

(19) DANMARK



PATENTDIREKTORATET
TAASTRUP

(12) FREMLÆGGELSESSKRIFT

(11) 156054 B



(21) Patentansøgning nr.: 2730/82

(51) Int.Cl.⁴

C 07 D 207/16

C 07 D 403/12

(22) Indleveringsdag: 17 jun 1982

(41) Alm. tilgængelig: 20 dec 1982

(44) Fremlagt: 19 jun 1989

(86) International ansøgning nr.: -

(30) Prioritet: 19 jun 1981 JP 94002/81 03 sep 1981 JP 137823/81

(71) Ansøger: *CHUGAI SEIYAKU KABUSHIKI KAISHA; No. 5-1, 5-chome; Ukima; Kita-ku; Tokyo, JP

(72) Opfinder: Sadao *Tanaka; JP, Kiyonori *Kuromaru; JP, Yasuo *Fujimura; JP, Isao *Matsunaga; JP, Tomoyasu *Iwaoka; JP, Noriko *Obatake; JP, Junichiro *Aono; JP, Yoshikazu *Hinohara; JP, Hideki *Nakano; JP, Masafumi *Fukushima; JP, Hiroyuki *Nabata; JP, Kazushige *Sakai; JP, Shun-ichi *Hata; JP

(74) Fuldmægtig: Internationalt Patent-Bureau

(54) Analogifremgangsmåde til fremstilling af N-(3-acylthio-2-methylpropanoyl)-prolinforbindelser eller salte heraf

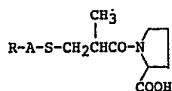
(56) Fremdragne publikationer

EP off.g.skrift nr. 9898

(57) Sammendrag:

2730-82

Prolinderivater med formlen

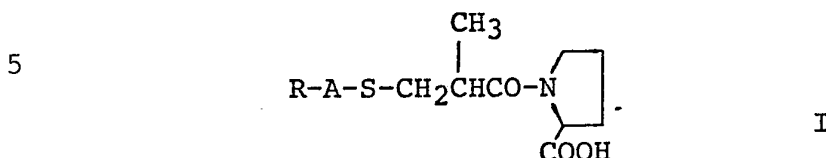


I

hvor R er en til en α -aminogruppe i en aminosyre bundet acylgruppe og er valgt blandt cyclopropancarboxyl-, cyclohexancarboxyl- og adamantancarboxylgrupper, og A er en glycin-, sarcosin- eller α -D-aminosyrerest og har en α -carbonylgruppe, der danner en thiolesterbinding med et svovlatom, eller farmaceutisk acceptable salte heraf, fremstilles ved forskellige fremgangsmåder. Prolinderivaterne er nyttige til behandling af hypertension, som skyldes angiotensin II, og som et middel til behandling af hjerteinsufficiens.

156054 B

Den foreliggende opfindelse angår en analogifremgangsmåde til fremstilling af hidtil ukendte N-(3-acylthio-2-methylpropanoyl)-prolinforbindelser med formlen



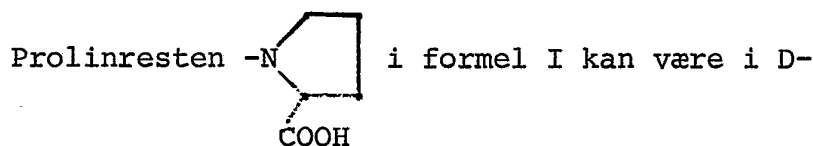
hvor R er en til en α -aminogruppe i A bundet acyl-
 10 gruppe og er valgt blandt en cyclopropancarbonyl-, cyclohexancarbonyl- og adamantancarbonylgruppe, og A er en glycin-, sarcosin-, D-alanin-, D-leucin-, D-phenylalanin-, D-tryptophan-, D-phenylglycin-, D-methionin- eller D-glutaminrest, hvis α -carbonylgruppe danner en
 15 thiolesterbinding med svovlatomet, eller farmaceutisk acceptable salte heraf med baser.

Lignende forbindelser som disse ved formel I re-
 præsenterede forbindelser, f.eks. de, hvor R er en benzoyl-, acetyl- eller t-butyloxycarbonylgruppe, og A er
 20 en L- α -aminosyre, er beskrevet i britisk patentansøgning nr. 2.050.359A. I europæisk patentansøgning (EP) 9.898A1 er der beskrevet forbindelser, hvor R er en benzoyl-, acetyl-, t-butyloxycarbonyl- eller cyclopentancarbonylgruppe eller lignende, og A er en L- α -aminosyre. I euro-
 25 pæisk patentansøgning nr. 35.383A1 er der beskrevet forbindelser, hvor R er en benzoylgruppe, og A er en D-phenylalanylgruppe. Der er imidlertid ingen kendt teknik omhandlende litteratur, som specielt beskriver forbindelserne med formlen I. De er derfor ikke-beskrevne, hidtil
 30 ukendte forbindelser og er nyttige som farmaceutika, som det vil blive beskrevet nedenfor.

Gruppen CH_3 i strukturformlen I har et asymme-
 $\text{-CH}_2\overset{|}{\text{CH}}\text{CO-}$

trisk carbonatom, således at gruppen kan være i D-form,
 35 L-form eller DL-form, dvs. en blanding af D- og L-former. Enhver af disse former falder under den foreliggende opfindelses omfang, og D- og DL-formerne foretrækkes for deres biologiske virkning.

2



form, L-form eller DL-form, og enhver af disse former
5 falder under den foreliggende opfindelses omfang, idet
L- og DL-formerne foretrækkes for deres biologiske akti-
vitet.

Som eksempler på farmaceutisk acceptable salte
af prolinderivatet med formel I kan der nævnes salte
10 med alkalimetaller, såsom natrium og kalium, salte med
jordalkalimetaller, såsom calcium og magnesium, og salte
med basiske aminosyrer, såsom arginin og lysin. Calcium-
salte og lysinsalte foretrækkes.

Fremgangsmåden ifølge opfindelsen er ejendomme-
15 lig ved, at man

a) omsætter en forbindelse med formel II



20 hvori R og A har de ovennævnte betydninger, eller et
reaktivt derivat heraf, med en forbindelse med formel
III



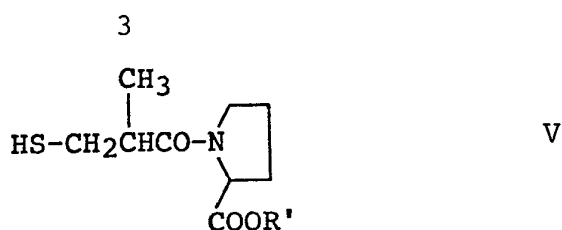
25

hvori R' er et hydrogenatom eller en carboxylbeskyttende
gruppe, eller et reaktivt derivat heraf i et indiffe-
rent organisk opløsningsmiddel ved mellem -50 og -20°C
30 og fjerner eventuelle beskyttelsesgrupper fra reaktions-
produktet, eller

b) omsætter en forbindelse med formel IV



hvori R og A har de ovennævnte betydninger, eller et
35 reaktivt derivat deraf med en forbindelse med formel V



5 hvori R' er et hydrogenatom eller en carboxyl-beskytten-
de gruppe, eller et reaktivt derivat heraf i et indiffe-
rent organisk opløsningsmiddel ved mellem -50 og 20°C og
fjerner eventuelle beskyttelsesgrupper fra reaktionspro-
10 duktet,

hvorefter man om ønsket omdanner en opnået forbindelse med formlen I til et farmaceutisk acceptabelt salt heraf med en base.

15 Når R' i formel III eller formel V er en carboxyl-
beskyttende gruppe, kan den være en t-butylgruppe eller
en med lavere alkyl substitueret silylgruppe og kan fjer-
nes ved behandling med hydrogenfluorid, trifluoredike-
syre, hydrogenchlorid eller vand.

20 Der kan benyttes forskellige hensigtsmæssige udførelsesformer for fremgangsmåden ifølge opfindelsen som angivet i krav 2-5.

Det reaktive derivat af forbindelsen med formlen II er sådant, at carboxylgruppen, der indgår i reaktio-
nen, er aktiveret. Carboxylgruppen kan aktiveres til en-
hver af de former, der almindeligvis anvendes ved peptid-
synteser, såsom aktiverede amider, syrehalogenider, ak-
tiverede estere og blandede syreanhydrider. Blandt disse
former foretrækkes aktiverede estere med N-hydroxysuc-
cinimid, blandede syreanhydrider med kulsyremonoestere
og aktiverede amider med carbonyldiimidazol. Carbodiimi-
der, såsom dicyclohexylcarbodiimid, kan anvendes som
kondensationsmiddel til dannelse af en amidbinding mel-
lem carboxylgruppen og iminogruppen.

35 Det reaktive derivat af forbindelsen med formlen
III er sådant, at iminogruppen i nævnte forbindelse er
aktiveret. Iminogruppen kan være aktiveret ved en vil-

kårlig af de fremgangsmåder, som konventionelt anvendes på peptidsynteseområdet, f.eks. fremgangsmåden med indføring af en silylgruppe, såsom en trimethylsilylgruppe, "phosphazo-metoden" med anvendelse af en phosphorforbindelse, såsom phosphortrichlorid [Ann. Chem., 572, 96 (1951)], phosphorsyrlingestermetoden med anvendelse af en phosphorsyrlingester, såsom tetraethylesteren af pyrophosphorsyrling, eller "N-carboxyanhydrid-metoden" (NCA-metoden).

10 Omsætningen ved fremgangsmåde a) kan udføres i et indifferent organisk opløsningsmiddel, såsom tetrahydrofuran, dioxan, dimethylformamid, hexamethyl-phosphor-triamid, chloroform, dichlormethan eller acetonitril. Omsætningen udføres som nævnt ved fra -50 til 20°C , for-
15 trinsvis ved fra -30 til 10°C . Reaktions tiden varierer med reaktionstemperaturen, de forbindelser, der omsættes, og opløsningsmidlet, og den ligger almindeligvis mellem 0,5 og 48 timer, fortrinsvis mellem 1 og 6 timer.

20 Efter amiddannelsesreaktionen fjernes alle beskyttelsesgrupper i reaktionsproduktet ved en vilkårlig af de hertil egnede fremgangsmåder.

Slutproduktet kan isoleres fra reaktionsblandingen og renses ved en vilkårlig konventionel fremgangsmåde, 25 f.eks. ved hjælp af forskellige typer for chromatografi under anvendelse af silicagel, dextran—tværbundet polymer og porøse polymere, såsom af styrendivinybenzen eller acrylsyreestere. Et passende udviklingsopløsningsmiddel kan vælges blandt chloroform, ethylacetat, methanol, ethanol, tetrahydrofuran, benzen, vand og acetonitril. Alternativt kan slutproduktet opnås ved først at isolere reaktionsproduktet i form af et organisk salt, såsom et dicyclohexylaminsalt, som derpå behandles med en syre, såsom saltsyre eller kaliumhydrogensulfat.

35 Den således opnåede forbindelse med formlen I har en carboxylgruppe på prolinstedet, således at den ønsket er i stand til at danne salte med forskellige basi-

ske stoffer. Salte med farmaceutisk acceptable basiske stoffer er særlig vigtige. Sådanne salte kan fremstilles ved en konventionel fremgangsmåde, dvs. ved at behandle nævnte carboxylgruppe med en ækvimolær mængde af en vil-

5 kårlig af de ovenfor anførte baser (f.eks. alkalimetaller, jordalkalimetaller og basiske aminosyrer).

Den som udgangsmateriale ved fremgangsmåde a) ifølge den foreliggende opfindelse anvendte forbindelse med formelen II kan let fremstilles ved følgende fremgangsmå-

10 de:

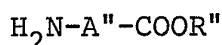
En forbindelse med formlen VI



VI

hvor i R har den ovennævnte betydning, eller et reaktivt derivat deraf i carboxylgruppen omsættes med en aminosy-

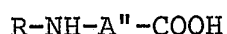
15 re med formlen VII



VII

hvor i A'' er en aminosyrerest, der er ækvivalent med A minus gruppen NH eller C=O, og R'' er et hydrogenatom eller en carboxylbeskyttende gruppe, eller et reaktivt de-

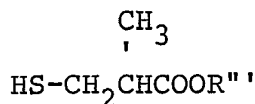
20 rivat heraf, efterfulgt af fjernelse af R'', hvis det er en beskyttelsesgruppe, til dannelselse af en forbindelse med formlen VIII



VIII

hvor i R og A'' har de ovennævnte betydninger, hvorpå forbindelse med formlen VIII eller et reaktivt derivat her-

30 af omsættes med en forbindelse med formlen IX



IX

hvor i R''' er et hydrogenatom eller en carboxylbeskyttende

35 de gruppe, efterfulgt af fjernelse af R''', hvis det er en beskyttelsesgruppe.

Som eksempler på det reaktive derivat i carboxylgruppen af forbindelsen med formlen VI kan der nævnes sådanne, som almindeligvis anvendes på peptidsynteseområdet, såsom aktiverede amider, syrehalogenider, aktiverede estere og blandede syreanhydrider.

Hvis R'' i aminosyren med formlen VII er en beskyttelsesgruppe, kan der som fordelagtige eksempler her-

på nævnes en t-butylgruppe (der kan fjernes ved hjælp af hydrogenfluorid, trifluoreddikesyre eller hydrogenchlorid), en benzylgruppe (der kan fjernes ved katalytisk reduktion med palladium eller lignende), og lavere alkylgrupper, såsom methyl og ethyl (der kan fjernes ved hydrolyse under alkaliske betingelser).

Det reaktive derivat af aminosyren med formlen VII er sådant, at aminogruppen er aktiveret, og et sådant derivat fremstilles ved en vilkårlig af de aktiveringsfremgangsmåder, der almindeligvis anvendes på peptidsynteseområdet, såsom indføring af en silylgruppe (f.eks. en trimethylsilylgruppe), "phosphazo-metoden", phosphorsyrlingestermetoden og N-carboxyanhydrid-metoden).

Et carbodiimid, såsom dicyclohexylcarbodiimid, kan anvendes som kondensationsmiddel til dannelse af en amidbinding mellem forbindelsen med formlen VI og aminosyren med formlen VII.

Reaktionen kan udføres i et indifferent organisk opløsningsmiddel, såsom tetrahydrofuran, dioxan, dimethylformamid, hexamethylphosphortriamid, chloroform, dichlormethan eller acetonitril. Reaktionen udføres almindeligvis under afkøling eller ved stuetemperatur (-50 til 20°C), fortrinsvis fra -30 til 10°C. Reaktionstiden varierer med reaktionstemperaturen, forbindelserne, der skal omsættes, og opløsningsmidlet, og den ligger almindeligvis mellem 0,5 og 48 timer, fortrinsvis mellem 1 og 6 timer.

Dersom R" i formel VII er en beskyttelsesgruppe, kan den fjernes fra reaktionsproduktet ved en vilkårlig af de ovenfor beskrevne konventionelle fremgangsmåder.

Forbindelsen med formlen VIII kan isoleres fra reaktionsblandingen og renses ved en vilkårlig konventionel fremgangsmåde, f.eks. ved omkrystallisation af ethylacetat, n-hexan, acetone eller vand, eller ved forskellige typer for chromatografi, som det er beskrevet i forbindelse med isolering og rensning af forbindelsen med formlen I, eller ved dekomponering af et organisk

salt af reaktionsproduktet med en syre.

Forbindelsen med formlen VIII kan omsættes med forbindelsen med formlen IX ved at omsætte carboxylgruppen i den førstnævnte forbindelse med mercaptogruppen i den sidstnævnte forbindelse i nærværelse af et kondensationsmiddel (dvs. carbodiimider, såsom dicyclohexylcarbodiimid). Et reaktivt derivat af forbindelsen med formlen VIII kan omsættes med en forbindelse med formlen IX. Som eksempler på det reaktive derivat af forbindelsen med formlen VIII kan nævnes aktiverede amider, syrehalogenider, aktiverede estere og blandede syreanhydrider. Aktiverede amider med carbonyldiimidazol foretrækkes.

Carboxylgruppen i forbindelsen med formlen IX kan være beskyttet eller ubeskyttet. Foretrukne beskyttelsesgrupper er t-butyl og andre grupper, der kan fjernes under sure betingelser.

Thiolesterdannelsesreaktionen udføres i et indifferant organisk opløsningsmiddel, såsom tetrahydrofuran, dioxan, dimethylformamid, hexamethylphosphortriamid, chloroform, dichlormethan og acetonitril. Reaktionen udføres almindeligvis under afkøling eller ved stuetemperatur (-50 til 20°C), fortrinsvis ved mellem -30 og 10°C , når forbindelsen med formlen VIII anvendes i form af et aktiveret amid eller syrehalogenid, og ved mellem -10 og 10°C , når nævnte forbindelse anvendes i form af et syreanhydrid. Reaktionstiden varierer med reaktionstemperaturen, de forbindelser, der skal omsættes, og opløsningsmidlet, og den ligger almindeligvis mellem 0,5 og 48 timer, fortrinsvis mellem 1 og 6 timer. Efter thiolesterdannelsesreaktionen fjernes R'' fra reaktionsproduktet, hvis den er en beskyttelsesgruppe. Dersom beskyttelsesgruppen er en t-butylgruppe, kan den fjernes ved en konventionel fremgangsmåde, dvs. ved omsætning med hydrogenfluorid, trifluoreddikesyre eller hydrogenchlorid.

Slutforbindelsen kan isoleres fra reaktionsblandingen og renses ved en vilkårlig konventionel fremgangsmåde, såsom omkrystallisation af et organisk opløsningsmiddel, såsom ethylacetat eller n-hexan, ved forskellige

typer for chromatografi som beskrevet i forbindelse med isolering og rensning af forbindelsen med formlen I, eller ved dekomponering af et organisk salt af reaktionsproduktet med en syre.

5 Det reaktive derivat af forbindelsen med formlen IV er sådant, at carboxylgruppen, der indgår i reaktionen, er aktiveret. Carboxylgruppen kan aktiveres til en passende form, såsom aktiverede amider, syrehalogenider, aktiverede estere eller blandede syreanhydrider. Aktiverede amider med carbonyldiimidazol foretrækkes. Carbodiimider, såsom dicyclohexylcarbodiimid, kan anvendes som kondensationsmiddel til dannelse af en amidbinding ud fra carboxylgruppen og mercaptogruppen.

Reaktionen ved fremgangsmåde b) ifølge opfindelsen mellem forbindelsen med formlen IV eller dens reaktive derivat og forbindelsen med formlen V udføres i et indifferent organisk opløsningsmiddel, såsom tetrahydrofuran, dioxan, dimethylformamid, hexamethylphosphortriamid, chloroform, dichlormethan eller acetonitril. Reaktionen udføres som nævnt ved fra -50 til 20°C , og fortrinsvis ved mellem -30 og 10°C , når forbindelsen med formlen IV anvendes i form af et aktiveret amid eller syrehalogenid, og ved mellem -10 og 10°C , når nævnte forbindelse anvendes i form af et syreanhydrid. Reaktions-
15 tiden varierer med reaktionstemperaturen, de forbindelser, der skal omsættes, og opløsningsmidlet, og den ligger almindeligvis mellem 0,5 og 48 timer, fortrinsvis mellem 1 og 6 timer. Efter thiolesterdannelsesreaktionen fjernes alle beskyttelsesgrupper fra reaktionsproduktet ved en vilkårlig af de for de respektive beskyttelsesgrupper nærmere anførte fremgangsmåder.

Slutforbindelsen kan isoleres fra reaktionsblandingen og renses ved en vilkårlig af de ovenfor beskrevne konventionelle fremgangsmåder, såsom forskellige typer
35 for chromatografi under anvendelse af silicagel, dextran-tværbundet polymer og porøse polymere såsom af styren-divinylbenzen eller acrylsyreestere. Et passende udviklingsopløsningsmiddel kan vælges blandt chloroform,

ethylacetat, methanol, ethanol, tetrahydrofuran, benzen, vand og acetonitril. Alternativt kan slutforbindelsen opnå ved, at man først isolerer reaktionsproduktet i form af et organisk salt, såsom et dicyclohexylaminsalt, 5 som derefter behandles med en syre, såsom saltsyre eller kaliumhydrogensulfat.

De omhandlede slutforbindelser, nemlig prolinderivatet med formlen I og farmaceutisk acceptable salte heraf, forhindrer dannelsen af angiotensin II ud fra angiotensin I ved at hæmme virkningen af angiotensinomdannende 10 enzym. De er derfor nyttige til behandling af hypertension hidrørende fra angiotensin II og som et middel til behandling af hjerteinsufficiens.

Virkningen af nogle af de omhandlede slutforbindelser med hensyn til at hæmme det angiotensinomdannende 15 enzym målt.

(1) Metode.

Et angiotensinomdannende enzym ekstraheredes fra en kaninlunge. En 0,111 M borsyre- Na_2CO_3 -pufferopløsning 20 (pH 8,3, 0,6 ml), 0,2 ml 0,111 M borsyre- Na_2CO_3 -pufferopløsning (pH 8,3) indeholdende 25 mM benzoylglycylhistidylleucin (substrat) og 0,1 ml 0,111 M borsyre- Na_2CO_3 -pufferopløsning (pH 8,3) indeholdende 10^{-8} til 10^{-3} M af prøveforbindelser (13 af de omhandlede slutforbindelser 25 ser angivet i nedenstående tabel) anbragtes i rørglas og preinkuberedes ved 37°C i 5 til 10 minutter. Derefter sættes der 0,1 ml af en opløsning af enzymet (acetonepulver) til hvert rørglas, og hver blanding inkuberedes ved 37°C i 30 minutter. Det ved hjælp af enzymet producerede benzoylglycin ekstraheredes med ethylacetat i 30 nærværelse af saltsyre, og mængden deraf bestemtes ved UV-absorption ved 228 nm. Enzymaktiviteten i nærværelse af prøveforbindelserne i forhold til aktiviteten i fraværelse af prøveforbindelserne (100) bestemtes. Den koncentration af hver prøveforbindelse, ved hvilken den relative aktivitet af enzymet var 50%, betegnedes som den 35 aktivitet for hver prøveforbindelse, der inhiberer aktiviteten af enzymet, og blev angivet som en I_{50} -værdi.

(2) Resultater.

Prøveforbindelse	I_{50}
Forbindelse nr. 1	$1,6 \times 10^{-7}$
" " 2	$4,8 \times 10^{-7}$
" " 3	$1,3 \times 10^{-7}$
" " 4	$4,0 \times 10^{-7}$
" " 5	$1,8 \times 10^{-7}$
" " 6	$2,4 \times 10^{-7}$
" " 7	$1,0 \times 10^{-7}$
" " 8	$1,5 \times 10^{-7}$
" " 9	$1,7 \times 10^{-7}$
" " 10	$4,8 \times 10^{-8}$
" " 11	$1,7 \times 10^{-7}$
" " 12	$5,4 \times 10^{-7}$
" " 13	$4,4 \times 10^{-7}$

- Forbindelse nr. 1 : N-[3-(N-cyclohexancarbonyl-D-alanylthio)-2-D-methylpropanoyl]-L-prolin
- nr. 2 : N-[3-(N-cyclopropancarbonyl-D-alanylthio)-2-D-methylpropanoyl]-L-prolin
- nr. 3 : N-[3-(N-cyclohexancarbonylglycylthio)-2-D-methylpropanoyl]-L-prolin
- nr. 4 : N-[3-(N-cyclohexancarbonyl-N-methylglycylthio)-2-D-methylpropanoyl]-L-prolin
- nr. 5 : N-[3-(N-cyclopropancarbonylglycylthio)-2-D-methylpropanoyl]-L-prolin
- nr. 6 : N-[3-(N-adamantancarbonylglycylthio)-2-D-methylpropanoyl]-L-prolin
- nr. 7 : N-[3-(N-cyclohexancarbonyl-D-phenylalanylthio)-2-D-methylpropanoyl]-L-prolin

- Forbindelse nr. 8 : N-[3-(N-cyclohexancarbonyl-D-leu-
cylthio)-2-D-methylpropanoyl]-L-
prolin
- 5 nr. 9 : N-[3-(N-cyclohexancarbonyl-D-tryp-
tophylthio)-2-D-methylpropanoyl]-
L-prolin
- nr. 10 : N-[3-(N-cyclohexancarbonyl-D-phe-
nylglycylthio)-2-D-methylpropano-
10 yl]-L-prolin
- nr. 11 : N-[3-(N-cyclohexancarbonyl-D-methi-
onylthio)-2-D-methylpropanoyl]-L-
prolin
- nr. 12 : N-[3-(N-cyclohexancarbonyl-D-glu-
taminyllthio)-2-D-methylpropanoyl]-
15 L-prolin
- nr. 13 : N-[3-(N-adamantancarbonyl-D-ala-
nyllthio)-2-D-methylpropanoyl]-L-
prolin.

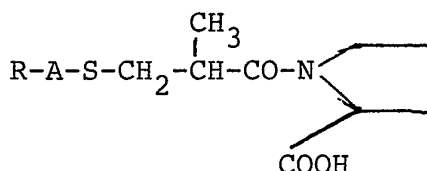
Aktiviteten af de omhandlede slutforbindelser va-
20 rer længere end for kendte forbindelser med en lignende
aktivitet, f.eks. 3-mercapto-2-D-methylpropanoyl-L-pro-
lin (konventionelt betegnet Captopril), således at den
ønskede blodtrykregulering kan opnås med færre daglige
administreringer. Captopril og andre kendte forbindel-
25 ser bevirker et pludseligt fald i blodtrykket under det
første tidsrum efter administrering, og dette kan udvik-
le sig til ortostatisk hypotensivt astheni [Lancet, vol.
1, nr. 8, 115, p. 557 (10. marts 1979)], men de omhand-
lede slutprodukter har kun en mild hypotensiv virkning
30 i det første tidsrum efter administrering, og der er kun
ringe mulighed for, at det udvikler sig til ortostatisk
hypotensivt astheni. Medikamenter, såsom Captopril, der
har en fri mercaptogruppe, giver forskellige bivirknin-
ger, der kan tilskrives denne mercaptogruppe. For at
35 nævne nogle få er forstyrrelser i smagssansen, frembrin-
gelse af albumin i urinen, agranulocytosis og hudsygdom-
me ledsaget af feber blevet rapporteret i Lancet, vol. 1,

nr. 8160, p. 150 (19. januar 1980), Lancet, vol. 2, nr. 8186, p. 129 (19. juli 1980), og South African Medical Journal, vol. 58, 172 (1980). På den anden side er thiolesterbindingen i de omhandlede slutforbindelser uimodtagelig for hydrolyse in vivo, og der er derfor kun ringe sandsynlighed for, at den danner en mercaptogruppe. Der er derfor kun ringe mulighed for, at de omhandlede slutforbindelser forårsager de ovennævnte bivirkninger, der kan tilskrives mercaptogruppen.

Til supplerung af det ovenstående skal det bemærkes, at de med de omhandlede forbindelser med formelen I nærmest beslægtede kendte forbindelser er de fra EP-9898A1 kendte forbindelser, og specielt de fra eksempel 35-43 i EP-9898A1 kendte forbindelser. De strukturemæssige forskelle mellem de således kendte forbindelser og de her omhandlede vil fremgå af nedenstående Tabel 1.

Tabel 1

20

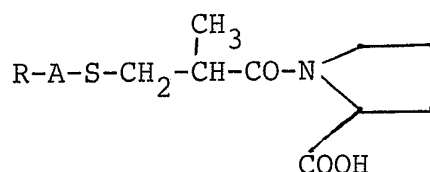


		R	A
25	Foreliggende opfindelse	 -CO-	glycin
		 -CO-	sarcosin
30		 -CO-	α-D-amino-syre
			(nærmere angivet i krav 1)
35	EP-9898A1	Eks. 35  -CO-	L-Phe
		Eks. 36 "	glycin
		Eks. 37 "	L-Trp
		Eks. 38 "	L-Tyr
		Eks. 39 "	L-Ile
		Eks. 40 "	L-Leu
		Eks. 41 "	L-His
		Eks. 42 "	L-Val
		Eks. 43 "	L-Ala

De kemiske og biologiske egenskaber af en repræsentativ forbindelse fremstillet ifølge foreliggende opfindelse og den dermed nærmest beslægtede, fra EP-9898A¹ kendte forbindelse er anført i nedenstående

5 Tabel 2.

Tabel 2



15	Forbindelse	R	A	① I ₅₀	② In vitro hydrolyse tilbagevæ- rende pro- centmængde	10	30	60(min.)
20	Ifølge op- findelsen Eks.3 eller Eks. 5		D-Ala	$2,6 \times 10^{-7}$	100	98	97	
	EP-9898A1 Eks.43		L-Ala	$2,4 \times 10^{-7}$	71	56	53	

Af de i Tabel 2 anførte forsøgsresultater fremgår det, at de ifølge opfindelsen fremstillede forbindelser sammenlignet med de fra EP-9898A1 kendte forbindelser har omtrent samme aktivitetsniveau med hensyn til at hæmme angiotensinomdannende enzym, men er meget mere stabil mod hydrolyse ved A-S bindingen i den almene formel I. Ligesom ovenfor må det antages, at tilstedeværelsen af den ved hydrolysen dannede frie mercaptogruppe -SH forårsager uønskede bivirkninger, såsom orthostatisk hypotensivt astheni, forstyrrelser i smagssansen, frembringelse af albumin i urinen, granulocytosis og hudsygdomme ledsaget af feber. De ifølge opfindelsen fremstillede forbindelser udviser således meget lavere bivirkninger end de fra EP-9898A1 kendte forbindelser.

Prøven ① til bestemmelse af I_{50} i Tabel 2 udførtes som beskrevet ovenfor på side 9 under overskriften (1) Metode. Prøven ② til bestemmelse af hydrolysegraden i Tabel 2 udførtes som beskrevet nedenfor.

5

Prøvemethode ②

Colorimetri/In vitro enzymatisk hydrolyse

Inkuberingsblanding: 1 ml 5% rotteleverhomogenat

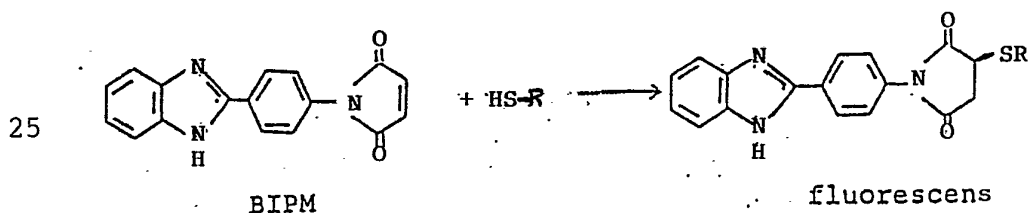
(0,1 M kaliumphosphatpuffer, pH 7,4) plus 1 ml

10 prøveforbindelse 10^{-2} M i samme phosphatpufferopløsning.

Prøvemethode: 100 μ l inkuberingsblanding blev udtaget fra mediet, og derefter tilsattes der 6 dråber 1,0 N HCl og 5 ml ethylacetat. Efter mekanisk blanding i 10 min. og centrifugering i 10 min. blev ethylacetatlaget udtaget og indampet. Remanensen opløstes i 1 ml vand, og derefter tilsattes der 6,5 μ l 0,4 M phosphatpuffer (pH 6,85) og 5 μ l 5×10^{-3} M BIPM^{*}), og man lod blandingen henstå i 40 min. ved 0°C.

20 Bedømmelsen blev foretaget ved 310 nm excitation og 365 nm emission (grænse > 0,1 μ g SQ)

^{*}) BIPM = N-[p-(2-benzimidazolyl)phenyl]-maleimid



Prolinderivaterne med formelen I og deres farmaceutisk acceptable salte kan formuleres til præparater til oral administrering, såsom tabletter, kapsler, granuler, pulvere, sirupi og eliksirer, eller til sterile opløsninger eller suspensioner til parenteral administrering. Til dette formål kan farmaceutiske præparater fremstilles ud fra en eller flere af de omhandlede slutforbindelser (som den aktive bestanddel) og farmaceutisk acceptable adjuvanter, såsom hjælpestoffer, bærere, bindemidler, stabilisatorer og smagsstoffer. Den daglige

30
35

dosis af de omhandlede slutforbindelser til voksne ligger fra 0,5 mg til 2 g, fortrinsvis fra ca. 1 til 500 mg, til oral administrering, og fra 0,1 til 600 mg, fortrinsvis fra ca. 0,3 til 300 mg, til parenteral administrering.

5 Fremgangsmåden ifølge opfindelsen belyses nærmere ved hjælp af de efterfølgende eksempler, hvoraf eksempel 1 og 2 beskriver fremstillingen af udgangsforbindelser, medens eksempel 3-19 beskriver fremstillingen af slutforbindelser.

10

Eksempel 1

Fremstilling af N-substituerede aminosyrer.

(a) 4,5 g D-alanin opløstes i 230 ml vandig 1 N Na_2CO_3 -opløsning under omrøring. Til opløsningen sættes
15 der dråbevis 100 ml tetrahydrofuran indeholdende 9,0 g cyclohexancarbonylchlorid ved 5 til 10°C, ved hvilken temperatur blandingen omrørtes i 30 minutter, hvorpå den omrørtes ved stuetemperatur i 1,5 timer. Derefter sættes der 2 N HCl til reaktionsblandingen til indstilling af dens pH til mellem 1 og 2. Reaktionsblandingen ekstraheredes med ethylacetat, og det organiske lag vaskedes med mættet NaCl-opløsning og tørredes over magnesiumsulfat. Filtratet inddampedes i vakuum til opnåelse af en rå forbindelse. Ved omkrystallisation af ethylacetat/n-hexan opnåedes 4,65 g N-cyclohexancarbonyl-D-alanin. $[\alpha]_D = +26,6^\circ$.
25

(b) 3,0 g af en ester af adamantancarboxylsyre og N-hydroxysuccinimid opløstes i 30 ml tetrahydrofuran. Til opløsningen sættes 5 ml vand indeholdende 0,89 g D-alanin og 1,1 g triethylamin, og blandingen omrørtes ved
30 5°C natten over. Efter fjernelse af tetrahydrofuran sættes der vand til remanensen, og der sættes endvidere 2 N HCl til blandingen til indstilling af dens pH til mellem 1 og 2. Blandingen behandledes derefter som under (a) ovenfor til opnåelse af 0,38 g N-adamantancarbonyl-D-alanin. $[\alpha]_D = +11,6^\circ$ (C=1,0 MeOH).
35

De nedenfor anførte forbindelser fremstilledes ved en af de under (a) og (b) beskrevne fremgangsmåder.

N-substituerede aminosyrer	Fremgangs- måde	Reaktanter	Reaktionsoplø- ningsmidler	Fysiske egenskaber
N-adamantancarbonylglycin	(b)	N-hydroxysuccinimid, dicyclohexylcarbodi- imid	vand, tetrahydrofuran	$^1\text{H-NMR}(\text{CD}_3\text{OD}, \delta)$ 1,6-2,3 (15H, m), 3,86 (2H, s)
N-cyclohexancarbonyl-D- phenylalanin	(a)	cyclohexancarbonyl- chlorid	vand, tetrahydrofuran	$[\alpha]_D = -18,8^\circ$ (C=1,0, MeOH)
N-cyclohexancarbonyl-D- leucin	(a)	cyclohexancarbonyl- chlorid	vand, tetrahydrofuran	$[\alpha]_D = +19,9^\circ$ (C=1,0, MeOH)
N-cyclohexancarbonyl-D- tryptophan	(a)	cyclohexancarbonyl- chlorid	vand, tetrahydrofuran	$[\alpha]_D = -10,5^\circ$ (C=1,0, MeOH)
N-cyclohexancarbonyl-D- phenylglycin	(a)	cyclohexancarbonyl- chlorid	vand, tetrahydrofuran	$[\alpha]_D = -133,5^\circ$ (C=1,0, MeOH)
N-cyclohexancarbonyl-D- methionin	(a)	cyclohexancarbonyl- chlorid	vand, tetrahydrofuran	$[\alpha]_D = -7,1^\circ$ (C=1,0, MeOH)
N-cyclohexancarbonyl-D- glutamin	(a)	cyclohexancarbonyl- chlorid	vand, tetrahydrofuran	$[\alpha]_D = +5,1^\circ$ (C=1,0, MeOH)
N-cyclopropancarbonyl- D-alanin	(a)	cyclopropancarbonyl- chlorid	vand, tetrahydrofuran	$[\alpha]_D = +51,1^\circ$ (C=1,0, MeOH)
N-cyclohexancarbonyl- glycin	(a)	cyclohexancarbonyl- chlorid	vand, tetrahydrofuran	$^1\text{H-NMR}(\text{CD}_3\text{OD}, \delta)$ 1,2-2,5 (11H, m), 3,95 (2H, s)
N-cyclohexancarbonyl- sarcosin	(a)	cyclohexancarbonyl- chlorid	vand, tetrahydrofuran	$^1\text{H-NMR}(\text{CD}_3\text{OD}, \delta)$ 1,1-2,5 (11H, m) 3,00, 3,20 (3H, to s), 4,13, 4,25 (2H, to s)

N-substituerede aminosyrer	Fremgangs- måde	Reaktanter	Reaktionsoplø- sningsmidler	Fysiske egenskaber
N-cyclopropancarboxyl- glycin	(a)	cyclopropancarboxyl- chlorid	vand, tetrahydrofuran	¹ H-NMR (CD ₃ OD, δ) 0,5-2,1 (4H, m), 2,4-2,9 (1H, m), 3,90 (2H, s)

Eksempel 2

(a) 3-(N-Cyclohexancarbonyl-D-alanylthio)-2-D-methylpropansyre.

5,97 g N-cyclohexancarbonyl-D-alanin opløstes i 5 100 ml tørt tetrahydrofuran. Til opløsningen sattes 5,84 g carbonyldiimidazol ved mellem -20 og -15°C, og blandingen omrørtes ved denne temperatur i 1 time. Derefter til-sattes der 3,60 g 3-mercapto-2-D-methylpropansyre, og blandingen omrørtes ved mellem -15 og -10°C i 1 time og 10 derefter ved stuetemperatur i endnu 1 time. Blandingen indampedes i vakuum til fjernelse af opløsningsmidlet. Til remanensen sattes der 40 ml vand, og til blandingen sattes der 2 N HCl til indstilling af dens pH til mellem 1 og 2. Blandingen ekstraheredes med ethylacetat, og det 15 organiske lag vaskedes 2 gange med mættet NaCl-opløsning og tørredes over magnesiumsulfat. Filtratet indampedes i vakuum til opnåelse af en rå forbindelse. Ved omkry-stallisation af ethylacetat/n-hexan opnåedes 7,50 g (83%) af den i overskriften anførte forbindelse som farveløse 20 prismatiske krystaller.

Smp. 149-152°C

$[\alpha]_D = +46,4^\circ$ (C=1,07, MeOH)

NMR (CD₃OD, δ): 1,20 (3H, d), 1,35 (3H, d),

1,20 - 2,0 (11H, m), 2,40 - 2,80 (1H, m),

25 3,05 (2H, m), 4,50 (1H, m)

(b) 3-(N-Cyclohexancarbonyl-D-phenylglycylthio)-2-D-methylpropansyre.

Fremgangsmåde (a) ovenfor blev gentaget under anvendelse af 2,61 g N-cyclohexancarbonyl-D-phenylglycin, 30 1,95 g carbonyldiimidazol og 1,20 g 3-mercapto-2-D-methylpropansyre. Der opnåedes 2,07 g (57%) af den i overskriften anførte forbindelse som en gul olie.

$[\alpha]_D = -48,7^\circ$ (C=1,19, MeOH)

NMR (CDCl₃, δ): 1,24 (3H, d), 1,20 - 2,10 (11H, m),

35 2,40 - 2,80 (1H, m), 3,10 (2H, m), 5,75 (1H, d),

6,40 - 6,80 (1H, m), 7,30 (5H, s), 8,90 (1H, s).

(c) 3-(N-Cyclohexancarbonyl-D-leucylthio)-2-D-methylpropansyre.

Fremgangsmåden under (a) blev gentaget under anvendelse af 2,41 g N-cyclohexancarbonyl-D-leucin, 1,95 g carbonyldiimidazol og 1,20 g 3-mercapto-2-D-methylpropansyre. Der opnåedes 2,40 g (70%) af den i overskriften anførte forbindelse som en olie.

$$[\alpha]_D = +12,2^{\circ} \text{ (C=1,03, MeOH)}$$

10 NMR (CDCl₃, δ): 0,95 (6H, d), 1,28 (3H, d),
1,20 - 2,10 (11H, m), 2,40 - 2,80 (1H, m),
3,10 (2H, m), 4,70 (1H, m), 6,00 - 6,30 (1H, m),
9,20 (1H, s).

(d) 3-(N-Cyclohexancarbonyl-D-glytaminylthio)-2-D-methylpropansyre.

15 Fremgangsmåden under (a) ovenfor blev gentaget under anvendelse af 2,56 g N-cyclohexancarbonyl-D-glutamin, 1,95 g carbonyldiimidazol og 1,20 g 3-mercapto-2-D-methylpropansyre. Der opnåedes en prøve på 0,70 g (20%) af den i overskriften anførte forbindelse.

20 Smp. 146-149°C

$$[\alpha]_D = +10,8^{\circ} \text{ (C=1,05, MeOH)}$$

NMR (CD₃OD, δ): 1,20 (3H, d), 1,20 - 2,10 (11H, m),
2,30 (4H, m), 2,40 - 2,80 (1H, m), 3,05 (2H, m),
4,50 (1H, m).

25 (e) 3-(N-Cyclopropancarboxyl-glycylthio)-2-D-methylpropansyre.

Fremgangsmåden under (a) ovenfor blev gentaget under anvendelse af 0,78 g N-cyclopropancarboxylglycin, 1,06 g carbonyldiimidazol og 0,66 g 3-mercapto-2-D-methylpropansyre. Der opnåedes 0,70 g (52%) af den i overskriften anførte forbindelse som en olie.

$$[\alpha]_D = -33,8^{\circ} \text{ (C=1,01, MeOH)}$$

35 NMR (CDCl₃, δ): 0,70 - 1,20 (4H, m), 1,25 (3H, d),
1,30 - 1,80 (1H, m), 2,40 - 2,80 (1H, m), 3,14
(2H, m), 4,20 (2H, d), 7,30 (1H, s).

(f) 3-(N-Adamantancarbonyl-glycylthio)-2-D-methylpropan-
syre.

Fremgangsmåden under (a) ovenfor blev gentaget under anvendelse af 2,38 g N-adamantancarbonylglycin, 5 1,95 g carbonyldiimidazol og 1,20 g 3-mercapto-2-D-methylpropansyre. Der opnåedes en prøve på 1,08 g (32%) af den i overskriften anførte forbindelse.

Smp. 132° (sønderdeling)

$[\alpha]_D = -8,3^{\circ}$ (C=1,01, MeOH)

10 NMR (CD_3OD , δ): 1,25 (3H, d), 1,65 - 2,30 (15H, m),
2,40 - 2,80 (1H, m), 3,14 (2H, m), 4,06 (2H, d).

(g) 3-(N-Cyclohexancarbonyl-D-phenylalanylthio)-2-D-methylpropansyre.

Fremgangsmåden under (a) ovenfor blev gentaget 15 under anvendelse af 1,37 g N-cyclohexancarbonyl-D-phenylalanin, 1,0 g carbonyldiimidazol og 0,60 g 3-mercapto-2-D-methylpropansyre. Der opnåedes 1,5 g (79%) af den i overskriften anførte forbindelse som en olie.

$[\alpha]_D = +13,9^{\circ}$ (C=1,02, MeOH)

20 NMR ($CDCl_3$, δ): 1,25 (3H, d), 1,20 - 2,0 (10H, m),
2,1 - 3,0 (2H, m), 3,0 - 3,4 (4H, m), 4,95 (1H, t),
6,19 (1H, d), 7,24 (5H, s), 10,12 (1H, s).

(h) 3-(N-Cyclohexancarbonyl-D-methionylthio)-2-D-methylpropansyre.

25 Fremgangsmåden under (a) blev gentaget under anvendelse af 0,325 g N-cyclohexancarbonyl-D-methionin, 0,25 g carbonyldiimidazol og 0,15 g 3-mercapto-2-D-methylpropansyre. Der opnåedes 0,29 g (64%) af den i overskriften anførte forbindelse som en olie.

30 $[\alpha]_D = -7,9^{\circ}$ (C=1,0, MeOH)

NMR ($CDCl_3$, δ): 1,26 (3H, d), 1,2 - 2,0 (10H, m),
2,09 (3H, s), 2,0 - 3,2 (8H, m), 4,5 - 5,0 (1H, m),
6,62 (1H, d), 10,07 (1H, s).

35 (i) 3-(N-Cyclohexancarbonyl-D-tryptophylthio)-2-D-methylpropansyre.

Fremgangsmåden under (a) ovenfor blev gentaget under anvendelse af 0,157 g N-cyclohexancarbonyl-D-tryptophan, 0,1 g carbonyldiimidazol og 0,06 g 3-mercapto-2-

D-methylpropansyre. Der opnåedes 0,17 g (82%) af en gummiagtig prøve af den i overskriften anførte forbindelse.

$$[\alpha]_D = -7,1^\circ \text{ (C=1,0, MeOH)}$$

5 NMR (CDCl₃, δ): 1,26 (3H, d), 1,2 - 2,4 (11H, m),
2,5 - 2,9 (1H, m), 3,0 - 3,3 (2H, m), 3,35 (2H, d),
4,87 (1H, t), 6,4 - 6,9 (2H, bred S), 6,9 - 7,8
(5H, m), 10,5 (1H, S).

Eksempel 3

10 (a) N-[3-(N-Cyclohexancarbonyl-D-alanylthio)-2-D-methylpropanoyl]-L-prolin.

1,51 g 3-(N-cyclohexancarbonyl-D-alanylthio)-2-D-methylpropansyre opløstes i 40 ml tørt tetrahydrofuran. Til opløsningen sættes der 0,61 g triethylamin og 0,65 g ethylchlorformiat ved -5°C under omrøring. 5 Minutter senere 15 neres tilsættes der en opløsning af 0,58 g L-prolin og 0,61 g triethylamin i 5 ml vand, og blandingen omrørtes ved 0°C i 1 time og derefter ved stuetemperatur i 30 minutter. Blandingen inddampedes i vakuum til fjernelse af opløsningsmidlet. Efter tilsætning af vand til remanensen 20 sættes der 2 N HCl til blandingen til indstilling af dens pH til mellem 1 og 2. Reaktionsblandingen ekstraheres med ethylacetat, og det organiske lag vaskedes 2 gange med mættet NaCl-opløsning og tørredes over magnesiumsulfat. Filtratet koncentreredes i vakuum til fjernelse 25 se af ethylacetat, og remanensen underkastedes chromatografi på silicagel under anvendelse af en blanding af chloroform og methanol (100:1 til 100:2) som elueringsmiddel. Fraktioner indeholdende slutforbindelsen opsamlendes og inddampedes i vakuum til opnåelse af 0,3 g af 30 en gummiagtig prøve af den i overskriften anførte forbindelse.

(b) Den samme forbindelse kunne fremstilles ved følgende fremgangsmåde.

35 6,03 g 3-(N-cyclohexancarbonyl-D-alanylthio)-2-D-methylpropansyre og 2,3 g N-hydroxysuccinimid opløstes i 50 ml tørt tetrahydrofuran. Til opløsningen sættes der 4,3 g dicyclohexylcarbodiimid ved mellem 0 og 5°C, og

blandingen omrørtes natten over ved denne temperatur. Efter reaktionen frafiltreredes bundfaldet, og det uopløselige materiale vaskedes med en lille mængde tetrahydrofuran. Filtratet og vaskevæsken hældtes sammen og 5 koncentreredes i vakuum. Til remanensen sattes ethylacetat, og blandingen filtreredes. Ethylacetatopløsningen vaskedes med 0,5 N HCl, vand, vandigt Na₂CO₃ og mættet NaCl-opløsning i den nævnte rækkefølge. Opløsningen tørredes over magnesiumsulfat og inddampedes i vakuum, og remanensen 10 størknede efter tilsætning af en blanding af ethylacetat og hexan (1:10). Udbyttet af det faste produkt var 6,90 g (87%).

Smp. 113 - 116°C

$[\alpha]_D = 14,2^\circ$ (C=1,05, MeOH)

15 NMR (CDCl₃, δ): 1,38 (6H, d), 1,20 - 2,20 (11H, m), 2,82 (4H, s), 2,8 - 3,30 (3H, m), 4,75 (1H, m), 6,30 (1H, bred d).

3,98 g af den aktiverede ester opløstes i 40 ml tetrahydrofuran. Til opløsningen sattes en opløsning af 20 1,15 g L-prolin og 1,26 ml N-ethylmorpholin i 5 ml vand, og blandingen omrørtes natten over. Blandingen inddampedes i vakuum til fjernelse af opløsningsmidlerne, og der sattes vand til remanensen. Til blandingen sattes der 2 N HCl til indstilling af dens pH til mellem 1 og 2. Re- 25 aktionsblandingen ekstraheredes med ethylacetat, og det organiske lag vaskedes med mættet NaCl-opløsning og tørredes over magnesiumsulfat. Filtratet inddampedes i vakuum. Remanensen underkastedes kolonnechromatografi på silicagel under anvendelse af en blanding af chloroform 30 og methanol (100:1 til 100:2) som elueringsmiddel. Det ved inddampning af eluatet i vakuum opnåede produkt (1,45 g) viste sig ved NMR-analyse at være identisk med den i overskriften anførte forbindelse.

(c) Den i overskriften anførte forbindelse kunne også 35 fremstilles ved følgende fremgangsmåde.

4,52 g 3-(N-cyclohexancarbonyl-D-alanylthio)-2-D-methylpropansyre opløstes i 5 ml thionylchlorid. Til opløsningen sattes der en dråbe dimethylformamid, og blan-

dingen omrørtes ved stuetemperatur natten over. Blandingen indampedes i vakuum til fjernelse af opløsningsmidlerne, og til remanensen sattes 2 ml tørt toluen, og blandingen indampedes igen i vakuum til fjernelse af opløsningsmidlet. Til remanensen sattes der 10 ml tørt tetrahydrofuran under omrøring. Tetrahydrofuranopløsningen indeholdende syrechloridet sattes dråbevis ved en temperatur på mellem 5 og 10°C under omrøring til 25 ml vand, hvori der var opløst 2,3 g L-prolin og 2,5 g 10 Na_2CO_3 . Blandingen omrørtes ved denne temperatur i 1 time og ved stuetemperatur i yderligere 2 timer. Reaktionsblandingen underkastedes ekstraktion med chloroform. Til det vandige lag sattes der 2 N HCl til indstilling af dets pH til mellem 1 og 2. Efter ekstraktion med chloroform vaskedes chloroformlaget 2 gange med mættet NaCl-opløsning og tørredes over magnesiumsulfat. Efter fjernelse af chloroformet underkastedes remanensen kolonnechromatografi på silicagel under anvendelse af en blanding af chloroform og methanol (100:1 til 100:2) som elueringsmiddel. Efter indampning i vakuum opnåedes der 20 1,6 g af et gummiagtigt stof. Stoffet viste sig ved NMR-analyse at være identisk med den i overskriften anførte forbindelse.

(d) Den i overskriften anførte forbindelse kunne fremstilles ved endnu en fremgangsmåde som beskrevet nedenfor.

3,01 g 3-(N-cyclohexancarbonyl-D-alanylthio)-2-D-methylpropansyre og 1,71 g t-butylester af L-prolin opløstes i 50 ml tørt dichlormethan, og der sattes 2,15 g 30 dicyclohexylcarbodiimid til opløsningen under omrøring og afkøling med is. Blandingen omrørtes ved den samme temperatur i 1/2 time og henstilledes natten over ved 5°C. Reaktionsblandingen filtreredes, og det uopløselige materiale vaskedes med dichlormethan. Filtratet og vaskevæsken hældtes sammen og vaskedes med 1 N HCl, vand, 35 1 N NaHCO_3 og mættet NaCl-opløsning i den nævnte rækkefølge, tørredes over MgSO_4 og indampedes i vakuum til opnåelse af 4,3 g af en gummiagtig prøve af t-butylester

af N-[3-(N-cyclohexancarbonyl-D-alanylthio)-2-D-methylpropanoyl]-L-prolin. En 4,0 g prøve af esteren opløstes i 30 ml anisol, og der sættes 10 ml trifluoreddikesyre til opløsningen. Blandingen omrørtes ved stuetemperatur i 1 time og inddampedes i vakuum til fjernelse af overskud af trifluoreddikesyre. Remanensen underkastedes kolonnechromatografi på silicagel (kolonne: 2 x 35 cm) under anvendelse af en blanding af methanol og chloroform (1:100 til 3:100) som elueringsmiddel. Fraktioner indeholdende slutforbindelsen opsamledes og inddampedes i vakuum til opnåelse af 3,4 g af et gummiagtigt stof. Dette stof viste sig ved NMR og tyndtlagschromatografi at være identisk med den i overskriften anførte forbindelse.

De anvendte reaktanter, reaktionsopløsningsmidler og fremgangsmåder til fremstilling af den i eksempel 3 i overskriften anførte forbindelse er anført i nedenstående tabel sammen med data vedrørende dens fysiske egenskaber. Andre forbindelser fremstilledes ved anvendelse af en af de i eksempel 3 (a) til (d) beskrevne fremgangsmåder, og nærmere oplysninger om den specielle fremgangsmåde er anført i nedenstående tabel sammen med data vedrørende slutforbindelsernes fysiske egenskaber. I tabellen angiver tallene efter tallene (1) og (2) i kolonnen med "Rf-værdi" de ved tyndtlagschromatografi opnåede Rf-værdier under anvendelse af henholdsvis $\text{CHCl}_3/\text{MeOH}/\text{AcOH}$ (2:1:0,003) og $\text{n-BuOH}/\text{AcOH}/\text{H}_2\text{O}$ (4:1:1) som elueringsmiddel.

Forbindelser	Fremgangs- måde	Reaktanter	Reaktionsop- løsningsmiddel	$[\alpha]_D$	NMR(CDCl ₃ , δ)	Rf-værdi
(a)		ethylchlorformiat	tetrahydrofuran, vand		1,20 (3H, bred d, CH ₃), 1,38 (3H, d, CH ₃), 1,55-2,0 (10H, m, CH ₂), 2,0-2,5 (4H, m, CH ₂), 2,5-3,3 (4H, m, CH & CH ₂), 3,4-3,9 (2H, m, CH ₂), 4,0-5,0 (2H, m, CH ₂), 6,0-6,5 (1H, m, NH), 7,31 (1H, s, CO ₂ H),	① 0,66 ② 0,71
(b)		dicyclohexyl- carbodiimid, N-hydroxy- succinimid	do.	-51,6° (C=1,06, MeOH)		
(c)		thionylchlorid	do.			
(d)		dicyclohexyl- carbodiimid	dichlormethan			
(a)						
(b)						
(c)						
(d)						
N-[3-(N-cyclohexan- carbonyl)glycyl- thio]-2-D-methyl- propanoyl]-L-prolin	(d)	dicyclohexyl- carbodiimid	dimethyl- formamid	-102,0° (C=1,0, MeOH)	1,21 (3H, bred d, CH ₃), 1,35-2,5 (14H, m, CH ₂), 2,6-3,3 (4H, m, CH & CH ₂), 3,4-3,9 (2H, m, CH ₂), 4,0-4,7 (3H, m, CH & CH ₂), 6,35-7,1 (1H, m, NH), 9,01 (1H, s, CO ₂ H),	25 ① 0,60 ② 0,68
(a)		ethylchlor- formiat	tetrahy- drofuran, vand	-58,1° (C=1,0, MeOH)	1,20 (3H, bred d, CH ₃), 1,2-2,5 (14H, m, CH ₂), 2,5-3,3 (6H, m, CH & CH ₂), 3,3-3,6 (2H, m, CH ₂), 4,0-5,3 (2H, m, CH), 5,7-6,4 (1H, m, NH), 7,29 (5H, s, aromatisk), 7,5-7,9 (1H, bred s, CO ₂ H),	① 0,64 ② 0,82
(b)		dicyclohexyl- carbodiimid, N-hydroxy- succinimid	do			

Forbindelser	Frøgangs- måde	Reaktanter	Reaktionsop- løsningsmiddel	$[\alpha]_D$	NMR (CDCl_3 , δ)	Rf-værdi
N-[3-(N-cyclohexan- carbonyl-D-methionyl- thio)-2-D-methyl- propanoyl]-L-prolin	(b)	dicyclohexyl- carbodiimid, N-hydroxy- succinimid	acetonitril, vand	-81,3° (C=1,0, MeOH)	1,23 (3H, bred d, CH_3), 1,5-2,4 (16H, m, CH_2), 2,10 (3H, s, CH_3), 2,59 (2H, t, CH_2), 2,7-3,3 (4H, CH), 0,60 m, CH & CH_2), 3,3-3,9 (2H, m, CH_2), 4,0-5,1 (2H, m, CH), 6,49 (1H, d, NH), 7,81 (1H, s, CO_2H)	① 0,60 ② 0,77
N-[3-(N-adamantan- carbonyl-D-alanyl- thio)-2-D-methyl- propanoyl]-L-prolin	(c)	thionylchlorid	tetrahydro- furan, vand	-61,0° (C=1,0, MeOH)	1,21 (3H, bred d, CH_3), 1,41 (3H, d, CH_3), 1,6-2,4 (19H, m, CH_2), 2,4-3,2 (3H, CH), 0,63 m, CH & CH_2), 3,4-3,9 (2H, bred s, CH_2), 4,1-5,0 (2H, CH), 0,67 m, CH), 6,4-6,8 (1H, bred s, NH), 8,10 (1H, s, CO_2H)	① 0,63 ② 0,67
N-[3-(N-cyclohexan- carbonyl-D-trypto- phylthio)-2-methyl- propanoyl]-L-prolin	(a)	isobutyl- chlorformiat	dimethyl- formamid, vand	-47,8° (C=1,0, MeOH)	1,15 (3H, bred d, CH_3), 1,3-2,4 (14H, m, CH_2), 2,5-3,9 (8H, m, CH & CH_2), 4,1-4,7 (1H, m, CH), ① 0,58 4,7-5,2 (1H, m, CH), 6,0-6,4 (2H, m, NH), ② 0,82 6,95-7,9 (5H, m, aromatisk), 8,80 (1H, bred s, CO_2H)	

Forbindelser	Frengangs- måde	Reaktanter	Reaktionsop- løsningsmiddel	$[\alpha]_D$	NMR (CDCl_3 , δ)	RF-værdi
N-[3-(N-cyclohexan- carbonyl-D-phenyl- glycylthio)-2-D- methylpropanoyl]-L- prolin	(a)	ethylchlorformiat	tetrahydrofuran, vand	-50,5°	1,18 (3H, bred d, CH_3), 1,3-2,5 (14H, m, CH_2), 2,5-3,8 (6H, m, CH & CH_2) ① 0,58 4,2-4,7 (1H, m, CH), 5,62 (1H, d, CH), ② 0,83 6,53 (1H, d, NH), 7,37 (5H, s, aromatisk), 8,90 (1H, s, CO_2H)	
	(c)	thionylchlorid	do.	(C=1,0, MeOH)		
	(d)	carbonyldi- imidazol	tetrahydrofuran			
N-[3-(N-cyclohexan- carbonyl-D-leucyl- thio)-2-D-methyl- propanoyl]-L-prolin	(a)	ethylchlor- formiat	tetrahydro- furan, vand	-52,7	0,93 (6H, d, CH_3), 1,21 (3H, bred d, CH_3), 1,30-2,5 (17H, m, CH & CH_2) ① 0,61 2,5-3,3 (4H, m, CH & CH_2), 3,3-3,9 (2H, m, CH_2), ② 0,73 4,0-5,0 (2H, m, CH), 5,95-6,5 (1H, m, NH), 7,30 (1H, s, CO_2H)	27
	(b)	dicyclohexyl- carbodiimid, N-hydroxy- succinimid	do.	(C=1,0, MeOH)		
N-[3-(N-cyclohexan- carbonyl-N-methyl- glycylthio)-2-D- methylpropanoyl]-L- prolin	(a)	ethyl- chlorformiat	tetra- hydrofuran, vand	-70,4°	1,21 (3H, bred d, CH_3), 1,3-2,4 (14H, m, CH_2), 2,4-3,3 (4H, m, CH & CH_2) ① 0,66 3,22 (3H, s, CH_3), 3,3-3,8 (2H, m, CH_2), ② 0,62 4,0-4,7 (3H, m, CH & CH_2), 9,75 (1H, s, CO_2H)	
	(b)	dicyclohexyl- carbodiimid, N-hydroxy- succinimid	do.	(C=1,0, MeOH)		
	(c)	thionylchlorid	do.			

Forbindelser	Frengangs- måde	Reaktanter	Reaktionsop- løsningsmiddel	$[\alpha]_D$	NMR (CDCl ₃ , δ)	Rf-værdi
N-[3-(N-cyclopropylcarbonyl-glycylthio)-2-D-methylpropanoyl]-L-prolin	(b)	dicyclohexyl-carbodiimid, N-succininimid	dimethyl-formamid, vand	-108,8° (C=1,0, MeOH)	0,6-1,0 (4H, m, CH ₂), 1,20 (3H, bred d, CH ₃), 1,4-1,9 (1H, m, CH), 1,9-2,4 (4H, m, CH ₂), 2,6-3,3 (3H, m, CH & CH ₂), 3,3-3,9 (2H, m, CH ₂), 3,9-4,7 (3H, m, CH & CH ₂), 7,2-8,0 (1H, m, NH), 8,48 (1H, s, CO ₂ H)	① 0,47 ② 0,53
N-[3-(N-cyclopropylcarbonyl-D-alanylthio)-2-D-methylpropanoyl]-L-prolin	(c)	thionylchlorid	aceto-nitril, vand	-28,7° (C=1,0, MeOH)	0,6-1,0 (4H, m, CH ₂), 1,20 (3H, bred d, CH ₃), 1,42 (3H, d, CH ₃), 1,4-1,9 (1H, m, CH), 1,9-2,4 (4H, m, CH ₂), 2,5-3,3 (3H, m, CH & CH ₂), 3,4-3,8 (2H, m, CH ₂), 4,1-5,0 (2H, m, CH), 6,4-7,0 (1H, m, NH), 7,45 (1H, s, CO ₂ H)	① 0,53 ② 0,60
N-[3-(N-adamantan-carbonylglycylthio)-2-D-methylpropanoyl]-L-prolin	(d)	dicyclohexyl-carbodiimid	dichlormethan	-77,4° (C=1,0, MeOH)	1,21 (3H, bred d, CH ₃), 1,6-2,4 (19H, m, CH & CH ₂), 2,2-3,2 (3H, m, CH & CH ₂), 3,4-3,8 (2H, m, CH ₂), 3,9-4,7 (3H, m, CH & CH ₂), 6,3-7,0 (1H, m, NH), 8,19 (1H, s, CO ₂ H)	① 0,58 ② 0,72

Forbindelser	Frøgangs- måde	Reaktanter	Reaktionsop- løsningsmiddel	$[\alpha]_D$	NMR (CDCl_3 , δ)	Rf-værdi
N-[3-(N-cyclohexan- carbonyl-D-glutaminyl- thio)-2-D-methyl- propanoyl]-L-prolin	(a)	ethylchlorformiat	tetrahydro- furan, vand,	-57,0° (C=1,0, MeOH)	1,20 (3H, bred d, CH_3), 1,3-2,5 (16H, m, CH_2), ① 0,42 2,5-3,2 (6H, m, CH & CH_2), 3,3-3,9 (2H, m, CH_2) ② 0,48 4,1-4,9 (2H, m, CH), 5,6-7,6 (4H, m, NH & CO_2H)	

Eksempel 4

Der dannedes forskellige salte ud fra de i eksemplerne 3 og 5 fremstillede prøver af N-[3-(N-cyclohexan-carbonyl-D-alanylthio)-2-D-methylpropanoyl]-L-prolin.

5 (a) Ca-salt.

En 3,98 g prøve af den i eksempel 3 eller 5 fremstillede forbindelse opløstes i 40 ml methanol. Til opløsningen sattes der 0,84 g calciumacetat-hydrat, og blandingen opvarmedes under tilbagesvaling i 1 time. Det uopløselige stof frafiltreredes, og filtratet indampedes i vakuum. Til remanensen sattes der chloroform, og blandingen filtreredes og indampedes i vakuum. Til remanensen sattes der diethylether, og blandingen filtreredes og lufttørredes til opnåelse af 3,40 g af et kaliumsalt af forbindelsen ifølge eksempel 3 eller 5. $[\alpha]_D = -47,2^\circ$ (C=1,0, MeOH).

(b) Mg-salt.

Fremgangsmåden under (a) blev gentaget under anvendelse af 3,09 g af den i eksempel 3 eller 5 fremstillede forbindelse og 0,772 g magnesiumacetat-tetrahydrat. Der opnåedes 2,42 g af et magnesiumsalt af forbindelsen ifølge eksempel 3 eller 5. $[\alpha]_D = -46,6$ (C=1,0, MeOH).

(c) Lysinsalt.

En 1,19 g prøve af den i eksempel 3 eller 5 fremstillede forbindelse opløstes i 22 ml methanol. Til opløsningen sattes der 0,416 g lysin, og blandingen omrørtes ved stuetemperatur i 1 time og indampedes i vakuum. Til remanensen sattes der chloroform, og blandingen frafiltreredes og indampedes i vakuum. Til remanensen sattes der dimethylether, og produktet frafiltreredes med sugning til opnåelse af 1,54 g af et lysinsalt af forbindelsen ifølge eksempel 3 eller 5. $[\alpha]_D = -23,1^\circ$ (C=1,0, MeOH).

(d) Na-salt.

En 2,27 g prøve af den i eksempel 3 eller 5 fremstillede forbindelse opløstes i 25 ml methanol. Til opløsningen sattes 0,514 g natriumacetat, og blandingen om-

rørtes ved stuetemperatur i 30 minutter og inddampedes i vakuum. Til remanensen sattes 200 ml af en blanding af methanol og chloroform (3:100 v/v), og den opnåede blanding filtreredes og inddampedes i vakuum. Remanensen opløstes i methanol, og opløsningen filtreredes og indampedes i vakuum. Til remanensen sattes ethylacetat, og produktet filtreredes med sugning til opnåelse af et Na-salt af forbindelsen ifølge eksempel 3 eller 5 (1,85 g). $[\alpha]_D = -26,7^\circ$ (C=1,0, MeOH).

10 (e) Dicyclohexylaminsalt.

En 13,1 g prøve af forbindelsen ifølge eksempel 3 eller 5 opløstes i 120 ml acetonitril. Til opløsningen sattes 6 ml dicyclohexylamin under omrøring. Blandingen omrørtes yderligere i 30 minutter og henstilledes derefter natten over. Bundfaldet frafiltreredes med sugning og lufttørredes. De opnåede rå krystaller suspenderedes i 300 ml acetonitril, og suspensionen opvarmedes under tilbagesvaling i 30 minutter. Suspensionen afkøledes, og krystallerne frafiltreredes med sugning og lufttørredes til opnåelse af et dicyclohexylaminsalt af forbindelsen ifølge eksempel 3 eller 5 (12,2 g). $[\alpha]_D = -24,5^\circ$ (C=1,0, MeOH).

Eksempel 5

N-[3-(N-Cyclohexancarbonyl-D-alanylthio)-2-D-methylpropanoyl]-L-prolin.

5,98 g N-cyclohexancarbonyl-D-alanin opløstes i 80 ml tørt tetrahydrofuran. Til opløsningen sattes 5,84 g carbonyldiimidazol ved -18°C under omrøring, medens blandingen afkøledes med is. Blandingen omrørtes ved denne temperatur i 1 time, og derefter sattes der 6,29 g N-(3-mercapto-2-D-methylpropanoyl)-L-prolin til blandingen, hvorefter der omrørtes ved -18°C i 30 minutter og derefter ved stuetemperatur i 1 time. Efter endt reaktion indampedes blandingen i vakuum til fjernelse af opløsningsmidlet. Til remanensen sattes 50 ml vand, og der sattes 2 N HCl til blandingen til indstilling af dens pH til mellem 1 og 2. Blandingen ekstraheredes med ethylacetat,

og ethylacetatlaget vaskedes med mættet NaCl-opløsning, tørredes over MgSO_4 og inddampedes i vakuum. Til remanensen sattes 120 ml acetonitril og derefter 6 ml dicyclohexylamin (DCHA). Blandingen omrørtes ved stuetemperatur 5 i 1 time. Efter henstand natten over frafiltreredes bundfaldet og lufttørredes til opnåelse af et råt DCHA-salt (14,35 g). Det rå salt suspenderedes i 300 ml acetonitril, og suspensionen opvarmedes under tilbagesvaling i 30 minutter. Efter afkøling opsamledes bundfaldet ved frasugning og lufttørredes til opnåelse af et hvidt DCHA-salt 10 (12,20 g). DCHA-saltet (12,20 g) suspenderedes i 90 ml ethylacetat, og til suspensionen sattes 60 ml 0,5 N vandig KHSO_4 -opløsning, og blandingen omrystedes. Det organiske lag vaskedes med destilleret vand, tørredes over 15 MgSO_4 og inddampedes i vakuum til opnåelse af et gummiagtigt stof (8,64 g). Stoffet viste sig ved NMR-analyse og tyndtlagschromatografi at være identisk med den i overskriften anførte forbindelse.

	NMR(CDCl_3 , δ)	Rf-værdi
20	1,20 (3H, bred d, CH_3), 1,38 (3H, d, CH_3), 1,55-2,0 (10H, m, CH_2), 2,0-2,5 (4H, m, CH_2), ① 0,66 2,5-3,3 (4H, m, CH_2 & CH_2), ② 0,71 3,4-3,9 (2H, m, CH_2), 4,0-5,0 (2H, m, CH_2),	
25	6,0-6,5 (1H, m, NH), 7,31 (1H, s, CO_2H),	

Eksempel 6

N-[3-(N-Cyclohexancarbonyl-glycylthio)-2-D-methylpropa-
30 noyl]-L-prolin.

1,02 g N-cyclohexancarbonylglycin opløstes 10 ml tørt tetrahydrofuran. Til opløsningen sattes 20 ml tørt tetrahydrofuran indeholdende 1,07 g carbonyldiimidazol ved -20°C under omrøring, medens blandingen afkøledes 35 med is. Blandingen omrørtes ved denne temperatur i 1 time, og derefter tilsattes der 6 ml tørt tetrahydrofuran

indeholdende 1,09 g N-(3-mercapto-2-D-methylpropanoyl)-L-prolin, hvorefter der omrørtes ved -20°C i 30 minutter og derefter ved stuetemperatur i 1 time. Efter endt reaktion indampedes blandingen i vakuum til fjernelse af opløsningsmidlet. Remanensen underkastedes kolonnechromatografi på silicagel (kolonne: 2 x 35 cm) under anvendelse af en blanding af methanol og chloroform (1:100 til 3:100) som elueringsmiddel. Fraktioner indeholdende slutforbindelsen hældtes sammen og indampedes i vakuum til opnåelse af et gummiagtigt stof (1,16 g). Stoffet viste sig ved NMR-analyse og tyndtlagschromatografi at være identisk med den i overskriften anførte forbindelse.

	NMR(CDCl_3 , δ)	Rf-værdi
15	1,21 (3H, bred d, CH_3), 1,35-2,5 (14H, m, CH_2), 2,6-3,3 (4H, m, CH & CH_2) ① 0,60 3,4-3,9 (2H, m, CH_2), 4,0-4,7 (3H, m, CH & CH_2) ② 0,68 6,35-7,1 (1H, m, NH), 9,01 (1H, s, CO_2H)	
20		

Eksempel 7

N-[3-(N-Cyclopropancarboxyl-D-alanylthio)-2-D-methylpropanoyl]-L-prolin.

635 mg N-cyclopropancarboxyl-D-alanin og 0,70 ml triethylamin opløstes i 14 ml tørt tetrahydrofuran. Til opløsningen sattes 0,48 ml ethylchlorformiat ved -15°C under omrøring, medens blandingen afkøledes med is. Blandingen omrørtes ved denne temperatur i 15 minutter, og derefter tilsattes der 1,09 g N-(3-mercapto-2-D-methylpropanoyl)-L-prolin og 10 ml tørt tetrahydrofuran indeholdende 0,70 ml triethylamin, hvorefter der omrørtes ved -15°C i 15 minutter og derefter ved 5°C natten over. Efter endt reaktion indampedes blandingen i vakuum ved 30 til 35°C til fjernelse af opløsningsmidlet. Til remanensen sattes 10 ml vand, og der sattes 2 N HCl til blandingen til indstilling af dens pH til mellem 1 og 2. Blandingen ekstraheredes med chloroform, og chloroform-

laget vaskedes med mættet NaCl-opløsning, tørredes over MgSO_4 og indampedes i vakuum. Remanensen underkastedes kolonnechromatografi på silicagel (kolonne: 2 x 35 cm) under anvendelse af en blanding af methanol og chloroform (1:100 til 3:100) som elueringsmiddel. Fraktioner indeholdende slutforbindelsen hældtes sammen og indampedes i vakuum til opnåelse af et gummiagtigt stof (395 mg). Dette stof viste sig ved NMR-analyse og tyndtlagschromatografi at være identisk med den i overskriften anførte forbindelse.

	NMR(CDCl_3 , δ)	Rf-værdi
	0,6-1,0 (4H, m, CH_2),	
	1,20 (3H, bred d, CH_3),	
	1,42 (3H, d, CH_3),	
15	1,4-1,9 (1H, m, CH),	① 0,53
	1,9-2,4 (4H, m, CH_2),	
	2,5-3,3 (3H, m, CH & CH_2),	② 0,60
	3,4-3,8 (2H, m, CH_2),	
	4,1-5,0 (2H, m, CH),	
	6,4-7,0 (1H, m, NH),	
20	7,45 (1H, s, CO_2H)	

Eksempel 8

N-[3-(N-Cyclohexancarbonyl-N-methylglycylthio)-2-D-methylpropanoyl]-L-prolin.

25 Fremgangsmåden ifølge eksempel 6 blev gentaget med den forskel, at N-cyclohexancarbonylglycin erstattes med N-cyclohexancarbonyl-N-methylglycin (1,09 g), carbonyldiimidazol (1,09 g) og N-(3-mercapto-2-D-methylpropanoyl)-L-prolin (1,09 g). Der opnåedes et gummiagtigt stof (0,76 g), og det viste sig ved NMR-analyse og tyndtlagschromatografi at være identisk med den i overskriften anførte forbindelse.

	NMR(CDCl_3 , δ)	Rf-værdi
	1,21 (3H, bred d, CH_3)	
35	1,3-2,4 (14H, m, CH_2),	
	2,4-3,3 (4H, m, CH & CH_2),	① 0,66
	3,22 (3H, s, CH_3),	
	3,3-3,8 (2H, m, CH_2),	② 0,62
	4,0-4,7 (3H, m, CH & CH_2),	
	9,75 (1H, s, CO_2H)	

Eksempel 9

N-[3-(N-Cyclopropancarboxylglycylthio)-2-D-methylpropanoyl]-L-prolin.

Fremgangsmåden ifølge eksempel 6 blev gentaget med den forskel, at N-cyclohexancarboxylglycin erstattedes med N-cyclopropancarboxylglycin (0,96 g), carbonyldiimidazol (1,09 g) og N-(3-mercapto-2-D-methylpropanoyl)-L-prolin (1,09 g). Der opnåedes et gummiagtigt stof (0,4 g), og det viste sig ved NMR-analyse og tyndt-lagt chromatografi at være identisk med den i overskriften anførte forbindelse.

	NMR (CDCl ₃ , δ)	Rf-værdi
	0,6-1,0 (4H, m, CH ₂),	
	1,20 (3H, bred d, CH ₃),	
15	1,4-1,9 (1H, m, CH),	
	1,9-2,4 (4H, m, CH ₂),	① 0,47
	2,6-3,3 (3H, m, CH & CH ₂),	
	3,3-3,9 (2H, m, CH ₂),	② 0,53
	3,9-4,7 (3H, m, CH & CH ₂),	
	7,2-8,0 (1H, m, NH),	
20	8,48 (1H, s, CO ₂ H)	

Eksempel 10

N-[3-(N-Adamantancarboxylglycylthio)-2-D-methylpropanoyl]-L-prolin.

Fremgangsmåden ifølge eksempel 6 blev gentaget med den forskel, at N-cyclohexancarboxylglycin erstattedes med N-adamantancarboxylglycin (1,42 g), carbonyldiimidazol (1,09 g) og N-(3-mercapto-2-D-methylpropanoyl)-L-prolin (1,09 g). Der opnåedes et gummiagtigt stof (1,7 g), og det viste sig ved NMR-analyse og tyndtlagschromatografi at være identisk med den i overskriften anførte forbindelse.

	NMR (CDCl ₃ , δ)	Rf-værdi
	1,21 (3H, bred d, CH ₃),	
	1,6-2,4 (19H, m, CH & CH ₂),	
35	2,2-3,2 (3H, m, CH & CH ₂),	① 0,58
	3,4-3,8 (2H, m, CH ₂),	
	3,9-4,7 (3H, m, CH & CH ₂),	② 0,72
	6,3-7,0 (1H, m, NH),	
	8,19 (1H, s, CO ₂ H)	

Eksempel 11

N-[3-(N-Cyclohexancarbonyl-D-phenylalanylthio)-2-D-methylpropanoyl]-L-prolin.

Fremgangsmåden ifølge eksempel 6 blev gentaget med den forskel, at N-cyclohexancarbonylglycin erstattes med N-cyclohexancarbonyl-D-phenylalanin (1,54 g), carbonyldiimidazol (1,09 g) og N-(3-mercapto-2-D-methylpropanoyl)-L-prolin (1,09 g). Der opnåedes et gummiagtigt stof (0,97 g), og det viste ved NMR-analyse og tyndtlagschromatografi at være identisk med den i overskriften anførte forbindelse.

	NMR(CDCl ₃ , δ)	Rf-værd
	1,20 (3H, bred d, CH ₃),	
	1,2-2,5 (14H, m, CH ₂),	
15	2,5-3,3 (6H, m, CH & CH ₂), ① 0,64	
	3,3-3,6 (2H, m, CH ₂),	
	4,0-5,3 (2H, m, CH), ② 0,82	
	5,7-6,4 (1H, m, NH),	
	7,29 (5H, s, aromatisk),	
	7,5-7,9 (1H, bred s, CO ₂ H)	

20

Eksempel 12

N-[3-(N-Cyclohexancarbonyl-D-leucylthio)-2-D-methylpropanoyl]-L-prolin.

Fremgangsmåden ifølge eksempel 6 blev gentaget med den forskel, at N-cyclohexancarbonylglycin erstattes med N-cyclohexancarbonyl-D-leucin (1,20 g), carbonyldiimidazol (0,97 g) og N-(3-mercapto-2-D-methylpropanoyl)-L-prolin (0,98 g). Der opnåedes et gummiagtigt stof (1,17 g), og det viste sig ved NMR-analyse og tyndtlagschromatografi at være identisk med den i overskriften anførte forbindelse.

30

	NMR (CDCl ₃ , δ)	Rf-værdi
	0,93 (6H, d, CH ₃),	
	1,21 (3H, bred d, CH ₃),	
	1,30-2,5 (17H, m, CH & CH ₂), ① 0,61	
5	2,5-3,3 (4H, m, CH & CH ₂), ② 0,73	
	3,3-3,9 (2H, m, CH ₂),	
	4,0-5,0 (2H, m, CH),	
	5,95-6,5 (1H, m, NH),	
	7,30 (1H, s, CO ₂ H)	

10 Eksempel 13

N-[3-(N-Cyclohexancarbonyl-D-tryptophylthio)-2-D-methylpropanoyl]-L-prolin.

Fremgangsmåden ifølge eksempel 6 blev gentaget med den forskel, at N-cyclohexancarbonylglycin erstattedes med N-cyclohexancarbonyl-D-tryptophan (1,75 g), carbonyldiimidazol (1,09 g) og N-(3-mercapto-2-D-methylpropanoyl)-L-prolin (1,09 g). Der opnåedes et gummiagtigt stof (0,8 g), og det viste sig ved NMR-analyse og tyndtlagschromatografi at være identisk med den i overskriften anførte forbindelse.

	NMR (CDCl ₃ , δ)	Rf-værdi
	1,15 (3H, bred d, CH ₃),	
	1,3-2,4 (14H, m, CH ₂),	
	2,5-3,9 (8H, m, CH & CH ₂),	
25	4,1-4,7 (1H, m, CH), ① 0,58	
	4,7-5,2 (1H, m, CH),	
	6,0-6,4 (2H, m, NH), ② 0,82	
	6,95-7,9 (5H, m, aromatisk),	
	8,80 (1H, bred s, CO ₂ H)	

30 Eksempel 14

N-[3-(N-Cyclohexancarbonyl-D-phenylglycylthio)-2-D-methylpropanoyl]-L-prolin.

Fremgangsmåden ifølge eksempel 6 blev gentaget med den forskel, at N-cyclohexancarbonylglycin erstattedes med N-cyclohexancarbonyl-D-phenylglycin (1,30 g), carbonyldiimidazol (0,97 g) og N-(3-mercapto-2-D-methylpropanoyl)-L-prolin (0,98 g). Der opnåedes et gummiag-

tigt stof (0,35 g), og det viste sig ved NMR-analyse og tyndtlagschromatografi at være identisk med den i overskriften anførte forbindelse.

	NMR (CDCl ₃ , δ)	Rf-værdi
5	1,18 (3H, bred d, CH ₃), 1,3-2,5 (14H, m, CH ₂), 2,5-3,8 (6H, m, CH & CH ₂) ① 0,58 4,2-4,7 (1H, m, CH), 5,62 (1H, d, CH), ② 0,83 6,53 (1H, d, NH), 7,37 (5H, s, aromatisk),	
10	8,90 (1H, s, CO ₂ H)	

Eksempel 15

N-[3-(N-Cyclohexancarbonyl-D-methionylthio)-2-D-methylpropanoyl]-L-prolin.

- 15 Fremgangsmåden ifølge eksempel 6 blev gentaget med den forskel, at N-cyclohexancarbonylglycin erstattes med N-cyclohexancarbonyl-D-methionin (1,30 g), carbodiimidazol (1,09 g) og N-(3-mercapto-2-D-methylpropanoyl)-L-prolin (1,09 g). Der opnåedes et gummiagtigt
- 20 stof (0,59 g), og det viste sig ved NMR-analyse og tyndtlagschromatografi at være identisk med den i overskriften anførte forbindelse.

	NMR (CDCl ₃ , δ)	Rf-værdi
25	1,23 (3H, bred d, CH ₃), 1,5-2,4 (16H, m, CH ₂), 2,10 (3H, s, CH ₃), 2,59 (2H, t, CH ₂), 2,7-3,3 (4H, ① 0,60 m, CH & CH ₂), 3,3-3,9 (2H, m, CH ₂), 4,0-5,1 (2H, m, ② 0,77 CH), 6,49 (1H, d, NH),	
30	7,81 (1H, s, CO ₂ H)	

Eksempel 16

N-[3-(N-Cyclohexancarbonyl-D-glutaminythio)-2-D-methylpropanoyl]-L-prolin.

- 35 Fremgangsmåden ifølge eksempel 6 blev gentaget med den forskel, at N-cyclohexancarbonylglycin erstattes

des med N-cyclohexancarbonyl-D-glutamin (0,5 g), carbonyldiimidazol (0,41 g) og N-(3-mercapto-2-D-methylpropionyl)-L-prolin (0,41 g).

Der opnåedes et gummiagtigt stof (0,3 g), og det viste sig ved NMR-analyse og tyndtlagschromatografi at være identisk med den i overskriften anførte forbindelse.

	NMR (CDCl ₃ , δ)	Rf-værdi
	1,20 (3H, bred d, CH ₃),	
10	1,3-2,5 (16H, m, CH ₂), ① 0,42	
	2,5-3,2 (6H, m, CH & CH ₂), ② 0,48	
	3,3-3,9 (2H, m, CH ₂)	
	4,1-4,9 (2H, m, CH),	
	5,6-7,6 (4H, m, NH & CO ₂ H)	

Eksempel 17

N-[3-(N-Adamantancarbonyl-D-alanylthio)-2-D-methylpropionyl]-L-prolin.

Fremgangsmåden ifølge eksempel 6 blev gentaget med den forskel, at N-cyclohexancarbonylglycin erstattes med N-adamantancarbonyl-D-alanin (1,2 g), carbonyldiimidazol (0,97 g) og N-(3-mercapto-2-D-methylpropionyl)-L-prolin (0,98 g). Der opnåedes et gummiagtigt stof (1,02 g), og det viste sig ved NMR-analyse og tyndtlagschromatografi at være identisk med den i overskriften anførte forbindelse.

	NMR (CDCl ₃ , δ)	Rf-værdi
	1,21 (3H, bred d, CH ₃),	
	1,41 (3H, d, CH ₃), 1,6-2,4	
	(19H, m, CH ₂), 2,4-3,2 (3H, ① 0,63	
30	m, CH & CH ₂), 3,4-3,9 (2H, bred s, CH ₂), 4,1-5,0 (2H, ② 0,67	
	m, CH), 6,4-6,8 (1H, bred s, NH), 8,10 (1H, s, CO ₂ H)	

Eksempel 18

Dicyclohexylaminsalt af N-[3-(N-cyclohexancarbonyl-D-alanylthio)-2-D-methylpropanoyl]-L-prolin.

(1) 3-(N-Cyclohexancarbonyl-D-alanylthio)-2-D-methyl-
5 propansyre (241 g) suspenderedes i tørt dichlormethan
(1,3 liter). Til suspensionen sattes der dråbevis tri-
ethylamin (117 ml) ved -15°C under omrøring, og derefter
tilsattes der dråbevis pivaloylchlorid (104 ml) ved under
 -5°C under omrøring, og blandingen omrørtes yderligere i
10 30 minutter.

(2) L-Prolin (101 g) suspenderedes i tørt dichlor-
methan (1,2 liter). Til suspensionen sattes der dråbevis
trimethylsilylchlorid (112 ml) ved -15°C under omrøring,
og derefter tilsattes der dråbevis triethylamin (122 ml)
15 ved under -5°C under omrøring, og blandingen omrørtes
yderligere ved -15°C i 30 minutter. Til den opnåede
blanding sattes den under (1) fremstillede opløsning,
og blandingen omrørtes under afkøling i 15 minutter og
derefter ved stuetemperatur i 1 time. Efter endt reak-
20 tion sattes der koldt destilleret vand (1 liter) til re-
aktionsblandingen under afkøling, og derefter tilsattes
der dråbevis koncentreret saltsyre (90 ml). Blandingen
omrørtes i 10 minutter, og det organiske lag fraskiltes,
vaskedes 2 gange med mættet NaCl-opløsning og tørredes
25 over magnesiumsulfat. Til filtratet sattes der dicyclo-
hexylamin (326 ml) og acetonitril (800 ml), og blandingen
omrørtes i 30 minutter. Derefter tilsattes der 4 800 ml
portioner acetonitril med 10 minutters mellemrum, og man
lod den opnåede blanding henstå natten over ved 5°C .
30 Bundfaldet frafiltreredes med sugning og lufttørredes
til opnåelse af en rå prøve af den i overskriften anfør-
te forbindelse. Den rå prøve opløstes i dichlormethan
(3 liter) i varm tilstand og filtreredes. Filtratet om-
rørtes ved stuetemperatur i 30 minutter, og der tilsattes
35 endnu 4 750 ml portioner acetonitril med 10 minutters
mellemrum, og man lod den opnåede blanding henstå natten
over ved 5°C . Bundfaldet frafiltreredes og lufttørredes
til opnåelse af en farveløs prøve af den i overskriften

anførte forbindelse (404 g). Smp. 190-191°C, $[\alpha]_D = -24,5^\circ$ (C=1,0, MeOH).

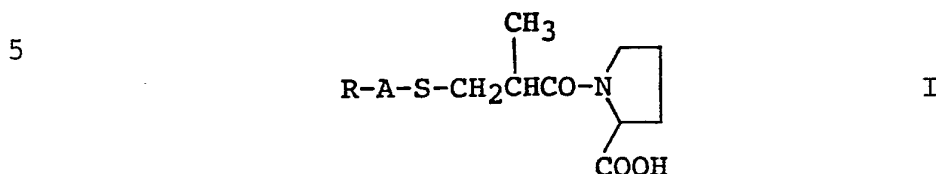
Eksempel 19

Calciumsalt af N-[3-(N-cyclohexancarbonyl-D-alanylthio)-
5 2-D-methylpropanoyl]-L-prolin.

En 404 g prøve af det i eksempel 18 fremstillede dicyclohexylaminsalt suspenderedes i ethylacetat (2 liter), og til suspensionen sattes 0,5 N KHSO₄-opløsning (2,5 liter), og blandingen omrørtes i 10 minutter. Det
10 organiske lag fraskiltes, vaskedes med destilleret vand og tørredes over magnesiumsulfat. Filtratet inddampedes i vakuum, og remanensen opløstes i acetone (1,2 liter). Til acetoneopløsningen sattes destilleret vand (1,2 liter) og calciumcarbonat (36,6 g), og blandingen omrør-
15 tes kraftigt ved 40°C i 1 time. Efter afkøling filtreres blandingen, og filtratet inddampedes i vakuum. Den opnåede sirup suspenderedes i acetone (1 liter), og opløsningen omrørtes i 5 timer. Bundfaldet filtreredes med sugning, lufttørredes og vakuumbørredes derefter til op-
20 nåelse af den i overskriften anførte forbindelse som et hvidt pulver (212 g). $[\alpha]_D = -47,2^\circ$ (C=1,0, MeOH).

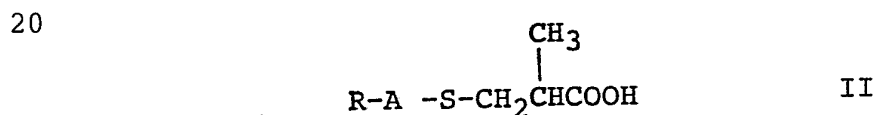
P A T E N T K R A V

1. Analogifremgangsmåde til fremstilling af
N-(3-acylthio-2-methylpropanoyl)-prolinforbindelser
med formlen I



hvor R er en til en α -aminogruppe i A bundet acylgrup-
10 pe og er valgt blandt en cyclopropancarbonyl-, cyclo-
lohexancarbonyl- og adamantancarbonylgruppe, og A er en
glycin-, sarcosin-, D-alanin-, D-leucin-, D-phenyl-
alanin-, D-tryptophan-, D-phenylglycin-, D-methionin-
eller D-glutaminrest, hvis α -carbonylgruppe danner en
15 thiolesterbinding med svovlatomet, eller farmaceutisk
acceptable salte heraf med baser, k e n d e t e g n e t
ved, at man

a) omsætter en forbindelse med formlen II



hvor R og A har de ovennævnte betydninger, eller et
25 reaktivt derivat heraf med en forbindelse med formlen
III



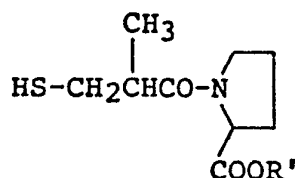
hvor R' er et hydrogenatom eller en carboxylbeskyttende
30 gruppe, eller et reaktivt derivat heraf i et indifferent
organisk opløsningsmiddel ved mellem -50 og 20°C og
fjerner eventuelle beskyttelsesgrupper fra reaktionspro-
duktet, eller

b) omsætter en forbindelse med formlen IV



hvor R og A har de ovennævnte betydninger, eller et

reaktivt derivat deraf med en forbindelse med formlen V



V

5

hvor R' er et hydrogenatom eller en carboxyl-beskyttende gruppe, eller et reaktivt derivat heraf i et indifferent organisk opløsningsmiddel ved mellem -50 og 20°C og fjerner eventuelle beskyttelsesgrupper fra reaktions-
10 produktet,

hvorefter man om ønsket omdanner en opnået forbindelse med formlen I til et farmaceutisk acceptabelt salt heraf med en base.

15 2. Fremgangsmåde ifølge krav 1, $k e n d e t e g - n e t$ ved, at det reaktive derivat af forbindelsen med formlen II eller IV er et aktiveret amid, syrehalogenid, aktiveret ester eller blandet syreanhydrid.

3. Fremgangsmåde ifølge krav 1, $k e n d e t e g -$
20 $n e t$ ved, at forbindelsen med formlen II eller IV om-sættes med henholdsvis forbindelsen med formlen III eller et reaktivt derivat heraf eller forbindelsen med formlen V i nærværelse af et carbodiimid.

4. Fremgangsmåde ifølge krav 1a), $k e n d e -$
25 $t e g n e t$ ved, at det reaktive derivat af forbindelsen med formlen III har en silylgruppe indført i iminogruppen i nævnte forbindelse.

5. Fremgangsmåde ifølge krav 1, $k e n d e t e g -$
 $n e t$ ved, at det indifferente organiske opløsningsmid-
30 del er tetrahydrofuran, dioxan, dimethylformamid, hexamethylphosphortriamid, chloroform, dichlormethan eller acetonitril.