



Ausschliessungspatent

Erteilt gemäss § 5 Absatz 1 des Aenderungsgesetzes  
zum Patentgesetz

ISSN 0433-6461

(11)

1590 69

Int.Cl.<sup>3</sup>

3(51) C 07 C153/07

C 07 C149/243

AMT FUER ERFINDUNGS- UND PATENTWESEN

In der vom Anmelder eingereichten Fassung veroeffentlicht

(21) AP C 07 C/ 2301 988  
(31) 157.420

(22) 22.05.81  
(32) 09.06.80

(44) 16.02.83  
(33) US

(71) siehe (73)  
(72) WHITE, RALPH L. JUN.;US;  
(73) MORTON-NORWICH PRODUCTS, INC, NEW YORK;US;  
(74) IPB (INTERNATIONALES PATENTBUERO BERLIN), 1020 BERLIN, WALLSTR. 23/24

(54) VERFAHREN ZUR HERSTELLUNG VON N-(ZYCLOALKYL)AMINOSAURERVERBINDUNGEN

(57) Die Erfindung betrifft ein Verfahren zur Herstellung von N-(Zycloalkyl)aminosäureverbindungen für die Anwendung als Arzneimittel, insbesondere zur Behandlung von Bluthochdruck. Ziel der Erfindung ist die Bereitstellung neuer Verbindungen, die als Inhibitoren für Angiotensin umwandelndes Enzym geeignet sind. Erfindungsgemäß werden Verbindungen der Formel hergestellt, worin R<sub>1</sub> Wasserstoff oder ein niederes Alkyl ist; R<sub>2</sub> Wasserstoff, Azetyl oder Benzoyl ist; A Zyclopentyl, Zyclohexyl oder Zykloheptil ist; m 0 oder 1 ist; p 1 oder 2 ist und DCHA Dizyclohexylamin oder Null ist.

230 198 8

- 1 -

18.12.1981

AP C 07 c/230 198/8

58 937 11

Verfahren zur Herstellung von N-(Zycloalkyl)amino-säure-  
verbindungen

Anwendungsgebiet der Erfindung

Die Erfindung betrifft ein Verfahren zur Herstellung von N-(Zycloalkyl)aminosäureverbindungen.

Die erfindungsgemäß hergestellten Verbindungen werden angewandt als Arzneimittel. Sie eignen sich als Inhibitoren von Angiotensin I umwandelndes Enzym.

Charakteristik der bekannten technischen Lösungen

Es ist bekannt, daß das Dekapeptid Angiotensin I durch ein Enzym umgewandelt wird in das Oktapeptid Angiotensin II, das starke blutdrucksteigende Wirkung aufweist.

Es ist weiterhin bekannt, daß bestimmte Verbindungen, die befähigt sind, diese Umwandlung zu verhindern, geeignete Mittel zur Bekämpfung von Bluthochdruck sind.

Es sind keine Angaben darüber bekannt, welche Verbindungen bisher als Inhibitoren für Angiotensin I umwandelndes Enzym verwendet wurden.

Ziel der Erfindung

Ziel der Erfindung ist die Bereitstellung neuer Verbindungen, die als Inhibitoren für das Angiotensin I umwandelnde Enzym geeignet sind.

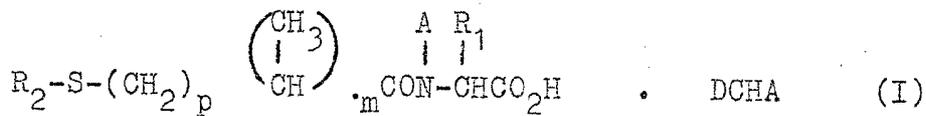
Darlegung des Wesens der Erfindung

Der Erfindung liegt die Aufgabe zugrunde, neue Verbindungen mit den gewünschten Eigenschaften und Verfahren zu ihrer

18.12.1981  
AP C 07 c/230 198  
58.937 11

Herstellung aufzufinden.

Erfindungsgemäß werden N-(Zykloalkyl)amino-säureverbindungen der Formel



hergestellt,  
worin

- R<sub>1</sub> Wasserstoff oder ein niedrigeres Alkyl,
- R<sub>2</sub> Wasserstoff, Azetyl oder Benzoyl,
- A Zyklopentyl, Zyklohexyl oder Zykloheptyl,
- m 0 oder 1,
- p 1 oder 2 und
- DCHA Dizyklohexylamin oder nichts

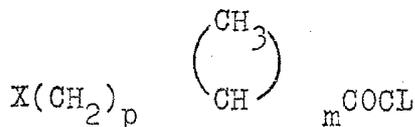
ist.

Erfindungsgemäß werden die Verbindungen der Formel I in der Weise hergestellt, daß man

a) eine Verbindung der Formel:



azyliert, worin A und R<sub>1</sub> die oben genannte Bedeutung haben, mit einem azylierenden Mittel der Formel:



18.12.1981

AP C 07 c/230 198/8

58 937 11

worin p und m die oben genannte Bedeutung haben und x aus der Gruppe, bestehend aus benzoylthio, azetylthio und Brom, ausgewählt wird, wodurch das Ersetzen von Benzoylthio durch Reaktion mit Kaliumthiobenzoat ermöglicht wird;

- b) wahlweise Behandlung mit Dizylohexylamin und
- c) Hydrolyse der Benzoyl- oder Azetylkomponente.

Besonders wertvoll sind die folgenden Verbindungen der Formel I:

N- $\beta$ -Benzoylthio)-1-oxopropyl/zyklohexylglyzin/  
N-Zyklohexyl -N-(3-merkapto-1-oxopropyl)-glyzin  
(S)-(-)-N- $\beta$ -Azetylthio)-1-oxopropyl/zyklohexylalanin/  
(S)-(-)-N-  $\beta$ -Azetylthio)-1-oxopropyl/zyklopentylalanin  
N-3-(Azetylthio)-1-oxopropyl-N-zykloheptylalanin  
N- $\beta$ -Benzoylthio)-1-oxopropyl/zyklopentyl-glyzin  
N-  $\beta$ -(Benzoylthio)-1-azetyl/zyklohexylglyzin-Dizylohexylamin-Salz  
N- $\beta$ -(3-Azetylthio)-2-methyl-1-oxopropyl/ N-zyklohexylglyzin-Dizylohexylamin-Salz  
N- $\beta$ -(Benzoylthio)azetyl/ N-zyklohexylglyzin  
N- $\beta$ -Benzoylthio)-1-Oxopropyl/ N-zykloheptyl-glyzin  
N-Zyklopentyl-N-(3-merkapto-1-oxopropyl)-glyzin  
N-Zyklohexyl-N-(3-merkapto-2-methyl-1-oxopropyl)-glyzin.

Offenkundig existieren die durch die Formel (I) dargestellten Verbindungen in diastereoisomeren Formen oder in daraus rekrutierten razemischen Mischungen, welche sämtlich dem Bereich der vorliegenden Erfindung zugeordnet werden sollen. Allgemein wird die stereoisomere Form mit der absoluten

- 4 -  
- 10 - 230198 8

18.12.1981

AP C 07. c/230 198/8

58 937 11

S(L)-Konfiguration bevorzugt.

Die Verbindungen sind leistungsstarke Inhibitoren jenes

En-

zyms, welches für die Umwandlung des Dekapeptids Angiotensin I zum Oktapeptid Angiotensin II verantwortlich ist. Angiotensin II ist ein starkes blutdrucksteigerndes Agens, von dem angenommen wird, daß es das verursachende Agens bei einigen Formen der Bluthochdruckerkrankung ist.

Vor einiger Zeit bereits ist ermittelt worden, daß eine Substanz, welche die Fähigkeit besitzt, den Angiotensin II-Entstehungsweg - also die oben erwähnte Umwandlung - zu unterbrechen, ein nützliches und wirksames Mittel zur Bekämpfung des mit jenem pressorischen Agens verknüpften Bluthochdruckes darstellt.

Es ist herausgefunden worden, daß die Verbindungen der vorliegenden Erfindung eine bemerkenswerte Aktivität bei der Hemmung des Angiotensin I umwandelnden Enzyms besitzen. Daher sind in-vitro-Techniken zum Nachweis derartiger Aktivität dieser Verbindungen in hohem Maße nützlich. 5%o inhibieren beispielsweise diese Verbindungen das aus Kaninchen-Lungengewebe isolierte reine Umwandlungsenzym auf Stufen von etwa 0,041  $\mu$ m bis 0,248  $\mu$ m. Es handelt sich also um nennenswerte Inhibitoren des Angiotensin I umwandelnden Enzyms.

Die Verbindungen der vorliegenden Erfindung sind nicht auf in-vitro-Nachweise ihrer das Umwandlungsenzym hemmenden Neigung begrenzt. Bei oraler Verabreichung zeigt sich eine dosisabhängige antihypertonische Wirkung bei akuter aortischer Koarktation hypertotonischer Ratten. Als Suspension in 0,5 % Methocel oral verabreichte Dosen von 1 mg/kg bis 200 mg/kg bewirken bei diesen Ratten eine Verringerung des mittleren arteriellen Blutdruckes um 30 mm Hg.

Die Verbindungen der vorliegenden Erfindung können in einer Reihe von Dosierungsformen wie etwa Tabletten, Kapseln, Lösungen usw. zur passenden Verabreichung zubereitet werden,

18.12.1981

AP C 07 c/230 198/8

58.937 11

wobei klassische Exzipienten und Adjuvantien, mit denen keine Inkompatibilität besteht, verwendet werden. Derartige Dosierungsformen bestehen aus 10...500 mg einer Verbindung der Formel (I) oder eines ihrer Salze in einer einheitlichen Dosierungsform in Übereinstimmung mit der akzeptierten pharmazeutischen Praxis.

#### Ausführungsbeispiel

Um die vorliegende Erfindung den Fachleuten leicht zugänglich und verständlich zu machen, werden in den folgenden Beispielen gegenwärtig bevorzugte Verfahren zur Herstellung der durch die Erfindung umfaßten Verbindungen beschrieben.

#### Beispiel I

#### N- $\beta$ -(Benzoylthio)-1-oxopropyl- $\gamma$ -N-zyklohexylglyzin

##### A. N-Zyklohexylglyzin

Glyzin (37,5 g, 0,5 m) wurde in einer Lösung aus MeOH (400 ml) und NaOH (20 g, 0,5 m) aufgelöst. Diesem Gemisch wurde Zyklohexanon (49,0 g, 0,5 m) zugesetzt, das daraus resultierende Gemisch wurde 0,5 h lang gerührt. Danach wurde Palladium auf Holzkohle (5 %) (15 g) hinzugefügt; dies wurde auf dem Parr-Schüttler über 6 h hinweg hydriert. Dann wurde weiteres 0,5 m Zyklohexanon zugesetzt, die Mischung wurde 0,5 h lang umgerührt und anschließend für die folgenden 8 h auf den Parr-Schüttler zurückgesetzt. Der Katalysator wurde gefiltert und die Lösung zu einem Schlemm eingedampft, welcher dann in H<sub>2</sub>O (500 ml) aufgelöst, mit EtOAc (2x 150 ml) extrahiert, mit 6 N HCl auf pH=6 ange-

- 7 -  
- 38 -

230198 8

18.12.1981  
AP C 07.c/230 198/8  
58 937 11

säuert und schließlich zu einem Feststoff eingedampft wurde. Die Rekrystallisation mit heißem H<sub>2</sub>O erbrachte 22 g (28. %); Schmelzpunkt 217...220 °C; R<sub>F</sub>-Wert = 0,4 (Kieselgel, CHCl<sub>3</sub>, MeOH, HOAc : 8,5, 1,0, 0,5).

B. N- $\beta$ -(Benzoylthio)-1-oxopropyl-N-zyklohexylglyzin

N-Zyklohexylglyzin (11 g, 0,069 m) wurde in 1 N NaOH (69 ml)

aufgelöst, dann wurde diese Lösung in einem Eis-Salz-Bad auf  $0^{\circ}\text{C}$  gekühlt. Dieser gekühlten Lösung wurde tropfenweise und fortwährend über 15 min hinweg 3-Brompropionylchlorid (11,8 g, 0,069 m) und 2 N NaOH (34,5 ml) zugesetzt. Das so entstandene Gemisch wurde 4 h lang bei Zimmertemperatur umgerührt. Während dieser Zeit wurde dem Reaktionsgemisch eine Lösung aus Kaliumthiobenzoat (12,2 g, 0,069 m) in  $\text{H}_2\text{O}$  (69 ml) tropfenweise zugesetzt. Das Umrühren wurde über Nacht fortgesetzt. Das Reaktionsgemisch wurde dann in einem Eisbad gekühlt und mit konzentrierter HCl auf einen pH-Wert von etwa 2 gebracht. Das Folgeprodukt ölte und wurde mit EtOAc (3x 200 ml) extrahiert. Die EtOAc-Extraktionen wurden kombiniert, gewaschen - 2x 150 ml 1 N HCl, 2x 150 ml  $\text{H}_2\text{O}$ , 2x 150 ml gesättigtes NaCl und 1x 150 ml  $\text{H}_2\text{O}$  - , getrocknet ( $\text{MgSO}_4$ ), gefiltert und zu einem Öl eingedampft. Das Öl wurde mit Hexanen pulverisiert, der entstandene weiße Feststoff wurde gefiltert und mit EtOAc/Hexanen zu einer Ausbeute von 3,8 g rekristallisiert; Schmelzpunkt  $118 \dots 120^{\circ}\text{C}$ ; Dünnschichtchromatografie:  $R_f$  0,55 (75 : 25, Toluol : Essigsäure); IR und Elektronenspinresonanz ergaben Strukturstabilität.

Analytische Berechnung für  $\text{C}_{18}\text{H}_{23}\text{NO}_4\text{S}$ : C, 61,87 %; H, 6,63 %;  
N, 4,01 %  
Befund : C, 61,91 %; H, 6,70 %;  
N, 3,85 %

## Beispiel II

### N-Zyklohexyl-N-(3-merkapto-1-oxopropyl)glyzin

Die Lösung der Verbindung aus Beispiel I (4,0 g, 0,01 m) wurde in konzentriertem Ammoniumhydroxid (15 ml) bei Zimmertemperatur unter einer Stickstoffatmosphäre 4 h lang umgerührt. Das resultierende Gemisch wurde gefiltert und mit Ethylazetat (4x 50 ml) zwecks Beseitigung des Benzamid-Nebenproduktes gewaschen. Die wässrige Phase wurde mit konzentrierter Salzsäure

auf pH = 2 gebracht und mit 3x 50 ml Ethylazetat extrahiert. Die Ethylazetat-Extraktionen wurden zusammengefügt, mit 100 ml Wasser gewaschen, getrocknet ( $MgSO_4$ ) und zu einem Öl eingedampft. Dieses Öl wurde in 5 ml Chloroform:Methanol:Essigsäure (64:1:1) aufgelöst und durch eine mit 30 g Kieselgel in  $CHCl_3$ :MeOH:HOAc (64:1:1) gefüllte Säule (1,5 cm x 60 cm) hindurchgeleitet. Dann wurden Fraktionen von 6..7 ml gesammelt. Zur Bestimmung der Folgeprodukt enthaltenden Fraktionen wurde die Dünnschichtchromatografie genutzt. Die aufgefundenen Fraktionen wurden vereinigt und zu einem Öl evaporiert, welches mit Hexanen zu einem Feststoff pulverisiert wurde. Der Feststoff wurde gefiltert und zu einer Ausbeute von 0,7 g (30 %) getrocknet; Schmelzpunkt 115..116°C;  $R_f = 0,5$  (Kieselgel,  $CHCl_3$ :MeOH:HOAc, 64:1:1); Elektronenspinresonanz und IR ergaben Strukturstabilität.

Analyt. Berechnung für  $C_{11}H_{19}NO_3S$ : C, 53,85; H, 7,81; N, 5,71  
Befund : C, 53,93; H, 7,60; N, 5,53

### Beispiel III

#### (S)(-)-N- [3-(Azetylthio)-1-oxopropyl] -N-zyklohexylalanin

##### A. L-N-Zyklohexylalanin

Alanin (22,5 g, 0,25 m) wurde einer Lösung aus MeOH (400 ml) und NaOH (10 g, 0,25 m) zugesetzt. Dann wurde Zyklohexanon (24,5 g, 0,25 m) zugesetzt, und das Gemisch wurde 0,5 h lang umgerührt. Nun wurde Palladium auf Holzkohle (5 %) (7,5 g) zugesetzt, das Ganze wurde 4 h lang auf dem Parr-Schüttler hydriert. Es erfolgte der Zusatz von weiterem 0,25 m Zyklohexanon, das Gemisch wurde erneut 0,5 h lang umgerührt und dann über Nacht auf den Parr-Schüttler zurückgestellt. Der Katalysator wurde gefiltert und die Lösung zu einem Schlamm eingedampft, welcher nun in  $H_2O$  (400 ml) aufgelöst, mit EtOAc (3x 100 ml) extrahiert und mit 6 N HCl auf pH = 6 gesäuert wurde. Der Niederschlag wurde abgefiltert und ergab 24 g getrocknetes

Folgeprodukt; Schmelzpunkt 275...280°C (dek.). Das Filtrat wurde auf die Hälfte seines Volumens eingedampft und gekühlt; das Präzipitat wurde gefiltert und ergab eine zusätzliche Ausbeute von 9 g Folgeprodukt; Schmelzpunkt 275...280°C (dek.). Die zwei Ausbeuten wurden zu 33 g (77 %) zusammengelegt;  $R_f$  - 0,35 (Kieselgel,  $\text{CHCl}_3$ :MeOH:HOAc; 8,5:1:0,5).

B. (S)(-)-N-[3-(Azetylthio)-1-oxopropyl]-N-zyklohexylalanin

L-N-Zyklohexylalanin (10 g, 0,06 m) wurden in Pyridin (120 ml) aufgelöst. Diese Lösung wurde auf rund 15°C gekühlt, dann wurde 3-Azetylthiopropionylchlorid (8,0 ml, 10 g, 0,06 m) tropfenweise in einer Rate zugesetzt, welche die Temperatur im Bereich von 15...18°C hielt. Sodann wurde das Eisbad entfernt und das Reaktionsgemisch bei Zimmertemperatur über Nacht umgerührt.

Das Reaktionsgemisch wurde zu 140 ml Eiswasser hinzugegeben, mit konzentrierter HCl auf einen pH-Wert von 1...2 gesäuert und mit 3x 150 ml Ether extrahiert. Die zusammengeführten Etherextrakte wurden mit 2x 100 ml Wasser gewaschen, über  $\text{MgSO}_4$  getrocknet, mit Darco behandelt, gefiltert und zu einem hellgelben Öl (Masse 9,5 g) eingedampft.

Das Öl wurde in 20 ml 5 % HOAc/Toluen aufgelöst und durch eine mit 150 g Kieselgel in 5 % HOAc/Toluen gefüllte Säule (2,5 x 60 mm) hindurchgeführt. Das Produkt wurde mit 5 % HOAc/Toluen aus der Säule herausgelöst, mittels eines Fraktionskollektors wurden dabei Fraktionen von rund 7 ml gesammelt. Die Fraktionen wurden mittels Dünnschichtchromatografie (5 % HOAc/Toluen) geprüft, die produktenthaltenden Fraktionen wurden zusammengefügt und zu einem Öl evaporiert, welches mit Hexanen in ein Kristallinat verwandelt wurde. Das Kristallinat wurde zweimal mit Nitromethan zu einem Ertrag von 2,2 g (12 %) rekristallisiert; Schmelzpunkt 140...141°C; Dünnschichtchromatografie  $R_f$  - 0,1 (Kieselgel, 5 % HOAc/Toluen);  $[\alpha]_D^{20} = -0,4^\circ\text{C}$  (C = 1, MeOH); Elektronenspinresonanz und IR ergaben Strukturstabilität.

Analyt. Berechnung für  $C_{14}H_{23}NO_4S$ : C, 55,78; H, 7,69; N, 4,65  
Befund: C, 56,05; H, 7,88 ; N, 4,54

Beispiel IV

(S)(-)-N-[3-(Azetylthio)-1-oxopropyl]-N-zyklopentylalanin

A. L-N-Zyklopentylalanin

Alanin (22,5 g, 0,25 m) wurde einer Lösung aus MeOH (400 ml) und NaOH (10 g, 0,25 m) zugesetzt. Daraufhin wurde Zyklopentanon (21 g, 22,1 ml, 0,25 m) beigegeben, und das Gemisch wurde 0,5 h lang umgerührt. Nun wurde Palladium auf Holzkohle (5 %, 7,5 g) zugesetzt; dieses Gemisch wurde auf dem Parr-Schüttler 4 h lang hydriert. Ein weiterer Zusatz von 0,25 m Zyklopentanon wurde gemacht, das Gemisch wurde 0,5 h lang umgerührt und dann über Nacht auf dem Parr-Schüttler zurückgesetzt. Der Katalysator wurde mittels Filtration entfernt, das Filtrat wurde zu einem Schlamm evaporiert, welcher in  $H_2O$  (500 ml) aufgelöst, mit Ethylazetat (2x 150 ml) extrahiert und mit 6 N HCl auf pH = 6 gesäuert wurde. Die Lösung wurde zu einem Schlamm eingedampft, mit Isopropanol kristallisiert, das Kristallisat wurde gefiltert sowie getrocknet und erbrachte eine Ausbeute von 36,5 g (92 %); Schmelzpunkt  $240^{\circ}C$  (dek.);  $R_F = 0,38$  (Kieselgel,  $CHCl_3$ : MeOH:HOAc; 8,5:1:0,5).

B. (S)(-)-N-[3-(Azetylthio)-1-oxopropyl]-N-zyklopentylalanin

L-N-Zyklopentylalanin (9,4 g, 0,06 m) wurde in Pyridin (120 ml) aufgelöst. Diese Lösung wurde auf  $15^{\circ}C$  gekühlt, dann wurde 3-Azetylthiopropionylchlorid (8,0 ml, 10 g, 0,06 m) tropfenweise in einer Rate zugesetzt, bei der die Temperatur zwischen  $15$  und  $18^{\circ}C$  gehalten wurde. Das Eisbad wurde sodann entfernt, das Reaktionsgemisch wurde bei Zimmertemperatur über Nacht umgerührt.

Das Reaktionsgemisch wurde mit 300 ml Eiswasser versetzt, mit

konzentrierter HCl auf einen pH-Wert von 1...2 gesäuert und mit 3x 200 ml Ether extrahiert. Die zusammengelegten Etherextrakte wurden mit 2x 150 ml Wasser gewaschen, über  $MgSO_4$  getrocknet, mit Darco behandelt, gefiltert und dazu einem Öl eingedampft, welches beim Stehenlassen kristallisierte. Dieses Kristallisat wurde mit kaltem ~~Wasser~~ Ether pulverisiert, gefiltert und mit Ethylazetat rekristallisiert; die Ausbeute betrug 1,8 g (10 %); Schmelzpunkt 123...124°C;  $R_f = 0,19$  (Kieselgel, 9:1; Toluol:Essigsäure);  $[\alpha]_{365}^{20} = -0,6$  (C = 2; HOAc); Elektronenspinresonanz und IR ergaben Strukturstabilität.

Analyt. Berechnung für  $C_{13}H_{21}NO_4S$ : C, 54,33; H, 7,37; N, 4,87  
Befund : C, 54,36; H, 7,32; N, 4,83

#### Beispiel V

#### N-3-(Azetylthio)-1-oxopropyl-N-zykloheptylalanin

##### A. L-(+)-N-Zykloheptylalanin

Ein Gemisch aus NaOH (20,0 g, 0,50 mol) und Zykloheptanon (56,0 g, 0,50 mol) wurde in Methanol (400 ml) eingebracht, dieses Gemisch wurde 16 h lang umgerührt. Dann wurden 15,0 g 5 %iges Pd/C zugesetzt, dieses Gemisch wurde der Reaktion bei 40 psi (Anfangswert) auf einem Parr-Apparat ausgesetzt. Nach 6 h wurden 24 psi der theoretischen 34 psi weggenommen. Weitere 35,0 g (0,31 mol) Zykloheptanon wurden eingeführt, das Gemisch wurde über 16 h hinweg stehengelassen. Das Gemisch wurde nunmehr über weitere 20 h katalytisch reduziert, weitere 13 psi wurden weggenommen.

Die gefilterte Lösung wurde zu einem klaren Sirup konzentriert. Nach der Zugabe von Wasser (500 ml) erfolgte das Auflösen; die Grundlösung wurde mit Ethylazetat (500 ml) extrahiert. Es begann ein weißer, kristalliner Feststoff aus der wässrigen Lösung auszufallen; der pH-Wert wurde mit konzentrierter HCl und 1 N

NaOH auf 6 eingestellt. Die dicke Masse wurde gefiltert, der gewonnene feuchte Feststoff wurde in 2-Propanol (500 ml) umgerührt, zurückgewonnen und luftgetrocknet (82,3 g, 89 %). Eine 1,0-g-Probe wurde durch Suspension in rückfließendem absolutem Ethanol (50 ml) sowie unter langsamer Wasserzugabe (30 ml) rekristallisiert. Die heiße Lösung wurde gefiltert und zum Abkühlen stengelassen. Es entstand ein weißer Feststoff, Schmelzpunkt über 300°C;  $\alpha_D^{20} = 11,8^\circ$  (C = 1, 0,5 N HCl).

Analyt. Berechnung für  $C_{10}H_{19}NO_2$ : C, 64,83; H, 10,34; N, 7,56  
Befund : C, 65,15; H, 10,43; N, 7,29

#### B. N-3-(Azetylthio)-1-oxopropyl-N-zykloheptylalanin

Eine Lösung aus 1 N NaOH (100 ml), (S)-N-Zykloheptylalanin (18,5 g, 0,10 m) und Wasser (500 ml) wurde bei 5°C gehalten, wobei gleichzeitig Azetylthiopropionylchlorid (13,0 ml, 0,10 m) und 1 N NaOH (100 ml) über 10 min hinweg zugesetzt wurden. Die Mischung wurde auf 800 ml verdünnt, während der Feststoff von der Lösung getrennt wurde. Natriumazetat (0,20 m) wurde als Feststoff zugesetzt, desgleichen wurden weitere 0,10 m Säurechlorid (13,0 m) zügig eingeführt. Das Gemisch wurde ohne Kühlung 6 h lang umgerührt und dann gefiltert. Das Filtrat wurde mit verdünnter Salzsäure gesäuert und mit Ethylazetat (2x 400 ml) extrahiert, der kombinierte Extrakt wurde mit Wasser (2x 200 ml) gewaschen und getrocknet ( $MgSO_4$ ).

Die gefilterte Lösung wurde zu einem Öl konzentriert, das in einer mit 300 g Kieselgel gefüllten Säule (60 x 6 cm) unter Verwendung von Toluol/Essigsäure (20:1) als Eluant chromatografiert wurde. Das bei  $R_f$  0,2 (Kieselgel, gleiches Eluant) UV-positive Material wurde gesammelt; die Eindampfung des Eluants ergab einen Feststoff, der durch Azetonitril zu einem weißen Kristallinat von 4,8 g Ausbeute rekristallisierte. Die Stoffprobe wurde in Ether (50 ml) umgerührt und gesammelt

~~-14-~~  
~~-10-~~

230198 8

(4,2 g, 13 % Ertrag), Schmelzpunkt 110...111°C,  $[\alpha]_D^{20} = 0,10$   
(C = 10, Dimethylformamid).

Analyt. Berechnung für  $C_{15}H_{25}NO_4S$ : C, 57,12; H, 7,99; N, 4,44  
Befund: C, 56,92; H, 8,00; N, 4,38

#### Beispiel VI

#### N-[3-Benzoylthio-1-oxopropyl]-N-zyklopentylglyzin

##### A. N-Zyklopentylglyzin

Glyzin (18,75 g, 0,25 m) wurde in einer Lösung aus MeOH (400 ml) und NaOH (10 g, 0,25 m) aufgelöst. Dieser Lösung wurde Zyklopentanon (22,1 g, 0,25 m) zugesetzt; das so entstandene Gemisch wurde 0,5 h lang umgerührt. Danach wurde Palladium auf Holzkohle (5 %) (7 g) hinzugegeben; dieses Gemisch wurde auf dem Parr-Schüttler 6 h lang hydriert. Es erfolgte ein weiterer Zusatz von 0,25 m Zyklopentanon; das Gemisch wurde über 0,5 h umgerührt und dann über Nacht auf den Parr-Schüttler zurückgesetzt. Der Katalysator wurde gefiltert, wieder erfolgte ein Zusatz von 0,25 m Zyklopentanon; das Gemisch wurde 0,5 h lang umgerührt, weitere 7 g 5 %iges Palladium auf Holzkohle wurden zugesetzt, sodann wurde das Gemisch auf dem Parr-Schüttler 4 h lang hydriert (bis die  $H_2$ -Aufnahme beendet war). Der Katalysator wurde dann gefiltert, das Filtrat wurde zu einem Öl eingedampft. Diesem Öl wurden 300 ml  $H_2O$  zugesetzt. Daraus ergab sich eine milchige Lösung, welche mit 3x 200 ml EtOAc gewaschen wurde. Der pH-Wert der wäßrigen Phase wurde dann mit konzentrierter HCl auf einen pH-Wert von 6 gebracht; die Lösung wurde zu einem Schlamm eingedampft. Der Schlamm wurde mit Isopropanol behandelt, das daraus resultierende Kristallisat wurde gefiltert, mit kaltem Nitromethan zerpulvert, gefiltert und auf einen Ertrag von 22,6 g (63 %) getrocknet; die Dünnschichtchromatografie zeigte einen Hauptfleck  $R_f = 0,29$  und zwei Nebenflecken  $R_f = 0,38$  und  $0,51$  (Kieselgel,  $CHCl_3$ , MeOH, HOAc; 8,5:1:0,5).

-15-

-17-

230198 8

B. N-[3-Benzoylthio-1-oxopropyl]-N-zyklopentylglyzin

N-Zyklopentylglyzin (15 g, 0,1 m) wurde in 1 N NaOH (105 ml, 0,1 m) aufgelöst, dann wurde diese Lösung mit Hilfe eines Eisbades gekühlt. Der gekühlten Lösung wurde tropfenweise und gleichmäßig über 15 min hinweg 3-Brompropionylchlorid (10,6 ml, 0,1 m) und 2 N NaOH (52,5 ml) zugesetzt. Das Reaktionsgemisch wurde 4 h lang bei Zimmertemperatur umgerührt. Während dieser Zeit wurde dem Reaktionsgemisch eine Lösung von Kaliumthiobenzoat (18,5 g, 0,1 m) in 100 ml H<sub>2</sub>O tropfenweise hinzugegeben. Das Umrühren wurde über Nacht fortgesetzt.

Das Reaktionsgemisch wurde in einem Eisbad gekühlt und unter einer 100-ml-Schicht EtOAc mit konzentrierter HCl auf pH 2 gesäuert. Die Schichten wurden separiert, die wäßrige Schicht wurde mit 3x 100 ml EtOAc extrahiert. Die kombinierten EtOAc-Schichten wurden gewaschen (3x 100 ml 10 %ige HCl, 1x 100 ml H<sub>2</sub>O, 2x 100 ml gesättigtes NaCl, 1x 100 ml H<sub>2</sub>O), mit MgSO<sub>4</sub> getrocknet, mit Darco behandelt, gefiltert und zu einem klebrigen Feststoff eingedampft. Dieser Feststoff wurde mit kaltem Et<sub>2</sub>O pulverisiert, gefiltert und getrocknet (Masse 7,2 g).

Die Rekristallisation aus heißem Nitromethan erbrachte hellgelbe Kristalle, Masse 6,0 g (18 %); Schmelzpunkt 151...152°C; Dünnschichtchromatografie, R<sub>F</sub> - 0,30 (Kieselgel, 9:1, Toluol:HOAc); IR und Elektronenspinresonanz ergaben Strukturstabilität.

Analyt. Berechnung für C<sub>17</sub>H<sub>21</sub>NO<sub>4</sub>S: C, 60,88; H, 6,31; N, 4,18  
Befund: C, 60,93; H, 6,36; N, 4,18

Beispiel VII

N-[2-(Benzoylthioazetyl)]-N-zyklohexylglyzindizylohexylamin-Salz

Einer Lösung von N-Zyklohexylglyzin (15,7 g, 0,10 mol) in 100 ml 1,0 N NaOH wurde tropfenweise Chlorazetylchlorid (8,0 ml, 0,10 mol) gemeinsam mit 100 ml 1,0 N NaOH beigegeben. Sechs Stunden später wurde Kaliumthiobenzoat (17,6 g, 0,10 mol)

rasch zugesetzt; die Mischung wurde über Nacht umgerührt. Achtzehn Stunden später befand sich die Lösung bei einem pH-Wert von 8. Die Lösung wurde mit verdünnter Salzsäure gesäuert und mit Ethylazetat (200 ml) extrahiert. Die organische Schicht wurde mit Wasser (100 ml) gewaschen und getrocknet ( $\text{MgSO}_4$ ).

Der konzentrierte Rückstand wurde mit 20:1 Toluol:Essigsäure chromatografiert (300 g Chromatografie-Qualitätskieselgel, 60-200 Korngröße). Der UV-positive Fleck bei  $R_f = 0,05$  auf der Dünnschichtchromatografie-Kieselgelplatte wurde isoliert, nachdem zunächst drei Verunreinigungen herausgelöst worden waren. Das gesammelte Produkt von  $R_f = 0,05$  wurde in Ether aufgelöst, das Zusetzen von Dizylohexylamin erbrachte den gewünschten Feststoff; Schmelzpunkt  $186..188^\circ\text{C}$  (8,2 g, 16 % Ertrag).

Analyt. Berechnung für  $\text{C}_{17}\text{H}_{21}\text{NO}_4\text{S}\cdot\text{C}_{12}\text{H}_{23}\text{N}$ : C, 67,41; H, 8,58;  
N, 5,42  
Befund : C, 67,40; H, 8,64;  
N, 5,28

### Beispiel VIII

#### N-[3-(Azetylthio)-2-methyl-1-oxopropyl]-N-zyklohexylglyzindizylohexylamin-Salz

N-Zyklohexylglyzin (12 g, 0,076 m) wurde in Pyridin (150 ml) suspendiert. Dieses Gemisch wurde mit Hilfe eines Eisbades auf  $15^\circ\text{C}$  gekühlt. (+)-3-Azetylthio-2-merkaptopropanoylchlorid (13,8 g; 0,076 m) wurde tropfenweise in einer Rate hinzugegeben, bei der die Temperatur bei  $15^\circ\text{C}$  gehalten wurde. Das Gemisch wurde über Nacht bei Zimmertemperatur umgerührt.

Das Reaktionsgemisch wurde in 500 ml Eiswasser eingerührt und mit konzentrierter HCl unter einer Schicht aus 100 ml Ether

~~-17-~~  
~~-18-~~

230198 8

auf pH 2 gesäu ert. Die Schichten wurden separiert, die wäß-  
rige Schicht wurde mit 2x 200 ml Ether extrahiert. Die Ether-  
schichten wurden zusammengefügt, gewaschen (1x 150 ml H<sub>2</sub>O, 3x  
100 ml 10 %ige HCl, 1x 100 ml H<sub>2</sub>O, 2x 150 ml gesättigtes NaCl,  
1x 100 ml H<sub>2</sub>O), getrocknet, (MgSO<sub>4</sub>), mit Darco behandelt, ge-  
filtert und zu einem Öl eingedampft.

Das Dizyklohexylamin-Salz wurde durch Auflösen des Öles (20 g,  
0,06 m) in 300 ml Ether, Kühlen der Lösung in einem Eisbad und  
tropfenweises Zusetzen von Dizyklohexylamin (13 ml, 0,06 m)  
erzeugt (pH 8). Es bildete sich ein Feststoff; dieser wurde  
gefiltert, mit Azetonitril rekristallisiert, mit Ether ge-  
spült und getrocknet; Masse 7,5 g (20 %); Schmelzpunkt 134...  
135°C; Dünnschichtchromatografie: R<sub>F</sub> = 0,38 (Kieselgel, 10 %  
HOAc/Toluen); IR und Elektronenspinresonanz sind struktursta-  
bil.

Analyt. Berechnung für C<sub>14</sub>H<sub>23</sub>NO<sub>4</sub>S.C<sub>12</sub>H<sub>22</sub>N: C, 64,69; H, 9,61;  
N, 5,8  
Befund : C, 64,39; H, 9,71;  
N, 5,6

#### Beispiel IX

#### N-[2-(Benzoylthio)azetyl]-N-zyklohexylglyzin

Die Verbindung aus Beispiel VII (6,0 g, 0,012 mol) wurde in  
einem aus 5 %igem Kaliumhydrogensulfat (100 ml) und Ethylaze-  
tat (100 ml) bestehenden Gemisch über 0,5 h hinweg umgerührt.  
Die separierte wäßrige Schicht wurde mit Ethylazetat (100 ml)  
extrahiert. Die kombinierten organischen Schichten wurden mit  
Wasser (100 ml) gewaschen und getrocknet (MgSO<sub>4</sub>).

Eindampfung unter reduziertem Druck erbrachte ein klares Öl,  
welches bei Behandlung mit Hexan (200 ml) kristallisierte.  
Der Feststoff wurde aus Toluol rekristallisiert und ergab  
2,6 g (65 % Ertrag); Schmelzpunkt bei 115...117°C.

-18-

-14-

230198 8

Analyt. Berechnung für  $C_{17}H_{21}NO_4S$ : C, 60,88; H, 6,31; N, 4,18  
Befund: C, 60,86; H, 6,25; N, 4,11

### Beispiel X

#### N-[3-(Benzoylthio)-1-oxopropyl]-N-zykloheptylglyzin

Natriumhydroxid (20,0 g, 0,5 mol) wurde in Methanol (400 ml) aufgelöst. Glyzin (37,5 g, 0,5 mol) und Zykloheptanon (56,0 g, 0,5 mol) wurden zugesetzt, und die Lösung wurde 1,0 h lang umgerührt. Die Lösung wurde auf einem Parr-Apparat mit 15,0 g 5 %igem Palladium auf Holzkohle (50 %  $H_2O$ ) bei einem Initialdruck von 27 psi reduziert. Nach 2,0 h wurde die theoretische Wasserstoffmenge weggenommen. Das Gemisch wurde gefiltert, zu einem schlammigen Material konzentriert, sodann in Wasser (200 ml) aufgelöst und mit konzentrierter HCl sowie 1 N NaOH-Lösung auf einen pH-Wert von 6,0 gebracht. Nach dem Eindampfen verblieb ein schleimiges Material, welches in 2-Propanol (400 ml) verrührt wurde. Filtration und nachfolgendes Lufttrocknen erbrachte 54,0 g (63 %) rohes N-Zykloheptylglyzin.

Wasser (100 ml) und 1,0 N NaOH (100 ml) wurden 17,1 g (0,10 mol) der Aminosäure zugesetzt. Die Lösung wurde auf  $10^{\circ}C$  gekühlt, Methylenchlorid (200 ml) wurde beigegeben, unter Umrühren wurde die Temperatur bei  $5...10^{\circ}C$  gehalten, während 3-(Benzoylthio)propanoylchlorid (0,080 mol, 18,2 g) rasch zugesetzt wurden. Um die Lösung bei einem pH-Wert von  $7...8,5$  zu halten, wurde nach Bedarf 1,0 N NaOH tropfenweise hinzugefügt; darüber hinaus wurden über 1,0 h hinweg 80 ml der Grundlösung beigegeben. Das Umrühren wurde über 20 h hinweg fortgesetzt. Die Lösungen wurden separiert. Die wäßrige Phase (pH = 7) wurde verworfen, die feuchte organische Schicht wurde aufbewahrt. Die organische Lösung wurde mit 1,0 N HCl (200 ml) behandelt, separiert, mit Wasser (100 ml) gewaschen und getrocknet ( $MgSO_4$ ). Eindampfung unter reduziertem Druck erbrachte einen öligen Rückstand.

Das Öl wurde in Ethylazetat (100 ml) aufgelöst; Dizyklohexylamin wurde tropfenweise hinzugegeben, bis feuchtes Lackmuspapier eine hellgrüne Farbe zeigte. Langsam bildete sich ein hellgelber Feststoff, dieser wurde gesammelt und durch Nitromethan rekristallisiert.

Der rekristallisierte Feststoff wurde mit Ethylazetat (100 ml) und 5 %igem  $\text{KHSO}_4$  eine Stunde lang verrührt. Die separierte organische Schicht wurde mit Wasser (100 ml) gewaschen, getrocknet ( $\text{MgSO}_4$ ) und unter vermindertem Druck zu einem Feststoff eingedampft. Dieser Feststoff wurde in Ether (50 ml) verrührt, gesammelt und ergab 2,1 g Folgeprodukt (7,2 %, 4,5 % gesamt); Schmelzpunkt  $148\text{...}149^\circ\text{C}$ . Eine Probe wurde durch Azetonitril zu einem Schmelzpunkt von  $149\text{...}151^\circ\text{C}$  rekristallisiert.

Analyt. Berechnung für  $\text{C}_{19}\text{H}_{25}\text{NO}_4\text{S}$ : C, 62,44; H, 7,45; N, 3,83  
Befund: C, 62,79; H, 6,93; N, 3,85

#### Beispiel XI

#### N-Zykloentyl-N-(3-merkpto-1-oxopropyl)glyzin

Die Verbindung aus Beispiel VI (2 g, 0,006 m) wurde in konzentriertem Ammoniumhydroxid aufgelöst. Diese Lösung wurde 4 h lang bei Umgebungstemperatur verrührt. Der resultierende Feststoff wurde mittels Filtration entfernt, das Filtrat wurde mit Wasser verdünnt. Diese Lösung wurde mit 3x 50 ml EtOAc gewaschen. Dann wurde die wäßrige Schicht mit konzentrierter HCl auf  $\text{pH} = 2$  gesäuert. Die wäßrige Lösung wurde mit 3x 50 ml EtOAc extrahiert. Die zusammengelegten Extrakte wurden gewaschen (2x 50 ml  $\text{H}_2\text{O}$ ), getrocknet ( $\text{MgSO}_4$ ), mit Darco behandelt und zu einem Öl eingedampft. Nach der Pulverisierung mit Hexanen wurde der Feststoff gefiltert (1,0 g, 72 %); Schmelzpunkt  $105\text{...}107^\circ\text{C}$ ; Dünnschichtchromatografie:  $R_f = 0,5$  (Kieselgel; 25 % HOAc/Toluen); IR und Elektronenspinresonanz sind struk-

turbeständig.

Analyt. Berechnung für  $C_{10}H_{17}NO_3S$ : C, 51,92; H, 7,41; N, 6,06  
Befund: C, 52,08; H, 7,49; N, 6,03

Beispiel XII

N-Zyklohexyl-N-[3-merkapto-2-methyl-1-oxopropyl]glyzin

N- 3-Azetylthio-2-methyl-1-oxopropyl -N-zyklohexylglyzin (1,5 g, 0,005 m) wurde in 2,6 ml (0,04 m) konzentriertem Ammoniumhydroxid aufgelöst. Diese Lösung wurde über 4 h bei Umgebungstemperatur verrührt. Die Lösung wurde mit 50 ml Wasser verdünnt und mit 3x 50 ml EtOAc gewaschen; die wässrige Schicht wurde mit konzentrierter HCl auf pH = 2 gesäuert. Diese Schicht wurde mit 3x 50 ml EtOAc extrahiert. Die Extrakte wurden zusammengelegt, mit 2x 50 ml  $H_2O$  gewaschen, getrocknet ( $MgSO_4$ ) und zu einem Öl eingedampft.

Nach der Kristallisierung mit Hexanen wurde der Feststoff gefiltert (0,6 g, 46 %); Schmelzpunkt 83...86°C; Dünnschichtchromatografie:  $R_f$  = 0,63 (75% Toluol/HOAc); IR und Elektronenspinresonanz zeigen Strukturbeständigkeit.

Analyt. Berechnung für  $C_{12}H_{21}NO_3S$ : C, 55,57; H, 8,16; N, 5,40  
Befund: C, 55,48; H, 8,01; N, 5,27

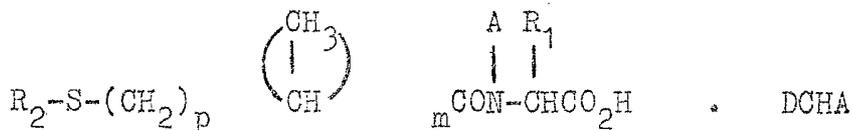
18.12.1981

AP C 07 c/230 198/8

58 937 11

Erfindungsanspruch

1. Verfahren zur Herstellung einer Verbindung der Formel:



worin

R<sub>1</sub> Wasserstoff oder ein niederes Alkyl ist;

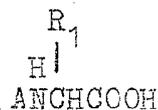
R<sub>2</sub> Wasserstoff, Azetyl oder Benzoyl ist;

A Zyclopentyl, Zyclohexyl oder Zykloheptil ist;

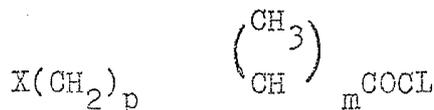
m 0 oder 1 ist;

p 1 oder 2 ist und DCHA Dizyclohexylamin oder Null ist, gekennzeichnet dadurch, daß man

a) eine Verbindung der Formel:



azyliert, worin A und R<sub>1</sub> die oben genannte Bedeutung haben, mit einem azylierenden Mittel der Formel:



worin p und m die oben genannte Bedeutung haben und x aus der Gruppe, bestehend aus benzoylthio, azetylthio und Brom, ausgewählt wird, wodurch das Ersetzen von Benzoylthio durch Reaktion mit Kaliumthiobenzoat ermöglicht wird;

18.12.1981

AP C 07. c/230 198/8

58 937 11

- b) wahlweise Behandlung mit Dizyclohexylamin und
- c) Hydrolyse der Benzoyl- oder Azetylkomponente.
2. Verfahren gemäß Punkt 1, gekennzeichnet dadurch, daß die Verbindung N-( $\beta$ -Benzoylthio)-1-oxopropyl]zyklohexylglyzin hergestellt wird.
  3. Verfahren gemäß Punkt 1, gekennzeichnet dadurch, daß die Verbindung N-Zyklohexyl-N(3-merkapto-1-oxopropyl)-glyzin hergestellt wird.
  4. Verfahren gemäß Punkt 1, gekennzeichnet dadurch, daß die Verbindung (S)-(-)-N-( $\beta$ -Azetylthio)-1-oxopropyl]zyklohexylalanin hergestellt wird.
  5. Verfahren gemäß Punkt 1, gekennzeichnet dadurch, daß die Verbindung (S)-(-)-N-( $\beta$ -Azetylthio)-1-oxopropyl]zyklopentylalanin hergestellt wird.
  6. Verfahren gemäß Punkt 1, gekennzeichnet dadurch, daß die Verbindung N-3-(Azetylthio)-1-oxopropyl-N-zykloheptylalanin hergestellt wird.
  7. Verfahren gemäß Punkt 1, gekennzeichnet dadurch, daß die Verbindung N-( $\beta$ -Benzoylthio)-1-oxopropyl]zyklopentylglyzin hergestellt wird.
  8. Verfahren gemäß Punkt 1, gekennzeichnet dadurch, daß N-( $\beta$ -(Benzoylthio)-1-azetyl]zyklohexylglyzin-Dizyclohexylamin-Salz hergestellt wird.

18.12.1981

AP C 07.c/230 198/8

58 937 11

9. Verfahren gemäß Punkt 1, gekennzeichnet dadurch, daß N-[3-Azetylthio)-2-methyl-1-oxopropyl]-N-zyklohexylglyzin-Dizyklohexylamin-Salz hergestellt wird.
10. Verfahren gemäß Punkt 1, gekennzeichnet dadurch, daß die Verbindung N-[2-(Benzoylthio)azetyl]-N-zyklohexylglyzin hergestellt wird.
11. Verfahren gemäß Punkt 1, gekennzeichnet dadurch, daß die Verbindung N-[3-Benzoylthio)-1-Oxopropyl]-N-zykloheptylglyzin hergestellt wird.
12. Verfahren gemäß Punkt 1, gekennzeichnet dadurch, daß die Verbindung N-Zyklopentyl-N-(3-merkaptol-1-oxopropyl)-glyzin hergestellt wird.
13. Verfahren gemäß Punkt 1, gekennzeichnet dadurch, daß die Verbindung N-Zyklohexyl-N-(3-merkaptol-2-methyl-1-oxopropyl)-glyzin hergestellt wird.