensinogeeni) tietyn peptidisidoksen, jonka N-terminaalinen sekvenssi hevosen substraatilla on esimerkiksi:

Renniini
↓
Asp-Arg-Val-Tyr-Ile-His-Pro-Phe-His-Leu-Leu-Val-Tyr-Ser- IA
1 2 3 4 5 6 7 8 9 10 11 12 13 14

kuten L.T. Skeggs et al. ovat todenneet, J. Exper. Med. 106, 439 (1957). Ihmisen renniinin substraatilla on erilainen sekvenssi kuten D.A. Tewkesbury et al. ovat äskettäin havainneet, Biochem. Biophys. Res. Comm. 99, 1311 (1981). Se voidaan esittää seuraavasti:

Renniini
↓
-Val-Ile-His-
11 12 13 IB

nuolen (↓) vasemmalla puolella olevan sekvenssin ollessa kuten kaavassa IA edellä on osoitettu.

Renniini katkaisee angiotensinogeenin, jolloin muodostuu angiotensiini I:tä, joka muutetaan tehokkaaksi verenpaineen

kohottajaksi, angiotensiini II:ksi. Joidenkin angiotensiini I:tä muuttavan entsyymin inhibiittoreiden tiedetään olevan käyttökelpoisia kohonneen verenpaineen hoitamisessa. Renniinin inhibiittorit voivat myös olla käyttökelpoisia kohonneen verenpaineen hoitamisessa.

Joitakin renniiniä inhiboivia peptidejä on tuotu esille. US-patentissa 4 424 207; eurooppalaisissa julkistetuissa patenttihakemuksissa 45 665; 104 041; ja 156 322; ja US-patenttihakemuksessa Sarjanumero 825 250, jätetty 3. helmikuuta 1986; tuodaan esille tiettyjä peptidejä, dipeptidin asemassa 10,11 sisältäessä isosteerisen sidoksen. Joitakin statiinin johdannaisia, joiden on ilmoitettu olevan renniinin inhibiittoreita, on tuotu esille, esim., eurooppalaiset julkistetut patenttihakemukset 77 028; 81 783; 114 993; 156 319; ja 156 321; ja US-patentit 4 478 826; 4 470 971; 4 479 941; ja 4 485 099. Terminaalisia disulfidirenkaita on myös tuotu esille renniiniä inhiboivissa peptideissä; esim, US-patentit 4 477 440 ja 4 477 441. Aromaattisia ja alifaattisia aminohappotähteitä renniinisubstraatin asemassa 10,11 tuodaan esille US-patenteissa 4 478 827 ja 4 455 303. Renniinin inhibiittoreita, jotka sisältävät C-terminaalisen amidirenkaan, tuodaan esille US-patentissa 4 485 099 ja eurooppalaisissa julkistetuissa patenttihakemuksissa 156 320 ja 156 318. Tiettyjä tetrapeptidejä tuodaan esille eurooppalaisissa patenttijulkaisuissa 111 266 ja 77 027. Edelleen, eurooppalaisessa julkistetussa patenttihakemuksessa 118 223 tuodaan esille tiettyjä renniiniä inhiboivia peptidianalogeja, joissa 10,11-peptidisidos korvataan yhdestä neljään atomia käsittävällä hiili- tai hiili-typpi-sidoksella. Holladay et al., "Synthesis of Hydroxyethylene and Ketomethylene Dipeptide Isosteres", Tetrahedron Letters, Vol. 24, No. 41, ss. 4401-4404, 1983, tuovat esille erilaisia välituotteita prosessissa, jossa valmistetaan stereo-kohdisteisia isosteerisiä, toiminnallisia "ketometyleeni"- ja "hydroksietyleeni"-dipeptidiryhmiä, joita on tuotu esille edellä mainitussa US-patentissa 4 424 207. Evans, et al., J. Org. Chem., 50, 4615 (1985) tuovat

esille hydroksietyleenidipeptidi-isosteerit. Katso myös julkistettu eurooppalainen patenttihakemus 163 237, jossa tuodaan esille tiettyjä renniiniä inhiboivia peptidejä.

Julkistetuissa eurooppalaisissa patenttihakemuksissa 45 161 ja 53 017 tuodaan lisäksi esille amidijohdannaisia, jotka ovat käyttökelpoisia angiotensiiniä muuttavien entsyymien inhibiittoreina.

Tiettyjä dipeptidejä ja tripeptidejä tuodaan esille US-patenteissa 4 514 332; 4 510 085; ja 4 548 926, samoinkuin eurooppalaisissa julkistetuissa patenttihakemuksissa 128 762; 152 255; ja 181 110. Pepstatiiniperäisiä renniinin inhibiittoreita on tuotu esille US-patentissa 4 481 192. Retroinversiosidosmodifikaatioita asemissa 10-11 on tuotu esille US-patentissa 4 560 505 ja eurooppalaisissa julkistetuissa patenttihakemuksissa 127 234 ja 127 235. Johdannaisia, koskien isosteerisiä sidosvaihdoksia asemissa 10-11, on tuotu esille eurooppalaisissa julkistetuissa patenttihakemuksissa 143 746 ja 144 290; ja US-patenttihakemuksessa, sarjanumero 904 149, jätetty 5. syyskuuta 1986. Isosteerisiä sidosmodifikaatioita asemissa 11-12 ja 12-13 on tuotu esille eurooppalaisessa julkistetussa patenttihakemuksessa 179 352. Tiettyjä peptidejä, jotka sisältävät 2-substituoituja statiinianalogeja, on tuotu esille eurooppalaisessa julkistetussa patenttihakemuksessa 157 409. Tiettyjä peptidejä, jotka sisältävät 3-aminodeoksistatiinia, on tuotu esille eurooppalaisessa julkistetussa patenttihakemuksessa 161 588. Tiettyjä peptidejä, jotka sisältävät 1-amino-2-hydroksibutaanijohdannaisia asemissa 10-11, on tuotu esille eurooppalaisessa patenttihakemuksessa 172 346. Tiettyjä peptidejä, jotka sisältävät 1-amino-2-hydroksipropaanijohdannaisia asemissa 10-11 on tuotu esille eurooppalaisessa julkistetussa patenttihakemuksessa 172 347. Tiettyjä peptidejä, jotka sisältävät N-terminaalisia amidirenkaita, on tuotu esille US-patenttihakemuksessa, sarjanumero 844 716, jätetty 27. maaliskuuta 1986. Tiettyjä peptidejä, jotka sisältävät dihalogeenistatiinia, on tuotu esille PCT-

hakemuksessa, sarjanumero 000 713, jätetty 7 huhtikuuta 1986. Tiettyjä peptidejä, jotka sisältävät C-pään typistettyjä epoksi-, atsido- tai syaaniryhmiä tai sisältävät diolisidoksen asemassa 10-11 ja retrosidoksen asemassa 11-12, on tuotu esille US-patenttihakemuksessa, sarjanumero 945 340, jätetty 22. joulukuuta 1986.

Eurooppalaisissa julkistetuissa patenttihakemuksissa 156 322; 114 993; ja 118 223; ja PCT-patenttihakemuksessa, sarjanumero 002 227, jätetty 21 marraskuuta 1986; US-patenttihakemuksessa, sarjanumero 825 250, jätetty 3. helmikuuta 1986; US-patenttihakemuksessa, sarjanumero 904 149, jätetty 5. syyskuuta 1986; ja US-patenttihakemuksessa, sarjanumero 844 716, jätetty 27 maaliskuuta 1986; tuodaan esille hydroksaamihappoja tai -estereitä C-päässä.

EP-189 203:ssa tuodaan esille uusia N-dihydroksialkyylipeptidijohdannaisia, jotka ovat käyttökelpoisia renniinin inhibiittoreina kohonneen verenpaineeen hoitamiseksi.

EP-184 855:ssä tuodaan esille uusia hydroksisubstituoituja statiinipeptidijohdannaisia, jotka ovat käyttökelpoisia renniinin inhibiittoreina kohonneen verenpaineen hoitamiseksi.

Johdannaisia, jotka koskevat isosteerisiä sidosvaihdoksia asemissa 10-11, kuten dihydroksietyleeni-isosteerejä, on tuotu esille US-patenttihakemuksessa, sarjanumero 904 149, jätetty 5. syyskuuta 1986.

Kokoomajulkaisua renniinin inhibiittorien sellaisten siirtymätilaisten jäljitelmien teoreettisista periaatteista on äskettäin tarkastellut D.H. Rich, Luku 5, "Inhibitors of Aspartic Proteinases", Proteinase Inhibitors , Elsevier Science Publishers BV (Biomedical Division) (1986).

Seuraavissa viitejulkaisuissa tuodaan esille lisää substituentteja 10,11-asemassa: A. Spaltenstein, P. Carpino, F.

Miyake ja P.B. Hyskins, Tetrahedron Letters, 27:2095 (1986); D.H. Rich ja M.S. Bernatowicz, J. Med. Chem., 25:791 (1982); Roger, J. Med. Chem., 28:1062 (1985); D.M. Glick et al., Biochemistry, 21:3746 (1982); D.H. Rich, Biochemistry, 24:3165 (1985); R.L. Johnson, J. Med. Chem.,25:605 (1982); R.L. Johnson ja K. Verschovor, J. Med. Chem., 26:1457 (1983); R.L. Johnson, J. Med. Chem., 27:1351 (1984); P.A. Bartlett ja W.B. Kezer et al., J. Am. Chem. Soc., 106:4282 (1984); Peptides: Synthesis, Structure and Function (V.J. Hruby; D.H. Rich, edit.) Proc. 8th American Peptide Sym., Pierce Chemical Company, Rockford, Ill., ss. 511-20; 587-590 (1983).

Syklopropyyliä sisältävien renniiniä inhiboivien peptidien valmistus tuodaan esille US-patenttihakemuksessa, sarjanumero 023 404, jätetty 9. maaliskuuta 1987, joka on tässä yhteydessä sisällytetty viitteenä.

Rakenne-aktiivisuus-tulokset on raportoitu P_1-P_1'-dipeptidin aminoalkoholi-isosteereillä, joka dipeptidi sisältää lisähiiliatomin P_1-P_1'-sidoksessa aminaalifunktion stabiloimiseksi. D.E. Ryono et al., "Potent Inhibitors of Hog and Human Renin Containing an Amino Alcohol Dipeptide Surrogate," Peptides: Structure and Function (Proceedings of the 9th Amer. Peptide Symposium, Toronto, Canada, 739-42 (1985) (Squibb); J.G. Dann et al., "Human renin: A New Class of Inhibitors," Biochemical Research Communications 134:71-77 (1986) (Wellcome).

Kokoomajulkaisua renniinin inhibiittoreiden siirtymätilajäljitelmien teoreettisista periaatteista on äskettäin tarkastellut D.H. Rich, luku 5, "Inhibitors of Aspartic Proteinases," Proteinase Inhibitors, Elsevier Science Publishers BV (Biomedical Division) (1986).

Esillä olevan keksinnön mukaisesti annetaan erityisesti käyttöön:

Renniiniä inhiboiva peptidi, joka sisältää kaavan XL_{2c} mukaisen osan, joka vastaa renniinin substraatin (angiotensinogeenin) asemaa 10,11;

jossa kaavassa * ilmaisee asymmetrisen keskuksen, joka on joko R- tai S-konfiguraatiossa;

jossa R_{90} ja R_{91} ovat samoja tai erilaisia ja ovat:

(a) vety,
(b) C_1-C_7alkyyli,
(c) $-(CH_2)_p$-aryyli,
(d) $-(CH_2)_p$-Het,
(e) $-(CH)_p$-C_3-C_7sykloalkyyli, tai
(f) 1- tai 2-adamantyyli;

jossa R_{100} ja R_{101} on liitetty yhteen hiiliatomin ja typpiatomin kanssa, joihin ne ovat sitoutuneet muodostaen -Het:n;

jossa R_{102} on
(a) vety,
(b) C_1-C_7alkyyli,
(c) $-(CH_2)_p$-aryyli,
(d) $-(CH_2)_p$-Het,
(e) $-(CH)_p$-C_3-C_7sykloalkyyli,
(f) R_8-O-CH_2-C(O)-,
(g) R_8-CH_2-O-C(O)-,
(h) R_8-O-C(O)-,
(i) R_8-$(CH_2)_n$-C(O)-,
(j) R_8-$(CH_2)_n$-C(S)-,
(k) $R_4N(R_4)$-$(CH_2)_n$-C(O)-,
(l) R_8-SO_2-$(CH_2)_q$-C(O)-,
(m) R_8-SO_2-$(CH_2)_q$-O-C(O)-,
(n) R_6-$(CH_2)_1$-C(O)-, tai
(o) -[C(O)-AA-NH-]$_3$X;

jossa aryyli on fenyyli tai naftyyli, joka on substituoitu

nollasta kolmella seuraavista:

(a) C_1-C_3alkyyli,

(b) hydroksi,

(c) C_1-C_3alkoksi,

(d) halogeeni,

(e) amino,

(f) mono- tai di-C_1-C_3alkyyliamino,

(g) -CHO,

(h) -COOH,

(i) $COOR_{26}$,

(j) $CONHR_{26}$,

(k) nitro,

(l) merkapto,

(m) C_1-C_3alkyylitio,

(n) C_1-C_3alkyylisulfinyyli,

(o) C_1-C_3alkyylisulfonyyli,

(p) -N(R_4)-C_1-C_3alkyylisulfonyyli,

(q) SO_3H,

(r) SO_2NH_2,

(s) -CN, tai

(t) $-CH_2NH_2$;

jossa -Het on 5 tai 6 jäsentä sisältävä tyydytetty tai tyydyttämätön rengas, joka sisältää yhdestä kolmeen heteroatomia, jotka on valikoitu ryhmästä, joka käsittää typen, hapen ja rikin; ja joka sisältää jonkin bisyklisen ryhmän, jossa jokin edellä olevista heterosyklisistä renkaista yhdistyy bentseenirenkaaseen, joka heterosyklinen osa on korvattu nollasta kolmella seuraavista:

(i) C_1-C_6alkyyli,

(ii) hydroksi,

(iii) trifluorimetyyli,

(iv) C_1-C_4alkoksi,

(v) halogeeni,

(vi) aryyli,

(vii) aryyli C_1-C_4alkyyli-,

(viii) amino,

(ix) mono- tai di-(C_1-C_4alkyyli)amino, ja

(x) C_1-C_8alkanoyyli;

jossa X on

(a) vety,

(b) C_1-C_7alkyyli,

(c) $-(CH_2)_p$-aryyli,

(d) $-(CH_2)_p$-Het,

(e) $-(CH)_p$-C_3-C_7sykloalkyyli,

(f) R_5-O-CH_2-C(O)-,

(g) R_5-CH_2-O-C(O)-,

(h) R_5-O-C(O)-,

(i) R_5-$(CH_2)_m$-C(O)-,

(j) R_5-$(CH_2)_m$-C(S)-,

(k) $R_4N(R_4)$-$(CH_2)_m$-C(O)-,

(l) R_5-SO_2-$(CH_2)_q$-C(O)-,

(m) R_5-SO_2-$(CH_2)_q$-O-C(O)-, tai

(n) R_6-$(CH_2)_1$-C(O)-;

jossa R_4 on jokaisessa tapauksessa sama tai erilainen ja on

(a) vety,

(b) C_1-C_8alkyyli,

(c) $-(CH_2)_p$-aryyli,

(d) $-(CH_2)_p$-Het,

(e) $-(CH_2)_p$-C_3-C_7sykloalkyyli, tai

(f) 1- tai 2-adamantyyli;

jossa R_5 on

(a) C_1-C_6alkyyli,

(b) C_3-C_7sykloalkyyli,

(c) aryyli,

(d) -Het, tai

(e) 5-okso-2-pyrrolidinyyli;

jossa R_6 on

(a) vety,

(b) C_1-C_8alkyyli,
(c) -$(CH_2)_p$-aryyli,
(d) -$(CH_2)_p$-Het,
(e) -$(CH_2)_p$-C_3-C_7sykloalkyyli, tai
(f) 1- tai 2-adamantyyli;

jossa R_{26} on
(a) vety,
(b) C_1-C_8alkyyli, tai
(c) fenyyli-C_1-C_8alkyyli;

jossa i on 0-5;
jossa j on 0-3;
jossa n on kaikissa tapauksissa toisista riippumatta kokonaisluku 0-5;
jossa p on 0-2;
jossa q on 0-5;

Esillä olevan keksinnön mukaisesti annetaan käyttöön myös seuraavia uusia välituoteyhdisteitä:

Kaavan III mukainen peptidi, jossa kaavassa X on
(a) vety,
(b) C_1-C_7alkyyli,
(c) -$(CH_2)_p$-aryyli,
(d) -$(CH_2)_p$-Het,
(e) -$(CH)_p$-C_3-C_7sykloalkyyli,
(f) R_8-O-CH_2-C(O)-,
(g) R_8-CH_2-O-C(O)-,
(h) R_8-O-C(O)-,
(i) R_8-$(CH_2)_n$-C(O)-,
(j) R_8-$(CH_2)_n$-C(S)-,
(k) $R_4N(R_4)$-$(CH_2)_n$-C(O)-,
(l) R_8-SO_2-$(CH_2)_q$-C(O)-,
(m) R_8-SO_2-$(CH_2)_q$-O-C(O)-, tai
(n) R_8-$(CH_2)_1$-C(O)-;

jossa A_6 on poissa tai se on kaavojen XL_1, XL_2, XL_{2a} tai XL_{2b} mukainen divalenttinen osa;

jossa B_7 on poissa tai se on kaavan XL_b mukainen divalenttinen osa;

jossa C_8 on poissa tai se on kaavojen XL_1, XL_2, XL_{2a} tai XL_{2b} mukainen divalenttinen osa; ja

kaavan XX mukainen yhdiste, jossa kaavassa * ilmaisee asymmetrisen keskuksen, joka on joko R- tai S-konfiguraatiossa;

jossa R_{200} on

(a) vety,

(b) C_1-C_7alkyyli,

(c) $-(CH_2)_p$-aryyli,

(d) $-(CH_2)_p$-Het,

(e) $-(CH)_p$-C_3-C_7sykloalkyyli,

(f) R_5-O-CH_2-C(O)-,

(g) R_5-CH_2-O-C(O)-,

(h) R_5-O-C(O)-,

(i) R_5-$(CH_2)_n$-C(O)-,

(j) R_5-$(CH_2)_n$-C(S)-,

(k) $R_4N(R_4)$-$(CH_2)_n$-C(O)-,

(l) R_5-SO_2-$(CH_2)_q$-C(O)-,

(m) R_5-SO_2-$(CH_2)_q$-O-C(O)-, tai

(n) R_6-$(CH_2)_1$-C(O)-;

jossa R_{300} ja R_{301} ovat samoja tai erilaisia ja ovat:

(a) vety,

(b) C_1-C_7alkyyli,

(c) $-(CH_2)_p$-aryyli,

(d) $-(CH_2)_p$-Het,

(e) $-(CH)_p$-C_3-C_7sykloalkyyli, tai

(f) 1- tai 2-adamantyyli;

jossa R_{400} ja R_{401} on liitetty yhteen hiiliatomin ja typpi-

atomin kanssa, joihin ne ovat sitoutuneet muodostaen -Het:n;

jossa R_{402} on

(a) vety,

(b) C_1-C_7alkyyli,

(c) $-(CH_2)_p$-aryyli,

(d) $-(CH_2)_p$-Het,

(e) $-(CH)_p$-C_3-C_7sykloalkyyli,

(f) R_5-O-CH_2-C(O)-,

(g) R_5-CH_2-O-C(O)-,

(h) R_5-O-C(O)-,

(i) R_5-$(CH_2)_n$-C(O)-,

(j) R_5-$(CH_2)_n$-C(S)-,

(k) $R_4N(R_4)$-$(CH_2)_n$-C(O)-,

(l) R_5-SO_2-$(CH_2)_q$-C(O)-,

(m) R_5-SO_2-$(CH_2)_q$-O-C(O)-,

(n) R_6-$(CH_2)_1$-C(O),

(o) $-[C(O)-AA-NH-]_jX_1$, tai

(p) -C=N-C_1-C_7alkyyli;

jossa aryyli on fenyyli tai naftyyli, joka on substituoitu nollasta kolmella seuraavista:

(a) C_1-C_3alkyyli,

(b) hydroksi,

(c) C_1-C_3alkoksi,

(d) halogeeni,

(e) amino,

(f) mono- tai di-C_1-C_3alkyyliamino,

(g) -CHO,

(h) -COOH,

(i) $COOR_{26}$,

(j) $CONHR_{26}$,

(k) nitro,

(l) merkapto,

(m) C_1-C_3alkyylitio,

(n) C_1-C_3alkyylisulfinyyli,

(o) C_1-C_3alkyylisulfonyyli,

(p) $-N(R_4)-C_1-C_3$alkyylisulfonyyli,
(q) SO_3H,
(r) SO_2NH_2,
(s) -CN, tai
(t) $-CH_2NH_2$;
jossa -Het on 5 tai 6 jäsentä sisältävä tyydytetty tai tyydyttämätön rengas, joka sisältää yhdestä kolmeen heteroatomia, jotka on valikoitu ryhmästä, joka käsittää typen, hapen ja rikin; ja joka sisältää jonkin bisyklisen ryhmän, jossa jokin edellä olevista heterosyklisistä renkaista yhdistyy bentseenirenkaaseen, joka heterosyklinen osa on korvattu nollasta kolmella seuraavista:
(i) C_1-C_6alkyyli,
(ii) hydroksi,
(iii) trifluorimetyyli,
(iv) C_1-C_4alkoksi,
(v) halogeeni,
(vi) aryyli,
(vii) aryyli C_1-C_4alkyyli-,
(viii) amino,
(ix) mono- tai di-(C_1-C_4alkyyli)amino, ja
(x) C_1-C_3alkanoyyli;

jossa X on
(a) vety,
(b) C_1-C_7alkyyli,
(c) $-(CH_2)_m$-aryyli,
(d) $-(CH_2)_m$-Het,
(e) $-(CH)_m-C_3-C_7$sykloalkyyli,
(f) $R_3-O-CH_2-C(O)-$,
(g) $R_3-CH_2-O-C(O)-$,
(h) $R_3-O-C(O)-$,
(i) $R_3-(CH_2)_n-C(O)-$,
(j) $R_3-(CH_2)_n-C(S)-$,
(k) $R_4N(R_4)-(CH_2)_n-C(O)-$,
(l) $R_3-SO_2-(CH_2)_q-C(O)-$,
(m) $R_3-SO_2-(CH_2)_q-O-C(O)-$, tai

(n) R_6-$(CH_2)_i$-C(O)-;

jossa R_4 on kaikissa tapauksissa sama tai erilainen ja se on
(a) vety,
(b) C_1-C_3alkyyli,
(c) -$(CH_2)_p$-aryyli,
(d) -$(CH_2)_p$-Het,
(e) -$(CH_2)_p$-C_3-C_7sykloalkyyli, tai
(f) 1- tai 2-adamantyyli;

jossa R_5 on
(a) C_1-C_6alkyyli,
(b) C_3-C_7sykloalkyyli,
(c) aryyli,
(d) -Het, tai
(e) 5-okso-2-pyrrolidinyyli;

jossa R_6 on
(a) vety,
(b) C_1-C_3alkyyli,
(c) -$(CH_2)_p$-aryyli,
(d) -$(CH_2)_p$-Het,
(e) -$(CH_2)_p$-C_3-C_7sykloalkyyli, tai
(f) 1- tai 2-adamantyyli;

jossa R_{26} on
(a) vety,
(b) C_1-C_3alkyyli, tai
(c) fenyyli-C_1-C_3alkyyli;

jossa i on 0-5;
jossa j on 0-3;
jossa n on kaikissa tapauksissa toisista riippumatta kokonaisluku 0-5;
jossa p on 0-2;
jossa q on 0-5;

Kaavalla -[C(O)-AA-NH-]$_j$X tarkoitetaan aminohappotähdettä, mukaanlukien luonnossa esiintyvät aminohapot kuten: glysiini, alaniini, valiini, leusiini, isoleusiini, fenyylialaniini, lysiini, proliini, tryptofaani, metioniini, seriini, troniini, kysteiini, tyrosiini, asparagiini, glutamiini, asparagiinihappo, glutamiinihappo, arginiini, ornitiini ja histidiini, ja niiden synteettiset johdannaiset. Nämä yhdisteet voivat olla L- tai D-konfiguraatiossa, ja ne ovat hyvin tunnettuja ja helposti saatavissa olevia niille, jotka tuntevat alaa. Tässä kaavassa j on kokonaisluku 1-3, niin että kaksi tai kolme aminohappotähdettä voi olla yhdistynyt, jolloin syntyy dipeptidi tai vastaavasti tripeptidi, ja X on terminaalinen ryhmä.

Aminohappojohdannaiset voivat olla "D"- ja/tai "L"-konfiguraatiossa, etuliitteiden ollessa keino ilmaista erilaisten optisesti aktiivisten yhdisteiden, erityisesti hiilihydraattien, keskinäisiä konfiguraatioita. Yhdiste glyseraldehydi, $CH_2OHCHOHCHO$, valittiin vertailustandardiksi, koska se on yksinkertaisin hiilihydraatti - aldotrioosi - jolla optinen isomeria on mahdollista. (+)-glyseraldehydille osoitettiin keinotekoisesti konfiguraatio, ja sitä merkittiin D-glyseraldehydillä, ja (-)-glyseraldehydille osoitettiin toinen konfiguraatio, ja sitä merkittiin L-glyseraldehydillä. R.T. Morrison & R.N. Boyd, Organic Chemistry, 1087-88 (1978). Yhdisteitä, jotka liittyvät konfiguraationaalisesti D-glyseraldehydiin, merkitään D:llä, ja yhdisteitä, jotka liittyvät läheisesti L-glyseraldehydiin, merkitään L:llä. Organic Chemistry sivulla 1089.

"Renniiniä inhiboivalla peptidillä" tarkoitetaan yhdistettä, joka pystyy inhiboimaan renniinientsyymiä nisäkkään aineenvaihdunnassa, ja joka sisältää kolme tai useampia aminohappotähteitä sitoutuneina toisiinsa peptidi- tai pseudopeptidisidoksin.

Ilmaisulla "ei-katkaistavissa oleva siirtymätilainen insertti" tarkoitetaan siirtymätilaista inserttiä, joka ei ole katkaistavissa hydrolyyttisellä entsyymillä nisäkkään aineenvaihdunnassa. Alalla tunnetaan useita erilaisia siirtymätilaisia inserttejä, jotka vastaavat renniinin substraatin 10,11-asemaa, mukaanlukien ne, jotka tuodaan esille seuraavissa viitteissä:

US-patentti 4 42 4 207 (Szelke); Eurooppalainen patentti 104 041A (Szelke); Eurooppalainen patenttihakemus 144 290A (Ciba-Geigy AG); Eurooppalainen patentti 0 156 322 (Merck); Eurooppalainen patentti 161-588A (Merck); Eurooppalainen patentti 0 172 347 (Abbott); Eurooppalainen patentti 172-346-A (Abbott); Eurooppalainen patentti 156-318 (Merck); Eurooppalainen patentti 157-409 (Merck); Eurooppalainen patentti 152-255 (Sankyo); ja US-patentti 4 548 926 (Sankyo); ja

US-patenttihakemus, sarjanumero 904 149, jätetty 5. syyskuuta 1986; US-patenttihakemus, sarjanumero 844 716, jätetty 27. maaliskuuta 1986; PCT-hakemus, sarjanumero 000 713, jätetty 7. huhtikuuta 1986; US-patenttihakemus, sarjanumero 945 340, jätetty 22. joulukuuta 1986; ja US-patenttihakemus, sarjanumero 825 250, jätetty 3. helmikuuta 1986; ja

A. Spaltenstein, P. Carpino, F. Miyake ja P.B. Hyskins, Tetrahedron Letters, 27:2095 (1986); D.H. Rich ja M.S. Bernatowicz, J. Med. Chem., 25:791 (1982); Roger, J. Med. Chem., 28:1062 (1985); D.M. Glick et al., Biochemistry, 21:3746 (1982); D.H. Rich, Biochemistry, 24:3165 (1985); R.L. Johnson, J. Med. Chem., 25:605 (1982); R.L. Johnson ja K. Verschovor, J. Med. Chem., 26:1457 (1983); R.L. Johnson, J. Med. Chem., 27:1351 (1984); P.A. Bartlett et al., J. Am. Chem. Soc., 106:4282; ja Peptides: Synthesis, Structure and Function (V.J. Hruby; D.H. Rich, edit.) Proc. 8th American Peptide Sym., Pierce Chemical Company, Rockford, Ill., ss. 511-20; 587-590 (1983).

Kuten on tavallisesti alaa tuntevien kannalta selvää, esillä olevan keksinnön mukaiset renniiniä inhiboivat peptidit voivat esiintyä useissa isomeerisissä muodoissa, riippuen konfiguraatiosta asymmetristen hiiliatomien ympärillä. Kaikki sellaiset isomeeriset muodot luetaan esillä olevan keksinnön piiriin kuuluviksi. Syklopropyyliaminohapon E-isomeeri on edullinen. Muiden aminohappojen stereokemia vastaa edullisesti luonnollisina esiintyvien aminohappojen stereokemiaa.

Renniiniä inhiboivat peptidit sisältävät tavallisesti suojaavia ryhmiä N-päässä ja C-päässä. Nämä suojaryhmät ovat tunnettuja polypeptidialalla. Esimerkkejä näistä suojaryhmistä annetaan jäljempänä. Mitkä tahansa näistä suojaryhmistä ovat sopivia esillä olevan keksinnön mukaisille renniiniä inhiboiville peptideille.

Esillä olevan keksinnön mukaisen kaavan XL_{2c} osa voi edullisesti esiintyä renniiniä inhiboivan peptidin C-päässä ja, sellaisenaan, kytkettynä sopivaan suojaryhmään, toimii pääteasemana.

Nämä yhdisteet esitetään suhteessa ihmisen renniinin substraattiin seuraavasti:

	6	7	8	9	10	11	12	13		
	-His	Pro	Phe	His	Leu	Val	Ile	His-		
X	A_6	B_7	C_8	D_9	E_{10}	F_{11}	G_{12}	H_{13}	I_{14}	Z,

Esillä olevan keksinnön mukaisesti annetaan käyttöön renniinin peptidi-inhibiittoreita, jotka sisältävät kaavan XL_{2c} mukaisen osan.

Esimerkkeihin farmaseuttisesti hyväksyttävistä happoadditiosuoloista lukeutuvat: asetaatti, adipaatti, alginaatti, aspartaatti, bentsoaatti, bentseenisulfonaatti, bisulfaatti, butyraatti, sitraatti, kamforaatti, kamforisulfonaatti, syklopentaanipropionaatti, diglukonaatti, dodekyylisulfaatti,

etaanisulfonaatti, fumaraatti, glukoheptanoaatti, glyserofosfaatti, hemisulfaatti, heptanoaatti, heksanoaatti, hydrokloridi, hydrobromidi, hydrojodidi, 2-hydroksietaanisulfonaatti, laktaatti, maleaatti, metaanisulfonaatti, 2-naftaleenisulfonaatti, nikotinaatti, oksalaatti, palmoaatti, pektinaatti, persulfaatti, 3-fenyylipropionaatti, pikraatti, pivalaatti, propionaatti, sukkinaatti, tartraatti, tiosyanaatti, tosylaatti, ja undekanoaatti.

Erilaisten hiilivetyä sisältävien osien hiiliatomien määrä osoitetaan etuliitteellä, joka ilmoittaa hiiliatomien minimi- ja maksimimäärän osassa, so., etuliite (C_i-C_j) ilmaisee osaa, jossa on hiiliatomeja kokonaisluvusta "i" kokonaisluvuun "j", nämä mukaanlukien. Näin ollen, (C_1-C_4)alkyyli viittaa alkyyliin, joka sisältää yhdestä neljään hiiliatomia, nämä mukaanlukien., tai sen metyyli-, etyyli-, propyyli-, ja butyylimuotoihin ja isomeerisiin muotoihin. C_4-C_7syklinen amino ilmaisee monosyklistä ryhmää, joka sisältää yhden typen ja 4-7 hiiliatomia.

Esimerkkejä (C_3-C_{10})sykloalkyylistä, jotka sisältävät alkyylisubstituoidun sykloalkyylin, joka sisältää kaikkiaan enintään 10 kokonaishiiliatomia, ovat syklopropyyli, 2-metyylisyklopropyyli, 2,2-dimetyylisyklopropyyli, 2,3-dietyylisyklopropyyli, 2-butyylisyklopropyyli, syklobutyyli, 2-metyylisyklobutyyli, 3-propyylisyklobutyyli, syklopentyyli, 2,2-dimetyylisyklopentyyli, sykloheksyyli, sykloheptyyli, syklo-oktyyli, syklononyyli, syklodekyyli, ja niiden isomeeriset muodot.

Esimerkkeihin aryylistä lukeutuvat fenyyli, naftyyli, (o-, m-, p-)tolyyli, (o-, m-, p-)etyylifenyyli, 2-etyyli-tolyyli, 4-etyyli-o-tolyyli, 5-etyyli-m-tolyyli, (o-, m-, tai p-)propyylifenyyli, 2-propyyli-(o-, m-, tai p-)tolyyli, 4-isopropyyli-2,6-ksylyyli, 3-propyyli-4-etyylifenyyli, (2,3,4-, 2,3,6-, tai 2,4,5-)-trimetyylifenyyli, (o-, m-, tai p-)fluorifenyyli, (o-, m-, tai p-trifluorimetyyli)fenyyli, 4-fluori-

2,5-ksylyyli, (2,4-, 2,5-, 2,6-, 3,4-, tai 3,5-)difluorifenyyli, (o-, m-, tai p-)kloorifenyyli, 2-kloori-p-tolyyli, (3-, 4-, 5- tai 6-)kloori-o-tolyyli, 4-kloori-2-propyylifenyyli, 2-isopropyyli-4-kloorifenyyli, 4-kloori-3-fluorifenyyli, (3- tai 4-)kloori-2-fluorifenyyli, (o-, m-, tai p-)trifluorimetyylifenyyli, (o-, m-, tai p-)etoksifenyyli, (4- tai 5-)kloori-2-metoksifenyyli, ja 2,4-dikloori-(5- tai 6-)metyylifenyyli, ja vastaavat.

Esimerkkeihin -Het:stä lukeutuvat: 2-, 3-, tai 4-pyridyyli, imidatsolyyli, indolyyli, N^{1-}-C_1-C_6alkyyli-C(O)-indolyyli, [1,2,4]-triatsolyyli, 2-, 4-, tai 5-pyrimidinyyli, 2- tai 3-tienyyli, piperidinyyli, pyrryyli, pyrrolinyyli, pyrrolidinyyli, pyratsolyyli, pyratsolinyyli, pyratsolidinyyli, imidatsolinyyli, imidatsolidinyyli, pyratsinyyli, piperatsinyyli, pyridatsinyyli, oksatsolyyli, oksatsolidinyyli, isoksatsolyyli, isoksatsolidinyyli, morfolinyyli, tiatsolyyli, tiatsolidinyyli, isotiatsolyyli, isotiatsolidinyyli, kinolinyyli, isokinolinyyli, bentsimidatsolyyli, bentsotiatsolyyli, bentsoksatsolyyli, furyyli, tienyyli, ja bentsotienyyli. Jokainen näistä osista voidaan substituoida kuten edellä on mainittu.

Kuten orgaanisen kemian alaa tuntevat yleisesti käsittäisivät, heterosyklinen ryhmä, kuten tässä yhteydessä on määritelty -Het:n kohdalla, ei tulisi sidotuksi hapen tai rikin välityksellä tai typen välityksellä, joka on renkaassa ja osana kaksoissidosta.

Halo on halogeeni (fluori, kloori, bromi, tai jodi) tai trifluorimetyyli.

Esimerkkeihin farmaseuttisesti hyväksyttävistä kationeista lukeutuvat: farmakologisesti hyväksyttävät metallikationit, ammonium, amiinikationit tai kvaternääriset ammoniumkationit. Erityisen edulliset metallikationit ovat peräisin alkalimetalleista, esim., litium, natrium, ja kalium, ja maa-alkalimetalleista, esim., magnesium ja kalsium, vaikkakin myös mui-

den metallien kationimuodot, esim., alumiini, sinkki ja rauta kuuluvat tämän keksinnön piiriin. Farmakologisesti hyväksyttäviä aminokationeja ovat sellaiset, jotka ovat peräisin primaarisista, sekundaarisista tai tertiäärisistä amiineista.

Tässä yhteydessä esillä olevat uudet peptidit sisältävät sekä luonnollisia että synteettisiä aminohappotähteitä. Näitä tähteitä kuvataan käyttäen aminohappojen standardilyhenteitä (esim., Eur. J. Biochem., 138, 9 (1984)), ellei toisin ole osoitettu.

Lämminveristen eläinten, kuten hiirten, rottien, hevosten, koirien, kissojen jne., hoitamisen lisäksi, keksinnön mukaiset yhdisteet ovat tehokkaita ihmisten hoitamisessa.

Tämän keksinnön mukaiset renniinin inhibiittorit ovat käyttökelpoisia minkä tahansa lääketieteellisen tilan hoitamiseksi, jonka kohdalla on edullista alentaa aktiivisen, veressä kiertävän renniinin tasoja. Esimerkkejä sellaisista tiloista ovat renniiniin kytkeytyvä kohonnut verenpaine ja hyperaldosteronismi, kohonnut verenpaine, kohonnut verenpaine hoidettaessa muulla antihypertensiivisellä ja/tai diureettisella aineella, verentungoksellinen sydämen toiminnan vajavuus, angiina, ja sydäninfarktin jälkitila. Renniini-angiotensiosysteemillä voi olla merkitystä intrasellulaarisen tasapainon ylläpitämisessä. Clinical and Experimental Hypertension, 86, 1739-1742 (1984) sivulla 1740 kohdassa Discussion. Yhdisteet ovat käyttökelpoisia myös molekulaarisina koettimina verenpaineen säätelyn tai muiden fysiologisten toimintojen fysiologian diagnoosissa ja tutkimuksessa.

Tämän keksinnön mukaiset renniinin inhibiittorit voivat lisäksi olla käyttökelpoisia hoidettaessa aivoverisuonihäiriöitä ja intrasellulaarisen tasapainon häiriöitä. Renniini-angiotensiinisysteemin mahdollinen merkitys intrasellulaarisen tasapainon ylläpitämisessä tuodaan esille julkaisussa Clinical and Experimental Hypertension, 86:1739-1742 (1984). Tämän

keksinnön mukaiset renniinin inhibiittorit mahdollistavat lisäksi tromboksaanin antagonistin antitromboottisen aktiivisuuden (US-patentti 4 558 037). Tämän keksinnön mukaisten renniinin inhibiittorien antihypertensiivinen vaikutus tulee mahdolliseksi yhdistelmänä tromboksaanisyntetaasin inhibiittorin kanssa.

Esillä olevan keksinnön mukaisia yhdisteitä annetaan ihmisille edullisesti oraalisesti renniinin inhibition aikaan saamiseksi, tarkoituksena vaikuttaa suotuisasti verenpaineeseen. Tätä tarkoitusta varten yhdisteitä annetaan 0,1 mg - 1000 mg/kg/annos, annettuna 1-4 kertaa päivässä. Esillä olevan keksinnön mukaisia yhdisteitä annetaan edullisesti oraalisesti farmakologisesti hyväksyttävien happoadditiosuolojen muodossa. Edullisiin farmakologisesti hyväksyttäviin suoloihin oraalista antoa varten lukeutuvat sitraatti- ja aspartaattisuolat, vaikkakin mikä tahansa farmakologisesti hyväksyttävä suola on käyttökelpoinen tässä keksinnössä, mukaanlukien edellä luetellut suolat. Nämä suolat voivat olla hydratoituneessa tai solvatoituneessa muodossa.

Muita antoreittejä ovat parenteraalinen anto, lääkehöyryhengityssuihkeena anto tai rektaalinen anto yksikköannosformulaatioissa, jotka sisältävät tavanomaisia, ei-toksisia farmaseuttisesti hyväksyttäviä kantajia, apuaineita ja vehikkeleitä. Tässä käytettynä ilmaisu parenteraalinen sisältää ihonalaiset ruiskeet, laskimonsisäiset, lihaksensisäiset, rintalastansisäiset ruiskeet tai infuusiomenetelmät.

Farmaseuttiset koostumukset voivat olla steriilin ruiskutettavan valmisteen muodossa, esimerkiksi steriilinä ruiskutettavana vesipitoisena tai öljyisenä suspensiona. Tämä suspensio voidaan formuloida tunnetulla tavalla käyttäen sopivia dispergoivia tai kosteuttavia aineita ja suspendoivia aineita. Steriili ruiskutettava valmiste voi olla myös steriili ruiskutettava liuos tai suspensio ei-toksisessa parenteraalisesti hyväksyttävässä laimentimessa tai liuottimessa, esimer-

kiksi liuoksena 1,3-butaanidiolissa. Hyväksyttävien, käytettävissä olevien vehikkeleiden ja liuottimien joukossa ovat vesi, Ringer'in liuos ja isotoninen natriumkloridiliuos. Steriilejä rasvaöljyjä käytetään lisäksi tavanomaisesti liuottimena tai suspendointialustana. Tähän tarkoitukseen voidaan käyttää mitä tahansa laimeaa rasvaöljyä, mukaanlukien synteettiset mono- tai diglyseridit. Rasvahapoilla kuten öljyhapolla on lisäksi käyttöä ruiskutettavien aineiden valmistuksessa.

Sellaisia muita antoreittejä varten käytetään siten ekvivalentteja annostuksia. Tarkka annos riippuu potilaan iästä, painosta ja tilasta ja antotiheydestä ja -reitistä. Sellaiset vaihtelut kuuluvat lääkärin ammattitaidon piiriin tai ne voidaan helposti määrittää.

Esillä olevan keksinnön mukaiset yhdisteet voivat olla farmaseuttisesti hyväksyttävien suolojen muodossa sekä sellaisten, joita voidaan tuottaa vapaista emäksistä alalla hyvin tunnetuilla menetelmillä, että sellaisten, joiden kanssa hapoilla on farmakologisesti hyväksyttäviä liittoemäksiä.

Tavanomaisia muotoja ja keinoja voidaan käyttää renniiniä inhiboivien yhdisteiden antoon, ja niitä kuvaillaan esim. US-patentissa 4 424 207, joka on tässä yhteydessä liitetty viitteenä. Samalla tavalla, US-patentissa 4 424 207 esille tuodut määrät ovat esimerkkejä, jotka ovat käytettävissä esillä olevan keksinnön mukaisiin yhdisteisiin.

Tämän keksinnön mukaisia renniiniä inhiboivia yhdisteitä voidaan antaa yhdessä muiden aineiden kanssa, joita käytetään antihypertensiivisessä hoidossa, kuten diureetit, α- ja/tai β-adrenergiset salpaaja-aineet, keskushermostoon vaikuttavat aineet, adenergiset hermosoluja salpaavat aineet, verisuonen laajentajat, angiotensiini I:tä muuttavan entsyymin inhibiittorit ja vastaavat, kuten esimerkiksi julkistetussa eurooppalaisessa patenttihakemuksessa 156 318 on kuvailtu.

Tämän keksinnön mukaisia yhdisteitä voidaan esimerkiksi antaa yhdessä sellaisten yhdisteiden tai suolojen tai niiden muiden johdannaismuotojen kanssa kuten:

Diureetit: asetatsoliamidi; amiloridi; bendroflumetiatsidi; bentstiatsidi; bumetanidi; klooritiatsidi; klooritalidoni; syklotiatsidi; etakryynihappo; furosemidi; hydroklooritiatsidi; hydroflumetiatsidi; indakrinoni (raseeminen seos, tai joko (+)- tai (-)-enantiomeerinä yksistään, tai vastaavasti manipuloituna suhteena, esim. 9:1 mainittuja enantiomeerejä); metolatsoni; metyklotiatsidi; mutsolimiini; polytiatsidi; kinetatsoni; natriumetakrynaatti; natriumnitroprussidi; spironolaktoni; tikrynateeni; trimatereeni; trikloorimetiatsidi;

α-adrenergiset salpaavat aineet: dibenamiini; fentolamiini; fenoksibentsamiini; pratsosiini; tolatsoliini;

β-adrenergiset salpaavat aineet: atenololi; metoprololi; nadololi; propranololi; timololi;

((±)-2-[3-(tert-butyyliamino)-2-hydroksipropoksi[-2-furaanianilidi) (ankaroloili);

(2-asetyyli-7-(2-hydroksi-3-isopropyyliaminopropoksi)bentsofuraani HCl) (befunololi);

((±)-1-(isopropyyliamino)-3-(p(2-syklopropyylimetoksietyyli)fenoksi)-2-propanoli HCl) (betaksololi);

(1-[(3,4-dimetoksifenetyyli)amino]-3-(m-tolyylioksi)-2-propanoli HCl) (bevantololi);

(((±)-1-(4-((2-isopropoksietoksi)metyyli)fenoksi)-3-isopropyyliamino-2-propanoli)fumaraatti) (bisoprololi);

(4-(2-hydroksi-3-[4-(fenoksimetyyli)-piperidiino]-propoksi)-

indoli);

(karbatsolyyli-4-oksi-5,2-(2-metoksifenoksi)-etyyliamino-2-propanoli);

(1-((1,1-dimetyylietyyli)amino)-3-((2-metyyli 'H-indol-4-yyli)oksi)-2-propanolibentsoaatti) (bopindololi);

(1-(2-eksobisyklo[2.2.1]-hept-2-yylifenoksi)-3-[(1-metyyli-etyyli)-amino]-2-propanoli HCl) (bornaprololi);

(o-[2-hydroksi-3-[(2-indol-3-yyli-1,1-dimetyylietyyli)-amino]propoksi]bentsonitriili HCl) (bukindololi)

(α[(tert.butyyliamino)metyyli]-7-etyyli-2-bentsofuraanimetanoli) (bufuraloli);

(3-[3-asetyyli-4-[3-(tert.butyyliamino)-2-hydroksipropyyli]-fenyyli]-1,1-dietyyliurea HCl) (seliprololi);

((±)-2-[2-[3-[(1,1-dimetyylietyyli)amino]-2-hydroksipropoksi]fenoksi]-N-metyyliasetamidi HCl) (setamololi);

(2-bentsimidatsolyyli-fenyyli(2-isopropyyliaminopropanoli));

((±)-3'-asetyyli-4'-(2-hydroksi-3-isopropyyliaminopropoksi)-asetanilidi HCl) (diasetololi);

(metyyli-4-[2-hydroksi-3-[(1-metyylietyyli)aminopropoksyyli]]-bentseeni-propanoaatti HCl) (esmololi);

(erytro-DL-1-(7-metyyli-indan-4-yylioksi)-3-isopropyyliaminobutan-2-oli);

(1-(tert.butyyliamino)-3-[0-(2-propynyylioksi)fenoksi]-2-propanoli (pargololi);

(1-(tert.butyyliamino)-3-[o-(6-hydratsino-3-pyridatsinyyli)-fenoksi]-2-propanoli diHCl) (pritsidiloli);

((-)-2-hydroksi-5-[(R)-1-hydroksi-2-[(R)-(1-metyyli-3-fenyylipropyyli)-amino]etyyli]bentsamidi);

(4-hydroksi-9-[2-hydroksi-3-(isopropyyliamino)-propoksi]-7-metyyli-5H-furo[3,2-g][1]-bentsopyran-5-oni) (iprokrololi);

((-)-5-(tert.butyyliamino)-2-hydroksipropoksi]-3,4-dihydro-1-(2H)-naftalenoni HCl) (levobunololi);

(4-(2-hydroksi-3-isopropyyliamino-propoksi)-1,2-bentsisotiatsoli HCl);

(4-[3-(tert.butyyliamino)-2-hydroksipropoksi]-N-metyyli-isokarbostyriili HCl);

((±)-N-2-[4-(2-hydroksi-3-isopropyyliaminopropoksi)fenyyli]-etyyli-N'-isopropyyliurea) (pafenololi);

(3-[[(2-trifluoriasetamido)etyyli]amino]-1-fenoksipropan-2-oli);

(N-(3-(o-kloorifenoksi)-2-hydroksipropyyli)-N'-(4'-kloori-2,3-dihydro-3-okso-5-pyridatsinyyli)etyleenidiamiini);

((±)-N-[3-asetyyli-4-[2-hydroksi-3-[(1-metyylietyyli)amino]-propoksifenyyli]-butaaniamidi) (asebutololi);

((±)-4'-[3-(tert.butyyliamino)-2-hydroksipropoksi]spiro[sykloheksaani-1,2'-indan]-1'-oni) (spirendololi);

(7-[3-[[2-hydroksi-3-[(2-metyyli-indol-4-yyli)oksyylipropyyli]amino]butyyli]tiofylliini) (teoprololi);

((±)-1-tert.butyyliamino-3-(tiokroman-8-yylioksi)-2-propanoli) (tertatololi);

((±)-1-tert.butyyliamino-3-(2,3-ksylyylioksi)-2-propanoli HCl) (ksibenololi);

(8-[3-(tert.butyyliamino)-2-hydroksipropoksi]-5-metyylikumariini) (bukumuloli);

(2-(3-(tert.butyyliamino)-2-hydroksi-propoksi)bentsonitriili HCl) (bunitrololi);

((±)-2'-[3-(tert.butyyliamino)-2-hydroksipropoksi-5'-fluoributyrofenoni) (butofilololi);

(1-(karbatsol-4-yylioksi)-3-(isopropyyliamino)-2-propanoli) (karatsololi);

(5-(3-tert.butyyliamino-2-hydroksi)propoksi-3,4-dihydrokarbotyriili HCl) (karteololi);

(1-(tert.butyyliamino)-3-(2,5-dikloorifenoksi)-2-propanoli) (kloranololi);

(1-(inden-4(tai 7)-yylioksi)-3-(isopropyyliamino)-2-propanoli HCl) (indenololi);

(1-isopropyyliamino-3-[(2-metyyli-indol-4-yyli)oksi]-2-propanoli) (mepindololi);

(1-(4-asetoksi-2,3,5-trimetyylifenoksi)-3-isopropyyliaminopropan-2-oli) (metipranololi);

(1-(isopropyyliamino)-3-(o-metoksifenoksi)-3-[(1-metyylietyyli)amino]-2-propanoli) (moprololi);

((1-tert.butyyliamino)-3-[(5,6,7,8-tetrahydro-cis-6,7-dihydroksi-1-naftyyli)oksi]-2-propanoli) (nadololi);

((S)-1-(2-syklopentyylifenoksi)-3-[(1,1-dimetyylietyyli)amino]-2-propanolisulfaatti (2:1)) (penbutololi);

(4'-[1-hydroksi-2-(amino)etyyli]metaanisulfonanilidi) (sotaloli);

(2-metyyli-3-[4-(2-hydroksi-3-tert.butyyliaminopropoksi)fenyyli]-7-metoksi-isokinolin-1-(2H)-oni);

(1-(4-(2-(4-fluorifenyylioksi)etoksi)fenoksi)-3-isopropyyliamino-2-propanoli HCl);

((-)-p-[3-[(3,4-dimetoksifenetyyli)amino]-2-hydroksipropoksi]-β-metyyli-kinnamonitriili) (pakrinololi);

((±)-2-(3'-tert.butyyliamino-2'-hydroksipropyylitio)-4-(5'-karbamoyyli-2'-tienyyli)tiatsoli HCl) (arotinololi);

((±)-1-[p-[2-(syklopropyylimetoksi)etoksi]fenoksi]-3-(isopropyyliamino)-2-propanoli) (sikloprololi);

((±)-1-[(3-kloori-2-metyyli-indol-4-yyli)oksi]-3-[(2-fenoksietyyli)amino]-2-propanoli) (indopanololi);

((±)-6-[[2-[[3-(p-butoksifenoksi)-2-hydroksipropyyli]amino]-etyyli]amino]-1,3-dimetyyliurasiili) (pirepololi);

(4-(sykloheksyyliamino)-1-(1-naftolenyylioksi)-2-butanoli);

(1-fenyyli-3-[2-[3-(2-syaanifenoksi)-2-hydroksipropyyli]aminoetyyli]hydantoiini HCl);

(3,4-dihydro-8-(2-hydroksi-3-isopropyyliaminopropoksi)-3-nitroksi-2H-1-bentsopyraani) (nipradololi);

Angiotensiini I:tä muuttavan entsyymin inhibiittoreita:

1-(3-merkapto-2-metyyli-1-oksoprolyyli)-L-proliini (kaptopriili);

(1-(4-etoksikarbonyyli-2,4(R,R)-dimetyylibutanoyyli)indoliini-2(S)-karboksyylihappo);

(2-[2-[(1-(etoksikarbonyyli)-3-fenyyli-propyyli]amino]-1-oksoprolyyli]-1,2,3,4-tetrahydro-3-isokinoliini karboksyylihappo);

((S)-1-[2-[(1-(etoksikarbonyyli)-3-fenyylipropyyli]amino]-1-oksoprolyyli]oktahydro-1H-indoli-2-karboksyylihappo HCl);

(N-syklopentyyli-N-(3-(2,2-dimetyyli-1-oksoprolyyli)tioli-2-metyyli-1-okso-propyyli)glysiini) (pivalopril);

((2R,4R)-2-(2-hydroksifenyyli)-3-(3-merkaptopropionyyli)-4-tiatsolidiini-karboksyylihappo);

(1-(N-[1(S)-etoksikarbonyyli-3-fenyylipropyyli]-(S)-alanyyli)-cis,syn-oktahydroindoli-2(S)-karboksyylihappo HCl);

((-)-(S)-1-[(S)-3-merkapto-2-metyyli-1-oksopropyyli]indoliini-2-karboksyylihappo);

([1(S),4S]-1-[3-(bentsoyylitio)-2-metyyli-1-oksopropyyli]-4-fenyylitio-L-proliini;

(3-([1-etoksikarbonyyli-3-fenyyli-(1S)-propyyli]amino)-2,3,-4,5-tetrahydro-2-okso-1-(3S)-bentsatsepiini-1-etikkahappo HCl);

(N-(2-bentsyyli-3-merkaptopropanoyyli)-S-etyyli-L-kysteiini) ja S-metyylianalogi;

(N-(1-(S)-etoksikarbonyyli-3-fenyylipropyyli)-L-alanyyli-L-proliini maleaatti) (enalapril);

N-[1-(S)-karboksi-3-fenyylipropyyli]-L-alanyyli-1-proliini;

N^{2}-[1-(S)-karboksi-3-fenyylipropyyli]-L-lysyyli-L-proliini (lysinopril);

Muita antihypertensiivisiä aineita: aminofylliini; kryptenamiinin asetaatit ja tannaatit; deserpidiini; meremetoksylliini prokaiini; pargyliini; tri-metafaani kamsylaatti; ja vastaavat, samoinkuin niiden seokset ja yhdistelmät.

Yksittäinen päivittäisannostus näillä yhdistelmillä voi tyypillisesti vaihdella noin yksiviidesosasta minimaalisista suositelluista kliinisistä annostuksista suositeltuihin maksimitasoihin kokonaisuuksien osalta, kun ne annetaan yksittäin. Yhteisanto toteutetaan helpoiten yhdistämällä aktiiviset aineosat sopivaksi yksikköannosmuodoksi, joka sisältää sopivat annostukset kumpiakin. Muut yhteisantomenetelmät ovat tietenkin mahdollisia.

Esillä olevan keksinnön mukaisia yhdisteitä valmistetaan kuten kaavioissa on kuvattu ja kuten "valmisteet ja esimerkit" -jaksoissa on täydellisemmin kuvailtu. Kaavioissa Boc tarkoittaa butyylioksikarbonyyliä; Ph tarkoittaa fenyyliä.

Kaavio A

Kaavojen A-3 ja A-4 mukaisten yhdisteiden synteesi esitetään kaaviossa A. Kaavan A-1 mukaisen aldehydin lisääminen, jonka valmistaminen on alalla tunnettua, kaksinkertaiseen ylimäärään litioitua kaavan A-2 mukaista pyrrolidiiniformamidia, jota on valmistettu kuten A.I. Meyers et al., on kuvaillut, J. Amer. Chem. Soc., 106:3270-3276 (1984), tetrahydrofuraanissa -80°C:ssa, tuottaa seoksen, joka sisältää kahta diastereomeeristä, kaavojen A-3 ja A-4 mukaista alkoholia. Vaikka

raakareaktion tutkiminen NMR:n avulla selvästi osoittaa etusijaa treo-diastereomeerin muodostukselle, kaavan A-3 mukainen alkoholi (2/1), puhdistaminen (piihappogeeli) tuottaa aina suunnilleen 1/1 seoksen diastereomeerisiä alkoholeja. Kaavan A-3 mukainen alkoholi on viskoosia öljyä, kun taas kaavan A-4 mukainen alkoholi on kiteinen kiinteä aine. Kaavojen A-3 ja A-4 mukaisia alkoholeja käytetään lähtöaineina kaavioissa B ja C valmistettaville yhdisteille.

Kaavio B

Kaavan B-7 mukaisen yhdisteen synteesi esitetään kaaviossa B. Kaavan A-3 mukaista yhdistettä, valmistettuna kuten kaaviossa A on kuvailtu, käytetään kaavan B-1 mukaisena lähtöaineena. Kaavan B-1 mukaisen yhdisteen käsittely hydatsiinilla happamessa vesipitoisessa etanolissa, kuten Meyers et al. on kuvaillut, J. Am. Chem. Soc. (1984) 106, 3270-76, tuottaa tavoiteltua kaavan B-2 mukaista Boc-aminoalkoholia valkoisena kiinteänä aineena. Kaavan B-2 mukainen Boc-aminoalkoholi muutetaan sen jälkeen kaavan B-3 mukaiseksi Boc-Cbz-alkoholiksi. Kaavan B-3 mukaisen Boc-Cbz-alkoholin käsittely trifluorietikkahappo/metyleenikloridilla (0°C) tuottaa sen jälkeen kaavan B-4 mukaista aminoalkoholia, joka liitetään histidiiniin. Trietyyliamiinin (TEA) lisääminen seokseen, joka sisältää Boc-L-His(πBom)-OH:ta, kaavan B-4 mukaista aminoalkoholia, ja dietyylifosforyylisyanidia (DEPC) dimetyyliformamidissa (DMF), tuottaa haluttua kaavan B-5 mukaista pseudodipeptidiä. Koska rasemoitumista voi esiintyä joko hapetusvaiheessa (alkoholi aldehydiksi) ja/tai lisättäessä litioitua, kaavan A-2 mukaista pyrrolidiiniformamidia kaavan A-1 mukaiseen aldehydiin (kaavio A), kaavan B-5 mukainen dipeptidi on suunnilleen diastereomeerien (l1 ja d1) 2:1 seos. Kaavan B-5 mukaisesta dipeptidistä poistetaan sen jälkeen Boc 50-%:isella trifluorietikkahappo (TFA)/metyleenikloridilla 0°C:ssa. Tuloksena oleva amiini liitetään Ac-Trp[N^{in}-For]-Pro-Phe-OH:hon käyttäen dietyylifosforyylisyanidia (DEPC) kytkentäreagenssina, jolloin saadaan kaavan B-6 mukaista yhdistettä raakana aineena. Kaavan B-6 mukaista yhdistettä käsitellään

sen jälkeen vedettömän fluorivedyn kanssa bentsyylioksikarbonyyli (Cbz)- ja bentsoyylioksimetyyli-suojarymien poistamiseksi, jolloin saadaan, puhdistuksen jälkeen, tavoiteltua kaavan B-7 mukaista peptidiä trifluoriasetaatti (TFA)-suolana.

Kaavio C

Kaavojen C-7 ja C-8 mukaisten diastereomeeristen yhdisteiden synteesi esitetään kaaviossa C. Kaavan A-4 mukaista yhdistettä, valmistettuna kuten kaaviossa A on kuvailtu, käytetään kaavan C-1 mukaisena lähtöaineena. Kaavan C-1 mukaisen yhdisteen käsittely hydratsiinilla happamessa vesipitoisessa etanolissa, kuten Meyers et al. on kuvaillut, J. Am. Chem. Soc. (1984) 106, 3270-76, tuottaa haluttua kaavan C-2 mukaista Boc-aminoalkoholia. Kaavan C-2 mukainen Boc-aminoalkoholi muutetaan sen jälkeen kaavan C-3 mukaiseksi Boc-Cbz-alkoholiksi. Kaavan C-3 mukaisen Boc-Cbz-alkoholin käsittely trifluorietikkahappo/metyleenikloridilla tuottaa sen jälkeen kaavan C-4 mukaista aminoalkoholia. Trietyyliamiinin (TEA) lisääminen seokseen, joka sisältää Boc-L-His(πBom)-OH:ta, kaavan C-4 mukainen aminoalkoholi, ja dietyylifosforyylisyanidia (DEPC) dimetyyliformamidissa (DMF), tuottaa haluttua kaavan C-5 mukaista pseudodipeptidiä. Kuten kaavan B-5 mukaisen dipeptidin tapauksessa, kaavan C-5 mukainen dipeptidi on myös diastereomeerien (11 ja dl) suunnilleen 2:1 seos. Kaavan C-5 mukaisesta dipeptidistä poistetaan sen jälkeen Boc trifluorietikkahappo (TFA)/metyleenikloridilla (0ioC), ja se liitetään Ac-Trp[N^{in}-For]-Pro-Phe-OH:hon käyttäen dietyylifosforyylisyanidia (DEPC) kytkentäaineena, jolloin saadaan kaavan C-6 mukaista yhdistettä raakana aineena. Kaavan C-6 mukaista yhdistettä käsitellään sen jälkeen vedettömän fluorivedyn kanssa bentsyylioksikarbonyyli (Cbz)- ja bentsyylioksimetyyli-suojaryhmien poistamiseksi, jolloin saadaan, puhdistuksen jälkeen kahta diastereomeeristä, kaavojen C-7 ja C-8 mukaista peptidiä.

Muita esillä olevan keksinnön mukaisia renniiniä inhiboivia

peptidejä, jotka sisältävät kaavan XL_{2c} mukaisen osan, jossa kaavassa R_{90}, R_{91}, R_{100}, R_{101} ja R_{102} ovat kuten edellä on määritelty, voidaan valmistaa menetelmillä, jotka ovat analogisia kaavioissa A, B ja C kuvailtujen menetelmien kanssa, käyttämällä sopivia lähtöaineita.

Kaavan V mukaisia aldehydejä, jotka sisältävät haluttuja R_{90}- ja R_{91}-ryhmiä, voidaan saada vastaavista luonnollisista tai keinotekoisista suojatuista aminohapoista ja estereistä alalla tunnetuilla menetelmillä.

Litioituja kaavan VI mukaisia heterosyklisiä yhdisteitä, joissa n on 0 tai 1, aromaattisten tyydyttämättömien ja tyydytettyjen yhdisteiden muodostamiseksi, joissa R_{100} ja R_{101} on liitetty hiili- ja typpiatomeihin, joihin ne ovat sitoutuneet halutun heterosyklisen renkaan muodostamiseksi, ja joissa R_{102} on lohkaistavissa oleva suojaryhmä, voidaan valmistaa menetelmillä, jotka ovat analogisia P. Beak'in kuvailemien menetelmien kanssa, Chem. Review, 84:471-523 (1984); ja Handbook of Heterocyclic Compounds, Ed. A.R. Katritzky, Pergamon Press, Oxford (1985), s. 261. Sellaisiin suojaryhmiin lukeutuvat karbamaatit, aryyli- ja alkyyliamidit, tioamidit, ureat ja formamidiini. Formamidiini on edullinen suojaryhmä. Silloin kun heterosyklisessä renkaassa on yksi heteroatomi, litiointi tapahtuu renkaan siinä hiiliatomissa, joka on heteroatomin vieressä. Kun heterosyklisessä renkaassa on enemmän kuin yksi heteroatomi, litiointi tapahtuu renkaan siinä hiiliatomissa, joka on sen heteroatomin vieressä, joka on aktivoitu metallointia varten. Esimerkiksi P. Beak, Chem. Review, 84:471-523 (1984); A.I. Meyers et al., J. Amer. Chem. Soc., 106:3270-3276 (1984).

Ottamalla sopivia aldehydiyhdisteitä ja heterosyklisiä yhdisteitä lähtöaineiksi ja käyttämällä kaavioissa A, B ja C kuvailtuja menetelmiä, voidaan valmistaa muita esillä olevan keksinnön mukaisia renniiniä inhiboivia peptidejä.

Renniiniä inhiboivia polypeptidejä voidaan yleisesti valmistaa joko polymeeriavusteisten tai liuosfaasisten peptidisynteesimenetelmien avulla, jotka ovat analogisia tämän jälkeen kuvailtavien menetelmien kanssa tai alalla tunnettujen menetelmien kanssa. Esimerkiksi, N^{α}-t-butyylioksikarbonyyli (Boc)-substituoitujen aminohappojohdannaisten karboksyyliosa, jotka sisältävät sopivia sivuketjun suojaryhmiä, tarvittaessa, voidaan kondensoida sopivasti suojatun aminohapon, peptidin tai polymeeriin sidotun peptidin aminoryhmän kanssa käyttäen tavanomaista kytkentämenettelyä, kuten disykloheksyylikarbodi-imidi (DCC) ja 1-hydroksibentsotriatsoli (HOBT) tai dietyylifosforyylisyanidi (DEPC) ja trietyyliamiini (Et_3N) metyleenikloridissa tai dimetyyliformamidissa. Uusien osien liittämiseksi tässä käytettävät synteettiset menetelmät ovat analogisia menetelmien kanssa, joita kuvaillaan esimerkiksi US-patenteissa 4 424 207; 4 470 971; 4 477 440; 4 477 441; 4 478 826; 4 478 941; ja 4 485 099, ja rinnakkaisessa patenttihakemuksessa sarjanumero 753 198, jätetty 9. heinäkuuta 1985, ja rinnakkaisessa patenttihakemuksessa sarjanumero 825 250, jätetty 3. helmikuuta 1986, joista kaikki on varta vasten liitetty tässä yhteydessä viitteenä. Katso myös, julkistetut eurooppalaiset patenttihakemukset 45 161; 45 665; 53 017; 77 028; 77 029; 81 783; 104 041; 111 266; 114 993; ja 118 223.

Kytkentäreaktion päättymisen jälkeen, N^{α}-Boc-osa voidaan selektiivisesti poistaa 45-%:isen trifluorietikkahapon avulla 2-%:isen (tilavuus/tilavuus) anisolin läsnä ollessa tai ilman sitä metyleenikloridissa. Tuloksena olevan trifluoriasetaattisuolan neutralointi voidaan toteuttaa 10-%:isen di-isopropyylietyyliamiinin tai natriumbikarbonaatin avulla metyleenikloridissa. Polymeeriavusteisen peptidisynteesin tapauksessa, tämä asteittainen kytkentästrategia voidaan osittain tai kokonaan automatisoida haluttujen peptidi-polymeerivälituotteiden aikaan saamiseksi. Peptidi-polymeerivälituotteen käsittelyä vedettömällä fluorivetyhapolla voidaan sen jälkeen käyttää, jotta saataisiin aikaan samanaikaisesti suojaryhmän

poisto ja peptidin lohkaisu polymeerikantajasta. Havaittava poikkeus tähän käsittää N^{in}-formyyli-indolyyli-substituoidut peptidit, joissa N^{in}-formyyli-indolyyli (FTrp)-osa kestää TFA:ta tai HF:ää mutta voidaan poistaa NH_3:lla tai NaOH:lla. Koska FTrp on jonkin verran epästabiili emäksen läsnäollessa synteettisissä menetelmissä, aiheuttaen mahdollisesti alhaisempia saantoja, liuosfaasisessa synteesisssä voi olla edullista lisätä FTrp:tä sisältävä osa myöhään synteesiketjuun, niin että se ei altistu sellaisiin olosuhteisiin.

N^{in}-formyyli-Trp:n sisällyttäminen esillä olevan keksinnön mukaisiin yhdisteisiin on helppo toteuttaa, johtuen N^{α}-Boc-N^{in}-formyyli-Trp-OH:n kaupallisesta saatavuudesta. N^{in}-formyyliosa voidaan kuitenkin liittää indolyyli-substituoituihin aminohappojohdannaisiin tai niiden kaltaisiin yhdisteisiin reaktiossa HCl-muurahaishapon kanssa, kuten kirjallisuudessa on raportoitu, A. Previero et al., Biochim. Biophys. Acta 147, 453 (1967); Y.C.S. Yang et al., Int. J. Peptide Protein Res. 15, 130 (1980).

Uutta, kaavan III mukaista renniiniä inhiboivaa tripeptidiä voidaan valmistaa edellä kuvailluilla menetelmillä.

Yleisesti ottaen, histidiinin alkyloinnissa käyttökelpoiset alkylointimenetelmät, käytetttäväksi esillä olevassa keksinnössä, selviävät julkaisusta Cheung, S.T. et al., Can. J. Chem., Vol. 55, ss. 906-910 (1977). Nyt on kuitenkin havaittu, että Cheung, S.T. et al.'in menetelmissä on ratkaisevaa, että reaktio-olosuhteet histidiinin alkyloinnille ovat anhydridiset. Nyt on edelleen havaittu myös, että työvaiheen aikana on edullista, sen sijaan, että lisättäisiin vettä suoraan reaktioseokseen, lisätä puskuroitua vesiliuosta reaktioseokseen, esimerkiksi vesipitoista natrium- tai kaliumvetysulfaattia.

Muunnokset edellisessä kuvauksessa, koskien lähtöaineita, reaktantteja, reaktio-olosuhteita ja tarvittavia suojaryhmiä,

jotta saataisiin muita sellaisia N-alkyloituja yhdisteitä, ovat normaalisti alaa tuntevan kemistin tiedossa tai ne ovat helposti saatavissa kirjallisuudesta.

Näitä peptidejä voidaan valmistaa myös Merrifieldin normaalilla kiinteäfaasisella tekniikalla. Sopivia suojaryhmiä, reagensseja, ja liuottimia sekä liuosfaasisille että kiinteäfaasisille menetelmille on löydettävissä teoksesta "The Peptides: Analysis, Synthesis, and Biology", vol. 1-5, edit. E. Gross ja T. Meienhofer, Academic Press, NY, 1979-1983.

Esillä olevan keksinnön mukaiset yhdisteet voivat olla joko vapaassa muodossa tai suojatussa muodossa yhden tai useamman jäljellä olevan (ei aikaisemmin suojattujen) peptidi-, karboksyyli-, amino-, hydroksi- tai muiden reaktiivisten ryhmien kohdassa. Suojaryhmät voivat olla mitä tahansa tunnetuista suojaryhmistä polypeptiditieteen alalla. Esimerkkejä typpi- ja happisuojaryhmistä tuodaan esille teoksissa T.W. Greene, Protecting Groups in Organic Synthesis, Wiley, New York, (1981); J.F.W. McOmie, ed. Protective Groups in Organic Chemistry, Plenum Press (1973); ja J. Fuhrhop ja G. Benzlin, Organic Synthesis, Verlag Chemie (1983). Typpisuojaryhmiin luetaan kuuluviksi t-butoksikarbonyyli (Boc), bentsyylioksikarbonyyli, asetyyli, allyyli, ftalyyli, bentsyyli, bentsoyyli, trityyli ja vastaavat.

Seuraavat esillä olevan keksinnön mukaiset yhdisteet ovat edullisia:
N-asetyyli-1-formyyli-L-tryptofyyli-1-prolyyli-L-fenyylialanyyli-N-[1-(sykloheksyylimetyyli)-2-hydroksi-2-(2-pyrrolidinyyli)etyyli]-L-histidiiniamidi, [R-(R*,S*)]bis(trifluoriasetaatti) (suola);
N-asetyyli-1-formyyli-L-tryptofyyli-1-prolyyli-L-fenyylialanyyli-N-[1-(sykloheksyylimetyyli)-2-hydroksi-2-(2-pyrrolidinyyli)etyyli]-L-histidiiniamidi-[2S-[2R*(1R*,2S*)]]-bis(-trifluoriasetaatti) (suola); ja

N-asetyyli-1-formyyli-L-tryptofyyli-1-prolyyli-L-fenyylialanyyli-N-[1-(sykloheksyylimetyyli)-2-hydroksi-2-(2-pyrrolidinyyli)etyyli]-histidiiniamidi-[2R-[2R*(1R*,2R*)]]-bis(trifluoriasetaatti) (suola).

Seuraavat valmisteet ja esimerkit kuvaavat esillä olevaa keksintöä.

Valmisteissa ja esimerkeissä jäljempänä ja kautta koko asiakirjan:

Ac on asetyyli;
AMP on 2-(aminometyyli)pyridinyyli;
BOC on t-butoksikarbonyyli;
BOM on bentsyylioksimetyyli;
Bz on bentsyyli;
C on celsiusaste;
Celite on suodatuksen apuaine;
DCC on disykloheksyylikarbodi-imidi;
DMF on dimetyyliformamidi;
EtOAc on etyyliasetaatti;
FTrp on N^{in}-formyyli-indolyyli;
g on grammaa;
GEA on 2-(guanidyylietyyli)amino;
GMPMA on (3-(guanidyylimetyyli)fenyyli)metyyliamino;
HPLC on suuren erotuskyvyn nestekromatografia;
I_2 on jodi;
Ile on isoleusiini;
IR on infrapunaspektri;
LVA on LeuΨ[CH(OH)CH_2]Val;
M tai mol on mooli;
MBA on 2-metyylibutyyliamino (raseeminen tai optisesti aktiivinen);
MBAS on 2S-metyylibutyyliamino;
Me on metyyli;
min on minuutti;

ml on millilitra;
MS on massaspektroskopia;
NMHis on Nα-metyyli-L-histidiini;
NMR on ydinmagneettinen resonanssi;
NOA1 on (1-naftyylioksi)asetyyli;
p-TSA-suola on para-tolueenisulfonihapon suola;
Ph on fenyyli;
Phe on fenyylialaniini;
POA on fenoksiasetyyli;
RIP tarkoittaa yhdistettä, jolla on kaava H-Pro-His-Phe-His-Phe-Phe-Val-Tyr-Lys-OH.2($CH_3C(O)OH$).XH_2O, joka on tunnettu renniiniä inhiboiva peptidi.
Skellysolve B on kuten Merck Index'ssä on määritelty, 10. painos;
t-BDMS on t-butyylidimetyylisilyyli;
TFA on trifluorietikkahappo;
THF on tetrahydrofuraani;
TLC on ohutlevykromatografia;
Tos on p-tolueenisulfonyyli;
Tr on trityyli (trifenyylimetyyli);
2HPA on (±)-(2-hydroksipropyyli)amino; ja
UV on ultravioletti.

Kiilanmuotoinen viiva osoittaa sidosta, joka ulottuu paperin tason yläpuolelle verrattuna yhdisteen tasoon siinä.

Pisteviiva osoittaa sidosta, joka ulottuu paperin tason alapuolelle verrattuna yhdisteen tasoon siinä.

Valmiste 1

[1-(sykloheksyylimetyyli)-2-[1-[[(1,1-dimetyylietyyli)-imino]metyyli]-2-pyrrolidinyyli]-2-hydroksietyyli]-karbamiinihappo, 1,1-dimetyylietyyliesteri, [2R*(1S*,2R*)]-(±) (kaava A-3) ja [1-(sykloheksyylimetyyli)-2-[1-[[1,1-dimetyylietyyli)imino]metyyli]-2-pyrrolidinyyli]-2-pyrrobidinyyli]-2-pyrrolidinyyli-2-hydroksietyyli]-karbamiinihappo, 1,1-dimetyylietyyliesteri, [2R*(1R*,2R*)]-(±) (kaava A-4) Katso kaavio

A.

Kaavan A-2 mukaista pyrrolidiiniformamidiiniä, valmistettuna kuten Meyers et al. on kuvaillut, J. Amer. Chem. Soc., 106:-3270-3276 (1984), (7,8 g) lisätään 100 ml:aan tetrahydrofuraania typen alla ja myöhemmin jäähdytetään -80°C:seen (eetteri/hiilidioksidi). Tert-butyylilitiumia (1,7 moolia pentaanissa) lisätään sen jälkeen pisaroittain noin 10 minuutin kuluessa. Lisäyksen päätyttyä reaktio lämmitetään -25°C:seen 1 tunnin ajaksi. Reaktio jäähdytetään takaisin -80°C:seen, ja kaavan A-1 mukaista aldehydiä (6,37 g), tetrahydrofuraanissa (20 ml), lisätään pisaroittain 1 tunnin kuluessa. Lisäyksen päätyttyä reaktiota sekoitetaan vielä 45 minuuttia -80°C:ssa ja se sammutetaan sen jälkeen lisäämällä 10 ml kyllästettyä ammoniumkloridiliuosta. -80°C:inen haude poistetaan, ja reaktiota laimennetaan edelleen 20-%:isella natriumhydroksidillä ja uutetaan eetterillä. Yhdistetyt uutteet yhdistetään, kuivataan (magnesiumsulfaatti), ja liuotin poistetaan alipaineessa, jolloin saadaan noin 10 g öljymäistä puolikiinteää ainetta. Öljymäinen puolikiinteä aine laimennetaan 25-%:isella etyyliasetaatti/ Skellysolve B:llä ja laitetaan pakastimeen yöksi. 731 mg toista otsikkotuotetta, valkoista jauhetta, eristetään suodattamalla. Jäännösaine kromatografoidaan 350 g:n yli piihappogeeliä, eluoiden 2,5-%:isella isopropyyliamiini/etyyliasetaatilla. Tämä kolonni tuottaa 1 g hyvin polaaritonta yhdistettä ja ensimmäistä otsikkotuotetta; 2,84 g 1/1-seosta, joka sisältää ensimmäistä ja toista otsikkotuotetta ja 1,0 g seosta, joka sisältää toista otsikkotuotetta ja pyrrolidiiniformamidiiniä. Ensimmäisen 1,0 g:n seoksen kromatografointi, käyttäen 1:1:8 seosta trietyyliamiinia/metanolia/etyyliasetaattia (100 g piihappogeeliä), tuottaa 400 mg ensimmäistä otsikkotuotetta (kaava A-3). Ensimmäistä ja toista otsikkotuotetta (kaavat A-3 ja A-4) sisältävän 2,84 g:n seoksen kromatografointi tuottaa 1,42 g ensimmäistä otsikkotuotetta (kaava A-3) ja 800 mg toista otsikkotuotetta (kaava A-4). Lopullisen 1 g:n seoksen kromatografointi tuottaa 200 mg toista otsikkotuotetta (kaava A-

4). Ensimmäisen otsikkotuotteen saanto (kaava A-3) on 1,82 g; toisen otsikkotuotteen (kaava A-4) saanto on 1,73 g.

Fysikaaliset ominaisuudet ovat seuraavat:

Ensimmäinen otsikkotuote:

Öljy; IR, cm^{-1}: 3446, 3329, 2967, 2923, 2851, 1712, 1639, 1494, 1449, 1390, 1363, 1171.

^{1}H-NMR (δ, $CDCl_3$): 7,55, 5,04, 3,75, 3,35, 1,95-0,85.

MS m/e:ssä [C.I. ISOB]: 411, 410, 355, 353, 339, 328, 327, 183.

Tarkka havaittu massa: 409,3297.

Toinen otsikkotuote:

SP: 89-95°C.

IR, cm^{-1}: 3276, 2950, 2921, 2867, 2854, 1687, 1631, 1527, 1463, 1448, 1374, 1365, 1271, 1180.

^{1}H-NMR (δ, $CDCl_3$): 7,55, 5,12, 3,78-3,31, 2,15-0,75.

MS m/e:ssä [koetin-EI]: 409, 336, 281, 184, 183, 154, 127, 97, 70, 58, 57, 41.

Anal. havaittu: C, 67,39; H, 11,14; N, 9,85.

Valmiste 2

[1-(sykloheksyylimetyyli)-2-hydroksi-2-(2-pyrrolidinyyli)-etyyli]-[2R*(1R*,2S*)]-karbamiinihappo (kaava C-2). Katso kaavio C.

Valmisteen 1 (kaava A-4) toista otsikkotuotetta (710 mg)

lisätään 5 ml:aan 95-%:ista etanolia. Tuohon liuokseen lisätään 445 mg hydratsiinia, senjälkeen 3,12 mg etikkahappoa. Tuota seosta kuumennetaan sen jälkeen 50°C:ssa 1,5 tunnin ajan. Liuottimet ja liikareagenssit poistetaan alipaineessa, jolloin saadaan valkoista kiinteää ainetta. Uudelleenkiteytys asetonitriilistä tuottaa 359 mg otsikkotuotetta.

Fysikaaliset ominaisuudet ovat seuraavat:

SP: 144-5°C.

IR, cm^{-1}: 3351, 2953, 2920, 2868, 2853, 1682, 1536, 1459, 1446, 1377, 1365, 1279, 1174.

MS m/e:ssä: 326, 308, 253, 225, 211, 200, 170, 156, 140, 126, 100, 70.

^{13}C-NMR (DMSO-d_6, PPM): 155,68, 77,46, 74,73, 59,34, 51,00, 45,88, 37,68, 34,10, 33,85, 31,82, 28,34, 28,23, 28,14, 26,20, 25,91, 25,49.

^{1}H-NMR (δ, DMSO-d_6): 6,55, 6,18, 3,50, 3,05, 2,76, 1,90-0,65.

Anal. havaittu: C, 65,92; H, 10,81; N, 8,55.

Valmiste 3

[1-(sykloheksyylimetyyli)-2-hydroksi-2-(2-pyrrolidinyyli)-etyyli]-[2R*(1S*,2S*)]-karbamiinihappo (kaava B-2) Katso kaavio B.

Valmisteen 1 ensimmäistä otsikkotuotetta (kaava A-3) (1,40 g) lisätään 5 ml:aan 95-%:ista etanolia. Tuohon liuokseen lisätään 870 mg hydratsiinia, sen jälkeen 6,10 mg etikkahappoa. Tuota seosta kuumennetaan sen jälkeen 50°C:ssa 1,5 tunnin ajan. Liuottimet ja reagenssiylimäärä poistetaan alipaineessa, ja tuloksena oleva öljy laimennetaan kyllästetyllä natriumbikarbonaatilla ja uutetaan metyleenikloridilla. Mety-

leenikloridi kuivataan (magnesiumsulfaatti) ja liuotin poistetaan alipaineessa, jolloin saadaan valkoista puolikiinteää ainetta. Kiteyttäminen asetonitriilistä tuottaa 167 mg otsikkotuotetta.

Fysikaaliset ominaisuudet ovat seuraavat:

SP: 151-3°C.

IR, cm^{-1}: 3287, 2955, 2916, 2852, 1688, 1463, 1452, 1381, 1378, 1364, 1354, 1345, 1178.

MS m/e:ssä: 326, 308, 253, 225, 211, 201, 170, 155, 140, 126, 100, 70.

^{13}C-NMR (DMSO-d_6, PPM): 155,56, 77,46, 74,91, 60,00, 49,31, 45,75, 33,91, 33,53, 32,39, 28,23, 26,30, 26,15, 25,97, 25,56.

^{1}H-NMR (δ, DMSO-d_6): 6,03, 5,60, 3,58, 2,95, 2,75, 1,9-1,5, 1,4, 1,3-0,7.

Anal. havaittu: C, 66,18; H, 10,61; N, 8,37.

Valmiste 4

2-[3-sykloheksyyli-2-[[(1,1-dimetyylietoksi)karbonyyli]-amino]-1-hydroksipropyyli]-1-pyrrolidiinikarboksyylihappo, fenyylimetyyliesteri [2R*(1R*,2S*)]-(±) (kaava B-3) Katso kaavio B.

Valmisteen 3 otsikkotuotetta (10 mg) lisätään vedellisen natriumbikarbonaatin kyllästettyyn liuokseen. Tuohon heterogeeniseen seokseen lisätään 7 µl bentsyylioksikarbonyylikloridia. Reaktiosta tulee välittömästi homogeeninen, ja sekoitusta jatketaan 30 minuutin ajan. Reaktio uutetaan metyleenikloridilla. Metyleenikloridiuutteet kuivataan (magnesiumsulfaatti), ja liuotin poistetaan alipaineessa. Kromatografointi

(5 g piihappogeeliä, 5-20-%:inen etyyliasetaatti/Skellysolve B) tuottaa 13 mg otsikkotuotetta.

Fysikaaliset ominaisuudet ovat seuraavat:

IR, cm^{-1}: 3345, 3351, 2975, 2923, 2851, 1710, 1675, 1498, 1449, 1419, 1391, 1364, 1358, 1337, 1171.

^{1}H-NMR (δ, $CDCl_3$): 7,4, 5,59, 5,16, 4,88, 4,05-3,60, 3,50-3,25, 2,20-0,80.

^{13}C-NMR ($CDCl_3$, PPM): 158,8, 155,8, 136,2, 128,6, 128,2, 128,1, 79,0, 77,3, 67,7, 61,8, 49,2, 47,4, 41,0, 34,1, 33,6, 33,2, 28,9, 28,4, 26,6, 26,5, 26,3, 24,3.

Massaspektri (FAB $[m+1]^+$): Tarkka havaittu massa: 461,3008.

Valmiste 5

2-[3-sykloheksyyli-2-[[(1,1-dimetyylietoksi)karbonyyli]-amino]-1-hydroksipropyyli]-1-pyrrolidiinikarboksyylihappo, fenyylimetyyliesteri [2R*(1R*,2R*)]-($\pm$) (kaava C-3). Katso kaavio C.

Valmisteen 2 otsikkotuotetta (29 mg) lisätään 2 ml:aan 5-%:ista natriumbikarbonaattia. Tuohon heterogeeniseen seokseen lisätään 15,2 mg bentsyylioksikarbonyylikloridia. Kiinteä aine, joka täyttää kolvin, muuttuu hitaasti viskoosiksi öljyksi. 30 minuutin sekoittamisen jälkeen reaktio laimennetaan metyleenikloridilla. Usean uuttamisen jälkeen metyleenikloridilla, orgaaninen aines kuivataan, ja liuotin poistetaan alipaineessa, jolloin saadaan kirkasta öljyä. Kromatografointi piihappogeelin (7 g) läpi ja eluointi 25-%:isella etyyliasetaatti/Skellysolve B:llä tuottaa 35 mg otsikkotuotetta.

Fysikaaliset ominaisuudet ovat seuraavat:

IR, cm^{-1}: 3354, 29,75, 2924, 2851, 1709, 1676, 1677, 1498,

1449, 1419, 1391, 1364, 1359, 1339, 1246, 1172, 1102, 697.

^{1}H-NMR (δ, $CDCl_3$): 7,35, 5,14, 4,99, 3,95-3,50, 3,45-3,25, 2,05-0,61.

^{13}C-NMR ($CDCl_3$, PPM): 158,4, 155,9, 136,2, 128,6, 128,2, 79,0, 78,6, 67,6, 60,8, 50,0, 47,2, 35,4, 34,6, 33,8, 32,5, 28,4, 26,6, 26,4, 26,2, 24,3.

Massaspektri (FAB $[m+1]^+$): Tarkka havaittu massa: 461,3008.

Valmiste 6

2-[3-sykloheksyyli-2-amino-1-hydroksipropyyli]-1-pyrrolidiinikarboksyylihappo, fenyylimetyyliesteri, [2R*(1R*,2S*)]-(±) (kaava B-4) Katso kaavio B.

Valmisteen 4 otsikkotuotetta (165 mg) laimennetaan 2,5 ml:lla trifluorietikkahapon/metyleenikloridin kylmää seosta (1:1), jäähdytettynä 0°C:seen. 45 minuutin sekoittamisen jälkeen 0°C:ssa, reaktio laimennetaan kyllästetyllä natriumbikarbonaatilla, ja pH säädetään >10:ksi lisäämällä kiinteää kaliumkarbonaattia. Reaktio uutetaan metyleenikloridilla, kuivataan (magnesiumsulfaatti), ja liuotin poistetaan alipaineessa, jolloin saadaan 106 mg aminoalkoholia öljynä. Tätä materiaalia käytetään suoraan kytkentäreaktiossa ilman lisäpuhdistusta.

Valmiste 7

2-[3-sykloheksyyli-2-[[2-[[(1,1-dimetyylietoksi)karbonyyli]-amino]-1-okso-3-[1-[(fenyylimetoksi)metyyli]-1H-imidatsol-4-yyli]propyyli]amino]-1-hydroksipropyyli]-1-pyrrolidiinikarboksyylihappo, fenyylimetyyliesteri, [2R*[1R*,2R*-(S*)]]-(±) (kaava B-5) Katso kaavio B.

Seos, joka sisältää Boc-L-His(πBom)-OH:ta (120 mg), valmisteen 6 amiinia (106 mg), dietyylifosforyylisyanidia (57 mg), ja dimetyyliformamidia (3 ml), jäähdytetään 0°C:seen. Seok-

seen lisätään trietyyliamiinia (35 µl) pisaroittain usean minuutin kuluessa. Lisäyksen päätyttyä reaktiota sekoitetaan huoneen lämpötilassa 2 tunnin ajan. Reaktio laimennetaan sen jälkeen 2/1 etyyliasetaatti/bentseeni-seoksella ja pestään kyllästetyllä natriumbikarbonaatilla, suolaliuoksella ja lopuksi vedellä. Orgaaninen aines kuivataan (magnesiumsulfaatti), ja liuotin poistetaan alipaineessa, jolloin saadaan öljyä. Kromatografointi (50 g piihappogeeliä, 5-%:inen trietyyliamiini/etyyliasetaatti) tuottaa 117 mg otsikkotuotetta öljynä.

Fysikaaliset ominaisuudet ovat seuraavat:

Massaspektri (FAB $[m+1]^+$): Tarkka havaittu massa: 718,4186.

^{13}C-NMR: Suunnilleen 2/1 seos 11/d1-diastereomeerejä.

Valmiste 8

N-asetyyli-1-formyyli-L-tryptofyyli-1-prolyyli-L-fenyylialanyyli-N-[1-(sykloheksyylimetyyli)-2-hydroksi-2-[1-[(fenyylimetoksi)karbonyyli]-2-pyrrolidinyyli)etyyli]-1-[(fenyylimetoksi)metyyli]-L-histidiiniamidi, [2R-[2R*(1R*,2S*)]]- (kaava B-6) Katso kaavio B.

Valmisteen 7 otsikkoyhdisteestä (120 mg) poistetaan Boc käsittelemällä 30 ml:lla 50-%:ista trifluorietikkahappoa/metyleenikloridia 0°C:ssa kahteen kertaan, kummallakin kerralla 1 tunnin ajan. Jäännös liuotetaan 40 ml:aan metyleenikloridia ja neutraloidaan 40 ml:lla kyllästettyä natriumbikarbonaattia. Vesikerrosta pestään kolme kertaa metyleenikloridilla. Orgaaniset kerrokset yhdistetään ja kuivataan magnesiumsulfaatin päällä, ja liuotin poistetaan alipaineessa. Jäännös yhdistetään 107 mg:n kanssa Ac-TrpFor-Pro-Phe-OH:ta ja 35 µl:n kanssa trietyyliamiinia ja liuotetaan 10 ml:aan vedetöntä dimetyyliformamidia. 33 µl dietyylifosforyylisyanidia lisätään edellä olevaan seokseen 0°C:ssa. Kahden tunnin kuluttua HPLC osoittaa, että reaktio on mennyt loppuun. Dime-

tyyliformamidi poistetaan alipaineessa. Jäännös liuotetaan 75 ml:aan etyyliasetaattia ja pestään kolmesti 50 ml:lla kyllästettyä natriumbikarbonaattia, vedellä, kolmesti 50 ml:lla 10-%:ista sitruunahappoa, vedellä ja kuivataan magnesiumsulfaatin päällä. Raaka suojattu peptidi tuottaa lyofilisoinnin jälkeen 100 mg otsikkotuotetta, joka on noin 66-%:isen puhdasta käänteisfaasisen HPLC:n perusteella: Käyttäen Synchropak™ C_{18} analyyttistä kolonnia (250 mm - 4,6 mm) ja lineaarista gradienttia (17-%:inen B 2 minuutin ajan; 17-100-%:inen B 20 minuutin kuluessa) käyttäen liuotinta A = 10-%:inen asetonitriili/vesi (0,2-%:inen trifluorietikkahappo) ja liuotinta B = 70-%:inen asetonitriili/vesi (0,2-%:inen trifluorietikkahappo) ja virtausnopeutta 1,5 ml/min.

Esimerkki 1

N-asetyyli-1-formyyli-L-tryptofyyli-1-prolyyli-L-fenyylialanyyli-N-[1-(sykloheksyylimetyyli)-2-hydroksi-2-(2-pyrrolidinyyli)etyyli]-L-histidiiniamidi, [R-(R*,S*)]bis(trifluoriasetaatti) (kaava B-7) Katso kaavio B.

Valmisteen 8 raakaa suojattua peptidiä (100 mg) laitetaan fluorivetyastiaan yhdessä 5 ml:n kanssa anisolia ja jäädytetään nestetypessä. Vedetöntä fluorivetyä (10 ml) tislataan astiaan ja lämmitetään 0°C:seen. Seosta sekoitetaan sen jälkeen 1 tunnin ajan 0°C:ssa. Fluorivety/anisoli poistetaan alipaineessa. Peptidi saostetaan etyylieetterillä, liuotetaan vedelliseen etikkahappoon ja lyofilisoidaan. Raaka peptidi, josta suojaus on poistettu, tuottaa 40 mg (60-%:isen puhdasta käänteisfaasisen HPLC:n perusteella, k' = 7,2).

Puhdistaminen:

Peptidi liuotetaan 2 ml:aan dimetyyliformamidia ja eluoidaan puolipreparatiivisella käänteisfaasisella C-18-kolonnilla (2,2 cm x 27,0 cm), joka sisältää Separations Group Vyadac C18:ta. Muut olosuhteet käsittävät: lineaarisen gradientin (0-%:inen B 15 minuutin ajan; 0-35-%:inen B 210 minuutin kuluessa; ja 35-%:inen B 135 minuutin ajan) käyttäen liuotin-

ta A = 10-%:inen asetonitriili/vesi (0,2-%:inen trifluorietikkahappo), ja liuotinta B = 70-%:inen asetonitriili/vesi (0,2-%:inen trifluorietikkahappo); virtausnopeuden 2,5 ml/-min. ja keräten 5 ml:n fraktioita; ja detektion aallonpituudessa 280 nm (0,5 a.y. täydellä asteikolla). Fraktiot 161-170 kerätään talteen, jolloin saadaan 8,8 mg otsikkotuotetta (puhtaus 93,8 %).

Fysikaaliset ominaisuudet ovat seuraavat:

Massaspektri (FAB $[m+H]^+$): m/z 864.

Valmiste 9

2-[3-sykloheksyyli-2-amino-1-hydroksipropyyli]-1-pyrrolidiinikarboksyylihappo, fenyylimetyyliesteri, [2R*(1R*,2R*)]-(±) (kaava C-4) Katso kaavio C.

Valmisteen 5 otsikkoyhdistettä (220 mg) laimennetaan 2,5 ml:lla kylmää trifluorietikkahappo/metyleenikloridi-seosta jäähdytettynä 0°C:seen. 45 minuutin sekoittamisen jälkeen 0°C:ssa, reaktio laimennetaan kyllästetyllä natriumbikarbonaatilla, ja pH säädetään ›10:ksi lisäämällä kiinteää kaliumkarbonaattia. Reaktio uutetaan metyleenikloridilla, kuivataan (magnesiumsulfaatti), ja liuotin poistetaan alipaineessa, jolloin saadaan otsikkotuotetta öljynä. Tätä materiaalia käytetään ilman lisäpuhdistamista kytkentäreaktiossa.

Valmiste 10

2-[3-sykloheksyyli-2-[[2-[[(1,1-dimetyylietoksi)karbonyyli]-amino]-1-okso-3-[1-[(fenyylimetoksi)metyyli]-1H-imidatsol-4-yyli]propyyli]amino]-1-hydroksipropyyli]-1-pyrrolidiinikarboksyylihappo, fenyylimetyyliesteri, [2R*-[1R*,2R*(R*)]]-(±) (kaava C-5) Katso kaavio C.

Seos, joka sisältää Boc-L-His(πBom)-OH:ta (120 mg), valmisteen 9 mukaista amiinia (107 mg), dietyylifosforyylisyanidia (57 mg) ja dimetyyliformamidia (3 ml), jäähdytetään 0°C:seen.

Tuohon seokseen lisätään trietyyliamiinia (35 µl) pisaroittain usean minuutin kuluessa. Lisäyksen päätyttyä reaktiota sekoitetaan huoneen lämpötilassa 2 tunnin ajan. Reaktio laimennetaan sen jälkeen etyyliasetaatti/bentseenin 2/1 seoksella ja pestään kyllästetyllä natriumbikarbonaatilla, suolaliuoksella ja lopuksi vedellä. Orgaaninen aines kuivataan (magnesiumsulfaatti), ja liuotin poistetaan alipaineessa, jolloin saadaan öljyä. Kromatografointi (50 g piihappogeeliä; 5-%:inen trietyyliamiini/etyyliasetaatti) tuottaa 76 mg otsikkotuotetta.

Fysikaaliset ominaisuudet ovat seuraavat:

Massaspektri (FAB $[m+1]^+$): Tarkka havaittu massa: 718,4186.

Valmiste 11

N-asetyyli-1-formyyli-L-tryptofyyli-1-prolyyli-L-fenyylialanyyli-N-[1-(sykloheksyylimetyyli)-2-hydroksi-2-[1-[(fenyylimetoksi)karbonyyli]-2-pyrrolidinyyli)etyyli]-1-[(fenyylimetoksi)metyyli]-L-histidiiniamidi [2R-[2R*(1R*,2R*)]]- (kaava C-6) Katso kaavio C.

Valmisteen 10 otsikkoyhdisteestä (150 mg) poistetaan Boc käsittelemällä 30 ml:lla 50-%:ista trifluorietikkahappoa/metyleenikloridia 0°C:ssa kahdesti, kummallakin kerralla 1 tunnin ajan. Jäännös liuotetaan 40 ml:aan metyleenikloridia ja neutraloidaan 40 ml:lla kyllästettyä natriumbikarbonaattia. Vesikerrosta pestään 3 kertaa metyleenikloridilla. Orgaaniset kerrokset yhdistetään ja kuivataan magnesiumsulfaatin päällä, ja liuotin poistetaan alipaineessa. Jäännös yhdistetään 164 mg:n kanssa Ac-Trp[For]-Pro-Phe-OH:ta ja 60 µl:n kanssa trietyyliamiinia ja liuotetaan 10 ml:aan vedetöntä dimetyyliformamidia. 51 µl dietyylifosforyylisyanidia lisätään 0°C:ssa sekoitettavaan liuokseen. Kahden tunnin kuluttua HPLC osoittaa reaktion menneen loppuun. Dimetyyliformamidi poistetaan alipaineessa. Jäännös liuotetaan 75 ml:aan etyyliasetaattia ja pestään kolmesti 50 ml:lla kylläs-

tettyä natriumbikarbonaattia, vettä, 3 kertaa 50 ml:lla 10-%:ista sitruunahappoa, vettä ja kuivataan magnesiumsulfaatin päällä. Raaka suojattu peptidi tuottaa lyofilisoinnin jälkeen 180 mg otsikkotuotetta (sisältäen kaksi piikkiä: 10 % piikkiä 1 ja 38 % piikkiä 2 käänteisfaasisella HPLC:llä; k'_1 = 12,8, k'_2 = 13, katso valmisteen 8 kohdalla kuvailtuja analyyttisiä HPLC-olosuhteita).

Esimerkki 2

N-asetyyli-1-formyyli-L-tryptofyyli-1-prolyyli-L-fenyylialanyyli-N-[1-(sykloheksyylimetyyli)-2-hydroksi-2-(2-pyrrolidinyyli)etyyli]-L-histidiiniamidi-[2S[2R*(1R*,2S*)]]-bis(-trifluoriasetaatti) (suola) (kaava C-7) ja

N-asetyyli-1-formyyli-L-tryptofyyli-1-prolyyli-L-fenyylialanyyli-N-[1-(sykloheksyylimetyyli)-2-hydroksi-2-(2-pyrrolidinyyli)etyyli]-histidiiniamidi-[2R[2R*(1R*,2R*)]]-bis(trifluoriasetaatti) (suola) (kaava C-8) Katso kaavio C.

Valmisteen 11 mukaista raakaa suojattua peptidiä (180 mg) laitetaan fluorivetyastiaan yhdessä anisolin (5 ml) kanssa ja jäädytetään nestetypessä. Vedetöntä fluorivetyä (10 ml) tislataan astiaan ja lämmitetään 0°C:seen. Seosta sekoitetaan sen jälkeen 1 tunnin ajan 0°C:ssa. Fluorivety/anisoli poistetaan alipaineessa. Peptidi saostetaan etyylieetterillä, liuotetaan vedelliseen etikkahappoon ja lyofilisoidaan. Raaka peptidi, josta suojaus on poistettu, tuottaa 100 mg kahta otsikkotuotetta (12 % piikkiä yksi ja 33 % piikkiä kaksi käänteisfaasisen HPLC:n avulla; k'_1 = 7,2, k'_2 = 7,6).

Puhdistaminen:

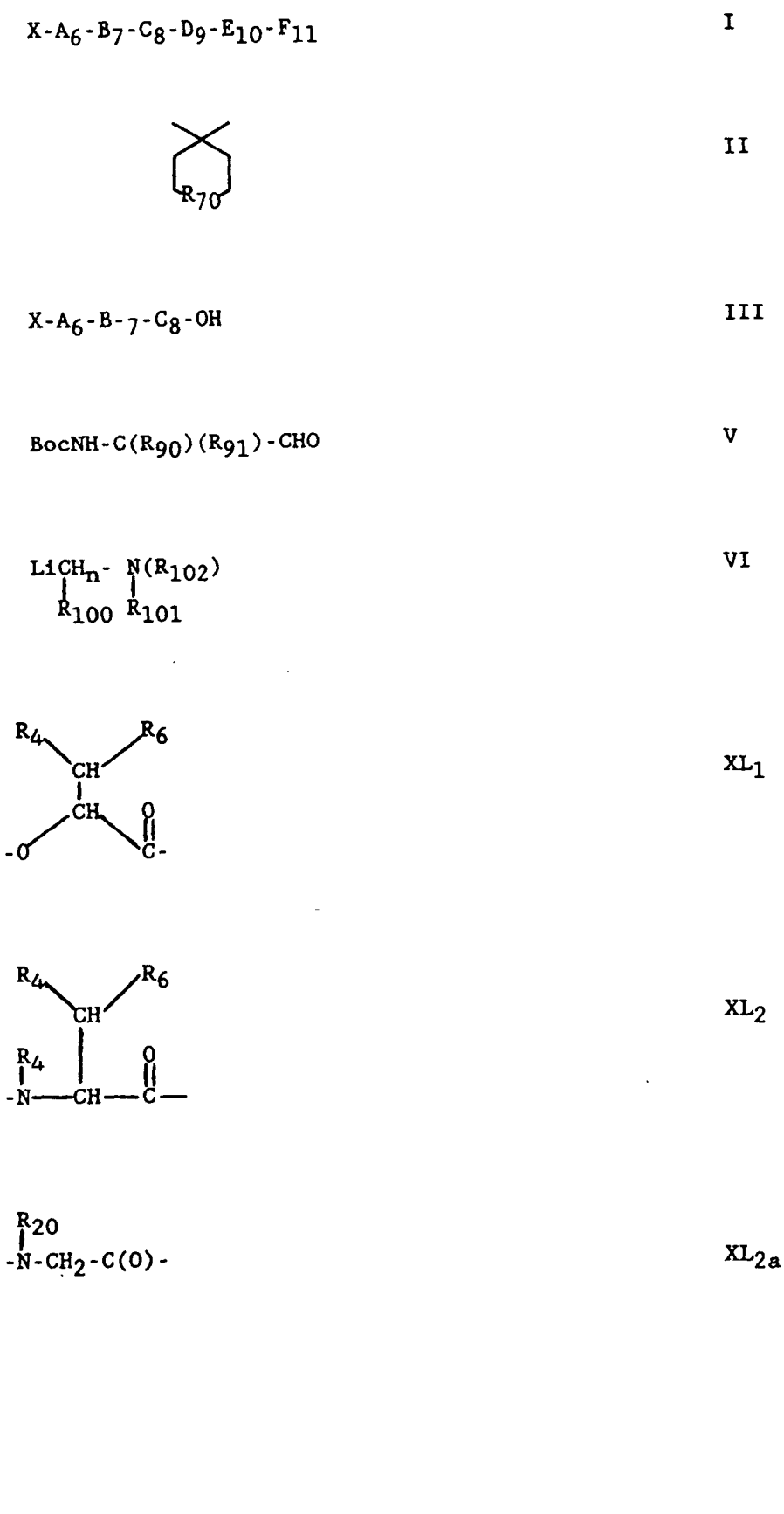
Peptidi liuotetaan 2 ml:aan dimetyyliformamidia ja eluoidaan puolipreparatiivisella käänteisfaasisella C-18-kolonnilla [Separations Group Vyadec C18, 2,2 cm x 27,0 cm Michel-Miller-lasikolonni]. Käytettiin seuraavaa lineaarista gradienttia: 0-%:inen B 15 minuutin ajan; 0-35-%:inen B 210 minuutin kuluessa; ja 35-%:inen B 105 minuutin ajan [A = 10-%:inen

asetonitriili/vesi (0,2-%:inen trifluorietikkahappo)], virtausnopeuden ollessa 2,5 ml/min. ja keräten 5 ml:n fraktioita; detektoiden 280 nm:ssä (0,5 a.y. täydellä asteikolla). Fraktiot 133-142 kerätään talteen, jolloin saadaan 20 mg seosta, joka sisältää 37 % piikkiä yksi ja 33 % piikkiä kaksi. Fraktiot 143-150 kerätään talteen, jolloin saadaan 20 mg piikkiä kaksi (82-%:inen puhtaus käänteisfaasisen HPLC:n perusteella).

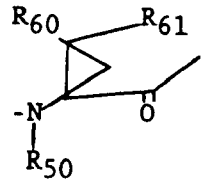
Fysikaaliset ominaisuudet ovat seuraavat:

Massaspektri (FAB $[m+H]^+$): M/Z 864 molemmille otsikkotuotteille.

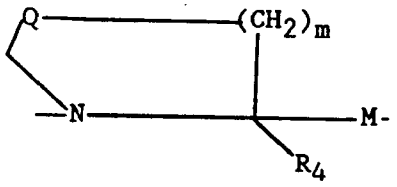
Kaavakaavio



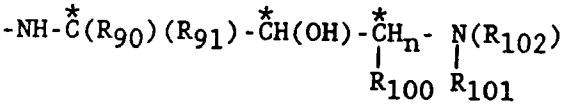
Kaavakaavio (jatkuu)



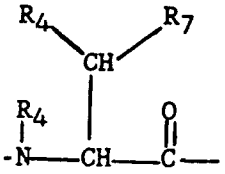
XL_{2b}



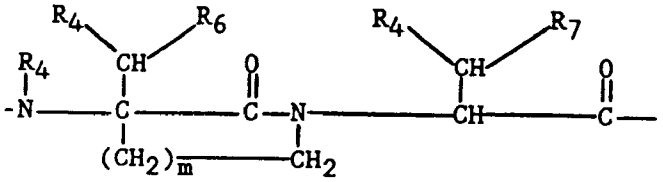
XL_b



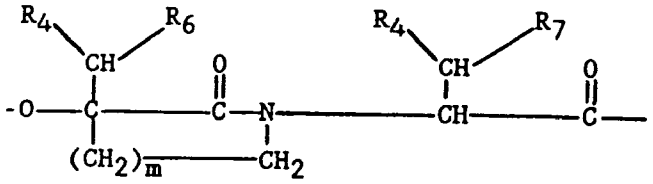
XL_{2c}



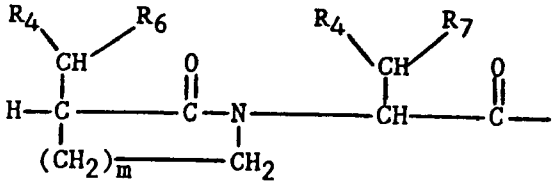
XL_3



XL_7

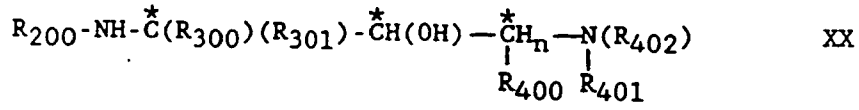


XL_{7a}



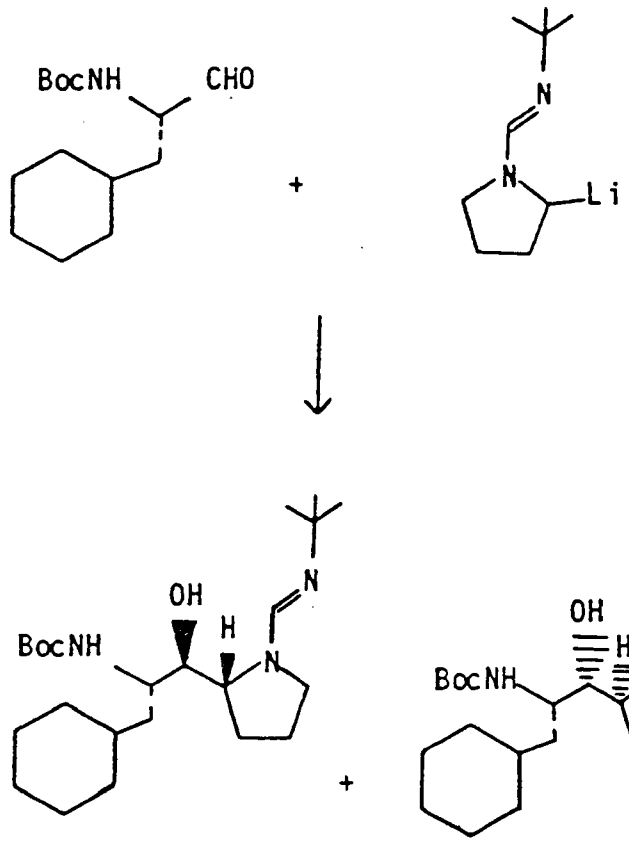
XL_{7b}

Kaavakaavio (jatkuu)



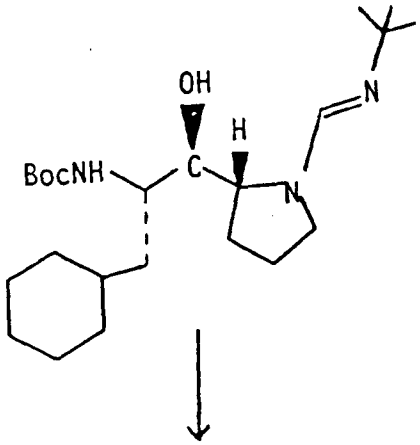
XX

Kaavio A

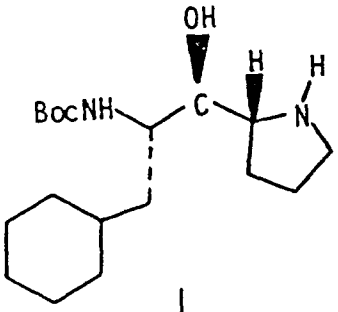


A-1
A-2
A-3
A-4

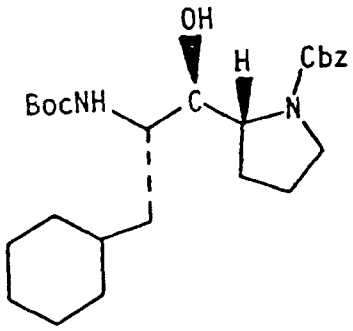
Kaavio B



B-1 (A-3)

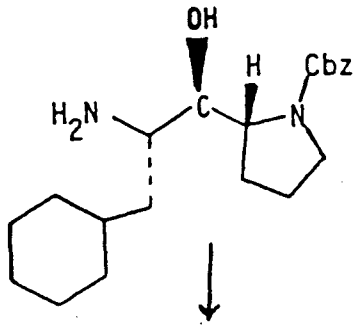


B-2

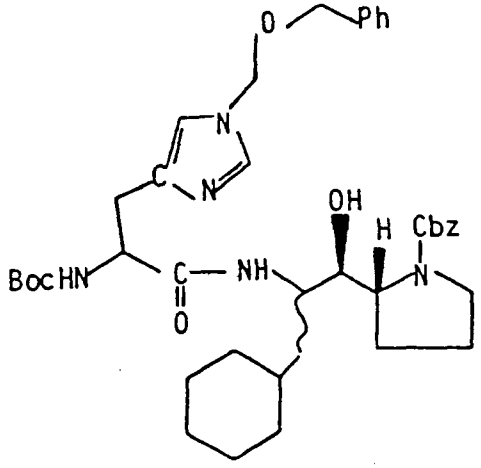


B-3

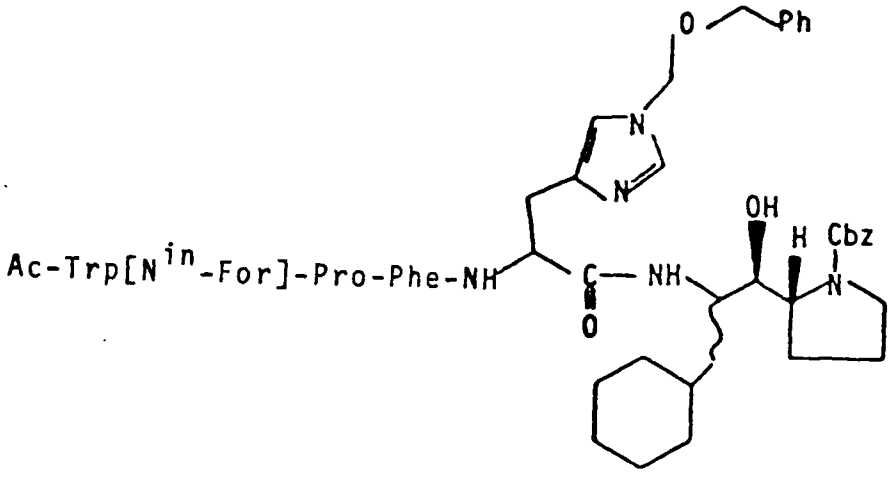
Kaavio B (jatkuu)



B-4



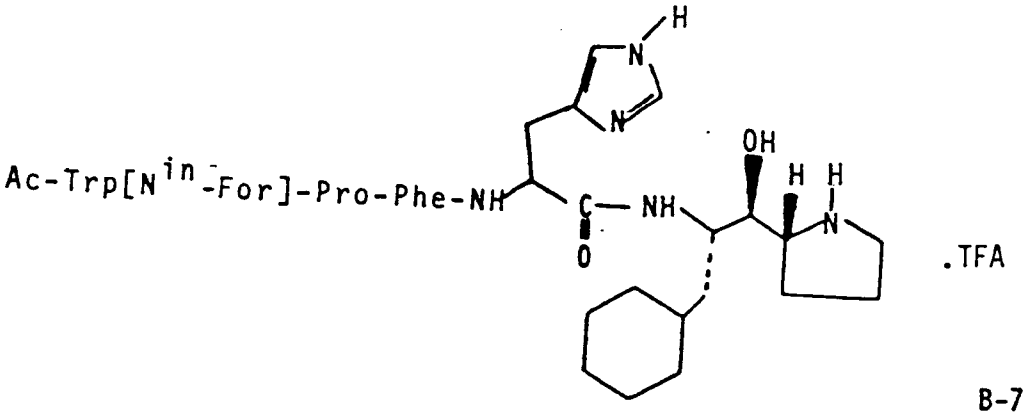
B-5



Ac-Trp[N^{in}-For]-Pro-Phe-NH

B-6

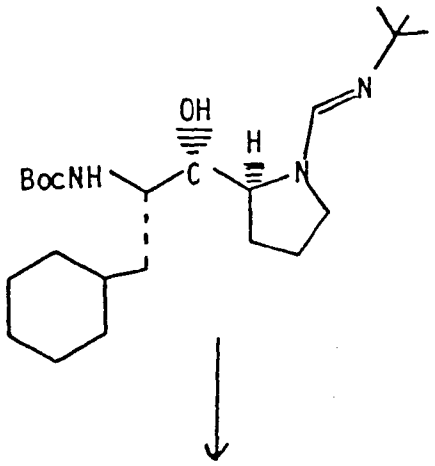
Kaavio B (jatkuu)



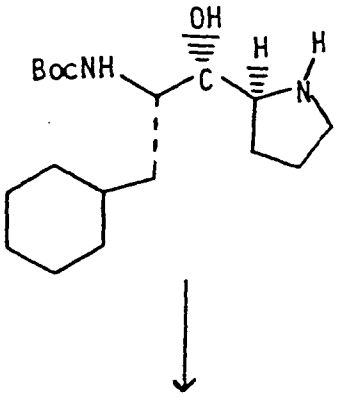
.TFA

B-7

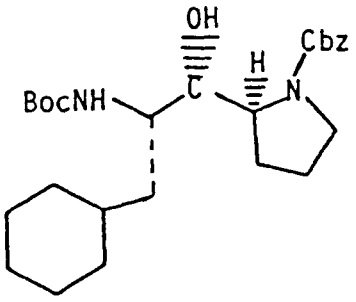
Kaavio C



C-1 (A-4)

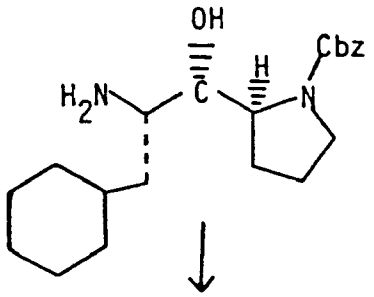


C-2

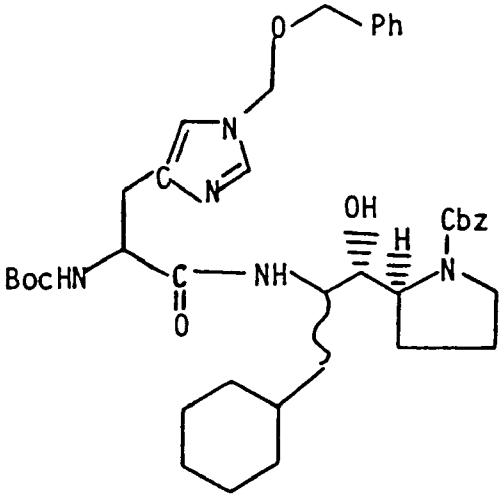


C-3

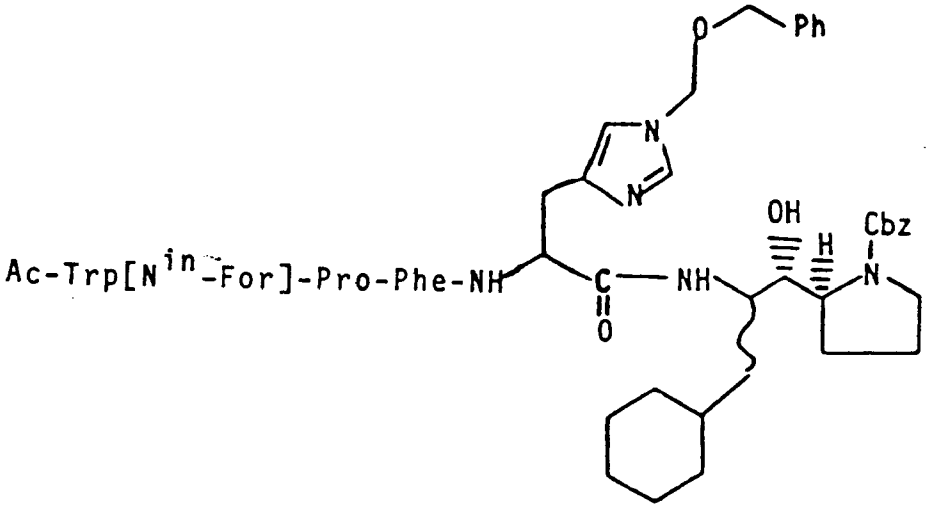
Kaavio C (jatkuu)



C-4



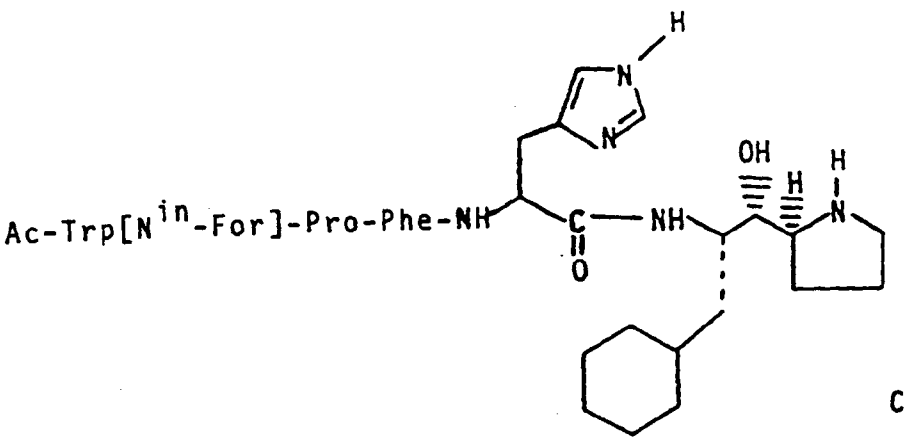
C-5



Ac-Trp[N^{in}-For]-Pro-Phe-NH

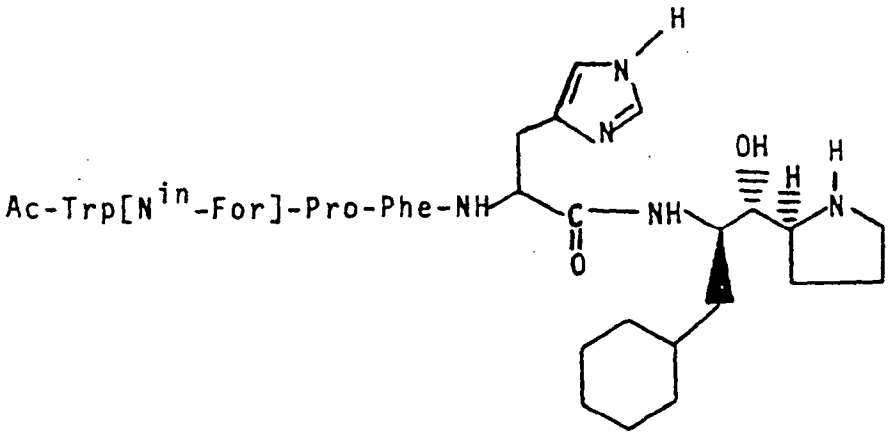
C-6

Kaavio C (jatkuu)



C-7

+



C-8

Patenttivaatimukset

1. Menetelmä kaavan I mukaisen peptidin valmistamiseksi

$X\text{-}A_6\text{-}B_7\text{-}C_8\text{-}D_9\text{-}E_{10}\text{-}F_{11}$ I

t u n n e t t u siitä, että X on

(a) vety,

(b) C_1-C_7alkyyli,

(c) $-(CH_2)_p$-aryyli,

(d) $-(CH_2)_p$-Het,

(e) $-(CH)_p$-C_3-C_3-C_7sykloalkyyli,

(f) R_5-O-CH_2-C(O)-,

(g) R_5-CH_2-O-C(O)-,

(h) R_5-O-C(O)-,

(i) R_5-$(CH_2)_n$-C(O)-,

(j) R_5-$(CH_2)_n$-C(S)-,

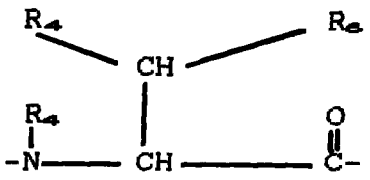
(k) $R_4N(R_4)$-$(CH_2)_n$-C(O)-,

(l) R_5-SO_2-$(CH_2)_q$-C(O)-,

(m) R_5-SO_2-$(CH_2)_q$-O-C(O)-, tai

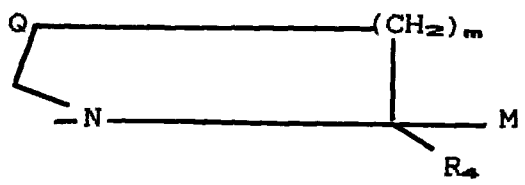
(n) R_6-$(CH_2)_1$-C(O)-;

A_6 on kaavan XL_2 mukainen divalenttinen osa;



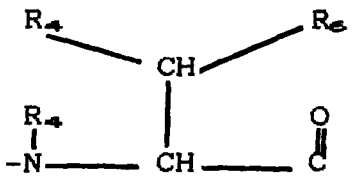
XL_2

B_7 on kaavan XL_b mukainen divalenttinen osa;



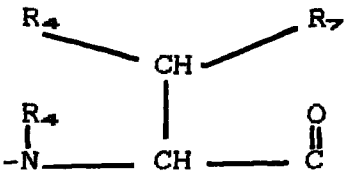
XL_b

C_8 on kaavan XL_2 mukainen divalenttinen osa;



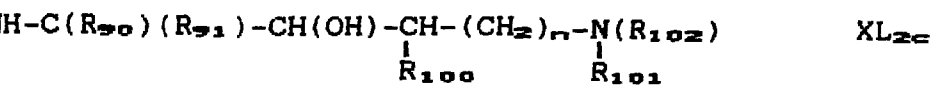
XL_2

D_9 on kaavan XL_3 mukainen divalenttinen osa;



XL_3

E_{10}-F_{11} on kaavan XL_{2c} osa;



XL_{2c}

R_4 on kaikissa tapauksissa samanlainen tai erilainen ja on

(a) vety,

(b) C_1-C_7alkyyli,

(c) $-(CH_2)_m$-aryyli,

(d) $-(CH_2)_m$-Het,

(e) $-(CH_2)_m$-C_3-C_3-C_7sykloalkyyli, tai

(f) 1- tai 2-adamantyyli;

R_8 on

(a) C_1-C_2alkyyli,

(b) C_3-C_7sykloalkyyli,

(c) aryyli,

(d) -Het, tai

(e) 5-okso-2-pyrrolidinyyli;

R_6 on
(a) vety,
(b) C_1-C_7alkyyli,
(c) -$(CH_2)_p$-aryyli,
(d)-(CH_2)-Het,
(e) -$(CH_2)_p$-C_3-C_3-C_7sykloalkyyli, tai
(f) 1- tai 2-adamantyyli;

R_7 on
(a) vety,
(b) C_1-C_3alkyyli,
(c) hydroksi,
(d) amino C_1-C_4alkyyli-,
(e) guanidinyyli C_1-C_3alkyyli-,
(f) aryyli,
(g) -Het,
(h) metyylitio,
(i) -$(CH_2)_p$-C_3-C_7sykloalkyyli, tai
(j) amino;

R_{26} on
(a) vety,
(b) C_1-C_3alkyyli,
(c) fenyyli-C_1-C_3alkyyli-;

R_{90} ja R_{91} ovat samoja tai erilaisia ja ne ovat:
(a) vety,
(b) C_1-C_7alkyyli,
(c) -$(CH_2)_p$-aryyli,
(d) -$(CH_2)_p$-Het,
(e) -$(CH_2)_p$-C_3-C_3-C_7sykloalkyyli, tai
(f) 1- tai 2-adamantyyli;

R_{100} ja R_{101} liitettynä yhteen hiiliatomin kanssa ja typpiatomin kanssa, joihin ne sitoutuvat muodostaen -Het:in;

R_{102} on
(a) vety,

(b) C_1-C_7alkyyli,
(c) -$(CH_2)_p$-aryyli,
(d) -$(CH_2)_p$-Het,
(e) -$(CH)_p$-C_3-C_3-C_7sykloalkyyli,
(f) R_5-O-CH_2-C(O)-,
(g) R_5-CH_2-O-C(O)-,
(h) R_5-O-C(O)-,
(i) R_5-$(CH_2)_n$-C(O)-,
(j) R_5-$(CH_2)_n$-C(S)-,
(k) $R_4N(R_4)$-$(CH_2)_n$-C(O)-,
(l) R_5-SO_2-$(CH_2)_q$-C(O)-,
(m) R_5-SO_2-$(CH_2)_q$-O-C(O)-, tai
(n) R_6-$(CH_2)_1$-C(O)-;
(o) -[C(O)-AA-NH-]$_j$X;

i on 0-5;
j on 1-3;
m on 1-2;
n on kaikissa tapauksissa itsenäisesti kokonaisluku 0-5;
p on 0-2;
q on 1-5;
Q on
(a) -CH_2-,
(b) -CH(OH)-,
(c) -O-, tai
(d) -S-;

M on
(a) -CO-, tai
(b) -CH_2-;

aryyli on fenyyli tai naftyyli, joka on substituoitu nollasta kolmella seuraavista:
(a) C_1-C_3alkyyli,
(b) hydroksi,
(c) C_1-C_3alkoksi,
(d) halogeeni,

(e) amino,
(f) mono- tai di-C_1-C_3alkyyliamino,
(g) -CHO,
(h) -COOH,
(i) $COOR_{26}$,
(j) $CONHR_{26}$,
(k) nitro,
(l) merkapto,
(m) C_1-C_3alkyylitio,
(n) C_1-C_3alkyylisulfinyyli,
(o) C_1-C_3alkyylisulfonyyli,
(p) -N(R_4)-C_1-C_3alkyylisulfonyyli,
(q) SO_3H,
(r) SO_2NH_2,
(s) -CN, tai
(t) $-CH_2NH_2$;

jossa -Het on 5 tai 6 jäsentä sisältävä tyydytetty tai tyydyttämätön rengas, joka sisältää yhdestä kolmeen heteroatomia, jotka on valikoitu ryhmästä, joka käsittää typen, hapen ja rikin; ja joka sisältää jonkin bisyklisen ryhmän, jossa jokin edellä olevista heterosyklisistä renkaista yhdistyy bentseenirenkaaseen, joka heterosyklinen osa on korvattu nollasta kolmella seuraavista:
(i) C_1-C_6alkyyli,
(ii) hydroksi,
(iii) trifluorimetyyli,
(iv) C_1-C_4alkoksi,
(v) halogeeni,
(vi) aryyli,
(vii) aryyli C_1-C_4alkyyli-,
(viii) amino,
(ix) mono- tai di-(C_1-C_4alkyyli)amino, ja
(x) C_1-C_3alkanoyyli;
joka typpiatomi heterosyklisessä renkaassa voi olla substituoitu nollasta yhdellä seuraavista:
(a) HC(O)

(b) t-butyylikarbonyyli,
(c) bentsyylioksikarbonyyli,
(d) asetyyli,
(e) allyyli,
(f) ftalyyli,
(g) bentsyyli,
(h) bentsoyyli, tai
(i) trityyli;

tai sen suojattu karboksiryhmämuoto, aminoryhmämuoto tai muun reaktiivisen ryhmän muoto;

tai sen farmaseuttisesti hyväksyttävä happoadditiosuola; joka käsittää sen, että annetaan aminohappotähteiden tai niiden analogien sopivien asyylijohdannaisten reagoida perättäisesti, yksittäin tai kahden tai useamman tähteen yksikköinä, kunnes mainittu peptidi valmistuu.

2. Patenttivaatimuksen 1 mukainen menetelmä, t u n n e t t u siitä, että -Het on
(a) atsetidinyyli,
(b) pyrrolidinyyli,
(c) piperidyyli,
(d) 4-aryyli-piperidyyli,
(e) piperidiino,
(f) tiatsolyyli,
(g) tiatsenyyli,
(h) piperatsinyyli,
(i) morfolinyyli,
(j) morfoliino,
(k) pyrrolinyyli,
(l) 3-hydroksi-metyleeni-pyrrolinyyli,
(m) pyrrolyyli,
(n) indolyyli, tai
(o) 1,2,3,4-tetrahydro-isokinolyyli.

3. Patenttivaatimuksen 2 mukainen menetelmä, t u n n e t t u

siitä, että
X on R_{89}-O-C(O)-;
R_{90} on vety;
R_{91} on metyylisykloheksyyli;
R_{100} ja R_{101} on liitetty yhteen hiiliatomin ja typpiatomin kanssa, joiden kanssa ne ovat sitoutuneet muodostaen 2-pyrrolidinyylin;
R_{102} on vety.

4. Patenttivaatimuksen 3 mukainen menetelmä, t u n n e t t u siitä, että valmistettava yhdiste valikoidaan ryhmästä, johon kuuluvat:

N-asetyyli-1-formyyli-L-tryptofyyli-1-prolyyli-L-fenyylialanyyli-N-[1-(sykloheksyylimetyyli)-2-hydroksi-2-(2-pyrrolidinyyli)etyyli]-L-histidiiniamidi- [2S-[2R*(1R*,2S*)]]-bis(trifluoriasetaatti) (suola);

N-asetyyli-1-formyyli-L-tryptofyyli-1-prolyyli-L-fenyylialanyyli-N-[1-(sykloheksyylimetyyli)-2-hydroksi-2-(2-pyrrolidinyyli)etyyli]-histidiiniamidi-[2R-[2R*(1R*,2R*)]]-bis(trifluoriasetaatti) (suola); ja

N-asetyyli-1-formyyli-L-tryptofyyli-1-prolyyli-L-fenyylialanyyli-N-[1-(sykloheksyylimetyyli)-2-hydroksi-2-(2-pyrrolidinyyli)etyyli]-L-histidiiniamidi,[R(R*,S*)]bis(trifluoriasetaatti) (suola).

5. Menetelmä kaavan III mukaisen peptidin valmistamiseksi

$$X\text{-}A_6\text{-}B_7\text{-}C_8\text{-}OH \qquad III$$

t u n n e t t u siitä, että
X on
(a) vety,
(b) C_1-C_7alkyyli,
(c) $-(CH_2)_p$-aryyli,

(d) $-(CH_2)_p-Het$,

(e) $-(CH)_p-C_3-C_7$sykloalkyyli,

(f) $R_5-O-CH_2-C(O)-$,

(g) $R_5-CH_2-O-C(O)-$,

(h) $R_5-O-C(O)-$,

(i) $R_5-(CH_2)_n-C(O)-$,

(j) $R_5-(CH_2)_n-C(S)-$,

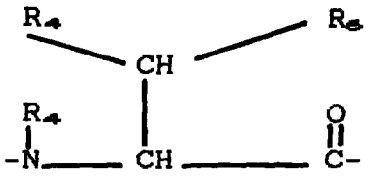
(k) $R_4N(R_4)-(CH_2)_n-C(O)-$,

(l) $R_5-SO_2-(CH_2)_q-C(O)-$,

(m) $R_5-SO_2-(CH_2)_q-O-C(O)-$, tai

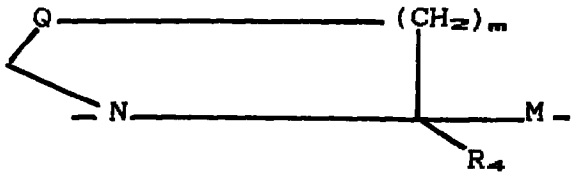
(n) $R_5-(CH_2)_1-C(O)-$;

A_6 on kaavan XL_2 mukainen divalenttinen osa;



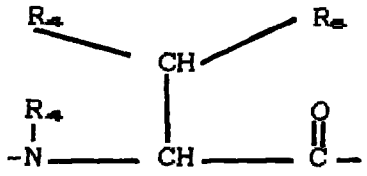
XL_2

B_7 on kaavan XL_b mukainen divalenttinen osa;



XL_b

C_8 on kaavan XL_2 mukainen divalenttinen osa;



XL_2

R_4 on kaikissa tapauksissa sama tai erilainen ja on
(a) vety,
(b) C_1-C_6alkyyli,
(c) -$(CH_2)_m$-aryyli,
(d) -$(CH_2)_m$-Het,
(e) -$(CH_2)_m$-C_3-C_7sykloalkyyli, tai
(f) 1- tai 2-adamantyyli;

R_5 on
(a) C_1-C_6alkyyli,
(b) C_3-C_7sykloalkyyli,
(c) aryyli,
(d) -Het, tai
(e) 5-okso-2-pyrrolidinyyli;

R_6 on
(a) vety,
(b) C_1-C_6alkyyli,
(c) -$(CH_2)_m$-aryyli,
(d) -$(CH_2)_m$-Het,
(e) -$(CH_2)_m$-C_3-C_7sykloalkyyli, tai
(f) 1- tai 2-adamantyyli;

R_{26} on
(a) vety,
(b) C_1-C_3alkyyli, tai
(c) fenyyli-C_1-C_3alkyyli;

i on 0-5,
m on 1-2;
n on kaikissa tapauksissa itsenäisesti kokonaisluku 0-5;
p on 0-2;
q on 1-5;
Q on
(a) -CH_2-,
(b) -CH(OH)-,
(c) -O-, tai

(d) -S-;

M on

(a) -CO-, tai

(b) $-CH_2-$;

aryyli on fenyyli tai naftyyli, joka on substituoitu nollasta kolmella seuraavista:

(a) C_1-C_3alkyyli,

(b) hydroksi,

(c) C_1-C_3alkoksi,

(d) halogeeni,

(e) amino,

(f) mono- tai di-C_1-C_3alkyyliamino,

(g) -CHO,

(h) -COOH,

(i) $COOR_{26}$,

(j) $CONHR_{26}$,

(k) nitro,

(l) merkapto,

(m) C_1-C_3alkyylitio,

(n) C_1-C_3alkyylisulfinyyli,

(o) C_1-C_3alkyylisulfonyyli,

(p) $-N(R_4)$-C_1-C_3alkyylisulfonyyli,

(q) SO_3H,

(r) SO_2NH_2,

(s) -CN, tai

(t) $-CH_2NH_2$;

jossa -Het on 5 tai 6 jäsentä sisältävä tyydytetty tai tyydyttämätön rengas, joka sisältää yhdestä kolmeen heteroatomia, jotka on valikoitu ryhmästä, joka käsittää typen, hapen ja rikin; ja joka sisältää jonkin bisyklisen ryhmän, jossa jokin edellä olevista heterosyklisistä renkaista yhdistyy bentseenirenkaaseen, joka heterosyklinen osa on korvattu nollasta kolmella seuraavista:

(i) C_1-C_6alkyyli,

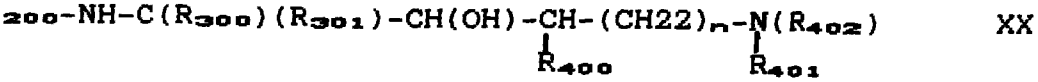
(ii) hydroksi,

(iii) trifluorimetyyli,

(iv) C_1-C_4alkoksi,
(v) halogeeni,
(vi) aryyli,
(vii) aryyli C_1-C_4alkyyli-,
(viii) amino,
(ix) mono- tai di-(C_1-C_4alkyyli)amino, ja
(x) C_1-C_8alkanoyyli;
joka typpiatomi heterosyklisessä renkaassa voi olla substituoitu nollasta yhdellä seuraavista:
(a) HC(O)
(b) t-butyylikarbonyyli,
(c) bentsyylioksikarbonyyli,
(d) asetyyli,
(e) allyyli,
(f) ftalyyli,
(g) bentsyyli,
(h) bentsoyyli, tai
(i) trityyli;
joka käsittää sen, että annetaan aminohappotähteiden tai niiden analogien sopivien asyylijohdannaisten reagoida yksittäin tai kahden tai useamman tähteen yksikköinä, kunnes mainittu peptidi valmistuu.

6. Patenttivaatimuksen 5 mukainen menetelmä, t u n n e t t u siitä, että valmistettava yhdiste on Ac-Trp[N^{in}-For]-Pro-Phe-OH.

7. Kaavan XX mukaisen yhdisteen valmistusmenetelmä



XX

t u n n e t t u siitä, että
R_{200} on
(a) vety,
(b) C_1-C_7alkyyli,
(c) -$(CH_2)_p$-aryyli,
(d) -$(CH_2)_p$-Het,

(e) $-(CH)_p-C_3-C_7$sykloalkyyli,
(f) $R_9-O-CH_2-C(O)-$,
(g) $R_9-CH_2-O-C(O)-$,
(h) $R_9-O-C(O)-$,
(i) $R_9-(CH_2)_n-C(O)-$,
(j) $R_9-(CH_2)_n-C(S)-$,
(k) $R_4N(R_4)-(CH_2)_n-C(O)-$,
(l) $R_9-SO_2-(CH_2)_q-C(O)-$,
(m) $R_9-SO_2-(CH_2)_q-O-C(O)-$, tai
(n) $R_6-(CH_2)_t-C(O)-$;

R_{300} ja R_{301} ovat samoja tai erilaisia ja ovat:
(a) vety,
(b) C_1-C_7alkyyli,
(c) $-(CH_2)_p-$aryyli,
(d) $-(CH_2)_p-$Het,
(e) $-(CH)_p-C_3-C_7$sykloalkyyli, tai
(f) 1- tai 2-adamantyyli;

R_{400} ja R_{401} liitetään hiiliatomiin ja typpiatomiin, joiden kanssa ne sitoutuvat muodostaen -Het:n;

R_{402} on
(a) vety,
(b) C_1-C_7alkyyli,
(c) $-(CH_2)_p-$aryyli,
(d) $-(CH_2)_p-$Het,
(e) $-(CH)_p-C_3-C_7$sykloalkyyli,
(f) $R_9-O-CH_2-C(O)-$,
(g) $R_9-CH_2-O-C(O)-$,
(h) $R_9-O-C(O)-$,
(i) $R_9-(CH_2)_n-C(O)-$,
(j) $R_9-(CH_2)_n-C(S)-$,
(k) $R_4N(R_4)-(CH_2)_n-C(O)-$,
(l) $R_9-SO_2-(CH_2)_q-C(O)-$,
(m) $R_9-SO_2-(CH_2)_q-O-C(O)-$,
(n) $R_6-(CH_2)_t-C(O)-$,

(o) $-[C(O)-AA-NH-]_jX_1$, tai

(p) $-C=N-C_1-C_7$alkyyli;

aryyli on fenyyli tai naftyyli, joka on substituoitu nollasta kolmella seuraavista:

(a) C_1-C_3alkyyli,

(b) hydroksi,

(c) C_1-C_3alkoksi,

(d) halogeeni,

(e) amino,

(f) mono- tai di-C_1-C_3alkyyliamino,

(g) -CHO,

(h) -COOH,

(i) $COOR_{26}$,

(j) $CONHR_{26}$,

(k) nitro,

(l) merkapto,

(m) C_1-C_3alkyylitio,

(n) C_1-C_3alkyylisulfinyyli,

(o) C_1-C_3alkyylisulfonyyli,

(p) $-N(R_4)-C_1-C_3$alkyylisulfonyyli,

(q) SO_3H,

(r) SO_2NH_2,

(s) -CN, tai

(t) $-CH_2NH_2$;

jossa -Het on 5 tai 6 jäsentä sisältävä tyydytetty tai tyydyttämätön rengas, joka sisältää yhdestä kolmeen heteroatomia, jotka on valikoitu ryhmästä, joka käsittää typen, hapen ja rikin; ja joka sisältää jonkin bisyklisen ryhmän, jossa jokin edellä olevista heterosyklisistä renkaista yhdistyy bentseenirenkaaseen, joka heterosyklinen osa on korvattu nollasta kolmella seuraavista:

(i) C_1-C_6alkyyli,

(ii) hydroksi,

(iii) trifluorimetyyli,

(iv) C_1-C_4alkoksi,

(v) halogeeni,
(vi) aryyli,
(vii) aryyli C_1-C_4alkyyli-,
(viii) amino,
(ix) mono- tai di-(C_1-C_4alkyyli)amino, ja
(x) C_1-C_8alkanoyyli;

X_1 on
(a) vety,
(b) C_1-C_7alkyyli,
(c) -$(CH_2)_p$-aryyli,
(d) -$(CH_2)_p$-Het,
(e) -$(CH)_p$-C_3-C_7sykloalkyyli,
(f) R_5-O-CH_2-C(O)-,
(g) R_5-CH_2-O-C(O)-,
(h) R_5-O-C(O)-,
(i) R_5-$(CH_2)_n$-C(O)-,
(j) R_5-$(CH_2)_n$-C(S)-,
(k) $R_4N(R_4)$-$(CH_2)_n$-C(O)-,
(l) R_5-SO_2-$(CH_2)_q$-C(O)-,
(m) R_5-SO_2-$(CH_2)_q$-O-C(O)-, tai
(n) R_6-$(CH_2)_1$-C(O)-;

R_4 on kaikissa tapauksissa sama tai erilainen ja on
(a) vety,
(b) C_1-C_8alkyyli,
(c) -$(CH_2)_p$-aryyli,
(d) -$(CH_2)_p$-Het,
(e) -$(CH_2)_p$-C_3-C_7sykloalkyyli, tai
(f) 1- tai 2-adamantyyli;

R_5 on
(a) C_1-C_6alkyyli,
(b) C_3-C_7sykloalkyyli,
(c) aryyli,
(d) -Het, tai
(e) 5-okso-2-pyrrolidinyyli;

R_6 on
(a) vety,
(b) C_1-C_8alkyyli,
(c) -$(CH_2)_p$-aryyli,
(d) -$(CH_2)_p$-Het,
(e) -$(CH_2)_p$-C_3-C_7sykloalkyyli, tai
(f) 1- tai 2-adamantyyli;

R_{26} on
(a) vety,
(b) C_1-C_3alkyyli, tai
(c) fenyyli-C_1-C_3alkyyli;

i on 0-5;
j on 0-3;
n on kaikissa tapauksissa toisista riippumatta kokonaisluku 0-5;
p on 0-2;
q on 0-5, mainitut luvut mukaanlukien; joka menetelmä käsittää sen, että annetaan kaavan VII mukaisen yhdisteen reagoida

$$R_{200}\text{-NH-C}(R_{300})(R_{301})\text{-CHO} \qquad \text{VII}$$

kaavan VIII mukaisen yhdisteen kanssa

$$\text{LiCH-}(CH_2)_n\text{-N}(R_{402}) \qquad \text{VIII}$$
$$\quad R_{400} \qquad\quad R_{401}$$

joissa kaikki muuttujat ovat kuten edellä on määritelty, jolloin saadaan mainittu kaavan XX mukainen yhdiste.

8. Patenttivaatimuksen 7 mukainen menetelmä, t u n n e t t u siitä, että
R_{200} on
(a) vety,
(b) -$(CH_2)_p$-Het,

(c) R_5-O-CH_2-C(O)-,

(d) R_5-O-C(O)-,

(e) R_6-$(CH_2)_1$-C(O)-, tai

(f) R_5-CH_2-O-C(O)-;

R_{300} on vety;

R_{301} on

(a) C_1-C_7alkyyli,

(b) -$(CH_2)_m$-aryyli,

(c) -$(CH_2)_m$-Het, tai

(d) -$(CH_2)_m$-C_3-C_7sykloalkyyli;

R_{400} ja R_{401} liitetään yhteen hiiliatomin ja typpiatomin kanssa, joihin ne sitoutuvat muodostaen -Het:n;

R_{402} on

(a) vety,

(b) -$(CH_2)_m$-Het,

(c) R_5-O-CH_2-C(O)-,

(d) R_5-O-C(O)-, tai

(e) R_6-$(CH_2)_1$-C(O)-,

(f) R_5-CH_2-O-C(O)-, tai

(g) -C=N-C_1-C_7alkyyli.

9. Patenttivaatimuksen 8 mukainen menetelmä, t u n n e t t u siitä, että

R_{200} on vety, bentsyylioksikarbonyyli, tai t-butyylioksikarbonyyli;

R_{300} on vety;

R_{301} on metyylisykloheksyyli;

R_{400} ja R_{401} liitetään yhteen hiiliatomin ja typpiatomin kanssa, joihin ne sitoutuvat muodostaen 2-pyrrolidinyylin;

R_{402} on vety, bentsyylioksikarbonyyli, t-butyylioksikarbonyyli tai -C=N-(1,1-dimetyylietyyli).