



(19)
Bundesrepublik Deutschland
Deutsches Patent- und Markenamt

(10) **DE 696 28 027 T2 2004.04.08**

(12) **Übersetzung der europäischen Patentschrift**

(97) **EP 0 858 464 B1**

(21) Deutsches Aktenzeichen: **696 28 027.2**

(86) PCT-Aktenzeichen: **PCT/EP96/04785**

(96) Europäisches Aktenzeichen: **96 937 337.2**

(87) PCT-Veröffentlichungs-Nr.: **WO 97/017363**

(86) PCT-Anmeldetag: **30.10.1996**

(87) Veröffentlichungstag

der PCT-Anmeldung: **15.05.1997**

(97) Erstveröffentlichung durch das EPA: **19.08.1998**

(97) Veröffentlichungstag

der Patenterteilung beim EPA: **07.05.2003**

(47) Veröffentlichungstag im Patentblatt: **08.04.2004**

(51) Int Cl.7: **C07K 5/065**

**C07K 5/062, C07K 5/078, C07K 5/023,
C07D 207/16, C07D 417/12, C07C 237/22,
C07D 277/28, C07D 263/32, A61K 38/05,
A61K 31/40**

(30) Unionspriorität:

95202982 03.11.1995 EP

95203554 19.12.1995 EP

(73) Patentinhaber:

Akzo Nobel N.V., Arnheim/Arnhem, NL

(74) Vertreter:

**WUESTHOFF & WUESTHOFF Patent- und
Rechtsanwälte, 81541 München**

(84) Benannte Vertragsstaaten:

**AT, BE, CH, DE, DK, ES, FI, FR, GB, GR, IE, IT, LI,
LU, MC, NL, PT, SE**

(72) Erfinder:

**ADANG, Egbert, Anton, NL-5615 CR Eindhoven,
NL; VAN BOECKEL, Adriaan, Constant, NL-5345
LX Oss, NL; GROOTENHUIS, Diederik, Peter,
NL-5344 HS Oss, NL; PETERS, Albertus, Jacobus,
NL-5345 DB Oss, NL**

(54) Bezeichnung: **THROMBIN INHIBITOREN**

Anmerkung: Innerhalb von neun Monaten nach der Bekanntmachung des Hinweises auf die Erteilung des europäischen Patents kann jedermann beim Europäischen Patentamt gegen das erteilte europäische Patent Einspruch einlegen. Der Einspruch ist schriftlich einzureichen und zu begründen. Er gilt erst als eingelegt, wenn die Einspruchsgebühr entrichtet worden ist (Art. 99 (1) Europäisches Patentübereinkommen).

Die Übersetzung ist gemäß Artikel II § 3 Abs. 1 IntPatÜG 1991 vom Patentinhaber eingereicht worden. Sie wurde vom Deutschen Patent- und Markenamt inhaltlich nicht geprüft.

Beschreibung

[0001] Die vorliegende Erfindung bezieht sich auf nicht-langsambindende Thrombin-Inhibitoren, ein Verfahren für die Herstellung der genannten Inhibitoren, pharmazeutische Zusammensetzungen, die die selben enthalten und die Verwendung dieser Thrombin-Inhibitoren als anti-thrombotische Agenzien.

[0002] Auf die Inhibition von Thrombin als potentielle Antikoagulanzen wurde grosse Aufmerksamkeit gerichtet. Inhibitoren des Enzyms Thrombin, eine Serinprotease mit Schlüsselfunktion innerhalb der Blutgerinnungskaskade, wurden einige Zeit als potentielle Kandidaten für eine Antikoagulanzenprophylaxe und -therapie in Betracht gezogen. Thrombin wird insbesondere durch seine multiplen Rollen bezüglich seiner Wirkungen auf Koagulationsfaktoren, zirkulierende Blutbestandteile und auf Zellen der Gefässwände zu einem besonders attraktiven Ziel bei einer Vielzahl pathologischer Zustände. Darüber hinaus machen Einschränkungen im Zusammenhang mit gegenwärtig verwendeten Antikoagulanzen, insbesondere dem Auftreten von Blutungskomplikationen, die Suche nach spezifischer agierenden Agenzien notwendig.

[0003] Viele Peptid(-ähnliche) Inhibitoren der Serinprotease sind offenbart worden, unter ihnen auch Inhibitoren des Transitionsstadiums des Thrombins. Viele dieser letzteren Verbindungen sind jedoch langsam bindende Inhibitoren. Die Anwendung der langsam bindenden Thrombin-Inhibitoren ist jedoch ein Ziel für Kritik. Thrombin wird in vivo ständig im Plasma nachgebildet und die Thrombin-Inhibitoren funktionieren in erster Linie durch Verlangsamung der Thrombinbildung, in dem sie die durch Thrombin vermittelten Amplifikationsschritte inhibieren. Zum Verlangsamen einer solchen Amplifikationskaskade wäre ein nicht langsam bindender Inhibitor zu bevorzugen. Eine höhere Dosis eines langsam bindenden Inhibitors wäre notwendig, um die gleiche Wirkung zu erzielen, allerdings mit einem entsprechend erhöhten Risiko für Nebenwirkungen.

[0004] Relevante Thrombin-Inhibitoren werden von Brady et al., Bioorganic & Medicinal Chemistry 3 (1995), 1063–78 offenbart, worin D-Phe-Pro-Arg-Amid- und D-Phe-Pro-Lys-X-Derivate offenbart werden, worin X ein Ketoester oder ein Amin ist. Diese Verbindungen werden als langsam bindende Thrombin-Inhibitoren offenbart, weshalb sie aus der vorliegenden Erfindung ausgeschlossen sind. Auf der Suche nach nicht-langsambindenden Thrombin-Inhibitoren haben Jones et al., J. Enzyme Inhibition 9 (1995), 43–60 versucht eine Verbesserung zu erzielen, in dem sie D-Cha-Pro-Lys-COOH-Derivate verwendet haben. Obwohl sich diese Derivate als potentere Thrombin-Inhibitoren herausstellten, zeigten sie immer noch langsam-bindende Eigenschaften.

[0005] Bei einem kürzlichen Versuch potente, nicht langsam bindende Thrombin-Inhibitoren zu erhalten, stellen Lewis et al., Thrombosis and Haemostasis 74(4) (1995), 1107 Me-D-Cha-Pro-Lys-COOH-Derivate her, worin X ein Carboxyamid oder eine Carboxylsäure ist. Diese Verbindungen, unter ihnen insbesondere das offenbarte Me-S-Phe-Pro-Lys-COOH, werden als langsambindende Inhibitoren eingestuft. Diese Verbindung erfüllt daher nicht die Erfordernisse der vorliegenden Erfindung und ist vom Schutz ausgeschlossen.

[0006] Ein Thrombin-Inhibitor mit einem Alkyl-substituierten Lysin wird in der US 5,523,308 offenbart.

[0007] In früheren Referenzen wurden andere Phe-Pro-Lys-Sequenzen beschrieben, beispielsweise von Iwanowicz et al. in Bioorganic & Medicinal Chemistry Letters 2 (1992), 1607–12, der auch D-Phe-Pro-Lys-X-Derivate offenbarte, worin X unter anderem ein Ketoester ist. Solche Verbindungen können ebenfalls als langsambindende Thrombin-Inhibitoren beschrieben werden.

[0008] Andere Peptid-Typen für die Inhibierung verschiedener Serinproteasen werden ebenfalls offenbart. Tsutsumi et al. in J. Med. Chem. 37 (1994), 3492–3502 beschreibt Peptid-ähnliche Verbindungen, die an ihrem C-terminalen Ende Thiazol und Benzothiazol besitzen. Es wurde festgestellt, dass solche Thiazol-Derivate 300-mal potenter als die entsprechenden Thiophen-Analoga waren. Es wurde weiter festgestellt, dass C-terminale heterozyklische Gruppen eine kritische Wasserstoffbindungsinteraktion mit dem Histamin der Protease Prolyl-Endopeptidase liefern würden. Obwohl im Weiteren vorgeschlagen wurde, dass diese Eigenschaft sich auch auf andere Serinproteasen ausdehnen lassen würde, wurden Thrombinproteasen im Speziellen nicht genannt. Die mechanische Erklärung von Tsutsumi wurde später von Edwards et al, im J. Med. Chem. 38 (1995), 76–85 in Frage gestellt, aber auch diese Autoren stellten fest, dass Elastase-Inhibitoren des Typs D-Phe-Val-Pro-Val-X, worin X Thiazol und Benzothiazol ist, nicht langsambindende Inhibitoren der relevanten Serinprotease sind. Diese Autoren schlagen die Entwicklung von Peptidyl α -keto-heterozyklen als Inhibitoren auch anderer Serinproteasen vor.

[0009] Die vorliegende Erfindung bezieht sich auf die überraschende Feststellung, dass die Lehren von Edwards, Tsutsumi und anderen auch auf Thrombin-Inhibitoren angewendet werden können. Die Anwendung der C-terminalen Heterozyklen auf die von Lewis, Jones und Brady offenbarten Verbindungen, liefern potente Thrombin-Inhibitoren, die gegenüber Thrombin nicht-langsambindende Eigenschaften aufweisen. Darüber hinaus zeigen viele dieser Verbindungen verbesserte biologische Halbwertszeiten und eine orale Bioverfügbarkeit.

[0010] Die Erfindung bezieht sich daher auf nicht-langsambindende Thrombin-Inhibitoren der Formel:

A-B-C-Lys-D,

worin

A H, R₁, R₁-O-CO-, R₁-CO-, R₁-SO₂-, -(CHR₂)_nCOOR₃ oder eine N-Schutzgruppe ist,

worin

R_1 ausgewählt wird aus der Gruppe bestehend aus (1-12C)Alkyl, (2-12C)Alkenyl, (6-14C)Aryl, (7-15C)Aralkyl und (8-16C)Aralkenyl, deren Arylgruppe durch (1-6C)Alkyl, (2-12C)Alkoxy, Hydroxy oder durch ein Halogen substituiert sein kann.

R_2 ist H oder hat die gleiche Bedeutung wie R_1 ;

R_1 wird ausgewählt aus der Gruppe bestehend aus H, (1-12C)Alkyl, (2-12C)Alkenyl, (6-14C)Aryl, (7-15C)Aralkyl und (8-16C)Aralkenyl, worin die Arylgruppe durch (1-6C)Alkyl, (2-12C)Alkoxy, Hydroxy oder einem Halogen substituiert sein kann;

N ist eine ganze Zahl von 1 bis 3;

B ist eine Bindung, L-Asp oder ein Esterderivat davon, -N(Benzyl)-CH₂-Co-, D-Tiq, Atc, D-Cyclohexylalanin oder eine D-Aminosäure mit einer hydrophoben aromatischen Seitenkette;

C ist ein Pro oder eine Aminosäure gemäss einer der Formeln -N[(3-6C)Cyloalkyl]-CH₂-CO- oder -N(Benzyl)-CH₂-CO-;

D wird ausgewählt aus der Gruppe bestehend aus Thiazol und Benzthiazol;

oder ein Prämedikament davon, worin die Prämedikamente N, Alkoxy-carbonyl geschützte Derivate der allgemeinen Formel sind; oder ein pharmazeutisch verträgliches Salz davon.

[0011] Die Verbindungen der vorliegenden Erfindung sind für die Behandlung und Vorbeugung Thrombin-bindingter und Thrombin-assoziiertes Erkrankungen geeignet. Dies schliesst eine Anzahl thrombotischer und prothrombotischer Stadien ein, in denen die Koagulationskaskade aktiviert ist und die Thrombose der tiefen Venen, Lungenembolie, Thrombophlebitis, arterieller Verschluss durch Thrombose oder Embolie, arterieller Wiederverschluss während oder nach einer Angioplastie oder Thrombolyse, Restenose nach einer arteriellen Verletzung oder invasiven kardiologischen Verfahren, postoperative venöse Thrombose oder Embolie, akute oder chronische Atherosklerose, Schlaganfall, Herzinfarkt, Krebs und Metastasen sowie neurodegenerative Erkrankungen einschliessen, sich jedoch nicht auf diese beschränken. Die Verbindungen der Erfindung können auch als Antikoagulanzen in extrakorporalen Blutkreisläufen verwendet werden, wie sie bei Dialysen und Operationen notwendig sind.

[0012] Die Verbindungen der Erfindung können auch als in vitro-Antikoagulanzen verwendet werden.

[0013] Bevorzugte erfindungsgemässe Verbindungen sind diejenigen Verbindungen, in denen D Thiazol ist. Weiterhin ist A vorzugsweise H, (1-12C)Alkyl, -CO-(7-15C)Aralkyl, -SO₂-(6-14C)Aryl, -SO₂-(7-15C)Aralkyl, -SO₂-(1-12C)Alkyl, -(CHR₂)_nCOOR₃, worin R₂ H oder (1-12C)Alkyl und R₃ H, (1-12C)Alkyl oder Benzyl ist; und C Pro oder -N[(3-6C)Cyloalkyl]-CH₂-CO- ist. Besonders bevorzugt sind die nicht-langsam-bindenden Thrombin-Inhibitoren, in denen A -(CH₂)_nCOOR₃ ist, worin R₃ H oder (1-12C)Alkyl oder Benzyl ist, B D-Cyclohexylalanin oder D-Phe ist, das gegebenenfalls mit Alkoxy oder einem Halogen monosubstituiert ist; und C Pro ist. Besonders bevorzugt ist der nicht-langsambindende Inhibitor HOOC-CH₂-D-Cha-Pro-Lys-(2-thiazolyl).

[0014] Die N-Schutzgruppe, wie sie in der Definition des Anteils A definiert ist, ist jede für Peptide verwendete N-Schutzgruppe. Geeignete N-schützende Gruppen können in T. W. Green und P. G. M. Wuts: Protective Groups in Organic Synthesis, zweite Ausgabe (Wiley, NY, 1991) und in The Peptides, Analysis and Synthesis, Biology Bd. 3, E. Gross. und J. Meienhofer, Hrsg., (Academic Press, New York, 1981) nachgeschlagen werden.

[0015] Alkyl, wie hierin verwendet, ist eine verzweigte oder unverzweigte Alkylgruppe mit 1 bis 12 C-Atomen, wie Methyl, Ethyl, Isopentyl, Dodecyl und ähnliche.

[0016] Die Bezeichnung (1-6C)Alkylen bedeutet eine verzweigte oder unverzweigte Alkylengruppe mit 1 bis 6 Kohlenstoffatomen, wie -(CH₂)_m- und m bedeutet 1 bis 6, -CH(CH₃)-, -CH(CH₃)-(CH₂)-, usw. Die bevorzugte Alkylengruppe ist Methylen.

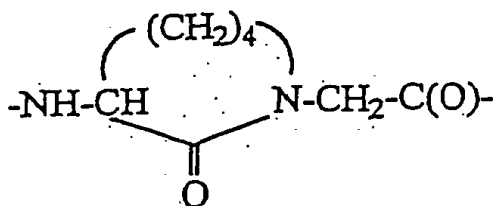
[0017] Alkenyl ist eine verzweigte oder unverzweigte ungesättigte Alkenylgruppe mit 2 bis 12 Kohlenstoffatomen. Beispiele sind Ethenyl, Propenyl, Allyl und ähnliche.

[0018] Aralkyl- und Aralkenylgruppen sind Alkyl- beziehungsweise Alkenylgruppen, die durch eine oder mehr Arylgruppen ersetzt werden, die Gesamtzahl der Kohlenstoffatome beträgt 7 bis 15 beziehungsweise 8-16. Bevorzugte Aralkylgruppen haben zum Beispiel die Formel -(CH₂)_p-CH-(C₆H₅)₂, worin p 1 oder 2 oder -(CH₂)_q-C₆H₅ ist, das gegebenenfalls durch ein Halogen substituiert ist und q 1, 2, oder 3 ist.

[0019] Aryl in der obigen Definition und in der Definition von Aryl, wie es in der erfindungsgemässen Verbindung verwendet wird, ist ein aromatischer Anteil mit 6 bis 14 Kohlenstoffatomen. Die Arylgruppe kann weiterhin ein oder mehrere Heteroatome, wie N, S oder O umfassen. Beispiele für Arylgruppen sind Phenyl, Naphthyl, (Iso)quinolyl, Indanyl und ähnliche. Am meisten bevorzugt wird die Phenylgruppe. Die Arylgruppe kann durch eine oder mehrere Alkylgruppen ersetzt werden, vorzugsweise Methyl, Alkoxygruppen, vorzugsweise Methoxy, Hydroxy oder ein Halogen. Die Bezeichnung Halogen steht für Fluor, Chlor, Brom oder Iod. Chlor ist das bevorzugte Halogen.

[0020] Die Bezeichnungen D-1-Piq und D-3-Piq bedeuten 1- beziehungsweise 3-Carboxy-perhydroisoquinolin. Die Bezeichnung Tiq bedeutet 1,2,3,4-Tetrahydroisoquinolincarboxylsäure. Atc ist 2-Aminotetralin-2-carboxylsäure. Die Bezeichnungen Azt und Pec bedeuten 2-Azetidincarboxylsäure beziehungsweise Pipecolinsäure.

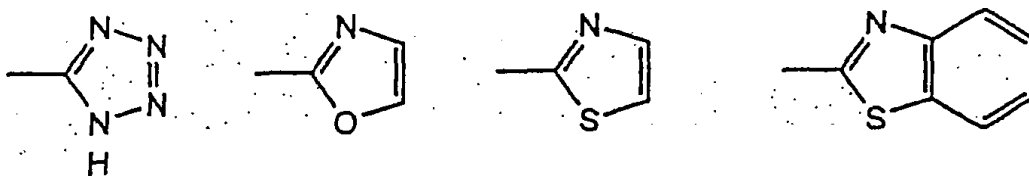
[0021] Die Bezeichnung norLeu(cyclo)Gly bedeutet ein Strukturfragment der Formel



[0022] Die Bezeichnung hydrophobe aromatische Seitenkette bedeutet ein (1-12C)Alkyl, das mit einem oder mehreren (6-14C)Aryl-Gruppen substituiert ist (wobei letztere ein Heteroatom, z. B. ein Stickstoff aufweisen können), wie beispielsweise Phenyl, Pyridinyl, Naphthyl, Tetrahydronaphthyl und ähnliche, deren hydrophobe Seitenketten mit hydrophoben Substituenten wie Halogen (vorzugsweise Chlor), Trifluomethyl, niederes Alkyl (zum Beispiel Methyl oder Ethyl), niederes Alkoxy (zum Beispiel Methoxy), Phenyloxy, Benzyloxy und ähnliche substituiert sein können.

[0023] Die Bezeichnung (3-6C)C Cycloalkyl bedeutet Cyclopropyl, Cyclobutyl, Cyclopentyl oder Cyclohexyl.

[0024] Tetrazol, Oxazol, Thiazol und Benzothiazol haben jeweils die folgenden Formeln:



[0025] Die Erfindung schliesst auch Prämedikamente der Verbindung mit der allgemeinen Formel ein, die nach ihrer Verabreichung in aktive Verbindungen verstoffwechselt werden. Geeignete Prämedikamente sind N-Alkoxycarbonyl-geschützte (vorzugsweise N-Ethoxycarbonyl) Derivate der allgemeinen Formel.

[0026] Wie hierin verwendet bezieht sich die Bezeichnung pharmazeutisch verträgliche Salze auf Salze, die die erwünschte biologische Aktivität der Elternverbindung beibehalten und vorzugsweise keine unerwünschten toxischen Wirkungen besitzen. Beispiele solcher Salze sind Säureadditionssalze, die sich mit anorganischen Salzen bilden, zum Beispiel Salzsäure, Bromwasserstoffsäure, Schwefelsäure, Phosphorsäure, Salpetersäure und ähnliche. Salze können auch mit organischen Säuren wie zum Beispiel Essigsäure, Oxalsäure, Weinsäure, Bernsteinsäure, Maleinsäure, Fumarsäure, Glukonsäure, Citronensäure, Äpfelsäure, Ascorbinsäure, Benzoesäure, Gerbsäure, Pamoasäure, Alginsäure, Polyglutaminsäure und ähnlichen gebildet werden. Salze können mit polyvalenten Metallkationen wie Zink, Kalzium, Bismuth, Barium, Magnesium, Aluminium, Kupfer, Kobalt, Nickel und ähnliche oder mit einem organischen Kation gebildet aus N,N'-Dibenzylethylendiamin oder Ethylendiamin oder Kombinationen davon (z. B. ein Zinktannatsalz) gebildet werden.

[0027] Die Verbindungen der vorliegenden Erfindung besitzen ein oder mehrere chirale Kohlenstoffatome und können daher als ein reines Enantiomer oder als eine Mischung aus Enantiomeren oder als eine Diastereomere enthaltene Mischung erhalten werden. Verfahren zum Erhalt der reinen Enantiomere sind dem Fachmann bekannt, z. B. durch Kristallisation. von Salzen, die von optisch aktiven Säuren und der racemischen Mischung erhalten werden oder durch Chromatographie unter Verwendung chiraler Säulen. Für Diastereomere können gerade Phase- oder reverse Phase-Säulen verwendet werden.

[0028] Die Erfindung schliesst weiterhin ein Verfahren für die Herstellung einer Verbindung der Formel ein, worin das Verfahren das Koppeln geeigneter geschützter Aminosäuren oder Aminosäureanaloge einschliesst, gefolgt von der Entfernung der Schutzgruppen.

[0029] Die Verbindungen mit der allgemeinen Formel können auf für solche Verbindungen herkömmliche Weise hergestellt werden. Hierzu werden geeignete α -geschützte (und falls reaktionsfähige Seitenketten vorhanden sind, Seitenketten-geschützte) Aminosäurederivate oder Peptide an eine geeignete Carboxylgeschützte Aminosäure oder an Peptidderivate entweder in Lösung oder auf einem festen Trägermaterial gekoppelt. Der Schutz der α -Aminofunktionen wird im Allgemeinen mittels Urethanfunktionen gewährleistet, wie beispielsweise durch die Säure-labile tert.-Butylcarbonylgruppe (Boc), Benzyloxycarbonyl (Z)-Gruppe und substituierte Analoge oder die Basen-labile 9-Fluorenylmethyloxycarbonyl (Fmoc)-Gruppe. Die Z-Gruppe kann auch durch katalytische Hydrierung entfernt werden. Andere geeignete Schutzgruppen schliessen Nps, Bmv, Bpoc, Aloc, MSC usw. ein. Einen guten Überblick über die Aminoschutzgruppen wird in *The Peptides, Analysis, Synthesis, Biology*, Bd. 3, E. Gross und J. Meienhofer, Hrsg., (Academic Press, New York, 1981) gegeben. Der Schutz der Carboxylgruppe kann durch Esterbildung, z. B. Hasenlabile Ester wie Methyl oder Ethyl, Säure-labile Ester wie tert. Butyl, Hydrogenolyse-labile Ester wie Benzyl gewährleistet werden. Der Schutz der Seitenkettenfunktionen, wie diejenigen des Lysins kann durch die zuvor genannten Gruppen bewirkt werden. Die Aktivierung der Carboxylgruppe der auf geeignete Weise geschützten Aminosäuren oder Peptide kann mittels des Azid-, gemischte Anhydrid-, aktive Ester- oder des Carbodiimid-Verfahrens durchgeführt werden, insbesondere

durch die Zugabe von katalytischen und Racemisierungs-unterdrückende Verbindungen wie 1-Hydroxybenzotriazol, N-Hydroxybernsteinsäureimid, 3-Hydroxy-4-oxo-3,4-dihydro-1,2,3-benzotriazin, N-Hydroxy-5-norbornen-2,3-dicarboximid. Auch die Anhydride der auf Phosphor basierenden Säuren können verwendet werden. Siehe z. B. *The Peptides, Analysis, Synthesis, Biology*, supra und *Pure and Applied Chem.* 59(3). 331–334 (1987).

[0030] Es ist ebenfalls möglich die Verbindungen mittels des Festphasenverfahrens nach Merrifield herzustellen. Es sind verschiedene feste Trägermaterialien und verschiedene Strategien bekannt, siehe zum Beispiel Barany und Merrifield in *The Peptides, Analysis, Synthesis, Biology*, Bd. 2, E. Gross und J. Meienhofer, Hrsg., (Academic Press, N.Y., 1980), Kneib-Cordonier und Mullen, *Int. J. Peptide Protein Res.*, 30, 705–739 (1987) und Fields und Noble, *Int. J. Peptide Protein Res.*, 35, 161–214 (1990).

[0031] Die Entfernung der Schutzgruppen und, im Fall der Festphasen-Peptidsynthese die Spaltung von dem festen Trägermaterial, kann auf verschiedene Art und Weise durchgeführt werden, abhängig von der Art der Schutzgruppen und der Art der Verbindung mit dem festen Trägermaterial. Gewöhnlich findet das Entfernen der Schutzgruppen unter sauren Bedingungen und in Gegenwart von Radikalfängern statt. Siehe z. B. Bände 3, 5 und 9 der Serie *The Peptide Analysis, Synthesis, Biology*, supra.

[0032] Eine andere Möglichkeit ist die Anwendung von Enzymen bei der Synthese solcher Verbindungen für einen Überblick siehe z. B. H. D. Jakubke in *The Peptide Analysis, Synthesis, Biology*, Bd. 9, S. Udenfriend und J. Meienhofer, Hrsg., (Academic Press, N.Y., 1987).

[0033] Sind sie einmal hergestellt, sind die Verbindungen für die Herstellung von Medikamenten geeignet, die für die Behandlung von Krankheitszuständen geeignet sind, die eine unerwünschte Blutgerinnung einschließen. In einem solchem Fall wird die, speziell synthetisierte Verbindung typischerweise mit einem pharmazeutischen Trägermaterial vereint sein. Pharmazeutische Trägermaterialien variieren zwischen relativ einfachen Materialien wie sterilisiertes Wasser für die Injektion bis hin zu relativ komplizierten Materialien wie Mikrosphären und biologisch abbaubare Implantate.

[0034] Als Medikamente werden die Verbindungen vorzugsweise oral, subkutan, topisch, intranasal, intravenös, intramuskulär oder lokal (z. B. mittels eines Implants) verabreicht. Eine Depot-Verabreichung ist ebenfalls möglich.

[0035] Die exakte Dosis und Therapie für die Verabreichung dieser Verbindungen und Zusammensetzungen wird notwendigerweise von den Bedürfnissen des einzelnen Patienten abhängig sein, dem das Medikament verabreicht wird, dem Ausmass des Leidens oder des Bedürfnis und natürlich der Einschätzung des praktizierenden Arztes. Im allgemeinen erfordert eine parenterale Verabreichung niedrigere Dosen als andere Verabreichungsmethoden, die mehr von einer Absorption abhängig sind. Jedoch für Veranschaulichungszwecke befinden sich die Dosen in dem Bereich von 0,001–100 mg pro kg Körpergewicht, vorzugsweise 0,01–10 mg pro kg Körpergewicht.

[0036] Das mit den Verbindungen hergestellte Medikament kann auch als Adjuvanz in einer akuten Antikoagulationstherapie angewendet werden. In einem solchen Fall wird das Medikament mit anderen Verbindungen verabreicht, die für die Behandlung solcher Krankheitsstadien hilfreich sind.

[0037] Die Verbindungen können auch mit implantierbaren pharmazeutischen Vorrichtungen wie sie in dem US-Patent 4,767,628 beschrieben wurden, verwendet werden. Die Vorrichtung wird in einem solchen Fall ausreichende Mengen der Verbindung enthalten, um die Verbindung langsam freizusetzen (z. B. für mehr als einen Monat).

[0038] Verfahren für die Herstellung von Medikamenten, die abgeändert werden um die Verbindung für eine parenterale Verabreichung herzustellen, werden in der Standardreferenz Gennaro et al., *Remington's Pharmaceutical Sciences* (18. Ausgabe, Mack Publishing Company, 1990, siehe insbesondere Teil 8: *Pharmaceutical Preparations and Their Manufacture*), Seiten 1519 bis 1580 beschrieben. Gemischt mit pharmazeutisch geeigneten Hilfsstoffen kann die Verbindung in feste Dosisseinheiten wie Pillen, Tabletten gepresst oder in Kapseln oder Suppositorien verarbeitet werden. Mittels pharmazeutisch geeigneter Flüssigkeiten kann die Verbindung auch in Form einer Lösung, Suspension, Emulsion verabreicht werden, d. h. für deren Verwendung als Injektionspräparat oder als Spray, z. B. für die Verwendung als Nasenspray.

[0039] Für die Herstellung von Dosisseinheiten, z. B. Tabletten, wird die Verwendung herkömmlicher Additive wie Füllmittel, Farbstoffe, polymere Bindemittel und ähnliche in Betracht gezogen. Im Allgemeinen kann jedes pharmazeutisch verträgliche Additiv, das nicht mit der Funktion der Wirkstoffe interferiert, verwendet werden.

[0040] Geeignete Trägerstoffe mit der die Zusammensetzungen verabreicht werden können schliessen Laktose, Stärke, Cellulose-Derivate und ähnliche oder Mischungen davon, in geeigneten Mengen verwendet, ein.

[0041] Die Erfindung wird weiterhin durch Bezugnahme auf die folgenden veranschaulichenden Beispiele erläutert.

Beispiel 1

3,3-Diphenylpropionyl-Pro-Lys-(2-thiazolyl)

3,3-Diphenylpropionylprolylmethylester

[0042] Zu einer kalten Lösung (0°C) aus 3,3-Diphenylpropionsäure (5,0 g) in Ethylacetat, (100 ml) wurden nacheinander DCCI (1,3-Dicyclohexylcarbodiimid; 5,03 g), HOBt (1-Hydroxybenzotriazolhydrat; 3,28 g), H-Pro-OMe-HCl (3,66 g) und Triethylamin (3,1 ml) gegeben. Die Reaktionsmischung wurde 1 Stunde bei 0°C gerührt und dann über Nacht bei Raumtemperatur gehalten. Die Reaktionsmischung wurde bis auf -20°C abgekühlt und DCU (1,3-Dicyclohexylharnstoff) wurde mittels Filtration entfernt. Das Filtrat wurde nacheinander mit 5% Natriumhydrogencarbonat, Wasser, 5% Kaliumhydrogensulfat und gesättigtem wässrigen Natriumchlorid gewaschen, über Natriumsulfat getrocknet und in vacuo konzentriert. Der Rückstand wurde mittels Kieselsäuregel-Chromatographie gereinigt (Elutionsmittel: Dichlormethan/Ethylacetat; 9/1 V/V) und ergab 5,68 g 3,3-Diphenylpropionylprolylmethylester in Form eines kristallinen Pulvers. TLC: $R_f = 0,75$, Kieselsäuregel, Dichlormethan/Ethylacetat = 7/3 V/V.

3,3-Diphenylpropionylprolyl-OH

[0043] 3,3-Diphenylpropionylprolylmethylester (5,6 g) in Dioxan/Wasser; 7/3 V/V 60 ml) gelöst, wurde mit 4 M Natriumhydroxidlösung (6,2 ml) portionsweise während 30 Minuten bei Raumtemperatur behandelt, wobei der pH bei 10–10,5 gehalten wurde. Nach 30 Minuten wurde die Reaktionsmischung mit Wasser (60 ml) verdünnt, eine 4 M Salzsäurelösung wurde bis zu einem pH von 2,0 zugegeben und die Wasserschicht mit Ethylacetat extrahiert. Die vereinten organischen Phasen wurden mit Wasser, gesättigtem wässrigen Natriumchlorid gewaschen und über Natriumsulfat getrocknet und das Lösungsmittel durch Eindampfen entfernt, was 3,3-Diphenylpropionylprolyl-OH als Sirup (5,18 g) ergab. TLC: $R_f = 0,65$, Kieselsäuregel, EPAW (Ethylacetat/Pyridin/Esigsäure/ Wasser) 63%20/6/11 V/V/V/V.

Boc-Lys(Cbz)-NMeOMe

[0044] Boc-Lys(Cbz)-OH-DCHA (10 g) wurde in Dichlormethan (200 ml) suspendiert. Die Suspension wurde zweimal mit kalter 0,1 N Salzsäurelösung gewaschen. 2-(1H-Benzotriazol-1-yl)-1,1,3,3-Tetramethyluroniumtetrafluorborat (6,0 g) und O,N-Dimethylhydroxylamin-Salzsäure (1,82 g) wurde der daraus resultierenden organischen Phase zugegeben und der pH durch Zugabe von Triethylamin auf pH 8 eingestellt. Die Reaktionsmischung wurde 1 Stunde bei Raumtemperatur gerührt. Die Mischung wurde nacheinander mit kalter 2 N Salzsäurelösung, Wasser, 5% Natriumhydrogencarbonat und Wasser gewaschen. Die organische Schicht wurde über Natriumsulfat getrocknet, filtriert und eingedampft. Der Rückstand wurde mittels Kieselsäuregel-Chromatographie gereinigt (Elutionsmittel: Dichlormethan/Methanol; 5,5 V/V) und ergab Boc-Lys(Cbz)-NmeOMe (7,2 g). TLC: $R_f = 0,55$, Kieselsäuregel, Dichlormethan/Methanol 95/5 V/V.

Boc-Lys(Cbz)-(2-Thiazolyl)

[0045] Zu einer kalten (-78°C) gerührten Lösung aus n-Butyllithium (63,9 mmol) in Diethylether (58 ml) wurde tropfenweise eine Lösung aus 2-Bromothiazol (10,5 g) in Diethylether (30 ml) gegeben. Die Lösung wurde 30 Minuten bei -78°C gerührt, wonach eine Lösung aus Boc-Lys(Cbz)-NmeOMe (8,2 g) in trockenem THF (Tetrahydrofuran; 75 ml) langsam zugegeben wurde. Die Mischung wurde bei -78°C 1 Stunde gerührt, dann wurden 5% wässriges Natriumhydrogencarbonat zugegeben. Die Mischung wurde bis auf Raumtemperatur erwärmt und die Schichten getrennt. Die wässrige Lösung wurde mit Diethylether extrahiert. Die vereinten organischen Schichten wurden mit Wasser gewaschen, über Natriumsulfat getrocknet, filtriert und eingedampft. Der Rückstand wurde mittels Kieselsäuregel-Chromatographie gereinigt. (Elutionsmittel: Ethylacetat/Heptan; 3/1 V/V) und ergab Boc-Lys(Cbz)-(2-Thiazolyl) (8,6 g). TLC: $R_f = 0,77$, Kieselsäuregel, Ethylacetat/Heptan = 3/1 V/V.

H-Lys(Cbz)-(2-Thiazolyl)-TFA.

[0046] Boc-Lys(Cbz)-(2-Thiazolyl) (500 mg) wurde in 50% TFA (Trifluoressigsäure)/Dichlormethan (5 ml) gelöst und 1 Stunde bei Raumtemperatur gerührt. Das rohe H-Lys(Cbz)-(2-Thiazolyl)-TFA wurde nach dem Entfernen des Lösungsmittels durch Eindampfen quantitativ isoliert und sofort für den nächsten Schritt verwendet. TLC: $R_f = 0,25$, Kieselsäuregel, EPAW = 63/20/6/11 V/V/V/V.

3,3-Diphenylpropionyl-Pro-Lys(Cbz)-(2-Thiazolyl)

[0047] Zu einer kalten (0°C) Lösung aus 3,3-Diphenylpropionylprolyl-OH (385 mg) in Dimethylformamid (5 ml) wurden nacheinander DCCI (270 mg)=, HOBt (176 mg), H-Lys(Cbz)-(2-Thiazolyl)-TFA (515 mg) und N-Ethylmorpholin (0,28 ml) gegeben. Die Reaktionsmischung wurde 1 Stunde bei 0°C gerührt und dann über Nacht bei Raumtemperatur gehalten. Die Mischung wurde auf -20°C abgekühlt und DCU durch Filtration entfernt. Das Filtrat wurde bis zur Trockne eingedampft. Der Rückstand wurde in Ethylacetat gelöst und nacheinander mit 5% wässrigem Natriumhydrogencarbonat, Wasser, 5% wässrigem Kaliumhydrogensulfat und gesättigtem wässrigem Natriumchlorid gewaschen, über Natriumsulfat getrocknet und in vacuo konzentriert. Der Rückstand wurde mittels Kiesel säure gel chromatographie gereinigt (Elutionsmittel: Ethylacetat/Heptan; 4/1 V/V) und ergab 3,3-Diphenylpropionyl-Pro-Lys(Cbz)-(2-Thiazolyl) (332 mg). TLC: $R_f = 0,40$, Kiesel säure gel, Ethylacetat/Heptan; 3/1 V/V.

3,3-Diphenylpropionyl-Pro-Lys-f2-thiazolyl)

[0048] 3,3-Diphenylpropionyl-Pro-Lys(Cbz)-(2-thiazolyl) (320 mg) wurde 3 Stunden bei Raumtemperatur mit TFA/Thioanisol 10/1 V/V (3,3 ml) behandelt. Die Reaktionsmischung wurde in vacuo konzentriert und der Rückstand in Wasser gelöst. Die wässrige Phase wurde extensiv mit Diethylether gewaschen.

[0049] Die wässrige Schicht, die 3,3-Diphenylpropionyl-Pro-Lys-(2-Thiazolyl) enthält, wurde direkt auf eine präparative HPLC Supercosil LC-18-DB-Säule unter Verwendung eines Gradientenelutionssystems von 20% A/60% B/20% C bis 20% A/80% C während 45 Minuten mit einer Durchflussrate von 20 ml/min geladen (A: 0,5 M Natriumphosphatpuffer pH 2, J., B: Wasser, C: Acetonitril/Wasser; 3/2 V/V).

Ausbeute: 47 mg 3,3-Diphenylpropionyl-Pro-Lys-(2-thiazolyl).

TLC: $R_f = 0,57$, Kiesel säure gel, EPAW; 63/20/6/11 V/V/V/V. R_t (LC): 329 Minuten 20% A/60% B/20% C bis 20% A/0% B/80% C in 40 Minuten.

Beispiel 2

[0050] Auf gleiche Weise wie in Beispiel 1 beschrieben wurde hergestellt:

(a). H-D-Phe-Pro-Lys-(2-Thiazol)

[0051] R_t (LC): 25, 67 Minuten; 20% A/80% B/0% C bis 20% A/20% B/ 60% C in 40 Minuten.

(b). H-D-1-Tiq-Pro-Lys-(2-Thiazolyl)

[0052] R_t (LC): 23, 40 Minuten; 20% A/80% B/0% C bis 20% A/20% B/ 60% C in 40 Minuten. (Tiq = Tetrahydroisoquinalin)

(c). H-D-(p-Cl)-Phe-Pro-Lys-(2-Thiazolyl)

[0053] R_t (LC): 30,47 Minuten; 20% A/80% B/0% C bis 20% A/20% B/60% C in 40 Minuten.

(d) Indanglycyl-(N-cyclopropyl)Gly-Lys-(2-thiazolyl) (vergleichend)

[0054] R_t (LC): 27,88 Minuten; 20% A/80% B/0% C bis 20% A/20% B/ 60% C in 40 Minuten.

(e). H-D-Phe-(N-Cyclopentyl)-Gly-Lys-(2-thiazolyl)

[0055] R_t (LC): 31,07 Minuten; 20% A/80% B/0% C bis 20% A/20% B/60% C in 40 Minuten.

(f). Acetyl-D-Phe-(N-cyclopropyl)-Gly-Lys-(2-thiazolyl)

[0056] R_t (LC): 33,73 Minuten; 20% A/80% B/0% C bis 20% A/20% B/60% C in 40 Minuten.

(g). H-D-Cha-Pro-Lys-(2-Thiazolyl)

[0057] R_t (LC): 30,59 Minuten; 20% A/80% B/0% C bis 20% A/20% B/60% C in 40 Minuten. (Cha = Cyclohexylalanin)

(h). H-D-Phe-(N-Cyclopropyl)-Gly-Lys-(2-thiazolyl)

[0058] R_f (LC): 5,1 Minuten isokratisch; 55/45 MeOH/25 mM Phosphat pH = 7.

(i), 3,3-Diphenylpropionyl-(N-cyclopropyl)-Gly-Lys-(2-thiazolyl)

[0059] R_f (LC): 8,1 Minuten isokratisch; 75/25 MeOH/25 mM Phosphat pH = 7.

(j). H-D-Phe-(N-Cyclobutyl)-Gly-Lys-(2-thiazolyl)

[0060] R_f (LC): 30, 59 Minuten; 20% A/80% B/0% C bis 20% A/20% B/ 60% C in 40 Minuten.

(k). H-Atc-Pro-Lys-(2-Thiazolyl)

[0061] R_f (LC): 27,79 + 28, 04 Minuten; 20% A/80% B/0% C bis 20% A/20% B/60% C in 40 Minuten.
(Atc = 2-Aminotetralin-2-carboxylsäure)

(l). H-D-Phe-(N-Benzyl)-Gly-Lys-(2-thiazolyl)

[0062] R_f (LC): 16,99 Minuten; 20% A/60% B/20% C bis 20% A/0% B/ 80% C in 40 Minuten.

(m). H-D-Cha-(N-Cyclopropyl)-Gly-Lys-(2-thiazolyl)

[0063] R_f (LC): 30, 84 Minuten; 20% A/80% B/0% C bis 20% A/20% B/60% C in 40 Minuten.

(n) p-Chloro-3-phenylpropionyl-(N-cyclopentyl)-Gly-Lys-(2-thiazolyl)

[0064] R_f (LC): 36,15 Minuten; 20% A/60% B/20% C bis 20% A/0% B/80% C in 40 Minuten.

(o). (N-Benzyl)-Gly-(N-cyclopentyl)-Gly-Lys-(2-thiazolyl)

[0065] R_f (LC): 28,14 Minuten; 20% A/80% B/0% C bis 20% A/80% C in 40 Minuten.

Example 3

HOOC-CH₂-D-Cha-(N-Cyclopentyl)-Gly-Lys-(2-thiazolyl)

N-Cyclopentyl-Gly-OMe

[0066] Zu einer Lösung aus 23,2 g H-Gly-OMe·HCl in 200 ml Methanol wurden 15,6 g Cyclopentanon gegeben. Die Mischung wurde 15 Minuten gerührt und 7 g Natriumcyanborhydrid wurden zugegeben. Der pH wurde auf 6 eingestellt. Die Reaktionsmischung wurde 16 Stunden bei Raumtemperatur gerührt. Zur Vervollständigung der Reaktion wurde 1 g Cyclopentanon zugegeben und das Rühren fortgesetzt. Die Reaktion wurde auf TLC überwacht. Als sich das gesamte Ausgangsmaterial aufgelöst hatte, wurde die Mischung auf pH 2 angesäuert und 30 Minuten gerührt. Das Lösungsmittel wurde entfernt und der Rückstand mit Wasser verdünnt. Die Lösung wurde mit Ether gewaschen, der pH mit 6 N Natriumhydroxid auf 12 eingestellt und mit Dichlormethan extrahiert.

[0067] Die vereinten organischen Schichten wurden mit gesättigter Natriumchloridlösung gewaschen, auf Natriumsulfat getrocknet und in vacuo eingedampft, um 16 g eines Öls zu ergeben.

R_f = 0,46 in Ethylacetat/Pyridin/Essigsäure/Wasser 63/20/6/11 V/V/V/V auf Kieselsäure.

N-(t-Butyloxycarbonylmethyl)-D-Cha-OMe.

[0068] Zu einer gerührten Lösung aus 26 g H-D-Cha-OMe·HCl in 300 ml Acetonitril wurden 17 g t-Butylbromacetat gegeben. Der pH der Reaktion wurde mit Diisopropylethylamin auf 8,5 eingestellt. Die Mischung wurde 16 Stunden bei Raumtemperatur gerührt und in vacuo eingedampft. Der Rückstand wurde in Dichlormethan gelöst und die Lösung mit Wasser gewaschen, auf Natriumsulfat getrocknet und in vacuo eingedampft. Chromatographie über Kieselsäuregel in Hexan : Ethylacetat 9 : 1 V/V ergab 20 g des Titelprodukts.

R_f = 0,46 in Ethylacetat/Pyridin/Essigsäure/Wasser 15,75/5/1,5/ 2,75 V/V/V/V auf Kieselsäure.

N,N-Boc,(t-Butyloxycarbonylmethyl)-D-Cha-OMe

[0069] Der pH einer Lösung aus 20 g N-(t-Butyloxymethyl)-D-Cha-OMe und 17 g Di-t-butyldicarbonat wurde mit Diisopropylethylamin auf pH 8,5 eingestellt. Die Mischung wurde 16 Stunden bei Raumtemperatur gerührt. Das Lösungsmittel wurde in vacuo entfernt. Zu dem Rückstand wurde Dichlormethan und Wasser gegeben. Die organische Schicht wurde getrennt, mit kaltem 1 N Chlorwasserstoff, Wasser, 5% Natriumhydrogencarbonat und Wasser gewaschen. Die organische Schicht wurde auf Natriumsulfat getrocknet und das Filtrat zu einem amorphen Festkörper mit einer Ausbeute von 28 g eingedampft.

$R_f = 0,60$ in Ethylacetat/Pyridin/Essigsäure/Wasser 252/20/6/11 V/V/V/V auf Kieselsäure.

N,N-Boc,(t-Butyloxycarbonylmethyl)-D-Cha-OH

[0070] Eine Lösung aus 28 g N,N-Boc,(t-Butylcarbonylmethyl)-D-Cha-OMe in 420 ml Dioxan/Wasser 9/1 wurde mit ausreichend 1 N Natriumhydroxid behandelt, um den pH 90 Minuten lang bei Raumtemperatur auf 13 zu halten. Nach der Ansäuerung wurde die Lösung in Wasser gegossen und mit Dichlormethan extrahiert. Die organische Schicht wurde mit Wasser gewaschen und über Natriumsulfat gereinigt. Das Filtrat wurde eingedampft und ergab 24 g der Titelkomponente.

$R_f = 0,23$ in Dichlormethan/Methanol 9/1 V/V auf Kieselsäure.

N,N-Boc,(t-Butyloxycarbonylmethyl)-D-Cha-(N-cyclopentyl)-Gly-OMe

[0071] Zu einer Lösung aus 24 g N,N-Boc,(t-Butyloxycarbonylmethyl)-D-Cha-OH in 300 ml N,N-Dimethylformamid wurden 10,2 g N-Cyclopentyl-Gly-OMe und 21,2 g 2-(1H-Bentztriazol-1-yl)-1,1,3,3-tetramethyluroniumtetrafluorborat (TBTU) gegeben.

[0072] Der pH der Mischung wurde auf 8,5 eingestellt. Die Mischung wurde über Nacht bei Raumtemperatur gerührt und durch Eindampfen konzentriert. Zu dem Rückstand wurden Wasser und Ethylacetat gegeben. Die organische Schicht wurde abgetrennt und mit 1 N Chlorwasserstoff, Wasser, 5% Natriumhydrogencarbonat und Wasser gewaschen und über Natriumsulfat getrocknet. Das Filtrat wurde eingedampft und der Rückstand über Kiesel säuregel in Hexan : Ethylacetat 8 : 2 als Elutionsmittel chromatographiert. Die die Titelverbindung enthaltenden Fraktionen wurde gepoolt und eingedampft. Ausbeute: 17 g. $R_f = 0,57$ in Hexan/Ethylacetat 7/3 V/V auf Kieselsäure.

[0073] N,N-Boc,(t-Butyloxycarbonylmethyl)-D-Cha-(N-cyclopentyl)-Gly-OH Unter Anwendung des gleichen Verfahrens wie für N,N-Boc,(t-Butyloxycarbonylmethyl)-D-Cha-OH wurden 17 g N,N-Boc,(t-Butyloxycarbonylmethyl)-D-Cha-(N-cyclopentyl)-Gly-OMe verseift und ergaben 15 g eines amorphen Feststoffs. Kiesel säuregel-Chromatographie mit Dichlormethan/Methanol 95/5 V/V als Elutionsmittel ergab 13 g der Titelverbindung. $R_f = 0,30$ in Methylenchlorid/Methanol 9/1 V/V auf Kieselsäure.

HOOC-CH₂-D-Cha-(N-Cyclopentyl)-Gly-Lys-(2-thiazol)

[0074] Diese Verbindung wurde unter Verwendung von N,N-Boc,(t-Butyloxycarbonylmethyl)-D-Cha-(N-cyclopentyl)-Gly-OH mit den gleichen Verfahren wie in Beispiel 1 beschrieben hergestellt.

R_t (LC): 23,57 min; 20% A, 60% H, 20% C bis 20% A, 80% C in 40 Minuten.

(a). HOOC-CH₂-D-Cha-Pro-Lys-(2-thiazolyl) wurde auf gleiche Weise wie oben beschrieben (wie in Beispiel 11) unter Verwendung von Prolin·HCl und HONSu hergestellt. R_t (LC): 31,44 Minuten; 20% A, 60% B, 20% C bis 20% A, 80% C in 40 Minuten.

Beispiel 4 (vergleichend)

3-Phenylpropionyl-Pro-Lysψ[COCO]-OH

Boc-Lys(Cbz)-OMe

[0075] Boc-Lys(Cbz)-OH (25 g) wurde in Dichlormethan/Methanol = 9/1 V/V (500 ml) gelöst. TBTU (21,1 g) wurde zugegeben und die Lösung auf pH 8 durch Zugabe von Triethylamin eingestellt. Die Reaktionsmischung wurde 1 Stunde bei Raumtemperatur gerührt. Die Mischung wurde nacheinander mit kalter 2 N Chlorwasserstoff-Lösung, Wasser, 5% Natriumhydrogencarbonat und Wasser gewaschen. Die organische Schicht wurde über Natriumsulfat getrocknet, gefiltert und eingedampft. Der Rückstand wurde mittels Kiesel säuregel-Chromatographie (Elutionsmittel: Ethylacetat/ Heptan = 1/4 V/V) gereinigt und ergab Boc-Lys(Cbz)-OMe (26,7 g). TLC: $R_f = 0,79$, Kiesel säuregel, Ethylacetat/Heptan = 3/1 V/V.

Boc-Lys-Cbz ψ [Cyanoacetat]

[0076] Zu einer kalten (-78°C) Lösung aus Boc-Lys(Cbz)-OMe (20 g) in trockenem Dichlormethan (600 ml) wurde tropfenweise Diisobutylaluminiumhydrid (127 ml einer 1 M Lösung in Hexan) derart zugegeben, dass die Reaktionstemperatur unter -70°C gehalten wurde. Die daraus resultierende Lösung wurde bei -78°C 30 Minuten gerührt. Eine 5%-ige Citronensäure-Lösung (500 ml) wurde der Reaktionsmischung zugegeben. Die zwei Schichten-Mischung wurde 10 Minuten bei Raumtemperatur gerührt, die Schichten getrennt und die wässrige Phase zwei mal mit Dichlormethan extrahiert. Die vereinten Dichlormethan-Schichten wurden mit Wasser gewaschen und über Natriumsulfat getrocknet und filtriert. Die Lösung wurde unter Stickstoff gehalten und in einem Eiswasserbad abgekühlt. Eine Lösung aus Natriumcyanid (24,85 g) und Benzyltriethylammoniumchlorid (2,89 g) in Wasser (500 ml) wurde zugegeben. Unter starkem Rühren wurde portionsweise Essigsäureanhydrid (6×6 ml) über einen Zeitraum von 30 Minuten zugegeben. Die organische Schicht wurde abgetrennt und die wässrige Schicht zwei mal mit Dichlormethan extrahiert. Die vereinten Dichlormethanschichten wurden mit Wasser gewaschen, über Natriumsulfat getrocknet, filtriert und in vacuo eingedampft. Der Rückstand wurde mittels Kiesel säure gel-Chromatographie gereinigt (Elutionsmittel: Dichlormethan/ Ethylacetat = 9/1 V/V) und ergab Boc-Lys-(Cbz) Ψ [Cyanoacetat] (17,2 g). TLC: $R_f = 0,60$, Kiesel säure gel, Dichlormethan/Ethylacetat = 7/3 V/V.

Boc-Lys(Cbz) ψ [CHOHCO]-OMe

[0077] Eine Lösung aus Boc-Lys(Cbz) ψ [Cyanoacetat] (17,2 g) in Diethylether/Methanol = 3/1 V/V (500 ml) wurde unter einer Stickstoffatmosphäre auf -20°C abgekühlt und 54,7 g gasförmige Salzsäure wurde eingeführt, wobei die Temperatur unter -5°C gehalten wurde. Die Reaktionsmischung wurde über Nacht bei 4°C gehalten. Zu der Reaktionsmischung wurde tropfenweise Wasser zugegeben, wobei die Temperatur unter 5°C gehalten wurde. Nach 4-stündigem Rühren bei Raumtemperatur wurde die organische Schicht abgetrennt und mit Wasser gewaschen. Die wässrige Schicht wurde mit Natriumchlorid abgesättigt und mit sec-Butanol/Dichlormethan = 3/2 V/V extrahiert. Die organische Phase wurde mit Lauge gewaschen, über Natriumsulfat getrocknet, filtriert und in vacuo eingedampft, um 17,4 g des rohen Amins zu ergeben.

[0078] Der Rückstand wurde in Dimethylformamid (DMF, 200 ml) aufgenommen, bis-(tert-Butyl)anhydrid (8,7 g) wurde zugegeben und Triethylamin bis zu einem pH von B. Die Reaktionsmischung wurde bei Raumtemperatur über Nacht gerührt. Das Lösungsmittel wurde mittels Eindampfen unter reduziertem Druck entfernt. Der Rückstand wurde in Ethylacetat gelöst, nacheinander mit Wasser und Lauge gewaschen, über Natriumsulfat getrocknet, filtriert und in vacuo eingedampft. Der Rückstand wurde mittels Kiesel säure gel-Chromatographie gereinigt (Elutionsmittel: Ethylacetat/Heptan = 1/1 V/V), um Boc-Lys-(Cbz) ψ [CHOHCO]-OMe (6,22 g) zu ergeben. TLC: $R_f = 0,75$, Kiesel säure gel, Ethylacetat/Heptan = 3/1 V/V.

3-Phenylpropionyl-Pro-Lys(Cbz) ψ [CHOHCO]-OMe

[0079] Boc-Lys(Cbz) ψ [CHOHCO]-OMe (60 mg) wurde in 50% Trifluoressigsäure /Dichlormethan (6 ml) gelöst und 1 Stunde bei Raumtemperatur gerührt. Das rohe Amin wurde nach der Entfernung des Lösungsmittels durch Eindampfen in quantitativer Ausbeute isoliert und sofort für die Herstellung von 3-Phenylpropionyl-Pro-Lys(Cbz) Ψ [CHOHCO]-OMe verwendet.

[0080] 3-Phenylpropionyl-Pro-OH wurde in trockenem DMF (5 ml) gelöst. Nach Zugabe von Triethylamin (196 ml) wurde die Reaktionsmischung unter Stickstoff gehalten und auf -15°C abgekühlt. Anschliessend wurde Isobutylchloroformat (183 ml) zugegeben und die Mischung 15 Minuten bei -15°C gerührt. Das rohe Amin wurde in trockenem DMF (5 ml) gelöst, unter Verwendung von Triethylamin neutralisiert und der kalten gemischten Anhydrid-Lösung tropfenweise zugegeben. Die Reaktion wurde 1 Stunde bei -15°C gerührt und über Nacht bei 0°C gehalten. Die Mischung wurde bis zur Trockne eingedampft. Der Rückstand wurde in Ethylacetat gelöst und nacheinander mit Wasser, 5 Natriumhydrogencarbonat und Lauge gewaschen, über Natriumsulfat getrocknet und in vacuo konzentriert. Der Rückstand wurde mittels Kiesel säure gel-Chromatographie gereinigt (Elutionsmittel: Dichlormethan/Methanol = 95/5 V/V) und ergab 3-Phenylpropionyl-Pro-Lys(Cbz) Ψ [CHOHCO]-OMe (246 mg). TLC: $R_f = 0,92$, Kiesel säure gel, EPAW = 63/20/6/11 V/V/V/V.

3-Phenylpropionyl-Pro-Lys ψ [CHOHCO]-OMe

[0081] Zu einer Lösung aus 3-Phenylpropionyl-Pro-Lys(Cbz) ψ [CHOHCO]-OMe (240 mg) in Methanol (5 ml) wurde 10% Paladium auf Holzkohle (50 mg) und 216 ml 2 N Chlorwasserstoff-Lösung gegeben. Die Mischung wurde unter atmosphärischem Druck 1 Stunde bei Raumtemperatur hydriert. Der Palladium-Katalysator wurde mittels Filtration entfernt und das Lösungsmittel unter reduziertem Druck eingedampft, um quantitativ 3-Phenylpropionyl-Pro-Lys ψ [CHOHCO]-OMe zu ergeben. TLC: $R_f = 0,13$, Kiesel säure gel, Dichlormethan/ Methanol

= 9/1 V/V.

3-Phenylpropionyl-Pro-Lys(Boc) ψ [CHOHCO]-OMe

[0082] Zu einer Lösung aus 3-Phenylpropionyl-Pro-Lys ψ [CHOHCO]-OMe (196 mg) in trockenem DMF (5 ml) wurde bis(tert-Butyl)anhydrid (102 mg) gegeben und der pH durch Zugabe von Triethylamin auf 8,5 eingestellt. Die Reaktionsmischung wurde über Nacht bei Raumtemperatur gerührt. Die Mischung wurde in vacuo eingedampft und der daraus resultierende Rückstand mittels Kieselsäuregel-Chromatographie gereinigt (Elutionsmittel: Dichlormethan/ Methanol = 98/2 V/V) und ergab 3-Phenylpropionylp-Pro-Lys(Boc) Ψ [CHOHCO]-OMe (189 mg). TLC: R_f = 0,43, Kieselsäuregel, Dichlormethan/ Methanol = 9/1 V/V.

3-Phenylpropionyl-Pro-Lys(Boc) ψ [CHOHCO]-OH

[0083] 3-Phenylpropionyl-Pro-Lys(Boc) ψ [CHOHCO]-OMe (185 mg) wurde in Dioxan/Wasser = 7/3 (5 ml) gelöst und mit 2 M Natriumhydroxid-Lösung (267 ml) portionsweise während 30 Minuten bei Raumtemperatur behandelt, wobei der pH auf 10 – 10,5 gehalten wurde. Nach 30 Minuten wurde die Reaktionsmischung mit Wasser (20 ml) verdünnt, 2 M Chlorwasserstoff-Lösung wurde bis zu einem pH von 2,0 zugegeben und die wässrige Schicht mit Dichlormethan extrahiert. Die vereinten organischen Phasen wurden mit Wasser (50 ml), Lauge (50 ml) gewaschen und über Natriumsulfat getrocknet, filtriert und in vacuo konzentriert, um 3-Phenylpropionyl-Pro-Lys(Boc) ψ [CHOHCO]-OH (228 mg) zu ergeben. TLC: R_f = 0,60, Kieselsäuregel, EPAW = 63/20/6/11 V/V/V/V.

3-Phenylpropionyl-Pro-Lys(Boc) ψ [COCO]-OH

[0084] Zu einer Lösung aus Phenylpropionyl-Pro-Lys(Boc) ψ [CHOHCO]-OH (220 mg) in trockenem Dichlormethan (5 ml) wurden 255 mg Periodan (Dess-Martin-Reagenz) zugegeben. Nach 1 ständigem Rühren bei Raumtemperatur wurde eine 2%-ige Natriumthiosulfat-Lösung (15 ml) zugegeben und die Mischung 30 Minuten bei Raumtemperatur gerührt. Die organische Schicht wurde abgetrennt, mit Wasser gewaschen, über Natriumsulfat getrocknet, filtriert und eingedampft, um rohes Ketosäure-3-Phenylpropionyl-Pro-Lys(Boc) ψ [COCO]-OH (411 mg) zu ergeben. TLC: R_f = 0,47, Kieselsäuregel, EPAW = 63/20/6/11 V/V/V/V.

3-Phenylpropionyl-Pro-Lys ψ [COCO]-OH

[0085] 3-Phenylpropionyl-Pro-Lys(Boc) ψ [COCO]-OH (411 mg) wurde mit 90% Trifluoressigsäure/Wasser 1 Stunde bei Raumtemperatur behandelt. Die Reaktionsmischung wurde in vacuo konzentriert und der Rückstand in Wasser gelöst und sofort auf eine präparative HPLC Supercosil LC-18-DB-Säule unter Verwendung eines Gradientenelutionssystems mit 20% A/70% B/10% C bis 20% A/0% B/80% C während 45 Minuten mit einer Durchflussrate von 20 ml/min geladen. (A: 0,5 M Phosphat-Puffer pH 2,1, B: Wasser, C: Acetonitril/ Wasser = 3/2). Ausbeute: 71 mg 3-Phenylpropionyl-Pro-Lys ψ [COCO]-OH. R_t (LC): 24,9 Minuten: 20% A/80% B/ bis 20% A/20% B/60% C in 40 Minuten.

[0086] Auf gleiche, wie oben beschriebene Weise wurden hergestellt:

(a). 3, 3-Diphenylpropionyl-Pro-Lys ψ [COCO]-OH

[0087] R_t (LC): 36,42 Minuten; 20% A/80% B/0% C bis 20% A/20% B/60% C in 40 Minuten.

(b). 3-Phenylpropionyl-(N-cyclopentyl)-Gly-Lys ψ [COCO]-OH

[0088] R_t (LC): 34,29 Minuten; 20% A/80% B/0% C bis 20% A/20% B/60% C in 40 Minuten.

(c). 3-[(p-Cl)-Phenyl]propionyl-(N-cyclopentyl)-Gly-Lys ψ [COCO]-OH

[0089] R_t (LC): 39, 52 Minuten; 20% A/80% B/0% C bis 20% A/20% B/60% C in 40 Minuten.

(d). 3-[(p-Cl)-Phenyl]propionyl-Pro-Lys ψ [COCO]-OH

[0090] R_t (LC): 31,31 Minuten; 20% A/80% B/0% C bis 20% A/20% B/60% C in 40 Minuten.

(e). Naphthylsulfonyl-Asp-Pro-Lys ψ [COCO]-OH

[0091] R_f (LC): 30,45 Minuten; 20% A/80% B/0% C bis 20% A/20% B/60% C in 40 Minuten.

Beispiel 5

H-D-Cha-Pro-Lys-2-Benzthiazolyl

Boc-Lys(Cbz)- ψ [CHOH]-(2-Benzthiazolyl)

[0092] Zu einer kalten Lösung (-78°C) aus Boc-Lys(Cbz)-OMe (1 g) in Dichlormethan (25 ml) wurde tropfenweise Diisobutylaluminiumhydrid (DIBAL-H; 7,6 ml einer 1 M Lösung in Hexan) gegeben, wobei die Reaktionstemperatur unter -70°C gehalten wurde. Die daraus resultierende Lösung wurde 30 Minuten bei -78°C gerührt. Eine 5%-ige Citronensäurelösung wurde der Reaktionsmischung zugegeben. Die zweiphasige Mischung wurde 10 Minuten bei Raumtemperatur gerührt, die Phasen wurden getrennt und die wässrige Phase zweimal mit Dichlormethan extrahiert. Die vereinten Dichlormethan-Schichten wurden mit Wasser, 5% Natriumhydrogencarbonat und Wasser gewaschen und über Natriumsulfat getrocknet und filtriert. Die Lösung wurde unter Stickstoff gehalten und 2-(Trimethylsilyl)benzthiazol (0,79 g) wurde zugegeben und die Reaktionsmischung 16 Stunden bei Raumtemperatur gerührt. Nach dem Eindampfen bis zur Trockne wurde der Rückstand in trockenem Tetrahydrofuran (15 ml) gelöst und Tetrabutylammoniumfluorid (3,8 ml einer 1 M Lösung in THF) wurde zugegeben. Die Mischung wurde 2 Stunden bei Raumtemperatur gerührt und Wasser wurde zugegeben. Das Produkt wurde mit Dichlormethan extrahiert und mittels Kieselsäuregel-Chromatographie gereinigt (Elutionsmittel: Dichlormethan/Ethylacetat; 9/1 V/V), um 724 mg Boc-Lys(Cbz)- ψ [CHOH]-(2-Benzthiazolyl) zu ergeben. TLC: R_f = 0,35, Kieselsäuregel, Dichlormethan/Ethylacetat = 7/3 V/V.

Boc-Lys(Cbz)-(2-Benzthiazolyl)

[0093] Zu einer Lösung aus Boc-Lys(Cbz) ψ [CHOH]-(2-Benzthiazolyl) (700 mg) in trockenem Dichlormethan (10 ml) wurde 1 g Periodan (Dess-Martin-Reagenz) gegeben. Nach einstündigem Rühren bei Raumtemperatur wurden 2% Natriumthiosulfat-Lösung zugegeben und die Mischung wurde weitere 30 Minuten bei Raumtemperatur gerührt. Die organische Phase wurde abgetrennt, mit Wasser gewaschen, über Natriumsulfat getrocknet, filtriert und in vacuo evaporiert. Der Rückstand wurde mittels Kieselsäuregel-Chromatographie gereinigt (Elutionsmittel: Ethylacetat/Heptan; 3/1 V/V), um 193 mg Boc-Lys(Cbz)-(2-Benzthiazolyl) zu ergeben. TLC: R_f = 0,85, Kieselsäuregel, Ethylacetat/Heptan = 3/1 V/V.

Boc-D-Cha-Pro-Lys(Cbz)-(2-benzthiazolyl)

[0094] Boc-Lys(Cbz)-(2-Benzthiazolyl) (193 mg) wurde in 50 ml TFA/Dichlormethan (2 ml) gelöst und 1 Stunde bei Raumtemperatur gerührt. Das rohe Amin wurde in quantitativer Ausbeute nach Entfernung des Lösungsmittels durch Eindampfen isoliert und sofort für die Herstellung von Boc-D-Cha-Pro-Lys(Cbz)-(2-benzthiazolyl) verwendet. Boc-D-Cha-Pro-OH wurde in trockenem Dimethylformamid (4 ml) gelöst. Nach Zugabe von Diisopropylethylamin (DIPEA, 66 ml), wurde die Reaktionsmischung und eine Stickstoffatmosphäre gebracht und auf -15°C abgekühlt. Isobutylchlorformat (50 ml) wurde anschliessend zugegeben und die Mischung 15 Minuten bei -15°C gerührt. Das rohe Amin wurde in trockenem DMF (4 ml) gelöst, unter Verwendung von Diisopropylethylamin neutralisiert und tropfenweise zu der kalten gemischten Anhydrid-Lösung gegeben. Die Reaktion wurde 1 Stunde bei -15°C gerührt und über Nacht bei 0°C gehalten. Die Mischung wurde bis zur Trockne eingedampft. Der Rückstand wurde in Ethylacetat gelöst und nacheinander mit Wasser, 5% Natriumhydrogencarbonat, Wasser und Lauge gewaschen, über Natriumsulfat getrocknet und in vacuo konzentriert. Der Rückstand wurde mittels Kieselsäuregel-Chromatographie gereinigt (Elutionsmittel: Ethylacetat/Heptan; 1/1 V/V), um Boc-D-Cha-Pro-Lys(Cbz)-(2-Benzthiazolyl) (191 mg) zu ergeben. TLC: R_f = 0,66, Kieselsäuregel, Ethylacetat/Heptan = 3/1 V/V.

H-D-Cha-Pro-Lys-(2-Benzthiazolyl)

[0095] Boc-D-Cha-Pro-Lys(Cbz)-(2-Benzthiazolyl) wurde mit Trifluoressigsäure/Thioanisol 10/1 V/V (2,2 ml) 3,5 Stunden bei Raumtemperatur behandelt. Die Reaktionsmischung wurde in vacuo konzentriert und der Rückstand in Wasser gelöst. Die wässrige Phase wurde gründlich mit Diethylether gewaschen. Die wässrige Schicht, die H-D-Cha-Pro-Lys-(2-Benzthiazolyl) enthielt, wurde sofort auf eine präparative HPLC Supercosil LC-18-DB-Säule unter Anwendung eines Gradientenelutionssystems von 20% A/80% B bis 20% A/40% B/40% C während 40 Minuten mit einer Durchflussrate von 20 ml/min geladen. (A: 0,5 M P0,5 mM Natrium-

phosphat-Puffer pH 2,1, B; Wasser, C: Acetonitril/Wasser = 3/2). Ausbeute: 98 mg H-D-Cha-Pro-Lys-(2-Henztiazoly). R_f (LC): 42 Minuten, 20% A/80% B bis 20% A/20% B/60% C in 40 Minuten.

Beispiel 6 (vergleichend)

H-D-Cha-Pro-Lys-(2-Tetrazoly)

Boc-Lys(Cbz) ψ (CHOAc)-(2-Tetrazoylyl)

[0096] Zu einer Lösung aus Boc-Lys(Cbz) ψ [Cyanoacetat] (5,4 g) in 39 ml Dimethylformamid wurden 801 mg Ammoniumchlorid und 975 mg Natriumazid zugegeben. Die Reaktionsmischung wurde auf 80°C erhitzt und während 48 Stunden unter einer Stickstoffatmosphäre gerührt. Das präzipitierte Salz wurde abfiltriert und die Lösung unter reduziertem Druck bis zur Trockne eingedampft. Dies ergab 4,9 g der gewünschten Verbindung. TLC: R_f = 0,42, Kieselsäuregel, Toluol/Ethanol = 6/4 V/V.

Boc-Lys(Cbz) ψ (CHOH)-(2-Tetrazoly)

[0097] Boc-Lys(Cbz) ψ (CHOAc)-2-Tetrazoly (1,25 g) wurde in 60 ml Dioxan/Wasser 7/3 gelöst und 2,65 ml einer 2 N Natriumhydroxidlösung wurden zugegeben. Die Lösung wurde während 2,5 Stunden bei Raumtemperatur gerührt, wonach die Reaktion vollständig zu sein schien. Der pH wurde auf 5 eingestellt und die daraus resultierende Mischung wurde bis zur Trockne unter reduziertem Druck eingedampft. Der Rückstand wurde in Methanol/Dichlormethan 1/1 gelöst und unlösliches Salz abfiltriert. Dies resultierte in 1,27 g des deacetylierten Produkts. TLC: R_f = 0,40, Kieselsäuregel, Toluol/Ethanol = 6/4 V/V.

Boc-Lys(Cbz)-(2-Tetrazoly)

[0098] Zu einer Lösung aus 0,56 g Boc-Lys(Cbz) ψ (CHOH)-(2-Tetrazoly) in 37 ml trockenem Dichlormethan wurden 1,38 g des Dess-Martin-Reagenz Periodan gegeben. Die Mischung wurde 30 Minuten bei Raumtemperatur gerührt, wonach die Reaktion mit einer 10%-igen Natriumthiosulfat-Lösung in Wasser abgeschreckt wurde. Die organische Phase wurde mit Wasser und Natriumhydrogencarbonat (5% in Wasser) extrahiert. Die Wasserphasen wurden vereint und mit 1-Butanol extrahiert. Die 1-Butanol-Phase wurde bis zur Trockne unter reduziertem Druck eingedampft. Der Rückstand wurde auf einer Kieselsäuregel-Säule unter Verwendung des Elutionsmittels Ethylacetat/Pyridin/Essigsäure/Wasser = 263/20/6/ 11 V/V/V/V chromatographiert. Ausbeute: 0,22 g. TLC: R_f = 0,30, Kieselsäuregel, Ethylacetat/Pyridin/Essigsäure/Wasser = 63/20/6/11 V/V/V/V.

H-Lys(Cbz)-2-Tetrazolyl)-TFA

[0099] Boc-Lys(Cbz)-(2-Tetrazoly) (0,21 g) wurde in 16 ml Trifluoressigsäure/Wasser 9/1 gelöst. Die Mischung wurde 1 Stunde bei Raumtemperatur gerührt, wonach die Lösung in vacuo konzentriert wurde, um ein Öl zu ergeben. Ausbeute: 0,34 g, die sofort für die Herstellung des Tripeptids Boc-D-Cha-Pro-Lys(Cbz)-2-Tetrazoly) verwendet wurden.

Boc-D-Cha-Pro-Lys(Cbz)-2-Tetrazoly)

[0100] Boc-D-Cha-Pro-OH (0,19 g) wurde gemäss dem in Beispiel 1 für den Dipeptid-Anteil beschriebenen Verfahren hergestellt. Die Kopplung an H-Lys(Cbz)-(2-Tetrazoly) (0,17 g) wurde auf gleiche Weise wie in Beispiel 5 beschrieben durchgeführt. Reinigung über Kieselsäuregel-Chromatographie (Elutionsmittel: Ethylacetat/Pyridin/Essigsäure/Wasser = 163/20/6/11 V/V/V/V) ergab 0,21 g der gewünschten Verbindung. TLC: R_f = 0,17, Kieselsäuregel, Ethylacetat/Pyridin/Essigsäure/Wasser = 63/20/6/11 V/V/V/V.

H-D-Cha-Pro-Lys-(2-Tetrazoly)

[0101] Die Entfernung der Schutzgruppen und die HPLC-Reinigung wurden auf analoge Weise wie in dem in Beispiel 5 beschriebenen Verfahren durchgeführt. Ausbeute: 20 mg.
 R_f (LC): 23,3 und 24,5 Minuten, 20% A, 80% B bis 20% A, 20% B und 60% C in 40 Minuten.

Beispiel 7 (vergleichend)

HOOC-CH₂-CO-D-Cha-Pro-Lys-(2-Thiazolyl)

H-D-Cha-Pro-Lys(Cbz)-(2-Thiazolyl)-TFA

[0102] Boc-D-Cha-Pro-Lys(Cbz)-(2-Thiazolyl) wurde gemäss dem in Beispiel 5 beschriebenen Verfahren hergestellt.

[0103] 0,30 g dieses Tripeptids wurden in 3 ml Trifluoressigsäure/Dichlormethan 1/1 V/V gelöst und die Lösung wurde 1 Stunde bei Raumtemperatur gerührt. Die Lösung wurde unter reduziertem Druck bis zur Trockne eingedampft und dreimal mit Toluol koevaporiert. Ausbeute: quantitativ, Öl, wurde sofort für den nächsten Schritt verwendet. TLC: R_f = 0,30, Kieselsäuregel, Ethylacetat/Pyridin/Essigsäure/Wasser = 163/20/6/11 V/V/V/V.

(t-Butyl-OOC-CH₂-CO)-D-Cha-Pro-Lys(Cbz)-(2-Thiazolyl)

[0104] H-D-Cha-Pro-Lys(Cbz)-(2-Thiazolyl)-TFA (0,33 g) wurde in 3 ml trockenem Dichlormethan gelöst und 76 mg mono-tertiäres Butylmalonat wurden zugegeben und der pH mit Triethylamin auf ungefähr 8 eingestellt. Als nächstes wurde Benztriazolyloxytris(dimethylamino)phosphoniumhexafluorphosphat (211 mg) zugegeben und die Reaktionsmischung 2 Stunden bei Raumtemperatur und die folgenden 16 Stunden bei 4°C gerührt. Die Lösung wurde in vacuo konzentriert, in Ethylacetat gelöst und drei mal mit Wasser und Lauge gewaschen. Die organische Phase wurde nochmals in vacuo konzentriert, nachdem sie auf Magnesiumsulfat getrocknet worden war. Der Rückstand wurde auf Kieselsäuregel unter Verwendung von Heptan/Ethylacetat = 8/2 V/V chromatographiert. Dies ergab 270 mg des acylierten Tripeptids. TLC: R_f = 0,21, Kieselsäuregel, Heptan/Ethylacetat = 8/2 V/V.

HOOC-CH₂-CO-D-Cha-Pro-Lys-(2-Thiazolyl)

[0105] Die Entfernung der Schutzgruppen und die HPLC-Reinigung wurden analog dem in Beispiel 5 beschriebenen Verfahren durchgeführt. Ausbeute: 124 mg. R_t (LC): 38,23 Minuten; 20% A/80% B/0% C bis 20% A/20% B/60% C in 40 Minuten.

Beispiel 8 (vergleichend)

HOOC-(CH₂)₂-CO-D-Cha-Pro-Lys-(2-Thiazolyl)(HOOC-(CH₂)₂-CO)-D-Cha-Pro-Lys(Cbz)-(2-Thiazolyl)

[0106] H-D-Cha-Pro-Lys(Cbz)-(2-Thiazolyl)-TFA (0,33 g) wurde in 3 ml trockenem Dichlormethan und 0,335 ml Pyridin gelöst. Zu dieser Lösung wurden 48 mg Bernsteinsäureanhydrid gegeben und die resultierende Lösung unter einer Stickstoffatmosphäre bei Raumtemperatur gerührt. Nach 4 Stunden schien die Reaktion vollständig zu sein und wurde mit wenigen Tropfen Wasser abgeschreckt. Die Mischung wurde in vacuo konzentriert, in Ethylacetat gelöst, mit verdünnter Säure, Wasser und Lauge gewaschen und auf Magnesiumsulfat getrocknet. Nach der Entfernung des Salzes wurde die organische Phase in vacuo konzentriert, was in 320 mg eines Öls resultierte.

TLC: R_f = 0,37, Kieselsäuregel, Dichlormethan/Methanol 9/1 V/V.

HOOC-(CH₂)₂-CO-D-Cha-Pro-Lys-(2-Thiazolyl)

[0107] Die Entfernung der Schutzgruppen und die HPLC-Reinigung wurde analog dem in Beispiel 5 beschriebenen Verfahren durchgeführt. Ausbeute: 187 mg.

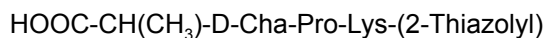
R_t (LC): 38,31 Minuten; 20% A/80% B bis 20% A/20% B/60% C in 40 Minuten.

Beispiel 9

HOOC-CH(CH₃)-D-Cha-Pro-Lys-(2-Thiazolyl)(t-Butyl-OOC-CH(CH₃)-D-Cha-Pro-Lys(Cbz)-(2-Thiazolyl)

[0108] H-D-Cha-Pro-Lys(Cbz)-(2-Thiazolyl)-TFA (0,33 g) wurde in 2 ml Acetonitril gelöst. Als nächstes wur-

den 0,50 g 2-Brompropionsäure-tertiärer Butylester zugegeben, gefolgt von 25 mg Natriumiodid. Der pH der Lösung wurde mit Diisopropylamin auf 8 eingestellt und mit dieser Basizität 12 Tage bei Raumtemperatur gehalten. Die Reaktionsmischung wurde in vacuo konzentriert, in Ethylacetat gelöst, mit Wasser gewaschen, auf Magnesiumsulfat getrocknet und nochmals konzentriert. Der Rückstand wurde auf Kieselsäuregel unter Verwendung von Ethylacetat/Toluol 1/1 V/V als Elutionsmittel chromatographiert. Ausbeute: 279 mg. TLC: 0,75, Kieselsäuregel, Ethylacetat.



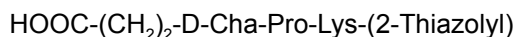
[0109] Die Entfernung der Schutzgruppen und die HPLC-Reinigung wurde analog dem in Beispiel 5 beschriebenen Verfahren durchgeführt.

Ausbeute: 40 mg und 29 mg (getrennte Diastereomere). R_f (LC): 30,06 Minuten und 34,87 Minuten (getrennte Diastereomere); 20% A/80% B bis 20% A/20% B/60% C in 40 Minuten.

Beispiel 10



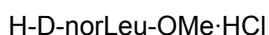
[0110] H-D-Cha-Pro-Lys(Cbz)-(2-Thiazolyl)-TFA (0,21 g) wurde in 5 ml Acetonitril gelöst. Als nächstes wurden 1,84 ml Acrylsäuretertiärer Butylester in drei Portionen zugegeben. Der pH der Lösung wurde mit Diisopropylethylamin auf 8 eingestellt und 13 Tage mit dieser Basizität bei Raumtemperatur gehalten. Die Reaktionsmischung wurde in vacuo konzentriert, in Ethylacetat gelöst, mit Wasser gewaschen, auf Magnesiumsulfat getrocknet und nochmals konzentriert. Der Rückstand wurde auf Kieselsäuregel unter Verwendung von Ethylacetat/Toluol 2/1 V/V als Elutionsmittel chromatographiert. Ausbeute: 92 mg. TLC: R_f = 0,62, Kieselsäuregel, Ethylacetat.



[0111] Die Entfernung der Schutzgruppen und die HPLC-Reinigung wurde analog dem in Beispiel 5 beschriebenen Verfahren durchgeführt. Ausbeute: 40 mg.

R_f (LC): 32,83 Minuten; 20% A/80% B bis 20% A/20% B/60% C in 40 Minuten.

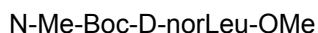
Beispiel 11 (vergleichend)



[0112] Zu 270 ml Methanol, die auf -15°C gekühlt wurden, wurden 18,2 g Thionylchlorid gegeben. Anschließend wurde die Temperatur auf -10°C erhöht, dann 20 Minuten konstant gehalten, wonach 10 g H-D-norLeu-OH zugegeben wurden. Die Temperatur wurde langsam erhöht und unter Rückfluss 5 Stunden konstant gehalten. Das Produkt wurde aus Methanol und Diethylether bei 4°C kristallisiert und dies lieferte 12,9 g. TLC: R_f = 0,61, Kieselsäuregel, n-Butanol/Essigsäure/Wasser 10/1/3 V/V/V.



[0113] H-D-norLeu-OMe-HCl wurde in 200 ml trockenem Methanol gelöst, gefolgt von der Zugabe von di-tert-Butyldicarbonat (15,5 g) und Triethylamin (19,8 ml). Die Reaktion wurde drei Stunden bei Raumtemperatur gerührt, wonach die Mischung in vacuo konzentriert wurde. Als nächstes wurde der Rückstand in Ethylacetat gelöst und mit Wasser gewaschen. Das Produkt wurde auf Kieselsäuregel unter Verwendung von Heptan/Ethylacetat 3/1 V/V chromatographiert. Ausbeute: 16,9 g. TLC: R_f = 0,55, Kieselsäuregel, Heptan/Ethylacetat 3/1 V/V.



[0114] Boc-D-norLeu-OMe (16,9 g) wurde unter einer Stickstoffatmosphäre in 200 ml trockenem Dimethylformamid gelöst. Als nächstes wurde Methyljodid (24,9 ml) zugegeben, auf 0°C gekühlt, Natriumhydrid (3,31 g) wurden zugegeben und die Mischung während 16 Stunden bei Raumtemperatur reagieren gelassen. Die

Mischung wurde in vacuo konzentriert, in Ethylacetat gelöst, mit verdünntem Chlorwasserstoff (0,1 N), Wasser, Natriumhydrogencarbonat (5%) und Wasser gewaschen, getrocknet und nochmals konzentriert. Dies ergab 18,8 g eines alkylierten Produkts. TLC: $R_f = 0,56$, Kieselsäuregel, Heptan/Ethylacetat 3/1 V/V.

N-Me-Boc-D-norLeu-OH

[0115] N-Me-Boc-D-norLeu-OMe (18 g) wurde in 400 ml Dioxan/Wasser 9/1 V/V gelöst und der pH der Lösung mit 1 N Natriumhydroxid auf 12 eingestellt. Die Reaktion wurde während 2 Stunden fortgesetzt, wobei der pH konstant gehalten wurde. Das Aufarbeitsverfahren schloss eine pH-Anpassung auf 2, Abkühlen auf Eis, Zugabe von zusätzlichem Wasser (400 ml) und eine Extraktion mit Dichlormethan ein. Die organische Phase wurde mit Lauge gewaschen, filtriert, getrocknet und in vacuo konzentriert. Dies ergab 18,9 g eines Produkts, das etwas Dioxan enthält. TLC: $R_f = 0,26$, Kieselsäuregel, Dichlormethan/Methanol 9/1 V/V.

N-Me-Boc-D-norLeu-Pro-OH

[0116] Ausgehend von N-Me-Boc-D-norLeu-OH wurde zunächst der N-Bernsteinsäureester hergestellt. 18 g dieses Derivats wurden in Acetonitril (250 ml) gelöst und dann EDCI (14,5 g) und N-Hydroxybernsteinsäureimid (HONSu) (8,7 g) zugegeben. Die Reaktion benötigte 16 Stunden bei Raumtemperatur, wonach das Lösungsmittel entfernt wurde, der Rückstand in Ethylacetat gelöst, mit Wasser gewaschen und getrocknet wurde. Dies ergab 24,3 g des rohen ONSu-Esters. Der nächste Schritt bestand in dem Lösen von Prolin·HCl (20,9 g) in 300 ml Dimethylformamid und 300 ml Wasser und der pH wurde mit 2 N Natriumhydroxid auf 8 eingestellt. Eine Lösung des ONSu-Esters (24,3 g in 300 ml Dimethylformamid) wurde dieser Lösung tropfenweise zugegeben, wobei der pH konstant gehalten wurde. Die Reaktion war nach 5 Stunden vollständig, wonach das organische Lösungsmittel weitestgehend durch Eindampfen unter reduziertem Druck entfernt wurde. Zusätzliches Wasser (300 ml) wurde zugegeben und der pH auf 2 eingestellt. Das Produkt wurde mit Ethylacetat extrahiert und mit Wasser gewaschen. Nach dem Trocknen, Filtrieren und Konzentrieren wurden 22,2 g des Produkts als ein gelbes Öl erhalten. Das Rohprodukt wurde auf Kieselsäuregel unter Verwendung von Ethylacetat/Methanol 8/2 V/V als Lösungsmittel chromatographiert. Ausbeute 13,2 g. TLC: $R_f = 0,65$, Kieselsäuregel, Ethylacetat/Pyridin/Essigsäure/Wasser = 163/20/6/ 11 V/V/V/V.

N-Me-D-norLeu-Pro-Lys-(2-Thiazolyl)

[0117] Die gemischte Anhydrid-Kopplung zwischen N-Me-Hoc-D-norLeu-Pro-OH und H-Lys(Cbz)-(2-Thiazolyl)-TFA, die Entfernung der Schutzgruppen und die Reinigung wurden gemäss den in Beispiel 5 beschriebenen Verfahren durchgeführt. Ausbeute: 107 mg.

R_t (LC): 23,22 Minuten, 20% A/80% B bis 20% A/20% B/60% C in 40 Minuten.

Beispiel 12

N-Me-D-Cha-Pro-Lys-(2-Thiazolyl)

[0118] Alle zu diesem Tripeptid führenden Schritte wurden auf gleiche Weise, wie in Beispiel 11 durchgeführt und beginnen mit Boc-D-Cha-OH. Ausbeute: 253 mg.

R_t (LC): 31,82 Minuten, 20% A/80% B bis 20% A/20% B/60% C in 40 Minuten.

Beispiel 13

N-Me-Boc-D-Phe-N-Cyclopentyl-Lys-(2-thiazolyl)

N-Me-Hoc-D-Phe-N-Cyclopentyl-Gly-OMe

[0119] N-Me-Boc-D-Phe-N-OH (hergestellt gemäss Beispiel 11) (26 g) und N-Cyclopentyl-Gly-OMe (21 g, siehe Beispiel 3) wurden in 300 ml Dimethylformamid gelöst. Als nächstes wurde TBTU (36 g) zugegeben und der pH mit Diisopropylethylamin (20 ml) auf 8 eingestellt. Die Reaktionsmischung wurde 16 Stunden gerührt und dann in vacuo konzentriert, in Ethylacetat gelöst, mit Natriumhydrogencarbonat (5 %) und Lauge gewaschen, auf Magnesiumsulfat getrocknet und nochmals in vacuo konzentriert. Ausbeute: 24,8 g. TLC: $R_f = 0,62$, Kieselsäuregel, Dichlormethan/Methanol 95/5 V/V.

N-Me-Boc-D-Phe-N-Cyclopentyl-Gly-OH

[0120] N-Me-Boc-D-Phe-N-Cyclopentyl-Gly-OMe (17,3 g) wurde in 130 ml Tetrahydrofuran/Wasser 135/15 V/V gelöst und 4 g Natriumhydroxid (in Wasser) wurden zugegeben. Nach 2 Stunden wurde die Reaktion gestoppt, in dem der pH auf 2 eingestellt wurde und das Produkt wurde mit Dichlormethan extrahiert. Nach dem Waschen mit Wasser, Trocknen auf Magnesiumsulfat, Konzentrieren in vacuo und Kristallisation aus Dichlormethan/Ethylether, ergab die Reaktion 13,1 g.

TLC: $R_f = 0,52$, Kieselsäuregel, Dichlormethan/Methanol 9/1 V/V.

N-Me-D-Phe-N-Cyclopentyl-Gly-Lys-(2-Thiazolyl)

[0121] Die nächsten Schritte wurden gemäss dem für Beispiel 11 beschriebenen Verfahren durchgeführt. Ausbeute: 110 mg.

R_f (LC): 33,43 Minuten, 20% A/80% B bis 20% A/20% B/60% C in 40 Minuten.

Beispiel 14

N-Me-D-Phe-Pro-Lys-(2-Thiazolyl)

[0122] N-Me-Boc-D-Phe-Pro-OH wurde gemäss der Beschreibung des Beispiels 1 hergestellt. Die gemischte Anhydrid-Kopplung an H-Lys(Cbz)-(2-Thiazolyl), die Entfernung der Schutzgruppen und die Reinigung wurden gemäss Beispiel 5 durchgeführt. Ausbeute: 148 mg.

R_f (LC): 27,22 Minuten, 20% A/80% B bis 20% A/20% B/60% C in 40 Minuten.

Beispiel 15

3,3-Diphenylpropionyl-Pro-Lys(ethoxycarbonyl)-(2-thiazol)

[0123] 3,3-Diphenylpropionyl-Pro-Lys-(2-thiazol) wurde wie in Beispiel 1 beschrieben, hergestellt. Eine Lösung aus 20 mg dieses Dipeptids in Dioxan/Wasser 4/1 (4 ml) wurde hergestellt und der pH mit 1 N Natriumhydroxid auf 12 eingestellt. Als nächstes wurden 22 mg Ethylchlorformiat zugegeben und die Lösung 2 Stunden bei Raumtemperatur gerührt. Die Mischung wurde mit Wasser verdünnt und mit Dichlormethan extrahiert, mit Wasser gewaschen, auf Magnesiumsulfat getrocknet, in vacuo konzentriert und schliesslich aus tert-Butanol/Wasser 1/1 V/V gefriergetrocknet. Ausbeute: 15 mg TLC: $R_f = 0,92$, Kieselsäuregel, Ethylacetat/Pyridin/Essigsäure/Wasser = 63/20/6/11 V/V/V/V.

Beispiel 16

HOOC-CH₂-D-Cha-Pro-Lys-(2-Oxazolyl)Boc-Lys(Cbz) ψ [CHOH]-(2-Oxazolyl)

[0124] Zu einer Lösung aus 0,975 g Boc-Lys(Cbz)-OMe in 25 ml Dichlormethan bei -78°C wurden unter einer Stickstoffatmosphäre 6 ml einer 1 M Diisobutylaluminiumhydridlösung in Hexan gegeben. Nach 15 Minuten war die Reaktion vollständig, die Reaktionsmischung wurde in 150 ml einer 2%-igen Citronensäurelösung gegeben und filtriert. Die organische Phase wurde abgetrennt, mit Wasser und Lauge gewaschen, getrocknet (Magnesiumsulfat) und konzentriert. Der Rückstand wurde mit Toluol ko-evaporiert und ergab 0,92 g Boc-Lys(Cbz)-H. Dieses Aldehyd (0,89 g) wurde in 1,4 ml Toluol und 0,90 g 2-(Trimethylsilyl)Oxazol (hergestellt gemäss Edwards, P. D., Wolanin, D. J. Andisik, D. W. und Davis W., J. Med. Chem. 38, 76 (1995) wurden zugegeben und auf 80°C erhitzt. Nach 60 Stunden wurde die Reaktionsmischung konzentriert, der Rückstand in 5 ml Tetrahydrofuran gelöst, mit 3 ml 3 M Tetrabutylammoniumfluorid in Tetrahydrofuran-Lösung behandelt und bei Raumtemperatur 2 Stunden gerührt. Die Mischung wurde konzentriert, in Ethylacetat gelöst, mit 3% wässriger Natriumhydrogencarbonat-Lösung und Lauge gewaschen, getrocknet (Magnesiumsulfat) und eingedampft. Reinigung mittels Säulenchromatographie auf Kieselsäuregel, mit einem Gradienten aus Ethylacetat/Dichlormethan = 2/1 (V/V) zu Ethylacetat lieferte ein Öl, das nochmals auf Kieselsäuregel chromatographiert und mit einem Gradienten aus Ethylacetat/Heptan = 1/1 V/V zu Ethylacetat/ Heptan = 1/3 V/V eluiert wurde; um 0,22 g de Titelkomponente zu ergeben.

TLC: $R_f = 0,7$, Kieselsäuregel, Ethylacetat.

Boc-Lys(Cbz)-(2-Oxazolyl)

[0125] Zu einer Lösung aus 0,22 g Boc-Lys(Cbz) ψ [CHOH]-(2-Oxazolyl) in 10 ml Dichlormethan wurden 0,22 g Periodan (Dess-Martin-Reagenz) zugegeben. Nach 1,5 Stunden Rühren bei Raumtemperatur wurden 10 ml wässriges 5%-iges Natriumthiosulfat zugegeben und die Mischung 15 Minuten bei Raumtemperatur gerührt. Die organische Phase wurde abgetrennt, mit Wasser, wässrigem, 5%-igem Natriumhydrogencarbonat und Lauge gewaschen, über Magnesiumsulfat getrocknet und konzentriert. Die Reinigung mittels Kieselsäuregel-Chromatographie, wobei mit Heptan/Ethylacetat = 1/1 (V/V) eluiert wurde, ergab 162 mg der Titelverbindung. TLC: R_f = 0,5, Kieselsäuregel, Heptan/Ethylacetat = 1/3 (V/V).

(tBuOOCCH₂)(Boc)-D-Cha-Pro-Lys(Cbz)-(2-oxazolyl)

[0126] Das für das Beispiel 5 beschriebene Verfahren wurde angewendet. Entfernung der Schutzgruppen von 0,16 g Boc-Lys(Cbz)-(2-Oxazolyl) und Koppeln mit 0,19 g (tBuOOCCH₂)(Boc)-D-Cha-Pro-OH ergab 0,19 g (tBuOOCCH₂)(Boc)-D-Cha-Pro-Lys(Cbz)-(2-oxazolyl).

TLC: R_f = 0,3, Kieselsäuregel, Heptan/Ethylacetat = 1/3 (V/V).

HOOCCH₂-D-Cha-Pro-Lys-(2-oxazolyl)

[0127] Das für das Beispiel 5 beschriebene Verfahren wurde angewendet. 0,19 g (tBuOOCCH₂)(Boc)-D-Cha-Pro-Lys(Cbz)-(2-oxazolyl) lieferte 52 mg der Titelkomponente.

R_f (LC): 28,46 Minuten, 20% A/80% B bis 20% A/20%B/6%C in 40 Minuten.

Beispiel 17 (vergleichend)

EthylSO₂-norLeu(cyclo)Gly-Lys-(2-thiazolyl)Boc-L-a-Amino- α -caprolactam

[0128] Zu einer gerührten Lösung aus L- α -Amino- ϵ -caprolactam (10 g) in Dioxan/Wasser (2/1 V/V) (30 ml) wurde eine 1 N Natriumhydroxid-Lösung (7,8 ml) gefolgt von di-t-Butylcarbonat (18,8 g) gegeben. Die Mischung wurde 16 Stunden bei Raumtemperatur gerührt und in vacuo konzentriert. Der Rückstand wurde in Diethylacetat gelöst und mit Wasser und Lauge gewaschen, über Natriumsulfat getrocknet, filtriert und in vacuo konzentriert. Das Rohmaterial wurde mit Hexan zermahlen, filtriert und in vacuo getrocknet, um Boc-L- α -Amino- ϵ -caprolactam (16 g) zu erhalten.

TLC: R_f = 0,85, Ethylacetat/Heptan = 1/1 (V/V) auf Kieselsäuregel.

Boc-norLeu(Cyclo)Gly-OMe

[0129] Boc-L- α -Amino- ϵ -caprolactam (10 g) wurde in Dichlormethan (100 ml) gelöst. Bei -20°C wurde eine 1 M Lösung aus bis(trimethylsilyl)amid langsam zugegeben und die Mischung 30 Minuten gerührt. Anschließend wurde Methylbromacetat (4 ml) zugegeben und die Mischung 2 Stunden bei Raumtemperatur gerührt. Zusätzliches bis(trimethylsilyl)amid in THF/Cyclohexan (1/1 V/V) wurde zugegeben, um die Reaktion zu Ende zu bringen. Die Mischung wurde mit Dichlormethan verdünnt und mit 0,1 N Salzsäure-Lösung, Wasser, 5% wässriger Natriumhydrogencarbonat-Lösung und Lauge gewaschen, über Natriumsulfat getrocknet, filtriert und in vacuo eingedampft. Der Rückstand wurde mittels Kieselsäuregel-Chromatographie gereinigt (Elutionsmittel: Heptan/Ethylacetat 6/4 V/V) und ergab Boc-norLeu(Cyclo)Gly-OMe (12 g).

TLC: R_f = 0,55, Ethylacetat/Heptan = 6/4 (V/V) auf Kieselsäuregel.

EthylSO₂-norLeu(cyclo)Gly-OMe

[0130] Boc-norLeu(Cyclo)Gly-OMe (3 g) wurde in 50% TFA/Dichlormethan (30 ml) gelöst und 1 Stunde bei Raumtemperatur gerührt. Die Reaktionsmischung wurde in vacuo eingedampft. Das rohe Amin wurde in Dichlormethan (30 ml) gelöst und eine Lösung aus Ethansulphonylchlorid (1,29 g) in Dichlormethan (10 ml) wurde langsam bei 0°C zugegeben. Triethylamin wurde zugegeben, um den pH während der Reaktion auf 8 zu halten. Die Mischung wurde 1 Stunde bei Raumtemperatur gerührt, wonach sie in vacuo konzentriert wurde. Der Rückstand wurde in Ethylacetat gelöst und mit einer 5%-igen Natriumhydrogencarbonat-Lösung, Wasser und Lauge gewaschen, über Natriumsulfat getrocknet, filtriert und in vacuo evaporiert. Der Rückstand wurde mittels Kieselsäuregel-Chromatographie gereinigt (Elutionsmittel: Dichlormethan/ Ethylacetat 95/5 V/V) und ergab EthylSO₂-norLeu(cyclo)Gly-OMe (1,45 g). TLC: R_f = 0,30, Dichlormethan/Ethylacetat = 9/1 (V/V) auf Kie-

selsäuregel.

EthylSO₂-norLeu(cyclo)Gly-OH

[0131] Eine Lösung aus EthylSO₂-norLeu(cyclo)Gly-OMe (1,45 g) in 50 ml Dioxan/Wasser 9/9 V/V wurde mit so viel 1 N Natriumhydroxid behandelt, so dass der pH während 2 Stunden bei Raumtemperatur bei 13 blieb. Nach der Ansäuerung wurde die Mischung in Wasser gegossen und mit Dichlormethan extrahiert. Die organische Phase wurde mit Wasser gewaschen und auf Natriumsulfat getrocknet. Das Filtrat wurde eingedampft und lieferte 600 mg der Titelkomponente.

TLC: R_f = 0,45, Ethylacetat/Pyridin/Essigsäure/Wasser = 63/20/6/11 (V/V/V/V) auf Kieselsäure.

EthylSO₂-norLeu(cyclo)Gly-Lys(Cbz)-(2-thiazolyl)

[0132] EthylSO₂-norLeu(cyclo)Gly-OH (482 mg) wurde in trockenem Dimethylformamid (5 ml) gelöst. Nach Zugabe von Ethyldiisopropylamin (0,36 ml) wurde die Reaktionsmischung unter eine Stickstoffatmosphäre gebracht und auf -20°C abgekühlt. Anschliessend wurde Isobutylchlorformat (140 ml) zugegeben und die Lösung 15 Minuten bei -20°C gerührt. H-Lys(Cbz)-(2-thiazolyl). TFA wurde in trockenem Dimethylformamid (3 ml) gelöst und tropfenweise zu der kalten gemischten Anhydrid-Lösung gegeben, wobei der pH durch Zugabe von Ethyldiisopropylamin auf 8,5 gehalten wurde. Die Reaktionsmischung wurde 15 Minuten bei -20°C gerührt. Die Reaktionsmischung wurde bis zur Trockne eingedampft. Der Rückstand wurde in Ethylacetat gelöst und nacheinander mit 5%-iger wässriger Natriumhydrogencarbonat-Lösung, Wasser und Lauge gewaschen, über Natriumsulfat getrocknet und in vacuo konzentriert. Der Rückstand wurde mittels Kieselsäuregel-Chromatographie (Elutionsmittel : Dichlormethan/Methanol = 95/5 V/V) gereinigt und ergab EthylSO₂-norLeu(cyclo)Gly-Lys(Cbz)-(2-thiazolyl) (607 mg).

TLC: R_f = 0,63, Ethylacetat/Pyridin/Essigsäure/Wasser = 60/3/1/2 (V/V/V/V) auf Kieselsäure.

EthylSO₂-norLeu(cyclo)Gly-Lys-(2-thiazolyl).

[0133] EthylSO₂-norLeu(cyclo)Gly-Lys(Cbz)-(2-thiazolyl) (600 mg) wurde mit Trifluoressigsäure/Thioanisol 10/1 V/V (10 ml) 4 Stunden bei Raumtemperatur behandelt. Die Reaktionsmischung wurde in vacuo konzentriert, ko-evaporiert mit verdünnter Salzsäure und aus Wasser lyophilisiert. Das Rohprodukt wurde auf eine präparative HPLC Deltapack C18 RP-Säule unter Anwendung eines Gradientenelutionssystems von 20%A/80% H bis 20% A/40% B/40% C während 40 Minuten mit einer Durchflussrate 50 ml/min geladen. Ausbeute: 233 mg EthylSO₂-norLeu(cyclo)Gly-Lys-(2-thiazolyl).

R_t (LC): 26,73 Minuten, 20% A/80% B bis 20% A/20% B/60% C in 40 Minuten.

Beispiel 18 (vergleichend)

BenzylSO₂-norLeu(cyclo)Gly-Lys-(2-thiazolyl)

[0134] Diese Verbindung wurde auf gleiche Weise wie in Beispiel 17 beschrieben, hergestellt.

R_t (LC): 37,05 Minuten, 20% A/80% B bis 20% A/20% B/60% C in 40 Minuten.

Beispiel 19 (vergleichend)

7-Methoxy-2-naphthylsulphonyl-norLeu(cyclo)Gly-Lys-(2-thiazolyl)

[0135] Diese Verbindung wurde auf gleiche Weise wie in Beispiel 17 beschrieben, hergestellt.

R_t (LC): 26,40 Minuten, 20% A/60% B/20% C bis 100% C in 40 Minuten.

Beispiel 20 (vergleichend)

(4a,8aR)-Perhydroisoquinolin-1(R)-carbonyl-Pro-Lys-(2-thiazolyl)

2-Cbz-(4a,8aR)-Perhydroisoquinolin-1(R,S)-carboxylsäure

[0136] 2-Cbz-(4a,8aR)-Perhydroisoquinolin-1(R,S)-carboxylsäure wurde wie in der EP 064073, Beispiel 1 beschrieben, hergestellt.

TLC: R_f = 0,85, Ethylacetat/Pyridin/Essigsäure/Wasser = 63/20/6/11 (V/V/V/V) auf Kieselsäure.

2-Cbz-(4a,8aR)-Perhydroisoquinolin-1(R,S)-carbonyl-Pro-O-tBu

[0137] Zu einer kalten Lösung (0°C) aus 2-Cbz-(4a,8aR)-Perhydroisoquinolin-1(R,S)-carboxylsäure (500 mg) in Dimethylformamid (5 ml) wurde nacheinander DCCI (1,3-Dicyclohexylcarbodiimid; 342 mg), HOBT (1-Hydroxybenzotriazolhydrat; 319 mg), H-Pro-OtBu (270 mg) und Triethylamin (0,55 ml) zugegeben. Die Reaktionsmischung wurde 1 Stunde bei 0°C gerührt und dann über Nacht bei Raumtemperatur gehalten. Die Reaktionsmischung wurde auf -20°C abgekühlt und das DCU (1,3-Dicyclohexylharnstoff) wurde mittels Filtration entfernt. Das Filtrat wurde in vacuo konzentriert und der Rückstand in Ethylacetat gelöst. Diese Lösung wurde nacheinander mit 5%-iger wässriger Hydrogencarbonat-Lösung, 3%-iger wässriger Citronensäure-Lösung, Wasser und Lauge gewaschen, über Natriumsulfat getrocknet und in vacuo konzentriert. Der Rückstand wurde mittels Kieselsäuregel-Chromatographie gereinigt (Elutionsmittel: Heptan/Ethylacetat 4/1 V/V), um 2-Cbz-(4aR,8aR)-Perhydroisoquinolin-1(R,S)-carbonyl-Pro-O-tBu (634 mg) zu ergeben.
TLC: $R_f = 0,90$, Ethylacetat/Pyridin/Essigsäure/Wasser = 63/20/6/11 (V/V/V/V) auf Kieselsäure.

2-Cbz-(4a,8aR)-Perhydroisoquinolin-1(R,S)-carbonyl-Pro-OH

[0138] 2-Cbz-(4a,8aR)-Perhydroisoquinolin-1(R,S)-carbonyl-Pro-O-t-Butylester (600 mg) wurde in einer Mischung aus Dichlormethan (1 ml), Trifluoressigsäure (3 ml), Anisol (0,15 ml) 1 Stunde bei Raumtemperatur gerührt. Die Reaktionsmischung wurde in vacuo bei niedriger Temperatur konzentriert und der Rückstand in Wasser bei einem pH von 9,5 gelöst. Die wässrige Phase wurde mit Diethylether gewaschen, wonach die wässrige Phase mit 2 M Salzsäurelösung auf einen pH von 2,5 angesäuert wurde. Die wässrige Schicht wurde mit Ethylacetat extrahiert und die organische Phase mit Lauge gewaschen, über Natriumsulfat getrocknet und in vacuo konzentriert, um 2-Cbz-(4a,8aR)-Perhydroisoquinolin-1(R,S)-carbonyl-Pro-OH (588 mg) zu ergeben.
TLC: $R_f = 0,54$, Ethylacetat/Pyridin/Essigsäure/Wasser = 60/3/1/2 (V/V/V/V) auf Kieselsäure.

2-Cbz-(4a,8aR)-Perhydroisoquinolin-1(R,S)-carbonyl-Pro-Lys(Cbz)-(2-thiazolyl)

[0139] 2-Cbz-(4a,8aR)-Perhydroisoquinolin-1(R,S)-carbonyl-Pro-OH (500 mg) wurde in trockenem Dimethylformamid (5 ml) gelöst. Nach Zugabe von Ethyldiisopropylamin (0,41 ml) wurde die Reaktionsmischung unter eine Stickstoffatmosphäre gebracht und auf -20°C abgekühlt. Danach wurde Isobutylchlorformat (156 ml) zugegeben und die Mischung 15 Minuten bei -15°C gerührt. H-Lys(Cbz)-(2-thiazolyl)-TFA (594 mg) wurde in trockenem Dimethylformamid (3 ml) gelöst und der kalten gemischten Anhydrid-Lösung tropfenweise zugegeben, wobei der pH auf 8,5 durch tropfenweise Zugabe von Ethyldiisopropylamin auf 8,5 gehalten wurde. Die Reaktionsmischung wurde 15 Minuten bei -20°C gerührt. Die Reaktionsmischung wurde bis zur Trockne eingedampft. Der Rückstand wurde in Ethylacetat gelöst und nacheinander mit 5% wässriger Natriumhydrogencarbonat-Lösung, Wasser und Lauge gewaschen, über Natriumsulfat getrocknet und in vacuo konzentriert. Der Rückstand wurde mittels Kieselsäuregel-Chromatographie gereinigt (Elutionsmittel: Dichlormethan/ Methanol = 95/5 V/V%, um 2-Cbz-(4a,8aR)-Perhydroisoquinolin-1(R,S)-carbonyl-Pro-Lys(Cbz)-(2-thiazolyl) (880 mg) zu ergeben.
TLC: $R_f = 0,42$, Ethylacetat/Heptan = 3/1 (V/V) auf Kieselsäure.

(4aR,8aR)-Perhydroisoquinolin-1(R)-carbonyl-Pro-Lys-(2-thiazolyl)

[0140] (4aR,8aR)-Perhydroisoquinolin-1(R,S)-carbonyl-Pro-Lys-(2-thiazolyl) (875 mg) wurde 4 Stunden bei Raumtemperatur mit Trifluoressigsäure/Thioanisol 10/1 V/V (10 ml) behandelt. Die Reaktionsmischung wurde in vacuo konzentriert und der Rückstand in Wasser gelöst. Die wässrige Phase wurde gründlich mit Diethylether gewaschen. Die wässrige Schicht wurde in vacuo konzentriert, mit verdünnter Salzsäure ko-evaporiert und aus Wasser lyophilisiert. Das Rohprodukt wurde auf eine präparative HPLC Deltapack C18 RP-Säule unter Anwendung eines Gradientenelutionssystems von 20% A/80% B bis 20% A/53% B/27% C während 40 Minuten mit einer Durchflussrate von 50 ml/Minute geladen. Ausbeute: 211 mg (4aR,8aR)-Perhydroisoquinolin-1(R)-Pro-Lys-(2-thiazolyl).
 R_t (LC): 28 Minuten, 20% A/80% B bis 20% A/20% B/60% C in 40 Minuten.

Beispiel 21

EthylSO₂-D-Cha-Pro-Lys-(thiazolyl)

Boc-D-Cha-Pro-OBzl (Bzl = Benzyl)

[0141] Boc-D-Cha-Pro-OBzl wurde auf gleiche Weise wie in Beispiel 1 beschrieben unter Verwendung von

Boc-D-Cha und Pro-OBzl hergestellt.

TLC: $R_f = 0,5$, Dichlormethan/Methanol = 95/5 (V/V) auf Kieselsäure.

EthylSO₂-D-Cha-Pro-OBzl

[0142] Boc-D-Cha-Pro-OBzl (3,8 g) wurde in 50% TFA/Dichlormethan (25 ml) gelöst und 30 Minuten bei Raumtemperatur gerührt. Die Reaktionsmischung wurde in vacuo eingedampft. Das rohe Amin wurde in Dichlormethan (50 ml) gelöst und Ethansulphonylchlorid (0,8 ml) wurde bei -78°C zugegeben. Triethylamin wurde zugegeben, um den pH während der Reaktion auf 8 zu halten. Die Mischung wurde 3 Stunden bei 0°C gerührt, wonach Wasser (25 ml) zugegeben wurde. Nach weiterem 30-minütigem Rühren bei Raumtemperatur wurde die Reaktionsmischung in vacuo konzentriert. Der Rückstand wurde in Diethylether gelöst und mit 1 N Salzsäure-Lösung, Wasser, 5%-iger Natriumhydrogencarbonat-Lösung und Lauge gewaschen, über Natriumsulfat getrocknet, filtriert und in vacuo eingedampft. Pulverisierung des Rohmaterials mit Methanol ergab EthylSO₂-D-Cha-Pro-OBzl (3,0 g).

TLC: $R_f = 0,6$, Dichlormethan/Methanol = 95/5(V/V) auf Kieselsäure.

EthylSO₂-D-Cha-Pro-OH

[0143] Zu einer Lösung aus EthylSO₂-D-Cha-Pro-OH (10 g) in Tetrahydrofuran (250 ml) wurde eine 1 M Lösung aus Tetrabutylammoniumfluorid in Tetrahydrofuran (84 ml) gegeben. Die Reaktionsmischung wurde 30 Minuten bei Raumtemperatur gerührt und in Wasser (1 l) gegossen (1 l). Die wässrige Lösung wurde mit Ethylacetat extrahiert. Die vereinten organischen Phasen wurden nacheinander mit 1 N Salzsäure-Lösung und Wasser gewaschen, über Natriumsulfat getrocknet und, in vacuo konzentriert. Der Rückstand wurde durch Kristallisation aus Ethylacetat/Diisopropylether gereinigt und ergab EthylSO₂-D-Cha-Pro-OH (6,0 g).

TLC: $R_f = 0,2$, Ethylacetat/Pyridin/Essigsäure/Wasser 163/20/6/11 (V/V/V/V) auf Kieselsäure.

EthylSO₂-D-Cha-Pro-Lys(Cbz)-(2-thiazolyl)

[0144] EthylSO₂-D-Cha-Pro-OH (397 mg) wurde in trockenem Dimethylformamid (3 ml) gelöst. Nach der Zugabe von Diisopropylamin (0,19 ml) wurde die Reaktionsmischung unter eine Stickstoffatmosphäre gebracht und auf -20°C abgekühlt. Anschliessend wurde Isobutylchlorformat (130 ml) zugegeben und die Mischung 15 Minuten bei -20°C gerührt. H-Lys(Cbz)-(2-thiazolyl)-TFA wurde in Dimethylformamid (3 ml) gelöst und der kalten gemischten Anhydrid-Lösung tropfenweise zugegeben, wobei der pH auf 8,5 durch Zugabe von Ethyldiisopropylamin gehalten wurde. Die Reaktionsmischung wurde 15 Minuten bei -20°C und 1 Stunde bei Raumtemperatur gerührt. Die Reaktionsmischung wurde bis zur Trockne eingedampft. Der Rückstand wurde in Ethylacetat gelöst und nacheinander mit 5% wässriger Natriumhydrogencarbonat-Lösung, Wasser und Lauge gewaschen, über Natriumsulfat getrocknet und in vacuo konzentriert. Der Rückstand wurde mittels Kieselsäure-gel-Chromatographie gereinigt (Elutionsmittel:

Ethylacetat/Heptan 2/1 V/V) und ergab EthylSO₂-D-Cha-Pro-Lys(Cbz)-(2-thiazolyl) (575 mg).

TLC: $R_f = 0,32$, Ethylacetat/ Heptan = 2/1 (V/V) auf Kieselsäure.

EthylSO₂-D-Cha-Pro-Lys-(2-thiazolyl)

[0145] EthylSO₂-D-Cha-Pro-Lys(Cbz)-(2-thiazolyl) (570 mg) wurde mit Trifluoressigsäure/Thioanisol 10/1 V/V (44 ml) 4 Stunden bei Raumtemperatur behandelt. Die Reaktionsmischung wurde in vacuo konzentriert und der Rückstand in Wasser gelöst. Die wässrige Phase wurde gründlich mit Diethylether gewaschen. Die wässrige Schicht wurde in vacuo konzentriert, mit verdünnter Salzsäure ko-evaporiert und aus Wasser lyophilisiert. Das Rophprodukt wurde auf eine präparative HPLC Deltapack C18 RP-Säule unter Anwendung eines Gradientenelutionssystems von 20% A/80% B bis 20% A/30% B/50% C während 40 Minuten bei einer Durchflussrate von 80 ml/Minute geladen. Ausbeute: 275 mg EthylSO₂-D-Cha-Pro-Lys-(2-thiazolyl).

R_t (LC): 26,06 Minuten, 20% A/60% B/20% C 100% C in 40 Minuten.

Beispiel 22

EthylSO₂-D-Phe-Pro-Lys-(2-thiazolyl)

Boc-D-Phe-Pro-OBzl

[0146] Diese Verbindung wurde auf gleiche Weise wie in Beispiel 21 beschrieben unter Verwendung von Boc-D-Phe und Pro-OBzl hergestellt.

TLC: $R_f = 0,9$, Ethylacetat/Pyridin/Essigsäure/Wasser 60/3/1/2 (V/V/V/V) auf Kieselsäure.

EthylSO₂-D-Phe-Pro-OBzl

[0147] Diese Verbindung wurde auf gleiche Weise wie in Beispiel 21 beschrieben unter Verwendung von Boc-D-Phe-Pro-OBzl hergestellt.

TLC: $R_f = 0,48$, Ethylacetat/Pyridin/Essigsäure/Wasser 160/20/6/11 (V/V/V/V) auf Kieselsäure.

EthylSO₂-D-Phe-Pro-Lys-(Cbz)-(2-thiazolyl)

[0148] EthylSO₂-D-Phe-Pro-Lys-(Cbz)-(2-thiazolyl) wurde auf gleiche Weise wie in Beispiel 21 beschrieben unter Verwendung von EthylSO₂-D-Phe-Pro-OH und Lys(Cbz)-(2-thiazolyl) hergestellt.

TLC: $R_f = 0,32$, Ethylacetat/Heptan 8/2 (V/V) auf Kieselsäure.

EthylSO₂-D-Phe-Pro-Lys-(2-thiazolyl)

[0149] EthylSO₂-D-Phe-Pro-Lys-(Cbz)-(2-thiazolyl) (336 mg) wurde mit Trifluoressigsäure/Thioanisol 10/1 V/V (44 ml) 4 Stunden bei Raumtemperatur behandelt. Die Reaktionsmischung wurde in vacuo konzentriert und der Rückstand in Wasser gelöst. Die wässrige Schicht wurde gründlich mit Diethylether gewaschen. Die wässrige Schicht wurde in vacuo konzentriert, mit verdünnter Salzsäure ko-evaporiert und aus Wasser lyophilisiert. Das Rophprodukt wurde auf eine präparative HPLC Deltapack C18 RP-Säule unter Anwendung eines Gradientenelutionssystems von 20% A/65% B/15% C bis 20% A/30% B/50% C während 40 Minuten bei einer Durchflussrate von 50 ml/Minute geladen. Ausbeute: 160 mg EthylSO₂-D-Phe-Pro-Lys-(2-thiazolyl).

R_t (LC): 39,47 Minuten, 20% A/80% B bis 20% A/20% B 60% C in 40 Minuten.

Beispiel 23 (vergleichend)

D-Hpl-Pro-Lys-(2-thiazolyl) (Hpl = 3-Hexahydrophenylmilchsäure)

H-D-Hpl-OMe

[0150] H-D-Cha-OH (1,0 g) wurde in einer Mischung aus 1 N Salzsäure (4,8 ml), Wasser (19,4 ml) und Essigsäure (9,7 ml) gelöst. Bei 0°C wurde eine Lösung aus Natriumnitrit (3,4 g) in Wasser (5,8 ml) langsam zugegeben und die Mischung über Nacht bei Raumtemperatur gerührt. Anschliessend wurde 37% Salzsäure (4,8 ml) zugegeben und die Mischung 15 Minuten bei Raumtemperatur gerührt. Die Reaktionsmischung wurde eingedampft und der Rückstand in Ether/Aceton gelöst. Nach dem Filtrieren wurde die Lösung in vacuo konzentriert und das Rohmaterial 18 Stunden in Methanol (25 ml) gerührt. Der pH war 1,5. Die Reaktionsmischung wurde bis zur Trockne eingedampft und der Rückstand mittels Kieselsäuregel-Chromatographie gereinigt (Elutionsmittel: Toluol/Methanol 97/3 V/V) und ergab H-D-Hpl-OMe (612 mg).

TLC: $R_f = 0,9$, Ethylacetat/Pyridin/Essigsäure/Wasser 163/20/6/11 (V/V/V/V) auf Kieselsäure.

THP-D-Hpl-OMe (THP = Tetrahydropyran)

[0151] Zu einer gerührten Lösung aus H-D-Hpl-OMe (450 mg) in Dichlormethan (2 ml) wurde nacheinander 3,4-Dihydro-2H-pyran (0,285 ml) und Pyridinium-p-toluolsulfonat (60 mg) zugegeben. Die Mischung wurde 6 Stunden bei Raumtemperatur gerührt und mit Ether verdünnt. Diese Mischung wurde mit Lauge gewaschen, über Natriumsulfat getrocknet, filtriert und in vacuo eingedampft. Das Rohmaterial wurde mittels Kieselsäuregel-Chromatographie gereinigt (Elutionsmittel: Ethylacetat/Heptan 1/4 V/V) und ergab THP-D-Hpl-OMe (498 mg).

TLC: $R_f = 0,64$, Ethylacetat/Heptan 1/2 (V/V) auf Kieselsäure.

THP-D-Hpl-OH

[0152] Eine Lösung aus THP-D-Hpl-OMe (10,3 g) in Dioxan/Wasser 9/1 (200 ml) wurde mit ausreichend 1 N Natriumhydroxid behandelt, um den pH während 18 Stunden bei Raumtemperatur auf 12 zu halten. Nach der Ansäuerung wurde die Mischung in Wasser (500 ml) gegossen und mit Dichlormethan extrahiert. Die organische Schicht wurde mit Wasser gewaschen und auf Natriumsulfat getrocknet. Das Filtrat wurde eingedampft und lieferte 6,6 g der Titelkomponente.

TLC: $R_f = 0,78$, Ethylacetat/Pyridin/Essigsäure/Wasser 163/20/6/11 (V/V/V/V) auf Kieselsäure.

THP-D-Hpl-Pro-OH

[0153] Zu einer Lösung aus THP-D-Hpl-OH (5,87 g) in Acetonitril (75 ml) wurde nacheinander EDCI (1-(3-Dimethylaminopropyl)-3-ethylcarbodiimidchlorhydrat) (4,84 g) N-Hydroxybernsteinsäureimid (2,9 g) gegeben. Die Reaktionsmischung wurde 16 Stunden bei Raumtemperatur gerührt. Die Mischung wurde in vacuo konzentriert und der Rückstand in Ethylacetat gelöst. Diese Lösung wurde mit Wasser und Lauge gewaschen, über Natriumsulfat getrocknet und in vacuo konzentriert. Das Rohmaterial wurde in Dimethylformamid (100 ml) gelöst und einer Lösung aus Prolin-HCl (6,99 g) in Dimethylformamid/Wasser, 1/1, V/V (200 ml) zugegeben, die mit Natriumhydroxid auf einen pH von 8,5 eingestellt wurde. Nachdem über Nacht gerührt wurde, wurde die Reaktionsmischung in vacuo konzentriert und der Rückstand in Wasser gelöst. Diese wässrige Lösung wurde bei 0°C auf einen pH von 2,5 eingestellt, gefolgt von einer Extraktion mit Ethylacetat. Die vereinten organischen Schichten wurden nacheinander mit Wasser und Lauge gewaschen, über Natriumsulfat getrocknet und in vacuo konzentriert. Das Rohmaterial wurde mittel Kieselsäuregel-Chromatographie gereinigt (Elutionsmittel: Ethylacetat/Methanol 8/2 V/V%) und ergab THP-D-Hpl-Pro-OH (6,75 g). TLC: $R_f = 0,52$, Ethylacetat/Pyridin/Essigsäure/Wasser 163/20/6/11 (V/V/V/V) auf Kieselsäure.

THP-D-Hpl-Pro-Lys(Cbz)-(2-thiazolyl)

[0154] THP-D-Hpl-Pro-OH (390 mg) wurde in trockenem Dimethylformamid (5 ml) gelöst. Nach Zugabe von Ethyl-diisopropylamin (0,19 ml) wurde die Reaktionsmischung unter eine Stickstoffatmosphäre gebracht und auf -20°C abgekühlt. Anschliessend wurde Isobutylchlorformat (130 ml) zugegeben und die Mischung 15 Minuten bei -20°C gerührt. H-Lys(Cbz)-(2-thiazolyl)-TFA (1,05 eq.) wurde in trockenem Dimethylformamid (5 ml) gelöst und der kalten gemischten Anhydrid-Lösung tropfenweise zugegeben, wobei der pH auf 8,5 durch Zugabe von Ethyl-diisopropylamin gehalten wurde. Die Reaktionsmischung wurde 15 Minuten bei -20°C und 2,5 Stunden bei Raumtemperatur gerührt. Die Reaktionsmischung wurde bis zur Trockne eingedampft. Der Rückstand wurde in Ethylacetat gelöst und nacheinander mit 5% wässriger Natriumhydrogencarbonat-Lösung, Wasser und Lauge gewaschen, über Natriumsulfat getrocknet und in vacuo konzentriert. Der Rückstand wurde mittels Kieselsäuregel-Chromatographie gereinigt (Elutionsmittel: Ethylacetat/Heptan 2/1 V/V) und ergab THP-D-Hpl-Pro-Lys(Cbz)-(2-thiazolyl) (479 mg). TLC: $R_f = 0,32$, Ethylacetat/Heptan = 2/1 (V/V) auf Kieselsäure.

D-Hpl-Pro-Lys-(2-thiazolyl)

[0155] THP-D-Hpl-Pro-Lys(Cbz)-(2-thiazolyl) (470 mg) wurde mit Trifluoressigsäure/Thioanisol 10/1 V/V (38,5 ml) 4 Stunden bei Raumtemperatur behandelt. Die Reaktionsmischung wurde in vacuo konzentriert und der Rückstand in Wasser gelöst. Die wässrige Schicht wurde gründlich mit Diethylether gewaschen. Die wässrige Schicht wurde in vacuo konzentriert, mit verdünnter Salzsäure ko-evaporiert und aus Wasser lyophilisiert. Das Rophprodukt wurde auf eine präparative HPLC Deltapack C18 RP-Säule unter Anwendung eines Gradientenelutionssystems von 20% A/65% B/15% C bis 20% A/20% B/60% C während 40 Minuten mit einer Durchflussrate von 50 ml/Minute geladen. Ausbeute: 75 mg D-Hpl-Pro-Lys-(2-thiazolyl).
[0156] R_f (LC): 40,00 Minuten, 20% A/80% B bis 20% A/20% B 8 60% C in 40 Minuten.

Beispiel 24

HOOC-CH₂-D-Phe-Pro-Lys-(2-thiazolyl)

H-D-Phe-OMe-HCl

[0157] Zu kaltem (-20°C) und trockenem Methanol (1 l) wurde tropfenweise Thionylchlorid (130 ml) zugegeben. H-D-Phe-OH-HCl (147,6 g) wurde zugegeben und die Reaktionsmischung wurde 30 Minuten unter Rückfluss erhitzt und dann bei über Nacht bei Raumtemperatur gehalten. Die Reaktionsmischung wurde in vacuo konzentriert und mit Methanol ko-evaporiert (3 mal). Der Rückstand wurde aus Methanol/Diethylether kristallisiert und ergab H-D-Phe-OMe-HCl als ein weisses kristallines Pulver (187,4 g). TLC: $R_f = 0,54$, Kieselsäuregel, n-Butanol/Essigsäure/Wasser 10/1/3 V/V.

N-(t-Butyloxycarbonylmethyl)-D-Phe-OMe

[0158] t-Butylbromacetat (65 ml) wurde einer gerührten Lösung aus H-D-Phe-OMe-HCl (65,2 g) in 400 ml Acetonitril zugegeben. Der pH der Mischung wurde mit N,N-Diisopropylethylamin auf 8,5 eingestellt. Die Mischung wurde 16 Stunden bei Raumtemperatur gerührt und in vacuo eingedampft. Der Rückstand wurde in

Dichlormethan gelöst und die Lösung mit Wasser gewaschen, über Natriumsulfat getrocknet und in vacuo eingedampft. Kieselsäuregel-Chromatographie in Heptan/Ethylacetat 9/1 (V/V) ergab 94,4 g N-(t-Butyloxycarbonylmethyl)-D-Phe-OMe. TLC: $R_f = 0,90$, Kieselsäuregel, Ethylacetat/Pyridin/Essigsäure/Wasser 376/31/18/7 V/V/V/V.

N-(t-Butyloxycarbonylmethyl)-N-Boc-D-Phe-OMe

[0159] Der pH einer Lösung aus N-(t-Butyloxycarbonylmethyl)-D-Phe-OMe (96,4 g) und di-t-Butyldicarbonat (72,2 g) in N,N-Dimethylformamid (400 ml) wurde mit N,N-Diisopropylethylamin auf 8,5 eingestellt. Die Mischung wurde 48 Stunden bei Raumtemperatur gerührt. Das Lösungsmittel wurde in vacuo entfernt. Zu dem Rückstand wurde Dichlormethan und Wasser gegeben. Die organische Schicht wurde abgetrennt, mit kaltem 1 N Chlorwasserstoff, Wasser, gesättigter Natriumhydrogencarbonat-Lösung und Wasser gewaschen. Die organische Schicht wurde über Natriumsulfat getrocknet und das Filtrat eingedampft. Der Rückstand wurde auf Kieselsäuregel in Toluol/Ethylacetat 9/1 (V/V) als Elutionsmittel chromatographiert. Diejenigen Fraktionen, die N-(t-Butyloxycarbonylmethyl)-N-Boc-D-Phe-OMe enthielten, wurden gepoolt und eingedampft. Ausbeute: 115,3 g. TLC: $R_f = 0,77$, Kieselsäuregel, Toluol/Ethylacetat 9/1 V/V.

N-(t-Butyloxycarbonylmethyl)-N-Boc-D-Phe-OH

[0160] Eine Lösung aus N-(t-Butyloxycarbonylmethyl)-N-Boc-D-Phe-OMe (115,3 g) in 800 ml Dioxan/Wasser = 9/1 (V/V) wurde mit ausreichend 2 N Natriumhydroxid behandelt, um den pH 16 Stunden bei Raumtemperatur auf 12 zu halten. Nach der Ansäuerung wurde die Mischung in Wasser gegossen und mit Dichlormethan extrahiert. Die organische Schicht wurde mit Wasser gewaschen und über Natriumsulfat getrocknet. Das Filtrat wurde eingedampft und lieferte 104 g N-(t-Butyloxycarbonylmethyl)-N-Boc-D-Phe-OH. TLC: $R_f = 0,10$, Kieselsäuregel, Toluol/Ethylacetat 7/3 V/V.

N-(t-Butyloxycarbonylmethyl)-N-Boc-D-Phe-Pro-OBzl

[0161] Zu einer kalten (0°C)-Lösung aus N-(t-Butyloxycarbonylmethyl)-N-Boc-D-Phe-OH (5,3 g) in N,N-Dimethylformamid wurden nacheinander 1-Hydroxybenzotriazol (2,8 g), Dicyclohexylcarbodiimid (3,2 g), H-Pro-OBzl-HCl (3,78 g) und Triethylamin (2,16 ml) gegeben. Die Mischung wurde 1 Stunde bei 0°C gerührt und dann über Nacht bei Raumtemperatur gehalten. Die Mischung wurde auf -20°C abgekühlt und Dicyclohexylharnstoff durch Filtration entfernt. Das Filtrat wurde bis zur Trockne eingedampft. Der Rückstand wurde in Ethylacetat gelöst und nacheinander mit 5% Natriumhydrogencarbonat, Wasser, 2% Citronensäure und Lauge gewaschen. Der Rückstand wurde über Kieselsäuregel-Chromatographie in Heptan/ Ethylacetat 6/4 V/V als Elutionsmittel gereinigt. Diejenigen Fraktionen, die N-(t-Butyloxycarbonylmethyl)-N-Boc-D-Phe-Pro-OBzl enthielten, wurden gepoolt und eingedampft. Ausbeute: 4,35 g. TLC: $R_f = 0,74$, Kieselsäuregel, Heptan/Ethylacetat 1/1 V/V.

[0162] N-(t-Butyloxycarbonylmethyl)-N-Boc-D-Phe-Pro-OH 10% Palladium auf Holzkohle (450 mg) wurden zu einer Lösung aus N-(t-Butyloxycarbonylmethyl)-N-Boc-D-Phe-Pro-OBzl (4,35 g) in Methanol (50 ml) gegeben. Die Mischung wurde bei atmosphärischem Druck und Raumtemperatur 45 Minuten hydriert. Der Palladiumkatalysator wurde durch Filtration entfernt und das Lösungsmittel durch Verdampfen bei reduziertem Druck entfernt, was 3,48 g N-(t-Butyloxycarbonylmethyl)-N-Boc-D-Phe-OH ergab.

TLC: $R_f = 0,63$, Kieselsäuregel, Ethylacetat/Pyridin/Essigsäure/ Wasser 664/31/18/7 V/V/V/V.

N-(t-Butyloxycarbonylmethyl)-N-Boc-D-Phe-Pro-Lys(Cbz)-(2-thiazolyl)

[0163] Zu einer gekühlten (-20°C) Lösung aus 375 mg N-(t-Butyloxycarbonylmethyl)-N-Boc-D-Phe-Pro-OH und 276 ml N,N-Diisopropylethylamin in 10 ml N,N-Dimethylformamid wurde 100 ml Isobutylchlorformat zugegeben. Die Reaktionsmischung wurde weitere 20 Minuten bei -20°C gerührt. H-Lys(Cbz)-(2-thiazolyl)-TFA (362 mg) wurde in 5 ml N,N-Dimethylformamid gelöst und der pH mit N,N-Diisopropylethylamin auf 8 eingestellt. Diese Lösung wurde der Reaktionsmischung langsam zugegeben. Die Reaktionsmischung wurde 15 Minuten bei -20°C gerührt und dann auf Raumtemperatur angewärmt. Die Reaktionsmischung wurde bis zur Trockne eingedampft und der Rückstand in Ethylacetat gelöst. Die organische Phase wurde mit 5% Natriumhydrogencarbonat, Wasser und Lauge gewaschen, über Natriumsulfat getrocknet und konzentriert, um 622 g des Rohprodukts zu ergeben. Kieselsäuregel-Chromatographie unter Verwendung von Dichlormethan/Methanol 97/3 V/V als Elutionsmittel lieferte 394 mg N-(t-Butyloxycarbonylmethyl)-N-Boc-D-Phe-Pro-Lys(Cbz)-(2-thiazolyl).

TLC: $R_f = 0,50$, Kieselsäuregel, Dichlormethan/Methanol 95/5 V/V.

HOOC-CH₂-D-Phe-Pro-Lys-(2-thiazolyl)

[0164] Das geschützte Tripeptid (394 mg) wurde mit Trifluoressigsäure und Thioanisol gemäss dem in Beispiel 1 beschriebenen Verfahren behandelt und lieferte, nach HPLC-Reinigung 206 mg HOOC-CH₂-D-Phe-Pro-Lys-(2-thiazolyl).

R_f (LC): 27,9 Minuten, 20% A, 80% B bis 20% A, 20%B und 60% C in 40 Minuten.

Beispiel 25

HOOC-CH₂-D-p-OCH₃-Phe-Pro-Lys-(2-thiazolyl)

[0165] HOOC-CH₂-D-p-OCH₃-Phe-Pro-Lys-(2-thiazolyl) wurde auf gleiche Weise wie in Beispiel 24 beschrieben, hergestellt, ausgehend von H-D-p-OCH₃-Phe-OH·HCl. Die Entfernung der Schutzgruppen (siehe Beispiel 1) von 345 mg N-(t-Butyloxycarbonylmethyl)-N-Boc-D-p-OCH₃-Phe-Pro-Lys(Cbz)-(2-thiazolyl) ergab, nach HPLC-Reinigung 153 mg des Produkts.

R_f (LC): 28,9 Minuten, 20% A, 80% B bis 20% A, 20%B und 60% C in 40 Minuten.

Beispiel 26

HOOC-CH₂-D/L-m-F-Phe-Pro-Lys-(2-thiazolyl)

[0166] N-(t-Butyloxycarbonylmethyl)-N-Boc-D/L-m-F-Phe-OH Gemäss analoger, in Beispiel 24 beschriebener Verfahren wurde H-D/L-m-F-Phe-OH·HCl (5 g) in N-(t-Butyloxycarbonylmethyl)-N-Boc-D/L-m-F-Phe-OH umgewandelt. Ausbeute: 8 g. TLC: R_f = 0,65, Kieselsäuregel, Ethylacetat/Methanol 9/1 V/V.

N-(t-Butyloxycarbonylmethyl)-N-Boc-D/L-m-F-Phe-Pro-OMe

[0167] Zu einer kalten (0°C)-Lösung aus N-(t-Butyloxycarbonylmethyl)-N-Boc-D/L-m-F-Phe-OH (7,9 g) in N,N-Dimethylformamid (80 ml) wurden nacheinander 1-Hydroxybenzotriazol (4,0 g), Dicyclohexylcarbodiimid (4,5 g), H-Pro-OMe·HCl (3,6 g) und Triethylamin (3,25 ml) gegeben. Die Mischung wurde 1 Stunde bei 0°C gerührt und dann über Nacht bei Raumtemperatur gehalten. Die Mischung wurde auf -20°C abgekühlt und Dicyclohexylharnstoff durch Filtration entfernt. Das Filtrat wurde bis zur Trockne eingedampft. Der Rückstand wurde in Ethylacetat gelöst und nacheinander mit 5% Natriumhydrogencarbonat, Wasser, 2% Citronensäure und Lauge gewaschen, über Natriumsulfat getrocknet und in vacuo konzentriert. Der Rückstand wurde über Kieselsäuregel-Chromatographie in Heptan/Ethylacetat 7/3 V/V als Elutionsmittel gereinigt und ergab 6,9 g des Produkts. TLC: R_f = 0,65, Kieselsäuregel, Heptan/Ethylacetat 1/1 V/V.

N-(t-Butyloxycarbonylmethyl)-N-Boc-D/L-m-F-Phe-Pro-OH

[0168] 6,9 g N-(t-Butyloxycarbonylmethyl)-N-Boc-D/L-m-F-Pro-Phe-OMe, gelöst in Dioxan/Wasser: 9/1 V/V (60 ml), wurde portionsweise mit einer 1 N Natriumhydroxid-Lösung (13,8 ml) über 16 Stunden behandelt, wobei der pH auf 10–10,5 gehalten wurde. Die Reaktionsmischung wurde mit Eiswasser verdünnt und mit 2 N Chlorwasserstoff-Lösung bis zu einem pH von 2,0 angesäuert. Die wässrige Schicht wurde mit Dichlormethan extrahiert. Als nächstes wurde die organische Phase mit kaltem Wasser gewaschen, über Natriumsulfat gereinigt und konzentriert, um 14,7 g Rohmaterial zu ergeben. Die Reinigung über Kieselsäure-Gel in Ethylacetat/Methanol V/V ergab 5,22 g. TLC: R_f = 0,20, Kieselsäuregel, Ethylacetat/Methanol 8/2 V/V.

N-(t-Butyloxycarbonylmethyl)-N-Boc-D/L-m-F-Phe-Pro-Lys(Cbz)-(2-thiazolyl)

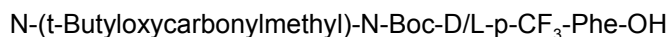
[0169] Koppeln von N-(t-Butyloxycarbonylmethyl)-N-Hoc-D/L-m-F-Phe-OH (601,3 mg) mit H-Lys(Cbz)-(2-thiazolyl) wurde unter den gleichen Bedingungen, wie in Beispiel 24 beschrieben, durchgeführt. Ausbeute: 648,3 mg. TLC: R_f = 0,74, Kieselsäuregel, Dichlormethan/Methanol 95/5 V/V.

HOOC-CH₂-D/L-m-F-Phe-Pro-Lys-2-thiazolyl)

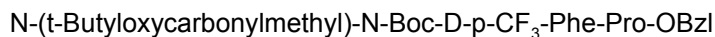
[0170] N-(t-Butyloxycarbonylmethyl)-N-Boc-D/L-m-F-Phe-Pro-Lys(Cbz)-(2-thiazolyl) (673,5 mg) wurde unter den gleichen Bedingungen wie in Beispiel 24 beschrieben mit Trifluoressigsäure und Thioanisol behandelt und ergab nach HPLC-Reinigung 259 mg des reinen Produkts.

R_f (LC): 28,4 Minuten und 29,0 Minuten, 20% A, 80% B bis 20% A, 20% B und 60% C in 40 Minuten.

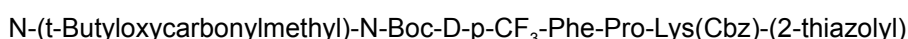
Beispiel 27



[0171] Gemäss den in Beispiel 24 beschriebenen analogen Verfahren wurde H-D/L-p-CF₃-Phe-OH·HCl (10,12 g) in N-(t-Butyloxycarbonylmethyl)-N-Boc-D/L-p-CF₃-Phe-OH umgewandelt. Ausbeute: 12,23 g. TLC: R_f = 0,64, Kieselsäuregel, Ethylacetat/Methanol 9/1, V/V.



[0172] Eine Menge von 6,10 g N-(t-Butyloxycarbonylmethyl)-N-Boc-D/L-p-CF₃-Phe-OH wurde an H-Pro-OBzl-HCl gemäss dem gleichen, in Beispiel 24 beschriebenen Verfahren gekoppelt. Nach der Aufarbeitung konnten die Diastereomere mittels Kieselsäuregel unter Verwendung von Heptan/Ethylacetat 75/25 V/V getrennt werden, um 0,63 g reines N-(t-Butyloxycarbonylmethyl)-N-Boc-D-p-CF₃-Phe-Pro-OBzl zu liefern. TLC: R_f = 0,35, Kieselsäuregel, Heptan/Ethylacetat 7/3, V/V.



[0173] N-(t-Butyloxycarbonylmethyl)-N-Boc-D-p-CF₃-Phe-Pro-OBzl (630 mg) wurde reduziert und anschliessend an H-Lys(Cbz)-(2-thiazolyl) unter Anwendung der in Beispiel 24 beschriebenen Verfahren gekoppelt. Ausbeute: 317,7 mg. TLC: R_f = 0,46, Kieselsäuregel, Dichlormethan/Methanol 95/5, V/V.



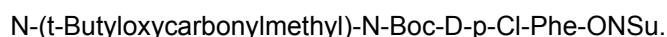
[0174] Die Schutzgruppen von N-(t-Butyloxycarbonylmethyl)-N-Boc-D-p-CF₃-Phe-Pro-Lys(Cbz)-(2-thiazolyl) (306,5 mg) wurden unter Anwendung der gleichen, wie in Beispiel 24 beschriebenen Verfahren entfernt. Nach der HPLC-Reinigung wurden 157 mg des Produkts isoliert.

R_t (LC): 36,7 Minuten, 20% A, 80% B bis 20% A, 20% B und 60% C in 40 Minuten.

Beispiel 28



[0175] Gemäss analoger, in Beispiel 24 beschriebener Verfahren wurde H-D-p-Cl-Phe-OH·HCl (10 g) in N-(t-Butyloxycarbonylmethyl)-N-Boc-D-p-Cl-Phe-OH umgewandelt. Ausbeute: 16,7 g. TLC: R_f = 0,27, Kieselsäuregel, Ethylacetat/Methanol 9/1, V/V.



[0176] Eine Lösung aus N-(t-Butyloxycarbonylmethyl)-N-Boc-D-p-Cl-Phe-OH (14,67 g) in 250 ml Acetonitril wurde mit N-Hydroxybernsteinsäureimid (4,11 g) und 1-(3-Diemthylaminopropyl)-3-ethylcarbodiimid (EDCI)chlorhydrat (6,86 g) über Nacht bei Raumtemperatur behandelt. Die Reaktionsmischung wurde bis zur Trockne eingedampft und der Rückstand in Ethylacetat gelöst. Die organische Phase wurde mit Wasser gewaschen, über Natriumsulfat getrocknet und konzentriert, um 19,11 g des aktiven Esters zu ergeben, der sofort für den nächsten Schritt verwendet wurde.



[0177] H-Pro-OH·HCl (10,79 g) wurde in 100 ml N,N-Dimethylformamid und 100 ml Wasser gelöst. Der pH der Reaktionsmischung wurde mit 1 N Natriumhydroxid-Lösung auf 8 eingestellt, wonach N-(t-Butyloxycarbonylmethyl)-N-Boc-D-p-Cl-Phe-ONSu (19,11 g), gelöst in 120 ml N,N-Dimethylformamid, tropfenweise zugegeben wurde. Die Reaktion wurde über Nacht bei Raumtemperatur bei pH 8 gerührt. Die Reaktionsmischung wurde abgekühlt und mit 1 N Salzsäure auf pH 2 eingestellt. Die wässrige Schicht wurde mit Dichlormethan extrahiert. Die organische Phase wurde mit Wasser gewaschen, über Natriumsulfat getrocknet und in vacuo eingedampft. Kieselsäuregel-Reinigung, unter Anwendung eines Ethyl/Acetat-Gradienten 9/1. TLC: R_f = 0,24, Kieselsäuregel, Ethylacetat/Methanol 8/2, V/V.

N-(t-Butyloxycarbonylmethyl)-N-Boc-D-p-CI-Phe-Pro-Lys(Cbz)-(2-thiazolyl)

[0178] Gemäss dem in Beispiel 24 beschriebenen Verfahren wurde N-(t-Butyloxycarbonylmethyl)-N-Boc-D-p-CI-Phe-OH (369,4 mg) in die Zielverbindung verwandelt. Ausbeute: 249,1 mg. TLC: $R_f = 0,25$, Kieselsäuregel, Dichlormethan/Methanol 97/3, V/V.

HOOC-CH₂-D-p-CI-Phe-Pro-Lys-(2-thiazolyl)

[0179] Wie in Beispiel 1 beschrieben, wurden die Schutzgruppen von 231,5 mg N-(t-Butyloxycarbonylmethyl)-N-Boc-D-p-CI-Phe-Pro-Lys(Cbz)-(2-thiazolyl) entfernt und gereinigt, um 109,8 mg des Produkts zu erhalten.

R_f (LC): 33,8 Minuten, 20% A, 80% B bis 20% A, 20%B und 60% C in 40 Minuten.

Beispiel 29

HOOC-CH₂-D-o-CI-Phe-Pro-Lys-(2-thiazolyl)

[0180] HOOC-CH₂-D-o-CI-Phe-Pro-Lys-2-(thiazolyl) wurde auf gleiche Weise wie in Beispiel 26 beschrieben, hergestellt, ausgehend von H-D/L-o-CI-Phe-OH·HCl. Die beiden Diastereomere wurden in dem geschützten Tripeptid-Stadium getrennt. Entfernung der Schutzgruppen von 230 mg N-(t-Butyloxycarbonylmethyl)-N-Boc-D-o-CI-Phe-Pro-Lys(Cbz)-(2-thiazolyl) gemäss dem in Beispiel 1 beschriebenen Verfahren, lieferte nach der HPLC-Reinigung 116 mg des Produkts.

R_f (LC): 30,0 Minuten, 20% A, 80% B bis 20% A, 20%B und 60% C in 40 Minuten.

Beispiel 30

HOOC-CH₂-D/L-m,p-di-F-Phe-Pro-Lys-(2-thiazolyl)

[0181] Diese Verbindung wurde auf gleiche Weise wie in Beispiel 26 beschrieben hergestellt, ausgehend von H-D/L-m,p-di-F-Phe-OH·HCl. Die Entfernung der Blockierungsgruppen des geschützten Tripeptids (720 mg) gefolgt von einer HPLC-Reinigung wie in Beispiel 1 beschrieben, ergab 170 mg des Produkts.

R_f (LC): 30,7 Minuten und 31,1 Minuten, 20% A, 80% B bis 20% A, 20% B und 60% C in 40 Minuten.

Beispiel 31

HOOC-CH₂-D/L-o,p-di-CI-Phe-Pro-Lys-(2-thiazolyl)

[0182] Diese Verbindung wurde auf gleiche Weise wie in Beispiel 26 beschrieben, hergestellt, ausgehend von H-D/L-o-p-di-CI-Phe-OH·HCl. Die Entfernung der Blockierungsgruppen des geschützten Tripeptids (1,07 g) gefolgt von einer HPLC-Reinigung wie in Beispiel 1 beschrieben, ergab 100 mg des Produkts.

R_f (LC): 35,4 Minuten und 36,1 Minuten, 20% A, 80% H bis 20% A, 20%B und 60% C in 40 Minuten.

Beispiel 32

HOOC-CH₂-D-Tyr-Pro-Lys-(2-thiazolyl)

Cbz-D-Tyr(tBu)-OH

[0183] N-Benzyloxycarbonyloxybernsteinsäureimid (5,75 g) wurde einer Suspension aus D-Tyr(tBu)-OH (5,0 g) in N,N-Dimethylformamid (40 ml) zugegeben. Der pH der Lösung wurde mit Triethylamin auf 8 eingestellt. Die Reaktionsmischung wurde über Nacht bei Raumtemperatur gerührt und dann in vacuo bis zur Trockne eingedampft. Der Rückstand wurde in Dichlormethan gelöst und mit Eiswasser verdünnt. Der pH der wässrigen Schicht wurde mit 2 N Chlorwasserstoff auf pH 2,5 eingestellt. Die organische Schicht wurde abgetrennt und die wässrige Phase mit Dichlormethan extrahiert. Die organischen Schichten wurden vereint und mit Wasser gewaschen, über Natriumsulfat getrocknet und konzentriert. Ausbeute: 9,95 g. TLC: $R_f = 0,31$, Kieselsäuregel, Heptan/Ethylacetat 1/1.

Cbz-D-Tyr(tBu)-OMe

[0184] [2-(1H-Benzotriazol-1-yl)-1,1,3,3-Tetramethyluroniumtetrafluorborat] (7,45 mg) wurde zu einer Lösung

aus Cbz-D-Tyr(tBu)-OH (9,95 g) in Dichlormethan (45 ml) und Methanol (5 ml) gegeben. Der pH der Mischung wurde mit N,N-Diisopropylethylamin auf 8 eingestellt. Die Reaktionsmischung wurde 1 Stunde bei Raumtemperatur gerührt und dann mit 5 % Natriumhydrogencarbonat abgeschreckt. Die organische Phase wurde abgetrennt und mit Wasser, 2% Citronensäure und Lauge gewaschen, über Natriumsulfat getrocknet und unter reduziertem Druck konzentriert. Ausbeute: 10,2 g. TLC: $R_f = 0,74$, Heptan/Ethylacetat 1/1.

H-D-Tyr(tBu)-OMe·HCl

[0185] 10% Palladium auf Holzkohle (1,2 g) wurden einer Lösung aus Cbz-D-Tyr(tBu)-OMe (10,2 g) in Methanol (100 ml) zugegeben. Die Mischung wurde bei atmosphärischem Druck und Raumtemperatur 2 Stunden hydriert. Der Palladium-Katalysator wurde durch Filtration entfernt. Das Lösungsmittel wurde zu einem kleinen Volumen konzentriert, gefolgt von einer Kristallisation aus Diethylether. Ausbeute: 5,87 g. TLC: $R_f = 0,10$, Heptan/Ethylacetat 1/1.

HOOC-CH₂-D-Tyr-Pro-Lys-(2-thiazolyl)

[0186] Diese Verbindung wurde auf gleiche Weise wie in Beispiel 24 beschrieben hergestellt, ausgehend von H-D-Tyr(tBu)-OMe·HCl. Die Entfernung der Schutzgruppen von 586 mg N-(t-Butyloxycarbonylmethyl)-N-Boc-D-Tyr(tBu)-Pro-Lys(Cbz)-(2-thiazolyl) gemäss dem in Beispiel 1 beschriebenen Verfahren ergab nach der HPLC-Reinigung 283 mg des Produkts.

R_f (LC): 20,9 Minuten, 20% A, 80% B bis 20% A, 20%B und 60% C in 40 Minuten.

Beispiel 33

HOOC-CH₂-D/L-p-CH₃-Phe-Pro-Lys-(2-thiazolyl)H-D/L-p-CH₃-Phe-OH·HCl

[0187] Eine Suspension aus Natriumhydrid (3,28 g, 60%-ige Dispersion in Mineralöl) in Ethanol (40 ml) wurde einer Lösung aus *a*-Chlor-*p*-xylol (10 g), Diethylacetamidomalonat (19,3 g) und Natriumiodid (8,55 g) in Dioxan (80 ml) und Ethanol (20 ml) gegeben. Die Reaktionsmischung wurde 90 Minuten auf 80°C unter Rückfluss erhitzt. Das Lösungsmittel wurde unter reduziertem Druck entfernt und der Rückstand in Ethylacetat gelöst. Die organische Phase wurde mit 5% Natriumhydrogensulfid, Wasser, 5% Natriumhydrogencarbonat und Lauge gewaschen, über Natriumsulfat getrocknet und in vacuo konzentriert. Das Produkt wurde aus Heptan kristallisiert und ergab 19,8 g des Kondensationsprodukts. Dieses wurde mit 6 N Chlorwasserstoff (420 ml) und Essigsäure (210 ml) über Nacht bei 95°C behandelt und ergab, nach Eindampfen bis zur Trockne, 21,6 g des Produkts.

TLC: $R_f = 0,15$, Kieselsäure, Ethylacetat/Pyridin/Essigsäure/Wasser 664/31/18/7 V/V/V/V.

HOOC-CH₂-D/L-p-CH₃-Phe-Pro-Lys-(2-thiazolyl)

[0188] Gemäss den gleichen wie in Beispiel 24 beschriebenen Verfahren wurde HOOC-CH₂-D/L-p-CH₃-Phe-Pro-Lys-(2-thiazolyl) hergestellt, ausgehend H-D/L-p-CH₃-Phe-OH·HCl. Die Entfernung der blockierenden Gruppen von dem geschützten Tripeptid (582 mg) und die HPLC-Reinigung wurde unter den gleichen Bedingungen wie in Beispiel 1 beschrieben, durchgeführt. Ausbeute: 120 mg.

R_f (LC): 31,9 Minuten, 20% A, 80% B bis 20% A, 20%B und 60% C in 40 Minuten.

Beispiel 34

HOOC-CH₂-D-m-Cl-Phe-Pro-Lys-(2-thiazolyl)

[0189] Ausgehend von 3-Chlorbenzylbromid wurde H-D/L-m-Cl-Phe-OH·HCl wie in Beispiel 33 beschrieben hergestellt. Als nächstes wurde das voll geschützte Tripeptid gemäss den gleichen, wie in Beispiel 26 beschriebenen Verfahren zusammengesetzt. In dem letzten Schritt wurde 1 g N-(t-Butyloxycarbonylmethyl)-N-Boc-D/L-m-Cl-Phe-Pro-Lys(Cbz)-(2-thiazolyl) mit Trifluoressigsäure und Thioanisol (siehe Beispiel 1) behandelt. Nach einer HPLC-Reinigung wurden 195 mg HOOC-CH₂-D-m-Cl-Phe-Pro-Lys-(2-thiazolyl) isoliert.

R_f (LC): 31,7 Minuten, 20% A, 80% B bis 20% A, 20%B und 60% C in 40 Minuten.

Beispiel 35

HOOC-CH₂-D-DPA-Pro-Lys-(2-thiazolyl) (DPA = Diphenylalanin)

[0190] Diese Verbindung wurde auf gleiche Weise wie in Beispiel 24 beschrieben hergestellt, ausgehend von H-D-DPA-OH-HCl. Die Entfernung der Schutzgruppen von 570 mg N-(t-Butyloxycarbonylmethyl)-N-Boc-D-DPA-Pro-Lys(Cbz)-(2-thiazolyl), gemäss der in Beispiel 1 beschriebenen Verfahren, lieferte nach der HPLC-Reinigung 194 mg des Endprodukts.

R_f (LC): 35,6 Minuten, 20% A, 80% B bis 20% A, 20% H und 60% C in 40 Minuten.

Beispiel 36

HOOC-CH₂-D-m-OH-Phe-Pro-Lys-(2-thiazolyl)

[0191] Diese Verbindung wurde auf gleiche Weise wie in Beispiel 26 beschrieben hergestellt, ausgehend von D/L-m-OH-Phe-OH-HCl. Die phenolische Hydroxylfunktion wurde ebenfalls mit einer Boc-Gruppe während der Einführung der Boc-Gruppe am N-Terminus geschützt. Entfernung der Schutzgruppen (siehe Beispiel 1) von 1,21 g N-(t-Butyloxycarbonylmethyl)-N-Boc-D/L-m-OBoc-Phe-Pro-Lys(Cbz)-thiazolyl) lieferte nach der HPLC-Reinigung das erwünschte Diastereomer. Ausbeute: 99 mg.

R_f (LC): 23,8 Minuten, 20% A, 80% B bis 20% A, 20%B und 60% C in 40 Minuten.

Beispiel 37

HOOC-CH₂-D/L-m-OCH₃-Phe-Pro-Lys-(2-thiazolyl)

Boc-D/L-m-OH-Phe-OH

[0192] H-D/L-m-OH-Phe-OH-HCl (5,25 g) wurden in Dioxan (55 ml), Wasser (28 ml) und 1 N Natriumhydroxid-Lösung (29,0 ml) gelöst. Di-t-Butyldicarbonat (6,95 g) wurden zugegeben und die Reaktionsmischung über Nacht bei Raumtemperatur bei pH 9 gerührt. Die Reaktionsmischung wurde mit Wasser (200 ml) verdünnt und mit Heptan extrahiert. Die wässrige Schicht wurde mit Ethylacetat (150 ml) verdünnt und mit 1 N Salzsäure auf pH 2 angesäuert. Die organische Phase wurde abgetrennt und die Wasserschicht mit Ethylacetat extrahiert. Die organischen Schichten wurden vereint und mit Wasser und Lauge gewaschen, über Natriumsulfat gereinigt und in vacuo konzentriert.

Ausbeute: 8,49 g.

TLC: R_f = 0,67, Kieselsäure, Ethylacetat/Pyridin/Essigsäure/Wasser 126/20/6/11 V/V/V/V.

Boc-D/L-m-OCH₃-Phe-OMe

[0193] Eine Mischung aus Boc-D/L-m-OH-Phe-OH (8,49 g), Natriumcarbonat (23,9 g) und Iodmethan (20,3 ml) in N,N-Dimethylformamid (60 ml) wurde 48 Stunden bei 60°C gerührt. Als nächstes wurde die Reaktionsmischung in Eiswasser gegossen und mit 2 N Chlorwasserstoff auf einen pH von 2,5 angesäuert, gefolgt von einer Extraktion mit Ethylacetat. Die organischen Schichten wurden vereint und mit Wasser und Lauge gewaschen, über Natriumsulfat getrocknet und in vacuo konzentriert. Das Rohprodukt wurde mittels Kieselsäure-gel-Chromatographie unter Verwendung von Heptan/Ethylacetat 7/3 V/V gereinigt. Ausbeute: 6,66 g.

TLC: R_f = 0,56, Kieselsäure, Heptan/Ethylacetat 3/2 V/V.

H-D/L-m-OCH₃-Phe-OMe-TFA

[0194] Boc-D/L-m-OCH₃-Phe-OMe (6,66 g) wurde in Dichlormethan (20 ml) gelöst und 2 Stunden bei Raumtemperatur gerührt. Das Lösungsmittel wurde unter reduziertem Druck entfernt und das Rohprodukt zweimal mit Toluol ko-evaporiert. Ausbeute: 9,56 g.

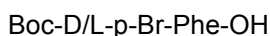
TLC: R_f = 0,32, Kieselsäure, Ethylacetat/Pyridin/Essigsäure/Wasser 126/20/6/11 V/V/V/V.

HOOC-CH₂-D/L-m-OCH₃-Phe-Pro-Lys-(2-Thiazolyl)

[0195] H-D/L-m-OCH₃-Phe-OMe-TFA wurde verwendet, um N-(t-Butyloxycarbonylmethyl)-N-Boc-D/L-m-OCH₃-Phe-Phe-Pro-Lys(Cbz)-(2-Thiazolyl) gemäss dem gleichen wie in Beispiel 24 beschriebenen Weg zusammensetzen. Die Behandlung von 624 mg des geschützten Tripeptids mit Trifluoressigsäure und Thioanisol (siehe Beispiel 1), gefolgt von einer HPLC-Reinigung lieferte 114 mg des Produkts.

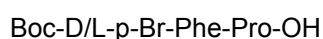
R_t (LC): 29,3 Minuten und 29, 8 Minuten, 20% A, 80% B bis 20% A, 20% H und 60% C in 40 Minuten.

Beispiel 38



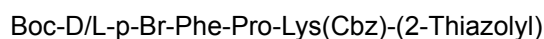
[0196] Eine Suspension aus H-D/L-p-Br-Phe-OH (2,44 g) in 25 ml t-Butanol/Wasser 1/1 wurde mit ausreichend verdünnter Natriumhydroxid-Lösung (1 N) auf pH 9 eingestellt. Di-t-Butyldicarbonat (3,27 g) wurde zugegeben und die Reaktionsmischung über Nacht gerührt, wobei der pH bei 9 gehalten wurde. Die Reaktionsmischung wurde mit Wasser verdünnt und anschliessend mit Heptan extrahiert. Die Wasserschicht wurde mit Ethylacetat verdünnt und anschliessend auf einen pH von 2,5 unter Verwendung von 2 N Chlorwasserstoff angesäuert. Die organische Phase wurde abgetrennt und die wässrige Phase mit Ethylacetat extrahiert. Die organischen Schichten wurde vereint und mit Wasser und Lauge gewaschen, über Natriumsulfat getrocknet und in vacuo konzentriert. Ausbeute: 3,35 g.

TLC: R_f = 0,32, Kieselsäuregel, Ethylacetat/Pyridin/Essigsäure/ Wasser 126/20/6/11 V/V/V/V.



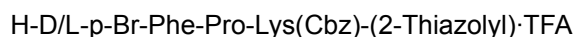
[0197] Boc-D/L-p-Br-Phe-OH (3,35 g) wurden mit H-Pro-OMe-HCl gekoppelt und anschliessend mit Natriumhydroxid gemäss den gleichen wie in Beispiel 26 beschriebenen Verfahren verseift.

Ausbeute: 3,13 g. TLC: R_f: 0,45, Kieselsäuregel, Ethylacetat/ Methanol 9/1.



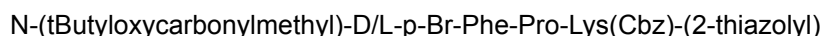
[0198] Koppeln von Boc-D/L-p-Br-Phe-OH (750 mg) mit H-Lys(Cbz)-(2-Thiazolyl) wurde unter den gleichen Bedingungen wie in Beispiel 24 beschrieben, durchgeführt. Ausbeute: 1,01 g.

TLC: R_f: 0,85, Kieselsäuregel, Dichlormethan/Methanol 9/1 V/V.



[0199] Boc-D/L-p-Br-Phe-Pro-Lys(Cbz)-(2-Thiazolyl) (1,01 g) wurde in Trifluoressigsäure (TFA, 10 ml) gelöst und 1 Stunde bei Raumtemperatur gerührt. Das Lösungsmittel wurde unter reduziertem Druck entfernt. Ausbeute: 879 mg.

TLC: R_f = 0,75 und 0,68, Kieselsäuregel, Ethylacetat/Pyridin/ Essigsäure/Wasser 63/20/6/11 V/V/V/V.



[0200] t-Butylbromacetat (264 ml) wurde einer Lösung aus H-D/L-p-Br-Phe-Pro-Lys(Cbz)-(2-Thiazolyl)-TFA (879 mg) in Acetonitril (25 ml) zugegeben. Der pH der Reaktionsmischung wurde mit N,N-Diisopropylethylamin auf 8 eingestellt, wonach die Reaktionsmischung über Nacht bei Raumtemperatur stehengelassen wurde. Das Lösungsmittel wurde durch Eindampfen entfernt und der Rückstand in Ethylacetat gelöst. Die organische Phase wurde mit Wasser, 5% Natriumhydrogencarbonat und Lauge gewaschen, über Natriumsulfat getrocknet und in vacuo konzentriert. Das Rohprodukt wurde über Kieselsäuregel unter Verwendung von Dichlormethan/Methanol 95/5 V/V gereinigt, um 850 mg des geschützten Tripeptids zu ergeben.

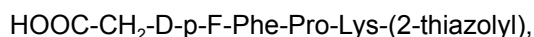
TLC: R_f = 0,91, Kieselsäuregel, Ethylacetat/Pyridin/ Essigsäure/ Wasser 63/20/6/11 V/V/V/V.



[0201] N-(tButyloxycarbonylmethyl)-D/L-p-Br-Phe-Pro-Lys(Cbz)-(2-Thiazolyl) (850 mg) wurde unter den gleichen Bedingungen wie in Beispiel 1 beschrieben mit Trifluoressigsäure und Thioanisol behandelt, um nach einer HPLC-Reinigung 123 mg des Produkts zu erhalten.

R_t (LC): 33,9 Minuten und 34,4 Minuten, 20% A, 80% B bis 20% A, 20%B und 60% C in 40 Minuten.

Beispiel 39



[0202] Diese Verbindung wurde auf gleiche Weise wie in Beispiel 38 beschrieben; hergestellt, ausgehend von

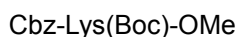
H-D/-p-F-Phe-OH. Die Entfernung der Schutzgruppen (siehe Beispiel 1) von 563 mg N-(t-Butyloxycarbonylmethyl)-D-p-F-Phe-Pro-Lys(Cbz)-(2-thiazolyl) ergab nach HPLC-Reinigung 182 mg des Produkts. R_f (LC): 29,7 Minuten, 20% A, 80% B bis 20% A, 20% B und 60% C in 40 Minuten.

Beispiel 40

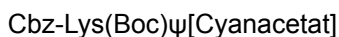


[0203] Diese Verbindung wurde auf gleiche Weise wie in Beispiel 38 beschrieben hergestellt, ausgehend von H-D/-m,p-di-Cl-Phe-OH. Die Entfernung der Schutzgruppen (siehe Beispiel 1) von 480 mg N-(t-Butyloxycarbonylmethyl)-D/L-m,p-di-Cl-Phe-Pro-Lys(Cbz)-(2-thiazolyl) ergab nach HPLC-Reinigung 191 mg des Produkts. R_f (LC): 36,8 Minuten und 37, 8 Minuten, 20% A, 80% B bis 20% A, 20%B und 60% C in 40 Minuten.

Beispiel 41 (vergleichend)



[0204] Cbz-Lys(Boc)-OH (28 g) wurde in Dichlormethan/Methanol = 9/1 V/V (500 ml) gelöst. 2-(1H-Benztriazol-1-yl)-1,1,3,3-tetramethyluroniumtetrafluorborat (23,6 g) wurde zugegeben und der pH der Lösung durch Zugabe von Triethylamin auf 8 eingestellt. Die Reaktionsmischung wurde 2 Stunden bei Raumtemperatur gerührt. Die Mischung wurde nacheinander mit kalter, 1 N Chlorwasserstoff-Lösung, 5% Natriumhydrogencarbonat und Wasser gewaschen und über Natriumsulfat getrocknet. Das Filtrat wurde eingedampft und der Rückstand über Kieselsäuregel in Ethylacetat/Heptan = 1/4 als Elutionsmittel chromatographiert. Die das Cbz-Lys(Boc)-OMe enthaltenden Fraktionen wurden vereint. und eingedampft. Ausbeute: 29,1 g. TLC: R_f = 0,85, Kieselsäuregel, Ethylacetat/Heptan = 3/1 V/V.



[0205] Zu einer kalten (-78°C) Lösung aus Cbz-Lys(Boc)-OMe (29,1 g) in trockenem Dichlormethan (800 ml) wurde tropfenweise Diisobutylaluminiumhydrid (222 ml einer 1 M Lösung in Hexan) so zugegeben, dass die Reaktionstemperatur unter -70°C blieb. Die daraus resultierende Lösung wurde 1 Stunde bei -78°C gerührt. Eine 5%-ige Citronensäure-Lösung (600 ml) wurde der Reaktionsmischung zugegeben. Die zweischichtige Mischung wurde 10 Minuten bei Raumtemperatur gerührt, die Schichten getrennt und die wässrige Phase mit Dichlormethan extrahiert. Die vereinten Dichlormethan-Schichten wurden mit Wasser gewaschen und über Natriumsulfat getrocknet und filtriert. Die Lösung wurde unter eine Stickstoff-Atmosphäre gebracht und in einem Eiswasserbad gekühlt. Eine Lösung aus Natriumcyanid (36,3 g) und Benzyltriethylammoniumchlorid (4,2 g) in Wasser (600 ml) wurde zugegeben. Unter starkem Rühren wurde portionsweise Essigsäureanhydrid (2×9 ml) während eines Zeitraums von 30 Minuten zugegeben. Die organische Schicht wurde abgetrennt und die wässrige Schicht mit Dichlormethan extrahiert. Die vereinten Dichlormethan-Schichten wurden mit Wasser gewaschen, über Natriumsulfat getrocknet, filtriert und in vacuo eingedampft. Der Rückstand wurde mittels Kieselsäuregel-Chromatographie gereinigt (Elutionsmittel: Heptan/Ethylacetat = 1/1 V/V), um Cbz-Lys(Boc) ψ [Cyanacetat] (26,3 g) zu ergeben.

TLC: R_f = 0,60, Kieselsäuregel, Dichlormethan/Ethylacetat = 7/3 V/V.



[0206] Einer Lösung aus Cbz-Lys(Boc) ψ [Cyanacetat] (26,3 g) in Diethylether/Methanol = 3/1 V/V (600 ml) wurde unter Stickstoff auf -20°C abgekühlt und 66 g gasförmige Salzsäure wurden eingeführt, wobei die Temperatur unter -5°C gehalten wurde. Die Reaktionsmischung wurde über Nacht bei 4°C gehalten. Zu der Reaktionsmischung wurde tropfenweise Wasser (100 ml) zugegeben, wobei die Temperatur unter 5°C gehalten wurde. Nach 16-stündigem Rühren bei Raumtemperatur wurde die organische Schicht abgetrennt und mit Wasser gewaschen. Die wässrige Schicht wurde mit Natriumchlorid gesättigt und mit sec-Butanol/Dichlormethan = 3/2 V/V extrahiert. Die organische Phase wurde mit Lauge gewaschen, über Natriumsulfat getrocknet, filtriert und in vacuo eingedampft, um 25,4 g des rohen Amins zu ergeben. Der Rückstand wurde in N,N-Dimethylformamid (400 ml) aufgenommen und bis(tert-Butyl)anhydrid (16 g) und Triethylamin bis zu einem pH von 8 wurden zugegeben. Die Reaktionsmischung wurde bei Raumtemperatur über Nacht gerührt. Das Lösungsmittel wurde durch Eindampfen unter reduziertem Druck entfernt. Der Rückstand wurde in Ethylacetat gelöst, nacheinander mit Wasser und Lauge gewaschen, über Natriumsulfat getrocknet, filtriert und in vacuo eingedampft. Der Rück-

stand wurde mittels Kieselsäuregel-Chromatographie gereinigt (Elutionsmittel: Ethylacetat/Heptan = 4/6 V/V), um Cbz-Lys(Boc) ψ [CHOHCO]-OMe (15,8 g) zu ergeben.

TLC: R_f = 0,75, Kieselsäuregel, Ethylacetat/Pyridin/Essigsäure/ Wasser = 63/20/6/11 V/V/V/V.

H-Lys(Boc) ψ [CHOHCO]-OMe

[0207] 10% Palladium auf Holzkohle (92 mg) und 2,18 ml einer 1 N Chlorwasserstoff-Lösung wurden einer Lösung aus Cbz-Lys(Boc) ψ [CHOHCO]-OMe (0,92 g) in N,N-Dimethylformamid (20 ml) zugegeben. Die Mischung wurde bei atmosphärischem Druck und Raumtemperatur 3 Stunden hydriert. Der Palladium-Katalysator wurde durch Filtration und das Lösungsmittel durch Verdampfen bei reduziertem Druck entfernt, was quantitativ H-Lys(Boc) ψ [CHOHCO]-OMe-HCl ergab.

TLC: R_f = 0,47, Kieselsäuregel, Ethylacetat/Pyridin/Essigsäure/ Wasser 88/31/18/7 V/V/V/V.

BzISO₂-norLeu(Cyclo)Gly-Lys(Boc) ψ [CHOHCO]-OMe

[0208] (S)-3-Benzylsulfonylamid-2-oxo-1-azepinessäure wurde gemäss dem in Beispiel 18 beschriebenen Verfahren hergestellt. Zu einer kalten (0°C) Lösung aus (S)-3-Benzylsulfonylamid-2-oxo-1-azepinessäure (BzISO₂-norLeu(Cyclo)Gly) (400 mg) in N,N-Dimethylformamid (20 ml) wurde nacheinander, 1-Hydroxybenzotriazol 238 mg), Dicyclohexylcarbodiimid (267 mg), H-Lys(Boc) ψ [CHOHCO]-OMe-HCl (38,5 mg) und Triethylamin (0,32 ml) gegeben. Die Mischung wurde 1 Stunde bei 0°C gerührt und dann über Nacht bei Raumtemperatur gehalten. Die Mischung wurde auf -20°C abgekühlt und Dicycloharnstoff durch Filtrieren entfernt. Das Filtrat wurde bis zur Trockne eingedampft. Der Rückstand wurde in Ethylacetat gelöst und nacheinander mit 5% Natriumhydrogencarbonat, Wasser, 2% Citronensäure, gesättigtem wässrigen Natriumchlorid gewaschen, über Natriumsulfat getrocknet und in vacuo konzentriert. Der Rückstand wurde über Kieselsäuregel in Dichlormethan/Methanol = 9/1 (V/V) als Elutionsmittel chromatographiert. Die das BzISO₂-norLeu(Cyclo)Gly-Lys(Boc) ψ [CHOHCO]-OMe enthaltenden Fraktionen wurden vereint und eingedampft. Ausbeute: 663 mg. TLC: R_f = 0,91, Kieselsäuregel, Ethylacetat/Pyridin/Essigsäure/ Wasser 63/20/6/11 V/V/V/V.

BzISO₂-norLeu(Cyclo)Gly-Lys(Boc) ψ [CHOHCO]-OH

[0209] BzISO₂-norLeu(Cyclo)Gly-Lys(Boc) ψ [CHOHCO]-OMe (650 mg) wurde in Dioxan/Wasser = 7/3 V/V (20 ml) gelöst und während 1 Stunde bei Raumtemperatur portionsweise mit 2 M Natriumhydroxid-Lösung (1,05 ml) behandelt, wobei der pH auf 12–13 gehalten wurde. Die Reaktionsmischung wurde mit Wasser (20 ml) verdünnt, 2 M Chlorwasserstoff-Lösung wurden bis zu einem pH von 2,0 zugegeben und die Wasserschicht mit Dichlormethan extrahiert. Die vereinten organischen Phasen wurden mit Wasser, Lauge gewaschen, über Natriumsulfat getrocknet, filtriert und in vacuo konzentriert, um BzISO₂-norLeu(Cyclo)Gly-Lys(Boc) ψ [CHOHCO]-OH (740 mg) zu ergeben.

TLC: R_f = 0,44, Kieselsäuregel, Ethylacetat/Pyridin/Essigsäure/ Wasser 63/20/6/11 V/V/V/V.

BzISO₂-norLeu(Cyclo)Gly-Lys(Boc) ψ [COCO]-OH

[0210] Zu einer Lösung aus BzISO₂-norLeu(Cyclo)Gly-Lys(Boc) ψ [CHOHCO]-OH (740 mg) in trockenem Dichlormethan (20 ml) wurden 450 mg Periodan (Dess-Martin-Reagenz) zugegeben. Nach 1 ständigem Rühren bei Raumtemperatur wurde eine 2%-ige Natriumthiosulfat-Lösung (20 ml) zugegeben und die Mischung 30 Minuten bei Raumtemperatur gerührt. Die organische Schicht wurde abgetrennt, mit Wasser gewaschen, über Natriumsulfat getrocknet, filtriert und in vacuo eingedampft, um rohes BzISO₂-norLeu(Cyclo)Gly-Lys(Boc) ψ [COCO]-OH (497 mg) zu ergeben.

TLC: R_f = 0,45, Kieselsäuregel, Ethylacetat/Pyridin/Essigsäure/ Wasser 63/20/6/11 V/V/V/V.

BzISO₂-norLeu(Cyclo)Gly-Lys ψ [COCO]-OH

[0211] BzISO₂-norLeu(Cyclo)Gly-Lys(Boc) ψ [COCO]-OH (497 mg, roh) wurde mit 90% Trifluoressigsäure/Wasser (10 ml) 1 Stunde bei Raumtemperatur behandelt. Die Reaktionsmischung wurde in vacuo konzentriert und der Rückstand in Wasser gelöst und sofort auf eine präparative HPLC DeltaPak RP-C₁₈-Säule unter Verwendung eines Gradientenelutionssystems mit 20% A/80% B/ bis 20% A/45% B/35% C während 45 Minuten mit einer Durchflussrate von 80 ml/min geladen. Ausbeute: 200 mg von BzISO₂-norLeu(Cyclo)Gly-Lys ψ [COCO]-OH.

R_t (LC): 26,7 Minuten; 20% A/80% B/ bis 20% A/20% B/60% C in 40 Minuten.

Beispiel 42 (vergleichend)

H-(N-CH₃)-D-norLeu-Pro-OHBoc-(N-CH₃)-norLeu-Pro-OH

[0212] Diese Verbindung wurde gemäss Beispiel 11 hergestellt. Auf gleiche Weise wie in Beispiel 1 beschrieben, wurde hergestellt: H-(N-CH₃)-D-norLeu-Pro-Lysψ[COCO]-OH. Ausbeute: 69 mg R_t (LC): 13,27 Minuten; 20% A/80% B/ bis 20% A/20% B/60% C in 40 Minuten.

Beispiel 43 (vergleichend)

H-D-Phe-Pro-Lysψ[COCO]-OH

Boc-D-Phe-Pro-OMe

[0213] Zu einer kalten (0°C)-Lösung aus Boc-D-Phe-OH (5 g) in N,N-Dimethylformamid (200 ml) wurden nacheinander 1-Hydroxybenzotriazol (4,29 g), Dicyclohexylcarbodiimid (4,29 g), H-Pro-OMe·HCl (3,1 g) und N-Ethylmorpholin (3 ml) gegeben. Die Mischung wurde 1 Stunde bei 0°C gerührt und dann 2 Tage bei Raumtemperatur gehalten. Die Mischung wurde auf -20°C abgekühlt und Dicyclohexylharnstoff durch Filtration entfernt. Das Filtrat wurde bis zur Trockne eingedampft. Der Rückstand wurde in Ethylacetat gelöst und nacheinander mit 5% Natriumhydrogencarbonat, 0,1 M Chlorwasserstoff-Lösung, gesättigtem wässrigem Natriumchlorid gewaschen, über Natriumsulfat getrocknet und in vacuo konzentriert. Der Rückstand wurde über Kieselsäuregel in Heptan/Ethylacetat 6/4 V/V als Elutionsmittel chromatographiert. Diejenigen Fraktionen, die Boc-D-Phe-Pro-OMe enthielten, wurden gepoolt und eingedampft. Ausbeute: 1,5 g.
TLC: R_f = 0,90, Kieselsäuregel, Ethylacetat/Pyridin/Essigsäure/ Wasser 163/20/6/11 V/V/V/V.

Boc-D-Phe-Pro-OH

[0214] Boc-D-Phe-Pro-OMe (8,3 g) wurde in Dioxan/Wasser = 6/4 V/V (150 ml) gelöst und während 1 Stunde portionsweise mit 2 M Natriumhydroxid-Lösung (16,5 ml) bei Raumtemperatur behandelt, wobei der pH auf 12,5 gehalten wurde. Der Reaktionsmischung wurde eine 2 M Chlorwasserstoff-Lösung bis zu einem pH von 3 zugegeben und die wässrige Schicht mit Ethylacetat extrahiert. Die vereinten organischen Phasen wurden mit Wasser und Lauge gewaschen und über Natriumsulfat getrocknet, filtriert und in vacuo konzentriert, um Boc-D-Phe-OH (6,9 g) zu ergeben.

TLC: R_f = 0,30, Kieselsäuregel, Ethylacetat/Pyridin/Essigsäure/ Wasser 213/20/6/11 V/V/V/V.

[0215] Auf gleiche Weise wie in Beispiel 1 beschrieben, wurde hergestellt: H-D-Phe-Pro-Lysψ[COCO]-OH. Ausbeute: 417 mg

R_t (LC): 16,22 Minuten; 20% A/80% B bis 20% A/20% B/60% c in 40 Minuten.

Beispiel 44 (vergleichend)

H-(N-CH₃)-D-Phe-(N-Cyclopentyl)-Gly-Lysψ[COCO]-OHBoc-(N-CH₃)-D-Phe-(N-Cyclopentyl)-Gly-OH

[0216] Diese Verbindung wurde wie in Beispiel 3 beschrieben unter Verwendung von Boc-(N-CH₃)-D-Phe-OH und HCl-H-(N-cyclopentyl)-Gly-OMe hergestellt.

TLC: R_f = 0,52, Kieselsäuregel, Dichlormethan/Methanol 9/1 V/V.

[0217] Auf gleiche Weise wie in Beispiel 1 beschrieben, wurde hergestellt: H-(N-CH₃)-D-Phe-(N-Cyclopentyl)-Gly-Lysψ[COCO]-OH.

Ausbeute: 87 mg.

R_t (LC): 23,92 Minuten; 20% A/80% B bis 20% A/20% B/60% c in 40 Minuten.

Beispiel 45 (vergleichend)

Ethylsulfonyl-D-Phe-Pro-Lysψ[COCO]-OH

Ethylsulfonyl-D-Phe-Pro-OH

[0218] Diese Verbindung wurde gemäss Beispiel 22 hergestellt.

[0219] Auf gleiche Weise wie in Beispiel 41 beschrieben, wurde hergestellt:

Ethylsulfonyl-D-Phe-Pro-Lysψ[COCO]-OH. Ausbeute: 90 mg.

R_f (LC): 28,04 Minuten; 20% A/80% B bis 20% A/20% B/60% c in 40 Minuten.

Beispiel 46 (vergleichend)

(4aR,8aR)-Perhydroisoquinolin-1(R)-carbonyl-Pro-Lysψ[COCO]-OH

2-Cbz-(4aR,8aR)-Perhydroisoquinolin-1(R)-carbonyl-Pro-OH

[0220] Diese Verbindung wurde wie in Beispiel 20 beschrieben hergestellt.

[0221] Auf gleiche Weise wie in Beispiel 41 beschrieben, wurde hergestellt: (4aR,8aR)-Perhydroisoquinolin-1(R)-carbonyl-Pro-Lysψ[COCO]-OH. Ausbeute: 170 mg.

R_f (LC): 18,95 Minuten; 20% A/80% B bis 20% A/20% B/60% c in 40 Minuten.

Beispiel 47 (vergleichend)

HOOC-CH₂-D-Coa-Pro-Lys-(2-thiazolyl) (Coa = Cyclooctylalanin)

Cyclooctylmethylbromid

[0222] Cyclooctylmethanol (8,16 g) wurde in 47% HBr-Lösung (70 ml) gelöst und unter Rückfluss 1 Stunde auf 130°C erhitzt. Die Reaktionsmischung wurde in Eiswasser gegossen (500 ml) und gesättigte Natriumcarbonat-Lösung (500 ml) wurde zugegeben. Die wässrige Lösung wurde mit Dichlormethan extrahiert. Die vereinten organischen Phasen wurden mit Wasser, Lauge gewaschen und über Natriumsulfat getrocknet, filtriert und in vacuo konzentriert. Der Rückstand wurde über Kieselsäuregel in Toluol als Elutionsmittel chromatographiert. Die Fraktionen, die Cyclooctylmethylbromid enthielten, wurden gepoolt und eingedampft. Ausbeute: 9,85 g. TLC: R_f = 0,95, Kieselsäuregel, Toluol.

(R,S)-Ethyl-2-acetylamino-2-cyano-3-cyclooctylpropionat

[0223] Kalium-tert.-Butylat (6,85 g) und Ethylacetamidocyanoacetat (8,1 g) wurden in Dimethylsulfoxid (100 ml) bei Raumtemperatur gelöst. Cyclooctylbromid wurde in Dimethylsulfoxid (25 ml) bei Raumtemperatur gelöst und der Reaktionsmischung tropfenweise zugegeben. Die Mischung wurde 44 Stunden bei Raumtemperatur gerührt. Nach Eingiessen in 500 ml Wasser wurde das Präzipitat filtriert und getrocknet und ergab (R,S)-Ethyl-2-acetylamino-2-cyano-3-cyclooctylpropionat (2,95 g).

TLC: R_f = 0,95, Kieselsäuregel, Heptan/Ethylacetat = 3/7 V/V.

H-D,L-Cyclooctylalanin-OH·HCl

[0224] (R,S)-Ethyl-2-acetylamino-2-cyano-3-cyclooctylpropionat (2,95 g) wurde in 100 ml einer 20%-igen Chlorwasserstoff-Lösung suspendiert und 22 Stunden unter Reflux erhitzt. Die Reaktionsmischung wurde auf 5°C abgekühlt und das gebildete Präzipitat wurde gefiltert, mit Diethylether gewaschen und getrocknet. Ausbeute: 2,69 g H-D,L-Cyclooctylalanin-OH·HCl (H-D,L-Coa-OH·HCl).

TLC: R_f = 0,27, Kieselsäuregel, Ethylacetat/Pyridin/Essigsäure/ Wasser = 63/20/6/11 V/V/V/V.

[0225] Auf gleiche Weise wie in Beispiel 24 beschrieben, wurde hergestellt: HOOC-CH₂-D-Coa-Pro-Lys-(2-thiazolyl). Ausbeute: 162 mg.

R_f (LC): 38,35 Minuten; 20% A/80% B bis 20% A/20% B/60% c in 40 Minuten.

[0226] Auf gleiche Weise wie in Beispiel 24 beschrieben, wurde hergestellt:

- Beispiel 48 HOOC-CH₂-D-2-Nal-Pro-Lys-(2-thiazolyl) (Nal = Naphthylalanin), Ausbeute: 423 mg R_t (LC): 35,8 Minuten; 20% A/80% B bis 20% A/20% B/60% c in 40 Minuten.
- Beispiel 49 HOOC-CH₂-D-norLeu-Pro-Lys-(2-thiazolyl) (vergleichend) Ausbeute: 344 mg R_t (LC): 24,84 Minuten; 20% A/80% B bis 20% A/20% B/60% c in 40 Minuten.
- Beispiel 50 HOOC-CH₂-D-Leu-Pro-Lys-(2-thiazolyl) (vergleichend) Ausbeute: 138 mg R_t (LC): 24,50 Minuten; 20% A/80% B bis 20% A/20% B/60% c in 40 Minuten.

Beispiel 51

Anti-Thrombin-Assay

[0227] Thrombin (Faktor IIa) ist ein Faktor in der Blutgerinnungskaskade.

[0228] Die anti-Thrombin Aktivität der Verbindungen der vorliegenden Erfindung wurde durch spektrophotometrisches Messen der Hydrolyse-Rate des chromogenen Substrats s-2238 durch Thrombin ermittelt. Dieser anti-Thrombin-Aktivitäts-Assay in einem Puffer-System wurde angewendet, um den IC₅₀-Wert einer Testverbindung zu ermitteln.

[0229] Test-Medium: Tromethamin-NaCl-Polyethylenglycol 6000 (TNP)-Puffer. Referenzverbindung: I2581 (Kabi) Vehikel: TNP-Puffer. Die Löslichkeit kann durch Dimethylsulfoxid, Methanol, Ethanol, Acetonitril oder tert.-Butylalkohol unterstützt werden, die ohne nachteilige Wirkungen in Konzentrationen bis zu 2,5% in der Endreaktionsmischung sind.

[0230] Technische Reagenzien*: 1. Tromethamin-NaCl (TN)-Puffer. Zusammensetzung des Puffers: Tromethamin (Tris) 6,057 g (50 mmol), NaCl 5,844 g (100 mmol), Wasser bis zu 1 l. Der pH der Lösung wird mit HCl (10 mmol·l⁻¹) auf 7,4 bei 37°C eingestellt.

2. TNP-Puffer: Polyethylenglycol 6000 wird in TN-Puffer gelöst, um eine Konzentration 3 g·l⁻¹ zu ergeben.

3. S-2238-Lösung: Ein Reagenzgefäß S-2238 (25 mg; Kabi Diagnostica, Schweden) wird in 20 ml TN-Puffer gelöst, um eine Konzentration von 1,25 mg·ml⁻¹ (2 mmol·l⁻¹) zu ergeben. 4. Thrombin-Lösung: Menschliches Thrombin (16 000 nKat·Gefäß⁻¹ Centraal Laboratorium voor Bloedtransfusie, Amsterdam, Niederlande) wird in TNP-Puffer gelöst, um eine Vorratslösung von 835 nKat·ml⁻¹ zu ergeben. Unmittelbar vor ihrer Verwendung wird die Lösung mit TNP-Puffer verdünnt, um eine Konzentration von 3,34 nKat·ml⁻¹ zu ergeben.

– *Alle Inhaltstoffe werden in analytischer Reinheit verwendet.

– Für wässrige Lösungen wird ultra-reines Wasser (Milli-Q-Qualität) verwendet.

Herstellung der Test- und Referenzverbindungs-lösungen

[0231] Die Test- und Referenzverbindungs-lösungen werden in Milli-Q-Wasser gelöst, um Vorratslösungen von 10⁻² mmol·l⁻¹ zu ergeben. Jede Konzentration wird schrittweise mit dem Vehikel verdünnt, um Konzentrationen von 10⁻³, 10⁻⁴, und 10⁻⁵ mol·l⁻¹ zu ergeben. Die Verdünnungen, einschliesslich der Vorratslösung, werden in dem Assay verwendet (Endkonzentrationen in der Reaktionsmischung: 3·10⁻³, 10⁻³, 3·10⁻⁴, 10⁻⁴, 3·10⁻⁵, 10⁻⁵, 3·10⁻⁶ beziehungsweise 10⁻⁶ mol·l⁻¹).

Verfahren

[0232] Bei Raumtemperatur werden 0,075 ml und 0,025 ml Testverbindung oder Referenzverbindungs-lösungen oder Vehikel abwechselnd in die Vertiefungen einer Mikrotiterplatte pipettiert und diese Lösungen mit 0,115 ml beziehungsweise 0,0165 ml TNP-Puffer verdünnt. Ein Aliquot von 0,030 ml S2238-Lösung wird jeder Vertiefung zugegeben und die Platte wird vorgeheizt und unter Schütteln in einem Inkubator (Amersham) 10 Minuten bei 37°C vorinkubiert. Nach der Präinkubation wurde die Hydrolyse von s-2238 durch Zugabe von 0,030 ml Thrombin-Lösung in jede Vertiefung gestartet. Die Platte wird bei 37°C (unter Schütteln während 30 Sekunden) inkubiert. 1 Minute nach dem Start der Inkubation wurde begonnen die Absorption jeder Probe bei 405 nm alle 2 Minuten während einem Zeitraum von zu 90 Minuten unter Verwendung eines kinetischen Mikrotiterplatten-Lesegeräts (Twinreader plus, Flow Laboratories) zu messen.

[0233] Alle Daten wurden in einem IBM Personal Computer unter Anwendung von LOTUS MEASURE gemessen. Für jede Verbindungskonzentration (ausgedrückt in mol·l⁻¹ Reaktionsmischung) und für die Leerprobe wurde die Absorption gegen die Reaktionszeit in Minuten aufgetragen.

[0234] Bewertung der Antworten: Für jede Endkonzentration wurde die maximale Absorption mit Hilfe der As-

say-Kurve berechnet. Der IC_{50} -Wert (Endkonzentration, ausgedrückt in μml^{-1} , 50% Inhibition der maximalen Absorption der Leerprobe verursachend) wurde unter Anwendung der Logit-Transformationsanalyse nach Hafner et al. (Arzneim.-Forsch./Drug Res. 1977; 27(II): 1871-3) berechnet.

[0235] In der folgenden Tabelle werden die der erfindungsgemässen IC_{50} -Werte der Verbindungen aufgeführt:

Beispiel	IC_{50} -Werte (μM)
2 (e)	4, 5
4 (b)	4, 34
39	19
41	0, 135

Patentansprüche

1. Ein nicht-langsam-bindender Thrombin-Inhibitor der Formel:

A-B-C-Lys-D,

worin

A H, R_1 , R_1 -O-CO-, R_1 -CO-, R_1 -SO₂-, $-(CHR_2)_n$ COOR₃ oder eine N-Schutzgruppe ist,

worin

R_1 ausgewählt wird aus der Gruppe bestehend aus (1-12C)Alkyl, (2-12C)Alkenyl, (6-14C)Aryl, (7-15C)Aralkyl und (8-16C)Aralkenyl, worin die Arylgruppe durch (1-6C)Alkyl, (2-12C)Alkoxy, Hydroxy oder ein Halogen substituiert sein kann;

R_2 H ist oder die gleiche Bedeutung wie R_1 hat;

R_3 ausgewählt wird aus der Gruppe bestehend aus H, (1-12C)Alkyl, (2-12C)Alkenyl, (6-14C)Aryl, (7-15C)Aralkyl und (8-16C)Aralkenyl, worin die Arylgruppe durch (1-6C)Alkyl, (2-12C)Alkoxy, Hydroxy- oder durch ein Halogen substituiert sein kann;

n eine ganze Zahl von 1 bis 3 ist;

B eine Bindung ist, L-Asp oder ein Esterderivat davon ist, -N(Benzyl)-CH₂-Co-, D-Tiq, Atc, D-Cyclohexylalanin oder eine D-Aminosäure mit einer hydrophoben aromatischen Seitenkette;

C ein Pro oder eine Aminosäure einer der Formeln -N[(3-6C)Cyloalkyl]-CH₂-CO- oder -N(Benzyl)-CH₂-CO- ist:

D ausgewählt wird aus der Gruppe bestehend aus Thiazol und Benzothiazol;

oder ein Prämedikament davon, worin die Prämedikamente durch N-Alkoxy-carbonyl geschützte Derivate der allgemeinen Formel sind;

oder ein pharmazeutisch verträgliches Salz davon.

2. Der nicht-langsam-bindende Thrombin-Inhibitor von Anspruch 1, worin D Thiazol ist.

3. Der nicht-langsam-bindende Thrombin-Inhibitor von Anspruch 2, worin A H ist, (1-12C)Alkyl, -CO-(7-15C)Aralkyl, -SO₂-(6-14C)Aryl, -SO₂-(7-15C)Aralkyl, -SO₂-(1-12C)Alkyl, - (CHR₂)_nCOOR₃, worin R_2 H oder (1-12C)Alkyl ist und R_3 H, (1-12C)Alkyl oder Benzyl ist; und C Pro oder -N[(3-6C)Cyloalkyl]-CH₂-CO- ist.

4. Der nicht-langsam-bindende Thrombin-Inhibitor von Anspruch 3, worin A $-(CH_2)_n$ COOR₃ ist, B D-Cyclohexylalanin oder D-Phe ist, das gegebenenfalls durch Alkoxy oder ein Halogen monosubstituiert ist; und C Pro ist.

5. Der nicht-langsam-bindende Thrombin-Inhibitor, von Anspruch 4, der HOOC-CH₂-D-Cha-Pro-Lys-(2-Thiazolyl) ist.

6. Verfahren zur Herstellung eines nicht-langsam-bindenden Thrombin-Inhibitors nach Anspruch 1, worin das Verfahren das Koppeln geeigneter geschützter Aminosäuren oder Aminosäure-Analoga, gefolgt vom Entfernen der Schutzgruppen umfasst.

7. Pharmazeutische Zusammensetzung, welche den nicht-langsambindenden Thrombin-Inhibitor nach einem der Ansprüche 1–5 und pharmazeutisch verträgliche Hilfsmittel umfasst.

8. Der nicht-langsam-bindende Thrombin-Inhibitor nach einem der Ansprüche 1–5. für eine Anwendung in

einer Therapie.

Es folgt kein Blatt Zeichnungen