

(19) Országkód

HU



**MAGYAR
KÖZTÁRSASÁG
ORSZÁGOS
TALÁLMAI
HIVATAL**

SZABADALMI LEÍRÁS

(11) Lajstromszám

199785 B

(22) Bejelentés napja: 1988. 04. 08. (21) (1781/88)

Bejelentés elsőbbsége: (33) 1987. 04. 11.

(32) DE

(31) P 37 12 364.5

(41) (42) Közzététel napja: 1988. 11. 28.

(45) Megadás meghirdetésének dátuma
a Szabadalmi Közlönyben: 1990. 03. 28.

(51)

NSZO₅

CO7D 207/08

CO7D 401/06

CO7D 413/06

A61K 31/40

(72) Feltaláló(k):

Dr HENNING Rainer Hattersheim/Main

Dr HOCK Franz Dieburg

Dr URBACH Hansjörg DE Kronberg/Taunus

(71) Szabadalmaz:

Hoechst AG DE Frankfurt/Main

(74) Képviselő:

Danubia Szabadalmi Iroda Budapest

(54) ELJÁRÁS PIRROLIDIN-2-(1,3-DIKARBONIL)-SZÁRMAZÉKOK ÉS EZEKET HATÓANYAGKÉNT TARTALMAZÓ GYÓGYSZERKÉSZÍTMÉNYEK ELŐÁLLÍTÁSÁRA

(57) KIVONAT

A találmány szerinti eljárással előállított pirrolidin-2-(1,3-dikarbonil)-származékok (I) általános képletében

R¹ jelentése fenilcsoport,

R² jelentése hidrogénatom vagy adott esetben 1-4 szénatomos alkoxycsoporttal szubsztituált fenilcsoport,

R³ és R⁴ együtt egy trimetilencsoportot képeznek,

R⁵ jelentése hidrogénatom,

R⁶ jelentése 1-4 szénatomos alkoxycsoport vagy -NR⁷R⁸ általános képletű csoport, ahol

R⁷ jelentése hidrogénatom és

R⁸ jelentése alkilrészében 1-5 szénatomos fenil-alkil- csoport, dialkil-aminorészében egyenként 1-4 szénatomos és alkilrészében 1-5 szénatomos dialkil-amino-alkil-csoport vagy alkilrészében 1-4 szénatomos piridil-alkil-csoport vagy

R⁷ és R⁸ a kapcsolódó nitrogénatommal együtt pirrolidinocsoportot, morfolinocsoportot, pikolilcsoportot, alkilrészében 1-4 szénatomos N-alkil-piperazinocsoportot vagy alkil-részeiben 1-4 szénatomos N-(trialkoxi-fenil)-alkil- piperazinocsoportot képeznek,

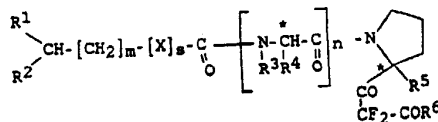
X jelentése oxigénatom,

m értéke 0, 1, 2, 3 vagy 4,

s értéke 0 vagy 1,

n értéke 0 vagy 1.

A vegyületek a prolil-endorpeptidázt gátolják, így gyógyszerkészítmények hatóanyagaként használhatók.



(1)

HU 199785 B

A leírás terjedelme: 12 oldal, 1 ábra

A találmány tárgya eljárás pirrolidin-2-(1,3-dikarbonil)- származékok és ezeket hatóanyagként tartalmazó gyógyszerkészítmények előállítására.

Prolil-endopeptidáz inhibitorokat ismertet például a 172 458, 201 741, 201 742, 296 040 és 238 319 számú európai szabadalmi leírás, valamint a 6 1158-279 számú japán szabadalmi leírás, továbbá a Life Sci. 33, 2149 (1985) publikáció. Ezek egyikében pirrolidin- 2-(1,3-dikarbonil)-származékokat írnak le.

A találmány tárgya közelebbről eljárás az (I) általános képletű pirrolidin-2-(1,3-dikarbonil)-származékok előállítására, a képletben

R¹ jelentése fenilcsoport,

R² jelentése hidrogénatom vagy adott esetben 1-4 szénatomos alkoxicsoporthal szubsztituált fenilcsoport,

R³ és R⁴ együtt egy trimetilén-csoportot képeznek,

R⁵ jelentése hidrogénatom,

R⁶ jelentése 1-4 szénatomos alkoxicsoporthal vagy - NR⁷R⁸ általános képletű csoport, ahol

R⁷ jelentése hidrogénatom és

R⁸ jelentése alkilrészében 1-5 szénatomos fenil-alkil- csoport, dialkil-aminorészében egyenként 1-4 szénatomos és alkilrészében 1-5 szénatomos dialkil-aminó-alkil-csoport vagy alkilrészében 1-4 szénatomos piridil-alkil-csoport vagy

R⁷ és R⁸ a kapcsolódó nitrogénatommal együtt pirrolidinocsoportot, morfolinocsoportot, pikolilcsoportot, alkilrészében 1-4 szénatomos N-alkil-piperazinocsoportot vagy alkilrészében 1-4 szénatomos N-(trialkoxi-fenil)-alkil- piperazinocsoportot képeznek,

X jelentése oxigénatom,

m értéke 0, 1, 2, 3 vagy 4,

s értéke 0 vagy 1,

n értéke 0 vagy 1.

Az alkilcsoport lehet elágazó vagy egyenes szénláncú, példaként említhető metil-, etil-, propil-, izopropil-, butil-, izobutil-, szek-butil-, terc-butil- és pentilcsoport.

Ugyanez érvényes az ezekből levezethető csoportokra, így az alkoxi- és dialkil-amino-csoportra.

Az (I) általános képletű vegyületek aszimmetrikus szénatomokat tartalmaznak. A találmány oltalmi körébe tartoznak mindazok a vegyületek, amelyek az egyes aszimmetriacentrumokon (R)-, valamint (S)-konfigurációjúak. Az (I) általános képletű vegyületek tehát optikai izomerek, diasztereomerek, racémátok vagy ezek elegyei formájában fordulhatnak elő. Előnyösek azonban azok az (I) általános képletű vegyületek, amelyekben a csillaggal jelölt szénatomok (S)-konfigurációt mutatnak.

Előnyösek azok az (I) általános képletű vegyületek, amelyek képletében

R¹ jelentése fenilcsoport,

R² jelentése hidrogénatom vagy fenilcsoport, amely adott esetben egy metoxicsoporthal szubsztituálva lehet,

R³ és R⁴ együtt -(CH₂)_p- képletű csoportot képez, ahol p értéke 3,

R⁵ jelentése hidrogénatom,

R⁶ jelentése 1-4 szénatomos alkoxicsoporthal, valamint - NR⁷R⁸ általános képletű csoport, ahol

R⁷ jelentése hidrogénatom és

R⁸ jelentése alkilrészében 1-4 szénatomos fenil-

alkil- csoport, alkilrészében 1-4 szénatomos 2-, 3- vagy 4-piridil- alkil-csoport, dialkil-aminorészében alkilcsoportonként 1-2 szénatomos és alkilrészében 1-4 szénatomos dialkil-amino- alkilcsoport, vagy

5 R⁷ és R⁸ a kapcsolódó nitrogénatommal együtt pirrolidinocsoportot, morfolinocsoportot, pikolilcsoportot, alkilrészében 1-4 szénatomos N-alkil-piperazino-csoportot vagy alkilrészében 1-4 szénatomos N-(trialkoxi-fenil)-alkil- piperazino-csoportot képez-

10 bek,

X jelentése hidrogénatom,

m értéke 0, 1, 2, 3 vagy 4.

n értéke 0 vagy 1,

s értéke 0 vagy 1.

15 Különösen előnyösek azok az (I) általános képletű vegyületek, amelyek képletében

R¹ jelentése fenilcsoport,

R² jelentése hidrogénatom, fenilcsoport, o-, m- vagy p- metoxi-csoport,

20 R³ és R⁴ együtt -(CH₂)₃- csoportot képez,

R⁵ jelentése hidrogénatom,

R⁶ jelentése metoxicsoporthal, etoxicsoporthal, propoxi-csoport, izopropoxicsoporthal, terc-butoxi-csoport, n-butoxi-csoport vagy - NR⁷R⁸ általános képletű csoport, ahol

25 ahol

R⁷ jelentése hidrogénatom,

R⁸ jelentése alkilrészében 1-4 szénatomos fenil-alkil- csoport, 2-, 3- vagy 4-piridil-metil-csoport, 2-, 3- vagy 4- piridil-etil-csoport, alkilrészében 1-4 szénatomos dimetil-amino- alkil-csoport, vagy

30 R⁷ és R⁸ a kapcsolódó nitrogénatommal együtt pirrolidinocsoportot, morfolinocsoportot, N-metil-vagy 1-4 szénatomos N-(trimetoxi-fenil)-alkil-piperazinocsoportot képeznek,

35 X jelentése oxigénatom,

m értéke 0, 1, 2, 3 vagy 4,

n értéke 0 vagy 1,

s értéke 0 vagy 1.

A találmány értelmében az (I) általános képletű vegyületek előállíthatók, ha (IV) általános képletű vegyületet, a képletben

R¹, R², R³, R⁴, R⁵, R⁶, X, m, n és s jelentése a fenti,

oxidálunk és a kapott vegyületet adott esetben 45 fiziológiailag alkalmazható sóvá alakítjuk.

Oxidálószerként előnyösen alkalmazható a mangán-dioxid, nátrium- vagy kálium-dikromát, a Jones-reagens (CrO₃ vizes kénsavban), N-bróm-acetamid, N-bróm-szukcinimid, dimetil- szulfoxid, cérium-ammonium-nitrát, CrO₃ piridinben, terc- butil-kromát,

50 dipiridin-CrO₃, kálium-hipoklorit, vagy jodozo-bezol. Reakcióközegként alkalmazható petroléter, benzol, széntetraklorid, vagy MnO₂ esetében hígított kénsav. Az oxidálást 0°C és a reakcióelegy forráspontja

55 közötti hőmérsékleten végezzük. Előnyösen elvégezhető az oxidálás dimetil-szulfoxiddal különböző adalékanyagok, így például a Houben-Weyl: Methoden der organischen Chemie E kötet 3, 275-281 irodalmi helyen ismertetett adalékanyagok jelenlétében. Különösen előnyös a dimetil-szulfoxidos oxidálás oxalil-

60 klorid jelenlétében (J. Org. Chem., 48, 4155 (1983)). A (IV) általános képletű vegyületek előállíthatók, ha például (II) általános képletű vegyületet, a képletben

65 R¹, R², R³, R⁴, R⁵, X, m, n és s jelentése a fenti,

(III) általános képletű vegyülettel reagáltatunk, a képletben

R⁶ jelentése a fenti,

Y jelentése halogénatom, előnyösen klór-, bróm- vagy jódatom,

inert oldószerben, így éterben, dimetil-formamidban, dietil-formamidban, N-metil-pirrolidonban vagy dimetil-szulfoxidban, előnyösen tetrahydrofuranban adalékanyag, így fém, például lítium, nátrium, kálium, magnézium vagy cink, előnyösen fémcink jelenlétében 0°C és az oldószer forráspontja közötti, előnyösen 0–100°C közötti hőmérsékleten ultrahangos kezeléssel vagy anélkül.

Az R⁶ helyén -NR⁷R⁸ általános képletű csoportot tartalmazó (IV) általános képletű vegyületek előállítható az R⁶ helyén hidroxilcsoportot tartalmazó (IV) általános képletű vegyület és (V) általános képletű vegyület reakciójával, a képletben

R⁷ és R⁸ jelentése a fenti.

Ennek során előnyösen a peptidkémiaiban szokásos amidkapcsolat körülményei között járunk el (Houben-Weyl idézett műve, 15/2. kötet, 1–364, vagy Bodanszky: „Principles and Practice in Peptide Synthesis”, Berlin (1984), valamint 4 331 592 és 4 426 325 számú amerikai egyesült államokbeli szabadalmi leírások), amelynek során az átalakítást szerves oldószerben, így DMF, CH₂Cl₂, DMA jelenlétében és kapcsolási segédanyag, így karbodiimid (például dicitklohexil-karbodiimid), difenil-foszfóril-azid, alkán-foszforsavanhidrid, dialkil-foszfinsavanhidrid jelenlétében vagy N,N-szukcinimidil-karbonát jelenlétében oldószerben, így CH₃CH-ben végezzük. A (IV) általános képletű vegyületek aktív észterre (például 1-hidroxibenzotriazolal), vegyes anhidridre (például klór-hangyasav-észterrel), aziddá vagy karbodiimid-származékká alakíthatók és így aktiválhatók [Schröder, Lübke: The Peptides, 1. kötet, New York (1965), 76–136]. A reakciót előnyösen -20°C és a reakcióelegy forráspontja közötti hőmérsékleten végezzük.

Az R⁶ helyén -NR⁷R⁸ általános képletű csoportot és ennek megadott származékait tartalmazó (IV) általános képletű vegyületek előállíthatók továbbá az R⁶ helyén 1–6 szénatomos alkoxi-fenoxi- vagy 7–13 szénatomos aralkil-oxicsoportot tartalmazó (IV) általános képletű vegyületek és (V) általános képletű vegyület reakciójával megfelelő szerves oldószerben, így rövidszénláncú alkoholban, dimetil-formamidban vagy dimetil-szulfoxidban, előnyösen etanolban 20°C és a reakcióelegy forráspontja közötti, előnyösen 40–80°C közötti hőmérsékleten.

A (II) általános képletű vegyületek az irodalomból ismertek vagy az ismert eljárásokkal analóg módon előállíthatók. A (II) általános képletű vegyületek közé tartozó vegyületek ismertek például a 172 458 és 201 742 számú európai közrebocsátási irat, a 11 83–297 számú japán szabadalmi bejelentés, valamint a Life Sci 33, 2149 (1983).

Az (I) általános képletű vegyületek a prolil-endo-peptidáz (EC 3.4.21.26) gátlóanyagai. Erről az enzmről ismert, hogy a neuropeptideket, így a Substanz P, Neutrotenzin, LHRH, TRH, vazopresszin és angiotenzin II anyagokat lebontja [Life Sci. 33, 2149 (1983)]. Ezek a neuropeptidek jelentős szerepet játszanak a központi idegrendszerrel kapcsolatban. Ha ezek leépítését a prolil-endo-peptidáznak az (I) álta-

lános képletű vegyületek történő gátlásával megakadályozzuk, különböző hatásokat válthatunk ki a központi idegrendszerben, így elsősorban antieméziás, antipszichotikus, anxiolitikus, és antidepresszív hatást.

5 Az (I) általános képletű vegyületek tehát felhasználhatók a központi idegrendszer különböző betegségei kezelésére, elsősorban nootrópikumként és antipszichotikumként meleg vérű állatoknál és embereknél. Az új hatóanyagokat intravénásan, szubkután vagy orálisan adagoljuk önmagukban vagy más, a központi idegrendszert befolyásoló anyagokkal kombinálva.

10 A dózist a kezelt betegség típusa és súlyossága határozza meg, értéke általában 0,0001–10 mg/kg, előnyösen 0,001–1 mg/kg testtömeg naponta. Súlyos esetben a dózis emelhető, mivel toxikus tulajdonságokat eddig nem észleltünk.

15 Az új hatóanyagok megfelelő gyógyszerkészítmények formájában adagolhatók. Orális adagoláshoz a hatóanyagot szokásos adalékanyagokkal, így hordozóanyaggal, stabilizátorral vagy inert higítószerrel keverjük, és a szokásos módon megfelelő adagolási formára, így tablettává, drázsává, kapszulává, vizes, alkoholos vagy olajos szuszpenzióvá vagy vizes, alkoholos vagy olajos oldattá alakítjuk. Inert hordozóanyagként alkalmazható például gumiarábikum, magnézium-karbonát, kálium-foszfát, tejcukor, glükóz vagy keményítő, elsősorban kukoricakeményítő. A készítmény előállításához alkalmazható száraz vagy nedves granulálás. Olajos hordozóanyagként vagy oldószerként alkalmazhatók növényi vagy állati olajok így napraforgóolaj vagy csukamájolaj.

20 Szubkután vagy intravénás adagoláshoz a hatóanyagot vagy fiziológiailag alkalmazható sóját adott esetben oldásközvetítő, emulgeátor vagy más segédanyag felhasználásával oldattá, szuszpenzióvá vagy emulzióvá alakítjuk. Oldószerként alkalmazható például víz, fiziológiás konyhasóoldat vagy alkohol, így etanol, propán-diol vagy glicerin, valamint cukoroldat, így glükóz- vagy mannitoldat, valamint ezek elegyei.

30 A találmány szerinti eljárást közelebbről az alábbi példákkal világítjuk meg anélkül, hogy az oltalmi kör a példákra korlátozódna.

1. példa

45 3-[N-(N-Benzil-oxi-karbonil-S-prolil)-pirrolidin-2S-il]-3-oxo-2,2-difluor-propionsav-metilészter

a) 3-[N-(N-Benzil-oxi-karbonil-S-prolil)-pirrolidin-2S-il]-3-hidrox-2,2-difluor-propionsav-metilészter

50 1,2 g cinkport 3,75 g bróm-difluor-ecetsav-metilészterrel 30 ml tetrahydrofuranban felforraltunk. Ezután 5 g N-benzil-oxi-karbonil-S-prolil-S-prolinált adunk hozzá és 15 percen keresztül forraljuk. Lehűlés után 0,5 n sósav/etilacetát eleggyel feldolgozzuk. A terméket Kieselgélén etil-acetát/ciklohexán 3:1 eleggyel eluálva kromatografáljuk. Így 5,1 g cím szerinti vegyületet kapunk. Olvadáspont: 119–120 °C [α]_D²⁵ = -53,9° (c=0,232, CH₂Cl₂).

60 b) 3-[N-(N-Benzil-oxi-karbonil-S-prolil)-pirrolidin-2S-il]-3-oxo-2,2-difluor-propionsav-metilészter

70 mikroliter oxalil-kloridhoz 10 ml diklór-metánban -78 °C hőmérsékleten 0,12 ml dimetil-szulfoxidot adunk. 2 perc elteltével (0,32 g la) példa szerinti vegyületet adunk hozzá és további 5 perc elteltével 0,78 ml trietil-aminnal elegyítjük. A reakcióelegyet hagyjuk szobahőmérsékletre melegedni, majd 0,1 n

sósavval, vizes 1 mól/l nátrium-hidrogén-karbonát-oldattal és telített vizes konyhasó oldattal mossuk, nátrium-szulfáton szárítjuk és bepároljuk. A terméket Kieselgélén etil- acetát/ciklohexán 3:1 eleggyel eluálva kromatografáljuk. Így 0,17 g cím szerinti vegyületet kapunk olaj formájában

$^1\text{H-NMR}$ (CDCl_3), $\delta=7,4\text{--}7,2$ (m,5H); 5,2–4,7 (m,3H); 4,55–4,3 (m,1H); 3,92–3,88 (2s,3H); 3,95–3,8 (m,1H); 3,7–3,3 (m,4H); 2,3–1,5 (m,7H) ppm.

2. példa

3-[N-(N-Benzil-oxi-karbonil-S-prolil)-pirrolidin-2S-il]-3-oxo- 2,2-difluor-propionsav-N-benzil-amid

a) 3-[N-(N-Benzil-oxi-karbonil-S-prolil)-pirrolidin-2S-il]-3- hidroxi-2,2-difluor-propionsav-N-benzil-amid 0,308 g la) példa szerinti vegyületet 0,3 ml benzil-aminnal 10 ml abszolút etanolban nitrogénatmoszféra alatt 4 órán keresztül visszafolytatás közben forralunk. Bepárlás után Kieselgélén etil- acetát/ciklohexán 3:1 eleggyel eluálva kromatografáljuk. Így 0,25 g cím szerinti vegyületet kapunk, amelynek olvadáspontja 135 °C.

b) 3-[N-(N-Benzil-oxi-karbonil-S-prolil)-pirrolidin-2S-il]-3-oxo- 2,2-difluor-propionsav-N-benzil-amid

0,93 g 2a) példa szerinti vegyületet 0,19 ml oxalil-kloriddal és 0,3 ml dimetil-szulfoxiddal 5 ml diklór-metánban az 1b) példában megadott módon oxidálunk. A terméket Kieselgélén etil- acetát/ciklohexán 3:1 eleggyel eluálva kromatografáljuk. Így 0,331 g cím szerinti vegyületet kapunk olaj formájában.

$^1\text{H-NMR}$ (CDCl_3): $\delta=7,6$ (s,1H); 7,4–7,2 (m,10H); 5,2–4,9 (m,3H); 4,7–4,3 (m,4H); 3,95–3,5 (m,1H); 3,5–3,3 (m,3H); 2,4–1,7 (m,7H) ppm.

3. példa

3-[N-[4-(4-Metoxi-fenil)-butiril]-pirrolidin-2S-il]-3-oxo-2,2- difluor-propionsav-metilészter

a) 3-[N-[4-(4-Metoxi-fenil)-butiril]-pirrolidin-2S-il]-3- hidroxi- 2,2-difluor-propionsav-metilészter

Az 1a) példában megadott módon 5,4 g bróm-difluor-ecetsav- metilészterből és 6 g 4-(4-metoxi-fenil-butiril)-S-prolinából 1,7 g cinkporral, majd Kieselgélén etil-acetát/ciklohexán 2:1 eleggyel eluálva végzett kromatografálással 6,2 g cím szerinti vegyületet kapunk olaj formájában.

$^1\text{H-NMR}$ (CDCl_3): $\delta=7,2\text{--}6,7$ (AB rendszer,4H); 4,7–4,2 (m,1H); 4,0–3,5 (m,1H); 3,9–3,8 (2s,3H); 3,6–3,1 (m,2H); 2,6 (t,2H); 2,4–1,6 (m,8H) ppm.

b) 3-[N-[4-(4-Metoxi-fenil)-butiril]-pirrolidin-2S-il]-3-oxo-2,2- difluor-propionsav-metilészter

Az 1b) példában megadott módon 0,8 g 3a) példa szerinti vegyületből 0,54 g cím szerinti vegyületet kapunk olaj formájában.

$[\alpha]^{23}_D=+55,3^\circ$ (c=0,66) (CH_2Cl_2)

$^1\text{H-NMR}$ (CDCl_3): $\delta=7,2\text{--}6,6$ (AB rendszer,4H); 4,92 (t, 1H); 3,97–3,8 (2s,3H); 3,6–3,3 (m,2H); 2,6 (t,2H); 2,4–1,7 (m,8H) ppm.

A 2a) példában megadott módon 3-[N-[4-(4-metoxi-fenil)- butiril]-pirrolidin-2S-il]-3-hidroxi-2,2-difluor-propionsav- metilészterből és a megfelelő aminből állíthatók elő a következő vegyületek.

4. példa

3-[N-[4-(4-Metoxi-fenil)-butiril]-pirrolidin-2S-il]-3- hidroxi- 2,2-difluor-propionsav-N-benzil-amid

Termékként a két izomer 8,5:1 arányú elegyét kapjuk, amely SiO_2 -n etil-acetát/ciklohexán 1:1 eleggyel eluálva kromatográfián szétválasztható.

1. izomer: olaj $[\alpha]^{23}_D=-34^\circ$ (c=0,3, CH_2Cl_2)

5 $^1\text{H-NMR}$ (CDCl_3): $\delta=7,3$ (s,5H); 7,2–6,6 (AB rendszer,4H); 4,6–4,4 (m,3H); 4,3–3,3 (m,3H); 3,8 (s,3H); 2,63 (t,2H); 2,4–1,8 (m,8H) ppm.

2. izomer: olaj $[\alpha]^{23}_D=-23,4^\circ$ (c=0,124, CH_2Cl_2)

10 $^1\text{H-NMR}$ (CDCl_3): $\delta=7,3$ (s,5H); 7,2–6,6 (AB rendszer,4H); 4,6–4,2 (m,3H); 3,8 (s,3H); 3,6–3,0 (m,3H); 2,63(t,2H); 2,5–1,7 (m,8H) ppm.

5. példa

3-[N-[4-(4-Metoxi-fenil)-butiril]-pirrolidin-2S-il]-3- hidroxi- 2,2-difluor-propionsav-N-(2-fenil-etil)-amid

Termékként a két izomer 7,8:1 arányú elegyét kapjuk, amely SiO_2 -n etil(acetát)ciklohexán 1:1 eleggyel eluálva kromatográfián szétválasztható.

1. izomer: olaj $[\alpha]^{23}_D=-40,9^\circ$ (c=0,2, CH_2Cl_2)

20 $^1\text{H-NMR}$ (CDCl_3): $\delta=7,2$ (s,5H); 7,2–6,7 (AB rendszer,4H); 6,5 (s,1H); 4,6–4,3 (m,1H); 4,2–3,2 (m,5H); 3,8 (s,3H); 3,0–1,6 (m,12H) ppm.

2. izomer: olaj $[\alpha]^{23}_D=-22,6^\circ$ (c=0,112, CH_2Cl_2)

25 $^1\text{H-NMR}$ (CDCl_3): $\delta=7,2$ (s,5H); 7,2–6,7 (AB rendszer, 4H); 4,6–4,0 (m,2H); 3,8 (s,3H); 3,7–3,1 (m,4H); 2,82 (t,2H); 2,6 (t,2H); 2,4–1,7 (m,10H) ppm.

6. példa

3-[N-[4-(4-Metoxi-fenil)-butiril]-pirrolidin-2S-il]-3- hidroxi-2,2- difluor-propionsav-N-(3-dimetil-amino-propil)-amid

A terméket olaj formájában kapjuk.

35 $^1\text{H-NMR}$ (CDCl_3): $\delta=8,4$ (S,1H); 7,2–6,6 (AB rendszer,4H); 4,7–4,4 (m,1H); 4,3–3,6 (m,1H); 3,8 (s,3H); 3,6–3,3 (m,6H); 2,8–1,5 (m,12H); 2,25 (s,6H) ppm.

7. példa

3-[N-[4-(4-Metoxi-fenil)-butiril]-pirrolidin-2S-il]-3- hidroxi- 2,2-difluor-propionsav-pirrolidid

A terméket olaj formájában kapjuk.

45 $^1\text{H-NMR}$ (CDCl_3): $\delta=7,2\text{--}6,6$ (AB rendszer,4H); 5,9 (dd,1H); 4,7–4,4 (m,1H); 4,2–3,2 (m,7H); 3,8 (s,3H); 2,6 (t,2H); 2,4–1,5 (m,12H) ppm.

8. példa

3-[N-[4-(4-Metoxi-fenil)-butiril]-pirrolidin-2S-il]-3- hidroxi- 2,2-difluor-propionsav-N-(2-pikolil)-amid

Termékként a két izomer mintegy 8:1 arányú elegyét kapjuk, amelyből a kevésbé poláros izomer oszlopkromatográfián (futtatószer: etil-acetát) elválasztható, olaj.

$[\alpha]^{22}_D=-35,5^\circ$ (c=0,29, CH_2Cl_2)

55 $^1\text{H-NMR}$ (CDCl_3): $\delta=8,57$ (d,1H); 7,7 (dt,2H); 7,32 (d,1H); 7,3–7,2 (m,1H); 7,1 (d,2H); 6,83 (d,2H); 6,0 (s,1H); 4,8–4,5 (m,3H); 4,05–3,9 (m,1H); 3,8 (s,3H); 3,4 (m,2H); 2,6 (t,2H); 2,4 (t,2H); 2,2–1,85 (m,6H) ppm.

9. példa

3-[N-[4-(4-Metoxi-fenil)-butiril]-pirrolidin-2S-il]-2,2- difluor- 3-oxo-propionsav-N-benzil-amid

0,78 g 4. példa szerinti vegyületet (mindkét izomert) az 1b) példában megadott módon oxidálunk.

Így 0,7 g cím szerinti vegyületet kapunk olaj formájában.

$[\alpha]_D^{25} = +8,3^\circ$ ($c = 0,444$, CH_2Cl_2)

$^1\text{H-NMR}$ (CDCl_3): $\delta = 7,6$ (s, 1H); 7,3 (s, 1H); 7,2–6,7 (AB rendszer, 4H); 4,98 (t, 3H); 4,6–4,3 (AB rendszer, 2H); 3,8 (s, 3H); 3,6–3,3 (m, 2H); 2,55 (t, 3H); 2,4–1,7 (m, 8H) ppm.

10. példa

3-[N-(4-(4-Metoxi-fenil)-butiril)-pirrolidin-2S-il]-2,2-difluor-3-oxo-propionsav-N-(2-fenil-etil)-amid

0,83 g 5. példa szerinti vegyületet (mindkét izomert) az 1b) példában megadott módon oxidálunk. Így 0,78 g cím szerinti vegyületet kapunk olaj formájában.

$[\alpha]_D^{25} = +16,7^\circ$ ($c = 0,86$, CH_2Cl_2)

$^1\text{H-NMR}$ (CDCl_3): $\delta = 7,2$ (s, 5H); 7,2–6,7 (AB rendszer, 4H); 4,9 (t, 1H); 3,8 (s, 3H); 3,6–3,3 (m, 4H); 2,86 (t, 2H); 2,6 (t, 2H); 2,4–1,3 (m, 10H) ppm.

11. példa

3-[N-(4-(4-Metoxi-fenil)-butiril)-pirrolidin-2S-il]-2,2-difluor-3-oxo-propionsav-N-(3-dimetil-amino-propil)-amid

0,66 g 6. példa szerinti vegyületet az 1b) példában megadott módon oxidálunk. Így 0,19 g cím szerinti vegyületet kapunk olaj formájában SiO_2 -n $\text{CH}_2\text{Cl}_2/\text{CH}_3\text{OH}$ 8:2 eluáló eleggyel történő kromatografálás után.

$^1\text{H-NMR}$ (CDCl_3): $\delta = 9,0$ (s, 1H); 7,1 (d, 2H); 6,83 (d, 2H); 5,0 (dd, 1H); 3,8 (s, 3H); 3,6–3,4 (m, 3H); 2,6 (t, 2H); 2,4 (t, 2H); 2,33 (s, 6H); 2,1–1,6 (m, 8H) ppm.

12. példa

3-[N-(4-(4-Metoxi-fenil)-butiril)-pirrolidin-2S-il]-2,2-difluor-3-oxo-propionsav-pirrolidin

0,46 g 7. példa szerinti vegyületet az 1b) példában megadott módon oxidálunk. Így 0,35 g cím szerinti vegyületet kapunk kristályos formában. Olvadáspont $94\text{--}95^\circ\text{C}$.

$[\alpha]_D^{25} = +41,4^\circ$ ($c = 0,294$, CH_2Cl_2).

13. példa

3-[N-(4-(4-Metoxi-fenil)-butiril)-pirrolidin-2S-il]-2,2-difluor-3-oxo-propionsav-N-(2-pikolil)-amid

0,81 g 8. példa szerinti vegyületet az 1b) példában megadott módon oxidálunk. Így 0,8 g cím szerinti vegyületet kapunk olaj formájában.

$[\alpha]_D^{25} = +10^\circ$ ($c = 0,412$, CH_2Cl_2)

$^1\text{H-NMR}$ (CDCl_3): $\delta = 8,55$ (m, 1H); 8,3–8,0 (m, 1H); 7,7–7,1 (m, 2H); 7,2–6,3 (AB rendszer, 4H); 6,05 (t, 1H); 4,65 (AB rendszer, 2H); 3,8 (s, 3H); 3,5 (t, 2H); 2,55 (t, 2H); 2,5–1,6 (m, 8H) ppm.

14. példa

3-[N-(3,3-Difenil-propionil)-pirrolidin-2S-il]-2,2-difluor-3-oxo-propionsav-metilészter

a) 3-[N-(3,3-Difenil-propionil)-pirrolidin-2S-il]-2,2-difluor-3-hidroxi-propionsav-metil-észter

Az 1a) példában leírt módon 6,14 g N-(3,3-difenil-propionil)-S-prolinált 4,95 g metil-bróm-difluor-acetáttal és 1,55 g cinkkel reagáltatunk. A terméket SiO_2 -n etil-acetát/ciklohexán 1:1 eleggyel eluálva oszlop-kromatografáljuk. Így 6,45 g cím szerinti vegyületet kapunk olaj formájában.

$^1\text{H-NMR}$ (CDCl_3): $\delta = 7,2$ (s, 10H); 5,9 (dd, 1H); 4,6 (t, 1H); 4,6–4,2 (m, 1H); 4,1–3,5 (m, 1H); 3,87 (s, 3H); 3,25 (t, 2H); 3,0 (d, 2H); 2,0–1,6 (m, 4H) ppm.

b) 3-[N-(3,3-Difenil-propionil)-pirrolidin-2S-il]-2,2-difluor-3-oxo-propionsav-metilészter

Az 1b) példában leírt módon 0,8 g 14a) példa szerinti vegyületet oxidálunk. Így 0,65 g cím szerinti vegyületet kapunk olaj formájában.

$[\alpha]_D^{25} = +30,5^\circ$ ($c = 0,57$, CH_2Cl_2)

10 $^1\text{H-NMR}$ (CDCl_3): $\delta = 7,2$ (s, 10H); 4,83 (t, 1H); 4,63 (t, 1H); 3,83 (s, 3H); 3,6–3,2 (m, 2H); 3,0 (d, 2H); 2,3–1,8 (m, 6H) ppm.

A 2a) példában leírt módon 0,8 g 3-[N-(3,3-difenil-propionil)-pirrolidin-2S-il]-2,2-difluor-3-hidroxi-propionsav-metilészterből és 4 mólekvalens megfelelő aminból állítjuk elő a következő vegyületeket:

15. példa

3-[N-(3,3-Difenil-propionil)-pirrolidin-2S-il]-2,2-difluor-3-hidroxi-propionsav-N-benzil-amid

0,81 g cím szerinti vegyületet kapunk olaj formájában.

15 $^1\text{H-NMR}$ (CDCl_3): $\delta = 7,3$ (s, 5H); 7,2 (s, 10H); 5,95 (dd, 1H); 4,8–4,3 (m, 3H); 4,3–3,6 (m, 1H); 3,4 (t, 2H); 3,05 (d, 2H); 2,2–1,5 (m, 4H) ppm.

16. példa

3-[N-(3,3-Difenil-propionil)-pirrolidin-2S-il]-2,2-difluor-3-hidroxi-propionsav-N-(2-pikolil)-amid

0,88 g cím szerinti vegyületet kapunk olaj formájában.

30 $^1\text{H-NMR}$ (CDCl_3): $\delta = 8,55$ (d, 1H); 7,73–7,65 (m, 2H); 7,35–7,15 (m, 11H); 4,7–4,3 (m, 4H); 3,9–3,8 (ddd, 1H); 3,3 (t, 2H); 3,15–3,0 (m, 2H); 2,0–1,7 (m, 4H) ppm.

17. példa

3-[N-(3,3-Difenil-propionil)-pirrolidin-2S-il]-2,2-difluor-3-oxo-propionsav-N-benzil-amid

0,81 g 15. példa szerinti vegyületet az 1b) példában megadott módon oxidáljuk. Így 0,67 g cím szerinti vegyületet kapunk olaj formájában.

$[\alpha]_D^{25} = -3,5^\circ$ ($c = 0,36$, CH_2Cl_2)

45 $^1\text{H-NMR}$ (CDCl_3): $\delta = 7,4\text{--}7,0$ (m, 15H); 5,0–4,5 (m, 1H); 4,5 (AB rendszer, 2H); 3,6–3,2 (m, 2H); 3,0 (d, 2H); 2,4–1,6 (m, 4H) ppm.

18. példa

3-[N-(3,3-Difenil-propionil)-pirrolidin-2S-il]-2,2-difluor-3-oxo-propionsav-N-(2-pikolil)-amid

0,88 g 16. példa szerinti vegyületet az 1b) példában megadott módon oxidálunk. Így 0,58 g cím szerinti vegyületet kapunk olaj formájában.

$[\alpha]_D^{25} = -4,4^\circ$ ($c = 9,476$, CH_2Cl_2)

55 $^1\text{H-NMR}$ (CDCl_3): $\delta = 8,55$ (d, 1H); 8,3–7,6 (m, 2H); 7,5–7,0 (m, 11H); 5,1–4,5 (m, 5H); 3,6–3,3 (m, 2H); 3,0 (d, 2H); 2,4–1,7 (m, 4H) ppm.

20. példa

3-[N-[N-(4-Fenil-butiril)-S-prolil]-pirrolidin-2S-il]-3-oxo-2,2-difluor-propionsav-metilészter

a) 3-[N-[N-(4-Fenil-butiril)-S-prolil]-pirrolidin-2S-il]-3-hidroxi-2,2-difluor-propionsav-metilészter

Az 1a) példában leírt módon 2,3 g N-[N-(4-fenil-butiril)-S-prolil]-S-prolinált 0,5 g cinkkel és 1,4

g bróm-difluor-ecetsav- metil-észterrel reagáltatunk. Így SiO₂-n etil- acetát/metanol 40:1 eleggyel végzett kromatografálás után 1,65 g cím szerinti vegyületet kapunk olaj formájában.

¹H-NMR (CDCl₃): δ=7,3–7,15 (m,5H); 5,0–4,2 (m,2H); 4,2–3,9 (m,2H); 3,9 (s,3H); 3,8–2,9 (m,3H); 2,7 (m,2H); 2,4–1,8 (m,12H) ppm.

b) 3-[N-[N-(4-Fenil-butiril)-S-prolil]-pirrolidin-2S-il]-3-oxo- 2,2-difluor-propionsav-metilészter

Az 1b) példában megadott módon 0,55 g 20a) példa szerinti vegyületet oxidálunk. Kromatografálás (SiO₂, etil-acetát) után 0,26 g cím szerinti vegyületet kapunk olaj formájában.

[α]_D²²=21,7° (c=2,2, CH₂Cl₂)

¹H-NMR (CDCl₃): δ=7,3–7,1 (m,5H); 5,1–4,9 (m,1H); 4,75–4,6 (m,1H); 4,0–3,8 (m,1H); 3,9 (s,3H); 3,7–3,3 (m,4H); 2,7 (t,2H); 2,9–1,8 (m,12H) ppm.

21. példa

3-[N-[N-(4-Fenil-butiril)-S-prolil]-pirrolidin-2S-il]-3-oxo-2,2- difluor-propionsav-N-benzil-amid

a) 3-[N-[N-(4-Fenil-butiril)-S-prolil]-pirrolidin-2S-il]-3- hidroxi-2,2-difluor-propionsav-N-benzil-amid

A 2a) példában leírt módon 0,55 g 20a) példa szerinti vegyületet 0,6 ml benzil-aminnal reagáltatunk. Így 0,5 g cím szerinti vegyületet kapunk olaj formájában.

¹H-NMR (CDCl₃): δ=7,4–7,1 (m,10H); 6,9–6,7 (m,1H); 4,9–4,3 (m,4H); 4,1–3,8 (m,2H); 3,7–2,9 (m,3H); 2,7 (t,2H); 2,4–1,8 (m,12H) ppm.

b) 3-[N-[N-(4-Fenil-butiril)-S-prolil]-pirrolidin-2S-il]-3-oxo- 2,2-difluor-propionsav-N-benzil-amid

Az 1b) példában leírt módon 0,5 g 21a) példa szerinti vegyületet oxidálunk. Így 0,38 g cím szerinti

vegyületet kapunk olaj formájában.

[α]_D²²=29,3° (c=3,1 CH₂Cl₂)

¹H-NMR (CDCl₃): δ=7,7 (s,1H); 7,4–7,1 (m,10H); 5,05 (dd,1H); 4,65–4,3 (m,3H); 3,95 (m,1H); 3,6 (m,1H); 3,5–3,3 (m,2H); 2,67 (t,2H); 2,4–1,8 (m,12H); ppm.

22. példa

3-[N-[N-(3,3-Difenil-propionil)-S-prolil]-pirrolidin-2S-il]-3- oxo-2,2-difluor-propionsav-metil-észter

a) 3-[N-[N-(3,3-Difenil-propionil)-S-prolil]-pirrolidin-2S-il]-3- hidroxi-2,2-difluor-propionsav-metilészter

Az 1a) példában leírt módon 17,5 g N-[N-(3,3-difenil-propionil)- S-prolil]-S-prolinált 3,4 g cinkkel és 10,7 g metil-bróm-difluor- acetáttal reagáltatunk. Így 10,5 g cím szerinti vegyületet kapunk olaj formájában.

¹H-NMR (CDCl₃): δ=7,3 (s,10H); 4,8–3,2 (m,7H); 3,9 (s,3H); 3,05 (d,2H); 2,4–1,6 (m,8H) ppm.

b) 3-[N-[N-(3,3-Difenil-propionil)-S-prolil]-pirrolidin-2S-il]- 3-oxo-2,2-difluor-propionsav-metilészter

Az 1b) példában leírt módon 0,6 g 22a) példa szerinti vegyületet oxidálunk. Kromatografálás (SiO₂, etil-acetát/ciklohexán 2:1) után 0,31 g cím szerinti vegyületet kapunk olaj formájában.

[α]_D²⁴=-33,8° (c=0,408, CH₂Cl₂)

¹H-NMR (CDCl₃): δ=7,3–7,1 (m,10H); 5,0 (dd,1H); 4,65 (dd,1H); 4,55 (dd,1H); 3,9 (m,4H); 3,3 (m,1H); 3,1 (m,2H); 3,05 (ddd,2H); 2,3–1,7 (m,8H) ppm.

A 2. példában leírt módon a megfelelő kiindulási anyagból kapjuk a következő (Ia) általános képletű vegyületeket:

Pld.	R ⁷	R ⁸	R ⁹	[α] _D ²⁴ (CH ₂ Cl ₂)	¹ H-NMR (CDCl ₃); δ (ppm)
23.	H	-(CH ₂) ₂ -C ₆ H ₅	C ₆ H ₅ -CH ₂ -O-	-36,7° (c=0,572)	7,38 (s,5H); 5,2 (s,2H); 5,1–3,3 (m,8H); 2,8 (t,2H); 2,4–1,5 (m,8H);
24.	H	-(CH ₂) ₃ -C ₆ H ₅	C ₆ H ₅ -CH ₂ -O-	-33,6° (c=0,438)	7,3 (s,5H); 5,2 (s,2H); 5,1–3,2 (m,8H); 2,6 (t,2H); 2,4–1,6 (m,10H).
25.	H	2-piridil-metil	C ₆ H ₅ -CH ₂ -O-	-44,3° (c=0,56)	8,55 (d,1H); 8,02 (s,1H); 7,6 (q,1H); 7,4–7,15 (m,6H); 5,2–4,3 (m,8H); 3,7–3,3 (m,4H); 2,4–1,7 (m,8H).
26.	H	$\begin{matrix} \text{CH}_3 \\ \\ -\text{CH}-\text{C}_6\text{H}_5 \end{matrix}$	C ₆ H ₅ -CH ₂ -O-	-7,6° (c=0,434)	7,7–7,5 (2d,1H); 7,4–7,2 (m,5H); 5,2–4,9 (m,2H); 5,1–4,35 (m,2H); 3,95–3,55 (m,1H); 3,6–3,3 (m,4H); 2,4–1,7 (m,8H); 1,55 (2d,3H).
27.	H	$\begin{matrix} \text{CH}_3 \\ \\ -\text{CH}-\text{C}_6\text{H}_5 \end{matrix}$	C ₆ H ₅ -CH ₂ -O-	-58° (c=0,512)	7,7 (m,1H); 7,4–7,2 (m,5H);

Pld.	R ⁷	R ⁸	R ⁹	[α] _D ²⁴ (CH ₂ Cl ₂)	¹ H-NMR (CDCl ₃); δ (ppm)
28.	H	-(CH ₂) ₃ -N(CH ₃) ₂	C ₆ H ₅ -CH ₂ -O-	-23° (c=0,392)	5,2-4,9 (m,2H); 5,1-4,6 (m,2H); 3,9-3,3 (m,5H); 2,3-1,8 (m,8H); 1,5 (2d,3H). 9,0 (m,1H); 7,4 (s,5H); 5,2-4,9 (m,2H); 5,1-4,6 (m,2H); 3,8-3,2 (m,6H); 2,6-1,6 (m,12H); 2,25 (s,6H).
29.	H	-(CH ₂) ₂ -C ₆ H ₅	(C ₆ H ₅) ₂ CH-CH ₂ -	-51,1° (c=0,47)	7,4-7,1 (m,10H); 5,0-4,5 (m,2H); 3,9-3,3 (2m,2H); 3,7-3,5 (m,4H); 3,15-2,9 (m,2H); 2,85 (t,2H); 2,3-1,7 (m,10H).
30.	H	2-piridil-metil	(C ₆ H ₅) ₂ CH-CH ₂ -	- 60,2° (c=0,382)	8,5 (d,1H); 8,1 (m,1H); 7,65 (dt,1H); 7,3-7,1 (m,11H); 5,1 (m,1H); 4,7-4,5 (m,5H); 3,9 (m,1H); 3,4-3,2 (m,2H); 3,3 (m,1H); 3,0 (m,2H); 2,3-1,7 (m,8H).
31.	H	-CH ₂ -C ₆ H ₅	(C ₆ H ₅) ₂ CH-CH ₂	-47,7° (c=0,342)	7,7 (m,1H); 7,4-7,1 (m,10H); 5,0 (m,1H); 4,7-4,3 (m,3H); 3,9-2,8 (m,4H); 2,3-1,7 (m,8H).
CH ₃ 32.	H	-CH-C ₆ H ₅	(C ₆ H ₅) ₂ CH-CH ₂ -	-29,2° (c=0,048)	7,7 (d,1H); 7,4-7,1 (m,10H); 5,15 (m,1H); 5,0 (m,1H); 4,65 (m,1H); 4,55 (m,1H); 3,9-2,9 (m,4H); 2,3-1,7 (m,8H).
33.	H	2-piridil-metil	3-(4-metoxi-fenil)-propil	43,2° (c=0,412)	8,5 (d,1H); 8,1 (m,1H); 7,65 (dt,1H); 7,25 (m,2H); 7,1-6,7 (m,4H); 5,1 (m,1H); 4,65 (m,2H); 4,0-3,3 (m,3H); 3,8 (s,3H); 2,6 (t,2H); 2,4-1,8 (m,12H).
34.		-(CH ₂) ₄ -	C ₆ H ₅ -CH ₂ -O-	-11,9° (c=0,404)	7,4-7,2 (m,5H); 5,2-4,9 (m,2H); 4,8-3,8 (m,2H); 3,7-3,3 (m,8H); 2,4-1,7 (m,12H).
35.		-(CH ₂) ₂ -O-(CH ₂) ₂ -	C ₆ H ₅ -CH ₂ -O-	-20,7° (c=0,434)	7,4-7,2 (m,5H); 5,2-4,9 (m,2H); 5,1-4,35 (m,2H); 3,9-3,3 (m,12H); 2,3-1,8 (m,8H).
36.		-(CH ₂) ₂ -N(CH ₃)-(CH ₂) ₂ -	C ₆ H ₅ -CH ₂ -O-	-27,2° (c=0,492)	7,4-7,2 (m,5H); 5,2-4,9 (m,2H); 5,1-4,6 (m,2H); 3,95-3,3 (m,8H); 2,6-1,8 (m,12H); 2,3 (2s,3H);

Pld.	R ⁷	R ⁸	R ⁹	[α] _D ²⁴ (CH ₂ Cl ₂)	¹ H-NMR (CDCl ₃); δ (ppm)
37	(a) képletű csoport	C ₆ H ₅ -CH ₂ -O-		-21,7° (c=0,552)	7,4–7,2 (m,5H); 6,42–6,4 (2s,2H); 5,2–4,9 (m,2H); 5,1–4,6 (m,2H); 3,85, 3,83, 3,80 (3s,9H) 3,9–3,3 (m,8H); 2,8–1,8 (m,16H).

A prolil-endorpeptidáz aktivitás in vitro vizsgálatához prolil-endorpeptidázt állítunk elő, úgy, hogy patkány agyi szövet extraktum 1 tömegegységét 5 térfogatrészt puffer eleggyel (50 mmól/l nátrium-foszfát puffer (pH=7,2), 1 mmól/l EDTA és 2 mmól/l ditiotritol) Ultraturrax homogenizálóban 4°C hőmérsékleten homogenizáljuk. Az extraktumot 60 percen keresztül 100000 g mellett centrifugáljuk és a kapott felülúszót alkalmazzuk az enzimaktivitás meghatározásához.

A prolil-endorpeptidáz aktivitást fluorometriás módszerrel (Kato és munkatársai: J. Neurochem. 35, 527–535 (1980)) mérjük. A mérés alapelve, hogy meghatározzuk a 7-(N-szukcinil-glicil-prolil)-4-metil-kumarin-amid (szukcinil-Gly-Pro-MCA) fluorogén szubsztátum enzimatis hasításával felszabadított 7-amino-4-metil-kumarin (7-AMC) fluoresszenciáját. A vizsgált elegy Össztérfogat 200 µl) 124 µl 50 mmól/l nátrium-foszfát puffert (pH=6,8), 1 mmól/l EDTA-t, 2 mmól/l ditiotritolt tartalmazó elegyből, 6 µl enzim oldatból és 20 µl hatóanyag oldatból áll. Ezt 2 percen keresztül 37° hőmérsékleten inkubáljuk, majd 50 µl 2 mmól/l szubsztátum oldat hozzáadásával indítjuk az enzimreakciót. A reakcióelegyet 10 percen keresztül vízfürdőben rázva 37 °C hőmérsékleten inkubáljuk, végül a reakciót 2 ml 1 mól/l nátrium-acetát pufferrel (pH=4,0) leállítjuk. Azonos körülmények között hatóanyag nélküli, de egyéb szempontból azonos összetételű kontroll mintát készítenek. Az inkubációs elegy háttér fluoresszenciájának meghatározásához az elegyhez acetát puffert adunk a szubsztátum előtt. Az oldatok fluoresszenciáját Perkin Elmer LS-3 fluoresszensz spektrométeren 370 nm gerjesztő hullámhosszal 435 nm-nél mérjük.

A vizsgált hatóanyagok gátló hatását IC₅₀ értékben fejezzük ki, amely a prolil-endorpeptidáz aktivitás 50%-os csökkentéséhez szükséges moláris koncentrációnak felel meg. Az IC₅₀ értékeket grafikusán határoztuk meg a 4–5 különböző koncentrációnál három párhuzamos alapján felvett logaritmikus koncentráció/hatás görbéről.

Hatóanyag példaszáma	IC ₅₀ (nM)
1.	4,5
2.	0,0006
9.	3,8
10.	2,2
11.	12
12.	10
13.	0,5
17.	32
18.	20

Hatóanyag példaszáma	IC ₅₀ (nM)
20.	6
21.	0,9
23.	1,4
24.	0,65
25.	0,4
26.	0,4
27.	0,05
28.	2,6
29.	3,0
30.	2,2
31.	1,1
32.	22
33.	0,9
34.	0,8
35.	5,5
36.	5,5
37.	0,7

SZABADALMI IGÉNYPONTOK

- Eljárás (I) általános képletű pirrolidin-2-(1,3-dikarbonil)- származékok előállítására, a képletben R¹ jelentése fenilcsoport, R² jelentése hidrogénatom vagy adott esetben 1–4 szénatomos alkoxycsoporttal szubsztituált fenilcsoport, R³ és R⁴ együtt egy trimetilén-csoportot képeznek, R⁵ jelentése hidrogénatom, R⁶ jelentése 1–4 szénatomos alkoxycsoport vagy NR⁷R⁸ általános képletű csoport, ahol R⁷ jelentése hidrogénatom és R⁸ jelentése alkilrészében 1–5 szénatomos fenil-alkil- csoport, dialkil-amiorészében egyenként 1–4 szénatomos és alkilrészében 1–5 szénatomos dialkil-amino-alkil-csoport vagy alkilrészében 1–4 szénatomos piridil-alkil-csoport vagy R⁷ és R⁸ a kapcsolódó nitrógénatommal együtt pirrolidinocsoportot, morfolinocsoportot, pikolilcsoportot, alkilrészében 1–4 szénatomos N-alkil-piperazinocsoportot vagy alkil-részeiben 1–4 szénatomos N-(trialkoxi-fenil)-alkil- piperazinocsoportot képeznek, X jelentése oxigénatom, m értéke 0, 1, 2, 3 vagy 4, s értéke 0 vagy 1, n értéke 0 vagy 1, azzal jellemezve, hogy (IV) általános képletű vegyületet, a képletben R¹, R², R³, R⁴, R⁵, R⁶, X, m, n, és s jelentése a tárgyi körben megadott előnyösen dimetil- szulfóxiddal oxidálunk.
- Az 1. igénypont szerinti eljárás olyan (I) általános

- képletű vegyületek előállítására, amelynek képletében
- R^1 jelentése fenilcsoport,
- R^2 jelentése hidrogénatom vagy fenilcsoport, amely adott esetben egy metoxicsoporthal szubsztituálva lehet,
- R^3 és R^4 együtt $-(CH_2)_p$ - képletű csoportot képez, ahol p értéke 3,
- R^5 jelentése hidrogénatom,
- R^6 jelentése 1-4 szénatomos alkoxicsoporthal, valamint
- $-NR^7R^8$ általános képletű csoport, ahol
- R^7 jelentése hidrogénatom és
- R^8 jelentése 1-4 szénatomos fenil-alkil-csoport, 1-4 szénatomos 2-, 3- vagy 4-piridil-alkil-csoport, dialkil-aminorészében alkilcsoportonként 1-2 szénatomos és alkilrészében 1-4 szénatomos dialkil-amino-alkilcsoport, vagy
- R^7 és R^8 a kapcsolódó nitrogénatommal együtt pirrolidinocsoportot, morfolinocsoportot, pikolilcsoportot, alkilrészében 1-4 szénatomos N-alkil-piperazinocsoportot vagy alkilrészében 1-4 szénatomos N-(trialkoxi-fenil)-alkil-piperazinocsoportot képeznek,
- X jelentése oxigénatom,
- m értéke 0, 1, 2, 3 vagy 4,
- n értéke 0 vagy 1,
- s értéke 0 vagy 1,
- azzal jellemezve, hogy a megfelelő kiindulási anyagot oxidáljuk.*
3. Az 1. vagy 2. igénypont szerinti eljárás olyan (I) általános képletű vegyületek előállítására, amelyek képletében
- R^1 jelentése fenilcsoport,
- R^2 jelentése hidrogénatom, fenilcsoport, o-, m- vagy p- metoxicsoporthal,
- R^3 és R^4 együtt $-(CH_2)_3$ - csoportot képez,
- R^5 jelentése hidrogénatom,
- 5 R^6 jelentése metoxicsoporthal, etoxicsoporthal, propoxicsoporthal, izopropoxicsoporthal, terc-butoxicsoporthal, n-butoxicsoporthal vagy $-NR^7R^8$ általános képletű csoport, ahol
- R^7 jelentése hidrogénatom,
- 10 R^8 jelentése alkilrészében 1-4 szénatomos fenil-alkil-csoport, 2-, 3- vagy 4-piridil-metil-csoport, 2-, 3- vagy 4-piridil-etil-csoport, alkilrészében 1-4 szénatomos dimetil-amino-alkil-csoport, vagy
- R^7 és R^8 a kapcsolódó nitrogénatommal együtt
- 15 pirrolidinocsoportot, morfolinocsoportot, N-metil-vagy alkilrészében 1-4 szénatomos N-(trimetoxi-fenil)-alkil-piperazinocsoportot képeznek,
- X jelentése oxigénatom,
- m értéke 0, 1, 2, 3 vagy 4,
- 20 n értéke 0 vagy 1,
- s értéke 0 vagy 1,
- azzal jellemezve, hogy a megfelelő kiindulási anyagot oxidáljuk.*
4. Eljárás gyógyszerkészítmények előállítására, *azzal jellemezve, hogy valamely 1. igénypont szerint előállított (I) általános képletű pirrolidin-2-(1,3-dikarbonil)-származékot a képletben,*
- 25 $R^1, R^2, R^3, R^4, R^5, R^6, X, m, n,$ és s jelentése az 1. igénypontban megadott,
- 30 gyógyszerészeti hordozóanyaggal és gyógyszerészeten alkalmazható segédanyaggal keverjük össze és a keveréket adagolásra alkalmas készítménnyé alakítjuk.

