

(19)



SUOMI - FINLAND

(FI)

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

(10) **FI 961105 A7**

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

(21) Patentihakemus - Patentansökan - Patent application **961105**

(51) Kansainvälinen patenttiluokitus - Internationell patentklassifikation -
International patent classification

C07C271/22

C07D213/30

C07D295/08

C07D213/56

A61K 31/27

A61K 31/44

A61K 31/535

(22) Tekemispäivä - Ingivningsdag - Filing date **10.08.1994**

(23) Saapumispäivä - Ankomstdag - Reception date **08.03.1996**

(41) Tullut julkiseksi - Blivit offentlig - Available to the public **08.03.1996**

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

(86) Kansainvälinen hakemus - **10.08.1994 PCT/US1994/009053**
Internationell ansökan - International
application

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

09.09.1993 EP 93402194

(71) Hakija - Sökande - Applicant

1 • Merrell Pharmaceuticals, Inc., 2110 East Galbraith Road, Cincinnati, OH 45215, AMERIKAN YHDYSVALLAT, (US)

(72) Keksijä - Uppfinnare - Inventor

1 • Van Dorsselaer, Viviane, Strasbourg, RANSKA, (FR)

2 • Schirlin, Daniel, 67450 Lampertheim, RANSKA, (FR)

3 • Tarnus, Celine, Strasbourg, RANSKA, (FR)

(74) Asiamies - Ombud - Agent

Kolster Oy Ab, Salmisaarenaukio 1, 00180 Helsinki

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

Difluoristatoniviruksen vastaisia analogeja

Difluorstation antivirala analoger

Difluoristatoniviruksen vastaisia analogeja

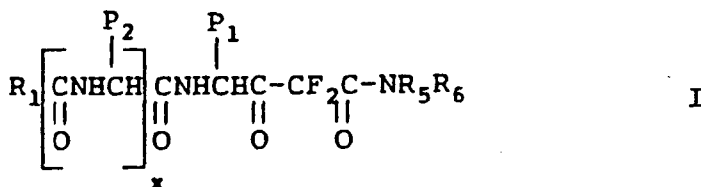
Tämä keksintö koskee uusia statoniviruksen vastaisia analogeja, menetelmiä ja välituotteita, jotka ovat
5 käyttökelpoisia niiden valmistamiseksi, ja niiden käyttöä viruksen vastaisina aineina.

Tämän keksinnön taustaa

Retrovirukset ovat luokka viruksia, jotka kuljettavat niiden geneettistä materiaalia ribonukleiinihappona
10 mielummin kuin deoksiribonukleiinihappona. Retrovirukset liittyvät lukuisiin erilaisiin sairauksiin ihmisessä, yksi sairauksista on AIDS. Vaikka on ollut esityksiä muista viruksen vastaisista aineista, jotka ovat käyttökelpoisia AIDS:n hoidossa, esimerkiksi katso patenttihakemukset
15 EP 0 218 688, EP 0 352 000 ja PCT/US 91/09 741, tämän keksinnön yhdisteitä ei ole aikaisemmin esitetty. PCT/US 91/09741 sisällytetään täten viittauksella.

Tämän keksinnön kuvaus

Tarkemmin sanottuna tämä keksintö koskee uusia difluoristatonianalogeja, joilla on kaava I
20



ja stereoisomeerejä, hydraatteja, isosteerejä ja niiden farmaseuttisesti hyväksyttäviä suoloja, joissa

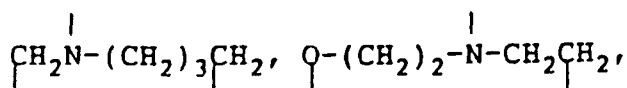


jossa T on $[(O)_b - W - R]$ ja T' on $[(O)_b - W' - R']$ tai H, jossa
30 kukin W ja W' on itsenäisesti C_{1-6} -alkyleeni tai ei mitään, edellyttäen, että W on C_{2-6} -alkyleeni, kun W on liitetty suoraan typpiin R:ssä, edellyttäen, että W' on C_{2-6} -alkyleeni, kun W' on liitetty suoraan typpiin R':ssa;
35

P_2 on C_{1-6} -alkyyli, syklopentyyli, hydroksi- C_{1-6} -alkyyli, fenyyli, bentsyyli tai 3-tetrahydrofuryyli;

R ja R' ovat kumpikin itsenäisesti C_{2-6} -alkenyleeni, piperatsinyyli, substituoitu piperatsinyyli, piperidyyli, morfolinyyli, pyridyyli, pyratsinyyli tai pyrimidinyyli, jossa substituoitu piperatsinyyli on piperatsinyyli, joka on substituoitu sen yhteen typpi-atomiin CHO :lla, $C(O)NHR_4$:llä, C_{1-4} -alkyyllillä tai CO_2R_4 :llä;

R_1 on bentsyylioksi, C_{1-6} -alkoksi, C_{1-6} -alkyyli, fenyyli, bentsyyli, fenetyyli, fluorenyylimetylenoksi, 2-kinolinyyli, PDL,



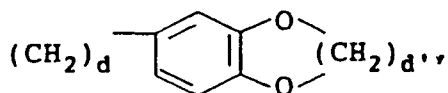
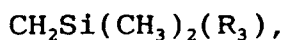
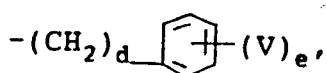
$NHSO_2R_4$, $N(R_4)$ (bentsyyli) tai $N(R_4)$ (PDL);

PDL on $-(CH_2)_6-2-$, $3-$ tai 4 -pyridyyli, tai p -substituoitu bentsyylioksi, jossa substituutio on nitrolla, OH :lla, aminolla, C_{1-6} -alkoksilla, hydroksi- C_{1-6} -alkyleenillä tai halogeenilla;

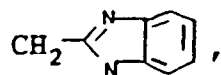
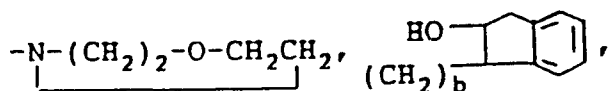
R_3 on C_{1-6} -alkenyyli, C_{1-6} -alkoksi, hydroksi- C_{1-6} -alkyyli, C_{1-6} -alkyyli tai OH ;

R_4 on H , C_{1-6} -alkyyli, fenyyli tai bentsyyli;

R_5 on H , C_{1-6} -alkyyli, OH , C_{1-6} -alkoksi,

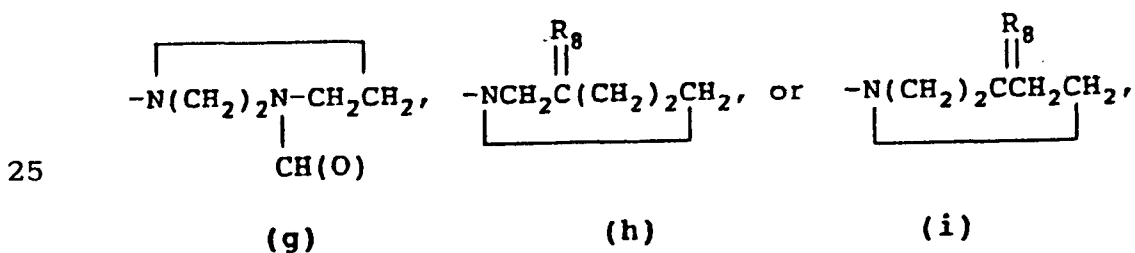
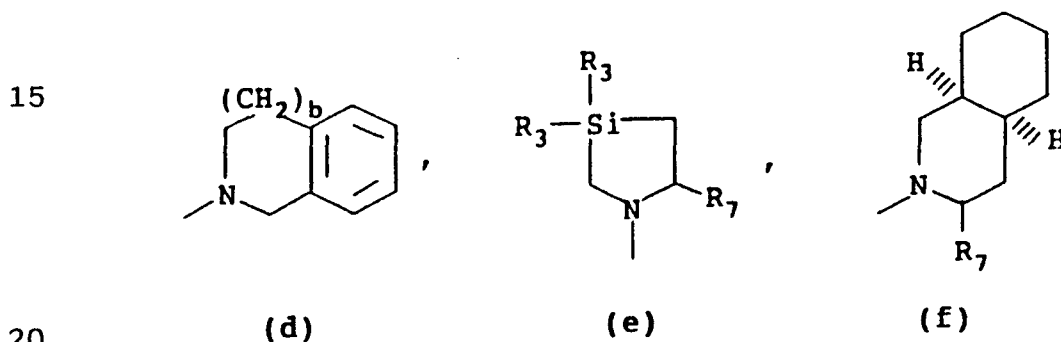
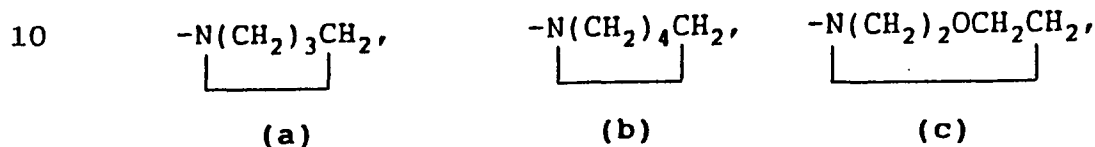


PDL,



$\{C_{1-6}\text{-alkyleeni}\}OR_4$ tai $-\text{CH}(Y)(Z)$, Y:n ollessa C_{1-6} -hydroksialkyleeni, C_{1-6} -alkyyli tai $(\text{CH}_2)_x\text{C}_6\text{H}_4(V)_e$, ja Z:n ollessa CHO , CO_2R_4 , CO_2NHR_4 tai $(\text{CH}_2)_x\text{OR}_4$, ja V:n ollessa OR_4 tai hydroksi- C_{1-6} -alkyleeni;

- 5 R_6 on kuten R_5 :lle on määritelty sillä ehdolla, että R_6 on muu kuin H, kun R_5 on H, ja kun R_5 ja R^6 yhdessä typpiatomin kanssa, johon ne ovat liittyneet, muodostavat heterosyklisen ryhmän, jolla on kaava



R_7 on CH_2OR_4 tai C(O)NHR_4 , CHO ,

R_8 on (H,OH) tai $=\text{O}$;

30 a on nolla, 1, 2 tai 3;

b ja b' ovat kumpikin itsenäisesti nolla tai 1;

d ja d' ovat kumpikin itsenäisesti 1 tai 2;

e ja e' ovat kumpikin itsenäisesti nolla, 1 tai 2;

ja

35 x on nolla tai yksi.

Kaavan I mukaisten yhdisteiden isosteereihin kuuluvat ne, joissa (a) P_1 - ja P_2 -substituenttien α -aminohapotähteet ovat niiden luonnottomassa konfiguraatiossa (silloin, kun on olemassa luonnollinen konfiguraatio) tai
 5 (b) kun normaalia peptidikarbamoyylisidosta modifioidaan, esimerkiksi, jolloin muodostuu $-\text{CH}_2\text{NH}-$ (pelkistetty),

O
 ||
 $-\text{C}-\text{N}(\text{CH}_3)$ (N-metyyliamidi), $-\text{COCH}_2-$ (keto), $-\text{CH}(\text{OH})\text{CH}_2-$ (hydroksi), $-\text{CH}(\text{NH}_2)\text{CH}_2-$ (amino), $-\text{CH}_2\text{CH}_2-$ (hiilivety).

10 Edullisesti keksinnön yhdisteen ei tulisi olla isosteerisessä muodossa. Ellei toisin mainita α -aminohapot ovat edullisesti niiden L-konfiguraatiossa.

Keksinnön yhdisteet voivat olla vapaassa muodossa, esim. amfoteerisessä muodossa, tai suolan muodossa, esim.
 15 happoadditio- tai anionisuola. Yhdiste vapaassa muodossa voidaan muuttaa suolamuodoksi alalla tunnetulla tavalla ja päinvastoin.

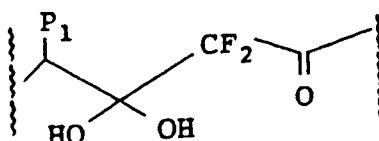
Kaavan I mukaisen peptidin farmaseuttisesti hyväksyttäviin suoloihin (veteen tai öljyyn liukenevien tai ha-
 20 joavien tuotteiden muodossa) kuuluvat tavanomaiset ei-toksiset suolat tai näiden peptidien kvaternääriset ammoniumsuolat, jotka muodostuvat esim. epäorgaanisista tai orgaanisista hapoista tai emäksistä. Esimerkkeihin tällaisista happoadditiosuoloista kuuluvat asetaatti, adipaatti, algi-
 25 naatti, aspartaatti, bentsoaatti, bentseenisulfonaatti, bisulfaatti, butyraatti, sitraatti, kamforaatti, kamforisulfonaatti, syklopentaanipropionaatti, diglukonaatti, dekyylisulfaatti, etaanisulfonaatti, fumaraatti, glukohaptanoaatti, glyserofosfaatti, hemisulfaatti, heptanoaatti, heksanoaatti, vetykloridi, vetybromidi, vetyjodidi, 2-hyd-
 30 roksietaanisulfonaatti, laktaatti, maleaatti, metaanisulfonaatti, 2-naftaleenisulfonaatti, nikotinaatti, oksalaatti, paemoaatti, pektinaatti, persulfaatti, 3-fenyylipropionaatti, pikraatti, pivalaatti, propionaatti, sukkinaatti,
 35 ti, tartraatti, tiosyanaatti, tosylaatit ja undekanoaatti.

Emässuoloihin kuuluvat ammoniumsuolat, alkalimetallisuolat, kuten natrium- ja kaliumsuolat, maa-alkalimetallisuolat, kuten kalsium- ja magnesiumsuolat, suolat orgaanisten emästen kanssa, kuten disykloheksyyliamiinisuo-

5 tyyli-D-glukamiini, ja suolat aminohappojen kanssa, kuten arginiinin, lysiinin ja niin edelleen. Lisäksi emäksiset tyyppiä sisältävät ryhmät voidaan kvaternisoida sellaisilla aineilla kuin alempi alkyylihalogenidit, kuten metyyli-, etyyli-, propyyli- ja butyylikloridi, bromidit ja jodidit;

10 dialkyyli-sulfaattit, kuten dimetyyli, dietyyli, dibutyyli; ja diamyyli-sulfaattit, pitkäketjuiset halogenidit, kuten dekyyli-, lauryyli-, myristyyli- ja stearyylikloridit, bromidit ja jodidit, aralkyylihalogenidit, kuten bentsyyli- ja fenetyyli-bromidit ja muut.

15 Kaavan I mukaisten yhdisteiden hydraatit ovat hydratoituja yhdisteitä, joilla on osittainen rakenne



20

ja loppukäyttösovelluksessaan ne ovat yleensä aktiivisia muotoja.

Yleensä, kuten tässä on käytetty, termi "alkyyli" käsittää sen haarautumattomat, haarautuneen ketjun ja syk-

25 lisoidut ilmenemismuodot, ellei toisin mainita, erityisesti sellaiset ryhmät, kuten metyyli, etyyli, isopropyyli, n-butyyli, t-butyyli, -CH₂-t-butyyli, syklopropyyli, n-propyyli, pentyyli, syklopentyyli, n-heksyyli, sykloheksyyli ja sykloheksyyli-metyyli. Termi "aralkyyli", silloin kun

30 sitä käytetään, käsittää ne aryyli-ryhmät, jotka ovat liittyneet alkyleenisiltaryhmään, edullisesti metyyliin ja etyyliin.

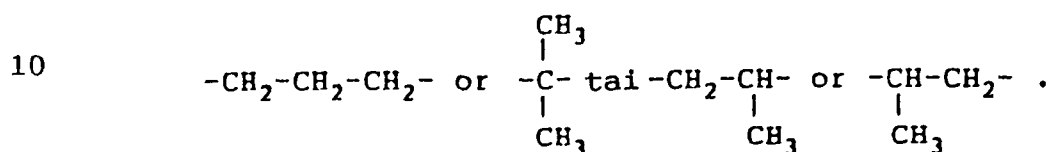
"Aryyli" käsittää sekä karbosykliset ja heterosykliset ryhmät, joista fenyyli, pyridyyli, pyrimidinyyli, pyratsinyyli, indolyyli, indatsolyyli, furyyli ja tienyyli

35

ovat ensisijaisesti kiinnostavia; nämä ryhmät käsittävät niiden asemaisomeerit, kuten esimerkiksi 2-, 3- tai 4-pyridyyli, 2- tai 3-furyyli ja tienyyli, 1-, 2- tai 3-indolyyli tai 1- ja 3-indatsolyyli, samoin kuin furyyli- ja tienyyli-ryhmien dihydro- ja tetrahydroanalogit. Lisäksi termiin "aryyli" kuuluvat sellaiset fuusioidut karbosykliset ryhmät, kuten pentalenyyli, indenyyli, naftalenyyli, atsulenyyli, heptalenyyli, asenaftyylenyyli, fluorenyyli, fenalenyyli, fenantreenyyli, antrasenyyli, asefenantreenyyli, aseantreenyyli, trifenylenyyli, pyrenyyli, krysenyyli ja naftasenyyli. Lisäksi termiin "aryyli" kuuluvat sellaiset muut heterosykliset radikaalit, kuten 2- tai 3-bentso[b]tienyyli, 2- tai 3-nafto[2,3-b]tienyyli, 2- tai 3-tiantreenyyli, 2H-pyran-3-(tai 4- tai 5-)yyli, 1-isobentsofuranyyli, 2H-kromenyl-3-yyli, 2- tai 3-fenoksatiinyyli, 2- tai 3-pyrrolyyli, 4- tai 3-pyratsolyyli, 2-pyratsinyyli, 2-pyrimidinyyli, 3-pyridatsinyyli, 2-indolitsinyyli, 1-isoindolyyli, 4H-kinolitsin-2-yyli, 3-isokinolyyli, 2-kinolyyli, 1-ftalatsinyyli, 1,8-naftyridinyyli, 2-kinoksalinyyli, 2-kinatsolinyyli, 3-kinnolinyyli, 2-pteridinyyli, 4aH-karbatsol-2-yyli, 2-karbatsolyyli, 8-karbolin-3-yyli, 3-fenantridinyyli, 2-akridinyyli, 2-perimidinyyli, 1-fenatsinyyli, 3-isotiatsolyyli, 2-fenotiatsinyyli, 3-isoksatsolyyli, 2-fenoksatsinyyli, 3-isokromanyyli, 7-kromanyyli, 2-pyrrolin-3-yyli, 2-imidatsolidinyyli, 2-imidatsolin-4-yyli, 2-pyratsolidinyyli, 3-pyratsolin-3-yyli, 2-piperidyyli, 2-piperatsinyyli, 1-indolinyyli, 1-isoindolinyyli, 3-morfolinyyli, bentso[b]isokinolinyyli ja bentso[b]furanyyli, mukaan lukien sen asemaisomeerit paitsi, että heterosyklisiä ryhmiä ei voida liittää suoraan niiden typen yhden, kahden tai kolmen substituentin kautta, jotka valitaan itsenäisesti C₁₋₆-alkyylistä, halogeenialkyylistä, alkoksista, tioalkoksista, aminoalkyyliaminosta, dialkyyliaminosta, hydroksista, halogeenista,

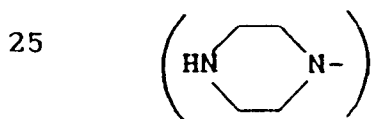
merkaptosta, nitrosta, karboksaldehydistä, karboksista, karboalkoksista ja karboksamidista.

Samalla tavalla termi "alkyleeni" (divalentti alkaaniradikaali) käsittää haarautumattoman ja haarautuneen ketjun ryhmät. Joitakin esimerkkejä haarautuneen ketjun alkyleeniryhmistä ovat etyylietyleeni, 2-metyyli-
5 trimetyleeni, 2,2-dimetyylitrimetyleeni ja niin edelleen. Esimerkiksi C₃-alkyleeni voi tarkoittaa

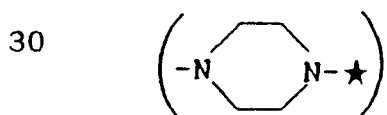


Kaikki C₁₋₆-ryhmät, kuten C₁₋₆-alkyyli, C₁₋₆-alkyleeni, C₂₋₆-alkenyleeni, C₁₋₆-alkoksi ja hydroksi-C₁₋₆-alkyyli ovat
15 edullisemmin C₁₋₃-ryhmiä (sisältävät 1 - 3 hiiliatomia 1 - 6 hiiliatomin sijaan, edullisemmin C₁₋₂-ryhmä ja edullisimmin C₁-ryhmä). "Alkenyleeni" (divalenssinen tyydyttymätön ryhmä) voi tarkoittaa myös "alkenyyliä", kuten etenyyliä (yksivalenssinen tyydyttymätön ryhmä).

20 Fluorenyylimetyloksiryhmä on se ryhmä, jota yleensä kutsutaan sen lyhenteellä FMOC, ja fluorenyyliryhmä, jossa on -CH₂O liittyneenä fluorenyyliryhmän 9-asemaan. Muut tässä määritellyt termit ovat piperatsinyyli

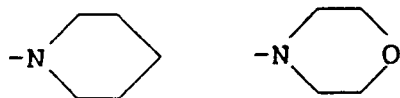


tai substituoitu piperatsinyyli



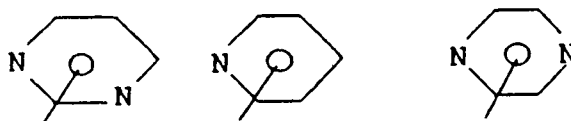
substituutio (★), joka ilmenee vain yhdessä typpimolekyylissä, joka ei ole liittynyt jäljellä olevaan molekyyliin
35 (liittyminen typpi-atomien kautta). Substituentit ovat yksi

seuraavista CHO, C(O)NHR₄, C₁₋₄-alkyyli tai CO₂R₄. Piperidyyli ja morfolinyyli molemmat sitoutuvat loppuosaan



5

molekyyliä niiden vastaavien typpiatomien kautta, kun taas pyrimidinyyli, pyridyyli ja pyratsinyyli sitoutuvat loppuosaan



10

molekyyliä mihin tahansa, paitsi niiden vastaaviin typpi-atomeihin.

Tarkemmin sanottuna siinä tapauksessa, jossa P₂ on joko C₁₋₆-alkyyli tai hydroksi-C₁₋₆-alkyyli, sellaiset ryhmät kuten -C(CH₃)₃, -CH(CH₃)₂, -CH(CH₃)(C₂H₅), -C(OH)(CH₃)₂ ja -CH(OH)CH₃ ovat edullisia. "Hydroksi-C₁₋₆-alkyyli"-ryhmää on havainnollistettu yhdessä esimerkissä -CH₂-OH:lla, "C₁₋₆-alkoksi-C₁₋₆-alkyyli"-ryhmää on havainnollistettu yhdessä esimerkissä -CH₂-OCH₃:lla, (vaikka kussakin tapauksessa C₁₋₆-alkyleeni voi olla haarautumaton tai haarautunut ja hydroksiradikaali ei ole rajoittunut alkyyli-ryhmän päättehiili-atomiin).

Koska usein on melko edullista omata se, mitä kutsutaan aminosuojaryhmäksi (Pg), niiden kaavan I mukaisten yhdisteiden piiri käsittää ne R₁-ryhmät, jotka yhdessä niiden viereisen karbonyyliryhmän kanssa, muodostavat sellaiset ryhmät, kuten asetyyli (Ac), sukkinyyli (Suc), bentsoyyli (Bz), t-butyylisoksikarbonyyli (Boc), bentsyylioksikarbonyyli (CBZ), tosyyl (Ts), dansyyli (DNS), isovaleyyli (Iva), metoksisukkinyyli (MeOSuc), 1-adamantaanisulfonyyli (AdSO₂), 1-adamantaaniasetyyli (AdAc), fenyyliasetyyli, t-butyylisasetyyli (Tba), bis[(1-naftyyli)metyyli]asetyyli (BNMA) ja Rz, jossa Rz on aryyli-ryhmä, kuten aikaisemmin on kuvattu, joka on sopivasti substituoitu 1 - 3 jäsenellä, jotka valitaan itsenäisesti ryhmästä, joka

koostuu fluorista, kloorista, bromista, jodista, trifluorimetyylistä, hydroksista, alkyylistä, joka sisältää 1 - 6 hiiltä, alkoksista, joka sisältää 1 - 6 hiiltä, karboksista, alkyylikarbonyyliaminosta, jossa alkyyliryhmä sisältää 1 - 6 hiiltä, 5-tetratsolosta ja asyylisulfonamidosta (so. asyyliaminosulfonyyli ja sulfonyyliaminokarbonyyli), joka sisältää 1 - 15 hiiltä, edellyttäen että kun asyylisulfonamido sisältää aryylin. Aryyli voi edelleen olla substituoitu jäsenellä, joka valitaan fluorista, kloorista, bromista, jodista ja nitrosta.

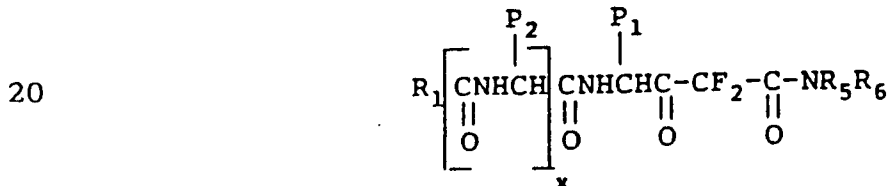
Niissä tapauksissa, joissa on olemassa Rz-ryhmä, on edullista, että Rz merkitsee asyylisulfonamidoa, erityisesti niissä, joissa asyylisulfonamido sisältää aryyli-ryhmän (edullisesti fenyylin), joka on substituoitu halogeenilla. Edullisten Rz-ryhmien ollessa 4-[(4-kloorifenyyli)sulfonyyliaminokarbonyyli]fenyylikarbonyyli, 4-[(4-bromifenyyli)sulfonyyliaminokarbonyyli]fenyylikarbonyyli ja 4-[fenyylisulfonyyliaminokarbonyyli]fenyylikarbonyyli (mainitut ryhmät lyhennetään 4-Cl- ϕ -SAC-Bz, 4-Br- ϕ -SAC-Bz ja vastaavasti ϕ -SAC-Bz).

Aminosuojaryhmien joukossa tarkastellaan: (1) asyy-lityyppisiä suojaryhmiä, kuten formyyli, trifluoriasetyyli, ftalyyli, p-tolueenisulfonyyli (tosyyli), bentseenisulfonyyli, nitrofenyylisulfonyyli, trityylisulfonyyli, O-nitrofenoksisetyyli ja α -klooributyryyli; (2) aromaattisia uretaanityyppisiä suojaryhmiä, kuten bentsyylioksi-karbonyyli ja substituoidut bentsyylioksikarbonyylit, kuten p-klooribentsyylioksikarbonyyli, p-metoksibentsyylioksikarbonyyli, p-nitrobentsyylioksikarbonyyli, p-bromibentsyylioksikarbonyyli, 1-(p-bifenyyli)-1-metyylietoksikarbonyyli, α -, α -dimetyyli-3,5-dimetoksibentsyylioksikarbonyyli ja bentshydrylioksikarbonyyli; (3) alifaattisia uretaanisuojaryhmiä, kuten tert-butylioksikarbonyyli (Boc), di-isopropyylimetoksikarbonyyli, isopropylioksikarbonyyli, etoksikarbonyyli ja allyylioksikarbonyyli;

(4) sykloalkyyliuretaanityyppisiä suojaryhmiä, kuten syklo-pentyylioksikarbonyyli, adamantyylioksikarbonyyli ja sykloheksyylioksikarbonyyli; (5) tioureetaanityyppisiä suojaryhmiä, kuten fenyylitiokarbonyyli; (6) alkyylityyppisiä suojaryhmiä, kuten trifenyylimetyyli (trityyli) ja bent-syyli (Bzl); (7) trialkyylisilaanisuojaryhmiä, kuten tri-metyylisilaani, jos yhteensopivia. Edullisia α -aminosuoja-ryhmiä ovat tert-butylioksikarbonyyli (Boc) tai bentsyylioksikarbonyyli (CBZ). Boc:n käyttö α -aminosuojaryhmänä aminohapoille kuvataan julkaisussa Bodansky et al., "The Practice of Peptide Synthesis", Springer-Verlag, Berlin (1984), s. 20.

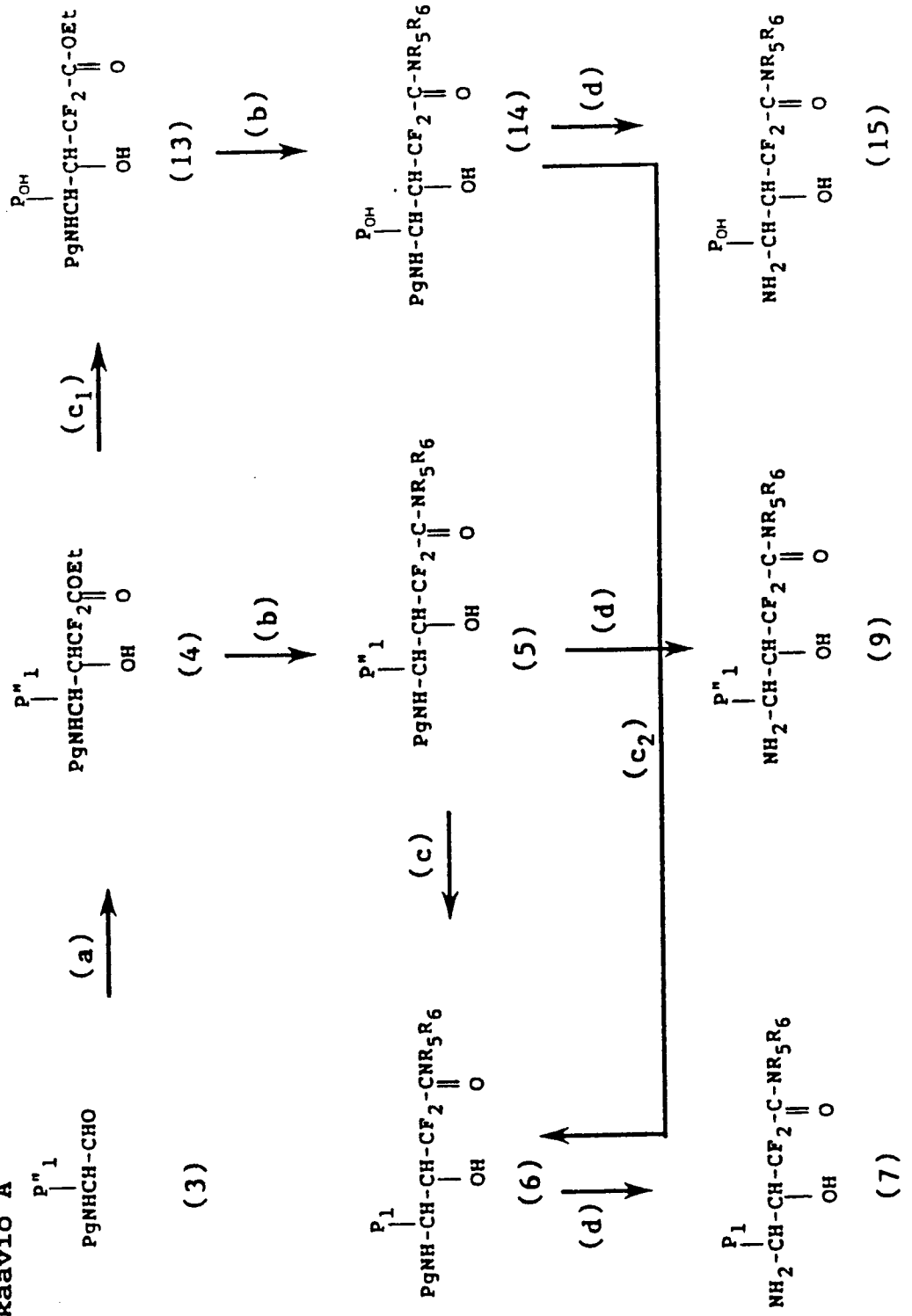
Yleensä tämän keksinnön yhdisteet voidaan valmistaa käyttäen standardikemiallisia reaktioita, jotka tunnetaan alalla analogisesti.

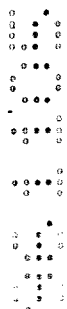
Tapauksessa, jossa halutaan valmistaa yhdisteitä, joilla on kaava



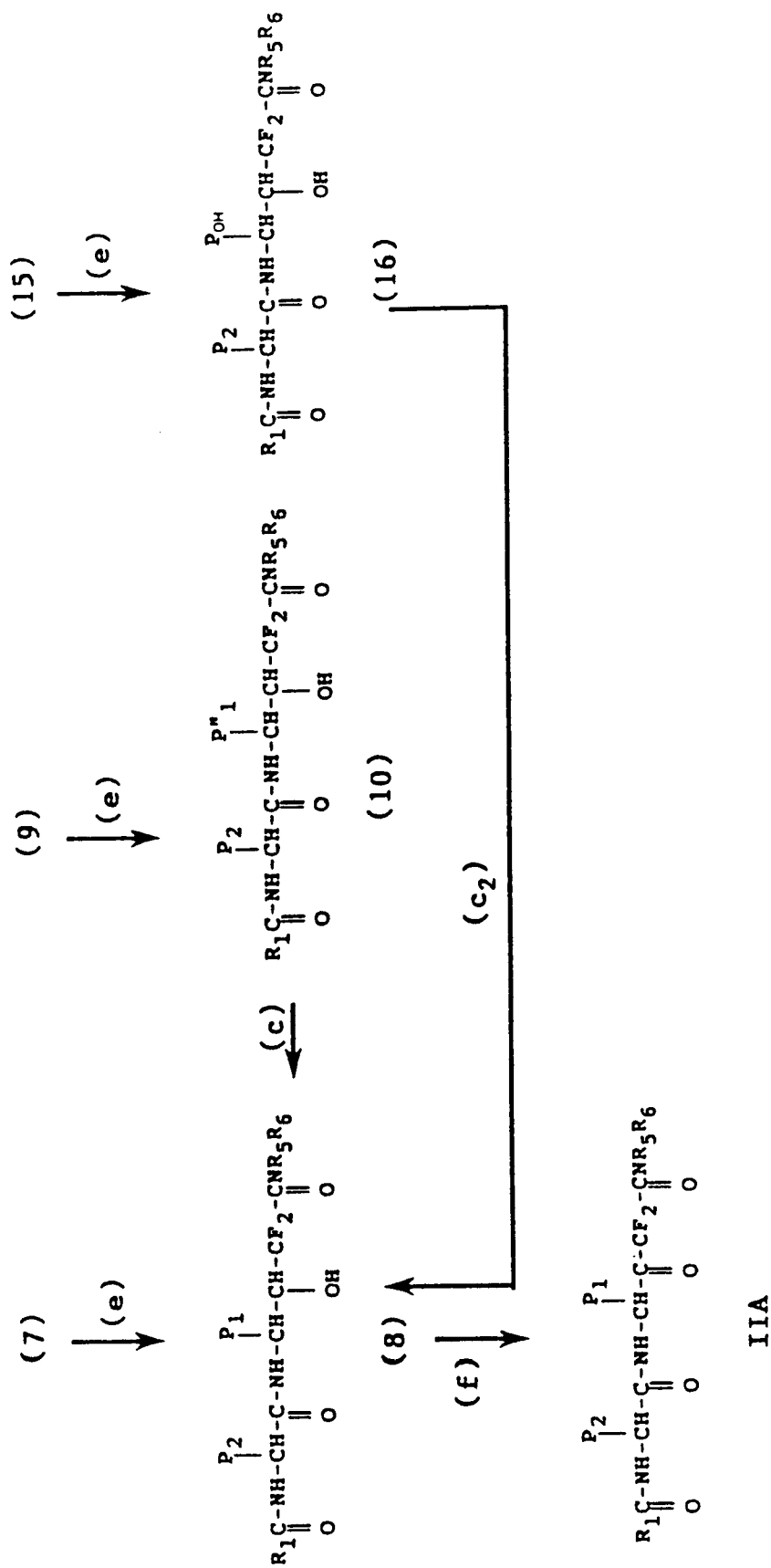
I

jossa R_1 , P_2 , P_1 , R_5 ja R_6 ovat aikaisemmin määriteltäviä, voidaan edullisesti käyttää menetelmää, joka on kuvattu seuraavilla reaktiokaavioilla.

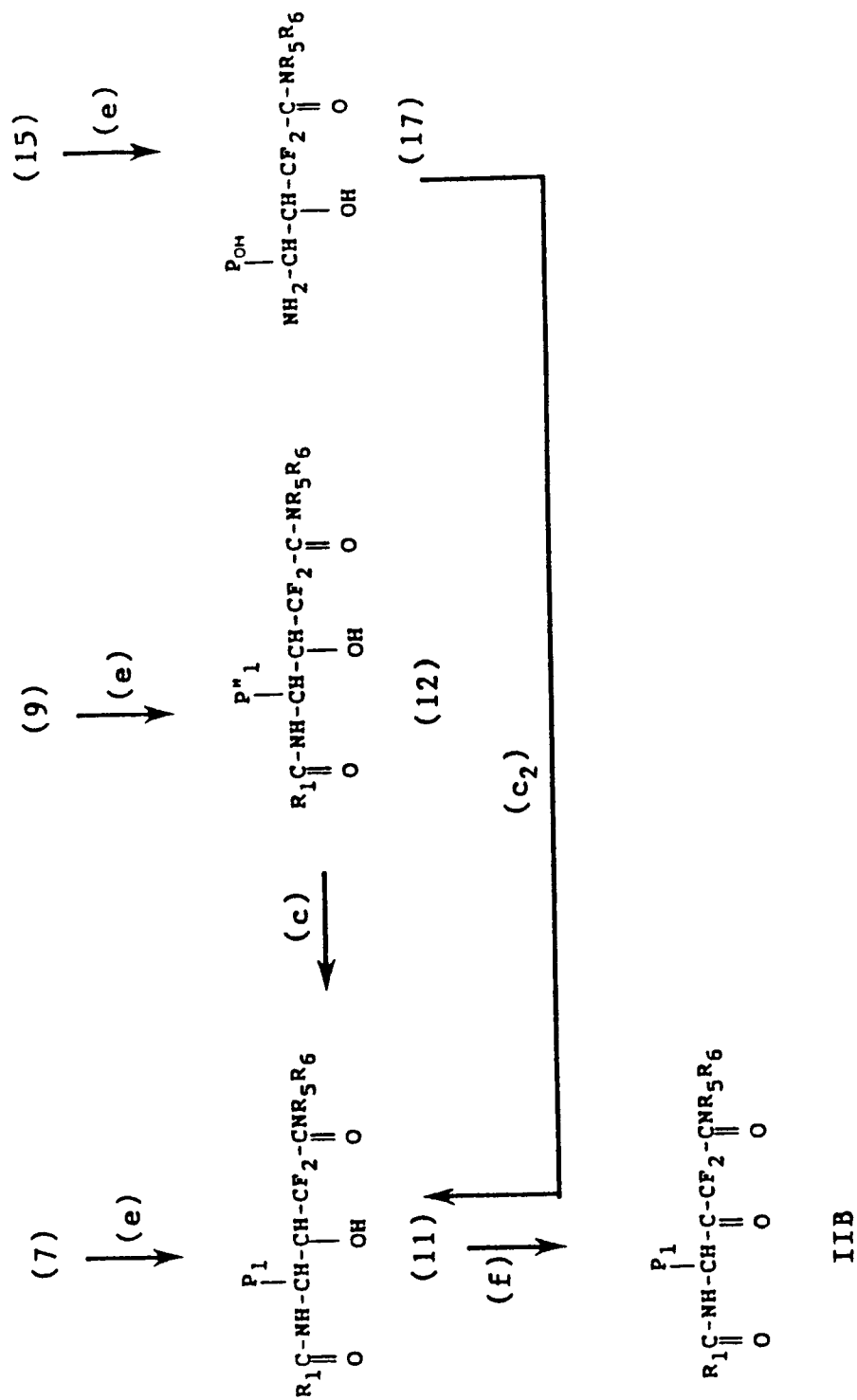




Reaktiokaavio A'



Reaktiokaavio A"



Toteutettaessa reaktiokaaviota A, A' tai A" menetelmä aloitetaan suorittamalla Reformatsky-tyyppinen reaktio, jossa kaavan (3) mukainen aldehydi altistetaan kondensaatioreaktiolle bromidifluorietikkahapon esterin kanssa, edullisesti etyyliesterin, sinkin ollessa läsnä ja vedettömässä aproottisessa liuottimessa, esim. tetrahydrofuraanissa, eetterissä, dimetoksietaanissa ja niiden kaltaisissa, käyttäen typen tai argonin inerttiä atmosfääriä. Reaktioseosta kuumennetaan varovasti noin 60 °C:seen noin 1 - 12 tunnin ajan tai ultraäänikäsitellään, jolloin valmistetaan yhdisteet (4).

Kohta (b), jolloin saadaan yhdisteet (5) tai (14), voidaan toteuttaa suoraan tai epäsuoraan. Yhdessä tapauksessa kaavan (4) tai (13) mukaiset esterit de-esteröidään käyttäen vahvaa emästä (LiOH, KOH, NaOH ja niiden kaltaiset) veden ollessa läsnä käyttäen osittain veteen sekoitettavaa liuotinta (kuten tetrahydrofuraani, dimetoksietaani, dioksaani) noin huoneenlämpötilassa. Näin saatu yhdiste, joka on de-esteröity, aminoidaan sitten sopivasti R_5R_6 -substituoidulla amiinilla käyttäen peptidinkaltaista kytkentämenetelmää - so. käyttäen seka-anhydridimenetelmää, käyttäen DCC:a ja hydroksibentsotriatsolia huoneenlämpötilassa liuottimissa, kuten CH_2Cl_2 , tetrahydrofuraani tai dimetyyliformamidi. Vaihtoehtoisesti esterit (4) tai (13) voidaan suoraan altistaa reaktiolle sopivan R_5R_6 -substituoidun amiinin kanssa liuottimen (tetrahydrofuraani) kanssa tai ilman noin 80 °C:ssa.

Kohdassa (c) yhdisteet (6), (8) tai (11) valmistetaan poistamalla P''_1 -suojarahma käyttäen standardimenetelmiä, esim. hydrausta. Vapaa fenoli funktionaalinen ryhmä saatetaan sitten reagoimaan sopivan alkyylihalogenidin kanssa inertissä liuottimessa (edullisesti vedettömässä dioksaanissa tai vedettömässä dimetyyliformamidissa) emäksen (kalium- tai cesiumkarbonaatti) ollessa läsnä kalium-

jodidin kanssa tai ilman huoneen- tai palautusjäähdytys-
lämpötilassa.

Kohdassa (c1) yhdiste (13) valmistetaan poistamalla
Pⁿ₁-suojaryhmä käyttäen standardimenetelmiä, esim. hydraus-
5 ta, P^{OH}:n ollessa saatu yhdiste. P^{OH} on vapaa fenoli.

Kohdassa (c2) yhdisteet (6), (8) tai (11) valmiste-
taan P^{OH}-johdannaisista (14), (16) tai (17) reaktiolla so-
pivan alkyylihalogenidin kanssa inertissä liuottimessa
emäksen ollessa läsnä.

10 Kohdassa (d), yhdisteiden (7), (9) ja (15) valmis-
tamiseksi, suojaryhmät Pg voidaan helposti poistaa stan-
dardimenetelmillä edullisesti happo/emäs-hydrolyysillä
(esim. muurahaishappo huoneenlämpötilassa, minkä jälkeen
15 vapaan emäksen uuttamisella natriumkarbonaatilla käsitte-
lyn jälkeen).

Kohdassa (e) yhdisteet (7), (9) tai (15) altiste-
taan peptidikytchentämenetelmälle sopivasti suojatun kaavan
R₁CONHCH(O₂)CO₂H tai R₁CO₂H mukaisen hapon kanssa käyttäen
tässä kuvattuja menetelmiä (tai millä tahansa muulla nyky-
20 ään käytettävissä olevalla kytchentämenetelmällä tai EP-pa-
tentti hakemuksessa sarjanumero 93 401 785.6 kuvatulla),
jolloin valmistetaan yhdisteet (8) ja (11) (yhdisteestä
(7)); (10) ja (12) (yhdisteestä (9)); ja (16) ja (17) (yh-
disteestä (15)).

25 Kohdassa (f) hapetus voidaan saada aikaan hyvin
tunnetun Swern-hapetusmenetelmän avulla tai 1,1,1-tris-
(asetyylioksi)-1,1-dihydro-1,2-bentsodioksol-3(1H)-onin
kanssa. Jälkimmäinen on edullinen, kun useampi kuin yksi
emäksinen ryhmä on läsnä alkoholiesiasteissa (8) tai (11).
30 Hapetusmenetelmät saadaan aikaan alalla hyvin tunnettujen
standardimenetelmien mukaisesti.

Yleensä Swern-hapetus [katso Synthesis, (1981),
165] saadaan aikaan saattamalla 2 - 20 ekvivalenttia di-
metyylisulfoksidia (DMSO) reagoimaan noin 1 - 10 ekvi-
35 valentin kanssa trifluorimetyylietikkahapon anhydridiä

$[(CF_3CO)_2O]$ tai oksalyylikloridia $[(COCl)_2]$, mainittujen reagoivien aineiden ollessa liuenneita inerttiin liuottimeen, esim. metyleenikloridiin (CH_2Cl_2), mainitun reaktion tapahtuessa käyttäen inerttiä atmosfääriä (esim. typpeä tai samalla tavalla toimivaa kaasua) käyttäen vedettömiä olosuhteita lämpötiloissa noin $-70 - -30\text{ }^\circ\text{C}$, jolloin muodostuu in situ sulfoniumaddukti, johon lisätään noin 1 ekvivalentti sopivia alkoholeja, so. yhdisteitä (8) ja (11). Edullisesti alkoholit liuotetaan inerttiin liuottimeen, esim. CH_2Cl_2 , tetrahydrofuraani tai minimi määrä DMSO:a, ja reaktioseoksen annetaan lämmetä noin $-50\text{ }^\circ\text{C}$:seen tai $-20\text{ }^\circ\text{C}$:seen (noin 20 - 60 minuutin ajan) ja sitten reaktio menee loppuun lisäämällä noin 3 - 30 ekvivalenttia tertiäristä amiinia, esim. trietyyliamiinia, di-isopropylietyyliamiinia, N-metyylimorfoliinia, jne.

Toinen vaihtoehtomenetelmä alkoholien muuttamiseksi halutuiksi ketoneiksi on hapetusreaktio, joka käyttää periodaania (so. 1,1,1-tris(asetyyli)oksi-1,2-bentsodioksol-3(1H)-onia), [katso Dess Martin, *J. Org. Chem.*, **48**, 4155, (1983)]. Tämä hapetus saadaan aikaan saattamalla noin 1 ekvivalenttia alkoholeja kosketuksiin 1 - 5 ekvivalentin kanssa periodaania (edullisesti 1,5 ekvivalenttia), mainitun reagenssin ollessa suspensiossa inertissä liuottimessa (esim. metyleenikloridi) käyttäen inerttiä atmosfääriä (edullisesti typpeä) käyttäen vedettömiä olosuhteita $0 - 50\text{ }^\circ\text{C}$:ssa (edullisesti huoneenlämpötilassa) ja antaen reagoivien aineiden vuorovaikuttaa noin 1 - 48 tunnin ajan. Amiinisuojarahmien mahdollinen suojauksen poisto voidaan saada aikaan, kuten halutaan, ketonien eristämisen jälkeen.

Yleensä modifioitu Jones-hapetusmenetelmä voidaan sopivasti saada aikaan saattamalla alkoholit reagoimaan pyridiniumdikromaatin kanssa saattamalla reagoivat aineet kosketuksiin yhdessä vettä sitovassa molekyyliseulajauheessa (esim. jauhettu $3\text{ \AA}$ ($0,3\text{ nm}$) molekyyliseula),

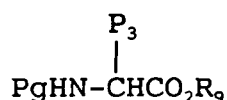
jossa mainittu kosketus on jääetikkahapon ollessa läsnä noin 0 - 50 °C:ssa, edullisesti huoneenlämpötilassa, minkä jälkeen eristetään ja sitten mahdollisesti poistetaan amiinisuojarahmät.

- 5 Vaihtoehtoisesti 1 - 5 ekvivalenttia kromihapon anhydridi-pyridiini-kompleksia (so. Sarett-reagenssi, joka valmistetaan in situ) [katso Fieser ja Fieser "Reagents for Organic Synthesis" Vol. 1, ss. 145, ja Sarett, et al., J.A.C.S. 25, 422, (1953)], mainittu kompleksi valmistetaan
- 10 in situ inertissä liuottimessa (esim. CH₂Cl₂) inertissä atmosfäärissä käyttäen vedettämiä olosuhteita 0 - 50 °C:ssa, johon kompleksiin lisätään 1 ekvivalentti alkoholeja, jolloin sallitaan reagoivien aineiden olla vuorovaikutuksessa noin 1 - 15 tunnin ajan, minkä jälkeen eristetään ja amiinisuojarahmät mahdollisesti poistetaan.

- 15 Kaavan (3) mukaisten tarpeellisten aldehydien valmistamiseksi ja happojen valmistamiseksi, jotka kytketään kaavan (7), (9) tai (15) mukaisten amiinien kanssa, käytetään vaihtoehtoisia alkylointimenetelmiä riipuen siitä
- 20 ovatko P₁- ja/tai P₂-ryhmät vaiko eivät luonnollisten aminohappojen tähteitä. Näiden välituotteiden valmistus, joissa yhdisteissä P₁- tai P₂-ryhmät ovat luonnollisten aminohappojen tähteitä (tai niiden vähäisten modifikaatioiden, esim. P₁ ja P₂ ovat tyrosiinin bentsyyli- tai metyylietteri), yhdisteet ovat joko tunnettuja tai ne valmistetaan alalla hyvin tunnetuilla menetelmillä ja tekniikoilla.

Välituotteiden valmistamiseksi, joilla on kaava

30

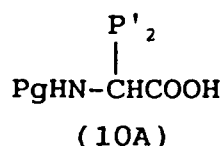
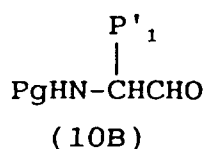


- 35 jossa Pg on aminosuojarahmä, P₃ on joko P'₁- tai P'₂-ryhmä, P'₁ ja P'₂ ovat määritellyjä P₁:lle ja vastaavasti P₂:lle, paitsi että ne ovat muita kuin luonnollisesti esiintyvien

aminohappojen tähteitä, ja R_9 -ryhmä on alkyyliradikaali, edullisesti metyyli, kun P_3 on P'_1 , ja etyyli, kun P_3 on P'_2 , vaihtoehtoiset menetelmät ovat käytettävissä.

Välituotteiden valmistamiseksi, joilla on kaava

5

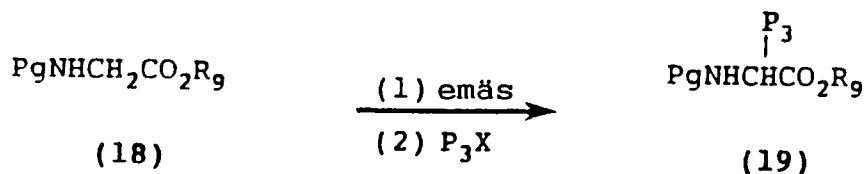


10

voidaan käyttää seuraavaa reaktiokaaviota

Reaktiokaavio B

15



20

jossa P_3 on aikaisemmin määriteltä ja X on poistuva ryhmä, edullisesti halogeeni tai triflaatti, R_9 on metyyli, kun P_3 on P'_1 , ja etyyli, kun P_3 on P'_2 .

25

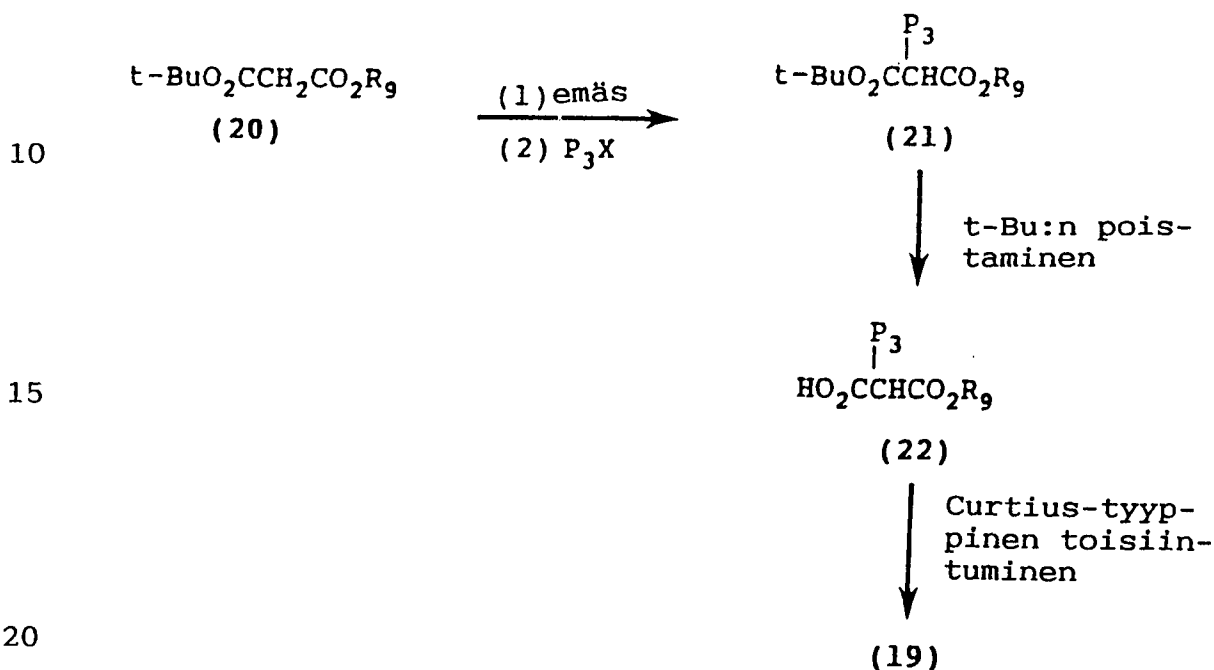
Varsinaisesti yhdisteiden (19) valmistus käyttää Krapcho-menetelmää [Tetrahedron Letters, 26, 2205 (1976)] alkylointia varten, jossa yhdistettä (18) käsitellään emäksellä, esim. LDA (litiumdi-isopropyyliamidi), minkä jälkeen saatetaan reagoimaan halutun P_3X :n kanssa TMEDA:n (so. tetrametyylietyleenidiamiinin) ollessa läsnä liuottimessa (tetrahydrofuraani) HMPA:n (so. heksametyylifosforamidi) kanssa tai ilman standardi Krapcho-olosuhteiden mukaisesti. Alkyloinnin jälkeen yhdisteet altistetaan sitten pelkistykselle käyttäen di-isobutyrylialumiinihydridiä (Di-bal) liuottimien seoksessa, esim. eetteri, tolueni, heksaani, tetrahydrofuraani, noin -78°C :ssa noin 1 tunnin ajan. Kaavan (10B) mukaisten aldehydien valmistuksen jälkeen yhdisteet altistetaan reaktiokaavioiden A, A' ja/tai A'' menetelmille.

35

Vaihtoehtoisesti yhdisteet (19) voidaan valmistaa Malonate/Curtius-tyyppisellä reaktiosekvenssillä, [katso Yamada, et al., J. Amer. Chem. Soc., (1972) 94, 6203] kuten havainnollistetaan seuraavalla reaktiokaaviolla

5

Reaktiokaavio C



jossa t-Bu on t-butyylili, vaikka muuta selektiivistä happosuo-
 jaryhmien poistamista voidaan käyttää, ja P₃X on aikai-
 semmin määriteltä. Tämä reaktio käsittää malonaattiesterin
 25 (20) alkyloinnin, minkä jälkeen t-butyylisuo-
 jaryhmän selektiivisen poistamisen, jolloin valmistetaan yhdisteet
 (22). Nämä yhdisteet muutetaan sitten yhdisteiksi (19)
 käyttäen Curtius-tyyppistä toisiintumista, joka tuo muka-
 naan niiden muuttamisen suo-
 jatukseksi amiiniksi välituotteina
 30 muodostettujen atsidien, isosyanaattien, amiinien kautta,
 jotka sitten suojataan standardi aminosuojaryhmillä, edul-
 lisesti suojataan in situ.

Siinä tapauksessa, jossa P₃ merkitsee P'₁-ryhmää,
 esteri muutetaan kaavan (3) mukaisiksi halutuiksi aldehy-
 35 deiksi käyttäen standardi Dibal-pelkistysmenetelmiä, eri-

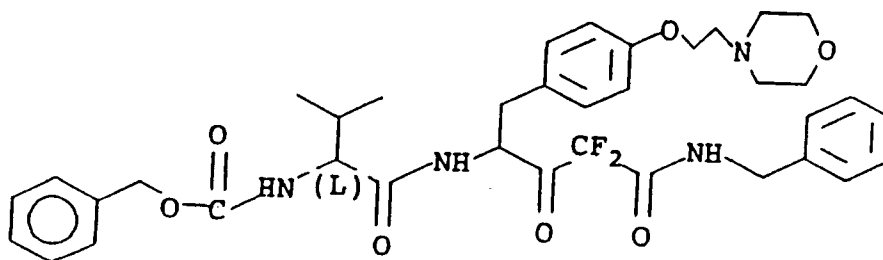
tyisesti tässä tilanteessa (jossa P_1 ei ole luonnollisen aminohapon tähde). Vaihtoehtoisesti (kuten on edullista, kun P_1 on luonnollisen aminohapon tähde) esteri de-esteröidään vastaavaksi hapokseen, muutetaan vastaavaksi hydroksamaatiksi, ja hydroksamaatti litiumalumiinihydridillä käsittelyn jälkeen muutetaan aldehydikseen. Siinä tapauksessa, kun P_3 merkitsee P'_2 -ryhmää, yhdisteiden (19) etyyliesterit poistetaan ja saatavat yhdisteet ovat valmiita kyt-

Kun tässä on kuvattu yleisesti menetelmiä tämän keksinnön yhdisteiden valmistamiseksi, seuraavat spesifiset esimerkit havainnollistavat sitä kemiaa ja menetelmiä, joilla synteesi voidaan saada aikaan.

Seuraavat esimerkit esittävät tyypillisiä synteesejä, kuten on kuvattu kaavioissa A, A' tai A". Näiden esimerkkien ymmärretään olevan vain havainnollistavia, eikä niiden ole tarkoitus rajoittaa tämän keksinnön piiriä millään tavalla. Tässä käytettynä, seuraavilla termeillä on mainitut merkitykset: "g" viittaa grammoihin; "mmol" viittaa millimoleihin; "ml" viittaa millilitroihin; "kp" viittaa kiehumispisteeseen; "sp" viittaa sulamispisteeseen; "°C" viittaa Celsius-asteisiin; "mmHg" viittaa elohopea-millimetreihin; "μl" viittaa mikrolitroihin; "μg" viittaa mikrogrammoihin; ja "μM" viittaa mikromolaariseen; "Cbz" tarkoittaa karbobentsyylioksia.

Esimerkki 1

4-(N-bentsyylioksykarbonyyli-L-valyyli)amino-2,2-difluori-3-okso-5-[4-(2-{N-morfolinyyli}etyylioksi)fenyyli]-N-bentsyylipentanamidi



Kohta A:

4-tert-butoksikarbonyyliamino-2,2-difluori-3-hydroksi-5-[(4-bentsyylioksi)fenyyli]-N-bentsyylipentanamidi

4-tert-butoksikarbonyyliamino-2,2-difluori-3-hydroksi-5-[(4-bentsyylioksi)fenyyli]pentaanihapon etyyliesterin (4,79 g, 10 mmol), yhdiste, joka on kuvattu patenttihakemuksessa PCT/US91/09741, joka on tehty 20.12.1991 ja joka sisällytetään tähän viittauksella, liuokseen vedettömässä tetrahydrofuraanissa (25 ml) lisättiin bentsyyliamiini (6,42 g, 60 mmol). Seosta sekoitettiin huoneenlämpötilassa yön yli. Raaka seos laimennettiin etyyliasetaatilla (150 ml), pestiin 0,1 N vesipitoisella kloorivetyhapollla (3 x 50 ml), vedellä (50 ml) ja suolaliuoksella (50 ml). Orgaaninen kerros kuivattiin vedettömällä magnesiumsulfaatilla.

Suodatuksen ja liuottimen poistamisen tyhjössä jälkeen jäännös puhdistettiin flash-kromatografialla (silikaageeli, etyyliasetaat/sykloheksaani: 2:8), jolloin saatiin otsikon yhdiste (3,80 g, 71 %:n saanto).

Rf: 0,47 (etyyliasetaat/sykloheksaani)

sp: 142 °C

MS: [MH]⁺ = 541 [MNH₄]⁺ = 558

Analyysi: C₃₀H₃₄N₂O₅F₂:lle

laskettu: C 66,65; H 6,34; N 5,18

25 todettu: C 66,96; H 6,34; N 5,15.

Kohta B:

4-amino-2,2-difluori-3-hydroksi-5-[(4-bentsyylioksi)fenyyli]-N-bentsyylipentanamidi

4-tert-butoksikarbonyyliamino-2,2-difluori-3-hydroksi-5-[(4-bentsyylioksi)fenyyli]-N-bentsyylipentanamidin (0,65 g, 1,2 mmol) liuosta muurahaishapossa (20 ml) sekoitettiin huoneenlämpötilassa 4 tunnin ajan. Liuotin poistettiin tyhjössä. Jäännös liuotettiin etyyliasetaattiin (60 ml) ja pestiin kylläisellä natriumkarbonaatin liuoksella (3 x 10 ml) ja suolaliuoksella (10 ml). Orgaaninen kerros kuivattiin magnesiumsulfaatilla.

Suodatuksen ja liuottimen poistamisen jälkeen tyhjössä saatiin otsikon yhdiste valkoisena kiinteänä aineena (0,42 g, 80 %:n saanto), jota käytettiin ilman lisäpuhdistusta seuraavassa kohdassa.

5 Rf: 0,62 (AcOH/nBuOH/H₂O: 2:6:2)

MS: [MH]⁺ = 441

Analyysi: C₂₅H₂₆N₂O₃F₂:lle

laskettu: C 68,17; H 5,95; N 6,36

todettu: C 67,88; H 5,88; N 6,56.

10 Kohta C:

4-(N-tert-butoksikarbonyyli-L-valyyli)amino-2,2-difluori-3-hydroksi-5-[(4-bentsyylioksi)fenyyli]-N-bentsyyllipentanamidi

15 N-tert-butoksikarbonyyli-L-valyylianhydridin (0,387 g, 0,93 mmol) liuokseen vedettömässä dikloorimetaanissa (10 ml) huoneenlämpötilassa lisättiin 4-amino-2,2-difluori-3-hydroksi-5-[(4-bentsyylioksi)fenyyli]-N-bentsyyllipentanamidin (0,41 g, 0,93 mmol) liuos vedettömässä N,N-dime-
20 tyyliformamidissa (3 ml) ja vedettömässä dikloorimetaanis-
sa (2 ml). Seosta sekoitettiin huoneenlämpötilassa yön yli.

25 Haihdutuksesta ja jäännöksen puhdistuksesta kromatografialla (silikageeli, etyyliasetaatti/sykloheksaanin gradientti: 2:8 - 1:1) saatiin valkoinen kiinteä aine (0,45 g, 76 %:n saanto).

Rf: 0,38 (AcOEt/sykloheksaani: 1:1)

MS: [MH]⁺ = 640

Analyysi: C₃₅H₄₃N₃O₆F₂:lle

laskettu: C 65,71; H 6,77; N 6,57

30 todettu: C 65,92; H 6,87; N 6,45.

Kohta D:

4-(N-tert-butoksikarbonyyli-L-valyyli)amino-2,2-difluori-3-hydroksi-5-[(4-(hydroksi)fenyyli]-N-bentsyylipentanamidi

5 4-(N-tert-butoksikarbonyyli-L-valyyli)amino-2,2-difluori-3-hydroksi-5-[(4-bentsyylioksi)fenyyli]-N-bentsyylipentanamidin (0,35 g, 0,55 mmol) liuokseen absoluutisessa etanolissa (15 ml) ja vedettömässä N,N-dimetyyli-formamidissa (5 ml) lisättiin 10-%:inen palladium akti-
10 voidussa puuhiilessä (0,1 g). Tätä seosta sekoitettiin huoneenlämpötilassa käyttäen atmosfäärin (101 kPa) vety-painetta yön yli.

Katalyytin suodatuksesta ja haihdutuksesta tyhjössä saatiin 90 % otsikon yhdistettä (0,27 g) valkoisena kiin-
15 teänä aineena.

Rf: 0,29 (etyyliasettaatti/sykloheksaani: 1:1).

Kohta E:

4-(N-tert-butoksikarbonyyli-L-valyyli)amino-2,2-difluori-3-hydroksi-5-[4-(2-{N-morfolinyyli}etyylioksi)fe-
20 nyyli]-N-bentsyylipentanamidi

4-(N-tert-butoksikarbonyyli-L-valyyli)amino-2,2-difluori-3-hydroksyl-5-[4-(hydroksi)fenyyli]-N-bentsyylipentanamidin (0,27 g, 0,49 mmol) liuokseen vedettömässä dioksaanissa (20 ml) lisättiin vedetön cesiumkarbonaatti
25 (0,422 g, 1,3 mmol), kaliumjodidi (0,01 g) ja N-(2-kloori-etyyli)morfoliinin vetykloridi (0,111 g, 0,6 mmol). Tätä seosta kuumennettiin palautusjäähdyttään 72 tuntia. Raaka seos laimennettiin etyyliasetaatilla (100 ml) ja pestiin kolme kertaa vedellä ja suolaliuoksella. Orgaaninen kerros
30 kuivattiin magnesiumsulfaatilla.

Suodatuksesta ja liuottimen haihdutuksesta tyhjössä saatiin jäännös, joka puhdistettiin flash-kromatografialla (silikageeli, etyyliasettaatti). Otsikon yhdiste saatiin 62 %:n saannolla (0,2 g).

Rf: 0,33 (CHCl₃/CH₃OH: 92:8)

MS: [MH⁺] = 663.

Kohta F:

5 4-(L-valyyli)amino-2,2-difluori-3-hydroksi-5-[4-(2-
 {N-morfolinyyli}etyylioksi)fenyyli]-N-bentsyylipentanamidi
 4-(N-tert-butoksikarbonyyli-L-valyyli)amino-2,2-di-
 fluori-3-hydroksi-5-[4-(2-{N-morfolinyyli}etyylioksi)fe-
 nyyli]-N-bentsyylipentanamidin (0,19 g, 0,28 mmol) liuosta
 muurahaishapossa (15 ml) sekoitettiin huoneenlämpötilassa
 10 4 tunnin ajan. Kun liuotin oli haihdutettu tyhjöissä, jään-
 nös laimennettiin etyyliasetaatilla (50 ml) ja pestiin
 kolme kertaa kylläisellä liuoksella natriumkarbonaattia
 (3 x 10 ml) ja suolaliuoksella (10 ml). Orgaaninen kerros
 kuivattiin magnesiumsulfaatilla.

15 Suodatukselta ja liuottimen poistosta tyhjöissä saa-
 tiin otsikon yhdiste valkoisena kiinteänä aineena, jota
 käytettiin ilman puhdistusta seuraavassa kohdassa (0,11 g,
 69 %:n saanto).

Kohta G:

20 4-(N-bentsyylioksikarbonyyli-L-valyyli)amino-2,2-
 difluori-3-hydroksi-5-[4-(2-{N-morfolinyyli}etyylioksi)fe-
 nyyli]-N-bentsyylipentanamidi
 4-(L-valyyli)amino-2,2-difluori-3-hydroksi-5-[4-(2-
 {N-morfolinyyli}etyylioksi)fenyyli]-N-bentsyylipentanami-
 25 din (0,1 g, 0,18 mmol) liuokseen vedettömässä dikloorime-
 taanissa (10 ml) lisättiin bentsyylidikarbonaatti (0,055
 g, 0,19 mmol). Seosta sekoitettiin huoneenlämpötilassa yön
 yli.

30 Liuottimen haihdutuksesta tyhjöissä, jäännöksen puh-
 distuksesta flash-kromatografiolla (silikageeli, CH₂Cl₂/
 CH₃OH: 99:1) ja uudelleenkiteytyksestä (etyyliasetatti/
 pentaani) saatiin otsikon yhdiste valkoisena kiinteänä ai-
 neena (0,075 g, 60 %:n saanto).

Rf: 0,38 (kloroformi/metanoli: 92:8)

35 MS: [MH⁺] = 697

Analyysi: $C_{37}H_{46}N_4O_7F_2$:lle

laskettu 0,25 H_2O :n kanssa:

C 63,77; H 6,68; N 7,98

todettu:

C 63,34; H 6,64; N 8,08.

5

Kohta H:

4-(N-bentsyylioksidikarbonyyli-L-valyyli)amino-2,2-difluori-3-okso-5-[4-(2-{N-morfolinyyli}etyylioksi)fenyyli]-N-bentsyylipentanamidi

10 Oksalyylikloridin (0,102 g, 0,8 mmol) liuokseen vedettömässä dikloorimetaanissa (1 ml) -60 °C:ssa lisättiin, käyttäen typpeä suojakaasuna, dimetyylisulfoksidi (tislattu käyttäen kalsiumhydridiä) (0,125 g, 1,6 mmol) vedettömässä dikloorimetaanissa (1 ml). 10 minuutin sekoittamisen jälkeen lisättiin 4-(N-bentsyylioksidikarbonyyli-L-valyyli)amino-2,2-difluori-3-hydroksi-5-[4-(2-{N-morfolinyyli}etyylioksi)fenyyli]-N-bentsyylipentanamidin
15 (0,06 g, 0,08 mmol) liuos vedettömässä dikloorimetaanissa (3 ml). Seosta sekoitettiin -60 °C:ssa 3 tunnin ajan ja lämpötilan annettiin sitten nousta -10 °C:seen. Sitten lisättiin trietyyliamiini (0,101 g, 1 mmol) vedettömässä dikloorimetaanissa (1 ml). Seosta sekoitettiin 15 tuntia, samalla kun lämpötilan annettiin nousta huoneenlämpötilaan. Raaka seos otettiin etyyliasetaattiin (30 ml) ja pestiin 0,1 N vesipitoisella kloorivetyhapolla (3 x 8 ml),
25 suolaliuoksella (8 ml) ja kuivattiin magnesiumsulfaatilla.

Suodatuksesta ja liuottimen poistosta tyhjässä saatiin raaka jäännös, joka puhdistettiin flash-kromatografialla (silikageeli, kloroformi/metanoli: 99:1). Otsikon yhdiste eristettiin valkoisena kiinteänä aineena (0,036 g, 61 %:n saanto).

30 Rf: 0,40 (kloroformi/metanoli: 92:8)

MS: $[MH]^+ = 695$

Analyysi: $C_{37}H_{44}N_4O_7F_2$:lle

laskettu: C 63,96; H 6,38; N 8,06

35

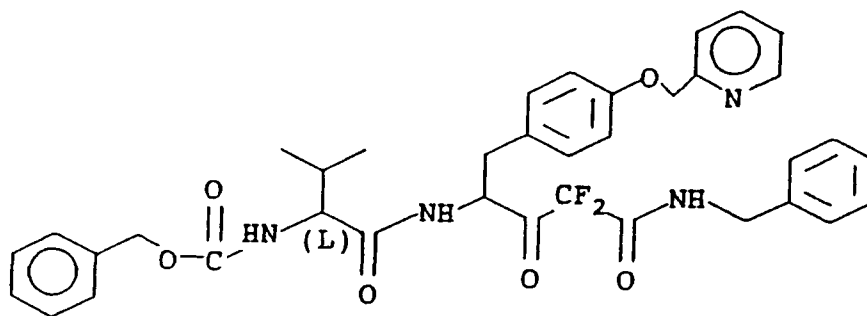
todettu: C 64,10; H 6,50; N 7,65.

^{19}F NMR: osoittaa kahden stereoisomeerin (40/60) ja ketoni/hydraatin seoksen: 75/25.

Esimerkki 2

4-(N-bentsyylioksikarbonyyli-L-valyyli)amino-2,2-difluori-3-okso-5-[4-({2-pyridyyli}metyylioksi)fenyyli]-N-bentsyylipentanamidi

10



Kohta A:

4-tert-butoksykarbonyyliamino-2,2-difluori-3-hydroksi-5-[(4-hydroksi)fenyyli]-N-bentsyylipentanamidi

4-(tert-butoksykarbonyyliamino-2,2-difluori-3-hydroksi-5-[(4-bentsyylioksi)fenyyli]-N-bentsyylipentanamidin (1,90 g, 3,5 mmol) liuosta absoluuttisessa etanolissa (100 ml) sekoitettiin 10-%:isen palladiumin puuhiilellä (0,6 g) kanssa huoneenlämpötilassa käyttäen atmosfäärin (101 kPa) vetypainetta yön yli.

Katalyytin suodatukselta ja suodoksen haihdutuksesta tyhjössä saatiin 89 % otsikon yhdistettä (1,40 g) valkoisena kiinteänä aineena.

Rf: 0,38 (etyyliasetatti/sykloheksaani)

Analyysi: $\text{C}_{23}\text{H}_{28}\text{N}_2\text{O}_5\text{F}_2$, 0,25 H_2O :lle

laskettu: C 60,72; H 6,31; N 6,16

todettu: C 60,60; H 6,25; N 6,03.

30

Kohta B:

4-tert-butoksykarbonyyliamino-2,2-difluori-3-hydroksi-5-[4-({2-pyridyyli}metyylioksi)fenyyli]-N-bentsyylipentanamidi

4-tert-butoksykarbonyyliamino-2,2-difluori-3-hydroksi-5-[(4-hydroksi)fenyyli]-N-bentsyylipentanamidin

(0,59 g, 1,3 mmol) liuokseen vedettömässä dioksaanissa (25 ml) lisättiin vedetön cesiumkarbonaatti (1,11 g, 3,4 mmol), kaliumjodidi (0,01 g) ja 2-pikolyylikloridin vetykloridi (0,246 g, 1,5 mmol). Tätä seosta kuumennettiin palautusjäähdyttämällä 6 tunnin ajan. Raaka seos laimennettiin etyyliasetaatilla (150 ml) ja pestiin kolme kertaa vedellä ja kerran suolaliuoksella. Orgaaninen kerros kuivattiin magnesiumsulfaattilla.

Suodatukselta ja liuottimen haihdutuksesta tyhjössä saatiin jäännös, joka puhdistettiin flash-kromatografiolla (silikageeli, etyyliasetaatti/sykloheksaanin gradientti; 3:7 - 1:1). Otsikon yhdiste eristettiin 40 %:n saannolla (0,23 g).

Rf: 0,49 (AcOEt/sykloheksaani: 1:1)

MS: [MH]⁺ = 542.

Kohta C:

4-amino-2,2-difluori-3-hydroksi-5-[4-({2-pyridyyli}metyylioksi)fenyyli]-N-bentsyylipentanamidi

4-tert-butoksikarbonyyliamino-2,2-difluori-3-hydroksi-5-[4-({2-pyridyyli}metyylioksi)fenyyli]-N-bentsyylipentanamidin (0,28 g, 0,52 mmol) liuosta muurahaishapossa (25 ml) sekoitettiin huoneenlämpötilassa 4 tunnin ajan. Liuotin poistettiin tyhjössä. Jäännös liuotettiin etyyliasetaatilla (60 ml) ja pestiin kylläisellä natriumkarbonaatin liuoksella (3 x 20 ml) ja suolaliuoksella, sitten kuivattiin magnesiumsulfaattilla.

Suodatukselta ja liuottimen poistosta tyhjössä saatiin otsikon yhdiste valkoisena kiinteänä aineena (0,17 g, 75 %:n saanto), jota käytettiin ilman puhdistusta seuraavassa kohdassa.

Kohta D:

4-(N-bentsyylioksikarbonyyli-L-valyyli)amino-2,2-difluori-3-hydroksi-5-[4-({2-pyridyyli}metyylioksi)fenyyli]-N-bentsyylipentanamidi

5 Cbz-L-valyylianhydridin (0,184 g, 0,28 mmol) liuokseen vedettömässä dikloorimetaanissa (8 ml) lisättiin 4-amino-2,2-difluori-3-hydroksi-5-[4-({2-pyridyyli}metyylioksi)fenyyli]-N-bentsyylipentanamidi (0,17 g, 0,38 mmol) vedettömässä dikloorimetaanissa (3 ml) ja vedettömässä
10 N,N-dimetyyliformamidissa (1 ml). Tätä seosta sekoitettiin huoneenlämpötilassa yön yli.

 Liuotin poistettiin tyhjössä ja jäännös puhdistettiin flash-kromatografiolla (silikageeli, etyyliasetaatti/sykloheksaanin gradientti: 3:7 - 75:25). Otsikon yhdiste eristettiin valkoisena kiintenä aineena (0,195 g, 76 %:n saanto).

Rf: 0,45 (etyyliasetaatti)

MS: [MH]⁺ = 675

Analyysi: C₃₇H₄₀N₄O₆F₂:lle

20 laskettu: C 64,15; H 6,11; N 8,09

 todettu: C 64,31; H 6,05; N 7,96.

¹⁹F NMR: osoittaa 2 diastereoisomeerin seokseen 85/15.

Kohta E:

25 4-(N-bentsyylioksikarbonyyli-L-valyyli)amino-2,2-difluori-3-okso-5-[4-({2-pyridyyli}metyylioksi)fenyyli]-N-bentsyylipentanamidi

 Oksalyylikloridin (0,303 g, 2,5 mmol) liuokseen vedettömässä dikloorimetaanissa (3 ml) -60 °C:ssa käyttäen typpeä suojakaasuna, lisättiin dimetyylisulfoksidin (0,39 g, 5 mmol) liuos vedettömässä dikloorimetaanissa (1 ml).
30 10 minuutin sekoittamisen jälkeen lisättiin 4-(N-bentsyylioksikarbonyyli-L-valyyli)amino-2,2-difluori-3-hydroksi-5-[4-({2-pyridyyli}metyylioksi)fenyyli]-N-bentsyylipentanamidin (0,17 g, 0,25 mmol) liuos vedettömässä dikloorimetaanissa
35 (4 ml). Seosta sekoitettiin -60 °C:ssa käyttäen

tyypeä suojakaasuna 3 tunnin ajan ja lämpötilan annettiin sitten nousta -10 °C:seen. Sitten lisättiin trietyyliamiini (0,303 g, 3 mmol) vedettömässä dikloorimetaanissa (1 ml). Seosta sekoitettiin 15 tuntia, samalla kun lämpötilan annettiin nousta huoneenlämpötilaan. Raaka seos otettiin etyyliasetaattiin (50 ml) ja pestiin 0,1 N vesipitoisella kloorivetyhapolla (3 x 10 ml). Orgaaninen kerros pestiin vedellä, suolaliuoksella ja kuivatettiin magnesiumsulfaattilla.

Suodatuksen ja liuottimen poiston jälkeen tyhjössä jäännös puhdistettiin flash-kromatografialla (silikageeli, etyyliasetaatti/sykloheksaanin gradientilla: 4:6 - 75:25). Otsikon yhdiste eristettiin valkoisena kiinteänä aineena (0,09 g, 53 %:n saanto).

Rf: 0,50 (AcOEt)

MS: $[MH]^+ = 673$

Analyysi: $C_{37}H_{38}N_4O_6F_2$:lle

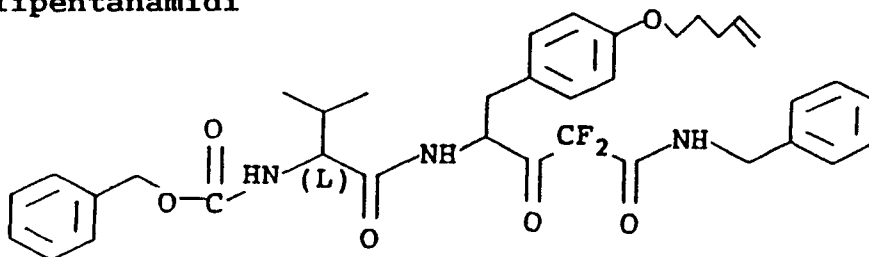
laskettu: C 66,06; H 5,69; N 8,33

todettu: C 66,12; H 5,77; N 8,15.

^{19}F NMR: osoittaa kahden stereoisomeerin seoksen (40/60).

Esimerkki 3

4-(N-bentsyylioksikarbonyyli-L-valyyli)amino-2,2-difluori-3-okso-5-[4-(okso-4-pentenyyli)fenyyli]-N-bentsyylipentanamidi



Kohta A:

4-tert-butoksykarbonyyliamino-2,2-difluori-3-hydroksi-5-[4-(okso-4-pentenyyli)fenyyli]-N-bentsyylipentanamidi

Esimerkin 2 kohdassa A kuvatus yhdisteen (0,45 g, 1 mmol) liuokseen vedettömässä dioksaanissa (15 ml) lisät-

tiin vedetön kaliumkarbonaatti (0,116 g, 1,2 mmol), kaliumjodidi (0,01 g) ja 5-bromi-1-penteeni (1,64 g, 11 mmol). Seosta kuumennettiin palautusjäähdyttäen 3 vuorokauden ajan.

- 5 Raaka seos laimennettiin etyyliasetaatilla (100 ml) ja pestiin kolme kertaa vedellä ja kerran suolaliuoksella. Orgaaninen kerros kuivattiin magnesiumsulfaatilla.

- Suodatuksesta ja liuottimen haihdutuksesta tyhjössä saatiin jäännös, joka puhdistettiin flash-kromatografialla (silikageeli, etyyliasetaatti/sykloheksaanin gradientti 1:9 - 2:8). Otsikon yhdiste eristettiin valkoisena kiinteänä aineena 31 %:n saannolla (0,16 g).

Rf: 0,53 (AcOEt/sykloheksaani: 1:1)

MS: $[MH]^+ = 519$ $[MNH_4]^+ = 536$.

- 15 Kohta B:

4-amino-2,2-difluori-3-hydroksi-5-[4-(okso-4-pentenyyli)fenyyli]-N-bentsyylipentanamidi

- 4-tert-butoksikarbonyyliamino-2,2-difluori-3-hydroksi-5-[4-(okso-4-pentenyyli)fenyyli]-N-bentsyylipentanamidin (0,16 g, 0,30 mmol) liuosta muurahaishapossa (10 ml) sekoitettiin huoneenlämpötilassa 4 tunnin ajan. Liuotin poistettiin tyhjössä.

- Jäännös liuotettiin etyyliasetaattiin (60 ml) ja pestiin kolme kertaa kylläisellä natriumkarbonaatin liuoksella (3 x 20 ml) ja suolaliuoksella (20 ml), sitten kuivattiin vedettömällä magnesiumsulfaatilla.

- Suodatuksesta ja liuottimen poistosta tyhjössä saatiin otsikon yhdiste valkoisena kiinteänä aineena (0,08 g, 63 %:n saanto), jota käytettiin ilman puhdistusta seuraavassa kohdassa.

Kohta C:

4-(N-bentsyylioksikarbonyyli-L-valyyli)amino-2,2-difluori-3-hydroksi-5-[4-(okso-4-pentenyyli)fenyyli]-N-bentsyylipentanamidi

5 Cbz-L-valyylianhydridin (0,092 g, 0,20 mmol) liuokseen vedettömässä dikloorimetaanissa (10 ml) lisättiin 4-amino-2,2-difluori-3-hydroksi-5-[4-(okso-4-pentenyyli)fenyyli]-N-bentsyylipentanamidi (0,08 g, 0,19 mmol) vedettömässä dikloorimetaanissa (3 ml). Seosta sekoitettiin huoneenlämpötilassa yön yli.

Liuotin poistettiin tyhjössä ja jäännös puhdistettiin flash-kromatografialla (silikageeli, etyyliasetaatti/sykloheksaani: 3:7).

15 Otsikon yhdiste eristettiin valkoisena kiintenä aineena (0,09 g, 73 %:n saanto).

Rf: 0,37 (etyylisasetaatti/sykloheksaani: 1:1)

MS: [MH]⁺ = 652

Kohta D:

20 **4-(N-bentsyylioksikarbonyyli-L-valyyli)amino-2,2-difluori-3-okso-5-[4-(okso-4-pentenyyli)fenyyli]-N-bentsyylipentanamidi**

25 Oksalyylikloridin (0,178 g, 1,4 mmol) liuokseen vedettömässä dikloorimetaanissa (10 ml) -60 °C:ssa käyttäen tyypeä suojakaasuna lisättiin vedettömän dimetyylisulfoksidin (0,218 g, 2,8 mmol) liuos vedettömässä dikloorimetaanissa (1 ml). 10 minuutin sekoittamisen jälkeen lisättiin 4-(N-bentsyylioksikarbonyyli-L-valyyli)amino-2,2-difluori-3-hydroksi-5-[4-okso-4-pentenyyli)fenyyli]-N-bentsyylipentanamidin (0,09 g, 0,14 mmol) liuos vedettömässä dikloorimetaanissa (3 ml).

30 Seosta sekoitettiin -60 °C:ssa käyttäen tyypeä suojakaasuna 3 tunnin ajan ja lämpötilan annettiin sitten nousta -10 °C:seen. Sitten lisättiin trietyyliamiini (0,162 g, 1,6 mmol) vedettömässä dikloorimetaanissa

(1 ml). Seosta sekoitettiin 15 tuntia, samalla kun lämpötilan annettiin nousta huoneenlämpötilaan.

5 Raaka seos otettiin etyyliasetattiin (50 ml) ja pestiin 0,1 N vesipitoisella kloorivetyhapolla (3 x 10 ml). Orgaaninen kerros pestiin vedellä, suolaliuoksella ja kuivattiin vedettömällä magnesiumsulfaatilla.

Suodatuksen ja liuottimen poiston tyhjössä jälkeen jäännös puhdistettiin flash-kromatografialla (silikageeli, etyyliasetatti/sykloheksaani: 2:8).

10 Otsikon yhdiste saatiin valkoisena kiinteänä aineena (0,038 g, 43 %:n saanto).

Rf: 0,39 (etyyliasetatti/sykloheksaani: 1:1)

MS: $[MH]^+ = 650$ $[MNH_4]^+ = 667$

Analyysi: $C_{36}H_{41}N_3O_6F_2$:lle

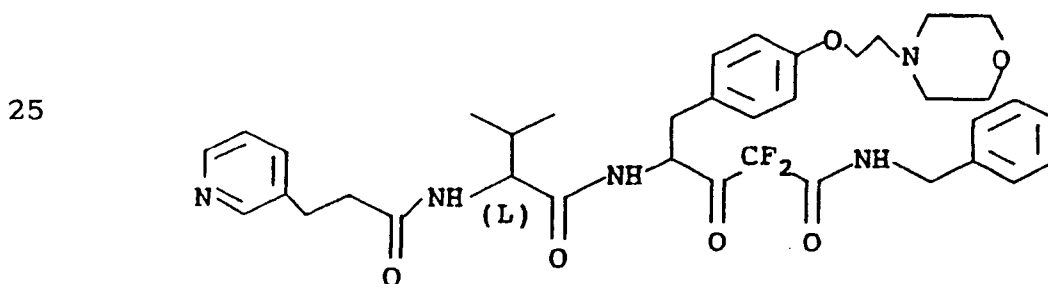
15 laskettu: C 66,55; H 6,36; N 6,47

todettu: C 65,75; H 6,09; N 5,79

^{19}F NMR: osoittaa kahden stereoisomeerin 65/35 ja ketoni/hydraatin 83/17 seoksen.

Esimerkki 4

20 N-[3-(3-pyridyyli)propanoyyli]-4-(L-valyyli)amino-2,2-difluori-3-okso-5-[4-2-{N-morfolinyyli}etyylioksi)fenyyli]-N-bentsyylipentanamidi



30 Kohta A:

N-[3-(3-pyridyyli)propanoyyli]-4-(L-valyyli)amino-2,2-difluori-3-hydroksi-5-[4-(2-{N-morfolinyyli}etyylioksi)fenyyli]-N-bentsyylipentanamidi

35 N-[3-(3-pyridyyli)propanoyyli]-4-(L-valyyli)amino-2,2-difluori-3-hydroksi-5-[(4-hydroksi)fenyyli]-N-bentsyy-

lipentanamidin (0,17 g, 0,29 mmol) liuokseen vedettömässä dioksaanissa (20 ml) lisättiin vedetön cesiumkarbonaatti (0,325 g, 1 mmol), kaliumjodidi (0,01 g) ja N-2-kloorietyylimorfoliinin vetykloridi (0,075 g, 0,40 mmol). Tätä seosta kuumennettiin palautusjäähdyttämällä yön yli. Raaka seos haihdutettiin tyhjiössä ja jäännös puhdistettiin flash-kromatografiolla (silikageeli, dikloorimetaani:metyylialkoholin gradientti: 98:2 - 92:8).

Otsikon yhdiste eristettiin valkoisena kiinteänä aineena (75 %:n saanto, 0,15 g).

Rf: 0,49 (dikloorimetaani/metyylialkoholi: 9:1)

MS: $[MH]^+ = 696$

Kohta B:

N-[3-(3-pyridyyli)propanoyyli]-4-(L-valyyli)amino-2,2-difluori-3-okso-5-[4-(2-{morfolinyyli}etyylioksi)fenyyli]-N-bentsyylipentanamidi

Oksalyylikloridin (0,254 g, 2 mmol) liuokseen vedettömässä dikloorimetaanissa käyttäen typpeä suojakaasuna -60 °C:ssa lisättiin dimetyylisulfoksidin (0,312 g, 4 mmol) liuos vedettömässä dikloorimetaanissa (2 ml). 10 minuutin sekoittamisen jälkeen -60 °C:ssa lisättiin N-[3-(3-pyridyyli)propanoyyli]-4-(L-valyyli)amino-2,2-difluori-3-hydroksi-5-[4-(2-{N-morfolyyli}etyylioksi)fenyyli]-N-bentsyylipentanamidin (0,14 g, 0,20 mmol) liuos vedettömässä dikloorimetaanissa (5 ml).

Seosta sekoitettiin -60 °C:ssa käyttäen typpeä suojakaasuna 4 tunnin ajan ja lämpötilan annettiin sitten nousta -10 °C:seen. Sitten lisättiin trietyyliamiini (0,303 g, 3 mmol) vedettömässä dikloorimetaanissa (1 ml) ja seosta sekoitettiin käyttäen typpeä suojakaasuna 15 tuntia, samalla kun lämpötilan annettiin nousta huoneenlämpötilaan. Raaka seos otettiin etyyliasetaattiin (50 ml) ja pestiin vedellä (3 x 10 ml) ja suolaliuoksella (10 ml), sitten kuivattiin vedettömällä magnesiumsulfaatilla.

Suodatukselta ja liuottimen poistosta tyhjössä saatiin jäännös, joka puhdistettiin flash-kromatografiolla (silikageeli, dikloorimetaani/metanolin gradientti: 98:2 - 92:8). Otsikon yhdiste eristettiin vaalean keltaisena

5 kiinteänä aineena (10 %:n saanto, 0,014 g).

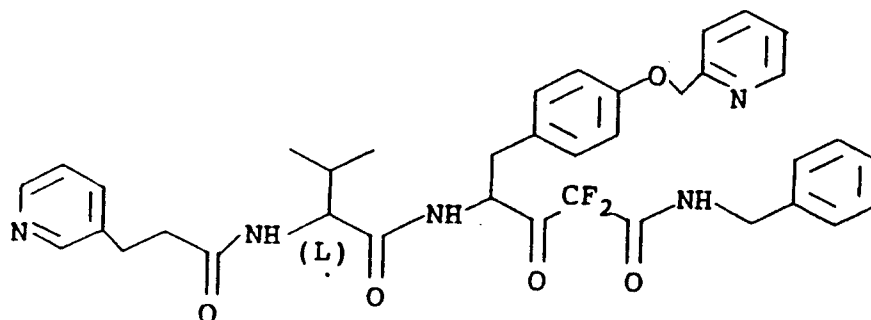
Rf: 0,51 (dikloorimetaani/metanoli: 9:1)

MS: $[MH]^+ = 694$

Esimerkki 5

10 N-[3-(3-pyridyyli)propanoyyli]-4-(L-valyyli)amino-
2,2-difluori-3-okso-5-[4-({2-pyridyyli}metyylioksi)fenyyli]-N-bentsyylipentanamidi

15



20

Kohta A:

4-(L-valyyli)amino-2,2-difluori-3-hydroksi-5-[(4-(bentsyylioksi)fenyyli)-N-bentsyylipentanamidi

25

4-(N-tert-butoksykarbonyyli-L-valyyli)amino-3,3-difluori-3-hydroksi-5-[(4-bentsyylioksi)fenyyli]-N-bentsyylipentanamidin (1,28 g, 2 mmol) liuosta muurahaishapossa (50 ml) sekoitettiin huoneenlämpötilassa 4 tunnin ajan. Liuotin poistettiin tyhjössä ja jäännös liuotettiin etyyliasetattiin (100 ml) ja pestiin kolme kertaa kylläisellä natriumkarbonaatin liuoksella (3 x 30 ml), kerran suolaliuoksella (30 ml). Orgaaninen kerros kuivattiin vedettömällä magnesiumsulfaatilla.

30

Suodatukselta ja liuottimen poistosta tyhjössä saatiin otsikon yhdiste valkoisena kiinteänä aineena (0,90 g, 84 %:n saanto), jota käytettiin ilman puhdistusta seuraavassa kohdassa.

35

Kohta B:

N-[3-(3-pyridyyli)propanoyyli]-4-(L-valyyli)amino-
2,2-difluori-3-hydroksi-5-[(4-bentsyylioksi)fenyyli]-N-
bentsyylipentanamidi

- 5 3-(3-pyridyyli)propionihapon (0,242 g, 1,6 mmol)
liuokseen vedettömässä asetonitriilissä (10 ml) lisättiin
N-metyylimorfoliini (0,182 g, 1,8 mmol) vedettömässä ase-
tonitriilissä (1 ml). Seos jäähdytettiin käyttäen typpeä
10 suojakaasuna -20 °C:seen ja isobutyyliklooriformaatti
(0,218 g, 1,6 mmol) vedettömässä asetonitriilissä (2 ml)
lisättiin. 10 minuutin sekoittamisen jälkeen -20 °C:ssa
käyttäen typpeä suojakaasuna lisättiin 4-(L-valyyli)ami-
no2,2-difluori-3-hydroksi-5-[(4-bentsyylioksi)fenyyli]-
N-bentsyylipentanamidi (0,9 g, 1,6 mmol) vedettömässä
15 N,N-dimetyyliformamidissa (10 ml).

- Seosta sekoitettiin -20 °C:ssa käyttäen typpeä suo-
jakaasuna 4 tunnin ajan ja sitten lämpötilan annettiin
nousta huoneenlämpötilaan yön aikana. Raaka seos haihdu-
tettiin tyhjössä ja jäännös puhdistettiin flash-kromato-
20 grafialla (silikageeli, dikloorimetaani/metyylialkoholin
gradientti: 99:1 - 92:8). Otsikon yhdiste saatiin val-
koisena kiinteänä aineena (0,8 g, 75 %:n saanto).

Rf: 0,36 (dikloorimetaani/metanoli: 92:8)

MS: [MH]⁺ = 673

- 25 Analyysi: C₃₆H₄₂N₄O₅F₂:lle

laskettu: C 66,95; H 6,36; N 8,22

todettu: C 66,71; H 6,19; N 8,04.

Kohta C:

- 30 N-[3-(3-pyridyyli)propanoyyli]-4-(L-valyyli)amino-
2,2-difluori-3-hydroksi-5-[(4-hydroksi)fenyyli]-N-bentsyy-
lipentanamidi

- N-[3-(3-pyridyyli)propanoyyli]-4-(L-valyyli)amino-
2,2-difluori-3-hydroksi-5-[(4-bentsyylioksi)fenyyli]-N-
bentsyylipentanamidin (0,43 g, 0,64 mmol) liuosta abso-
35 luuttisessa etanolissa (20 ml) ja N,N-dimetyyliformamidis-

sa (5 ml) sekoitettiin 10-%:isen palladiumin puuhiilellä (0,12 g) kanssa huoneenlämpötilassa käyttäen atmosfääriin (101 kPa) vetypainetta yön yli.

- 5 Katalyytin suodatukselta ja suodoksen haihdutuksesta tyhjössä saatiin 81 % otsikon yhdistettä (0,3 g) valkoisena kiinteänä aineena.

Rf: 0,20 (dikloorimetaani/metanoli: 92:8)

MS: [MH]⁺ = 582

Kohta D:

- 10 N-[3-(3-pyridyyli)propanoyyli]-4-(L-valyyli)amino-2,2-difluori-3-hydroksi-5-[4-({2-pyridyyli}metyylioksi)fenyyli]-N-bentsyylipentanamidi

- 15 N-[3-(3-pyridyyli)propanoyyli]-4-(L-valyyli)amino-2,2-difluori-3-hydroksi-5-[(4-hydroksi)fenyyli]-N-bentsyylipentanamidin (0,3 g, 0,51 mmol) liuokseen vedettömässä dioksaanissa (50 ml) lisättiin vedetön cesiumkarbonaatti (0,43 g, 1,3 mmol), kaliumjodidi (10 mg) ja 2-pikolyyli-kloridi (0,108 g, 0,66 mmol). Tätä seosta kuumennettiin palautusjäähdyttään 30 tunnin ajan. Raaka seos laimennettiin etyyliasetaatilla (100 ml) ja pestiin kolme kertaa vedellä (3 x 20 ml) ja kerran suolaliuoksella. Orgaaninen kerros kuivatettiin vedettömällä magnesiumsulfaatilla.

- 25 Suodatukselta ja liuottimen haihdutuksesta tyhjössä saatiin jäännös, joka puhdistettiin flash-kromatografiolla (silikageeli, dikloorimetaani/metyylialkoholin gradientti: 98:2 - 92:8). Otsikon yhdiste eristettiin valkoisena kiinteänä aineena (41 %:n saanto, 0,140 g).

Rf: 0,47 (dikloorimetaani/metanoli: 9:1)

MS: [MH]⁺ = 674

- 30 Analyysi: C₃₇H₄₁N₅O₅F₂:lle

laskettu: C 65,96; H 6,13; N 10,39

todettu: C 64,13; H 5,87; N 10,11

¹⁹F NMR: osoittaa stereoisomeerien seoksen 80/20.

Kohta E:

N-[3-(3-pyridyyli)propanoyyli]-4-(L-valyyli)amino-
2,2-difluori-3-okso-5-[4-({2-pyridyyli}metyylioksi)fenyy-
li]-N-bentsyylipentanamidi

- 5 Oksalyylikloridin (0,085 g, 0,67 mmol) liuokseen
vedettömässä dikloorimetaanissa (5 ml) käyttäen typpeä
suojakaasuna -60 °C:ssa lisättiin dimetyylisulfoksidin
(0,11 g, 0,70 mmol) liuos vedettömässä dikloorimetaanissa
(2 ml). 10 minuutin sekoittamisen jälkeen -60 °C:ssa li-
10 sätettiin N-[3-(3-pyridyyli)propanoyyli]-4-(L-valyyli)amino-
2,2-difluori-3-hydroksi-5-[4-({2-pyridyyli}metyylioksi)fe-
nyyli]-N-bentsyylipentanamidin (0,045 g, 0,067 mmol) liuos
vedettömässä dikloorimetaanissa (3 ml). Seosta sekoitet-
tiin -60 °C:ssa käyttäen typpeä suojakaasuna 4 tunnin ajan
15 ja lämpötilan annettiin sitten nousta -10 °C:seen. Sitten
lisättiin trietyyliamiini (0,202 g, 2 mmol) vedettömässä
dikloorimetaanissa (2 ml) ja seosta sekoitettiin 15 tun-
tia, samalla kun lämpötilan annettiin nousta huoneenlämpö-
tilaan. Raaka seos otettiin etyyliasetaattiin (50 ml) ja
20 pestiin 0,1 N vesipitoisella kloorivetyhapolla (3 x 10
ml). Orgaaninen kerros pestiin vedellä ja suolaliuoksella,
ja kuivattiin magnesiumsulfaatilla.

- Suodatuksen ja liuottimen poiston tyhjössä jälkeen
jäännös puhdistettiin flash-kromatografialla (silikageeli,
25 dikloorimetaani/metyylialkoholin gradientti: 98:2 - 95:5).
Otsikon yhdiste eristettiin valkoisena kiinteänä aineena
44 %:n saannolla, (0,019 g).

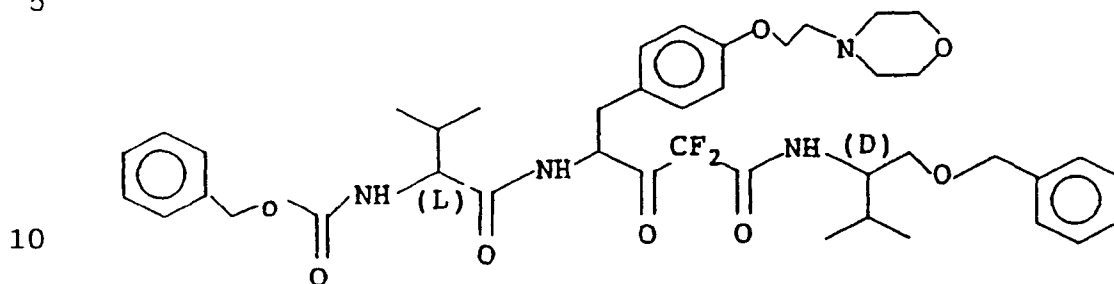
Rf: 0,50 (dikloorimetaani/metanoli: 9:1)

MS: [MH]⁺ = 672

Esimerkki 6

N-[4-(N-bentsyylioksidikarbonyyli-L-valyyli)amino-2,2-difluori-1,3-diokso-5-(4-{2-N-morfolinyyli}etyylioksi)fenyylipentyyli]-O-bentsyyli-D-valinoli

5



10

Kohta A:

4-tert-butoksidikarbonyyliamino-2,2-difluori-3-hydroksi-5-(4-hydroksi)fenyylipentaanihappo, etyyliesteri

15

4-tert-butoksidikarbonyyliamino-2,2-difluori-3-hydroksi-5-[(4-bentsyylioksi)fenyyli]-N-bentsyylipentanamidin (0,719 g, 1,5 mmol) liuosta etanolissa (50 ml) pidettiin 7,5 tuntia vetyatmosfäärissä 10-%:isen palladiumin puuhilillä (0,074 g) ollessa läsnä. Vetyatmosfääri vaihdettiin typpiatmosfäärillä, suspensio suodatettiin ja liuos väkevöitiin tyhjiössä. Näin saatua otsikon johdannaista käytettiin sellaisenaan seuraavassa kohdassa (0,500 g, 83 %:n saanto).

20

Rf: 0,51 (silikageeli, petrolieetteri/etyyliasettaatti: 1/1).

25

Kohta B:

N-tert-butoksidikarbonyyli-D-valinoli

D-valinolin (5,1 g, 49,4 mmol) ja di-tert-butyylidikarbonaatin (10,9 g, 52 mmol) liuosta metanolissa (60 ml) sekoitettiin 17 tunnin ajan huoneenlämpötilassa. Tyhjiössä väkevöinnin jälkeen jäännös puhdistettiin flash-kromatografialla (silikageeli, etyyliasettaatti/petrolieetteri: 3/7, Rf: 0,37), jolloin saatiin otsikon yhdiste kvantitatiivisella saannolla (10,07 g, väritön öljy).

30

MS: MH⁺ = 204.

35

Kohta C:**N-tert-butoksikarbonyyli-O-bentsyyli-D-valinoli**

N-tert-butoksikarbonyyli-D-valinolin (10 g, 49,3 mmol) ja bentsyylibromidin (5,86 ml, 49,3 mmol) liuokseen vedettömässä dimetyyliformamidissa (50 ml) lisättiin
 5 -5 °C:ssa ja käyttäen typpeä suojakaasuna kalium-tert-butoksidi (11,06 g, 98,6 mmol) kiinteänä aineena, annoksitain, ja sillä tavalla, että sisäinen lämpötila ei ylittänyt +5 °C. Reaktioseosta sekoitettiin 2 tunnin ajan
 10 0 °C:ssa, laimennettiin etyyliasetaatilla (2 x 300 ml), uutettiin 1 N kaliumvetysulfaatin liuoksella (50 ml) ja vedellä (250 ml), ja pestiin kahdesti vedellä (2 x 200 ml). Orgaanisen faasin kuivaamisen natriumsulfaatilla jälkeen suodatettiin ja väkevöitiin tyhjössä, saatu öljy puhdistettiin flash-kromatografialla (silikageeli, etyyliase-
 15 taatti/petrolieetteri: 1/9, Rf: 0,42), jolloin saatiin otsikon yhdiste värittömänä öljynä (9,95 g, 69 %:n saanto).
 MS: [MH]⁺ = 294.

20

Kohta D:**O-bentsyyli-D-valinoli**

N-tert-butoksikarbonyyli-O-bentsyyli-D-valinolin (9,95 g, 34 mmol) liuosta muurahaishapossa (50 ml) sekoitettiin 4 tunnin ajan huoneenlämpötilassa. Muurahaishapon poiston jälkeen tyhjössä tahmea jäännös liuotettiin veteen
 25 (100 ml), neutraloitiin kylläisellä natriumbikarbonaatin liuoksella (100 ml) ja orgaanista ainetta uutettiin kahdesti etyyliasetaatilla (2 x 200 ml). Orgaanisia faaseja pestiin kunnes ne olivat neutraaleja vedellä (2 x 200 ml),
 30 ja yhdistetyt orgaaniset kerrokset kuivatettiin natriumsulfaatilla. Suodatuksesta ja liuottimen haihdutuksesta tyhjössä saatiin otsikon amiini hieman kellertävänä öljynä (5,20 g, 79 %).
 MS: [MH]⁺ = 194.

Kohta E:

N-[4-tert-butoksykarbonyyliamino-2,2-difluori-3-hydroksi-1-okso-5-(4-hydroksi)fenyylipentyyli]-0-bentsyyli-D-valinoli

- 5 Otsikon yhdiste saadaan esimerkin 6 kohdissa A ja D kuvatuista yhdisteistä seuraten menetelmää, joka on annettu esimerkin 1 kohdassa A.

Kohta F:

- 10 **N-[4-tert-butoksykarbonyyliamino-2,2-difluori-3-hydroksi-1-okso-5-(4-{2-N-morfolinyyli}etyylioksi)fenyylipentyyli]-0-bentsyyli-D-valinoli**

Otsikon johdannainen saadaan esimerkin 6 kohdan E fenolista ja N-(2-kloorietyyli)morfoliinin vetykloridista käyttäen esimerkin 1 kohdan E menetelmää.

- 15 **Kohta G:**

N-[4-amino-2,2-difluori-3-hydroksi-1-okso-5-(4-{2-N-morfolinyyli}etyylioksi)fenyylipentyyli]-0-bentsyyli-D-valinoli

- 20 Otsikon amiini valmistetaan esimerkin 6 kohdan F yhdisteestä käyttäen esimerkin 1 kohdassa B kuvattua suojauksenpoistomenetelmää.

Kohta H:

- 25 **N-[4-(N-butoksykarbonyyli-L-valyyli)amino-2,2-difluori-3-hydroksi-1-okso-5-(4-{2-N-morfolinyyli}etyylioksi)fenyylipentyyli]-0-bentsyyli-D-valinoli**

Otsikon yhdiste saadaan esimerkin 6 kohdan G amiinista ja N-bentsyylioksykarbonyyli-L-valyylianhidridistä seuraten esimerkin 1 kohdassa C annettua menetelmää.

Kohta I:

- 30 **N-[4-(N-butoksykarbonyyli-L-valyyli)amino-2,2-difluori-1,3-diokso-5-(4-{2-N-morfolinyyli}etyylioksi)fenyylipentyyli]-0-bentsyyli-valinoli**

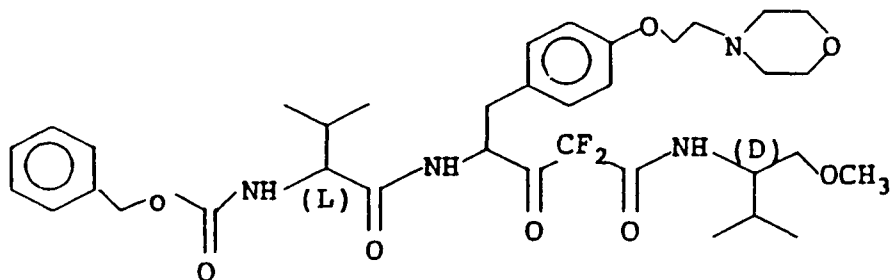
- 35 Otsikon johdannainen saadaan esimerkin 6 kohdan H alkoholista käyttäen esimerkin 1 kohdassa H kuvattua hapeutusmenetelmää.

Esimerkki 7

N-[4-(N-bentsyylioksidikarbonyyli-L-valyyli)amino-2,2-difluori-1,3-diokso-5-(4-{2-N-morfolinyyli}etyylioksi)fenyylipentyyli]-O-metyyli-D-valinoli

5

10

**Kohta A:****N-tert-butoksidikarbonyyli-O-metyyli-D-valinoli**

Otsikon yhdiste on valmistettu 67 %:n saannolla
esimerkin 6 kohdan B alkoholista ja metyylijodidista seurat-
raten esimerkin 6 kohdassa C annettua alkylointimenetel-
mää. Rf: 0,27 (silikageeli, etyyliasetaatti/petrolieetteri:
1/9).

Kohta B:

20

O-metyyli-D-valinoli

Esimerkin 7 kohdan A yhdisteen (1,9 g, 8,76 mmol)
liuosta kuivassa dietyylieetterissä, joka oli tehty kyl-
läiseksi HCl-kaasulla, pidettiin 2 tuntia huoneenlämpöti-
lassa. Liuotin poistettiin tyhjössä. Jäännös liuotettiin
minimimäärään 95/5 dikloorimetaanin ja dietyyliamiinin
seosta ja puhdistettiin flash-kromatografialla silikagee-
lillä käyttäen samaa liuottimien seosta. Otsikon amiini
saatiin 59 %:n saannolla.

Rf: 0,01 (etyyliasetaatti/metanoli: 8:2).

30

Kohta C:

N-[4-tert-butoksidikarbonyyliamino-2,2-difluori-3-hydroksi-1-okso-5-(4-hydroksi)fenyylipentyyli]-O-metyyli-D-valinoli

Otsikon johdannainen saadaan esimerkin 6 kohdan A
yhdisteestä ja esimerkin 7 kohdan B amiinista seuraten

esimerkin 1 kohdassa A annettua reaktiomenetelmää (79 %:n saanto). Rf: 0,16 (etyyliasettaatti/petrolieetteri: 4:6). MS: [MH]⁺ = 461.

Kohta D:

- 5 N-[4-tert-butoksykarbonyyliamino-2,2-difluori-3-hydroksi-1-okso-5-(4-{2-N-morfolinyyli}etyylioksi)fenyyli-pentyyli]-O-metyyli-D-valinoli

Otsikon yhdiste valmistetaan esimerkin 7 kohdan C fenolista ja N-(2-kloorietyyli)morfoliinin vetykloridista käyttäen esimerkin 1 kohdassa E kuvattua menetelmää (58 %:n saanto).

Rf: 0,18 (etyyliasettaatti).

Kohta E:

- 15 N-[4-amino-2,2-difluori-3-hydroksi-1-okso-5-(4-{2-N-morfolinyyli}etyylioksi)fenyyli-pentyyli]-O-metyyli-D-valinoli

Otsikon amiini saadaan esimerkin 7 kohdan D yhdisteestä käyttäen esimerkin 1 kohdassa B kuvattua suojauspoistomenetelmää (85 %:n saanto).

- 20 **Kohta F:**

N-[4-(N-butoksykarbonyyli-L-valyyli)amino-2,2-difluori-3-hydroksi-1-okso-5-(4-{2-N-morfolinyyli}etyylioksi)fenyyli-pentyyli]-O-metyyli-D-valinoli

- 25 Otsikon alkoholi saadaan esimerkin 7 kohdan E aminista ja N-bentsyylioksykarbonyyli-L-valyylianhidridistä käyttäen esimerkin 1 kohdassa C annettua kytkentämenetelmää (78 %:n saanto).

Rf: 0,24 (dikloorimetaani/metanoli: 95:5)

MS: [MH]⁺ = 707

- 30 Analyysi: C₃₆H₅₂N₄O₈F₂ 0,5 H₂O:lle

laskettu: C 60,40; H 7,46; N 7,83

todettu: C 60,29; H 7,36; N 7,78.

Kohta G:

N-[4-(N-bentsyylioksidikarbonyyli-L-valyyli)amino-2,2-difluori-1,3-diokso-5-(4-{2-N-morfolinyyli}etyylioksi)fenyylipentyyli]-O-metyyli-D-valinoli

- 5 Seosta, jonka muodostavat esimerkin 7 kohdan F al-
koholi (0,130 g, 0,184 mmol), 1,1,1-tris(asetyylioksi)-
1,1-dihydro-1,2-bentsjodoksol-3(1H)-oni (Dess Martin pe-
riodaani, 0,312 g, 0,736 mmol) ja tert-butanoli (0,035 ml,
0,368 mmol) juuri tislatussa dikloorimetaanissa (käyttäen
10 fosforipentoksidia, 5 ml), sekoitetaan 15 minuutin ajan
huoneenlämpötilassa. Reaktioseos hydrolysoidaan isopropa-
nolin (0,6 ml) kanssa ja väkevöidään tyhjössä. Jäännös
suspendoidaan dikloorimetaaniin (1,5 ml), suodatetaan
Fluoropore-suodattimen läpi, jota huuhdellaan kahdesti
15 dikloorimetaanilla (2 x 1 ml), ja suodos väkevöidään tyh-
jössä (0,335 g). Puhdistetaan flash-kromatografialla (si-
likageeli, dikloorimetaani/metanoli: 98:2), jolloin pois-
tetaan sivutuotteet, jotka tulevat Dess Martin -reagens-
sista, sitten 96:4, jolloin otetaan talteen otsikon ketoni
20 (0,109 g) ja epäpuhtas ketoni, joka on laajasti kontami-
noitunut lähtöainealkoholilla (0,121 g). Tämä epäpuhtas
materiaali on hapetettu toisen kerran edellä olevan mene-
telmän mukaisesti, jolloin saadaan lisää ketonia (0,099
g). Yhdistetyt erät (0,208 g) kiteytetään etyyliasetaat-
25 ti/pentaanista, jolloin saadaan otsikon ketoni 69 %:n
saannolla.

Rf: 0,1 (dikloorimetaani/metanoli: 95:5)

MS: [MH]⁺ = 704

Analyysi: C₃₆H₅₀N₄O₈F₂, 0,75 H₂O:lle

- 30 laskettu: C 60,20; H 7,23; N 7,80
todettu: C 60,28; H 7,26; N 7,94.

- Tämän keksinnön yhdisteet ovat käyttökelpoisia ret-
rovirusproteaaasien, joita vaaditaan kopiointia varten, in-
hibiittoreina, erityisesti HIV-1 ja HIV-2 virusproteaa-
35 sien, ihmisen immuunikatovirusinfektion (HIV) ehkäisyssä

tai hoidossa ja sitä seuraavien patologisten sairaustilo-
 jen hoidossa, kuten hankitun immuunikato-oireyhtymän
 (AIDS), nisäkkäissä, jotka pystyvät infektoitumaan HIV-vi-
 ruksella. AIDSin hoitaminen, HIV-infektion ehkäisy tai
 5 hoitaminen määritellään mukaan luettavaksi, mutta ei nii-
 hin rajoittuen, HIV-infektion tilojen laajan alueen hoita-
 minen: AIDS, ARC (AIDS:iin liittyvä kompleks), sekä symp-
 tomaattinen että asymtomaattinen, ja todellinen tai mah-
 dollinen HIV:lle altistuminen. Esimerkiksi tämän keksinnön
 10 yhdisteet ovat käyttökelpoisia HIV-infektion ehkäisyssä
 epäillyn HIV:lle altistumisen jälkeen, esim. verensiirrol-
 la, vahingossa tapahtuneella neulanpistolla tai altistumi-
 sella potilaan verelle leikkauksen aikana.

Termi "stereoisomeerit" on yleinen termi kaikille
 15 yksilön molekyyliden isomeereille, jotka eroavat vain nii-
 den atomien orientoitumisessa avaruudessa. Se käsittää
 peilikuvaisomeerit (enantiomeerit), geometriset (cis/
 trans) isomeerit ja yhdisteiden isomeerit useamman kuin
 yhden kiraalisen keskuksen kanssa, jotka eivät ole tois-
 20 tensa pelikuvia (diastereoisomeerit). Aminohapoille voi-
 daan käyttää nimityksiä L/D tai R/S, kuten kuvataan jul-
 kaisussa IUPAC-IUB Joint Commission on Biochemical Nomen-
 clature, Eur. J. Biochem. 138: 9-37 (1984).

Näitä tarkoituksia varten tämän keksinnön yhdisteet
 25 voidaan antaa oraalisesti, parenteraalisesti (mukaan lu-
 kien ihonalaiset injektiot, laskimonsisäisen, lihaksensi-
 säisen, ihon läpi vaikuttava, rintalastansisäinen injektio
 tai infuusiomenetelmät), inhalaatiosuihkeella tai rektaa-
 listi, annosyksikköformulaatioissa, jotka sisältävät ta-
 30 vanomaisia ei-toksisia farmaseuttisesti hyväksyttäviä kan-
 tajia, adjuvantteja ja vehikkeleitä.

Siten tämän keksinnön mukaisesti tarjotaan lisäksi
 hoitomenetelmä ja farmaseuttinen koostumus HIV-infektion
 ja AIDS:n hoitamiseksi. Hoito käsittää farmaseuttisen
 35 koostumuksen, joka käsittää farmaseuttisen kantajan ja te-

rapeuttisesti tehokkaan määrän tämän keksinnön yhdistettä, tai sen farmaseuttisesti hyväksyttävää suolaa, antamisen potilaalle, joka on tällaisen hoidon tarpeessa.

5 Nämä farmaseuttiset koostumukset voivat olla oraalisesti annettavien suspensioiden tai tablettien; nenäsuihkeiden; steriilien injektoitavien valmisteiden muodossa, esimerkiksi steriileinä injektoitavina vesipitoisina tai öljyisinä suspensioina tai peräpuikkoina, tai ne voidaan antaa ihon läpi vaikuttavana.

10 Kun nämä koostumukset annetaan oraalisesti suspensiona, ne valmistetaan farmaseuttisen formulaation alalla hyvin tunnettujen menetelmien mukaisesti ja ne voivat sisältää mikrokiteisen selluloosan massan aikaansaamiseksi, algiinihapon tai natriumalginaatin suspendointiaineena,
15 metyylliselluloosan viskoosisuuden lisääjänä ja alalla tunnettuja makeutus/makuaineita. Välittömän vapautumisen tabletteina nämä koostumuksen voivat sisältää mikrokiteistä selluloosaa, dikalsiumfosfaattia, tärkkelystä, magnesiumstearaattia ja laktoosia ja/tai muita alalla tunnettuja
20 täyteaineita, sideaineita, laajennusaineita, hajotusaineita, laimentimia ja voiteluaineita.

Kun nämä koostumukset annetaan nenäaerosolina tai inhalaatiolla, ne valmistetaan farmaseuttisen formulaation alalla hyvin tunnettujen menetelmien mukaisesti ja ne voidaan valmistaa liuoksina suolaliuoksessa, käyttäen bent-
25 syylialkoholia tai muita sopivia säilöntäaineita, imeytymisen edistäjiä lisäämään biosaatavuutta, fluorihiiliä ja/tai muita alalla tunnettuja solubilisointi- tai dispergointiaineita.

30 Injektoitavat liuokset tai suspensiot voidaan formuloida tunnetun alan mukaisesti käyttäen sopivia ei-toxisia, parenteraalisesti hyväksyttäviä laimentimia tai liuottimia, kuten mannitolia, 1,3-butaanidiolia, vettä, Ringerin liuosta tai isotonista natriumkloridiliuosta tai
35 sopivia dispergointi- tai kostutus- ja suspendointiainei-

ta, kuten steriilejä, mietoja, sitoutuneita öljyjä, mukaan lukien synteettiset mono- tai diglyseridit, ja rasvahappoja, mukaan lukien oleiinihapon.

Kun nämä koostumukset annetaan rektaaliksi peräpuikkojen muodossa, ne voidaan valmistaa sekoittamalla 5 lääke sopivan ärsyttämättömän täyteaineen kanssa, kuten kaakaovoin, synteettisten glyseridiesterien tai polyetyleeniglykolin, jotka ovat kiinteitä tavallisissa lämpötiloissa, mutta sulavat ja/tai liukenevat peräsuoliontelossa, jolloin lääke vapautuu. 10

Annostasot suuruusluokassa 0,02 - 5,0 tai 10,0 grammaa vuorokaudessa ovat käyttökelpoisia edellä mainittujen sairaustilojen hoidossa tai ehkäisyssä, oraalisten annosten ollessa suurempia. Esimerkiksi, HIV-infektiota 15 hoidetaan tehokkaasti antamalla 1 - 50 mg yhdistettä/kg kehon paino 1 - 3 kertaa vuorokaudessa. On kuitenkin ymmärrettävä, että spesifinen annostaso ja antamistiheys tietylle potilaalle voi vaihdella ja riippuu erilaisista tekijöistä, mukaan lukien käytetyn spesifisen yhdisteen 20 aktiivisuuden, sen yhdisteen metabolisen stabiilisuuden ja vaikutuksen keston, iän, kehon painon, yleisen terveyden, sukupuolen, ruokavalion, antamismallin ja -ajan, erityisnopeuden, lääkeyhdistelmän, tietyn sairaustilan vakavuuden ja terapiaa läpikäyvän isännän. Edullisia yhdisteitä ovat, 25 kun P_2 on C_{1-6} -alkyyli ja erityisesti C_{1-3} -alkyyli, W ja/tai W' ovat C_{1-3} -alkyyli, ja/tai R ja/tai R' ovat morfolinyyli, C_{1-4} -alkylenyyli tai piperidyli.

Tämä keksintö suunnataan myös HIV proteaasi-inhibiittoriyhdisteiden yhdistelmiin yhden tai useamman aineen 30 kanssa, jotka ovat käyttökelpoisia AIDS:n hoidossa, kuten esimerkiksi tunnettujen virusten vastaisten aineiden kanssa, jotka ovat sopivia HIV 1 ja HIV 2 virusinfektioiden hoitamiseksi, esim. AZT, PNPaasi-inhibiittorin kanssa tai ilman, tai yhdistelmäterapiassa DDI:n ja PNPaasi-inhibiittorin kanssa. 35

Tämän keksinnön yhdisteistä voidaan analysoida niiden HIV-proteaasi-inhibitio käyttäen seuraavia julkaistuja menetelmiä.

5 **Retrovirusentsyymin valmistus ja proteaasin inhibi-** **tioanalyysi**

A) Retrovirusentsyymin valmistus

Rekombinanttiproteaasin valmistamiseksi HIV-proteaasi ilmaistiin E.Coliin kautta C. Guénet, et al., julkaisemalla työllä julkaisussa European Journal of Pharmacology, Molecular Pharmacology Section, 172 (1989) 443 - 451.

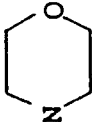
B) Analyysi rekombinanttivirusproteaasin inhiboimiseksi

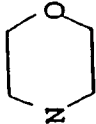
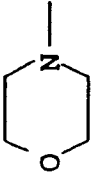
Proteaasin reaktion peptidisubstraatin kanssa inhibitio [Ser-Gln-Asn-Tyr-Pro-Ile-Val-NH₂], Km = 1 mM olivat 50 mM Na-asetaatissa, 10-%:isessa glyserolissa, 5-%:isessa etyleeniglykolissa, pH 5,5 37 °C:ssa yhden tunnin ajan. Erilaisia pitoisuuksia inhibiittoria 10 µl:ssa DMSO:a lisättiin 80 µl:aan analyysiliuosta ja reaktio aloitettiin lisäämällä 10 µl (1,6 µg) rekombinanttiproteaasia. Reaktio vaimennettiin 16 µl:lla 4 M perkloorihappoa. Reaktiotuotteet erotettiin HPLC:llä (VYDAC laajahuokonen 5 cm C-18 käänteisfaasi, asetonitriiligradinetti, 0,1-%:inen trifluorietikkahappo). Reaktion inhibition laajuus määritettiin tuotteiden piikkien korkeuksista. Tuotteiden HPLC, itsenäisesti syntetisoitu, tarjosi kvantitaatiostandardit ja tuotekoostumuksen vahvistuksen.

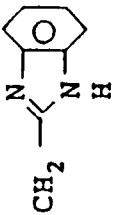
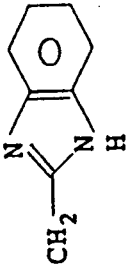
Seuraten edellä viitattuja menetelmiä, samoin kuin käyttämällä muita tunnettuja menetelmiä, samoin kuin vertailulla yhdisteiden kanssa, joiden tiedetään olevan käyttökelpoisia edellä mainittujen sairautilojen hoitamista varten, uskotaan, että riittävä materiaali on saatavissa tekemään alan ammattimiehelle keksinnön käytön mahdolliseksi.

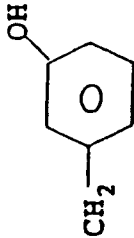
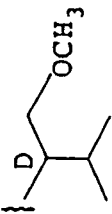
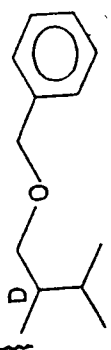
Kuten useimmille yhdisteiden luokille, joiden on havaittu olevan käyttökelpoisia farmaseuttisessa teollisuudessa, on totta, tietyt alaryhmät ja tietyt spesifiset yhdisteet ovat edullisempia, kuten ne, joita valaistaan
5 esimerkeillä ja esitetään seuraavissa taulukoissa.

R_1	P_2	P_1	$R_6=H, R_5$
bentsyyli	isopropyli	4-[(3-pyridyyli)- metyylioksi]bentsyyli	bentsyyli
3-pyridyylietyyli	isopropyli	4-pentenyyli	2-pyridyylietyyli
bentsyyli	isopropyli	4-[(2-pyridyyli)- metyylioksi]bentsyyli	bentsyyli
bentsyyli	isopropyli	4-[(2-pyridyyli)- metyylioksi]bentsyyli	2-pyridyylietyyli

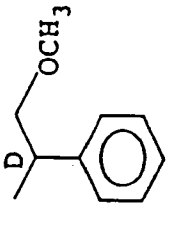
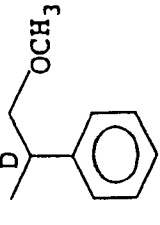
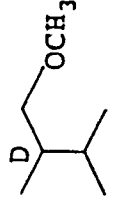
R_1	P_2	P_1	$R_6=H$, ellei toisin mainita R_5
bentsyyli	isopropyyli	4-[(3-pyridyyli)-metyylioksi]bentsyyli	2-pyridyyli-metyyli
(3-pyridyyli)-etyyli	isopropyyli	4-[(3-pyridyyli)-metyylioksi]bentsyyli	bentsyyli
bentsyyli	t-butyyli	4-[(2-pyridyyli)-metyylioksi]bentsyyli	3-pyridyyli-metyyli
bentsyyli	t-butyyli	4-[(3-pyridyyli)-metyylioksi]bentsyyli	$R_6, R_5 =$ 

(2-pyridyyli)- etyyli	isopropyyli	4-[(3-pyridyyli)- metyylioksi]bent- syyli	R ₆ , R ₅ = 
	fenyyli	4-[(3-pyridyy- li)metyylioksi]- bentsyyli	bentsyyli
bentsyyli	isopropyyli	4-[(4-pyridyyli)- metyylioksi]bent- syyli	bentsyyli

R ₁	P ₂	P ₁	R ₆ =H, R ₅
bentsyyli	isopropyli	4-[(2-pyridyyli)- metyylioksi]bent- syyli	
(3-pyridyyli)- etyyli	isopropyli	4-[(3-pyridyyli)- metyylioksi]bent- syyli	bentsyyli
bentsyyli	isopropyli	4-[2-(N-morfolyy- li)etyylioksi]- bentsyyli	3-pyridyylimetyyli
(2-pyridyyli)- etyyli	syklopentyyli	4-[2-(N-morfolyy- li)etyylioksi]- bentsyyli	bentsyyli
bentsyyli	isopropyli	4-[2-(N-morfolyy- li)etyylioksi]si- li]bentsyyli	

R_1	P_2	P_1	$R_6=H, R_5$
bentsyyli	isopropyyli	4-[2-(N-morfolyy- li)etyylioksi]- bentsyyli	2-pyridyyylimetyyli
bentsyyli	isopropyyli	4-[2-(N-morfolyy- li)etyylioksi]- bentsyyli	
bentsyyli	isopropyyli	4-[2-(N-piperidyy- li)etyyliok- si]bentsyyli	2-pyridyyylimetyyli
bentsyyli	t-butyyli	4-[2-(N-morfolyy- li)etyylioksi]- bentsyyli	
bentsyyli	t-butyyli	4-[2-(N-morfolyy- li)etyylioksi]- bentsyyli	

R_1	P_2	P_1	$R_6=H, R_5$
(3-pyridyyli)- etyyli	isopropyyli	4-[2-(pyridyyli)- metyylioksi]bent- syli	
(3-pyridyyli)- etyyli	isopropyyli	4-[3-(pyridyyli)- metyylioksi]bent- syli	
(3-pyridyyli)- etyyli	t-butyli	4-[4-(pyridyyli)- metyylioksi]bent- syli	
bentsyyli	isopropyyli	4-[2-(pyridyy- li)metyylioksi]- bentsyyli	

R_1	P_2	P_1	$R_6=H, R_5$
(3-pyridyyli)- etyyli	isopropyyli	4-[2-(pyridyyli)- metyylioksi]bent- syyli	
bentsyyli	isopropyyli	4-[2-(N-morfolyy- li)etyylioksi]- bentsyyli	
(2-pyridyyli)- etyyli	isopropyyli	4-[3-(pyridyyli)- metyylioksi]bent- syyli	
bentsyyli	isopropyyli	4-[2-(N-piperidyy- li)etyylioksi]- bentsyyli	



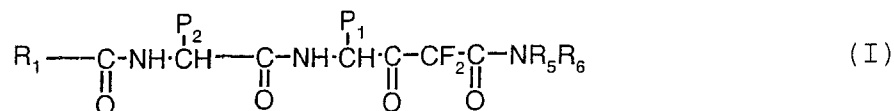
56

R_1	P_2	P_1	$R_6=H, R_5$
(3-pyridylyl)- etyyli	isopropyyli	4-[(2-pyridylyl)- metyylioksi]bent- sylyi	
bentsylyi	isopropyyli	4-[(2-N-morfolyy- li)etyylioksi]- bentsylyi	
bentsylyi	fenylyi	4-[(2-N-morfolyy- li)etyylioksi]- bentsylyi	
(3-pyridylyl)- etyyli	isopropyyli	4-[(2-N-morfolyy- li)etyylioksi]- bentsylyi	

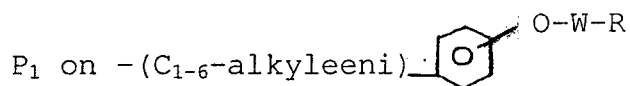
Patenttivaatimukset

1. Menetelmä farmaseuttisesti aktiivisten difluoristatonianalogien valmistamiseksi, joilla on kaava I

5



10 ja niiden stereoisomeerien, hydraattien ja farmaseuttisesti hyväksyttävien suolojen valmistamiseksi, jossa kaavassa



15 jossa W on C_{1-6} -alkyleeni, edellyttäen, että W on C_{2-6} -alkyleeni, kun W on liitetty suoraan typpiin R:ssä;

P_2 on C_{1-6} -alkyyli;

R on C_{2-6} -alkenyleeni, morfolinyyli tai pyridyyli;

R_1 on bentsyylioksi tai $-(CH_2)_a$ -(2-, 3- tai 4-pyri-

20 dyyli);

R_4 on C_{1-6} -alkyyli tai bentsyyli;

R_5 on H, $-(CH_2)_d$  tai $-CH(Y)-(CH_2)_e-OR_4$, jossa Y on C_{1-6} -alkyyli;

R_6 on kuten R_5 :lle on määritelty sillä ehdolla, et-

25 tä R_6 on muu kuin H, kun R_5 on H;

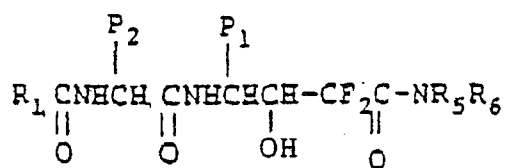
a on nolla, 1, 2 tai 3;

d on 1 tai 2; ja

e on nolla, 1 tai 2;

t u n n e t t u siitä, että käytetään yhdistettä, jolla on

30 kaava



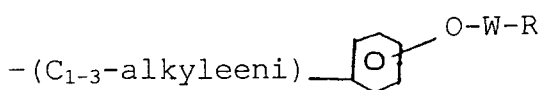
35

jossa P_1 , P_2 , R_1 , R_5 ja R_6 ovat edellä määriteltäviä, yhdiste hapetetaan ja mahdollisesti muutetaan saatu hapetettu yhdiste sen farmaseuttisesti hyväksyttäväksi suolaksi.

2. Patenttivaatimuksen 1 mukainen menetelmä, tunnettu siitä, että hapetusvaiheessa käytetään Dess Martin -hapetusta.

3. Patenttivaatimuksen 1 mukainen menetelmä, tunnettu siitä, että hapetusvaiheessa käytetään Swern-hapetusta.

4. Patenttivaatimuksen 1 mukainen menetelmä, tunnettu siitä, että valmistetaan kaavan I mukainen yhdiste, jossa P_1 on



jossa W_1 ja R merkitsevät samaa kuin patenttivaatimuksessa 1.

5. Patenttivaatimuksen 1 mukainen menetelmä, tunnettu siitä, että valmistetaan kaavan I mukainen yhdiste, jossa W on C_{1-3} -alkyleeni ja R on morfolinyyli, pyridyyli tai etenyyli.

6. Patenttivaatimuksen 1 mukainen menetelmä, tunnettu siitä, että valmistetaan kaavan I mukainen yhdiste, jossa W on C_{1-2} -alkyleeni.

7. Patenttivaatimuksen 1 mukainen menetelmä, tunnettu siitä, että valmistetaan kaavan I mukainen yhdiste, jossa P_2 on C_{1-3} -alkyyli

8. Patenttivaatimuksen 1 mukainen menetelmä, tunnettu siitä, että valmistetaan kaavan I mukainen yhdiste, jossa R_5 on H ja R_6 on bentsyyli.

9. Patenttivaatimuksen 1 mukainen menetelmä, tunnettu siitä, että valmistetaan kaavan I mukainen yhdiste, jossa R_5 on H ja R_6 on $-CH(Y)-(CH_2)_e-OR_4$, jossa Y on C_{1-3} -alkyyli, e on 1 ja R_4 on bentsyyli tai C_{1-3} -alkyyli.

10. Patenttivaatimuksen 1 mukainen menetelmä, tunnettu siitä, että valmistetaan 4-(N-bentsyyli-oksikarbonyyli-L-valyyli)amino-2,2-difluori-3-okso-5-[4-(okso-4-pentenyyli)fenyyli]-N-bentsyylipentanamidi,
- 5 4-(N-bentsyylioksikarbonyyli-L-valyyli)amino-2,2-difluori-3-okso-5-[4-(2-{N-morfolinyyli}etyylioksi)fenyyli]-N-bentsyylipentanamidi, 4-(N-bentsyylioksikarbonyyli-L-valyyli)amino-2,2-difluori-3-okso-5-[4-({2-pyridyyli}metyylioksi)fenyyli]-N-bentsyylipentanamidi, tai
- 10 N-[4-(N-bentsyylioksikarbonyyli-L-valyyli)amino-2,2-difluori-1,3-diokso-5-[(4-{2-N-morfolinyyli}etyylioksi)-fenyylipentyyli]-O-metyyli-D-valinoli.

PATENTTIHAKEMUS NRO	LUOKITUS
961105	C07C 271/22 ym.

TUTKITTU AINEISTO
Patenttijulkaisukokoelma (FI, SE, NO, DK, DE, CH, EP, WO, GB, US), tutkitut luokat
Tiedonhaut ja muu aineisto

VIITEJULKAISUT		
Kategoria*)	Julkaisun tunnistetiedot	Koskee vaatimuksia
X	WO-A 92/12123 (C07C 271/22)	
A	EP-A 386611 (C07K 5/02)	
A	FI-hakemus 960051 (C07C 271/22) (PL 2 § 2. mom. 4. virke), julkinen 7.3.1996	
*) X Patentoitavuuden kannalta merkittävä julkaisu yksinään tarkasteltuna Y Patentoitavuuden kannalta merkittävä julkaisu, kun otetaan huomioon tämä ja yksi tai useampi samaan kategoriaan kuuluva julkaisu A Yleistä tekniikan tasoa edustava julkaisu, ei kuitenkaan patentoitavuuden este		
Päiväys 4.4.2002	Tutkija Eira Ylilammi	