



(12) **PATENT**

(19) NO

(11) **314547**

(13) B1

(51) Int Cl⁷

C 07 D 403/12, 233/76, 471/04, 491/04,
A 61 K 31/415

Patentstyret

(21) Søknadsnr	19971268	(86) Int. inng. dag og	
(22) Inng. dag	1997.03.19	søknadsnummer	
(24) Løpedag	1997.03.19	(85) Videreføringsdag	
(41) Alm. tilgj.	1997.09.22	(30) Prioritet	1996.03.20, DE, 19610919
(45) Meddelt dato	2003.04.07		1996.07.03, DE, 19626701
			1996.09.02, DE, 19635522

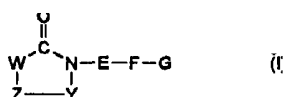
(71) Patenthaver	Hoechst AG, D-65926 Frankfurt am Main, DE
(72) Oppfinner	Genentech Inc, 1 DNA Way, South San Francisco, CA 94080-4990, US
	Volkmar Wehner, D-97657 Sandberg, DE
	Jochen Knolle, D-65830 Krißfeld, DE
	Hans-Ulrich Stütz, D-65929 Frankfurt, DE
	Denis Carniato, F-91460 Marcoussis, FR
	Jean-François Gourvest, F-77410 Claye Souilly, FR
	Tom Gadek, Oakland, CA 94611, US
	Robert McDowell, San Francisco, CA 94114, US
(74) Fullmektig	Zacco Norway AS, 0106 Oslo

(54) Benevnelse **Nye inhibitorer for knokkelresorpsjon og vitronektinreseptorantagonister, anvendelse av forbindelsene samt farmasøytisk preparat**

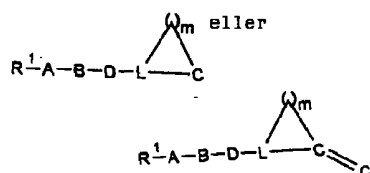
(56) Anførte publikasjoner EP A 530505, EP A 566919, EP A 499079, WO 9318057

(57) Sammendrag

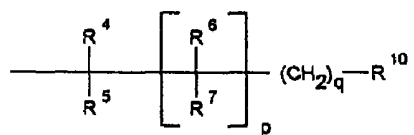
Det blir beskrevet 5-ring-hetero-cykluser med den generelle formel I



hvor W står for R¹-A-B-D-C (R¹6), R¹-A-B-D-C(R¹6)-C,



Y står for C=O, C=S eller -CH₂-; Z står for N(R⁰), O, S eller -CH₂; E står for en direkte binding, (C₁-C₆)-alkandiyl, (C₂-C₆)-alkendiyl, (C₂-C₆)-alkindiyl, fenylen, fenylen-(C₁-C₃)-alkandiyl, (C₁-C₃)-alkandiyl-fenylen; G står for



Oppfinnelsens forbindelser blir anvendt som vitronektinreseptorantagonister og som inhibitorer av knokkelresorpsjon. Det er dessuten beskrevet fremstillingen av forbindelsene samt deres anvendelse som legemiddel.

Foreliggende oppfinnelse angår forbindelser med formel I så vel som deres fysiologisk akseptable salter og farmasøytiske tilberedninger inneholdende slike forbindelser, deres anvendelse for fremstilling av legemidler, spesielt som inhibitorer av knokkelresorpsjon av osteoklaster, som inhibitorer av tumorvekst og tumormetastasing, som betennelseshemmere, for behandling og profylakse av kardiovaskulære sykdommer som arteriosklerose eller restenose, for behandling eller profylakse av nefropatier og retinopatier, som f.eks. diabetisk retinopati, så vel som vitronektinreseptorantagonister for behandling og profylakse av sykdommer som berører vekselvirkningen mellom vitronektinreseptorer og deres ligander ved celle-celle- eller celle-matriks-interaksjonsprosesser.

Den humane knokkel går gjennom en konstant dynamisk ombygningsprosess som omfatter knokkelresorpsjon og knokkeloppbygging. Disse prosesser blir styrt av for dette spesialiserte celletyper. Knokkeloppbyggingen omfatter oppbygging av knokkelmatriksen av osteoblaster, knokkelresorpsjon angår nedbrytingen av knokkelmatriksen av osteoklaster. De fleste knokkelsykdommer skyldes en forstyrret likevekt mellom knokkeldannelsen og knokkelresorpsjonen.

Osteoporose er karakterisert ved et tap av knokkelmatriks. Aktiverte osteoklaster er flerkjernede celler med en diameter på opp til 400 µm, som angriper knokkelmatriksen. Aktiverte osteoklaster legger seg på overflaten av knokkelmatriksen og utskiller proteolytiske enzymer og syrer i den såkalte "sealing zone", området mellom deres cellemembran og knokkelmatriksen. De sure omgivelser og proteasene bevirker nedbryting av knokkelen.

Oppfinnelsens forbindelse med formel I inhiberer knokkelresorpsjonen av osteoklasten. Knokkelsykdommer mot hvilke oppfinnelsens forbindelser kan bli anvendt, er først og fremst osteoporose, hyperkalsemi, osteopeni, f.eks. fremkalt ved metastaser, tannsykdommer, hyperparatyroidisme, periartikulær erosjon ved reumatoid artritt og Pagets sykdom.

Dessuten kan forbindelser med formel I bli benyttet for lindring, unngåelse eller terapi av knokkelsykdommer som blir fremkalt av en glykokortikoid-, steroid- eller kortikosteroid-terapi eller ved en mangel av kjønns hormon(er). Alle disse sykdommer er kjennetegnet ved knokkeltap som skyldes manglende likevekt mellom knokkeloppbyggingen og knokkelnedbryting.

Studier har vist at tilknytningen av osteoklaster til knokkelen blir styrt av integrinreseptorer på celleoverflaten til osteoklaster.

Integrin er en superfamilie av reseptorer til hvilken blant annet fibrinogenreseptoren $\alpha_{IIb}\beta_3$ på blodplatene og vitronektinreseptoren $\alpha_v\beta_3$ hører. Vitronektinreseptoren $\alpha_v\beta_3$ er et membrantilknyttet glykoprotein som blir uttrykt på celleoverflaten i en rekke celler som endotelceller, celler i den glatte karmuskulatur, osteoklaster og tumorceller. Vitronektinreseptoren $\alpha_v\beta_3$ som blir uttrykt på osteoklastmembranen, styrer prosessen ved tilknytning til knokkelen og knokkelresorpsjonen og bidrar således til osteoporose.

$\alpha_v\beta_3$ bindes her til knokkelmatriksproteiner som osteopontin, knokkelprotein og trombospontin, som inneholder tripeptidmotivet Arg-Gly-Asp (eller RGD).

Horton og medarbeider beskriver RGD-peptider og et anti-vitronnektinreseptorantistoff (23C6), som hemmer tann-nedbyggingen av osteoklaster og vandringen av osteoklaster (Horton et al., Exp. Cell. Res. 1991, 195, 368). Sato et al. beskriver i J. Cell Biol. 1990, 111, 1713 ekistatin, et RGD-peptid fra slangegift som potent inhibitor av knokkelresorpsjonen i en vevskultur og som hemmer av osteoklastheftingen til knokkelen. Fischer et al. (Endocrinology, 1993, 132, 1411) kunne vise at i rotte hemmet ekistatin også knokkelresorpsjonen in vivo.

Vitronnektinreseptoren $\alpha_v\beta_3$ fra humane celler i den glatte karmuskulatur fra aorta stimulerer vandringen av disse celler i neointima, som til sist fører til arteriosklerose og res-

tenose etter angioplasti (Brown et al., Cardiovascular Res. 1994, 28, 1815).

Forbindelser med formel I kan dessuten tjene som bærer av virkestoffer for målrettet å transportere virkestoffet til virkestedet (= drug targeting, se f.eks. Targeted Drug Delivery, R.C. Juliano, Handbook of Experimental Pharmacology, vol. 100, utg. Born, G.V.R. et al., Springer Verlag). Ved virkestoffer dreier det seg om slike som kan anvendes for behandling av de ovenfornevnte sykdommer.

¹⁰

Brooks et al. (Cell 1994, 79, 1157) viser at antistoffer mot $\alpha_v\beta_3$ eller $\alpha_v\beta_3$ -antagonister kan bevirke en krymping av tumorer, ved at de induserer apoptosen til blodkarceller under angiogenesen. Chersh et al. (Science 1995, 270, 1500) beskriver anti- $\alpha_v\beta_3$ -antistoffer eller $\alpha_v\beta_3$ -antagonister som inhiberer den bFGF-induserte angiogeneseprosess i rotteøyet, noe som kan være anvendelig terapeutisk ved behandling av retinopatier.

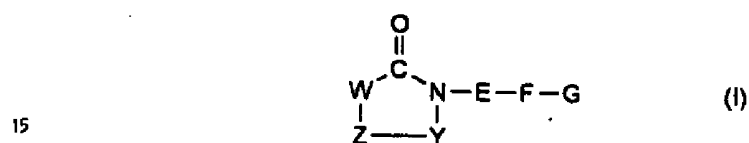
I EP-A 449 079, EP-A 530 505, EP-A 566 919, WO 93/18057 er det beskrevet hydantoinderivater, i WO 95/14008 er det beskrevet substituerte 5-ring-heterocykler, som har trombocyttaggregeringshemmende virkning.

EP-A-530505, EP-A-449079 og WO 93/18057 viser hydantoinderivater med IIbIIIa antagonistaktivitet (fibrinogenaktivitet) som skiller seg fra den foreliggende oppfinnelsen med hensyn til struktur og aktivitet. Ifølge læren av den kjente teknikken foreligger det, ved enden av den N-substituerte gruppen som tilsvarer E-F-G-gruppen av den krevde formel (I), ingen aminosyredel som $-\text{CH}(\text{CO}_2\text{R})-\text{NH}_2$ som i den foreliggende oppfinnelsen anses for å være et hovedtrekk for å oppnå den vitronektin-antagoniserende aktiviteten mot alfa-Vbeta3-reseptoren.

³⁵I patentpublikasjon WO 94/12181 blir det beskrevet substituerte aromatiske eller ikke-aromatiske ringsystemer, i WO 94/08577 substituerte heterocykler som fibrinogenreseptor-antagonister

og hemmere av blodplateaggregeringen. Fra EP-A-518 586 og EP-A-528 587 er det kjent aminoalkyl- eller heterocyklylsubstituerte feny alaninderivater, fra WO 95/32710 arylderivater som hemmer knokkelresorpsjonen av osteoklaster. I WO 95/28426 blir det beskrevet RGD-peptider som inhibitorer av knokkelresorpsjon,
 5 angiogenese og restenose. WO 96/00574 beskriver benzodiazepin, WO 96/00730 beskriver fibrinogenreseptorantagonisttemplater, spesielt benzodiazepin, som er knyttet til en nitrogenbærende 5-ring, som vitronektinreseptorantagonister.

¹⁰ Gjenstand for foreliggende oppfinnelse er forbindelser med den generelle formel I



hvor:

W står for $\text{R}^1\text{-A-B-D-C(R}^{16}\text{)}$, $\text{R}^1\text{-A-B-D-CH=C}$;

Y står for C=O ,

A er $-\text{NH}-$, $-\text{CONH}-$, $-\text{CO}-$, $-\text{NH-NH-CO}-$ eller en binding;

²⁰ B står for en direkte binding eller $(\text{C}_1\text{-C}_4)\text{-alkandiy1}$;

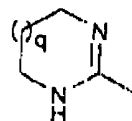
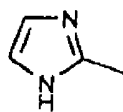
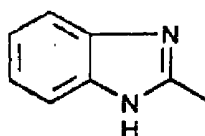
D står for en direkte binding;

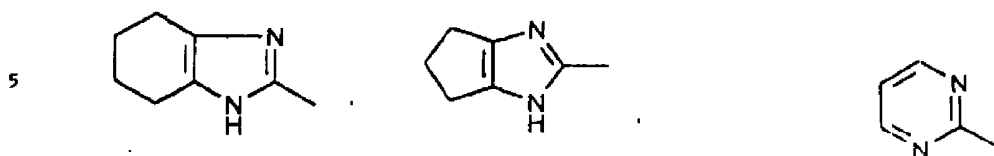
EFG er $-\text{CH}_2\text{-CO-NH-CH}_2\text{-CH-CO}_2\text{H}$,



²⁵ Z = $-\text{C(O)O-CH}_2\text{-Ph}$

³⁰ R^1 står for $\text{H}_2\text{N-C-NH-}$





R¹⁶ står for H,

¹⁰ q står for 0 eller 1,

så vel som deres fysiologisk akseptable salter.

Fysiologisk akseptable salter av forbindelsene med den gene-
¹⁵ relle formel I er spesielt farmasøytisk anvendbare eller ikke
 toksiske salter. Slike salter blir eksempelvis dannet av for-
 bindelser med den generelle formel I, som inneholder sure
 grupper, f.eks. karboksy, med alkali- eller jordalkalimetaller,
 som f.eks. Na, K, Mg og Ca, så vel som med fysiologisk
²⁰ akseptable organiske aminer som f.eks. trietylamin, etanolamin
 eller tris-(2-hydrokseyetyl)-amin.

Forbindelser med den generelle formel I som inneholder basiske
 grupper, f.eks. en aminogruppe, en amidinogruppe eller en
²⁵ guanidinogruppe, danner salter med uorganiske syrer, slik som
 f.eks. saltsyre, svovelsyre eller fosforsyre og med organiske
 karboksyl- og sulfonsyrer, som f.eks. eddiksyre, sitronsyre,
 benzoesyre, maleinsyre, fumarsyre, vinsyre, metansulfonsyre
 eller p-toluensulfonsyre.

³⁰

Oppfinnelsens forbindelser med den generelle formel I kan inne-
 holde optisk aktive karbonatomer som uavhengig av hverandre kan
 være i R- eller S-konfigurasjon, og således foreligge i form av
 rene enantiomerer eller rene diastereomerer eller i form av
³⁵ enantiomerblandinger eller diastereomerblandinger. Så vel rene
 enantiomerer og enantiomerblandinger som også diastereomerer og

diastereomerblandinger, er gjenstand for foreliggende oppfinnelse.

Oppfinnelsens forbindelser med den generelle formel I kan dessuten inneholde bevegelige hydrogenatomer, altså foreligge i forskjellige tautomere former. Også disse tautomerer er gjenstand for foreliggende oppfinnelse.

Anvendte forkortelser:

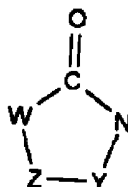
Boc : t-butoksykarbonyl
¹⁰ DCCl : dicykloheksylkarbodiimid
 DMF : dimetylformamid
 HOOBt : 3-hydroksy-4-okso-3,4-dihydro-1.2.3-benzotriazin
 THF : tetrahydrofuran
 HOBt : 1-hydroksy-benzotriazol
¹⁵ TOTU : O-[cyan(etoksykarbonyl)metylenamino]-1,1,3,3-tetrametyluronium-tetrafluorborat
 DIPEA : diisopropyl-etylamin
 RT : romtemperatur
 Z : benzyloksykarbonyl

²⁰

Forbindelsene med formel I lar seg generelt fremstille, eksempelvis i løpet av en konvergent syntese, ved sammenknytning av to eller flere fragmenter som retrosyntetisk lar seg avlede av den generelle formel I. Ved fremstilling av forbindelsene med ²⁵ formel I kan det generelt i løpet av syntesen være nødvendig temporært å blokkere funksjonelle grupper som i de enkelte syntesetrinn kunne ha ført til uønskede reaksjoner eller bireaksjoner, ved en til synteseproblemet tilpasset beskyttelsesgruppestrategi, noe som er kjent av fagmannen. Fragment-³⁰ sammenføyningsmetodene er ikke begrenset til de etterfølgende eksempler, men er generelt anvendbare for syntesen av forbindelsene med formel I.

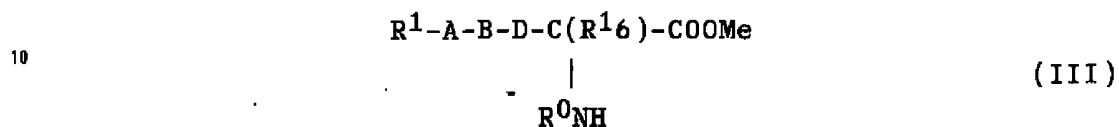
Forbindelser med formel I, hvor

³⁵

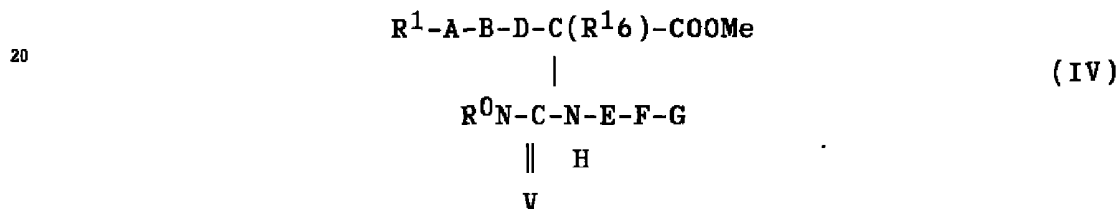


står for en diokso- eller tiokso-okso-substituert imidazolidinring, hvor W kan stå for $R^1-A-B-D-C(R^{16})$, blir eksempelvis fremstilt ved:

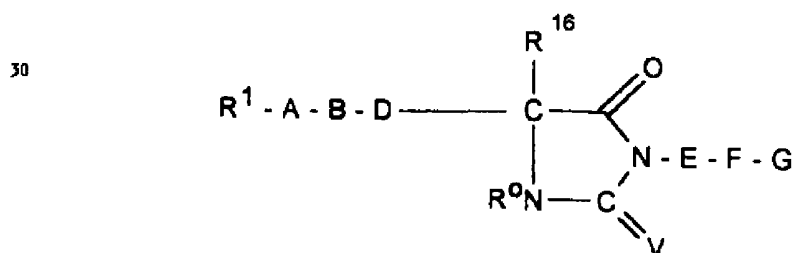
Reaksjon av α -aminosyrer eller N-substituerte α -aminosyrer eller foretrukket deres estere, for eksempel metyl-, etyl-, ter-butyl- eller benzylester, eksempelvis en forbindelse med den generelle formel III



med et isocyanat eller isotiocyanat, eksempelvis ved den generelle formel U - E - F - G hvor U er lik isocyanat, isotiocyanat eller triklormetylkarbonylamino, hvorved man oppnår urinstoff- eller tiourinstoffderivater med den generelle formel IV

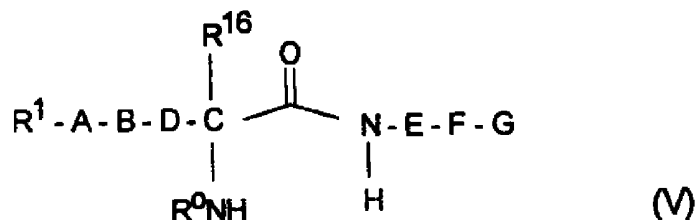


hvor V står for oksygen eller svovel, som ved oppvarming med syre under forsåpning av esterfunksjonen blir cyclisert til forbindelser med formel I av typen



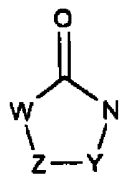
En ytterligere metode for fremstilling av forbindelser med den

generelle formel I hvor Y står for C=O og W står for R¹-A-B-D-C(R¹⁶), er eksempelvis omsetningen av forbindelser med formel V

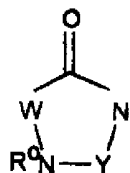


med fosgen, tiofosgen eller tilsvarende ekvivalenter (analogt med S. Goldschmidt og M. Wick, Liebigs Ann. Chem. 575 (1952), 217-231 og C. Tropp, Chem. Ber. 61 (1928), 1431-1439).

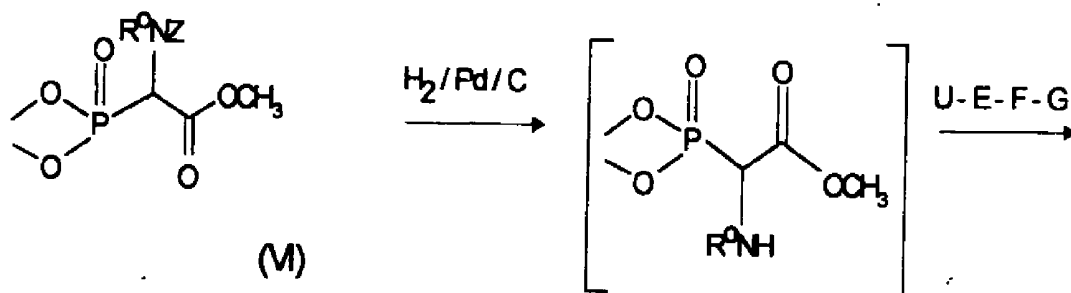
Forbindelser med formel I, hvor



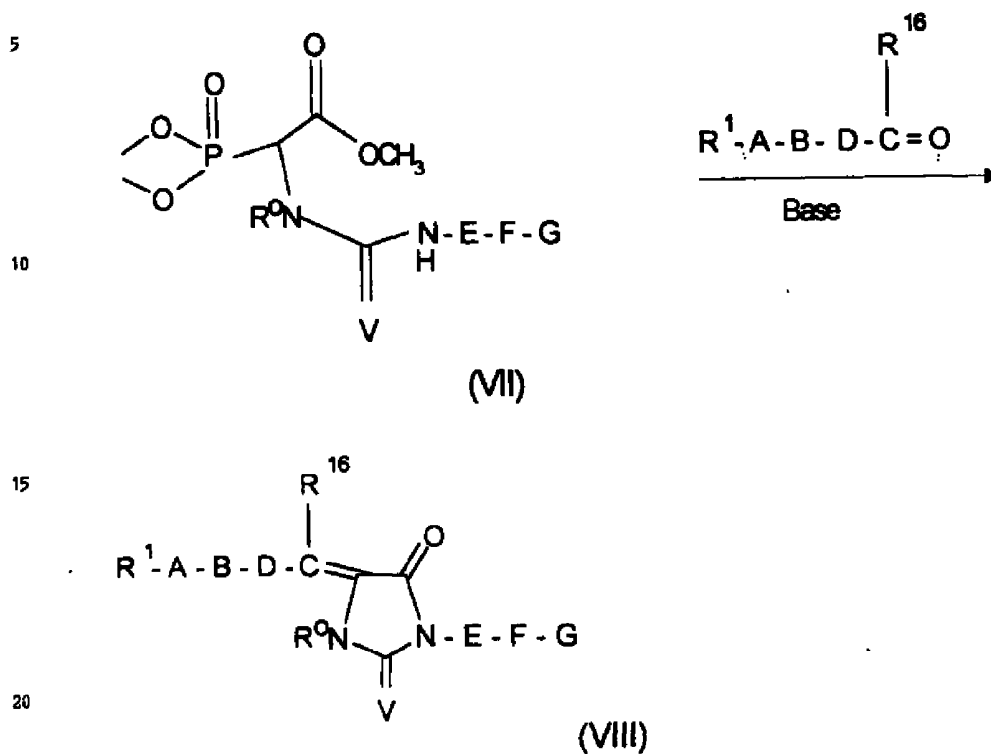
står for en heterocyklus av typen



hvor Y står for C=O eller C=S og W står for R¹-A-B-D-C(R¹⁶)=C, blir eksempelvis fremstilt etter det følgende skjema 1:

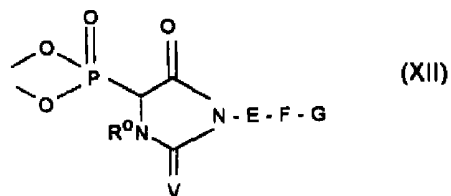


Skjema 1:



U står for -NCO eller -NCS; V står for O.

30 Omsetningen av forbindelser med formel VI til forbindelser med formel VII og av forbindelser med formel VII til forbindelser med formel VIII, kan eksempelvis bli gjennomført med S. Chung-gi et al., Tetrahedron Lett 1987, 28 (33), 3827 eller U. Schmidt et al., Angew. Chemie 1984, 53. En ytterligere mulighet
35 for fremstilling av forbindelser med formel VIII, består i først å cyclisere forbindelser med formel VII under påvirkning av syrer, til forbindelser med formel XII



5

og deretter omsette forbindelser med formel XII i en Horner-Emmons-reaksjon med



¹⁰ $R^1 - A - B - D - C = O$ til forbindelser med formel VIII.

I løpet av en konvergent syntese kan det i alle tilfeller være fordelaktig, alt etter betydningen av de enkelte substituenten R^1 , A, B, D, osv., først å bygge opp det heterocykliske ring-system som kun bærer en del av substituentene, og deretter innføre de resterende substituenten, eksempelvis over en fragmenttilkopling. Som eksempler kan her syntesen i eksempel 1 nevnes:

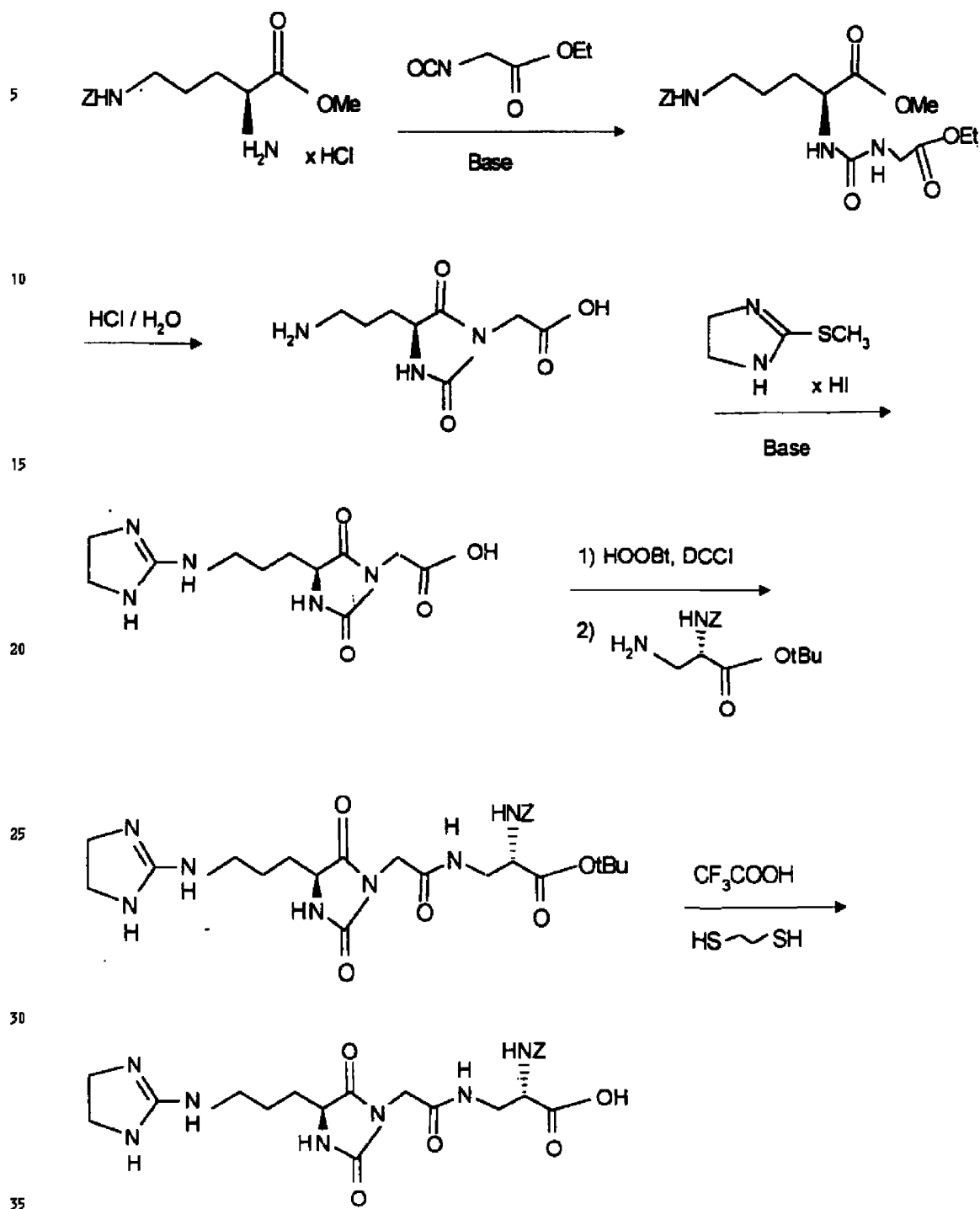
20

25

30

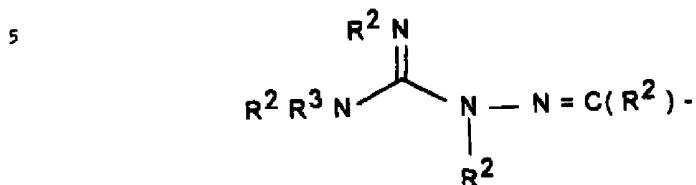
35

Skjema 4:

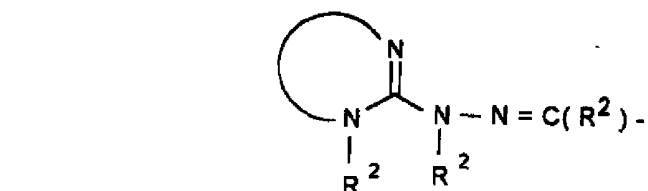


Dette generelle prinsipp er imidlertid ikke begrenset til dette ene eksempel, men er generelt anvendbart.

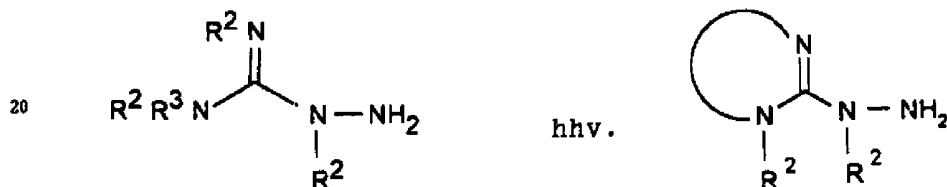
Forbindelser med formel I; hvor R¹-A står for



eller cyklisk guanylhyaazon av typen



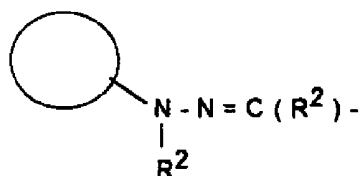
blir eksempelvis fremstilt ved kondensering av



med ketoner eller aldehyder av typen O=C(R²)- eller tilsvarende
 25 acetaler eller ketaler ifølge kjent fremgangsmåte, eksempelvis
 analogt med N. Desideri et al., Arch. Pharm. 325 (1992) 773-777
 eller A. Alves et al., Eur. J. Med. Chem. Chim. Ther. 21 (1986)
 297-304.

Guanylhyaazonet ovenfor kan eventuelt dannes som E/Z-isomer-
 30 blanding som kan bli skilt ifølge kjente kromatografifremgangs-
 måter.

Forbindelser med formel I, hvor R¹-A står for R²-C(=NR²)NR²-
 N=C(R²)- eller et system inneholdende en mono- eller poly-
 35 cyklus, av typen



kan bli fremstilt analogt.

Fremgangsmåter kjent fra litteraturen er for eksempel beskrevet
 5 i J. March, Advanced Organic Chemistry, tredje utgave (John Wiley & Sons, 1985).

For fremstilling av forbindelsene med formel I ifølge opp-
 finnelsen vises det videre til fremgangsmåtene som er
 10 illustrert i eksemplene.

Forbindelsene med den generelle formel I og deres fysiologisk
 akseptable salter kan gis til dyr, fortrinnsvis pattedyr og
 spesielt på mennesker, som legemiddel alene, i blanding med
 15 hverandre eller i form av farmasøytiske tilberedninger,
 tilpasset for en enteral eller parenteral anvendelse, og inne-
 holder som den aktive bestanddel en virksom dose av minst en
 forbindelse med den generelle formel I eller et salt derav, ved
 siden av vanlige farmasøytisk anvendbare bærer- og tilsetnings-
 20 stoffer. Tilberedningen inneholder normalt omkring 0,5 til 90
 vekt% av den terapeutisk virksomme forbindelse.

Legemiddelet kan tilføyes oralt, for eksempel i form av piller,
 tabletter, lakktabletter, drasjeer, granulater, hard- og
 25 mykgelatinkapsler, oppløsninger, siruper, emulsjoner, suspen-
 sjoner eller aerosolblandinger. Avleveringen kan også skje
 rektalt, for eksempel i form av stikkpiller eller parenteralt,
 f.eks. i form av injeksjons- eller infusjonsoppløsninger,
 mikrokapsler eller staver, eller perkutant, f.eks. i form av
 30 salver eller tinkturer, eller nasalt, f.eks. i form av nese-
 sprayer.

Fremstillingen av de farmasøytiske preparater skjer på i og for
 seg kjent måte, hvor farmasøytisk inerte, uorganiske eller
 35 organiske bærestoffer blir anvendt. For fremstillingen av
 piller, tabletter, drasjeer og harde gelatinkapsler kan man for
 eksempel anvende laktose, maisstivelse eller derivater derav,

talkum, stearinsyre eller deres salter osv. Bærestoffer for myke gelatinkapsler og stikkpiller er for eksempel fett, vokser, halvfaste og flytende polyoler, naturlige og herdede oljer osv. Egnet som bærestoff for fremstilling av oppløsninger og siruper er for eksempel vann, sakkarose, invertsukker, glukose, polyoler osv. Egnede som bærestoffer for fremstilling av injeksjonsoppløsninger er vann, alkohol, glyserin, polyol, planteoljer osv. Egnede som bærestoffer for mikrokapsler, implantater eller staver, er blandede polymerisater av glykolsyre og melkesyre.

De farmasøytiske preparater kan ved siden av virke- og bærestoffene inneholde ytterligere tilsetningsstoffer som f.eks. fyllstoffer, tilsetnings-, spreng-, binde-, glide-, fuktings-, stabiliserings-, emulgerings-, søtnings-, farge-, smaks- eller aromatiserings-, fortyknings-, fortynningsmidler, bufferstoffer, foruten oppløsningsmidler eller oppløsningsformidlere eller midler for oppnåelse av en depoteffekt, så vel som salter for forandring av det osmotiske trykk, overtrekksmidler eller antioksidanter. De kan også inneholde to eller flere forbindelser med formel I eller deres farmasøytisk akseptable salter; videre kan de ved siden av minst en forbindelse med formel I også inneholde ett eller flere andre terapeutisk virksomme stoffer.

Dosen kan varieres innen vide grenser og må i hvert tilfelle tilpasses de individuelle forhold.

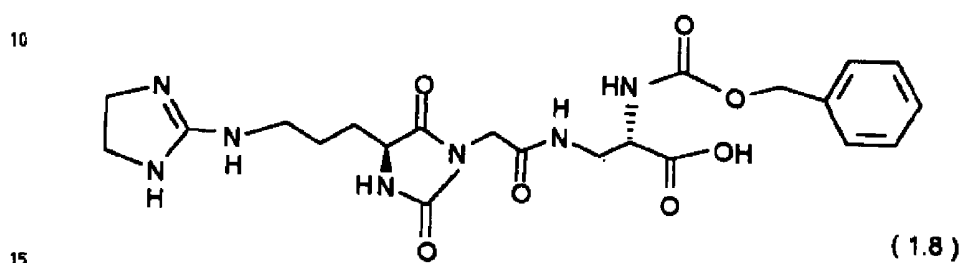
Ved oral avlevering kan dagsdosen ligge mellom 0,01 til 50 mg/kg, fortrinnsvis 0,1-5 mg/kg, fortrinnsvis 0,3-0,5 mg/kg kroppsvekt for oppnåelse av virksomme resultater, ved intravenøs applikasjon er dagsdosen generelt omkring 0,01 til 100 mg/kg, fortrinnsvis 0,05-10 mg/kg kroppsvekt. Dagsdosen kan, spesielt ved tilførsel av større mengder, bli oppdelt i flere, f.eks. to, tre eller fire, deldoser. Eventuelt kan det, alt etter individuelle forhold, være nødvendig å avvike fra de ovenfor angitte øvre og nedre dagsdoser.

Eksempler

Produktene er karakterisert ved hjelp av massespekter og/eller NMR-spekter.

Eksempel 1

⁵ (2S)-benzoylkarbonylamino-3-[2-((4S)-(3-(4,5-dihydro-1H-imidazol-2-ylamino)-propyl)-2,5-diokso-imidazolidin-1-yl)-acetylamino]-propionsyre (1.8)



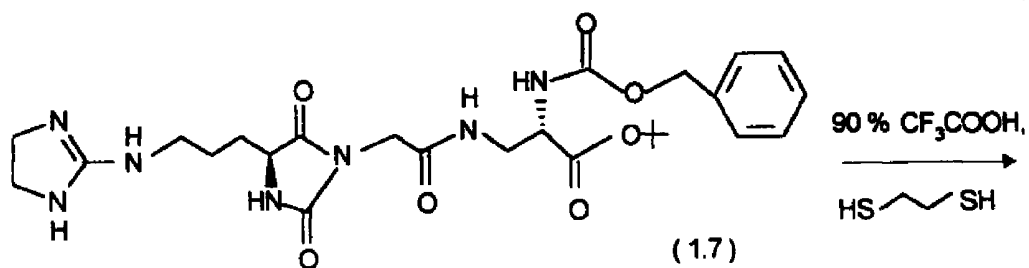
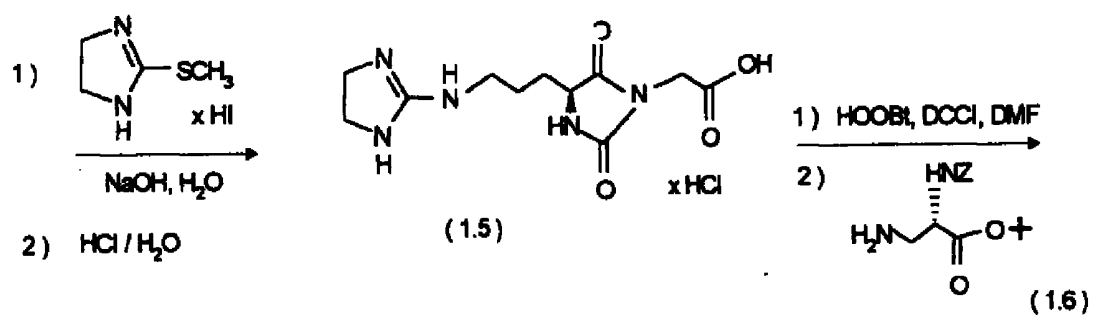
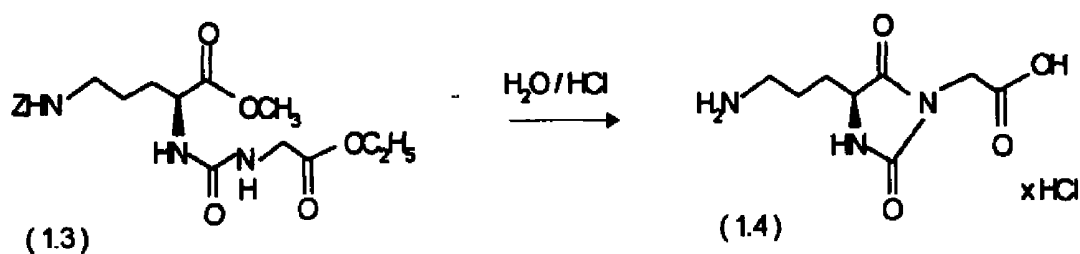
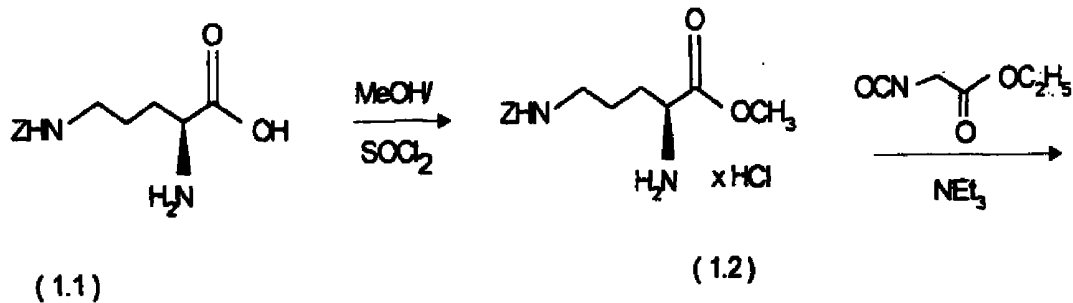
Syntesen skjedde ifølge den følgende reaksjonssekvens:

20

25

30

35



1a) (2S)-2-amino-5-benzyloksykarbonylamino-pentansyre-metyl-
ester-hydroklorid (1.2)

Under isavkjøling under argonatmosfære ble det til 240 ml
tionylklorid dryppet til 300 ml absolutt metanol og deretter
⁵ tilsatt 40 g (150 mmol) (2S)-2-amino-5-benzyloksykarbonylamino-
pentansyre (1.1) og dette ble reagert i tre timer ved romtempe-
ratur og over natten ved 4°C. Oppløsningen ble hellet i metyl-
tert-butyleter, oppløsningsmidlet ble dekantert av og resten
ble finfordelt med dietyleter. Etter filtrering fikk man 29,14
¹⁰ g (61%) av (1.2) som fargeløst faststoff.

1b) 5-benzyloksykarbonylamino-(2S)-(3-etoksykarbonylmetyl-
urinstoff)pentansyre-metylester (1.3)

¹⁵ Ved 0°C dryppet man til en oppløsning av 9,41 g (29,7 mmol) av
forbindelsen (1.2) i 150 ml diklormetan/tetrahydrofuran (2:1)
under omrøring til 3,83 g (29,7 mmol) etylisocyanatoacetat og
deretter 3 g (29,7 mmol) trietylamin. Etter 30 minutter ved 0°C
ble isbadet fjernet og reaksjonsblandingen ble omrørt ved
²⁰ romtemperatur i 1,5 timer. Etter fjerning av oppløsningsmidlet
under vakuum ble resten kromatografert med eddikester over
kiselgel. Produktfraksjonene ble inndampet og resten ble
finfordelt med eter og filtrert. Man fikk 11,02 g (83%) av
(1.3) som fargeløst faststoff.

²⁵

1c) [(4S)-(3-amino-propyl)-2,5-diokso-imidazolin-1-yl]-eddik-
syre-hydroklorid (1.4)

10,4 g (42,9 mmol) av (1.3) ble oppvarmet med 100 ml 6N salt-
³⁰ syre 45 minutter med tilbakeløpskjøling. Oppløsningen ble
inndampet, resten tilsatt H₂O og frysetørket. Man fikk 7,1 g
(66%) av (1.4) som fargeløst faststoff.

1d) [(4S)-(3-(4,5-dihydro-1H-imidazol-2-ylamino)-propyl)-2,5-
³⁵ dioksoimidazolidin-1-yl]-eddiksyre-hydroklorid (1.5)

400 mg (1,59 mmol) av (1.4) og 388 mg (1,59 mmol) 2-(metylmerkapto)-2-imidazolin-hydroklorid ble oppløst i 5 ml H₂O. Blandingen ble innstilt til pH 9 med 1N NaOH og oppvarmet i 2,5 timer til 60°C, mens pH-verdien i oppløsningen ble holdt ved 9 ved tilsetning av 1N NaOH (totalforbruk av 1N NaOH: 3,4 ml).
⁵ Reaksjonsblandingen ble satt i tre dager ved romtemperatur, innstilt til pH 1 med 1N HCl, oppløsningsmidlet fjernet under vakuum og resten ble kromatografert med MeOH/H₂O = 9/1 over kiselgel. Produktfraksjonene ble inndampet og frysetørket. Man fikk 230 mg (45%) av (1.5) som fargeløst pulver.

¹⁰

1e) (2S)-3-amino-2-benzyloksykarbonylamino-propionsyre-tert-butylester (1.6)

10 g (42 mmol) (2S)-3-amino-2-benzyloksykarbonylamino-propionsyre ble ristet med en blanding av 100 mg dioksan, 100 ml
¹⁵ isobutylene og 8 ml konsentrert H₂SO₄ i tre dager ved 20 atm. N₂-trykk i autoklav. Overskudd av isobutylene ble blåst av og til den gjenværende oppløsning ble det tilsatt 150 ml dietyleter, 150 ml mettet NaHCO₃-oppløsning. Fasene ble skilt og den vandige fase ble ekstrahert to ganger, hver med dietyleter. De
²⁰ sammenslåtte organiske faser ble vasket med 2x100 ml H₂O og tørket over Na₂SO₄. Etter fjerning av oppløsningsmidlet under vakuum fikk man 9,58 g (78%) av (1.6) som en blekgul olje.

1f) (2S)-benzoyloksykarbonylamino-3-[2-((4S)-(3-(4,5-dihydro-
²⁵ 1H-imidazol-2-ylamino)-propyl)-2,5-diokso-imidazolidin-1-yl)-acetylamino]-propionsyre-tert-butylester (1.7)

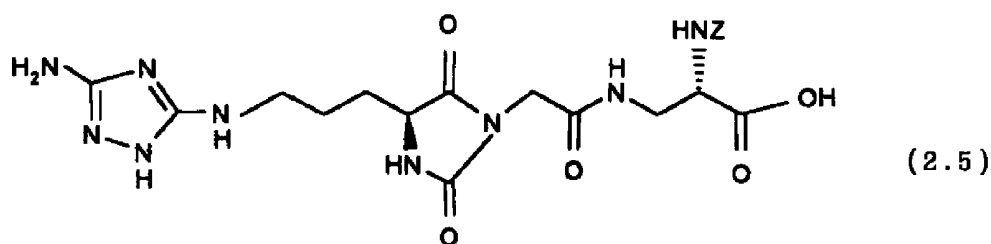
200 mg (0,7 mmol) av (1.5) og 114 mg (0,7 mmol) HOOBt ble suspendert i 5 ml DMF og tilsatt 154 mg (0,7 mmol) DCCl ved
³⁰ 0°C. Det ble omrørt i én time ved 0°C og i én time ved rt og deretter tilsatt 206 mg (0,7 mmol) av (1.6), omrørt i to timer ved rt og satt over natten ved rt. Oppløsningsmidlet ble fjernet under vakuum og resten ble kromatografert med diklormetan/metanol/iseddik/vann = 8/2/0,2/0,2 over kiselgel. Etter
³⁵ inndamping og frysetørking fikk man 105 mg (27%) av (1.7) som fargeløst faststoff.

1g) (2S)-benzyloksykarbonylamin-3-[2-((4S)-(3-(4,5-dihydro-1H-imidazol-2-ylamino)-propyl)-2,5-diokso-imidazolidin-1-yl)-acetylamin]-propionsyre (1.8)

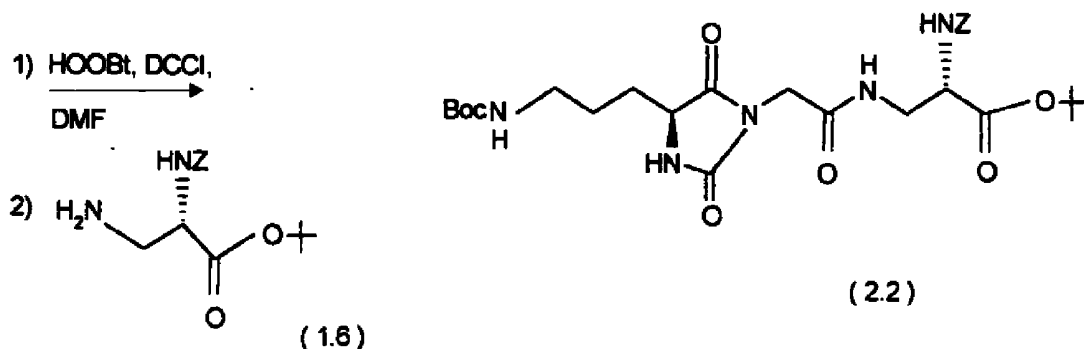
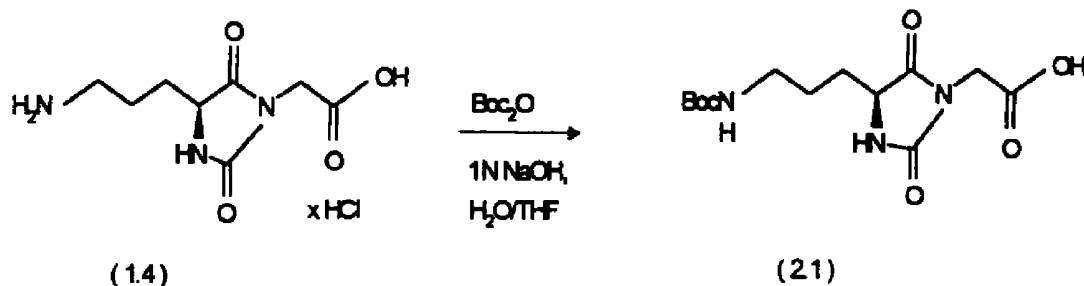
105 mg (0,188 mmol) av (1.7) ble oppløst i en homogen oppløsning av 2 ml 90%-ig trifluoreddiksyre og 0,2 ml 1,2-dimerkaptoetan og satt i én time ved rt. Etter inndamping under vakuum ble resten skilt mellom dietyleter/vann og den vandige fase frysetørket. Etter kromatografi over Sephadex[®] LH 20 med H₂O/n-butanol/HOAc = 43/4,3/3,5 og påfølgende frysetørking, fikk man 45 mg (48%) av (1.8) som fargeløst faststoff.

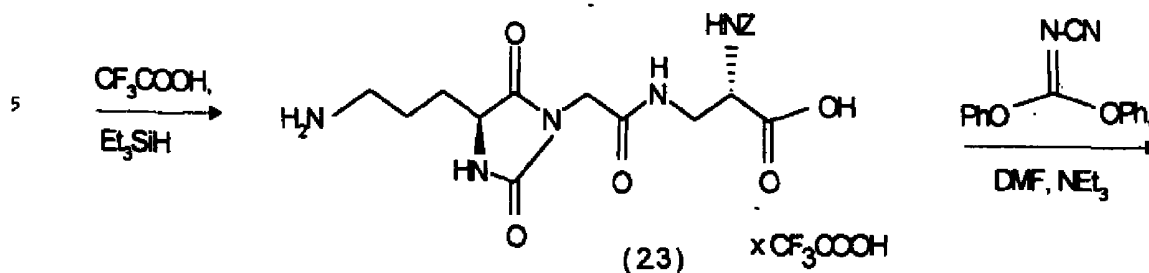
Eksempel 2

3-[2-((4S)-(3-(5-amino-2H-[1,2,4]triazol-3-ylamino)-propyl)-2,5-diokso-imidazolidin-1-yl)-acetylamin]-(2S)-benzyloksykarbonylamin-propionsyre (2.5)

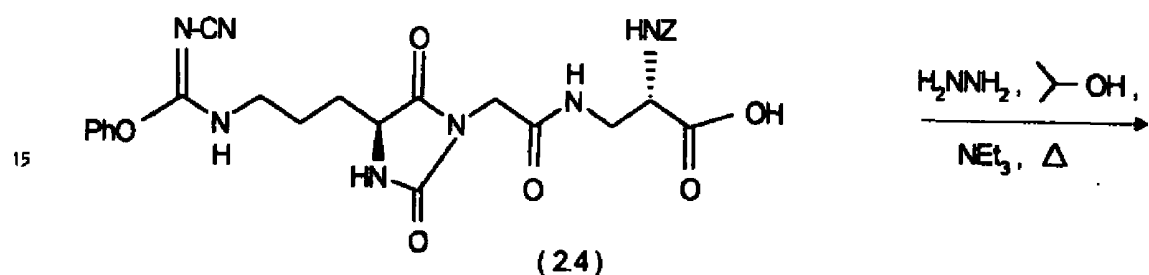


Syntesen skjedde ifølge den følgende reaksjonssekvens:





10



20

25

For syntesen av (1.4) og (1.6), se eksempel 1.

³⁰2a) [(4S)-(3-tert-butoksykarbonylamino-propyl)-2,5-diokso-imidazolidin-1-yl]-eddisyre (2.1)

6 g (2 mmol) av (1.4) ble oppløst i 350 ml THF/H₂O = 2/1. Blandingen ble innstilt til pH 10,5 ved 0°C med 1N NaOH, ³⁵tilsatt 6,24 g (28,61 mmol) di-tert-butyldikarbonat, og pH-verdien i oppløsningen ble holdt mellom 9 og 10,5 ved tilsetning av 1N NaOH. Det ble rørt i én time ved 0°C og blan-

dingen ble satt ved 4°C over natten. pH ble innstilt med fosfatbuffer til pH 4 og oppløsningsmidlet fjernet under vakuum. Resten ble finfordelt med metanol, filtrert og filtratet inndampet. Etter kromatografi over kiselgel med diklor-
 5 metan/MeOH/iseddik/vann = 7/3/0,3/0,3 fikk man 5,65 (75%) av en seig sirup av (2.1).

2b) (2S)-benzyloksykarbonylamino-3-[2-((4S)-(3-tert-butoksy-
 karbonyl-amino-propyl)-2,5-diokso-imidazolidin-1-yl)-
 10 acetylamino]-propionsyre-tert-butylester (2.2)

2,8 g (8,9 mmol) av (2.1) og 1,45 g (8,9 mmol) HOOBt ble
 oppløst i 50 ml DMF og ved 0°C tilsatt 1,95 g (8,9 mmol) DCCl.
 Etter én time ved 0°C og i én time ved rt ble det tilsatt 2,6 g
 (8,9 mmol) av (1.6), omrørt i to timer ved rt og reaksjonsblan-
 15 dningen ble satt over natten ved rt. Etter filtrering ble
 filtratet inndampet, resten skilt mellom H₂O og eddikester, den
 organiske fase tørket over Na₂SO₄, oppløsningsmidlet fjernet
 under vakuum og resten kromatografert over kiselgel med eddik-
 ester/heptan 9/1 til 6/4. Man fikk 2,98 g (57%) av (2.2).
 20

2c) 3-[2-((4S)-(3-aminopropyl)-2,5-diokso-imidazolidin-1-yl)-
 acetylamino]-(2S)-benzyloksykarbonylamino-propionsyre
 (2.3)

25 2,9 g (4,9 mmol) av (2.2) ble oppløst i en blanding av 20 ml
 diklormetan, 9,8 ml trifluoreddiksyre og 2,35 ml trietyltilan.
 Etter 3,5 timer ved rt ble blandingen inndampet og deretter
 frysetørket. Resten ble finfordelt med dietyleter, tørket,
 krystallisert i litt metanol og finfordelt med eter. Man fikk
 30 1,34 g (50%) av (2.3) som fargeløst faststoff.

2d) 3-[2-((4S)-4-(3-(fenoksy-N-cyano-iminokarbonylamino)-
 propyl)-2,5-diokso-imidazolidin-1-yl)-acetylamino]-(2S)-
 35 benzyloksykarbonylamino-propionsyre (2.4)

400 mg (0,73 mmol) av (2.3) ble oppløst i 10 ml DMF. Det ble
 tilsatt 0,14 ml trietylamin og deretter 190,7 mg (0,8 mmol)

cyankarbamidsyredifenylester i 2 ml DMF. Etter to timer ved rt ble oppløsningsmidlet fjernet under vakuum, resten oppløst i 50 ml 5%-ig eddiksyreoppløsning og frysetørket. Etter kromatografi over kiselgel med metanol fikk man 260 mg (61%) av (2.4).

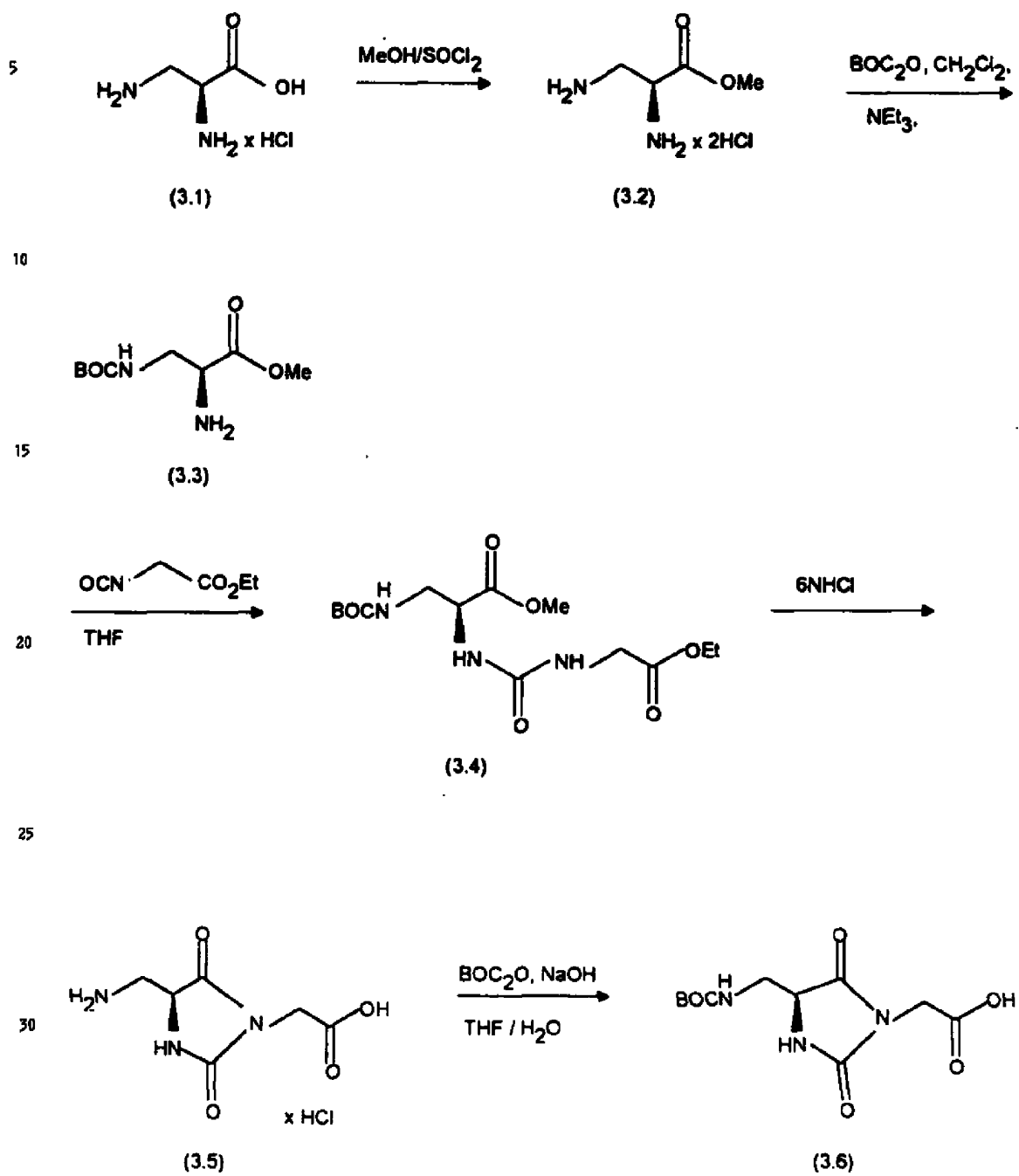
- ⁵ 2e) 3-[2-((4S)-(3-(5-amino-2H-[1,2,4]triazol-3-ylamino)-propyl)-2,5-diokso-imidazolidin-1-yl)-acetylamino]-(2S)-benzyloksykarbonylamino-propionsyre (2.5)

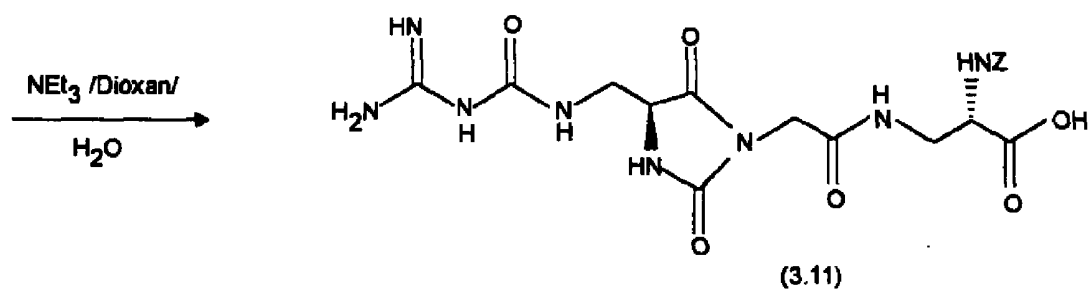
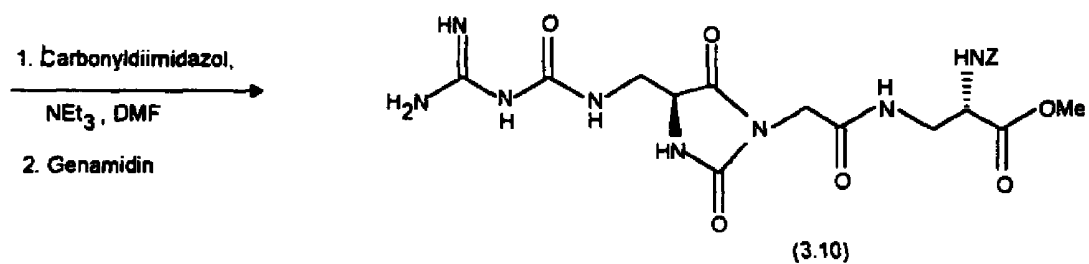
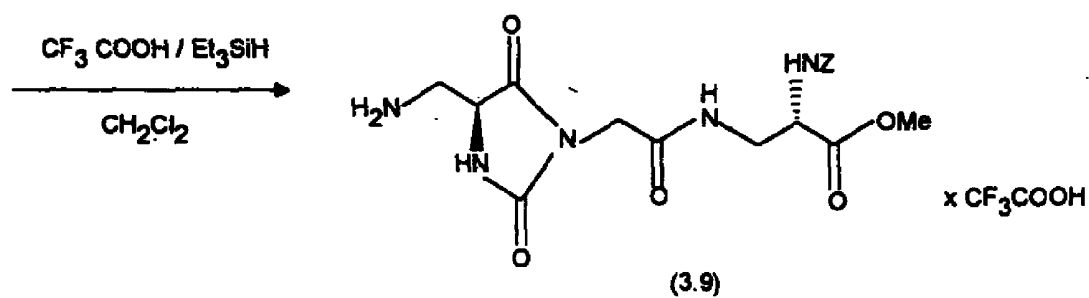
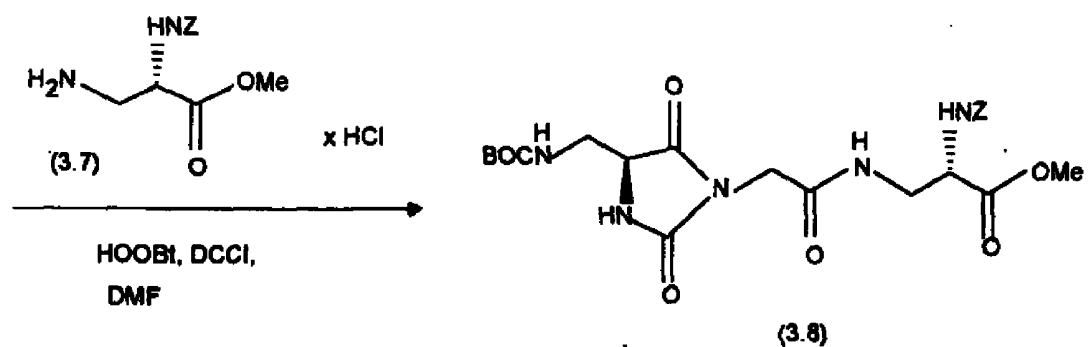
260 mg (0,45 mmol) av (2.4) ble suspendert i 10 ml isopropanol og tilsatt 62,4 µl (0,45 mmol) trietylamin. Man tilsatte 28,5 µl (0,585 mmol) hydrazin og oppvarmet i ti timer med tilbake-løpskjøling. Blandingen fikk stå ved rt over natten, bunnfallet filtrert av og vasket med butanol, THF og eter. Etter kromatografi over Sephadex[®] LH 20 med H₂O/n-butanol/HOAc = 43/4,3/3,5 og frysetørking, fikk man 80 mg (34%) av (2.5) som fargeløst faststoff.

Eksempel 3

(2S)-benzyloksykarbonylamino-3-[(4S)-(guanidinoacylamino-metyl)-2,5-diokso-imidazolidin-1-yl)-acetylamino]-propionsyre (3.11)

Syntesen skjedde ifølge den følgende reaksjonssekvens:





3a) (2S),3-diamino-propionsyremetylester-dihydroklorid (3.2)

Det ble ved -15°C under argonatmosfære dryppet til 35 ml tionylklorid til 60 ml absolutt metanol og deretter tilsatt 25 g (240 mmol) (2S),3-diamino-propionsyre-hydroklorid (3.1) og så 100 ml metanol. Etter 16 timers omrøring ved romtemperatur ble blandingen oppvarmet med tilbakeløpskjøling i fire timer. Oppløsningen ble hellet i diisopropyleter, oppløsningsmidlet dekantert av, og resten kromatografert med metanol over kiselgel. Produktfraksjonene ble inndampet og resten finfordelt med diisopropyleter. Etter filtrering av bunnfallet og tørking over parafin fikk man 26,3 g (57%) av (3.2) som blekgult faststoff.

3b) (2S)-amino-3-tert-butoksykarbonylamino-propionsyremetylester-hydroklorid (3.3)

Til en suspensjon av 26 g (220 mmol) av (3.2) i 4,4 l diklormetan tilsatte man ved -78°C 75,8 ml trietylamin og deretter dråpevis en oppløsning av 26,78 g (123 mmol) di-tert-butyl-dikarbonat i 220 ml diklormetan, lot blandingen oppvarme til 0°C og omrørt i 1,5 time ved denne temperatur. Reaksjonsblandingen ble inndampet og kromatografert med eddikester/metanol = 20/1 over kiselgel. Man fikk 15,67 g (58%) av (3.3) som blekgul sirup.

3c) (2S)-etylloksykarbonylmetyl-aminokarbonylamino-3-tert-butoksykarbonylamino-propionsyre-metylester (3.4)

Til en suspensjon av en oppløsning av 10 g (45,8 mmol) av forbindelsen (3.3) i 100 ml tetrahydrofuran dryppet man til 5,13 ml (45,8 mmol) etylisocyanatoacetat, lot det omrøre ved romtemperatur i tre timer, fjernet oppløsningsmidlet under vakuum og kromatograferte resten med eddikester/metanol = 20/1 over kiselgel. Man fikk 13,44 g (85%) av (3.4) som blekgul olje.

3d) 2-[(4S)-(aminometyl)-2,5-dioksoimidazolidin]-eddiksyre-hydroklorid (3.5)

13,2 g (34 mmol) av (3.4) ble oppvarmet med 150 ml 6N saltsyre i 45 minutter med tilbakeløpskjøling. Oppløsningen ble inndampet og resten frysetørket. Etter kromatografi over kiselgel med diklormetan/metanol = 7/3 og frysetørking av produktfraksjonene, fikk man 6,4 g (84%) av (3.5) som fargeløst faststoff.

3e) 2-[(4S)-(tert-butoksykarbonylamino-metyl)-2,5-dioksoimidazolidin]-eddiksyre (3.6)

¹⁰Til en oppløsning av 4,4 g (19,7 mmol) av (3.5) i 300 ml tetrahydrofuran/vann = 2/1 ved 0°C tilsatte man 1N NaOH til pH 10,5 ble oppnådd (forbruk: 26 ml), tilsatte 5,16 g (23,6 mmol) di-tert-butyldikarbonat og holdt ved tilsetningen av 1N NaOH pH mellom 9,5 og 10,5. Etter én time ved 0°C og to timer ved romtemperatur lot man blandingen stå over natten ved 4°C, innstilte til pH 7 med 1N HCl, og deretter med fosfatbuffer til pH 4,1. Oppløsningsmidlet ble fjernet under vakuum, resten finfordelt med metanol, filtrert og filtratet ble inndampet og resten kromatografert med diklormetan/metanol/eddiksyre/vann = ¹⁵8/2/0,2/0,2 over kiselgel. Produktfraksjonene ble inndampet og frysetørket. Utbytte av (3.6): 3,6 g (64%) fargeløst faststoff.

3f) 3-amino-(2S)-benzyloksykarbonylamino-propionsyre-metyl-ester-hydroklorid (3.7)

²⁵Til 50 ml absolutt metanol ved -15°C dryppet man til 7,4 ml (100,8 mmol) tionylklorid. Man tilsatte 1 g (50,4 mmol) 3-amino-(2S)-benzyloksykarbonylamino-propionsyre-hydroklorid og deretter 40 ml absolutt metanol. Etter 45 minutter omrøring ved -15°C og 20 timer ved romtemperatur ble reaksjonsblandingen ³⁰hellet på isopropyleter, bunnfallet filtrert fra og tørket under høyvakuum. Man fikk 14,18 g (98%) av (3.7) som fargeløst faststoff.

³⁵3g) (2S)-benzyloksykarbonylamino-3-[(4S)-(tert-butoksykarbonylamino-metyl)-2,5-dioksoimidazolidin-1-yl]-acetyl-amino]-propionsyre-metylester (3.8)

Til en oppløsning av 1,5 g (5,2 mmol) av (3.6) i 20 ml absolutt DMF ved 0°C tilsatte man 848 mg (5,2 mmol) HOOBt og deretter 1,144 g (5,2 mmol) DCCl. Etter én times omrøring ved 0°C og én time ved romtemperatur, tilsatte man 1,5 g (5,2 mmol) av (3.7) og 0,67 ml N-etylmorfolin og omrørte i tre timer ved romtemperatur. Bunnfallet ble filtrert, filtratet inndampet, resten tatt opp i eddikester og etter hverandre vasket med mettet NaHCO₃-oppløsning, KHSO₄/K₂SO₄-oppløsning og vann, og den organiske fase ble tørket over natriumsulfat. Etter filtrering og inndamping av oppløsningsmidlet under vakuum ble resten kromatografert med eddikester/heptan = 6/4 til eddikester over kiselgel, og man fikk 1,75 g (65%) av (3.8).

3h) 3[(((4S)-(amino-metyl)-2,5-diokso-imidazolidin-1-yl)-acetylamino)-(2S)-benzyloksykarbonylamino-propionsyre-metylester-trifluoreddiksyresalt (3.9)

1,7 g (3,26 mmol) av (3.8) i 6,7 ml diklormetan, 3,3 ml tri-fluoreddiksyre og 0,78 ml trietylsilan ble omrørt i fire timer ved romtemperatur. Oppløsningen ble hellet i dietyleter og bunnfallet filtrert. Man fikk 1,54 g (88%) av (3.9) som fargeløst faststoff.

3g) (2S)-benzyloksykarbonylamino-3-(((4S)-(guanidinoacylamino-metyl)-2,5-diokso-imidazolidin-1-yl)-acetylamino)-propionsyre-metylester (3.10)

Til en oppløsning av 500 mg (0,93 mmol) av (3.9) i 10 ml absolutt DMF tilsatte man 0,129 ml trietylamin og deretter ved 0°C en oppløsning av 152 mg (0,93 mmol) karbonyldiimidazol i 10 ml absolutt DMF. Etter fire timers omrøring ved romtemperatur tilsatte man 89 mg (1,86 mmol) guanidin, lot det omrøre ved romtemperatur i to timer, fjernet oppløsningsmidlet under vakuum og kromatograferte resten med diklormetan/metanol/-eddiksyre/vann = 8,5/1,5/0,15/0,15 over kiselgel. Etter inndamping av produktfraksjonene og frysetørking fikk man 300 mg (64%) av (3.10) som fargeløst faststoff.

3h) (2S)-benzyloksykarbonylamino-3-[((4S)-(guanidinoacylamino-metyl)-2,5-diokso-imidazolidin-1-yl)-acetylamino]-propionsyre (3.11)

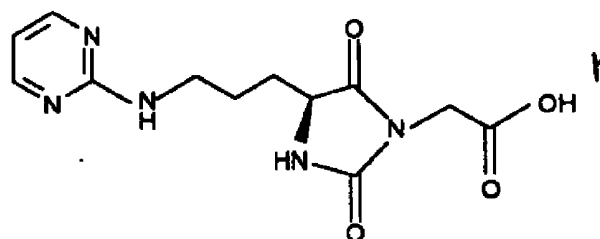
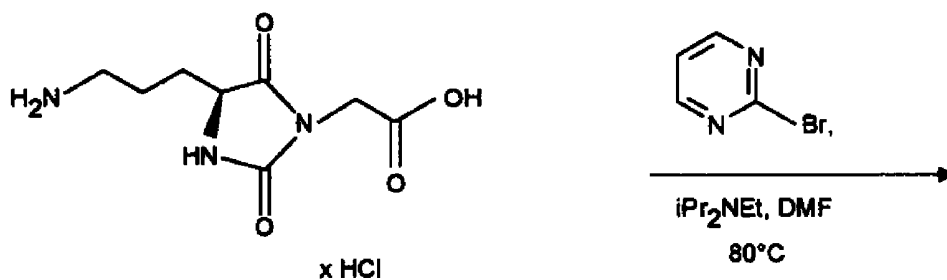
180 mg (0,32 mmol) av (3.10) ble oppløst i en blanding av dioksan/vann/trietylamin = 1/1/1. Etter 16 timer ved romtemperatur ble blandingen inndampet, tilsatt vann og frysetørket. Resten ble kromatografert over kiselgel med diklormetan/metanol/eddiksyre/vann = 8/2/0,2/0,2. Produktfraksjonene ble inndampet, tilsatt vann, frysetørket og resten ble deretter finfordelt med eddikester og dietyleter. Etter filtrering fikk man 62 mg (39%) av (3.11) som fargeløst faststoff.

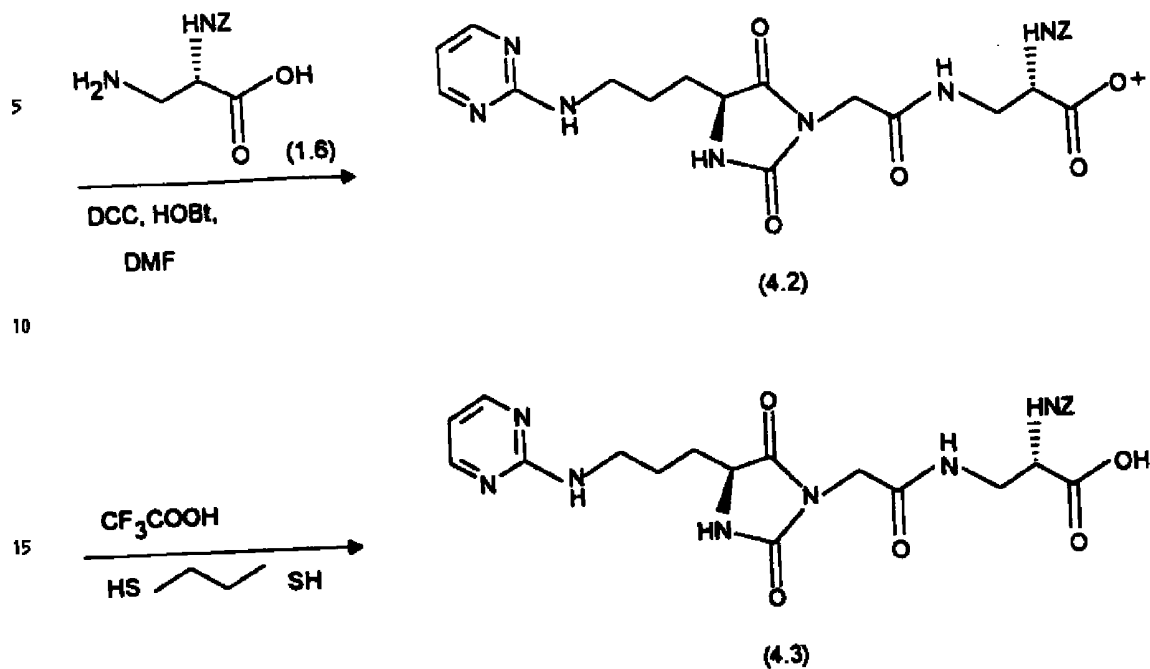
ES(+)-MS: 493 (M + H)⁺

¹⁵Eksempel 4

(2S)-benzyloksykarbonylamino-3-[((4S)-(3-(2-pyrimidylamino)-propyl)-2,5-dioksoimidazolidin-1-yl)-acetylamino]-propionsyre (4.2)

²⁰Syntesen skjedde ifølge den følgende reaksjonssekvens:





4a) 2-[(4S)-(3-(2-pyrimidylamino)-propyl)-2,5-diokso-imidazolidin]-eddiksyre (4.1)

En blanding av 1 g (4 mmol) av 2-brompyrimidin og 2,04 ml (12 mmol) diisopropyletylamin (DIPEA) i 9 ml DMF ble oppvarmet til 80°C i 26 timer. Oppløsningsmidlet ble fjernet under vakuum og resten kromatografert med diklormetan/metanol/eddiksyre/vann = 8/2/0,2/0,2 over kiselgel. Produktfraksjonene ble inndampet og man fikk 144 mg (12%) av (4.1) som fargeløst faststoff.

4b) (2S)-benzyloksykarbonylamino-3-[(4S)-(3-(2-pyrimidylamino)-propyl)-2,5-diokso-imidazolidin-1-yl]-acetylamino]-propionsyre-tert-butylester (4.2)

Til en oppløsning av 128 mg (0,44 mmol) av (4.1), 128 mg (0,44 mmol) av (1.6), 60 mg (0,44 mmol) HOBT og 0,035 ml N-etyl-morfolin i 5 ml DMF tilsatte man 97 mg (0,44 mmol) DCCl. Etter

én time ved 0°C og 16 timer ved romtemperatur ble oppløsningsmidlet fjernet under vakuum og resten kromatografert med diklormetan/metanol/eddiksyre/vann = 9,5/0,5/0,05/0,05 over kiselgel. Man fikk 180 mg (72%) av (4.2).

- ⁵ 4c) (2S)-benzyloksykarbonylamino-3-(((4S)-(3-(2-pyrimidylamino)-propyl)-2,5-diokso-imidazolidin-1-yl)-acetylamino)-propionsyre (4.3)

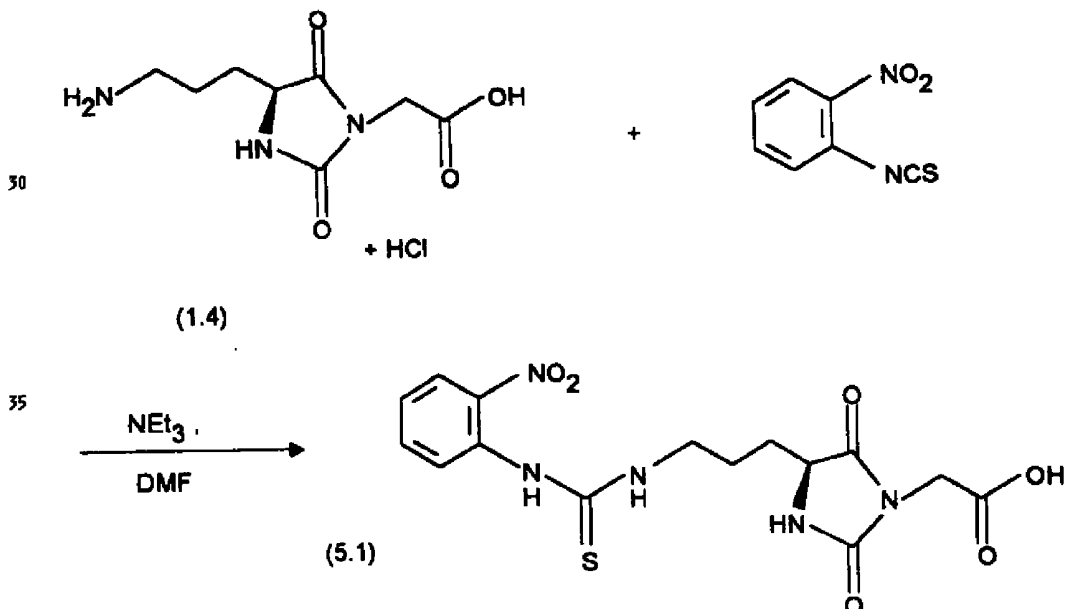
170 mg (0,3 mmol) av (4.2) ble oppløst i en blanding av 2 ml ¹⁰90%-ig trifluoreddiksyre og 0,2 ml 1,2-dimerkaptoetan. Etter én time ved romtemperatur ble blandingen tilsatt dietyleter, bunnfallet sentrifugert fra, igjen oppslemmet i dietyleter og på nytt sentrifugert. Etter oppløsning i vann og frysetørking ble resten kromatografert over vann/butanol/eddiksyre = ¹⁵43/4,3/3,5 over Sephadex[®] LH 20. Etter frysetørking fikk man 76 mg (49%) av (4.3) som fargeløst faststoff.

ES(+)-MS: 514 (M + H)⁺

²⁰ **Eksempel 5**

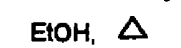
(2S)-benzyloksykarbonylamino-3-(((4S)-(3-(benzimidazolyl-2-amino)-propyl)-2,5-diokso-imidazolidin-1-yl)-acetylamino)-propionsyre (5.5)

²⁵ Syntesen skjedde ifølge den følgende reaksjonssekvens:





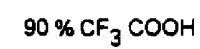
15



25



35



5a) 2-[(4S)-(3-(3-(2-nitrofenyl)-tiourinstoff)-propyl)-2,5-diokso-imidazolidin-1-yl]-eddisyre (5.1)

⁵ Til en oppløsning av 4,5 g (17,88 mmol) av (1.4) i 100 ml DMF ved 0°C tilsatte man 4,96 ml (35,76 mmol) trietylamin og deretter 3,22 g (17,88 mmol) 2-nitrofenylisotiocyanat. Etter fire timers omrøring ved romtemperatur ble oppløsningsmidlet fjernet under vakuum og resten ble skilt mellom diklormetan og ¹⁰ 10%-ig eddisyre. Den vandige fase ble to ganger ekstrahert med diklormetan og den organiske fase tørket over natriumsulfat. Etter filtrering ble oppløsningsmidlet fjernet under vakuum og resten ble kromatografert over kiselgel. Produktfraksjonene ble inndampet og man fikk 3,16 g (45%) av (5.1).

¹⁵

5b) 2-[(4S)-(3-(3-(2-aminofenyl)-tiourinstoff)-propyl)-2,5-diokso-imidazolidin-1-yl]-eddisyre (5.2)

4,6 g (11,6 mmol) av (5.1) i 40 ml absolutt etanol ble tilsatt ²⁰ 3,8 g 10% Pd/C. Det ble tilsatt 200 ml ammoniakkmettet etanol og hydrert i seks timer ved romtemperatur. Katalysatoren ble filtrert fra, filtratet inndampet og resten (1,85 g) direkte benyttet i syntesen av (5.4).

²⁵ 5c) 2-[(4S)-(3-(benzimidazolyl-2-amino)-propyl)-2,5-diokso-imidazolidin-1-yl]-eddisyre (5.3)

1,85 g av (5.3) i 35 ml etanol ble oppvarmet med tilbakeløps-
kjøling med 3 g kvikksølvoksid og 730 mg svovel i 16 timer. Det ³⁰ ble filtrert og resten ble fem ganger utkokt med vann. De sammenslåtte vannfaser ble frysetørket. Man fikk 814 mg (21% i forhold til (5.1)) av (5.3) som fargeløst faststoff.

³⁵ 5d) (2S)-benzyloksykarbonylamino-3-[(4S)-(3-(benzimidazolyl-2-amino)-propyl)-2,5-diokso-imidazolidin-1-yl]-acetyl-amino]-propionsyre-tert-butylester (5.4)

Syntesen av (5.4) skjedde gjennom reaksjon (5.3) med (1.6) som beskrevet i eksempel 4 ved fremstilling av (4.2) fra (4.1) og (1.6). Fra 205 mg (0,56 mmol) av (5.3) fikk man etter kromatografi av råproduktet over kiselgel med diklormetan/metanol/-eddiksyre/vann = 9/1/0,1/0,1 og 8/2/0,2/0,2 og påfølgende frysetørking av produktfraksjonene 255 mg (75%) av (5.4) som fargeløst faststoff.

5e) (2S)-benzyloksykarbonylamino-3-[[((4S)-(3-(benzimidazolyl-2-amino)-propyl)-2,5-diokso-imidazolidin-1-yl)-acetylamino]-propionsyre (5.5)

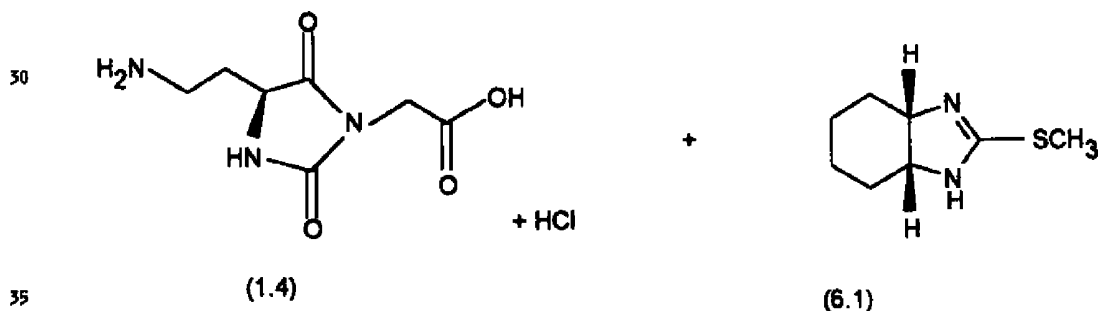
250 mg (0,41 mmol) av forbindelsen (5.4) ble omrørt i 3 ml 90%-ig trifluoreddiksyre i én time ved romtemperatur. Trifluoreddiksyren ble fjernet under vakuum, resten tilsatt vann og frysetørket. Resten ble kromatografert med vann/butanol/eddiksyre = 43/4,3/3,5 over Sephadex[®] LH 20. Etter frysetørking fikk man 155 mg (66%) av (5.5) som fargeløst faststoff.

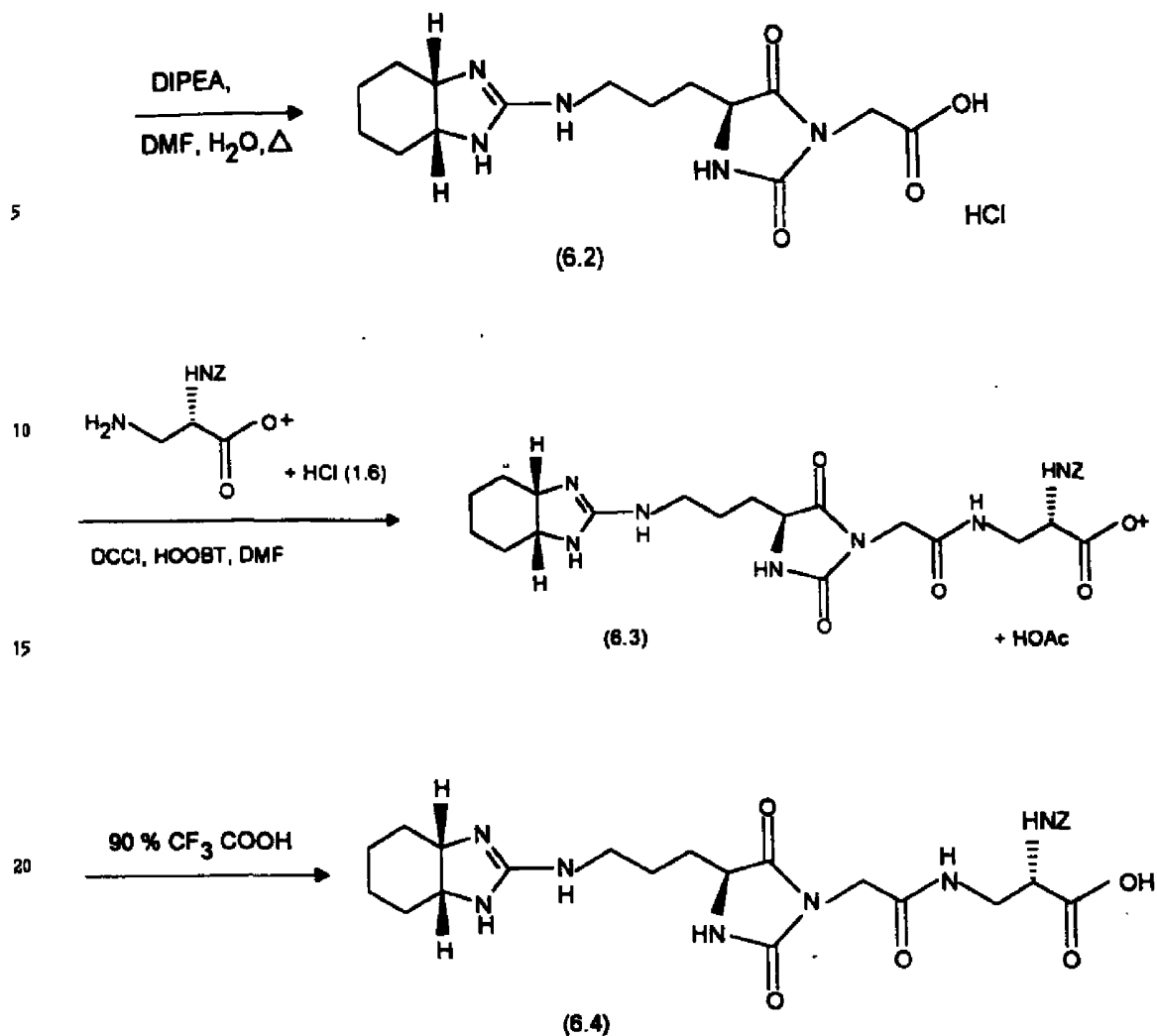
ES(+)-MS: 522 (M + H)⁺

Eksempel 6

(2S)-benzyloksykarbonylamino-3-[[((4S)-(3-(cis-3a,4,5,6,7,7a-heksahydro-1H-benzimidazol-2-ylamino)-propyl)-2,5-diokso-imidazolidin-1-yl)-acetylamino]-propionsyre (6.4)

Syntesen skjedde ifølge den følgende reaksjonssekvens:





25 6a) [(4S)-(3-(cis-3a,4,5,6,7,7a-heksahydro-1H-benzimidazol-2-ylamino)-propyl)-2,5-dio-
30 kso-imidazolidin-1-yl]-eddiksyre-
35 hydroklorid (6.2)

En oppløsning av 298 mg (1 mmol) av (6.1) (fremstilt ifølge
30 G.D. Hartmann et al., WO 95/32710, s.115) og 251 mg (1 mmol) av
(1.4) i 6 ml DMF ble tilsatt 0,51 ml DIPEA og 6 dråper vann og
omrørt i 24 timer ved 100°C. Oppløsningsmidlet ble fjernet
under vakuum og resten kromatografert med diklormetan/metanol-
/eddiksyre/vann = 9/1/0,1/0,1 over kiselgel og deretter ble de
35 sammenslått produktfraksjonene kromatografert med
vann/butanol/eddiksyre = 43/4,3/3,5 over Sephadex' LH 20.
Produktfraksjonene ble slått sammen og frysetørket. Etter

overføringen til hydroklorid fikk man 130 mg (35%) av (6.2) som fargeløst faststoff.

6b) (2S)-benzyloksykarbonylamino-[((4S)-(3-(cis-3a,4,5,6,7,7a-heksahydro-1H-benzimidazol-2-ylamino)-propyl)-2,5-diokso-imidazolidin-1-yl)-acetylamino]-propionsyre-tert-butyl-ester-eddiksyresalt (6.3)

Syntesen av (6.3) skjedde ved reaksjon av (6.2) med (1.6) som beskrevet i eksempel 4 ved fremstilling av (4.2) fra (4.1) og (1.6). Fra 130 mg (0,35 mmol) av (6.2) fikk man etter kromatografi av råproduktet over kiselgel med diklormetan/metanol/-eddiksyre/vann = 8/2/0,2/0,2 og deretter 9/1/0,1/0,1 og påfølgende frysetørking av produktfraksjonene, 45 mg (19%) av (6.3) som fargeløst faststoff.

6c) (2S)-benzyloksykarbonylamino-3-[((4S)-(3-(cis-3a,4,5,6,7,7a-heksahydro-1H-benzimidazol-2-ylamino)-propyl)-2,5-diokso-imidazolidin-1-yl)-acetylamino]-propionsyre (6.4)

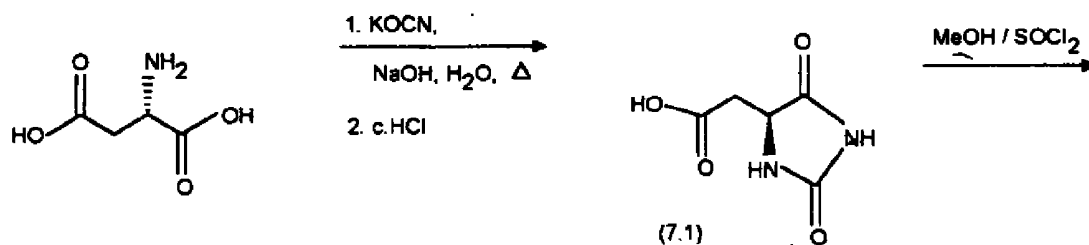
40 mg (0,168 mmol) av (6.4) i 1 ml 90%-ig trifluoreddiksyre ble omrørt ved romtemperatur i én time. Etter fjerning av trifluoreddiksyren under vakuum og rensing av råproduktet ved hjelp av preparativ HPLC over RP18 og påfølgende frysetørking av produktfraksjonene, fikk man 13 mg (14%) av (6.4) som fargeløst faststoff.

ES(+)-MS: 588 (M + H)⁺

³⁰Eksempel 7

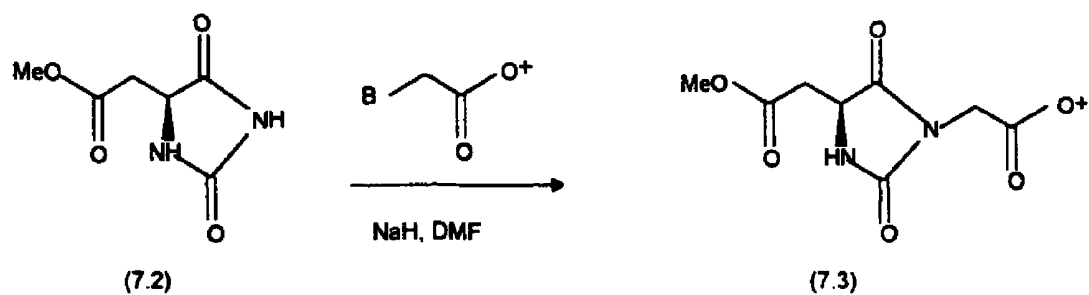
(2S)-benzyloksykarbonylamino-3-[2-((4S)-(N'-(4,5-dihydro-1H-imidazol-2-yl)-hydrazinokarbonylmetyl)-2,5-diokso-imidazolidin-1-yl)-acetylamino]-propionsyre (7.8)

³⁵Syntesen skjedde ifølge den følgende reaksjonssekvens:



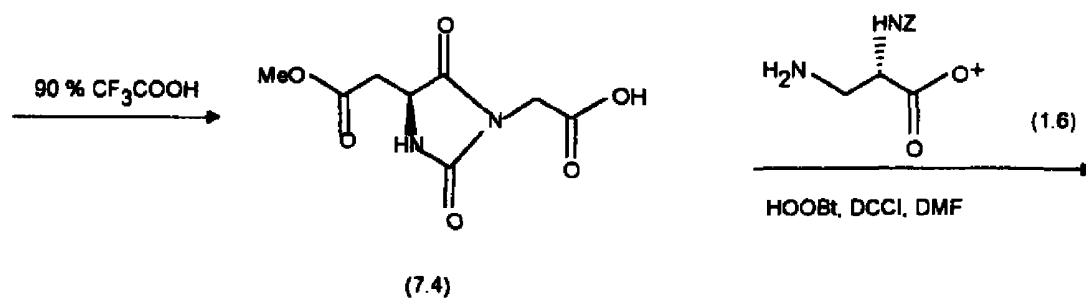
5

10



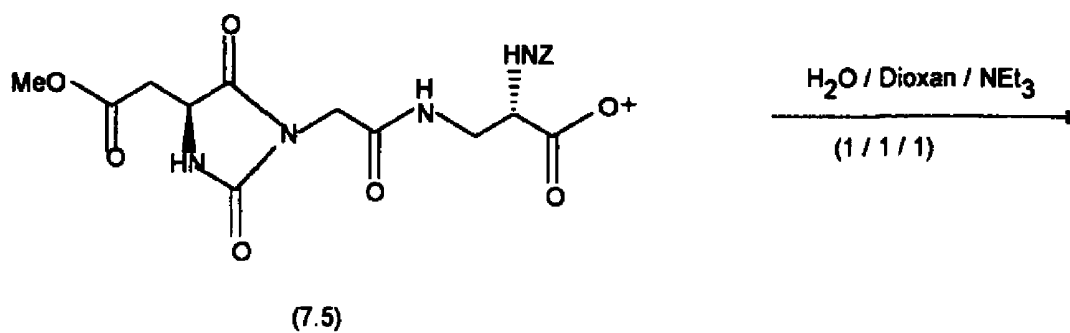
15

20

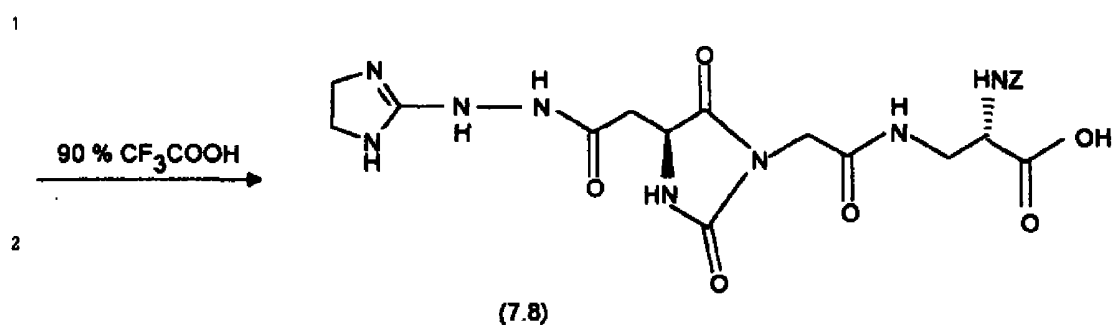
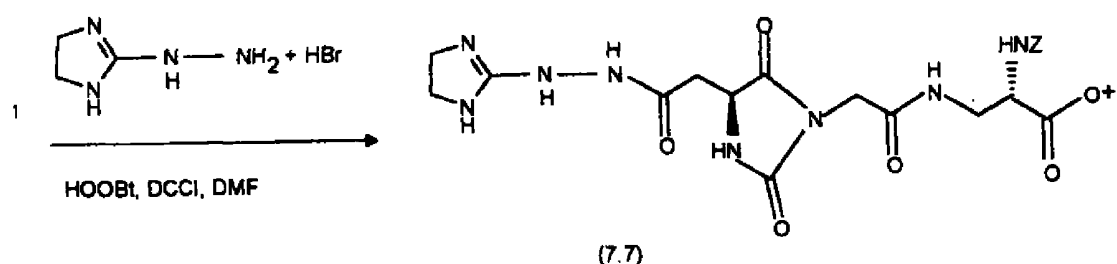
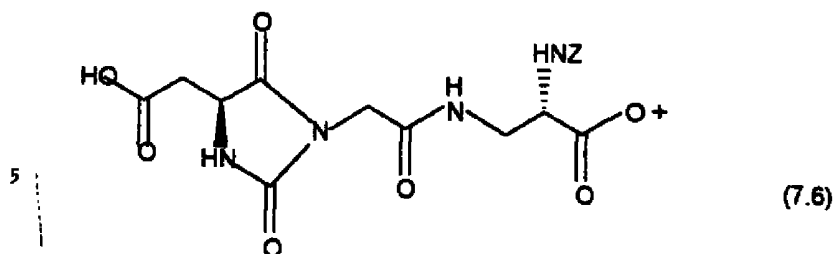


25

30



35



7a) (4S)-karboksy-metyl-2,5-diokso-imidazolidin (7.1)

25

Til en suspensjon av 10 g (75 mmol) L-asparbinsyre i vann ved 80°C under omrøring tilsatte man 5,5 ml 11,7 N natronlut og 7,5 g (92,5 mmol) kaliumcyanat. Man innstilte under forløpet på én time ved porsjonsvis tilsetning av konsentrert HCl ved 85°C, alltid inn en pH på 7 (forbruk: 1,5 ml). Deretter ble reaksjonsblandingen innstilt til pH 3,5 med 5,5 ml konsentrert HCl. Deretter ble det tilsatt 9,5 ml konsentrert HCl, omrørt i 2,5 timer ved 85°C og reaksjonsblandingen ble satt i 18 timer ved romtemperatur. Bunnfallet ble filtrert, vasket med litt kaldt vann og tørket over P₂O₅. Man fikk 8,49 g (72%) av (7.1) som fargeløst faststoff.

30

35

7b) (4S)-metoksykarbonyl-metyl-2,5-diokso-imidazolidin (7.2)

Ved -15°C tilsatte man til 70 ml metanol 7,9 ml (107 mmol) tionylklorid, 8,47 g (53,5 mmol) av (7.1) og omrørte reaksjonsblandingen i 24 timer ved romtemperatur. Deretter ble
 5 oppløsningen hellet i dietyleter, bunnfallet filtrert fra og vasket med dietyleter. Etter tørking under høyvakuum fikk man 5,12 g (56%) av (7.2) som fargeløst faststoff. Inndamping av eterfasen og finfordeling av resten med dietyleter gav etter tørking under høyvakuum ytterligere 2,79 g (30%) av (7.2).

10

7c) [(4S)-metoksykarbonyl-metyl-2,5-diokso-imidazolidin]-
eddisyre-tert-butylester (7.3)

Under argonatmosfære tilsatte man til en suspensjon av 1,02 g
 15 (23,2 mmol) natriumhydrid (55% i olje) i 20 ml absolutt DMF under isavkjøling, 4 g (23,2 mmol) av (7.2). Etterat hydrogenutviklingen var avsluttet, ble det tilsatt 4,53 g (23,2 mmol) bromeddisyre-tert-butylester. Etter én times omrøring ved 0°C, to timer ved romtemperatur og henstand over natten, ble opp-
 20 løsningsmidlet fjernet og resten kromatografert med diklor-metan/metanol = 40/1 over kiselgel. Produktfraksjonene ble inndampet og resten ble finfordelt med dietyleter. Man fikk 4,21 g (63%) av (7.3).

25 7d) [(4S)-metoksykarbonyl-metyl-2,5-diokso-imidazolidin]-
eddisyre (7.4)

4,2 g (14,67 mmol) av (7.3) ble oppløst i 50 ml 90%-ig tri-
 fluoreddisyre. Etter én times omrøring ved romtemperatur ble
 30 trifluoreddisyren fjernet under vakuum og resten ble fryse-
 tørket. Man fikk 3,17 g (94%) av (7.4).

7e) (2S)-benzyloksykarbonylamino-3-[(4S)-metoksykarbonyl-
 metyl-2,5-diokso-imidazolidin-1-yl]-acetylamino]-propion-
 35 syre-tert-butylester (7.5)

Syntesen av (7.5) skjedde ved reaksjon av (7.4) med (1.6) som beskrevet i eksempel 4 ved fremstilling av (4.2) fra (4.1) og (1.6). Fra 1 g (4,3 mmol) av (7.4) fikk man etter kromatografi av råproduktet over kiselgel med diklormetan/metanol = 20/1 og deretter 40/1, etter inndamping av produktfraksjonene, 1,72 g⁵ (79%) av (7.5).

7f) (2S)-benzyloksykarbonylamino-3-(((4S)-karboksy-metyl-2,5-diokso-imidazolidin-1-yl)-acetylamino]-propionsyre-tert-butylester (7.6)

10

En oppløsning av 700 mg (1,38 mmol) av (7.5) i vann/dioksan/trietylamin = 1/1/1 ble omrørt i seks timer ved 50°C. Etter henstand over natten ved romtemperatur ble reaksjonsblandingen inndampet og resten ble kromatografert med¹⁵ diklormetan/metanol/eddiksyre/vann = 9/1/0,1/0,1 over kiselgel. Etter inndamping av produktfraksjonene fikk man 364 mg (54%) av (7.6).

7g) (2S)-benzyloksykarbonylamino-3-[2-((4S)-(N'-(4,5-dihydro-1H-imidazol-2-yl)-hydrazinokarbonylmetyl]-2,5-diokso-imidazolidin-1-yl)-acetylamino]-propionsyre-tert-butylester (7.7)

20

Til en oppløsning av 100 mg (0,2 mmol) av (7.6) og 33,1 mg (0,2²⁵ mmol) HOOBt i 5 ml DMF ved 0°C, tilsatte man 44,7 mg DCCl. Etter én time ved 0°C og én time ved romtemperatur tilsatte man 36,8 mg (0,2 mmol) 2-hydrazino-2-imidazol-hydrobromid og omrørte i tre dager ved romtemperatur. Oppløsningsmidlet ble fjernet under vakuum og resten ble kromatografert med diklor-³⁰metan/metanol/eddiksyre/vann = 8/2/0,2/0,2 over kiselgel. Produktfraksjonene ble inndampet og frysetørket. Man fikk 60 mg (52%) av (7.7).

7h) (2S)-benzyloksykarbonylamino-3-[2-((4S)-(N'-(4,5-dihydro-1H-imidazol-2-yl)-hydrazinokarbonylmetyl]-2,5-diokso-imidazolidin-1-yl)-acetylamino]-propionsyre (7.8)

35

55 mg (0,096 mmol) av (7.7) i 1 ml 90%-ig trifluoreddiksyre, ble omrørt i én time ved romtemperatur. Etter fjerning av trifluoreddiksyren under vakuum og rensing av råproduktet ved preparativ HPLC over RP18 og påfølgende frysetørrking av produktfraksjonene, fikk man 10,6 mg (21%) av (7.8) som fargeløst faststoff.

ES(+)-MS: 519 (M+H)⁺

Eksempel 8

10

(2S)-benzyloksykarbonylamino-3-[2-(2,5-diokso-(4S)-(N'-(1,4,5,6-tetrahydro-pyrimidin-2-yl)-hydrazinokarbonylmetyl)-imidazolin-1-yl)-acetylamino]-propionsyre (8.2)

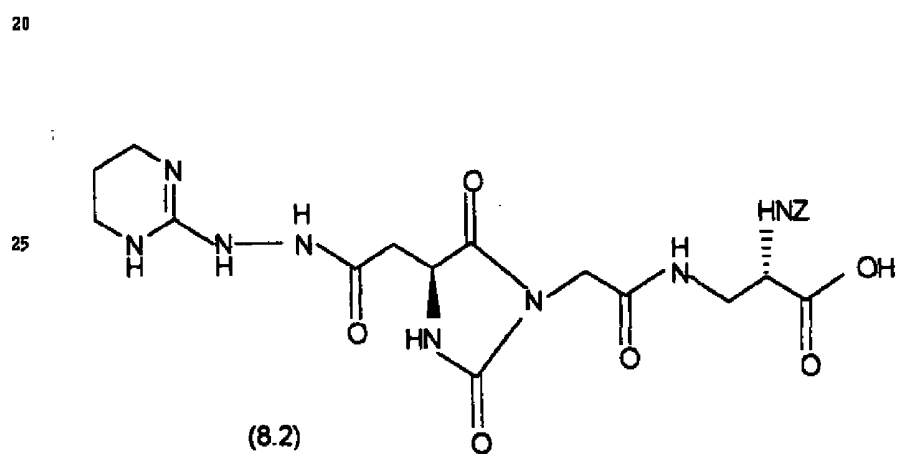
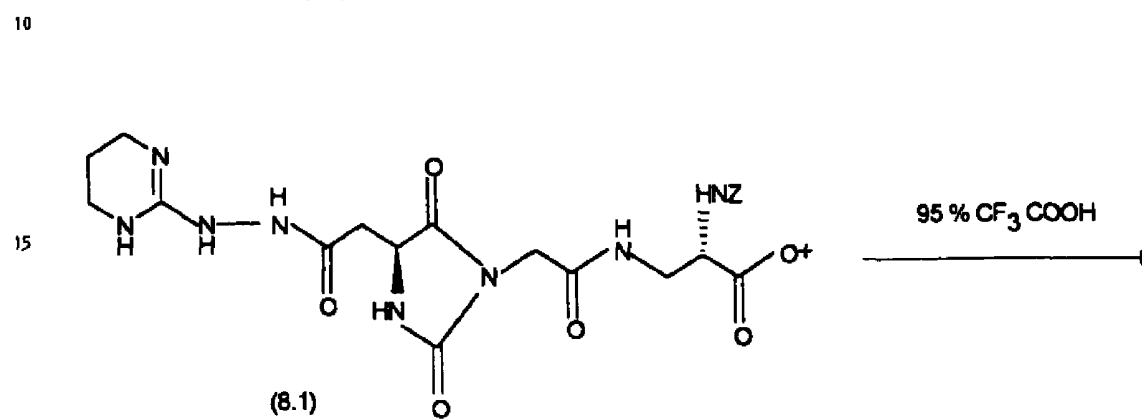
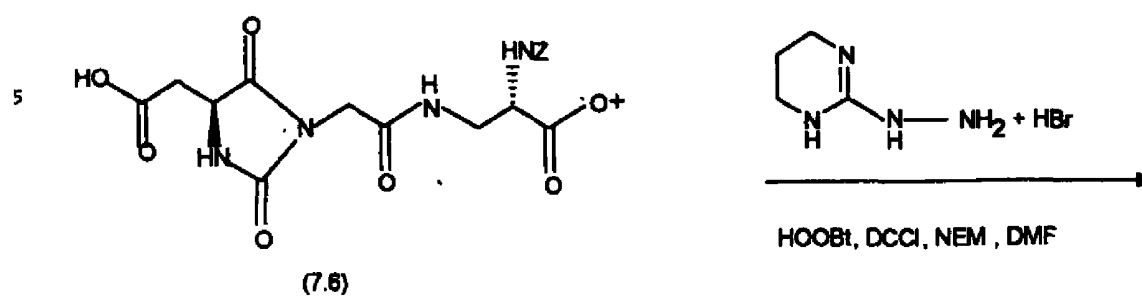
¹⁵Syntesen skjedde ifølge den følgende reaksjonssekvens:

20

25

30

35



30

35

8a) (2S)-benzyloksykarbonylamino-3-[2-(2,5-diokso-(4S)-(N'-(1,4,5,6-tetrahydro-pyrimidin-2-yl)-hydrazinokarbonyl-metyl)-imidazolin-1-yl)-acetylamino]-propionsyre-tert-butylester (8.1)

⁵ Til en oppløsning av 130 mg (0,26 mmol) av (7.6) og 43 mg (0,26 mmol) HOOBt i 5 ml DMF ved 0°C tilsatte man 58 mg DCCl, omrørte i én time ved 0°C i én time ved romtemperatur og tilsatte deretter 0,034 ml N-etylmorfolin (NEM) og 52 mg (0,26 mmol) 2-hydrazino-1,4,5,6-tetrahydropyrimidin-hydrobromid.

¹⁰ Etter 28 timers omrøring ved romtemperatur ble oppløsningsmidlet fjernet under vakuum og resten ble kromatografert med diklormetan/metanol/eddiksyre/vann = 8,5/1,5/0,15/0,15 over kiselgel. Produktfraksjonene ble inndampet og frysetørket. Man fikk 80 mg (52%) av (8.1)

¹⁵

8b) (2S)-benzyloksykarbonylamino-3-[2-(2,5-diokso-(4S)-(N'-(1,4,5,6-tetrahydro-pyrimidin-2-yl)-hydrazinokarbonyl-metyl)-imidazolin-1-yl)-acetylamino]-propionsyre (8.2)

²⁰ En oppløsning av 80 mg (0,136 mmol) av (8.1) i 4 ml 90%-ig trifluoreddiksyre ble omrørt i én time ved romtemperatur, inndampet under vakuum og resten kromatografert med vann/butanol/eddiksyre = 43/4,3/3,5 over Sephadex[®] LH 20. Produktfraksjonene ble inndampet og renset ved preparativ HPLC
²⁵ over RP 18. Etter inndamping av produktfraksjonene og frysetørking, fikk man 41,9 mg (59%) av (8.2) som fargeløst faststoff.

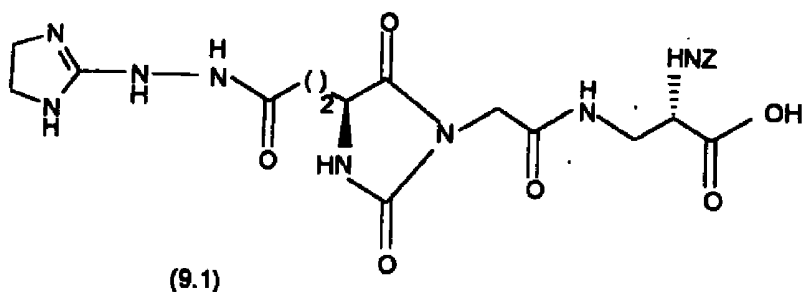
ES(+)-MS: 533 (M+H)⁺

³⁰

Eksempel 9

2-benzyloksykarbonylamino-3-[2-((4S)-(2-(N'-(4,5-dihydro-1H-imidazol-2-yl)-hydrazinokarbonyl)-etyl)-2,5-diokso-imidazolidin-1-yl)-acetylamino]-propionsyre (9.1)

³⁵



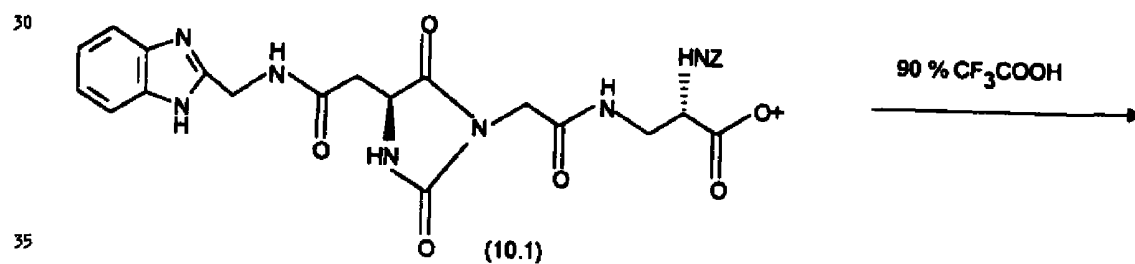
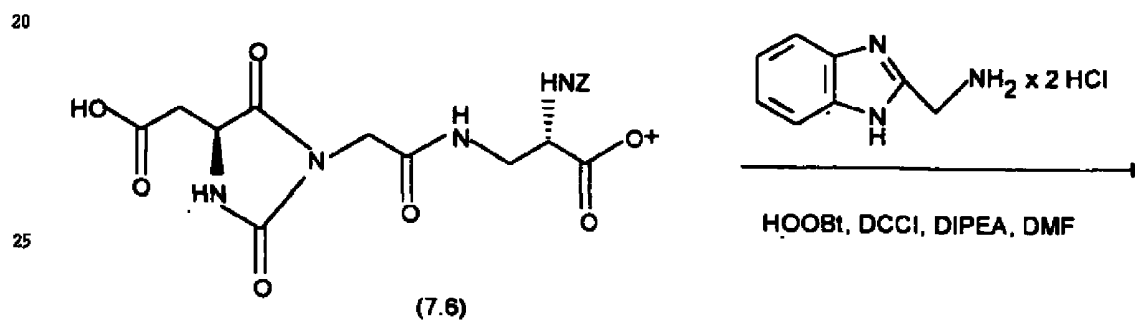
Syntesen av (9.1) skjedde som beskrevet i eksempel 7 med
 10 utgangspunkt i L-glutaminsyre.

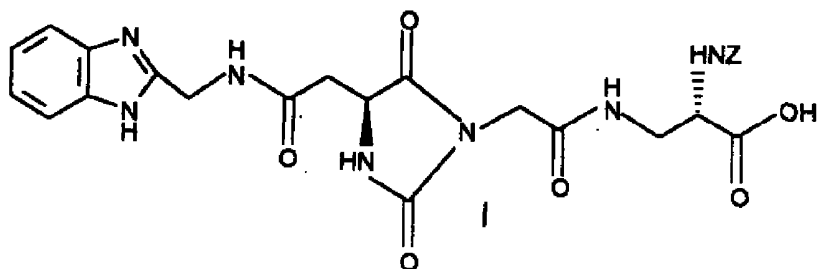
ES(+)-MS: 533 (M+H)⁺

Eksempel 10

3-[(2-((4S)-(8(1H-benzimidazol-2-ylmetyl)-karbamoyl)-metyl)-
 15 2,5-diokso-imidazolidin-1-yl)-acetylamino]-(2S)-benzyloksy-
 karboxylamino-propionsyre (10.2)

Syntesen skjedde ifølge den følgende reaksjonssekvens:





(10.2)

10a) 3-[(2-((4S)-(8(1H-benzimidazol-2-ylmetyl)-karbamoyl)-metyl)-2,5-diokso-imidazolidin-1-yl)-acetylamino]-(2S)-benzyloksykarbonylamino-propionsyre-tert-butylester (10.1)

¹⁵Til en oppløsning av 430 mg (0,87 mmol) av (7,6) og 142,5 mg (0,87 mmol) HOOBt i 10 ml DMF ved 0°C tilsatte man 192 mg DCCl. Etter én times omrøring ved 0°C og én time ved romtemperatur ble 231 mg (1,04 mmol) 2-(aminometyl)-benzimidazol og 0,5 ml diisopropyl-etylamin (DIPEA) tilsatt og blandingen ble
²⁰videre omrørt i to timer ved romtemperatur. Etter henstand over natten ble oppløsningsmidlet fjernet under vakuum og resten ble kromatografert med diklormetan/metanol/eddiksyre/vann = 9,5/0,5/0,05/0,05 over kiselgel. Etter inndamping av produktfraksjonene fikk man 390 mg (72%) av (10.1).

10b) 3-[(2-((4S)-(8(1H-benzimidazol-2-ylmetyl)-karbamoyl)-metyl)-2,5-diokso-imidazolidin-1-yl)-acetylamino]-(2S)-benzyloksykarbonylamino-propionsyre (10.2)

³⁰360 mg (0,579 mmol) av (10.1) ble oppløst i 10 ml 95%-ig trifluoreddiksyre. Etter 30 minutter ved romtemperatur ble oppløsningen inndampet under vakuum, resten ble skilt mellom eddiksyre og vann, vannfasen ekstrahert med eddikester og frysetørket. Resten ble kromatografert med vann/butanol/eddiksyre = 43/4,3/3,5 over Sephadex³ LH 20. Produktfraksjonene ble
³⁵inndampet og frysetørket. Man fikk 135 mg (40%) av (10.2) som fargeløst faststoff.

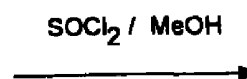
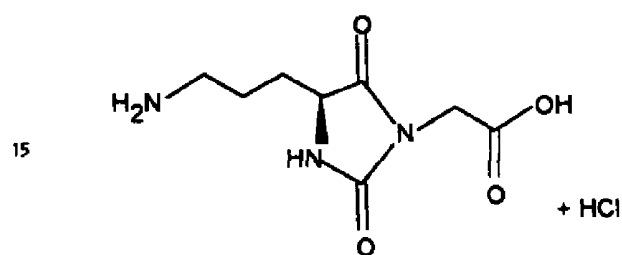
ES(+)-MS: 566 (M + H)⁺

Eksempel 11

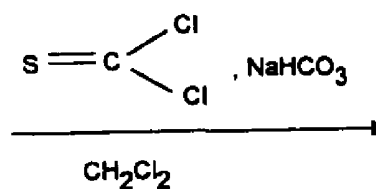
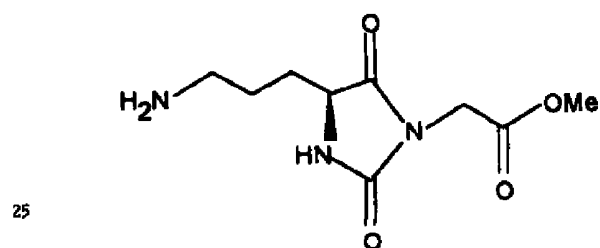
(2S)-benzyloksykarbonylamino-3-[2-((4S)-(3-(3H-imidazol[4,5-b]pyridin-2-ylamino)-propyl)-2,5-diokso-imidazolidin-1-yl)-acetylamino]-propionsyre (11.7)

Syntesen skjedde ifølge den følgende reaksjonssekvens:

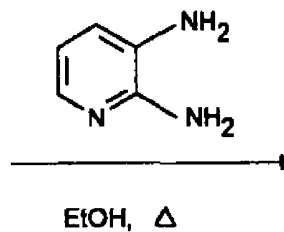
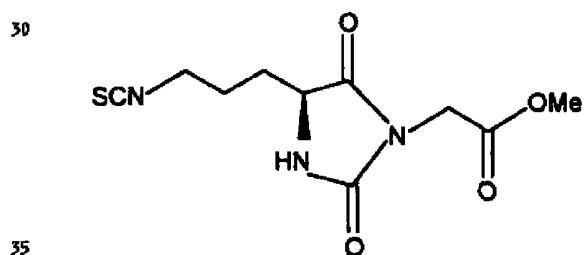
10



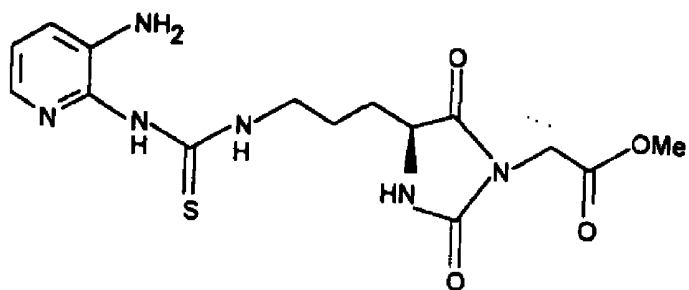
20



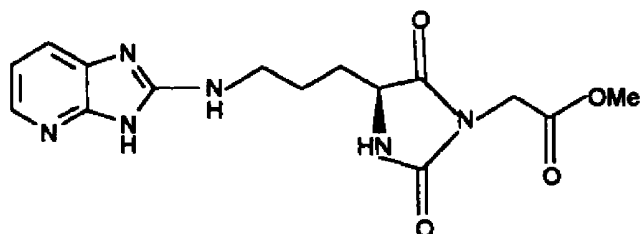
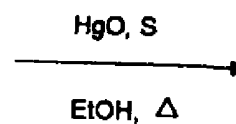
30



46

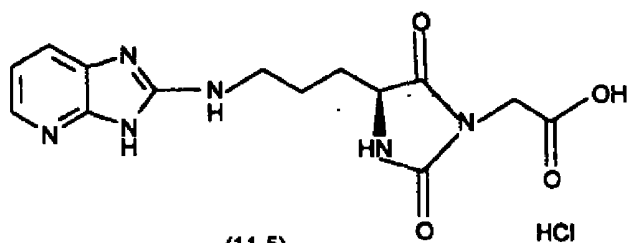


(11.3)

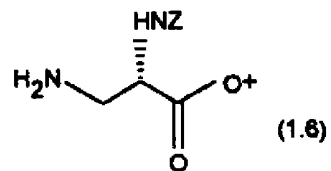


(11.4)

kons. HCl

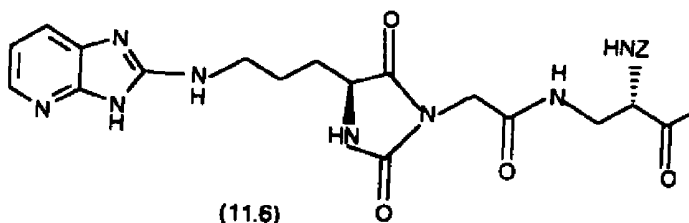


(11.5)



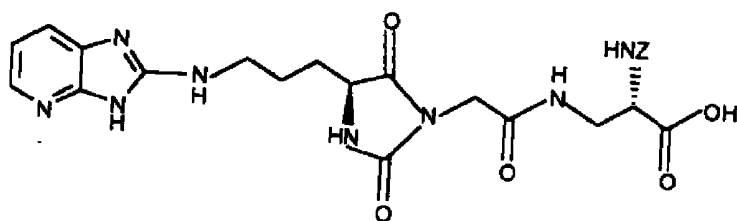
(1.6)

TOTU, DIPEA, DMF



(11.6)

O+95% trifluoreddiksyre



(11.7)

⁵ 11a) [4-(3-amino-propyl)-2,5-diokso-imidazolidin-1-yl]-eddiksyre-metylester-hydroklorid (11.1)

Man tilsatte ved -15°C til 100 ml metanol, 12,5 ml (107 mmol) tionylklorid, 21,5 g (85,4 mmol) av (1.4) og omrørte reaksjonsblanding¹⁰ en i 24 timer ved romtemperatur. Deretter ble oppløsningen hellet i dietyleter, bunnfallet filtrert fra og vasket med dietyleter. Etter tørking under høyvakuum fikk man 20,52 g (90%) av en (11.1) som fargeløst faststoff.

¹⁵ 11b) [4-(3-isotiocyano-propyl)-2,5-diokso-imidazolidin-1-yl]-eddiksyre-metylester (11.2)

Man tilsatte til en suspensjon av 2,65 g (10 mmol) av (11.1) i 30 ml diklormetan, 100 ml mettet natriumhydrogenkarbonatoppløsning. Etter ti minutters omrøring under isavkjøling tilsatte²⁰ man 1,53 ml (20 mmol) tiofosgen til metylenkloridfasen. Det ble omrørt i ti minutter under isavkjøling, fasene skilt og vannfasen ekstrahert to ganger med diklormetan. De sammenslåtte organiske faser ble tørket over natriumsulfat. Etter filtrering og fjerning av oppløsningsmidlet under vakuum fikk man 2,04 g²⁵ (75%) av (11.2).

11c) [(4S)-(3-(3-(3-amino-pyridin-2-yl)-tiourinstoff)-propyl)-2,5-diokso-imidazolidin-1-yl]-eddiksyre-metylester (11.3)

³⁰ En oppløsning av 1,66 g (6,11 mmol) av (11.2) og 667 mg (6,11 mmol) 2,3-diaminopyridin i 18 ml absolutt etanol, ble det omrørt i 16 timer ved romtemperatur og deretter to timer med tilbakekjøling. Oppløsningsmidlet ble fjernet under vakuum og resten ble kromatografert med diklormetan/metanol/eddiksyre/vann = 9/1/0,1/0,1. Etter inndamping av produktfraksjonene³⁵ og frysetørking fikk man 1,67 g (72%) av (11.3).

11d) [(4S)-(3-(3H-imidazo[4,5]pyridin-2-ylamino)-propyl)-2,5-diookso-imidazolidin-1-yl]-eddiksyre-metylester (11.4)

Til en oppløsning av 1,43 g (3,75 mmol) av (11.3) i 80 ml etanol, tilsatte man 1,62 (7,51 mmol) kvikksølvoksid og 24 mg svovel og oppvarmet blandingen i én time med tilbakeløpskjøling. Etter filtrering og inndamping av filtratet under vakuum, fikk man 1,15 g (89%) av (11.4).

11e) [(4S)-(3-(3H-imidazo[4,5-b]pyridin-2-ylamino)-propyl)-2,5-diookso-imidazolidin-1-yl]-eddiksyre-hydroklorid (11.5)

286 mg (0,83 mmol) av (11.4) i 10 ml konsentrert HCl ble omrørt i fem timer ved 50°C. Etter filtrering ble filtratet fortynnet med vann og frysetørket. Man fikk 277 mg (91%) av (11.5) som fargeløst faststoff.

11f) (2S)-benzyloksykarbonylamino-3-[2-((4S)-(3-(3H-imidazo[4,5-b]pyridin-2-ylamino)-propyl)-2,5-diookso-imidazolidin-1-yl)-acetylamino]-propionsyre-tert-butylester (11.6)

Til en oppløsning av 267 mg (0,72 mmol) av (11.5) og 213 mg (0,72 mmol) av (1.6) i 10 ml DMF, tilsatte man 237 mg (0,72 mmol) O-[cyan(etoksykarbonyl)metylenamino]-1,1,3,3-tetrametyluronium-tetrafluorborat (TOTU) og 0,245 ml diisopropyl-etylamin (DIPEA) og omrørte i én time ved romtemperatur. Oppløsningsmidlet ble fjernet under vakuum, resten oppløst i eddikester og eddikesterfasen to ganger ekstrahert med mettet NaHCO₃-oppløsning og to ganger med vann. Den organiske fase ble tørket over natriumsulfat. Etter filtrering og inndamping av filtratet under vakuum fikk man 425 mg (97%) av (11.6).

11g) (2S)-benzyloksykarbonylamino-3-[2-((4S)-(3-(3H-imidazo[4,5-b]pyridin-2-ylamino)-propyl)-2,5-diookso-imidazolidin-1-yl)-acetylamino]-propionsyre (11.7)

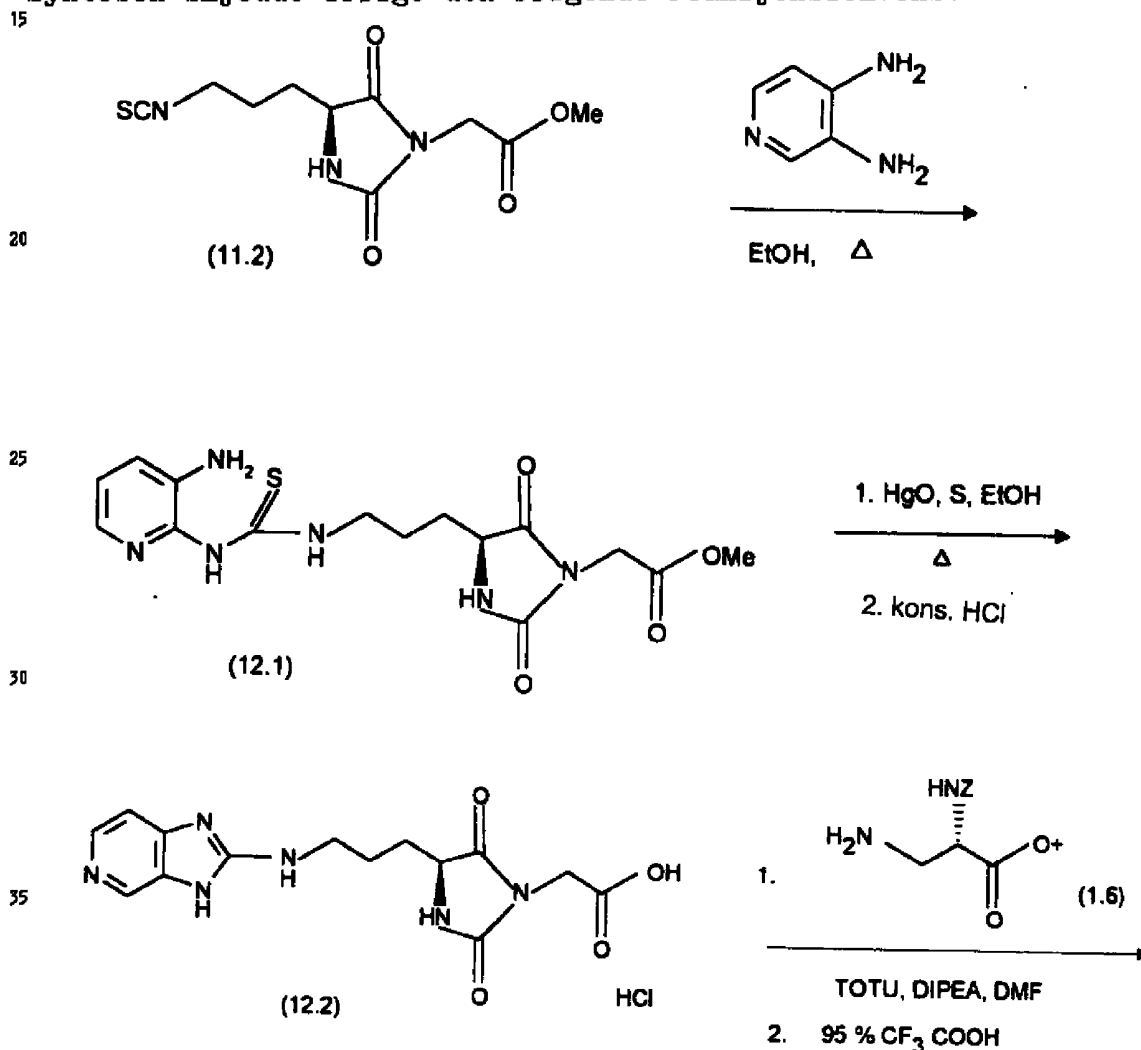
420 mg (0,69 mmol) av (11.6) ble oppløst i 10 ml 95%-ig tri-fluoreddiksyre. Etter 15 minutter ved romtemperatur ble oppløsningen inndampet under vakuum og resten kromatografert med vann/butanol/eddiksyre = 43/4,3/3,5 over Sephadex[®] LH 20. Produktfraksjonene ble inndampet og frysetørket. Man fikk 234⁵ mg (62%) av (11.7) som fargeløst faststoff.

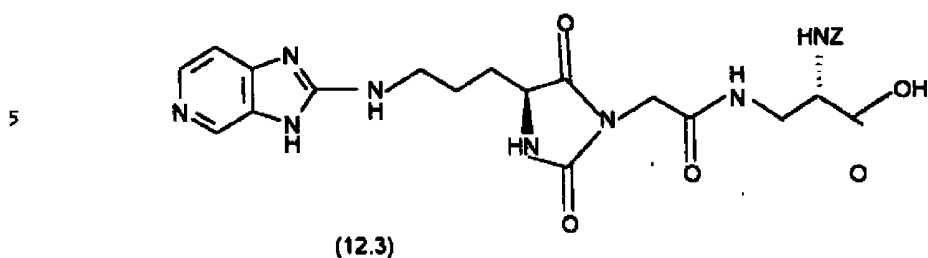
ES(+)-MS: 533 (M + H)⁺

Eksempel 12

¹⁰ (2S)-benzyloksykarbonylamino-3-[2-(4S)-(3-(3H-imidazo[4,5-c]pyridin-2-ylamino)-propyl)-2,5-diokso-imidazolidin-1-yl]-acetylamino]-propionsyre (12.3)

Syntesen skjedde ifølge den følgende reaksjonssekvens:





10

Utgangspunktet for syntesen av (12.3) er (11.2), som blir omsatt analogt med fremstillingen av (11.3) med 3,4-diaminopyridin til (12.1). Senere blir det så analogt med fremstillingen av (11.4) og (11.5) cyclisert med kvikksølvoksid og omsatt med konsentrert HCl til (12.2). (12.2) blir omsatt med (1.6) som beskrevet ved fremstillingen av (11.6), og det således dannede koplingsprodukt overført til (12.3) under spalting av tert-butylesteren, som beskrevet for syntesen av (11.7) fra (11.6).

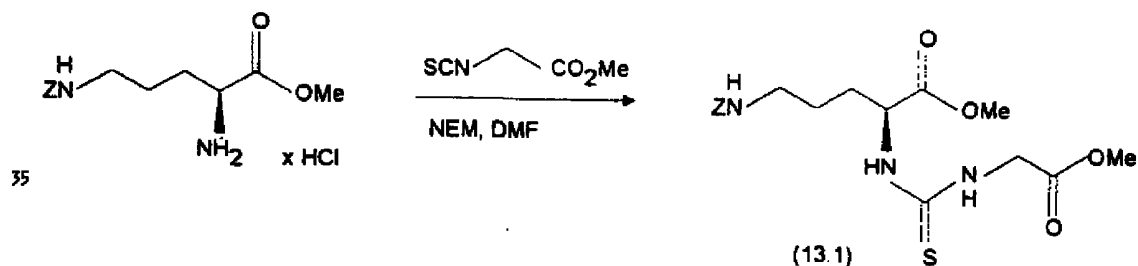
ES(+)-MS: 553 (M + H)⁺

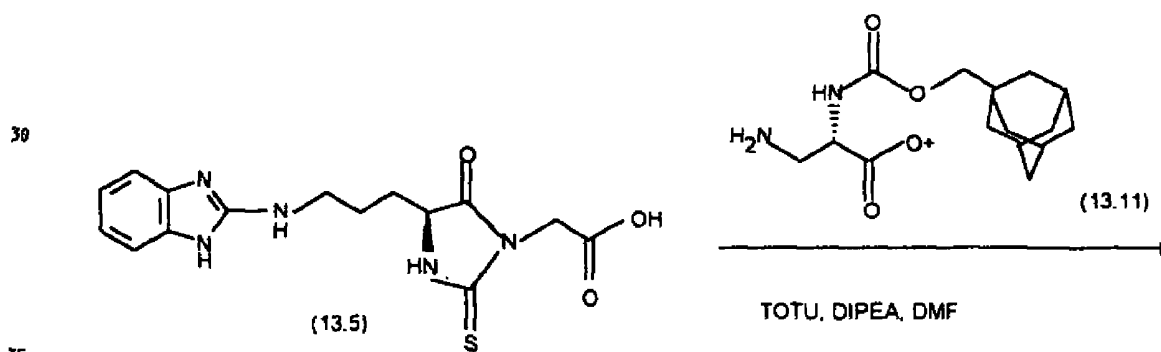
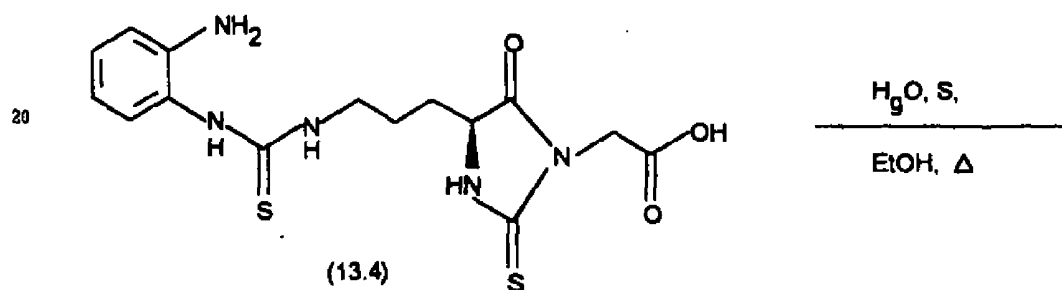
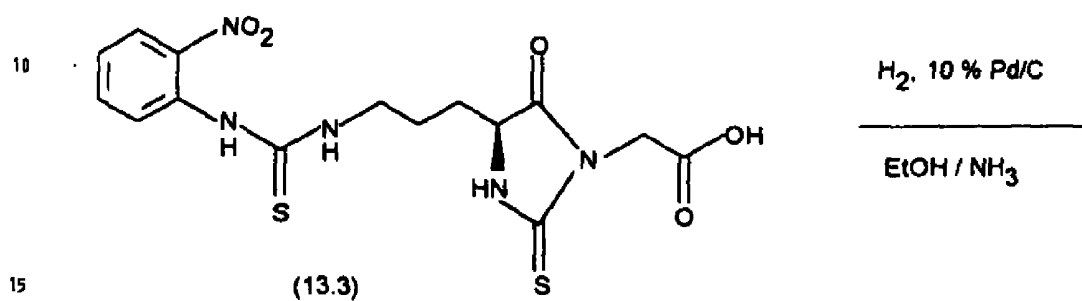
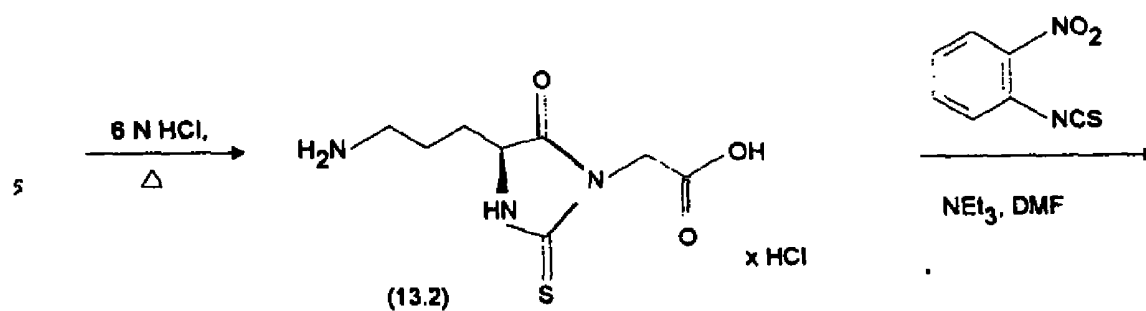
Eksempel 13

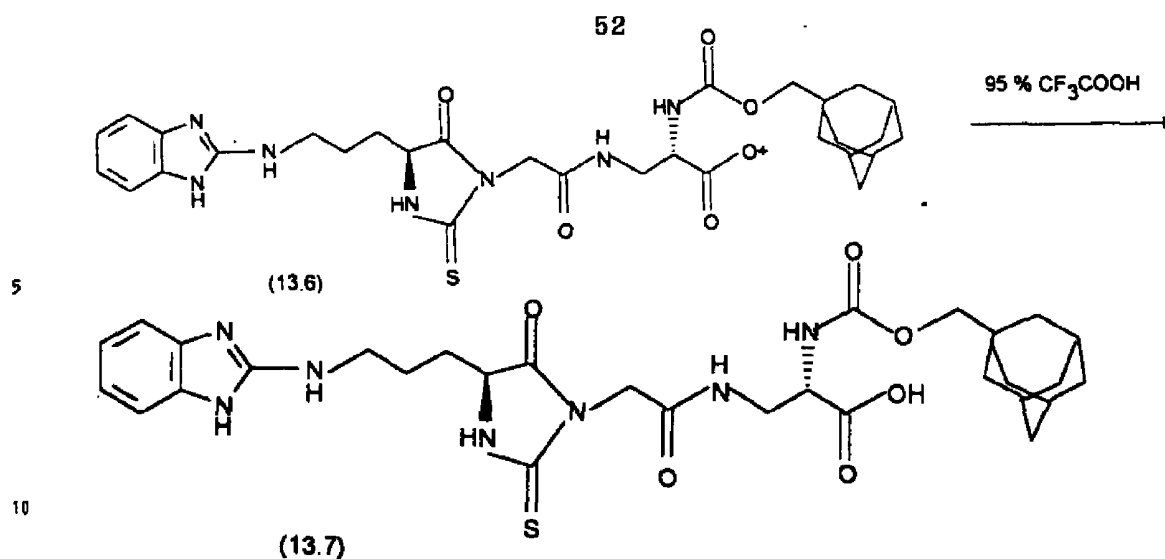
25

(2S)-(adamantan-1-yl-metoksykarbonylamino)-3-(((4S)-(3-(benzimidazolyl-2-amino)-propyl)-5-okso-2-tio-2-imidazolidin-1-yl)-acetylamino]-propionsyre (13.7)

30 Syntesen skjedde ifølge den følgende reaksjonssekvens:







13a) 5-benzyloksykarbonyl-amino-(2S)-metoksykarbonylmetyl-aminotio-karbonylamino-5-pentansyre-metylester (13.1)

¹⁵ Til en oppløsning av 6,32 g (20 mmol) H-Orn(Z)-OMe x HCl (Bachem) i 40 ml DMF ved 0°C tilsatte man 2,62 g (20 mmol) isotiocyanato-eddiksyremetylester og 2,3 g (20 mmol) N-etyl-morfolin (NEM). Etter 20 timers omrøring ved romtemperatur ble oppløsningsmidlet fjernet under vakuum, resten tatt opp i ²⁰ diklormetan og diklormetanoppløsningen ekstrahert to ganger med vann. Etter tørking av den organiske fase over natriumsulfat, filtrering og fjerning av oppløsningsmidlet under vakuum, fikk man (13.1) som ble direkte benyttet for syntesen av (13.2).

²⁵ 13b) [((4S)-(3-amino-propyl))-5-okso-2-tiokso-imidazolidin-1-yl]-eddiksyre-hydroklorid (13.2)

En suspensjon av (13.1) i 150 ml 6N HCl ble omrørt i fem timer ved 50°C. Oppløsningen ble inndampet, resten omrørt to ganger ³⁰ med dietyleter og deretter ble resten tørket under høyvakuum og deretter over KOH. Man fikk (13.2) som ble benyttet direkte for syntese av (13.3).

13c) 2-[(4S)-(3-(3-(2-nitrofenyl)-tiourinstoff)-propyl)-5-okso-2-tiokso-imidazolidin-1-yl]-eddiksyre (13.3)

Til en oppløsning av (13.2) og 3,6 (20 mmol) 2-nitrofenylisotiocyanat i 50 ml DMF under isavkjøling dryppet man til 2,77 ml⁵ (20 mmol) trietylamin. Man lot oppløsningen omrøre over natten ved romtemperatur, tilsatte 360 mg (2 mmol) 2-nitrofenylisotiocyanat og 0,8 ml trietylamin og omrørte videre i fem timer ved romtemperatur. Oppløsningsmidlet ble fjernet under vakuum, resten oppløst i eddikester og eddikesterfasen vasket¹⁰ to ganger med en vandig K₂SO₄-oppløsning og tørket over natriumsulfat. Etter filtrering ble eddikesteren fjernet under vakuum og resten kromatografert med diklormetan/metanol/eddiksyre/vann = 9/1/0,1/0,1 over kiselgel. Etter inndamping av produktfraksjonene fikk man 4,06 g (49% med hensyn på (13.1))¹⁵ av (13.3).

13d) 2-[(4S)-(3-(3-(2-aminofenyl)-tiourinstoff)-propyl)-5-okso-2-tiokso-imidazolidin-1-yl]-eddiksyre (13.4)

²⁰ 611 mg (1,48 mmol) av (13.4) i 50 ml mettet etanolisk ammoniakkoppløsning, ble det hydrert over 600 mg 10% Pd/C i tre timer ved romtemperatur. Etter filtrering og inndamping av filtratet under vakuum, fikk man 488 mg (87%) av (13.4).

²⁵ 13e) [(4S)-(3-(benzimidazolyl-2-amino)-propyl)-5-okso-2-tiokso-imidazolidin-1-yl]-eddiksyre (13.5)

Til en oppløsning av 485 mg (1,27 mmol) av (13.4) i 50 ml etanol ble det tilsatt 550 mg (2,54 mmol) kvikksølvklorid og³⁰ 8,1 mg svovel og blandingen ble oppvarmet i tre timer ved tilbakeløpskjøling. Etter filtrering og fjerning av oppløsningsmidlet under vakuum ble resten tatt opp i 10%-ig eddiksyre og frysetørket. Man fikk 307 g (79%) av (13.5) som fargeløst faststoff.

13f) (2S)-(adamantan-1-yl-metoksykarbonylamino)-3-(((4S)-(3-(benzimidazolyl-2-amino)-propyl)-5-okso-2-tioksoimidazolidin-1-yl)-acetylamino]-propionsyre-tert-butylester (13.6)

⁵ Til en oppløsning av 290 mg (0,834 mmol) av (13.5) og 297 mg (0,834 mmol) av (13.11) (syntese se 13h-k) i absolutt DMF ble det tilsatt 273 mg (0,834 mmol) TOTU og 0,28 ml diisopropyletylamin (DIPEA) og blandingen ble omrørt i 2,5 timer ved romtemperatur. Oppløsningsmidlet ble fjernet under vakuum,
¹⁰ resten tatt opp i eddikester og eddikesterfasen vasket to ganger med mettet natriumhydrogenkarbonatoppløsning og vann. Etter tørking over natriumsulfat ble eddikesteren fjernet under vakuum og resten kromatografert med diklormetan/metanol-/eddiksyre/vann = 9,5/0,5/0,05/0,05 over kiselgel. Etter
¹⁵ inndamping av produktfraksjonene fikk man 46,3 mg (8%) av (13.6).

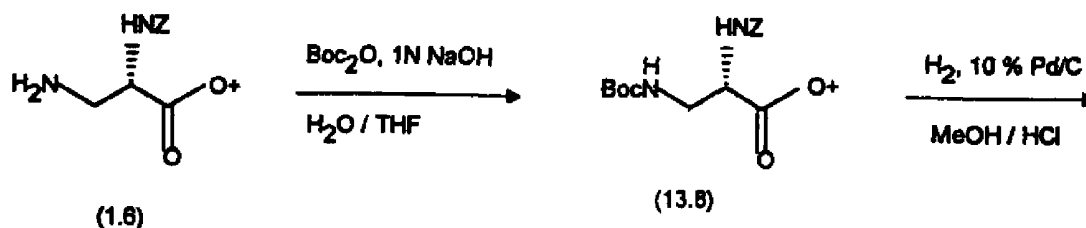
13g) (2S)-(adamantan-1-yl-metoksykarbonylamino)-3-(((4S)-(3-(benzimidazolyl-2-amino)-propyl)-5-okso-2-tioksoimidazolidin-1-yl)-acetylamino]-propionsyre (13.7)

38,1 mg (0,056 mmol) av (13.6) ble oppløst i 2 ml 95%-ig trifluoreddiksyre. Etter ti minutter ved romtemperatur ble oppløsningsmidlet inndampet under vakuum og resten ble renset
²⁵ over preparativ HPLC (RP 18). Etter frysetørking av produktfraksjonene fikk man 11 mg (32%) av (13.7).

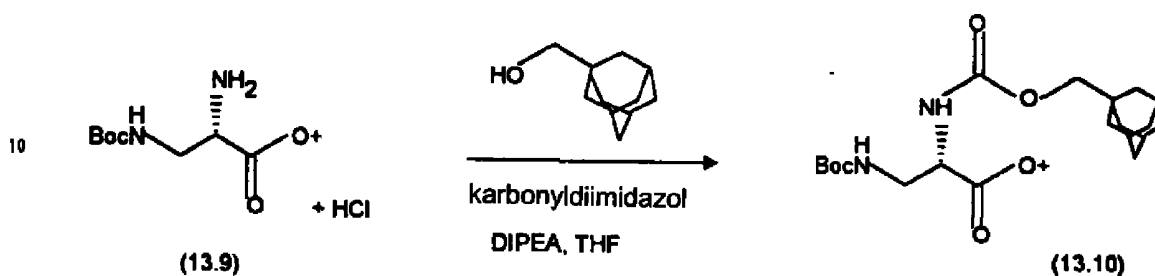
FAB-MS: 626 (M + H)⁺

³⁰ Syntese av 3-amino-(2S)-(adamantan-1-yl-metoksykarbonylamino)-propionsyre-tert-butylester (13.11)

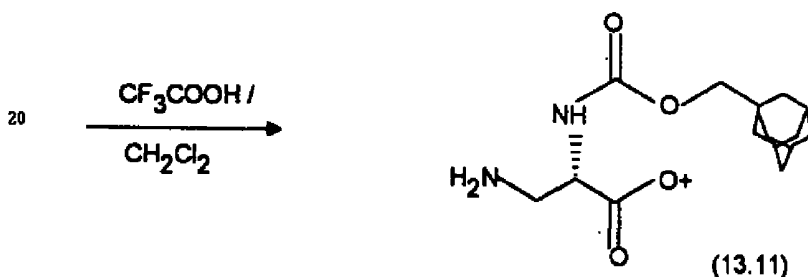
Syntesen skjedde ifølge den følgende reaksjonssekvens:



5



15



13h) (2S)-benzyloxykarbonylamino-3-tert-butoksykarbonylamino-propionsyre-tert-butylester (13.8)

Til en oppløsning av 10 g (34 mmol) av (1.6) i 600 ml tetrahydrofuran/vann = 2/1 ved 0°C tilsatte man 8,9 g (40,8)di-tert-butyl-dikarbonat og deretter porsjonsvis 1N NaOH, slik at pH i oppløsningen lå mellom 9 og 10 (forbruk av 1N NaOH: 32 ml). Etter tre timers omrøring ved romtemperatur tilsatte man 1 l vann og ekstraherte tre ganger med dietyleter. Etter tørking over natriumsulfat, filtrering og fjerning av oppløsningsmidlet under vakuum ble resten kromatografert med diklormetan/metanol = 20/1 over kiselgel. Man fikk 13,19 g (98%) av (13.8).

13i) (2S)-(2S)-amino-3-tert-butoksykarbonylamino-propionsyre-tert-butylester-hydroklorid (13.9)

13,1 g (33,2 mmol) av (13.8) ble hydrert i metanol/HCl over 10% Pd/C. Etter 1,5 timer ble det filtrert, filtratet inndampet under vakuum og man fikk 9,77 g (99%) av (13.9) som fargeløst faststoff.

10 13j) (2S)-(adamantan-1-yl-metoksykarbonylamino)-3-tert-butoksykarbonylamino-propionsyre-tert-butylester (13.10)

En oppløsning av 10,9 g (65,4 mmol) (1-hydroksymetyl)-adamantan og 10,6 g (65,4 mmol) karbonyldiimidazol i 60 ml THF ble omrørt i 1,5 timer ved 50°C. Man tilsatte 9,7 g (32,7 mmol) av (13.9) i 25 ml THF og 5,6 ml (32,7 mmol) diisopropyl-etylamin (DIPEA), omrørte fire timer ved 60°C og lot det stå over natten ved romtemperatur. Oppløsningsmidlet ble fjernet under vakuum og resten ble kromatografert med heptan/eddikester = 7/3 over kiselgel. Man fikk 8,7 g (59%) av (13.10) som fargeløs olje.

20 13k) (2S)-(adamantan-1-yl-metoksykarbonylamino)-3-amino-propionsyre-tert-butylester (13.11)

En oppløsning av 8,7 g (19,22 mmol) av (13.10) i 180 trifluor-eddiksyre/diklormetan = 1/1 ble etter ett minutt hatt i 1,5 ml iskald NaHCO₃-oppløsning. Oppløsningen ble tre ganger ekstrahert med diklormetan og diklormetanfasen deretter tørket over natriumsulfat. Etter filtrering og fjerning av oppløsningsmidlet under vakuum fikk man 6,35 g (94%) av (13.11) som fargeløst faststoff.

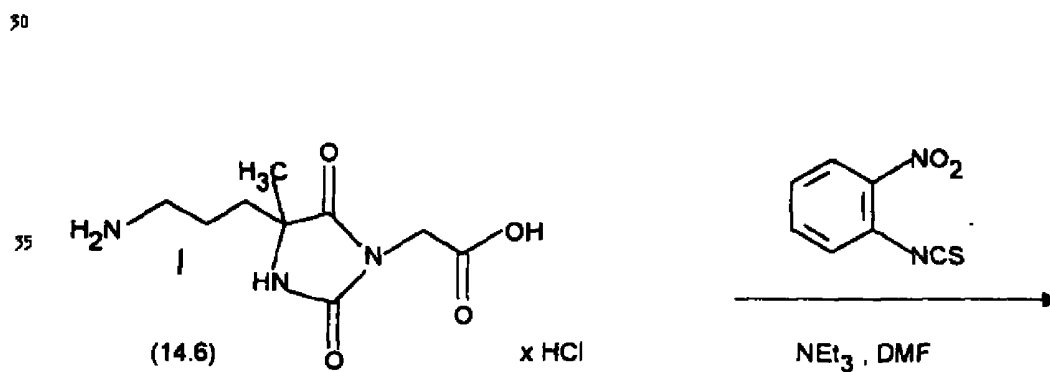
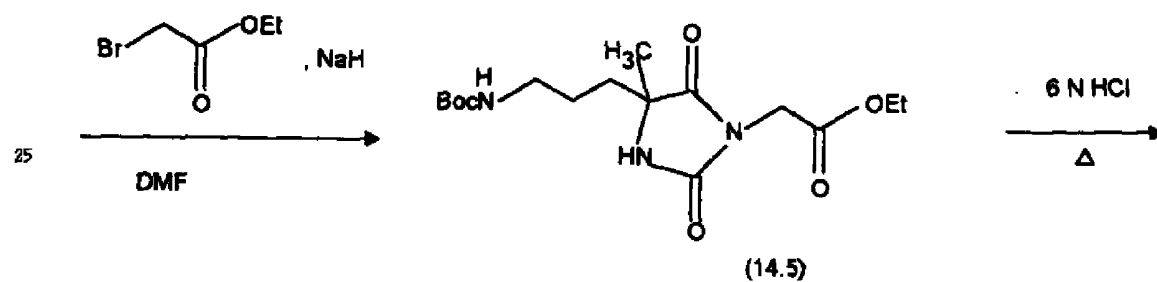
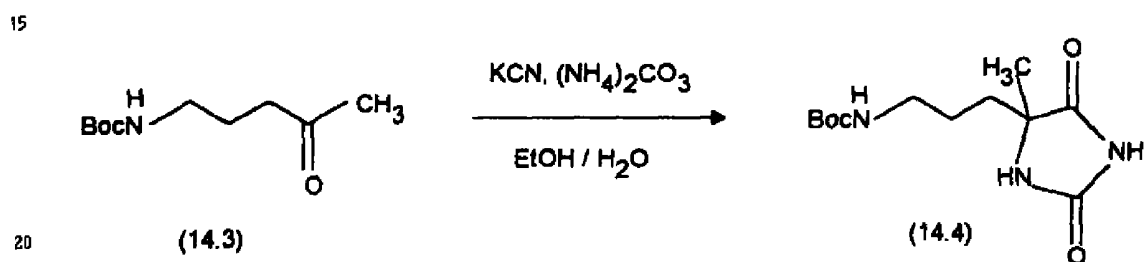
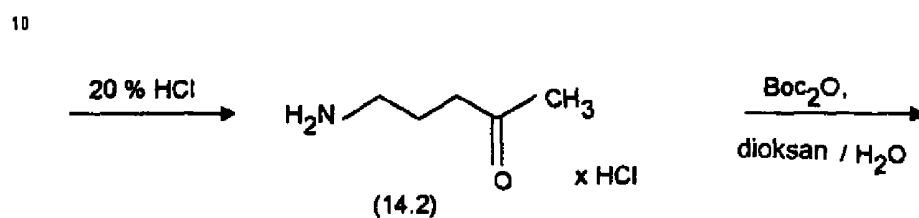
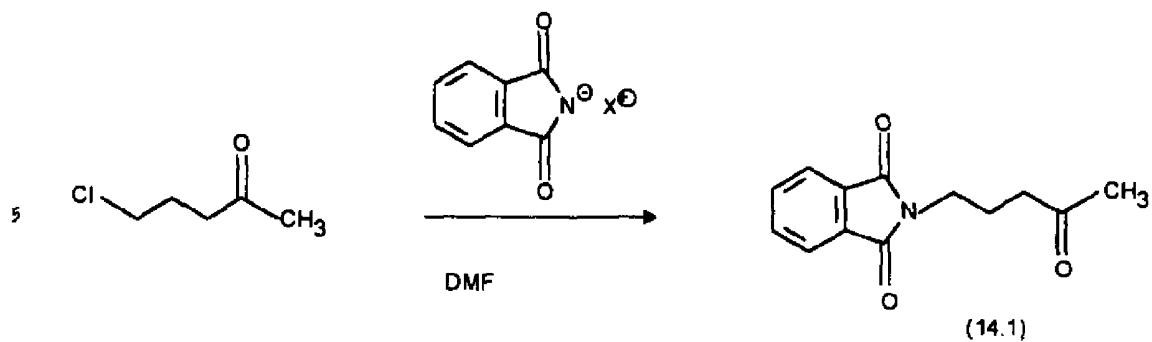
30

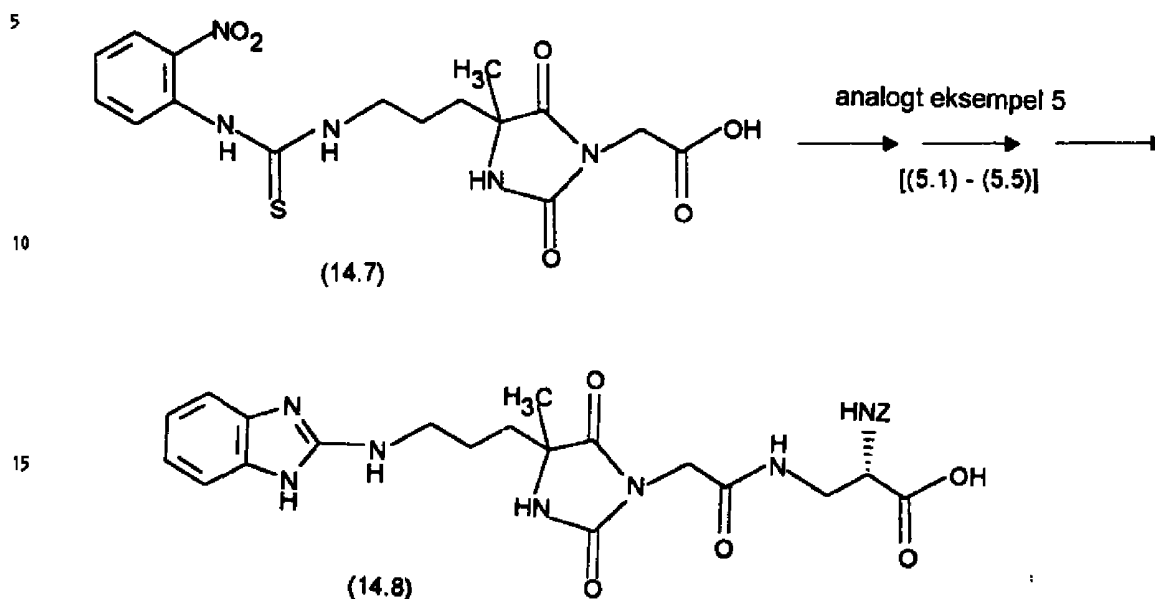
Eksempel 14

3-[2-((4R,S)-(3-(1H-benzimidazol-2-ylamino)-propyl)-4-metyl-2,5-diokso-imidazolidin-1-yl)-acetylamino]-(2S)-benzyloksykarbonylamino-propionsyre (14.8)

35

Syntesen skjedde ifølge den følgende reaksjonssekvens:





14a) 2-(4-okso-pentyl)-isoindol-1,3-dion (14.1)

25

Til en oppløsning av 14,3 ml (124,4 mmol) 5-klor-2-pentanon i 100 ml DMF ble 24,59 g (132,8 mmol) kalium-ftalamid tilsatt, blandingen omrørt i tre timer ved romtemperatur og 30 timer ved 60°C. Etter filtrering ble filtratet skilt mellom vann og dikhlorometan. Fasene ble skilt og den organiske fase etter hverandre vasket med vann, to ganger med 0,2 N NaOH-oppløsning og vann og tørket over natriumsulfat. Etter filtrering ble oppløsningsmidlet fjernet under vakuum og resten kromatografert med heptan/eddikester = 6/4 over kiselgel. Etter inndamping av produktfraksjonene fikk man 9,8 g (34%) av (14.1).

30

35

14b) 5-amino-2-okso-pentan-hydroklorid (14.2)

13 g (56,2 mmol) av (14.1) ble oppløst i 335 ml 20%-ig saltsyre og oppvarmet i seks timer med tilbakeløpskjøling. Etter henstand over natten ble blandingen filtrert ved romtemperatur⁵ og filtratet inndampet under vakuum. Man fikk en blekgul olje av rått (14.2) som ble direkte benyttet for syntesen av (14.3).

14c) 5-tert-butoksykarbonyl-amino-2-okso-pentan (14.3)
¹⁰

(14.2) (fra 14b) ble oppløst i 110 ml dioksan og 55 ml vann og oppløsningen innstilt til pH 8,5 ved tilsetning av 65 ml 1N NaOH. Ved 0°C ble 13,5 g (60,8 mmol) tilsatt, og pH-verdien i oppløsningen ble innstilt til 8,5 ved gjentatte tilsetninger av¹⁵ 1N NaOH. Etter 4,5 timers omrøring ved romtemperatur ble dioksan fjernet under vakuum, den gjenværende oppløsning innstilt pH 2-3 ved tilsetning av KHSO₄-oppløsning og ekstrahert tre ganger med eddikester. De sammenslåtte organiske²⁰ faser ble vasket med mettet natriumhydrogenkarbonatoppløsning og tørket over natriumsulfat. Etter filtrering og fjerning av oppløsningsmidlet under vakuum fikk man 11,1 g (99% med utgangspunkt i (14.1) av (14.3).

14d) (4R,S)-(3-tert-butoksykarbonyl-amino)-propyl-4-metyl-2,5-diokso-imidazolidin (14.4)
²⁵

Man tilsatte til en oppløsning av 10,06 g (50 mmol) av (14.3) i 130 ml etanol/vann = 1/1 41,96 g (439,2 mmol) ammoniumkarbonat og 4,2 g (65,1 mmol) kaliumcyanid og oppvarmet blandingen til 55-65°C. Etter 5,5 timer ved denne temperatur ble reaksjonsblandingen innstilt til pH 6,3 med 100 ml 6N HCl og omrørt i to timer. Blandingen ble satt ved romtemperatur over natten, oppløsningsmidlet fjernet under vakuum og resten ble skilt mellom vann og eddikester. Fasene ble skilt og vannfasen³⁰ ble to ganger ekstrahert med eddikester. De sammenslåtte organiske faser ble tørket over natriumsulfat, tørkemidlet

filtrert fra og oppløsningsmidlet fjernet under vakuum. Man fikk 12,42 g (92%) av (14.1) som fargeløse krystaller.

14e) [(4R,S)-(3-tert-butoksykarbonylamino-propyl)-4-metyl-2,5-diokso-imidazolidin-1-yl]-eddiksyre-etylester (14.5)

5

Under argonatmosfære tilsatte man til en blanding av 4 g (14,7 mmol) av (14.3) i 100 ml DMF under isavkjøling, 388 mg (16,1 mmol) natriumhydrid og omrørte i 45 minutter ved romtemperatur. Man tilsatte 1,63 ml (14,7 mmol) bromeddiksyre-etylester, 10 omrørte i tre timer ved romtemperatur og fjernet oppløsningsmidlet under vakuum. Resten ble oppløst i eddikester og eddik-esterfasen ble to ganger vasket med vann. Etter tørking over natriumsulfat og fjerning av oppløsningsmidlet under vakuum fikk man 4,98 g (95%) av (14.5) som blekgul olje.

15

14f) [(4R,S)-(3-amino-propyl)-4-metyl-2,5-diokso-imidazolidin-1-yl]-eddiksyre-hydroklorid (14.6)

4,98 g (13,9 mmol) av (14.5) ble suspendert i 50 ml 6N HCl og 20 oppvarmet med tilbakeløpskjøling i én time. Reaksjonsblandingen ble inndampet under vakuum, resten oppløst i vann og frysetørket. Man fikk (14.6) som råprodukt som ble direkte benyttet i syntesen av (14.7).

25 Syntesen av (14.7) med utgangspunkt i (14.6) og (14.8) med utgangspunkt i (14.7) skjedde analogt med syntesen av (5.5) med utgangspunkt i (1.4) (se eksempel 5).

30 (14.8): ES(+)-MS: 566 (M + H)⁺

Eksempel 15

(2S)-benzyloksykarbonylamino-3-[(4S)-(3-(6-metoksy-1H-benzimidazol-2-ylamino)-propyl)-2,5-diokso-imidazolidin-1-yl]-acetylamino]-propionsyre (15.3)

35

Syntesen skjedde ifølge den følgende reaksjonssekvens:



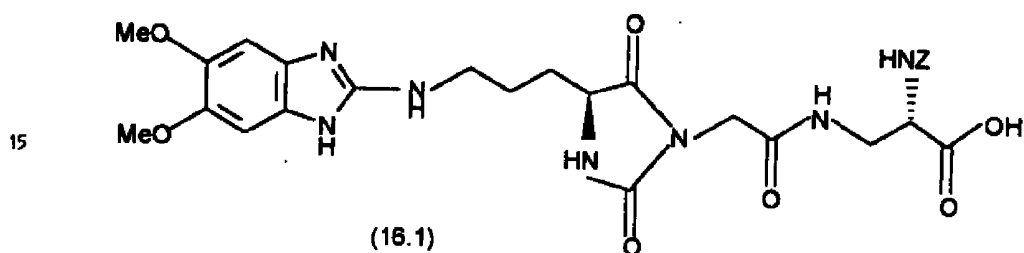
Utgangspunktet for syntesen av (15.3) er (11.2), som ble omsatt analogt med fremstillingen av (11.3) med 4-metoksy-orto-²⁵fenylendiamin ved romtemperatur til (15.1). Senere ble så analogt med fremstillingen av (11.4) og (11.5) cyclisert med kvikksølvoksid og omsatt med konsentrert HCl til (15.2). (15.2)

ble så omsatt med (1.6) som beskrevet ved fremstillingen av (11.6), og det således dannede koplingsprodukt overført til (15.3) under spalting av tert-butylesteren, som beskrevet ved syntesen av (11.7) fra (11.6).

⁵ ES(+)-MS: 582 (M + H)⁺

Eksempel 16

(2S)-benzyloksykarbonylamino-3-(((4S)-(3-(5,6-dimetoksy-1H-benzimidazol-2-ylamino)-propyl)-2,5-diokso-imidazolidin-1-yl)-
¹⁰ acetylamino]-propionsyre (16.1)



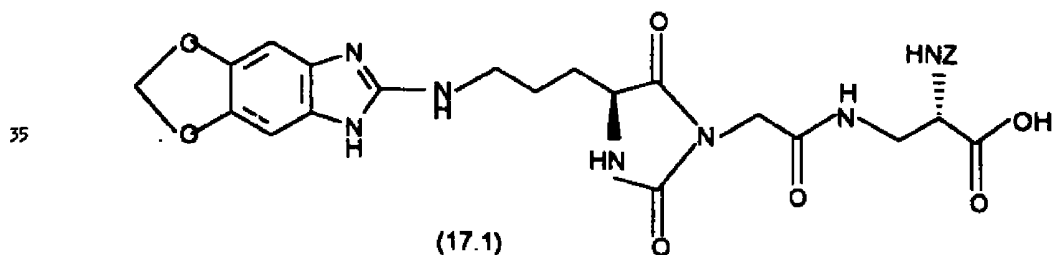
²⁰ Syntesen av (16.1) skjedde som beskrevet ved fremstillingen av (15.3), ved at man istedenfor 1-metoksy-3,4-diaminobenzen benyttet 1,2-dimetoksy-4,5-diaminobenzen som var blitt fremstilt fra 1,2-dimetoksy-4,5-dinitrobenzen ved hydrering over 10% Pd/C i metanol.

²⁵

ES(+)-MS: 612 (M+H)⁺

Eksempel 17

(2S)-benzyloksykarbonylamino-3-(((4S)-(3-(5,6-metylendioksy-2-ylamino)-propyl)-2,5-diokso-imidazolidin-1-yl)-acetylamino]-
³⁰ propionsyre (17.1)

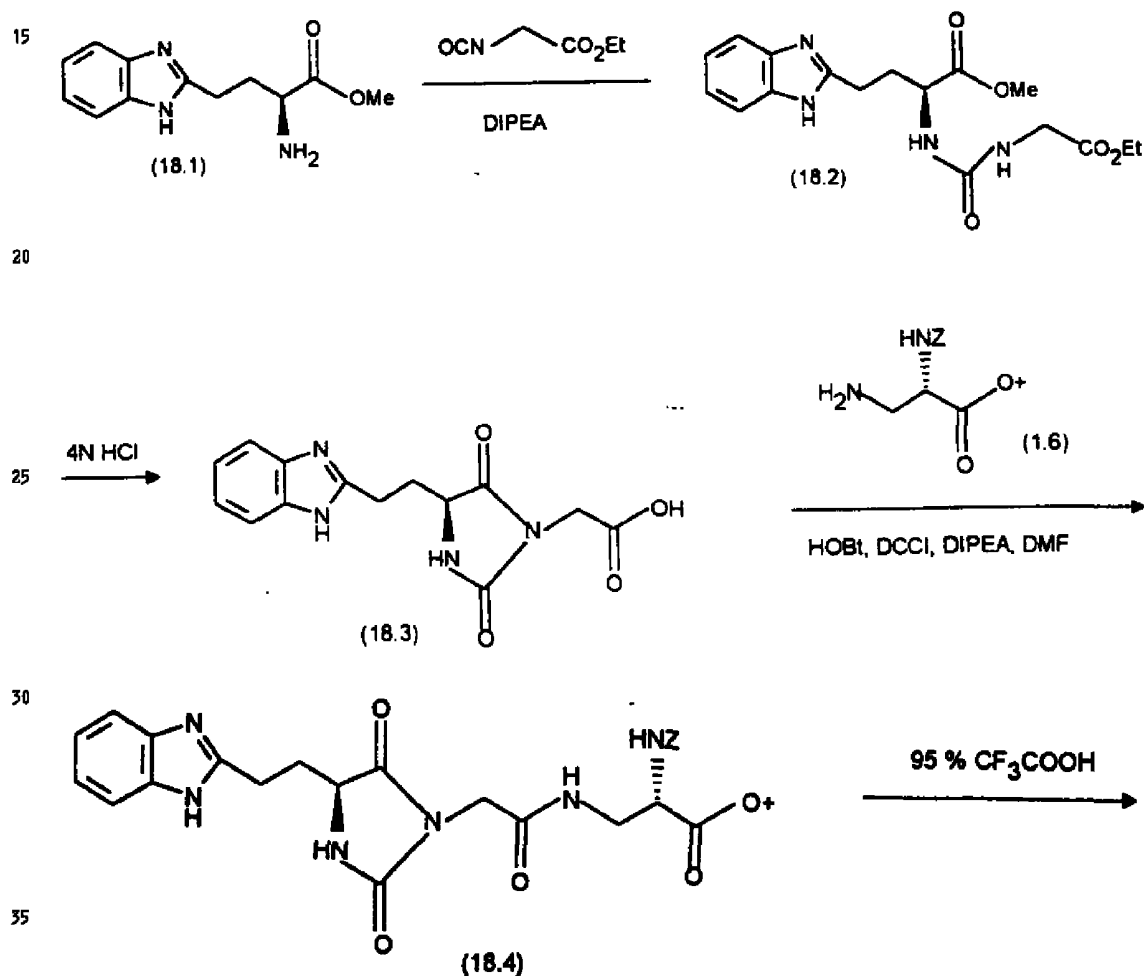


Syntesen av (17.1) skjedde som beskrevet for fremstillingen av (15.3), ved at man i stedet for 1-metoksy-3,4-diaminobenzen benyttet 1,2-metylendioksy-4,5-diaminobenzen, som var blitt fremstilt fra 1,2-metylendioksy-4,5-dinitrobenzen ved hydrering over 10% Pd/C i metanol. Den siste ble fremstilt fra 1,2-metylendioksy-4-nitrobenzen ved nitrering som beskrevet i D.S. Wulfman et al., Synthesis 1978, 924.

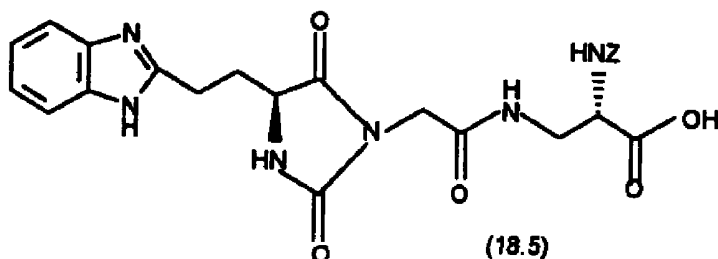
ES(+)-MS: 624 (M+H)⁺

Eksempel 18

Syntesen skjedde ifølge den følgende reaksjonssekvens:



5



18a) (2S)-amino-4-(2-benzimidazolyl)-butansyre-metylester
 10 (18.1)

(18.1) ble fremstilt som beskrevet av Hans Lettre et al.,
 Berichte 1951, 84, 719.

15 18b) (2S)-etyloksykarbonylmetyl-aminokarbonylamino-4-(2-(1H-
 benzimidazolyl)-butansyre-metylester (18.2)

Til en oppløsning av 4,6 g (20 mmol) av (18.1) i absolutt DMF
 ved 0°C tilsatte man 3,4 ml (20 mmol) diisopropyl-etylamin
 20 (DIPEA) og 2,58 g (20 mmol) isocyanatoeddiksyreetylester. Etter
 16 timers omrøring ved romtemperatur ble oppløsningsmidlet
 fjernet under vakuum, resten tatt opp i eddikester og eddik-
 esterfasen to ganger vasket med 10% sitronsyreoppløsning. Den
 vandige fase ble innstilt til pH 10 med 2N KOH og flere ganger
 25 ekstrahert med eddikester. De sammenslåtte organiske faser ble
 tørket over natriumsulfat, tørkemidlet ble filtrert fra og
 filtratet inndampet under vakuum. Man fikk 4,4 g (61%) av
 (18.2).

30 18c) [(4S)-(2-(1H-benzimidazol-2-yl)-etyl)-2,5-diokso-
 imidazolidin-1-yl]-eddiksyre (18.3)

En oppløsning av 200 mg (0,55 mmol) av (18.2) i 4 ml 4N HCl ble
 omrørt i 16 timer ved romtemperatur. Etter inndamping av opp-
 35 løsningsmidlet under vakuum, ble resten tatt opp i vann og
 frysetørket. Man fikk 160 mg (53%) av (18.3) som fargeløst
 faststoff.

18d) 3-[2-((4S)-(2-(1H-benzimidazol-2-yl)-etyl)-2,5-diocksimidazolidin-1-yl)-acetylamino]-(2S)-benzyloksykarbonylamino-propionsyre-tert-butylester (18.4)

⁵ Til en oppløsning av 160 mg (0,53 mmol) av (18.3), 72 mg (0,53 mmol) HOBt og 156 mg (0,53 mmol) av (1.6) i 5 ml DMF ved 0°C ble tilsatt 0,09 ml (0,53 mmol) diisopropyl-etylamin (DIPEA) og 120 mg (0,58 mmol) DCCl. Det ble omrørt i 20 minutter ved 0°C og 16 timer ved romtemperatur. Bunnfallet ble filtrert av,
¹⁰ filtratet inndampet, resten tatt opp i eddikester og eddikesterfasen vasket med 10% KHCO₃-oppløsning og mettet NaCl-oppløsning og tørket over natriumsulfat. Etter filtrering ble oppløsningsmidlet fjernet under vakuum og resten (18.4, råprodukt) direkte omsatt til (18.5).

¹⁵

18e) 3-[2-((4S)-(2-(1H-benzimidazol-2-yl)-etyl)-2,5-diocksimidazolidin-1-yl)-acetylamino]-(2S)-benzyloksykarbonylamino-propionsyre (18.5)

²⁰ En oppløsning av ((18.4), råprodukt) i 5 ml 95%-ig trifluoreddiksyre ble omrørt i 20 minutter ved romtemperatur. Oppløsningsmidlet ble fjernet under vakuum og resten ble oppløst i tert-butanol/vann = 1/1 og frysetørket. Man fikk 120 mg (44%, med utgangspunkt i (18.3)) av (18.5) som blekgult faststoff.

²⁵

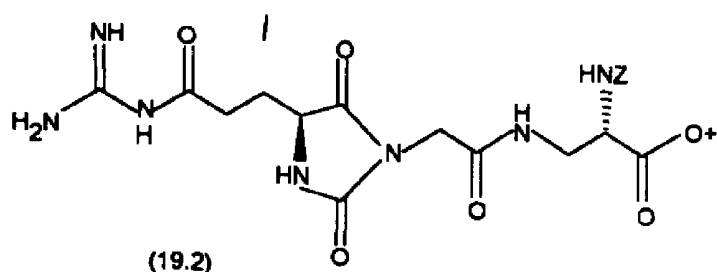
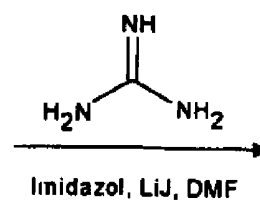
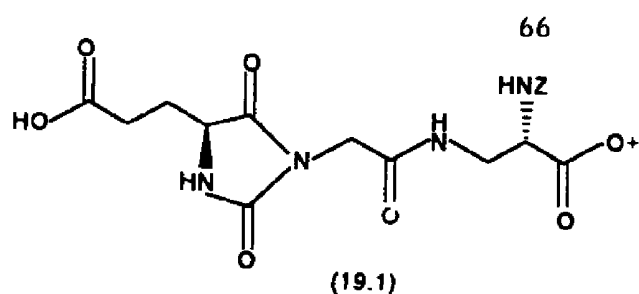
ES(+)-MS: 492 (M + H)⁺

Eksempel 19

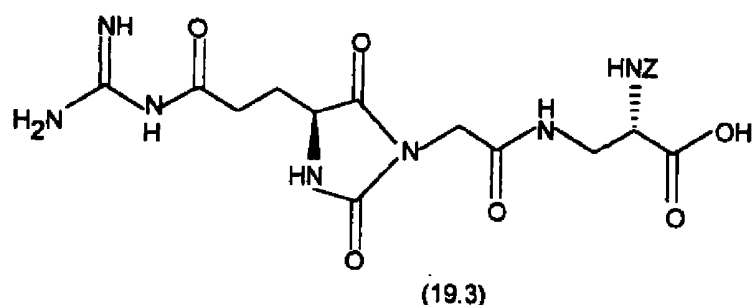
(2S)-benzyloksykarbonylamino-3-[2-((4S)-(3-guanidino-3-okso-
³⁰ propyl)-2,5-diocksimidazolidin-1-yl)-acetylamino]-propionsyre (19.3)

Syntesen skjedde ifølge den følgende reaksjonssekvens:

³⁵



95 % CF₃COOH



19a) (2S)-benzyloksykarbonyl-amino-3-(((4S)-(2-(karboksy-etyl)-2,5-diokso-imidazolidin-1-yl)-acetylamino]-propionsyre-tert-butylester (19.1)

Syntesen av (19.1) skjedde med utgangspunkt i L-glutaminsyre analogt med syntesen av (7.6) med utgangspunkt fra L-asparginsyre (se eksempel 7).

19b) (2S)-benzyloksykarbonylamino-3-[2-((4S)-(3-guanidino-3-okso-propyl)-2,5-diokso-imidazolidin-1-yl)-acetylamino]-propionsyre-tert-butylester (19.2)

Til en oppløsning av 170 mg (2,88 mmol) guanidin og 6,5 mg (0,09 mmol) imidazol i 2 ml DMF tilsatte man 12,8 mg (0,09 mmol) litiumjodid og en oppløsning av 500 mg (0,96 mmol) av (19.1) i 5 ml DMF og omrørte blandingen over natten ved romtemperatur. Oppløsningsmidlet ble fjernet under vakuum, resten
 5 behandlet med eddikester, eddikesterfasen vasket med KHC_3O_3 -oppløsning og tørket over natriumsulfat. Etter filtrering ble oppløsningsmidlet fjernet under vakuum og man fikk 30 mg av (19.2, råprodukt), som direkte ble tilsatt for syntesen av (19.3).

10

19c) (2S)-benzyloksykarbonylamino-3-[2-((4S)-(3-guanidino-3-okso-propyl)-2,5-diokso-imidazolidin-1-yl)-acetylamino]-propionsyre (19.3)

En oppløsning av 30 mg av (19.2, råprodukt), i 1 ml 95%-ig
 15 trifluoreddiksyre ble omrørt i ti minutter ved romtemperatur. Oppløsningsmidlet ble fjernet under vakuum og resten ble rensset ved preparativ HPLC over RP 18. Etter inndamping av produktfraksjonene og frysetørking fikk man 9,5 mg (2%, med utgangspunkt i (19.1)) av (19.3) som fargeløst faststoff.

20

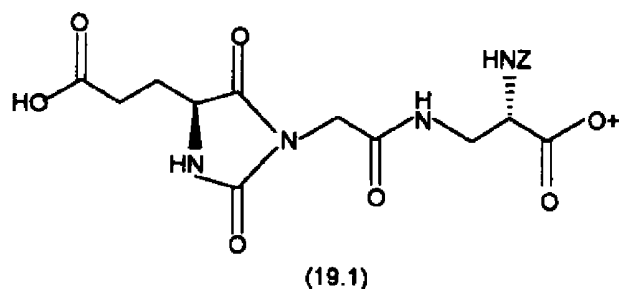
ES(+)-MS: 492 (M + H)⁺

Eksempel 20

(2S)-benzyloksykarbonylamino-3-[2-(2,5-diokso-(4S)-(2-(1,4,5,6-
 25 tetrahydro-pyrimidin-2-ylkarbamoyl)-etyl)-imidazolin-1-yl)-acetylamino]-propionsyre (20.2)

Syntesen skjedde ifølge den følgende reaksjonssekvens:

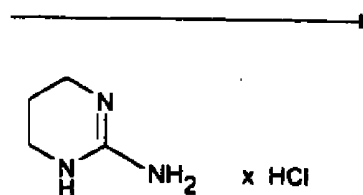
30



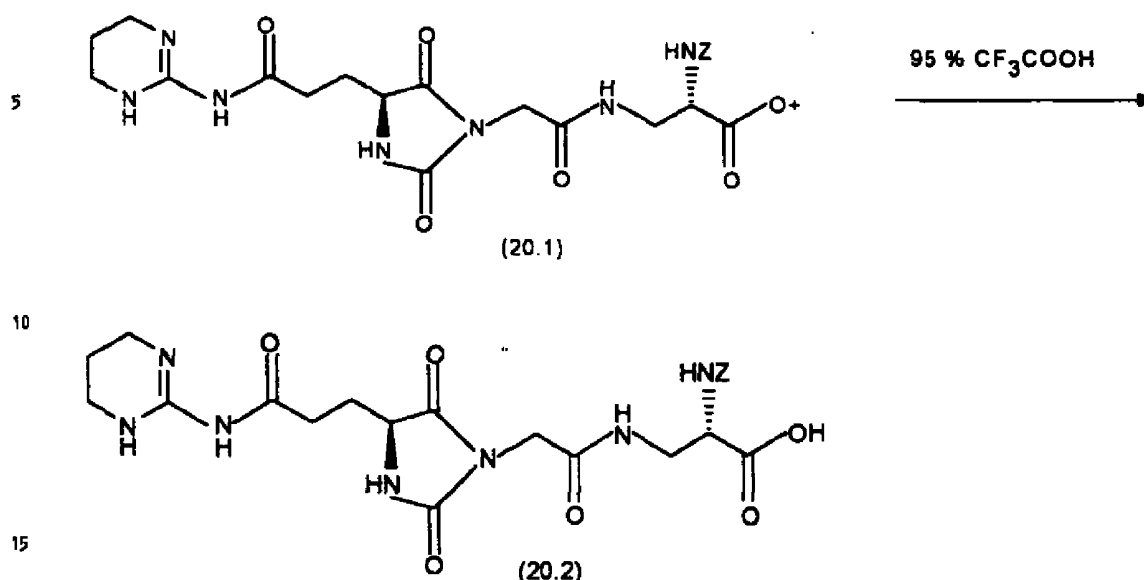
35

(19.1)

HOBT, DCCl, THF



KO⁺Bu, DMF



20a) (2S)-benzyloksykarbonylamino-3-[2-(2,5-diookso-(4S)-(2-
 20 (1,4,5,6-tetrahydro-pyrimidin-2-ylkarbamoyl)-etyl)-
 imidazolin-1-yl)-acetylamino]-propionsyre-tert-butylester
 (20.1)

Til en oppløsning av 506 mg (1 mmol) av (19.1) i 4 ml absolutt
 25 tetrahydrofuran under isavkjøling, tilsatte man 135 mg (1 mmol)
 HOBt, 206 mg (1,1 mmol) DCCl, og lot blandingen omrøre i 30
 minutter. Denne oppløsning tilsatte man deretter til en oppløs-
 ning av 136 mg (1 mmol) 1,4,5,6-tetrahydro-pyrimidin-2-ylamin-
 hydroklorid og 112 mg kalium-tert-butylat, i DMF og lot blan-
 30 dingen omrøre ved romtemperatur i én time. Oppløsningsmidlet
 ble fjernet under vakuum og resten finfordelt med dietyleter.
 Man fikk etter kromatografi over kiselgel med diklormetan/-
 metanol/eddiksyre/vann = 9/1/0,1/0,1, inndamping av produkt-
 fraksjonene og frysetørking, 90 mg (15%) av (20.1).

20b) (2S)-benzyloksykarbonylamino-3-[2-(2,5-diokso-4-(1,4,5,6-tetrahydro-pyrimidin-2-ylkarbamoyl)-etyl)-imidazolin-1-yl]-acetylamino]-propionsyre (20.2)

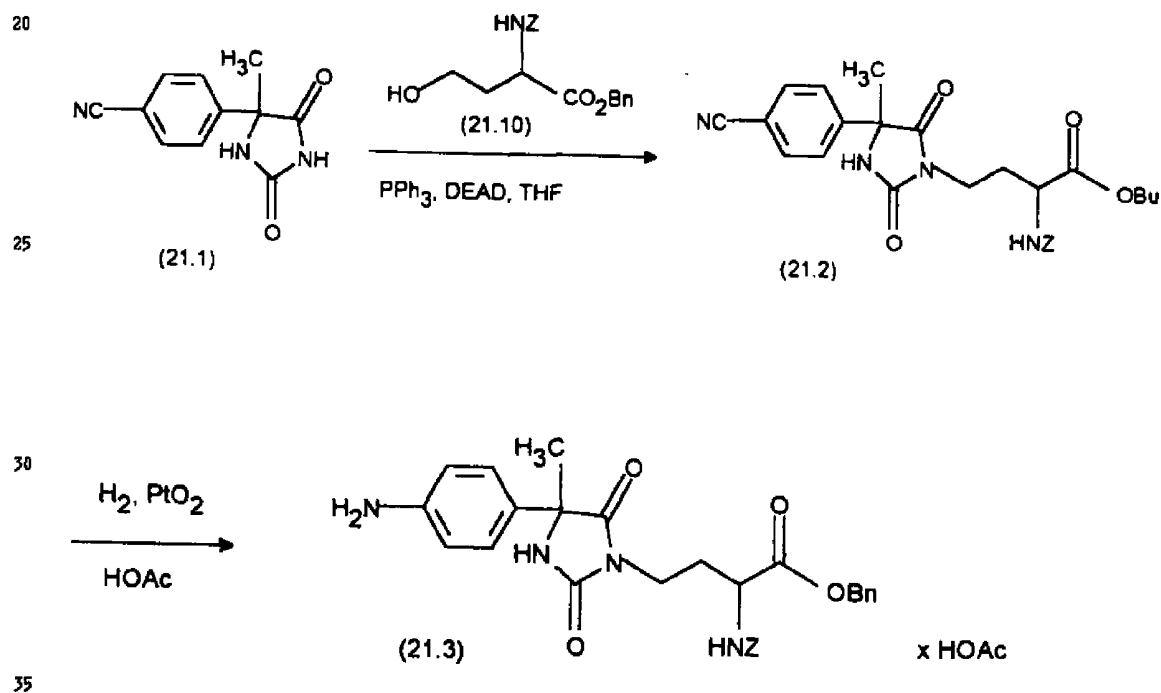
En oppløsning av 80 mg (0,136 mmol) av (20.1) i 10 ml 95%-ig trifluoreddiksyre, ble omrørt i 20 minutter ved romtemperatur. Oppløsningsmidlet ble fjernet under vakuum, resten oppløst i vann og frysetørket. Man fikk 70 mg (97%) av (20.2) som fargeløst faststoff.

¹⁰ES(+)-MS: 532 (M + H)⁺

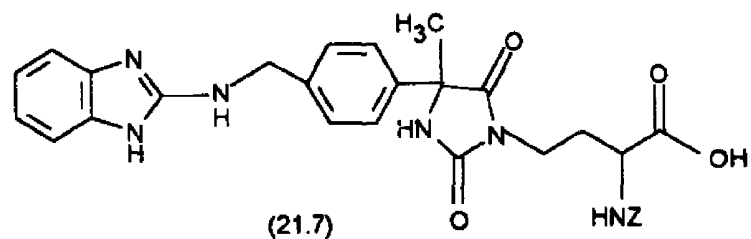
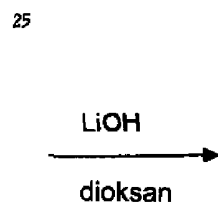
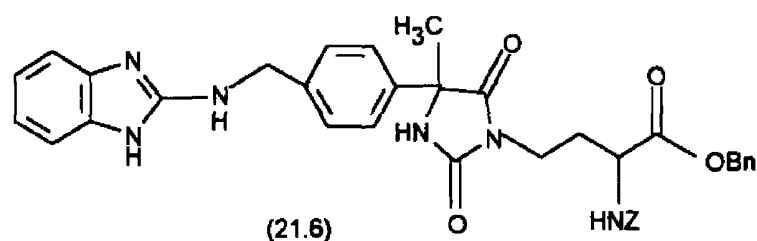
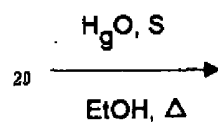
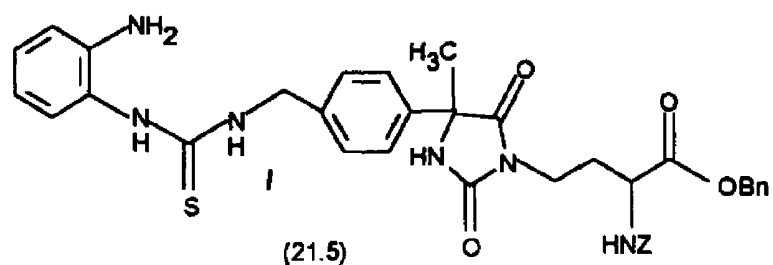
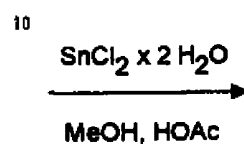
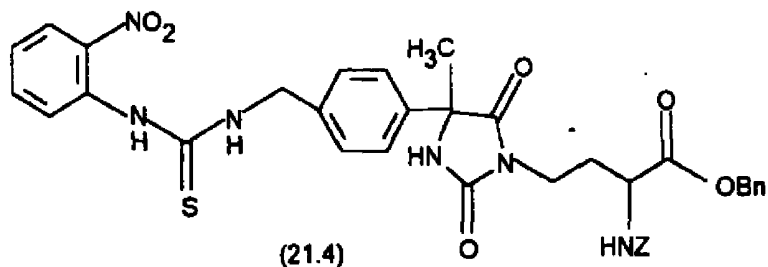
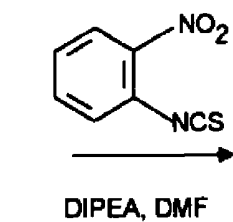
Eksempel 21:

4-[(4R,S)-(4-((1H-benzimidazol-2-ylamino)-metyl)-fenyl)-4-metyl-2,5-diokso-imidazolidin-1-yl]-2-benzyloksykarbonylamino-butansyre (21.7)

Syntesen skjedde ifølge den følgende reaksjonssekvens:



70



21a) 2-benzyloksykarbonylamino-4-[(4R,S)-(4-cyano-fenyl)-4-metyl-2,5-diokso-imidazolidin-1-yl]-butansyre (21.2)

35 Tilt en oppløsning av 1,07 g (5 mmol) av (21.1) (syntese se W0 95/14008), 1,3 g (5 mmol) trifenylfosfin og 1,7 g (5 mmol) av (21.10) i absolutt tetrahydrofuran tilsatte man en oppløsning

av 870 mg (0,5 mmol) dietyl-azo-dikarboksyilat (DEAD) i absolutt tetrahydrofuran. Etter 16 timers omrøring ved romtemperatur ble oppløsningsmidlet fjernet under vakuum, resten ble tatt opp i eddikester, eddikesterfasen vasket med 10% sitronsyreoppløsning og mettet NaHCO_3 -oppløsning og tørket over natriumsulfat. Etter
 5 filtrering ble oppløsningsmidlet fjernet under vakuum og resten ble kromatografert med diklormetan/tert-butyl-metyleter = 1/1 over kiselgel. Etter inndamping av produktfraksjonene fikk man 1,2 g (44%) av (21.2).

¹⁰ 21b) 4-[(R,S)-(4-aminometyl-fenyl)-4-metyl-2,5-diokso-imidazolidin-1-yl]-2-benzyloksykarbonylamino-butansyre-benzylester-eddiksyresalt (21.3)

En oppløsning av 1,2 g (2,22 mmol) av (21.2) i eddiksyre, ble
 15 hydrert over 150 mg platinaoksid. Så snart hydrogenutskillingen var sluttet (etter ca. tre timer), ble katalysatoren filtrert fra, filtratet inndampet og resten rensset med diklormetan/-metanol/eddikester/vann = 6/1/0,1/0,1 over kiselgel. Etter inndamping av produktfraksjonene fikk man 450 mg (34%) av
 20 (21.3).

21c) 2-benzyloksykarbonylamino-4-[(4R,S)-metyl-4-(4-(3-(2-nitro-fenyl)-tiourinstoff-metyl)-2,5-diokso-imidazolidin-1-yl)]-butansyre-benzylester (21.4)

25 Til en oppløsning av 410 mg (0,75 mmol) av (21.3) i 5 ml DMF ble det tilsatt 135 mg (0,75 mmol) 2-nitrofenylisotiocyanat og 0,13 ml diisopropyl-etylamin (DIPEA). Etter 16 timers omrøring ved romtemperatur ble oppløsningsmidlet fjernet under vakuum og
 30 resten ble kromatografert med tert-butylmetyleter over kiselgel. Man fikk 380 mg (70%) av (21.4).

21d) 4-[(R,S)-(4-(3-(2-aminometyl-fenyl)-tiourinstoff-metyl)-fenyl)-4-metyl-2,5-diokso-imidazolidin-1-yl]-2-benz-
 35 yloksykarbonylamino-butansyre-benzylester (21.5)

Til en oppløsning av 360 mg (0,49 mmol) av (21.4) i 5 ml metanol tilsatte man 650 mg $\text{SnCl}_2 \cdot 2 \text{H}_2\text{O}$ (2,9 mmol) og 3 dråper eddiksyre og lot blandingen omrøre i 16 timer ved romtemperatur. Etter fjerning av oppløsningsmidlet under vakuum, ble resten kromatografert over diklormetan/metanol =
 5 20/1. Man fikk 280 mg (82%) av (21.5).

21e) 4-[(R,S)-(4-((1H-benzimidazol-2-ylamino)-metyl)-fenyl)-4-metyl-2,5-diokso-imidazolidin-1-yl]-2-benzyloksykarbonyl-amino-butansyre-benzylester (21.6)

10

Man oppvarmet en blanding av 270 mg (0,38 mmol) av (21.5) kvikksølvoksid og 3 mg svovel i 10 ml etanol i 12 timer med tilbakeløpskjøling. Etter filtrering og fjerning av oppløsningsmidlet under vakuum fikk man 180 mg av (21.6 råprodukt),
 15 som rødbrun sirup, som direkte ble omsatt til (21.7).

21f) 4-[(R,S)-(4-((1H-benzimidazol-2-ylamino)-metyl)-fenyl)-4-metyl-2,5-diokso-imidazolidin-1-yl]-2-benzyloksykarbonyl-amino-butansyre (21.7)

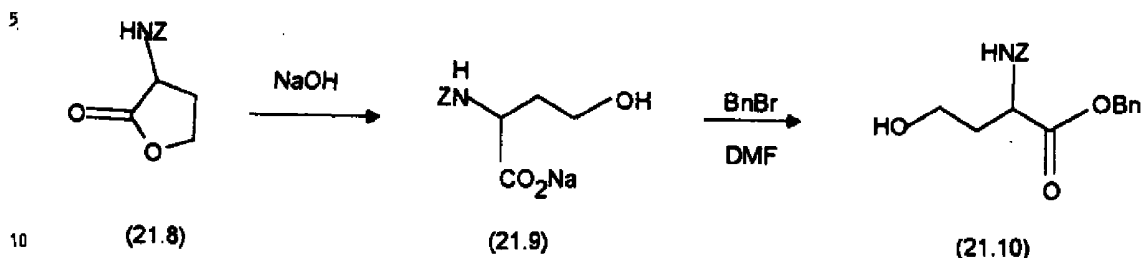
20

Til en oppløsning av 180 mg (ca. 0,27 mmol) av (21.6, råprodukt) i 4 ml dioksan, tilsatte man 0,27 ml av en 1M LiOH-oppløsning og lot blandingen omrøre over natten ved romtemperatur. Det meste av dioksanet ble fjernet under vakuum, den
 25 vandige rest innstilt til pH 5 med sitronsyre og vannfasen ekstrahert med eddikester. Etter tørking over natriumsulfat, filtrering og inndamping av filtratet under vakuum ble resten kromatografert over diklormetan/metanol/eddiksyre/vann =
 6/1/0,1/0,1 over kiselgel. Etter inndamping av produktfraksjonene og frysetørking fikk man 107 mg (49%, med utgangspunkt
 30 i (21.5) av (21.7) som fargeløst faststoff.

ES(+)-MS: 571 (M + H)⁺

21g) Syntese av 2-benzyloksykarbonylamino-4-hydroksy-butansyre-benzylester (21.10)

Syntesen skjedde ifølge den følgende reaksjonssekvens:

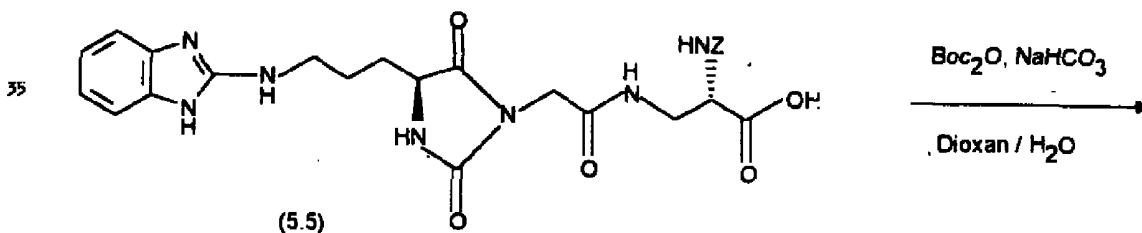


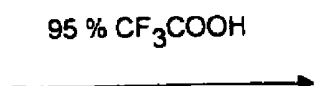
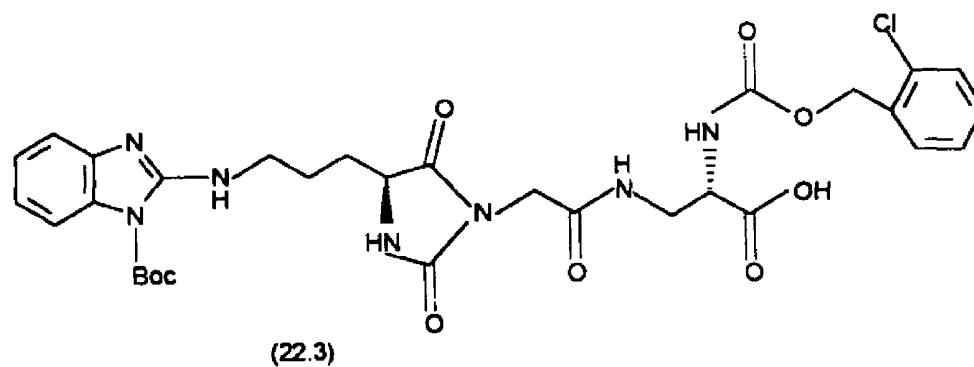
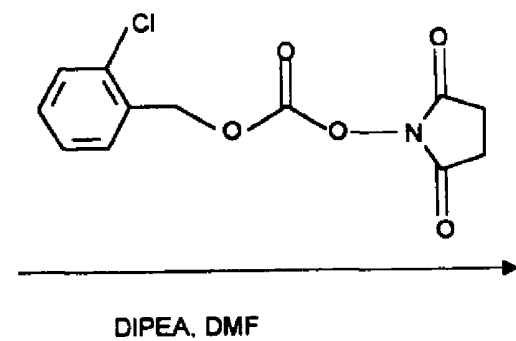
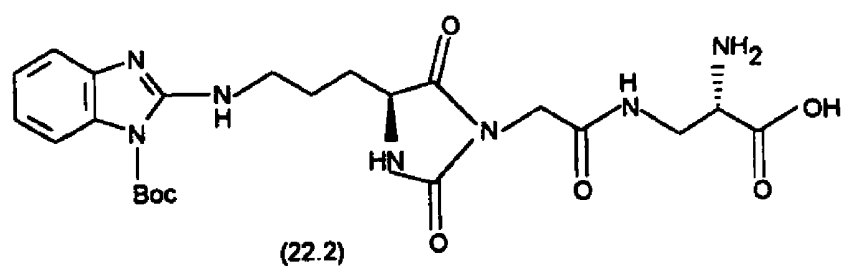
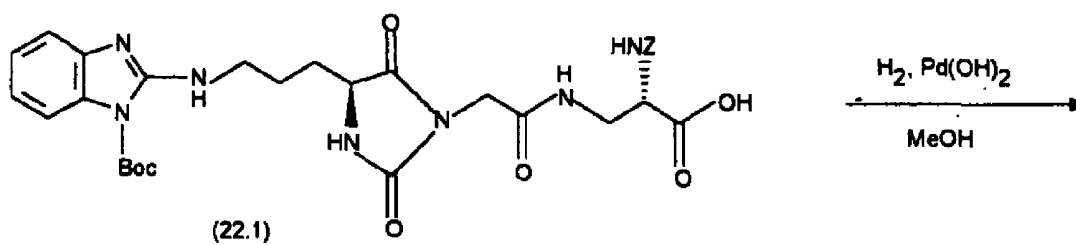
Man omrørte en suspensjon av 10 g (42 mmol) av (21.8) i 420 ml 0,1 M NaOH i etanol i 16 timer ved romtemperatur. Reaksjonsoppløsningen ble inndampet, resten tilsatt toluen og oppløsningsmidlet fjernet under vakuum. Det ble tilsatt 130 ml DMF og 9,34 g (54,6 mmol) benzylbromid og blandingen ble omrørt i fire dager ved romtemperatur. Det ble tilsatt 2,1 l 1M NaHCO₃-oppløsning og dette ekstrahert tre ganger med eddikester. De sammenslåtte eddikesterfaser ble vasket med 1M NaHCO₃-oppløsning og mettet NaCl-oppløsning og tørket over magnesiumsulfat. Etter filtrering ble oppløsningsmidlet fjernet under vakuum og resten kromatografert med diklormetan/acetoneitril i 20/1 til 20/6 over kiselgel. Produktfraksjonene ble inndampet og resten krystallisert med dietyleter/heksan. Man fikk 5,4 g (38%) av (21.10) som fargeløse krystaller.

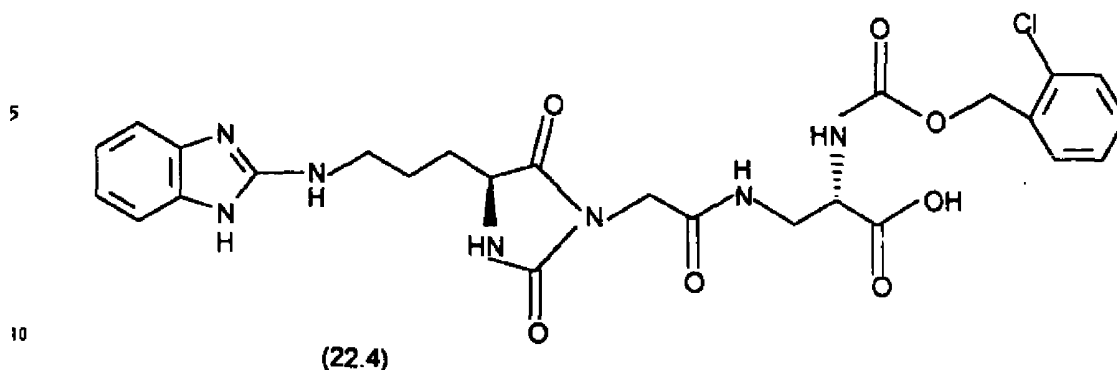
Eksempel 22

3-[2-((4S)-(3-(1H-benzimidazol-2-ylamino)-propyl)-2,5-dioksoimidazolidin-1-yl)-acetylamino)-(2S)-(2-klor-benzyloksykarbonylamino)]-propionsyre (22.4)

Syntesen skjedde analogt med den følgende reaksjonssekvens:







22a) 3-[2-((4S)-(3-(1-tert-butoksykarbonyl-benzimidazol-2-ylamino)-propyl)-2,5-diokso-imidazolidin-1-yl)-acetyl-
15 amino]-(2S)-benzyloksykarbonylamino-propionsyre (22.1)

Til en oppløsning av 551 mg (1 mmol) av (5.5) i 4 ml dioksan/-
vann = 1/1 tilsatte man 168 mg (2 mmol) NaHCO₃ og 437 mg (2
20 mmol) di-tert-butyldikarbonat og lot blandingen omrøre i 16
timer ved romtemperatur. Oppløsningsmidlet ble fjernet under
vakuum, resten tatt opp i eddikester, eddikesterfasen vasket
med 2%-ig sitronsyreoppløsning og mettet NaCl-oppløsning og
tørket over magnesiumsulfat. Etter filtrering ble oppløsnings-
25 midlet fjernet under vakuum og man fikk 614 mg (94%) av (22.1)
som fargeløse krystaller.

22b) (2S)-amino-3-[2-((4S)-(3-(1-tert-butoksykarbonyl-benz-
imidazol-2-ylamino)-propyl)-2,5-diokso-imidazolidin-1-yl)-
30 acetyl-amino]-(2S)-propionsyre (22.2)

En oppløsning av 600 (0,92 mmol) av (22.1) i metanol ble
hydrert over palladiumhydroksid. Katalysatoren ble filtrert
fra, filtratet inndampet og resten inndampet to ganger med
35 toluen og deretter tørket under høyvakuum. Man fikk 385 mg
(81%) av (22.2).

22c) 3-[2-((4S)-(3-(1-tert-butoksykarbonyl-benzimidazol-2-ylamino)-propyl)-2,5-diokso-imidazolidin-1-yl)-acetylamino-(2S)-(2-klor-benzyloksykarbonylamino)]-propionsyre (22.3)

⁵ Til en oppløsning av 61,7 mg (0,12 mmol) av (22.2) i 2,5 DMF ved 0°C tilsatte man 0,017 ml diisopropyl-etylamin og deretter en oppløsning av 28,4 mg (0,1 mmol) N-(2-klorbenzyloksykarbonyloksy)-suksinimid og lot reaksjonsblandingen omrøre i 16 timer ved romtemperatur. Oppløsningsmidlet ble fjernet under vakuum
¹⁰ og resten ble skilt mellom eddikester og 2%-ig sitronsyre. Fasene ble skilt og den organiske fase tørket over natriumsulfat. Etter filtrering, inndamping av filtratet under vakuum og krystallisering av resten med dietyleter, fikk man 36,5 mg (45%) av (22.3) som fargeløse krystaller.

¹⁵

22d) 3-[2-((4S)-(3-(1H-benzimidazol-2-ylamino)-propyl)-2,5-diokso-imidazolidin-1-yl)-acetylamino)-(2S)-(2-klor-benzyloksykarbonylamino)]-propionsyre (22.4)

²⁰ En oppløsning av 36,5 mg av (22.3) i 3 ml 95%-ig trifluoreddiksyre ble omrørt i én time ved romtemperatur. Trifluoreddiksyren ble fjernet under vakuum og resten ble inndampet to ganger med toluen. Resten ble oppløst i metanol og (22.4) utfelt med dietyleter. Etter sentrifugering ble resten tatt opp i
²⁵ fortynnet eddiksyre og frysetørket. Man fikk 24 mg (77%) av (22.4) som fargeløst faststoff.

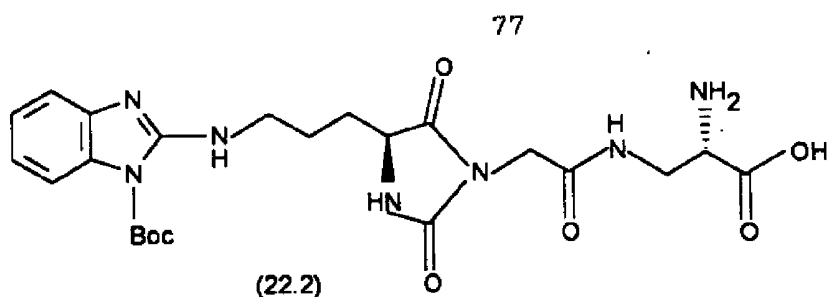
ES(+)-MS: 586 (M + H)⁺

³⁰ Eksempler 23-33

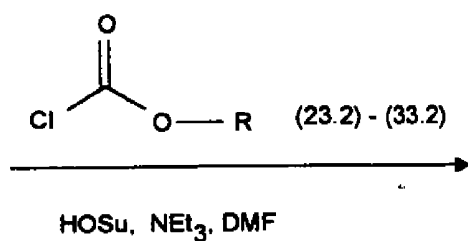
Fremstillingen av forbindelsene (23) til (33) skjedde ifølge den følgende reaksjonssekvens:

³⁵

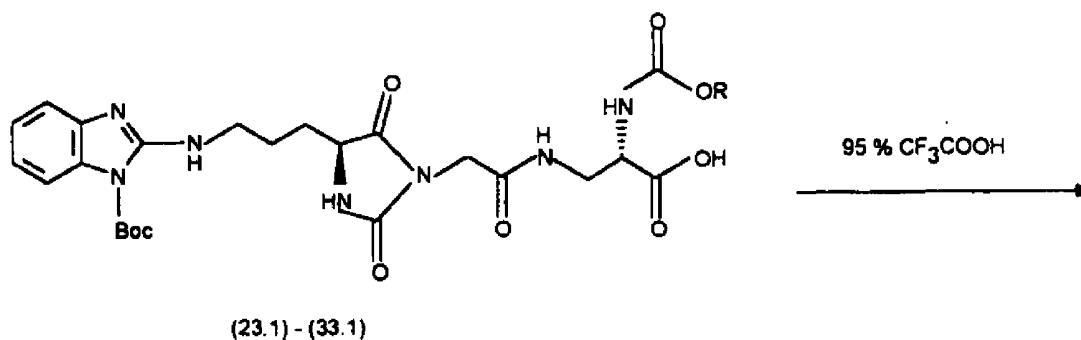
5



10

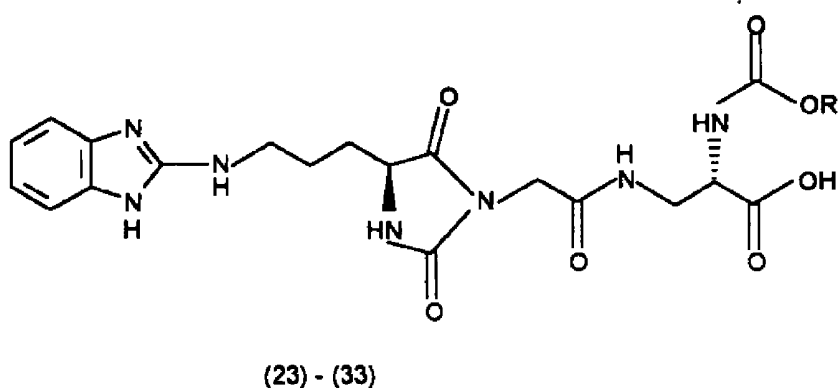


15



20

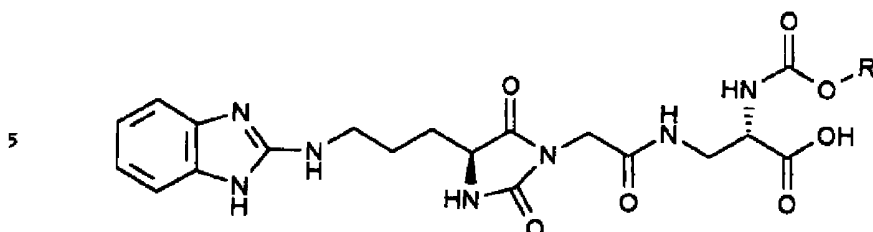
25



30

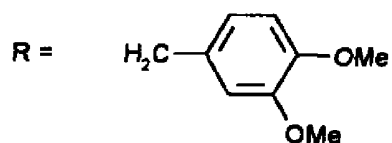
(syntesebeskrivelse, se eksempel 33)

35



Eksempel 23

10

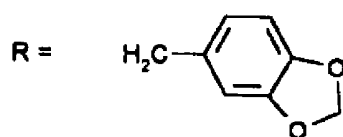


15 3-[2-((4S)-(3-(1H-benzimidazol-2-ylamino)-propyl)-2,5-diokso-
imidazolidin-1-yl)-acetylamino)-(2S)-(3,4-dimetoksy-benzyl-
oksykarbonyl)-propionsyre (23)

ES(+)-MS: 612 (M + H)⁺

20

Eksempel 24

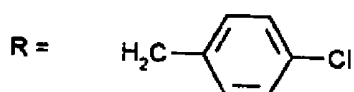


25

3-[2-((4S)-(3-(1H-benzimidazol-2-ylamino)-propyl)-2,5-diokso-
imidazolidin-1-yl)-acetylamino)-(2S)-(3,4-metylendioksy-benz-
yloksykarbonyl)-propionsyre (24)

30 ES(+)-MS: 624 (M + H)⁺

Eksempel 25

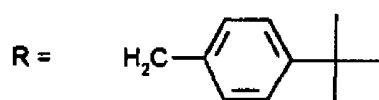


35

3-[2-((4S)-(3-(1H-benzimidazol-2-ylamino)-propyl)-2,5-dio-
imidazolidin-1-yl)-acetylamino)-(2S)-(4-klor-benzyloksykarbon-
ylamino)]-propionsyre (25)

5 ES(+)-MS: 586 (M + H)⁺

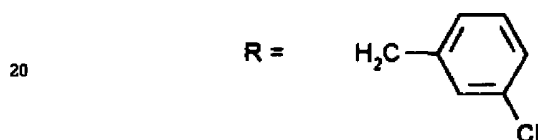
Eksempel 26



3-[2-((4S)-(3-(1H-benzimidazol-2-ylamino)-propyl)-2,5-dio-
imidazolidin-1-yl)-acetylamino)-(2S)-(4-tert-butyloksykarbon-
ylamino)]-propionsyre (26)

15 ES(+)-MS: 608 (M + H)⁺

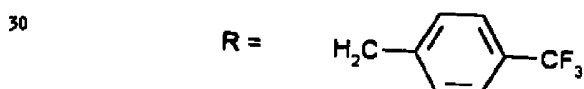
Eksempel 27



3-[2-((4S)-(3-(1H-benzimidazol-2-ylamino)-propyl)-2,5-dio-
imidazolidin-1-yl)-acetylamino)-(2S)-(3-klor-benzyloksykarbon-
25 ylamino)]-propionsyre (27)

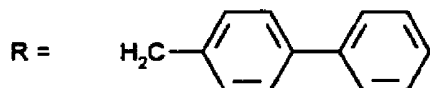
ES(+)-MS: 586 (M + H)⁺

Eksempel 29



3-[2-((4S)-(3-(1H-benzimidazol-2-ylamino)-propyl)-2,5-dio-
imidazolidin-1-yl)-acetylamino)-(2S)-(4-trifluormetyl-benzyl-
35 oksykarbonylamino)]-propionsyre (29)

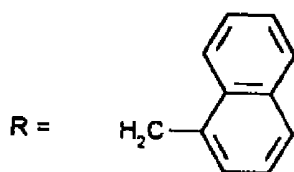
ES(+)-MS: 620 (M + H)⁺

Eksempel 30

5

3-[2-((4S)-(3-(1H-benzimidazol-2-ylamino)-propyl)-2,5-diokso-imidazolidin-1-yl)-acetylamino]-(2S)-(4-fenyl-benzyloksy-karbonylamino)-propionsyre (30)

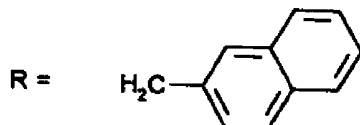
¹⁰ES(+)-MS: 628 (M + H)⁺

Eksempel 31

15

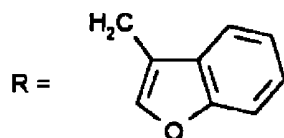
3-[2-((4S)-(3-(1H-benzimidazol-2-ylamino)-propyl)-2,5-diokso-imidazolidin-1-yl)-acetylamino]-(2S)-(naftalin-1-ylmetoksy-karbonylamino)-propionsyre (31)

ES(+)-MS: 602 (M + H)⁺

²⁵**Eksempel 32**

³⁰3-[2-(4S)-(3-(1H-benzimidazol-2-ylamino)-propyl)-2,5-diokso-imidazolidin-1-yl)-acetylamino]-(2S)-(naftalin-2-yl-metoksy-karbonylamino)-propionsyre (32)

³⁵ES(+)-MS: 602 (M + H)⁺

Eksempel 33

5

(2S)-(benzofuran-3-ylmetoksykarbonylamino)-3-[2-((4S)-(3-(1H-benzimidazol-2-ylamino)-propyl)-2,5-diokso-imidazolidin-1-yl)-acetylamino]-propionsyre (33)

¹⁰ES(+)-MS: 592 (M + H)⁺

a) Fremstilling av klormaursyreesterne (23.2) - (33.2)

¹⁵Syntesen skjedde ifølge den følgende generelle fremstillingsfremgangsmåte:

Til en oppløsning av 2,2 ekvivalenter bis-triklormetylkarbonat i absolutt diklormetan dryppet man ved 0°C til en oppløsning av 6 ekvivalenter den tilsvarende alkohol (HO-R) og 6 ekvivalenter pyridin i absolutt diklormetan. Deretter lot man blandingen omrøre i to timer ved romtemperatur, fjernet oppløsningsmidlet under vakuum, tok resten opp i eddikester og eter, lot blandingen stå ved romtemperatur 30 minutter og filtrerte fra det dannede bunnfall. Etter fjerning av oppløsningsmidlet ²⁰under vakuum ble resten tørket under høyvakuum og tilsatt direkte for syntese av (23.1) til (33.1).

b) Fremstilling av forbindelsene (23.1) til (33.1)

³⁰Syntesen skjedde ifølge den følgende generelle fremstillingsfremgangsmåte:

Til en oppløsning av 1 ekvivalent N-hydroksysuksinimid i THF ved 0°C tilsatte man 1 ekvivalent av den tilsvarende klormaur-syreester (23.2) - (33.2), og 1 ekvivalent diisopropyl-etylamin (DIPEA). Man lot blandingen omrøre i 30 minutter ved 0°C og 45 minutter ved romtemperatur og tilsatte denne oppløsning til en ³⁵

oppløsning av 1 ekvivalent (22.2) i DMF. Man lot blandingen omrøre ved romtemperatur inntil reaksjonen var avsluttet og fjernet oppløsningsmidlet under vakuum. Resten ble tatt opp i eddikester og eddikesterfasen vasket to ganger med en mettet sitronsyreoppløsning (pH 3) og mettet NaCl-oppløsning. Etter tørking over natriumsulfat, filtrering og fjerning av oppløsningsmidlet under vakuum, ble resten kromatografert over kiselgel. Etter inndamping av produktfraksjonene fikk man forbindelsene (23.1)-(33.1).

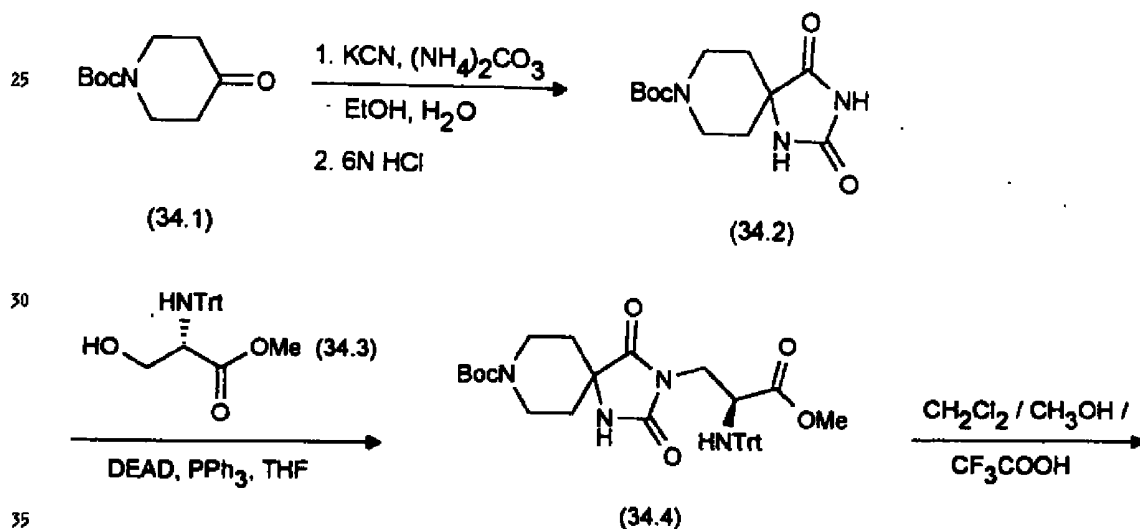
¹⁰ c) Fremstilling av forbindelsene (23)-(33)

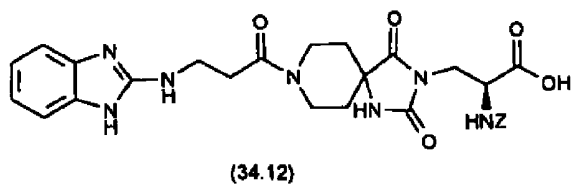
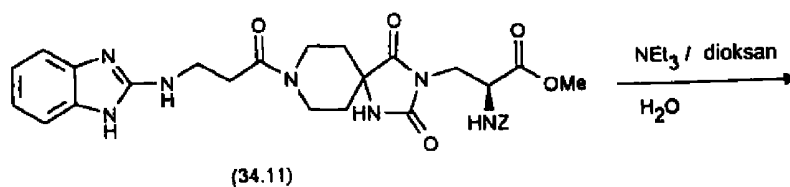
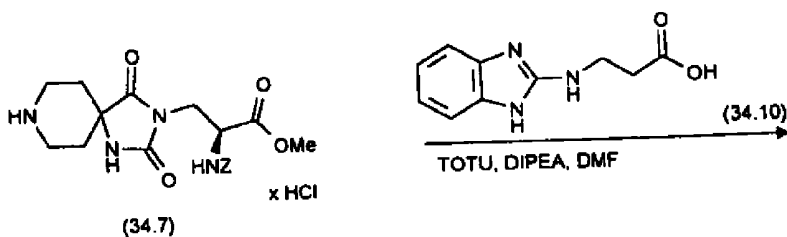
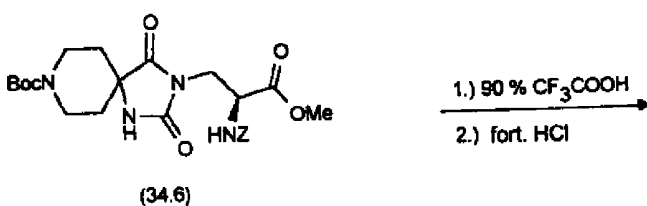
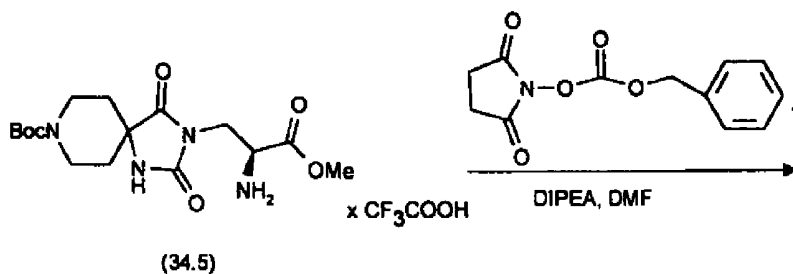
Fremstillingen skjedde fra (23.1)-(33.1) ved avspalting av tert-butoksykarbonylgruppen med 95%-ig trifluorediksyre som beskrevet ved fremstillingen av (22.4) fra (22.3).

Eksempel 34

3-[8-(3-(1H-benzimidazol-2-ylamino)-propionyl)-2,4-diokso-1,3,8-triaza-spiro[4.5]-dek-3-yl]-(2S)-benzyloksykarbonylamino-propionsyre (34.12)

Syntesen skjedde ifølge den følgende reaksjonssekvens:





34a) 2,4-diokso-1,3,8-triaza-spiro[4.5]dekan-8-karboksylsyre-
tert-butylester (34.2)

Til en oppløsning av 5 g (25,1 mmol) N-tert-butoksykarbonyl-4-
piperidon (34.1) og 24,01 g (250 mmol) ammoniumkarbonat i 80 ml

EtOH/vann = 1/1 tilsatte man 2,12 g (32,6 mmol) kaliumcyanid og lot blandingen omrøre i fem timer ved 60°C. pH ble innstilt til 6,3 ved tilsetning av 6N HCl og blandingen ble videre omrørt i 1,5 timer ved 60°C. Bunnfallet ble filtrert fra og tørket under høyvakuum. Man fikk 3,45 g av (34.2) som fargeløst faststoff.

⁵ Ved ekstrahering av filtratet med diklormetan, tørking av den organiske fase over natriumsulfat, filtrering og fjerning av oppløsningsmidlet ved hjelp av vakuum, fikk man ytterligere 1,0 g av (34.2). Totalutbytte av (34.2): 4,43 g (66%), fargeløst faststoff.

¹⁰

34b) N-trityl-L-serin-metylester (34.3)

Til en oppløsning av 6 g (38,56 mmol) L-serin-metylesterhydroklorid og 7,8 g (77,12 mmol) trietylamin i absolutt THF ¹⁵ ved 0°C ble det tilsatt en oppløsning av 10,75 g (38,56 mmol) tritylklorid og oppløsningen ble omrørt i fire timer ved 0°C og i to dager ved romtemperatur. Oppløsningsmidlet ble fjernet under vakuum og resten skilt mellom diklormetan og 10%-ig vandig sitronsyreoppløsning. Fasene ble skilt, den organiske ²⁰ fase ble vasket med vann og tørket over natriumsulfat. Etter filtrering ble oppløsningsmidlet fjernet under vakuum og resten ble kromatografert med heptan/eddikester = 6/4 over kiselgel. Etter inndamping av produktfraksjonene fikk man 8 g (58%) av (34.3).

²⁵

34c) 3-[2-metoksykarbonyl-(2S)-(trityl-amino)-etyl]-2,4-diokso-1,3,8-triaza-spiro[4.5]dekan-8-karboksylsyre-tert-butylester (34.4)

³⁰ Til en oppløsning av 3,72 g (10,3 mmol) av (34.3) og 3,5 g (13,34 mmol) trifenylyfosfin i 20 ml absolutt THF, tilsatte man en oppløsning av 3,6 g (13,37 mmol) av (34.2) i 15 ml absolutt THF. Til denne oppløsning tilsatte man 2,11 ml (13,37 mmol) dietyl-azo-dikarboksylat (DEAD) og omrørte reaksjonsblan- ³⁵ dingen ved romtemperatur inntil reaksjonen var avsluttet. Oppløsningsmidlet ble fjernet under vakuum og resten kromato-

grafert med heptan/eddikester over kiselgel. Etter inndamping av produktfraksjonene fikk man 6 g (95%) av (34.4).

34d) 3-((2S)-amino-2-metoksykarbonyl-etyl)-2,4-diokso-1,3,8-triaza-spiro[4.5]dekan-8-karboksylsyre-tert-butylester
5 (34.5)

En oppløsning av 4,6 g (7,5 mmol) av (34.4) i 180 ml diklor-metan/metanol/trifluoreddiksyre = 95,5/3/1,5 ble omrørt i ti minutter ved romtemperatur. Reaksjonsblandingen ble inndampet
10 og resten ble kromatografert over kiselgel. Etter inndamping av produktfraksjonene fikk man 3,14 g (87%) av (34.5).

34e) 3-((2S)-benzyloksykarbonylamino-2-metoksykarbonyl-etyl)-2,4-diokso-1,3,8-triaza-spiro[4.5]dekan-8-karboksylsyre-tert-butylester (34.6)
15

Til en oppløsning av 3,14 g (8,48 mmol) av (34.5) og 2,11 g (8,48 mmol) N-benzyloksykarbonyloksy-suksinimid i 80 ml absolutt DMF, tilsatte man 2,08 g (16,1 mmol) diisopropyl-etylamin
20 i 25 ml absolutt DMF og lot blandingen omrøre i tre timer ved romtemperatur. Oppløsningsmidlet ble fjernet under vakuum og resten ble kromatografert med heptan/eddikester = 6/4 over kiselgel. Etter inndamping av produktfraksjonene fikk man
(34.6).
25

34f) (2S)-benzyloksykarbonylamino-3-(2,4-diokso-1,3,8-triaza-spiro[4.5]dec-3-yl)-propionsyre-metylester-hydroklorid (34.7)

30 En oppløsning av 4,7 (9,3 mmol) av (34.6) i 100 ml 90%-ig trifluoreddiksyre, lot man omrøre i 45 minutter ved romtemperatur. Trifluoreddiksyren ble fjernet under vakuum og resten ble kromatografert med vann/butanol/eddiksyre = 43/4,3/3,5 over Sephadex³ LH 20. Produktfraksjonene ble inndampet og fryse-
35 tørket. Etter tilsetning av 1N HCl og fornyet frysetørking fikk man 1,99 g (53% med utgangspunkt i (34.5) av (34.7) som farge-løst faststoff.

34g) 3-[8-(3-(1H-benzimidazol-2-ylamino)-propionyl)-2,4-dio-
kso-
1,3,8-triaza-spiro[4.5]dec-3-yl]-(2S)-benzyloksykarbonyl-
amino-propionsyre-metylester (34.11)

⁵ Syntesen av (34.11) skjedde ved kopling av (34.7) med (34.10)
som beskrevet i eksempel 15 ved syntesen av (15.3) fra (15.2).

34h) 3-[8-(3-(1H-benzimidazol-2-ylamino)-propionyl)-2,4-dio-
kso-
1,3,8-triaza-spiro[4.5]dec-3-yl]-(2S)-benzyloksykarbonyl-
¹⁰ amino-propionsyre (34.12)

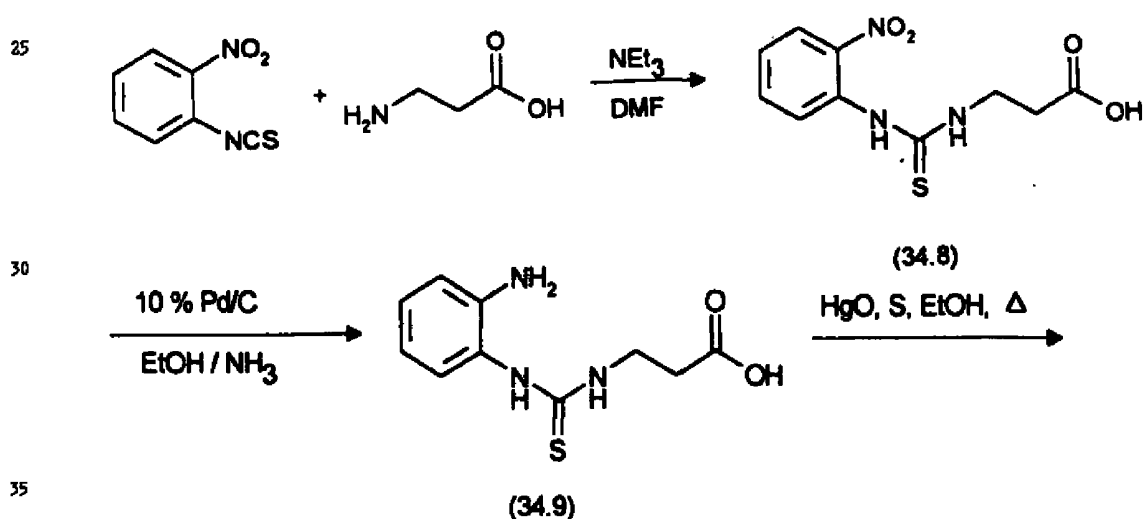
Syntesen av (34.12) skjedde ved esterspaltning av (34.11) som
beskrevet i eksempel 3 ved syntesen av (3.11) fra (3.10).

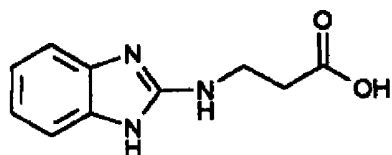
¹⁵ ES(+)-MS: 578 (M + H)⁺

34i) Syntese av (34.10)

3-(1H-benzimidazol-2-ylamino)-propionsyre (34.10)

²⁰ (34.10) ble fremstilt ifølge det følgende reaksjonsskjema:





(34.10)

⁵ a) 3-[3-(2-nitro-fenyl)-tiourinstoff]-propionsyre (34.8)

Til en oppløsning av 5 g (27,75 mmol) 2-nitrofenyl-isotiocyanat og 2,5 g (27,75 mmol) b-alanin i 80 ml DMF ble det tilsatt 3,8 ml (27,75 mmol) trietylamin og blandingen ble omrørt inntil ¹⁰reaksjonen var avsluttet. Oppløsningsmidlet ble fjernet under vakuum og resten ble skilt mellom eddikester og KHSO₄/K₂SO₄-oppløsning. Fasene ble skilt og den organiske fase ble tørket over natriumsulfat. Etter filtrering ble oppløsningsmidlet fjernet under vakuum og resten ble kromatografert over ¹⁵kiselgel. Etter inndamping av produktfraksjonene fikk man 5,3 g (71%) av (34.8).

b) 3-[3-(2-amino-fenyl)-tiourinstoff]-propionsyre (34.9)

²⁰5,3 g (19,7 mmol) av (34.8) i 410 ml ammoniakkmettet EtOH, ble hydrert over 6,44 g 10% Pd/C i tre timer ved romtemperatur. Katalysatoren ble filtrert fra, filtratet inndampet under vakuum og resten (1,9 g av (34.9, råprodukt) direkte tilsatt for syntese av (34.10).

²⁵

c) 3-(1H-benzoimidazol-2-ylamino)-propionsyre (34.10)

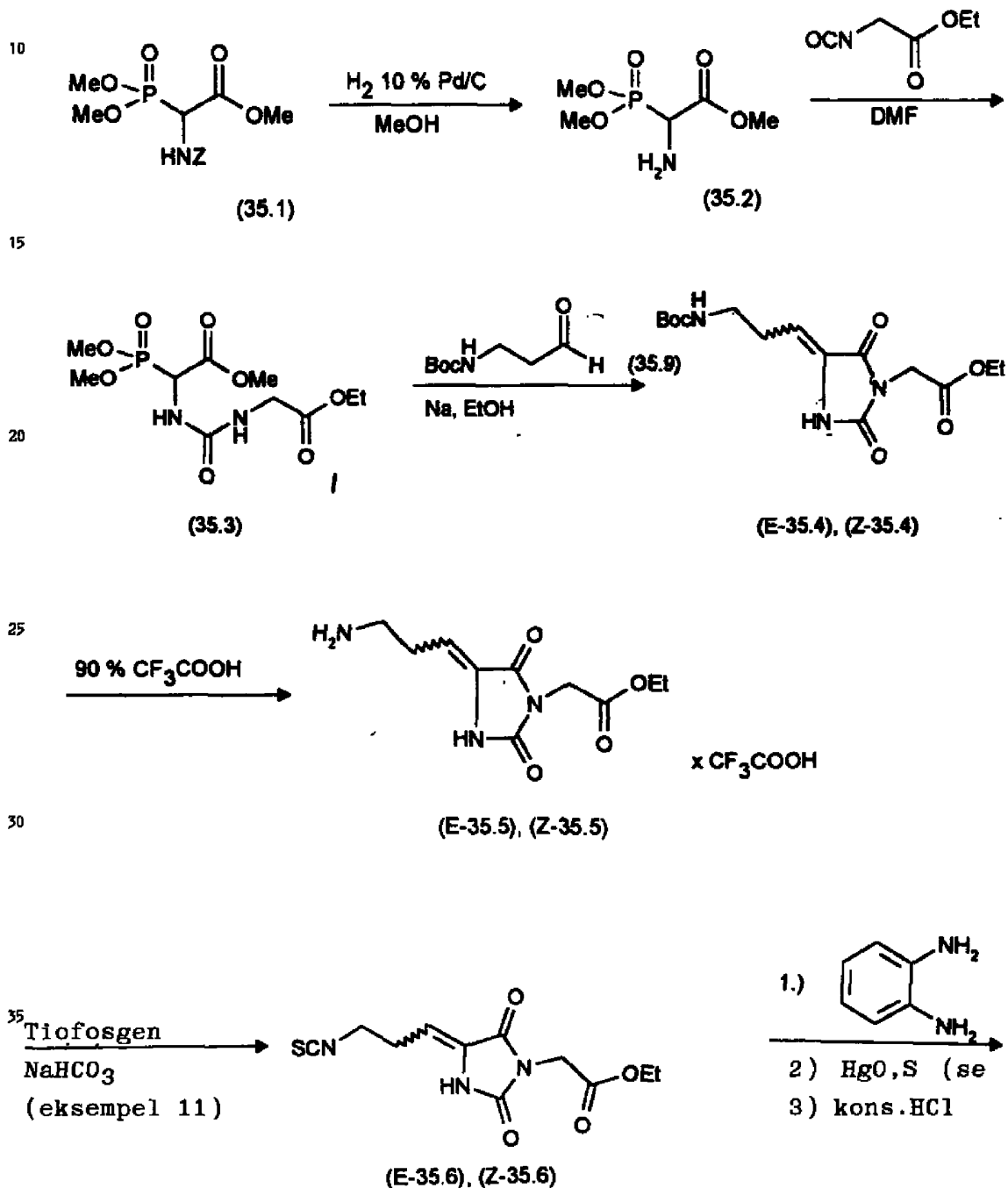
En blanding av (34.9), 3,44 g (14,79 mmol) kvikksølvoksid og 50 mg svovel i 40 ml etanol ble oppvarmet i fem timer med tilbake-
³⁰løpskjøling. Etter filtrering ble filtratet inndampet og resten oppvarmet med tilbakeløpskjøling med 6N HCl i én time og deretter frysetørket. Man fikk fraksjonen 1 av (34.9). Filterresten ble flere ganger kokt ut med vann og de sammen-
³⁵slåtte vannfaser ble frysetørket. Man fikk fraksjon 2 av (34.9). Fraksjon 1 og 2 ble slått sammen og kromatografert med vann/butanol/eddiksyre = 43/4,3/3,5 over Sephadex³ LH 20. Produktfraksjonene ble inndampet og frysetørket. Man fikk 340

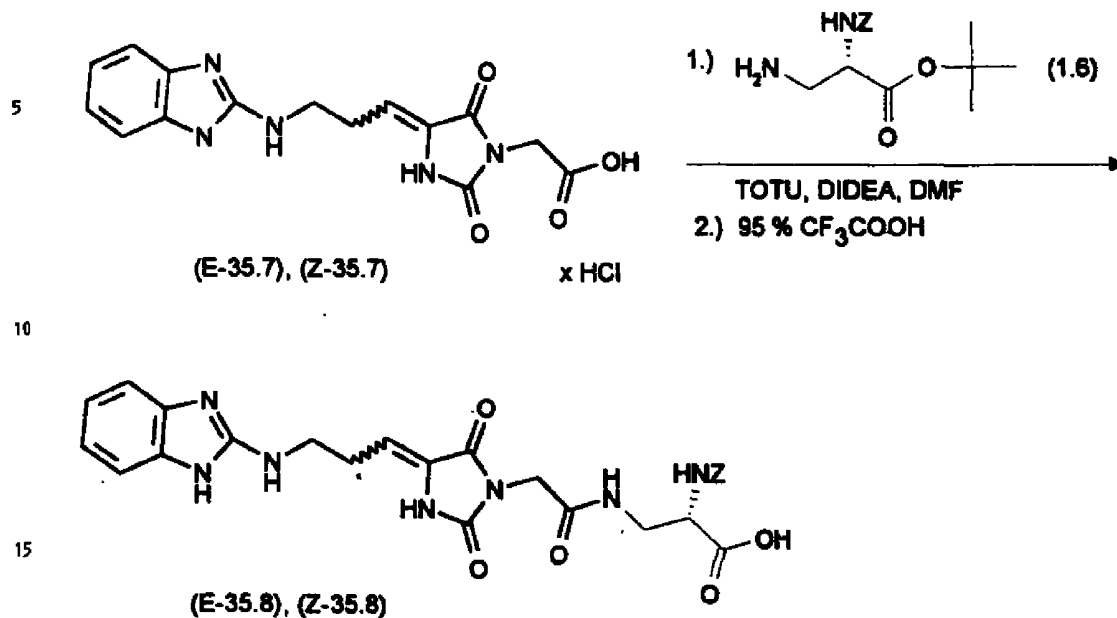
mg (8%, med utgangspunkt i (34.8) av (34.10) som fargeløst faststoff.

Eksempel 35

3-[2-(4(E hhv. Z)-(3-(1H-benzimidazol-2-ylamino)-propyliden)-2,5-diokso-imidazolidin-1-yl)-acetylamino]-(2S)-benzyloxy-karbonylamino-propionsyre (E-35.8) hhv. (Z-35.8)

Syntesen skjedde ifølge den følgende reaksjonssekvens:





35a) 3-amino-3-(dimetoksy-fosforyl)-propionsyre-metylester
20 (35.2)

10 g (30,19 mmol) Z-fosfonoglycin-trimetylester (35.1) i 300 ml metanol ble hydrert over 10% Pd/C. Etter én time ble katalysatoren filtrert fra og filtratet inndampet under vakuum. Man fikk 4,6 g av (35.2) som råprodukt, som ble direkte tilsatt for syntese av (35.3).

35b) 3-(dimetoksy-fosforyl)-3-(3-etoksykarbonylmetyl-urin-
stoff)-propionsyre-metylester (35.3)

30

Til en oppløsning av (35.2) i 20 ml DMF tilsatte man 2,62 ml (23,4 mmol) isocyanato-eddiksyreetylester. Etter 16 timer ved romtemperatur ble det ytterligere tilsatt 0,262 ml (2,34 mmol) isocyanato-eddiksyreetylester og reaksjonsblandingen ble videre omrørt i to timer ved romtemperatur. Oppløsningsmidlet ble fjernet under vakuum og resten ble skilt mellom diklormetan og $\text{KHSO}_4/\text{K}_2\text{SO}_4$ -oppløsning. Fasene ble skilt og den organiske fase

vasket med vann. Etter tørking av den organiske fase over natriumsulfat, filtrering og inndamping av filtratet under vakuum, fikk man 6,2 g [63% med utgangspunkt i (35.1)] av (35.3).)

- ⁵ 35c) [4(E hhv. Z)-(3-tert-butoksykarbonylamino-propyliden)-2,5-diokso-imidazolidin-1-yl]-eddiksyre-etylster (E-35.4) hhv. (Z-35.4)

Til en oppløsning av 451 mg (18,8 mmol) natrium i absolutt ¹⁰ EtOH, ble det tilsatt en oppløsning av 5,8 g (17,84 mmol) av (35.3) i 30 ml absolutt EtOH. Til denne oppløsning tilsatte man en oppløsning av (35.9) fremstilt fra b-alanin analogt med O.P. Goel et al., Org. Synth. 1988, 67, 69. Etter tre timers omrøring ved romtemperatur ble oppløsningsmidlet fjernet under ¹⁵ vakuum og resten ble skilt mellom vann og dietyleter. Fasene ble skilt og den organiske fase tørket over natriumsulfat. Etter filtrering ble resten kromatografert med diklormetan/-metanol = 99/1 over kiselgel. Man fikk 2,25 g av (E- eller Z-35.4) og 1,95 g av (Z- eller E-35.4). Totalutbytte: 4,2 g ²⁰ (69%) av (35.4).

- 35d) [4(E hhv. Z)-(3-amino-propyliden)-2,5-diokso-imidazolidin-1-yl]-eddiksyre-etylster-trifluoreddiksyresalt (E-35.5) hhv. (Z-35.5)

²⁵

En oppløsning av 2,25 g (6,6 mmol) av (Z- eller E-35.4) i 25 ml 90%-ig trifluoreddiksyre ble omrørt i én time ved romtemperatur. Trifluoreddiksyren ble fjernet under vakuum, resten fortynnet med vann og frysetørket. Man fikk 2,2 g (94%) av (Z- eller E-35.5). Analogt fikk man fra 1,95 g (5,71 mmol) av (E- eller Z-35.4) 1,95 g (97%) av (E- eller Z-35.5).

35e) [4-(E hhv. Z)-(3-isotiocyanato-propyliden)-2,5-diokso-imidazolidin-1-yl]-eddiksyre-etylester (E-35.6) hhv. (Z-35.6)

Syntesen av (E-35.6) hhv. (Z-35.6) fra (E-35.5) hhv. (Z-35.5) ble gjennomført som beskrevet i eksempel 11 ved syntese av (11.2) fra (11.1).

35f) [4(E hhv. Z)-(3-(1H-benzoimidazol-2-ylamino)-propyliden)-2,5-diokso-imidazolidin-1-yl]-eddiksyre-hydroklorid (E-35.7) hhv. (Z-35.7)

Syntesen av (E-35.7) hhv. (Z-35.7) ble gjort som beskrevet i eksempel 15 ved syntese av (15.2) fra (11.2).

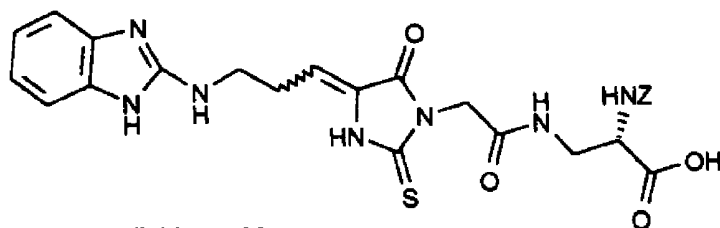
35g) 3-[2-(4(E hhv. Z)-(3-(1H-benzimidazol-2-ylamino)-propyliden)-2,5-diokso-imidazolidin-1-yl)-acetylamino]-(2S)-benzyl-oksykarbonylamino-propionsyre (E-35.8) hhv. (Z-35.8)

Syntesen av (E-35.8) hhv. (Z-35.8) ble utført som beskrevet i eksempel 15 ved syntese av (15.3) fra (15.2).

(E-35.8) hhv. (Z-35.8): ES(+)-MS: 550 (M + H)⁺

Eksempel 36

3-[2-(4(Z hhv. E)-[3-(1H-benzimidazol-2-ylamino)-propyliden)-5-okso-2-tiokso-imidazolidin-1-yl]-acetylamino]-(2S)-benzyl-oksykarbonylamino-propionsyre (Z-36) hhv. (E-36)



(E-36), (Z-36)

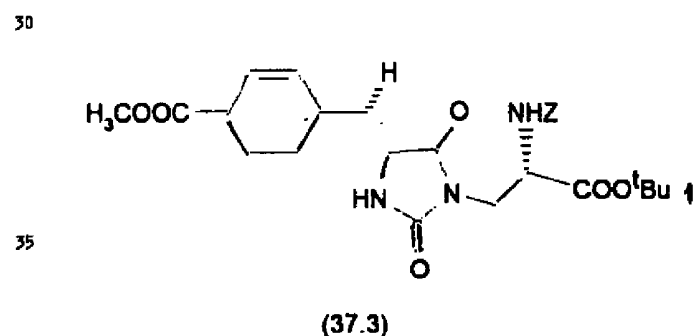
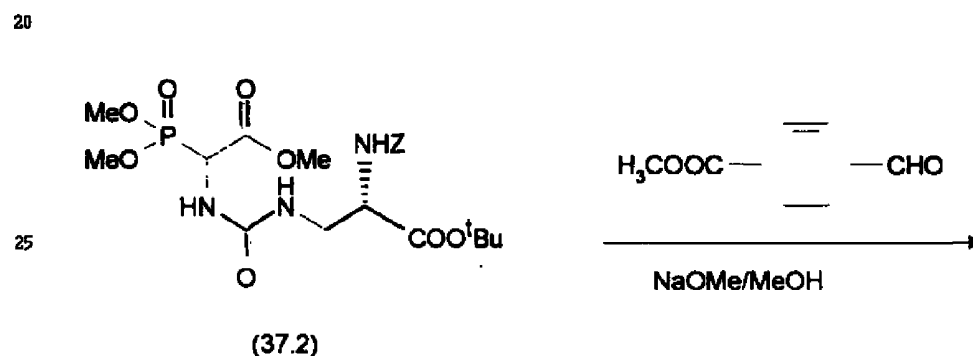
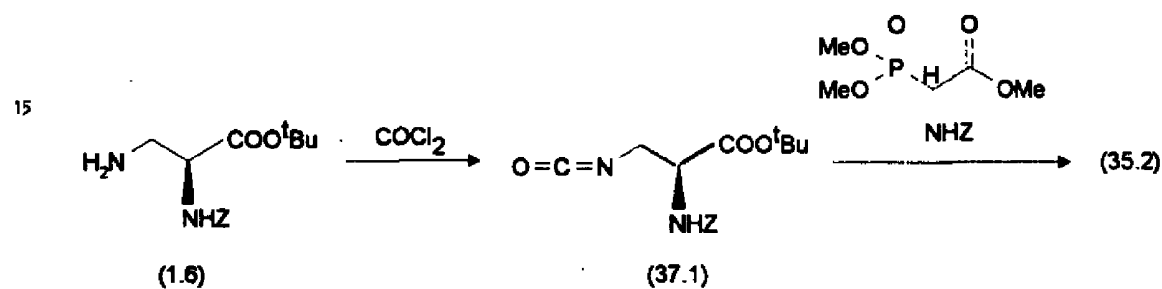
Syntesen av (Z-36) hhv. (E-36) ble utført som beskrevet i eksempel 35, hvor her (35.2) ble omsatt med isotiocyanato-eddiksyremetylester istedenfor isocyanato-eddiksyremetylester. Den videre syntese skjedde analogt med eksempel 35.

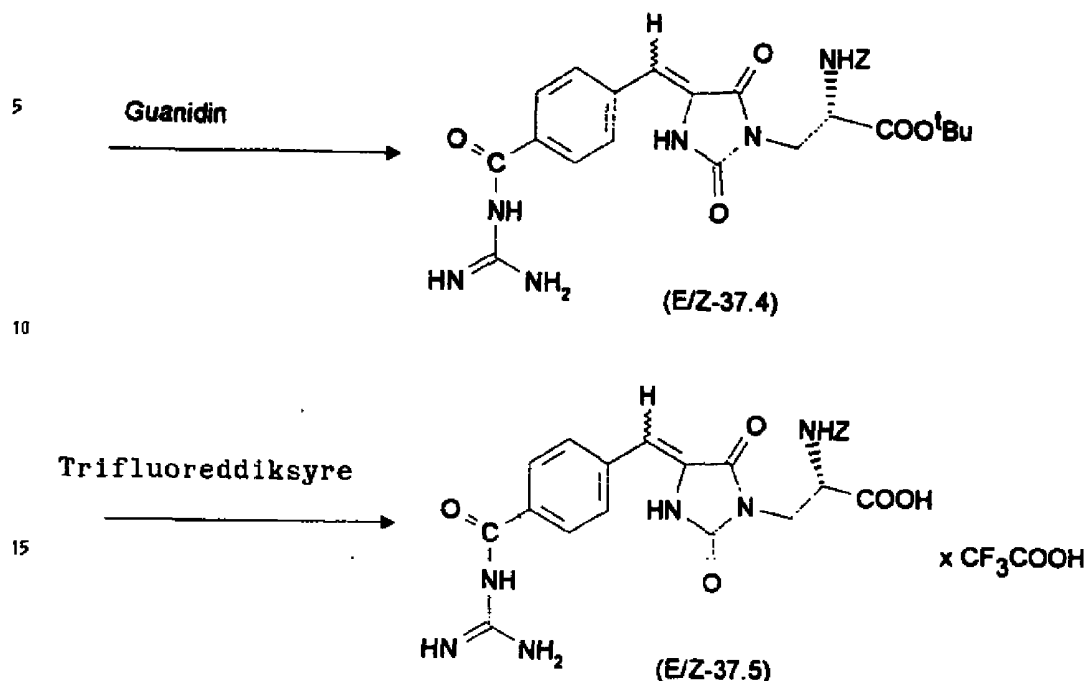
⁵ (Z-36) hhv. (E-36): ES(+)-MS: 566 (M + H)⁺

Eksempel 37

3-(4-E/Z-(4-guanidinokarbonylbenzyliden)-2,5-dioksimidazolidin-1-yl)-(2S)-N-benzylloxykarbonyl-alanin (E/Z-37.5)

Syntesen skjedde ifølge den følgende reaksjonssekvens:





37a) 2-isocyanato-Z-alanin-tert-butylester (37.1)

En oppløsning av 2,94 g (10 mmol) Z-Dap-O-t-Bu (1.6) i 80 ml metylenklorid ble avkjølt med 80 ml mettet natriumbikarbonat-oppløsning i isbad under heftig omrøring ved ca. 0°C. Etter avslutning av omrøringen og skilling av fasene, tilsatte man 10,4 ml av en 1,93 molar oppløsning fosgen i toluen hurtig til den organiske fase og lot den på nytt reagere ut under kraftig omrøring og ekstern avkjøling. Etter ytterligere ti minutter ble fasene skilt, den vandige fase ble to ganger vasket med 40 ml metylenklorid. De sammenslåtte organiske ekstrakter ble tørket med vannfritt magnesiumsulfat, filtrert og befridd for oppløsningsmiddel under vakuum. Man fikk ca. 3,0 g av en fargeløs olje som ble anvendt for syntesen av (37.2) uten videre rensing.

37b) N'-(dimetoksy-fosforyl)-(metoksykarbonyl)-metyl-ureido-N-(2S)-benzyloksykarbonylamino-3-propionsyre (t)-butylester (37.2)

Under argonbeskyttelsesatmosfære oppløste man den fra 37a) oppnådde mengde av (37.1) i ca. 30 ml diklormetan og tilsatte under omrøring ved romtemperatur 1,97 g (35.2) oppløst i ca. 50 ml diklormetan. Etter ca. to timer var reaksjonen avsluttet. Oppløsningen ble først vasket med 100 ml 2N kaliumhydrogensulfatoppløsning, så med 100 ml vann, den organiske fase tørket med vannfritt magnesiumsulfat og filtrert. Etter fjerning av oppløsningsmidlet under vakuum ble det oppnådd ca. 4,6 g ren (37.2) (89%).

37c) E- hhv. Z-3-(4-(4-metoksykarbonyl-benzyliden)-2,5-dioksoimidazolidin-1-yl)-2-N-benzyloksykarbonylamino-propionsyre-(t)-butylester (37.3)

1,55 g (3 mmol) av (37.2) ble oppløst i ca. 8 ml metanol og tilsatt 0,6 ml (ca. 3,3 mmol) av en 30%-ig natriummetanolatoppløsning i metanol. Til dette dryppet man langsomt (under argonbeskyttelsesgass og omrøring ved romtemperatur), 8 ml av en metanolisk oppløsning som inneholdt 0,59 g (3,6 mmol) 4-formylbenzoesyremetylester. Etter ca. én time var reaksjonen avsluttet. Oppløsningen ble inndampet under vakuum, tatt opp i eddikester, vasket med vann, tørket, filtrert og inndampet. Man fikk 1,6 g av en E/Z-blanding av (37.3).

Ved kromatografi med eddikester/n-heptan (2:1) som elueringsmiddel og kiselgel som bæremateriale, ble diastereomerene adskilt: man oppnådde 0,85 g (Z-37.3) og 0,7 g (E-37.3).

37d) E- hhv. Z-3-(4-(4-guanidinokarbonylbenzyliden)-2,5-dioksoimidazolidin-1-yl)-(2S)-N-benzyloksykarbonylamino-propionsyre-(t)-butylester (E- hhv. Z-37.4)

Man oppløste 0,262 g (0,5 mmol) av (Z-37.3) i 5 ml absolutt tetrahydrofuran, tilsatte 0,148 g (2,5 mmol) guanidin og

oppvarmet blandingen i 20 minutter med tilbakeløpskjøling. Etter fjerning av oppløsningsmidlet under vakuum ble resten kromatografert på kiselgel med metanol/metylenklorid (1:10). Man fikk 0,5 g (Z-37.4). Analogt omsatte man (E-37.3), hvor man som oppløsningsmiddel anvendte 1,2-dimetoksyetan. Man fikk 0,12 g (E-37.4).

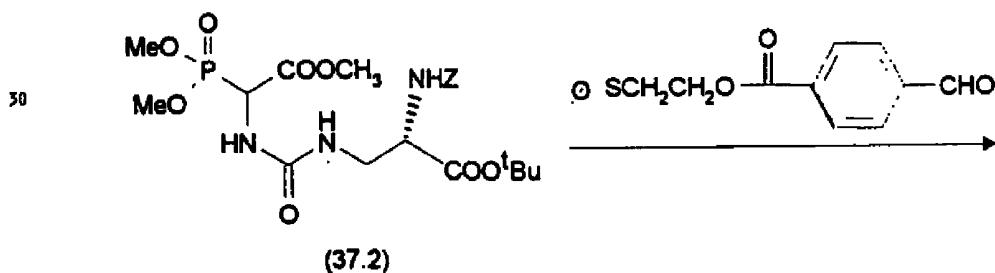
37e) E- hhv. Z-3-(4-(4-guanidinokarbonylbenzyliden)-2,5-dioksoimidazolidin-1-yl)-(2S)-N-benzyloksykarbonylamino-propionsyre-trifluoreddiksyresalt (E- hhv. Z-37.5)

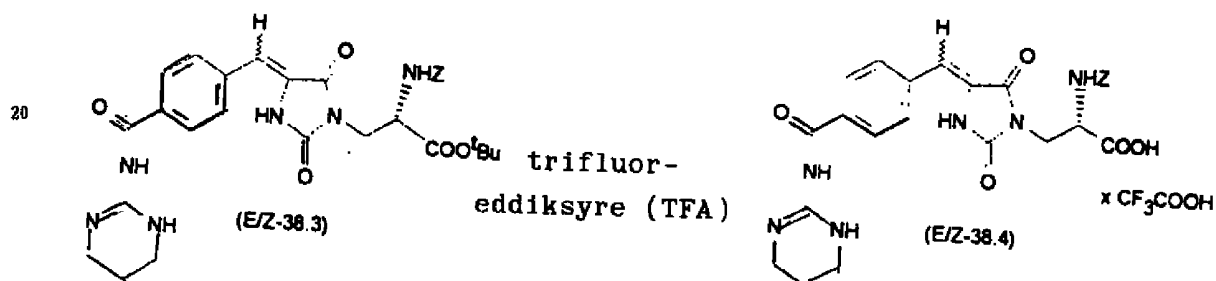
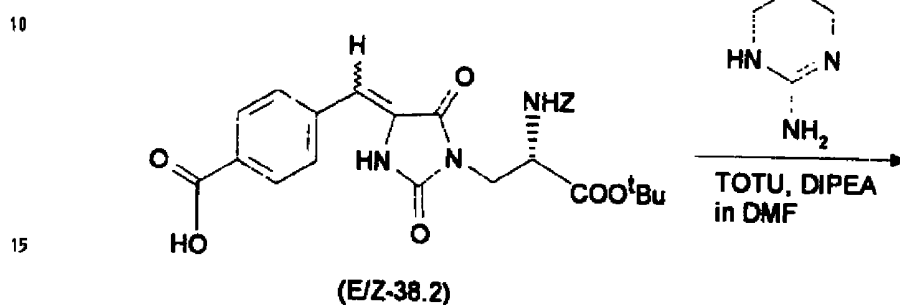
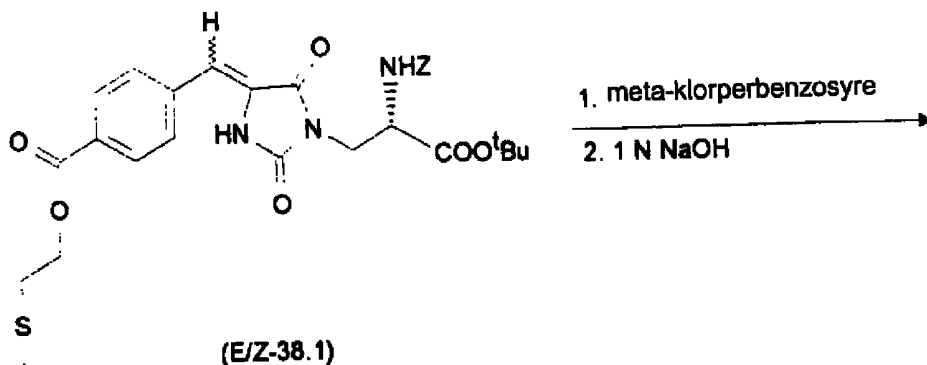
0,12 g (E-37.4) ble oppløst i iskald 90%-ig trifluoreddiksyre (ca. 10 ml) og omrørt i 1,5 timer under argonbeskyttelsesgass ved romtemperatur. Etter fjerning av oppløsningsmidlet under vakuum ble resten kromatografert med metanol/vann over RP 18. Produktfraksjonene ble inndampet og man fikk 0,06 g (E-37.5). Analogt fikk man fra 0,05 g (Z-37.4) 0,02 g (Z-37.5).

Eksempel 38

3-(4-E/Z-(4-(3,4,5,6-tetrahydropyrimidin-2-yl)-aminokarbonylbenzyliden)-2,5-dioksoimidazolidin-1-yl)-(2S)-N-benzyloksykarbonyl-alanin (E/Z-38.4)

Syntesen ble utført ifølge den nedenforstående reaksjonssekvens:





25 38a) E- hhv. Z-3-(4-((2-fenyltio)-etyloksykarbonylbenzyliden)-
2,5-diokso-imidazolidin-1-yl)-(2S)-N-benzylloksykarbonyl-
amino-propionsyre-tert-butylester (E- hhv. Z-38.1)

30 Analogt med omsetningen i 37c) fikk man fra 0,259 g (0,5 mmol)
av (37.2) 0,172 g formylbenzoesyre-(2-fenyltio)-etylester (0,6
mmol) 0,157 g (Z-38.1) og 0,153 g (E-38.1) (totalutbytte: ca.
91%), som enkeltvis kan isoleres ved kromatografi.

38b) E- hhv. Z-3-(4-(karboksybenzyliden)-2,5-diokso-imidazolidin-1-yl)-2-N-benzyloksykarbonylamino-propionsyre-tert-butylester (E- hhv. Z-38.2)

0,155 g (0,24 mmol) av (Z-38.1) ble oppløst i 5 ml tørt metylenklorid og tilsatt 0,098 g (0,4 mmol) 65%-ig meta-klorperbenzoesyre. Etter 1,5 timer var reaksjonen avsluttet. Man vasket metylenkloridoppløsningen med natriumbisulfitt (ca. 10%) og deretter med vann. Etter tørking over magnesiumsulfat, filtrering og fjerning av oppløsningsmidlet ble det oppnådd 0,15 g av fenylsulfonylesteren, som uten videre behandling ble tatt opp i en blanding av 8 ml dioksan, 1,4 ml metanol, så vel som 0,19 1N NaOH. Etter 16 timer ble oppløsningsmidlet fjernet under vakuum og resten ble kromatografert med metylenklorid/-metanol (95:5) over kiselgel. Utbytte: 0,033 g (Z-38.2). Analogt ble det fra 0,157 g (E-38.1) (0,24 mmol), oppnådd 0,051 g (E-38.2).

38c) 3-(4-E/Z-(4-(3,4,5,6-tetrahydropyrimidin-2-yl)-amino-karbonylbenzyliden)-2,5-diokso-imidazolidin-1-yl)-(2S)-N-benzyloksykarbonylamino-propionsyre-tert-butylester (E/Z-38.3)

Analogt med fremgangsmåten for syntesen av (11.6) (fremgangsmåte 11f), ble 0,05 g (E-38.2) (0,1 mmol) og 0,01 g (0,1 mmol) 2-amino-3,4,5,6-tetrahydropyrimidin brakt til reaksjon med den ekvivalente mengde TOTU (0,033 g) i dimetylformamid i nærvær av diisopropyletylamin. Den vanlige opparbeiding gav 0,06 g (E-38.3), som ble omsatt videre uten rensing. På den samme måte fikk man fra 0,03 g (Z-38.2) 0,025 g av råproduktet av (Z-38.3).

38d) 3-(4-E/Z-(4-(3,4,5,6-tetrahydropyrimidin-2-yl)-amino-karbonylbenzyliden)-2,5-diokso-imidazolidin-1-yl)-(2S)-N-benzyloksykarbonylamino-propionsyre (E/Z-38.4)

0,055 g (E-38.3) ble omrørt i 2 ml 90%-ig trifluoreddiksyre to timer under isavkjøling. Fjerning av oppløsningsmidlet under

vakuum og frysetørking av resten gav 0,02 g av (E-38.4). Analogt fikk man fra 0,02 g av (Z-38.3), 0,012 g av (Z-38.4).

Hemming av knokkelresorpsjon ved hjelp av oppfinnelsens forbindelser kan eksempelvis bestemmes ved hjelp av en osteoklastresorpsjonstest ("PIT ASSAY"), eksempelvis analogt med WO 95/32710. Denne testmetode, etter hvilken den antagonistiske virkning til oppfinnelsens forbindelser på vitronektinreseptoren $\alpha_v\beta_3$ kan bli bestemt, er beskrevet nedenfor.

¹⁰Testmetode 1:

Inhibering av bindingen av humant vitronektin (Vn) til humane vitronektinreseptorer (VnR) $\alpha_v\beta_3$: ELISA-test.

(Testmetode 1 blir forkortet med opplistingen av testresultatene med Vn/VnR).

¹⁵

1. Rensing av humant vitronektin

Humant vitronektin ble isolert fra humant plasma og renset ved affinitetskromatografi ifølge metoden til Yatocho et al., Cell Structure and Function, 1988, 23, 81-292.

²⁰

2. Rensing av human vitronektinreseptor $\alpha_v\beta_3$

Human vitronektinreseptor ble utvunnet fra humant placenta ifølge metoden til Pytela et al. Human vitronektinreseptor $\alpha_v\beta_3$ kan også bli utvunnet fra enkelte celledinjer (f.eks. fra 293-celler, en human embryonal nyrecelledinje), som er transfisert med DNA-sekvenser for begge subenhetene α_v og β_3 til vitronektinreseptoren. Urenhetene blir ekstrahert med oktylglykosid og deretter kromatografert over konkanavalin A, heparin-sepharose og S-300.

³⁰

3. Monoklonale antistoffer

Murine monoklonale antistoffer, spesifikke for β_3 subenheten til vitronektinreseptoren, ble fremstilt ifølge fremgangsmåten til Newman et al., Blood, 1985, 227-232, eller ved en liknende fremgangsmåte. Kanin Fab 2 anti-mus Fc-konjugatet mot pepperrotperoksidase (anti-mus Fc HRP) ble anskaffet fra Pel Freeze (katalog nr. 715 305-1).

³⁵

4. ELISA-test

Nunc-Maxisorb 96 brønners mikrotiterplater ble belagt med en oppløsning av human vitronektin (0,002 mg/ml, 0,05 ml/brønn) i PBS (fosfatbuffret koksaltoppløsning) over natten ved 4°C. Platene ble vasket to ganger med PBS/0,05% Tween 20 og blokkert ved inkubering (60 minutter) med bovint serumalbumin (BSA, 0,5%, RIA-kvalitetsklasse eller bedre) i tris-HCl (50 mmol), NaCl (100 mmol), MgCl₂ (1 mmol), CaCl₂ (1 mmol), MnCl₂ (1 mmol), pH 7. Man fremstilte oppløsninger av kjente inhibitorer og av teststoffene i konsentrasjoner på 2×10^{-12} - 2×10^{-6} mol/l i analysebuffer [BSA (0,5%, RIA-kvalitetsklasse eller bedre) i tris-HCl (50 mmol/l), NaCl (100 mmol), MgCl₂ (1 mmol), CaCl₂ (1 mmol), MnCl₂ (1 mmol), pH 7].

De blokkerte plater ble tømt og i hvert tilfelle 0,025 ml av oppløsningen som inneholdt den definerte konsentrasjon (2×10^{-12} til 2×10^{-6}) enten av en kjent inhibitor eller av et teststoff, ble tilsatt i hver brønn. 0,025 ml av en oppløsning av vitronektinreseptoren i testbuffer (0,03 mg/ml) ble pipettert i hver brønn på platen og platen ble inkubert på en raster i 60-180 minutter ved romtemperatur. I mellomtiden ble det fremstilt en oppløsning (6 ml/plate) av et for β_3 -subenhetene til vitronektinreseptoren spesifikt murint monoklonalt antistoff i analysebuffer (0,0015 mg/ml). Til denne oppløsning tilsatte man et annet kaninantistoff (0,001 ml stamoppløsning/6 ml av den murine monoklonale anti- β_3 -antistoffoppløsning), som er et anti-mus Fc HRP antistoffkonjugat, og denne blanding av murint anti- β_3 -antistoff og kanin-anti-mus Fc HRP-antistoffkonjugat lot man inkubere i tiden for reseptor-inhibitorinkubering.

Testplatene ble vasket fire ganger med PBS-oppløsning som inneholdt 0,05% Tween 20, og man pipetterte alltid 0,05 ml/brønn av antistoffblandingen til hver brønn på platen og inkuberte i 60-180 minutter. Platene ble vasket fire

ganger med PBS/0,05% Tween-20 og deretter fremkalt med 0,05 ml/brønn av en PBS-oppløsning som inneholdt 0,67 mg/ml o-fenylendiamin og 0,012% H₂O₂. Alternativt til dette kan det bli tilsatt en buffer (pH 5), som inneholder Na₃PO₄ (50 mmol) og sitronsyre (0,22 mmol). Fargeutviklingen ble stoppet med 1N H₂SO₄ (0,05 ml/brønn).

Absorpsjonen for hver brønn ble målt med 492-405 nm og dataene ble gitt verdier etter standardmetoder.

¹⁰Testmetode 2:

Inhibering av bindingen av kistrin til human vitronektinreseptor (VnR) $\alpha_v\beta_3$: ELISA-test.

(Testmetode 2 blir forkortet i tabellen over testresultatene med kistrin/VnR).

¹⁵

1. Rensing av kistrin

²⁰

Kistrin ble renset ifølge metoden beskrevet av Dennis et al., Proc. Natl. Acad. Sci. USA 1989, 87, 2471-2475 og PROTEINS: Structure, Function and Genetics 1993, 15, 312-321.

2. Rensing av human vitronektinreseptor $\alpha_v\beta_3$ se testmetode 1.

²⁵

3. Monoklonale antistoffer se testmetode 1.

4. ELISA-test

³⁰

Stoffers evne til å inhibere bindingen av kistrin til vitronektinreseptoren, kan måles med en ELISA-test. For dette formål ble Nunc 96 brønners mikrotiterplater belagt med en oppløsning av kistrin (0,002 mg/ml) ifølge metoden til Dennis et al., som beskrevet i PROTEINS: Structure, Functions and Genetics 1993, 15, 312-321. Den videre eksperimentelle gjennomføringen av ELISA-testen skjedde som beskrevet i testmetode 1, pkt. 4.

³⁵

Testresultater:

Eksempel	Vn/VnR IC ₅₀ (μmol)	Kistrin/VnR IC ₅₀ (μmol)
⁵ 1	0,008	0,02
3		0,36
4		1,66
5		0,04
7		0,58
¹⁰ 8		0,13
18		0,81
19		0,02

15

20

25

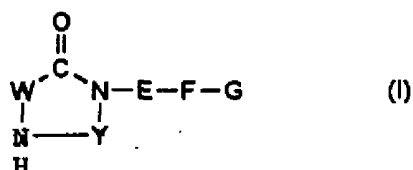
30

35

P a t e n t k r a v

1.

5 Forbindelser, k a r a k t e r i s e r t v e d formel I



10 hvor

W står for $\text{R}^1\text{-A-B-D-C(R}^{16}\text{)}$, $\text{R}^1\text{-A-B-D-CH=C}$;

Y står for C=O ,

A er -NH- , -CONH- , -CO- , -NH-NH-CO- eller en binding;

B står for en direkte binding eller $(\text{C}_1\text{-C}_4)\text{-alkandiyl}$;

15 D står for en direkte binding;

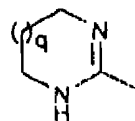
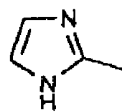
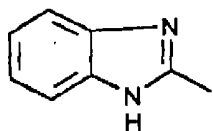
EFG er $\text{-CH}_2\text{-CO-NH-CH}_2\text{-CH-CO}_2\text{H}$,



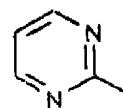
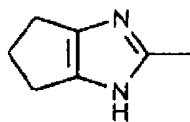
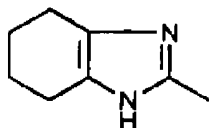
20 Z = $\text{-C(O)O-CH}_2\text{-Ph}$

$$\begin{array}{c}
 \text{NH} \\
 \parallel \\
 \text{R}^1 \text{ står for } \text{H}_2\text{N-C-NH-}
 \end{array}$$

25



30



35

R₁⁶ står for H,
q står for 0 eller 1,

5 så vel som deres fysiologisk akseptable salter.

2.

Anvendelse av forbindelsene med formel I ifølge krav 1, for fremstilling av inhibitorer for knokkelresorpsjon av osteoklast-
ter, av inhibitorer av tumorvekst og tumormetastasedannelse, av
10 betennelseshemmere, medikamenter for behandling eller pro-
fylakse av kardiovaskulære sykdommer så vel som medikamenter
for behandling eller profylakse av nefropatier og retino-
patier.

15 3.

Farmasøytisk tilberedning, k a r a k t e r i s e r t v e d a t
den omfatter minst én forbindelse med formel I ifølge krav 1,
deres fysiologisk akseptable salter ved siden av farmasøytisk
akseptable bære- og tilsetningsstoffer.

20

25

30

35