

(19)



SUOMI - FINLAND

(FI)

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

(10) **FI 931415 A7**

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

(21) Patentihakemus - Patentansökan - Patent application **931415**

(51) Kansainvälinen patenttiluokitus - Internationell patentklassifikation -
International patent classification
**C07K 5/027
C07K 5/08**

(22) Tekemispäivä - Ingivningsdag - Filing date **29.03.1993**

(23) Saapumispäivä - Ankomstdag - Reception date **29.03.1993**

(41) Tullut julkiseksi - Blivit offentlig - Available to the public **02.10.1993**

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

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

01.04.1992 CH 1052/92

(71) Hakija - Sökande - Applicant

1 • CIBA-GEIGY AG, TOWN UNKNOWN, SVEITSI, (CH)

(72) Keksijä - Uppfinnare - Inventor

1 • Bold, Guido, Gipf-Oberfrick, SVEITSI, (CH)

2 • Fässler, Alexander, Switzerland, SVEITSI, (CH)

3 • Lang, Marc, Mulhouse, RANSKA, (FR)

4 • Schneider, Peter, Bottmingen, SVEITSI, (CH)

(74) Asiamies - Ombud - Agent

Oy Jalo Ant-Wuorinen Ab, Iso Roobertinkatu 4 - 6 A, 00120 Helsinki

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

Morfolin- ja tiomorfolin-4-ylIAMIDIT

Morfolin- och tiomorfolin-4-ylamider

Morfolin- ja tiomorfolin-4-yyliamidit

Keksintö koskee aspartaattiproteaaseilla lohkaistavien
5 peptidien ei-hydrolysoituvia analogeja, nimittäin 5-ami-
no-4-hydroksi-heksanoyyli-valyyli-fenyyli-alanyylijohdan-
naisia, menetelmiä niiden valmistamiseksi, näitä pepti-
dianalogeja sisältäviä farmaseuttisia valmisteita ja nii-
den käyttöä lääkeaineina tai farmaseuttisten valmisteiden
10 valmistamiseksi retrovirusten aiheuttamien sairauksien
torjumiseksi.

AIDS on tämänhetkisen tietämyksen mukaisesti lentiviruk-
siin kuuluvan retroviruksen HIV ("human immunodeficiency
15 virus") aiheuttama immuunijärjestelmän sairaus. Tämä sai-
raus koskee WHO:n arviointien mukaisesti n. 10 miljoonaa
ihmistä ja se leviää yhä edelleen. Sairaus johtaa käytän-
nöllisesti katsoen aina potilaan kuolemaan. Tehokas hoi-
to, joka johtaa paranemiseen, ei ole tällä hetkellä mah-
20 dollista.

AIDS alkaa "T4-auttaja/indusoija"-lymfosyyttien selektiivisellä vähenemisellä, jolloin esiintyy vaikeita komplikaatioita, jotka perustuvat immuunijärjestelmän vähentyneeseen suorituskykyyn, kuten opportunistisia infektiota.
25

Tähän asti on voitu identifioida retrovirukset HIV-1 ja HIV-2 (HIV:n merkitys "human immunodeficiency virus")
30 sairauden etiologiseksi aineeksi ja karakterisoida ne molekyylibiologisesti.

Terapeuttiset yritykset hoidon suhteen perustuvat ensisijaisesti molekyylibiologisiin tietoihin. Etenkin sellaisten valmisteiden etsiminen on mielenkiintoista, jotka
35 haittaavat itse viruksen lisääntymistä vahingoittamatta potilaan terveitä soluja ja kudoksia. Tähän asti yksinomaan käänteistransskriptaasin, HIV:lle spesifisen ent-

5 syymin, jota tarvitaan HIV:n perimän luovuttamiseksi edelleen, estoaineita, on terapeuttisina aineina markkinoilla tai edistyneessä tutkimuksessa, esimerkiksi AZT (atsidotymidiini). Tällä yhdisteellä on kuitenkin useita vakavia sivuvaikutuksia.

10 Uudemman yrityksen päämääränä on löytää yhdisteitä, jotka salpaavat viruksen lisääntymisen siten, että ne estävät infektioosisten virushiukkasten yhdistymisen. Tämä on mahdollista siten, että viruksen kehittymiseen tarvittavien virusproteiinien normaali prosessointi estetään siten, että käytetään määrättyjä kemoterapeuttisia aineita.

15 HIV-1:llä ja HIV-2:lla on kulloinkin niiden genomissa alue, joka koodaa HIV-proteaasi:a. Tämä HIV-proteaasi on vastuussa esiasteproteiinien oikeasta proteolyttisestä lohkaisusta, jotka ovat lähtöisin ryhmäspesifisiä anti-geenejä ("Group Specific Antigens", gag) ja virusentsyymejä (pol) koodaavista genomiosista. Tällöin vapautuu mm. 20 virusytimen, englanniksi "core", rakenneproteiineja. Itse HIV-proteaasi on sen HIV-1:n ja HIV-2:n pol-genomiosalla koodatun esiasteproteiinin osa, joka sisältää myös käänteistransskriptaasin ("Reverse Transcriptase") ja integraasin osat ja oletettavasti lohkaistaan autoproteolyttisesti. 25

HIV-proteaasi lohkaisee HIV-1:n ja HIV-2:n pääydinproteiinin ("Major Core Protein") p24 ensisijaisesti proliinitähteiden N-päässä, esim. kaksiarvoisissa ryhmissä 30 Phe-Pro, Leu-Pro ja Tyr-Pro. Tällöin on kysymyksessä proteaasi, jossa on katalyyttisesti aktiivinen aspartaattitähde aktiivisessa keskuksessa, niin kutsuttu aspartaattiproteaasi.

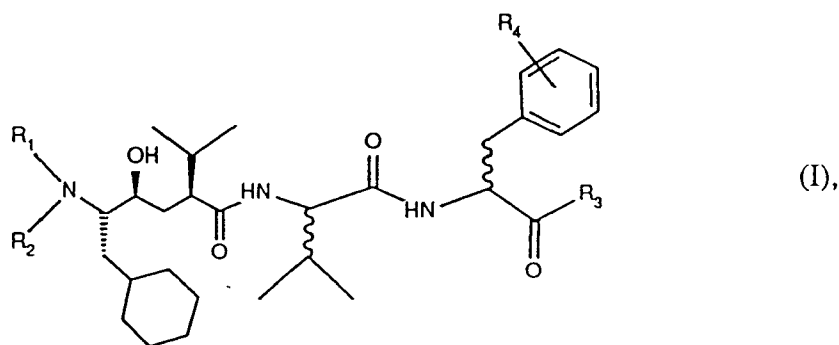
35 HIV-proteaasin keskeisen merkityksen johdosta mainittujen ydinproteiinien ("Core Proteine") käsittelyssä lähdetään siitä, että tämän entsyymin tehokas inhibointi in vivo

ehkäisee kypsien virionien yhdistymisen, niin että vastaavia inhibiittoreita voidaan käyttää terapeuttisesti.

Edellytyksenä terapeuttiselle vaikutukselle in vivo on viruslisääntymisen hyvän eston aikaansaaminen solukokeissa ja hyvä biologinen soveltuvuus, esim. hyvä veren taso riittävän suurien konsentraatioiden aikaansaamiseksi kehossa infektoituneissa soluissa.

Tämän keksinnön päämääränä on saada käyttöön uusia retroviraalisten proteaasien, etenkin HIV-1-aspartaattiproteaasin estoaineita, jotka sisältävät tällaisella proteaasilla, etenkin HIV-1-proteaasilla lohkaisemattoman peptidi-isosteerin, ovat erittäin vaikuttavia solukokeissa jo alhaisissa konsentraatioissa ja saavat aikaan annettaessa niitä oraalisesti tai parenteraalisesti veressä sellaisia konsentraatioita, että solukokeessa selvitettyjen vaikuttavien konsentraatioiden perusteella on odotettavissa in vivo vaikutus retroviruksia, etenkin HIV:tä, erityisesti HIV-1:tä vastaan. Näitä yhdisteitä on siten pidettävä mainittujen sairauksien terapeuttisina aineina.

Keksinnön mukaiset yhdisteet ovat kaavan I



mukaisia yhdisteitä sekä näiden yhdisteiden suoloja, mikäli esiintyy suolanmuodostavia ryhmiä, jossa kaavassa R_1 merkitsee vetyä tai alempialkyyliä, R_2 merkitsee vetyä, alempialkyyliä, alempialkoksikarbonyyliä, fenyyli- tai

naftyyli-alempialkoksikarbonyyliä, heterosyklyylikarbonyyliä, jossa heterosyklyyli sisältää 5 tai 6 rengasatomia, on tyydyttynyt ja sitoutunut rengastyyppiatomin kautta karbonyyliryhmään ja sisältää rengasjäsenenä sitovan tyyppiatomin lisäksi yhden tai useamman heteroatomin, joita ovat substituoimaton tai C_1 - C_4 -alkyyliähteellä substituoitu NH, O, S, S=O tai SO_2 , alempialkanoyyliä, fenyyli- tai naftyylialempialkanoyyliä tai alempialkaanisulfonyyliä, R_3 merkitsee morfolinoa, tiomorfolinoa, S-okso-tiomorfolinoa tai S,S-dioksotiomorfolinoa, jolloin tähteellä heterosyklyyli heterosyklyylikarbonyylissä R_2 on sama merkitys kuin tähteellä R_3 tai tähteestä R_3 poikkeava merkitys, ja R_4 merkitsee vetyä, hydroksia, C_1 - C_4 -alkoksia, syanoa, trifluorimetyyliä tai fluoria.

Tämän keksinnön selityksessä ryhmien tai tähteiden, esim. alempialkyylin, alempialkoksikarbonyylin jne. määrittelyssä käytetty käsite "alempi" merkitsee sitä, että näin määritellyt ryhmät tai tähteet, mikäli toisin ei ole nimenomaan määriteltä, sisältävät korkeintaan 7 ja etenkin korkeintaan 4 C-atomia ja ne voivat olla suoraketjuisia tai haarautuneita kolmen tai useamman C-atomin esiintyessä.

Asymmetriset hiiliatomit substituentteissa R_1 tai R_2 tai kaavassa I aaltomaisilla sidoksilla substituentteistaan liitetyt hiiliatomit esiintyvät toisistaan riippumatta (R)-, (S)- tai (R,S)-konfiguraatiossa. Siten nämä yhdisteet voivat esiintyä isomeeriseoksina tai puhtaina isomeereinä, etenkin diastereomeeriseoksina, enantiomeeripareina tai puhtaina enantiomeereinä.

Tämän keksinnön selityksessä käytetyillä yleisillä käsitteillä tai nimityksillä on edullisesti seuraavat merkitykset, jolloin tähteiden edellä tai seuraavassa esitetyistä määrittelyistä voidaan käyttää mielivaltaisia yh-

distelmiä tai yksittäistähteitä yleisten määritysten sijasta:

- 5 Alempialkyyli R_1 tai R_2 merkitsee suoraketjuista tai haara-
- rautunutta tähdettä, esim. metyyliä, etyyliä, n-propyyliä, isopropyyliä, n-butyliä, sek-butyliä, tert-butyliä, pentyyliä, kuten isopentyyliä, neopentyyliä, heksyyliä, kuten n-heksyyliä, tai heptyyliä, kuten n-heptyyliä, jolloin R_1 tai R_2 voivat olla samanlaisia tai erilaisia.
- 10 Edullisesti R_1 on vety ja R_2 on alempialkyyli, etenkin metyyli, etyyli tai tert-butyli, tai alempialkyyli R_1 ja R_2 ovat samanlaisia, esim. metyyli tai etyyli.
- 15 Alempialkoksikarbonyyli R_2 sisältää edullisesti haarautuneen alempialkyyliähteen, etenkin sek- tai tert-alempialkyyliähteen ja se on esim. butoksikarbonyyli, kuten tert-butoksikarbonyyli tai isobutoksikarbonyyli. Etenkin edullinen on tert-butoksikarbonyyli.
- 20 Fenyylialempialkoksikarbonyyli R_2 sisältää edullisesti pääteasemassa alempialkyyliähteeseen sitoutuneen fenyyliähteen ja se on esim. bentsyylioksikarbonyyli.
- 25 Naftyylialempialkoksikarbonyyli R_2 sisältää edullisesti pääteasemassa alempialkyyliähteeseen sitoutuneen naftyyliähteen ja se on esim. 1- tai 2-naftyylioksikarbonyyli.
- 30 Heterosyklyylikarbonyylissä R_2 oleva heterosyklyyli, joka sisältää 5 tai 6 rengasatomia, on tyydyttynyt ja sitoutunut rengastyppiatomin kautta karbonyyliryhmään ja sisältää sitovan typpiatomin lisäksi rengasjäsenenä yhden tai useampia, etenkin korkeintaan 3 muuta heteroatomia, joita ovat substituomaton tai C_1 - C_4 -alkyyliähteellä substituoitu NH, O, S, S=O tai SO_2 , on edullisesti imidatsol-
- 35 yyli, piperatsino, N- C_1 - C_4 -alkyyli-piperatsino, esim. N-metyyli- tai N-etyylipiperatsino, N-sitoutunut triatsolyyli, esim. N-sitoutunut 1,2,3,- tai 1,2,4-triatsolyyli,

N-sitoutunut tetratsolyyli, esim. tetratsol-1-yyli tai -2-yyli, morfolino, tiomorfolino, S-oksotiomorfolino tai S,S-dioksotiomorfolino. Etenkin edullinen heterosyklyyli-karbonyylinä R_2 on morfolinokarbonyyli.

5

Alempialkanoyyli R_2 on haarautunut tai haarautumaton ja se on esim. asetyyli, propionyyli tai n-butyryyli, edelleen pivaloyyli, heksanoyyli tai heptanoyyli.

10

Fenyylialempialkanoyyli R_2 sisältää alempialkanoyylin, kuten on määritelty alempialkanoyylin R_2 yhteydessä, ja se on substituoitu edullisesti pääteasemassa fenyyllillä ja on esim. fenyyliasetyyli ja edelleen bentsoyyli.

15

Naftyylialempialkanoyyli R_2 sisältää alempialkanoyylin, kuten on määritelty alempialkanoyylin R_2 yhteydessä, ja se on substituoitu edullisesti pääteasemassa 1- tai 2-naftyyllillä ja on esim. 1- tai 2-naftyyliasetyyli tai 1- tai 2-naftoyyli.

20

Alempialkaanisulfonyyli R_2 sisältää alempialkyylin, kuten yllä on määritelty tähteiden R_1 ja R_2 yhteydessä, ja se on esim. metaani- tai etaani-sulfonyyli.

25

R_3 on morfolino, tiomorfolino, S-oksotiomorfolino tai S,S-dioksotiomorfolino, etenkin morfolino tai tiomorfolino. Etenkin edullisesti heterosyklyylinä R_3 on morfolino.

30

Heterosyklyylikarbonyylissä R_2 oleva tähde heterosyklyyli on edullisesti samanlainen kuin R_3 , mutta se voi olla myös erilainen.

35

Substituentti R_4 on sitoutunut o-, m- tai p-asemassa fenyyliarenkaaseen, edullisesti o- tai p-asemassa, etenkin p-asemassa ja se merkitsee eräässä edullisessa suoritusmuodossa vetyä, C_1 - C_4 -alkoksia, syanoa tai fluoria, etenkin vetyä.

C_1 - C_4 -alkoksi R_4 on etenkin metoksi tai etoksi.

Kaavan I mukaisten yhdisteiden suolat ovat etenkin happo-additiosuoloja, suoloja, jotka on muodostettu emästen
 5 kanssa, tai useamman suolan muodostavan ryhmän esiintyessä mahdollisesti myös sekasuoloja tai sisäisiä suoloja.

Suolat ovat ensisijaisesti kaavan I mukaisten yhdisteiden farmaseuttisesti käyttökelpoisia, annoksen mukaisessa
 10 käytössä ei-toksisia suoloja.

Tällaiset suolat muodostetaan esimerkiksi kaavan I mukaisista, yhden tai useamman happaman ryhmän, esim. karboksiryhmän sisältävistä yhdisteistä ja ne ovat esimerkiksi
 15 niiden suoloja, jotka muodostetaan sopivien emästen kanssa, kuten ei-toksisia, alkuaineiden jaksollisen järjestyksen ryhmien Ia, Ib, IIa ja IIb metalleista muodostettuja metallisuoloja, ensisijaisesti sopivia alkalimetalli-, esim. litium-, natrium- tai kalium-, tai maa-alkali-
 20 metallisuoloja, esim. magnesium- tai kalsiumsuoloja, edelleen sinkkisuoloja tai ammoniumsuoloja, myös sellaisia suoloja, jotka on muodostettu orgaanisten amiinien, kuten mahdollisesti hydroksilla substituoitujen mono-, di- tai trialkyyliamiinien, etenkin mono-, di- tai trialempialkyyliamiinien, tai kvaternaaristen ammoniumyhdisteiden kanssa, esim. N-metyyli-N-etyyliamiinin, dietyyliamiinin, trietyyliamiinin, mono-, bis- tai tris-(2-hydroksialempialkyyli)-amiinien, kuten mono-, bis- tai tris-(2-hydroksietyyli)-amiinin, 2-hydroksi-tert-butyyliamiinin tai tris(hydroksimetyyli)-metyyliamiinin, N,N-dialempialkyyli-N-(hydroksialempialkyyli)-amiinien, kuten N,N-dimetyyli-N-(2-hydroksietyyli)-amiinin tai tris-(2-hydroksietyyli)-amiinin, N-metyyli-D-glukamiinin tai kvaternaaristen ammoniumsuolojen, kuten tetrabutyyliammonium-
 35 suolojen kanssa. Kaavan I mukaiset, yhden tai useamman emäksisen ryhmän, esim. amino- tai iminoryhmän sisältävät yhdisteet voivat muodostaa happoadditiosuoloja, esimer-

kiksi epäorgaanisten happojen, esim. halogeenivetyhapon, kuten suolahapon, rikkihapon tai fosforihapon kanssa, tai orgaanisten karboksyyli-, sulfoni-, sulfo- tai fosforihappojen tai N-substituoitujen sulfamiinihappojen, kuten

5 esim. etikkahapon, propionihapon, glykolihapon, meripihkahapon, maleiinihapon, hydroksimaleiinihapon, metyyylimaleiinihapon, fumaarihapon, omenahapon, viinihapon, glukonihapon, glukarhapon, glukuronihapon, sitruunahapon, bentsoehapon, kanelihapon, mantelihapon, salisyylihapon,

10 4-aminosalisyylihapon, 2-fenoksibentsoehapon, 2-asetoksibentsoehapon, embonihapon, nikotiinihapon tai isonikotiinihapon kanssa, edelleen aminohappojen, kuten esim. glutamiinihapon tai asparagiinihapon kanssa, sekä metaanisulfonihapon, etaanisulfonihapon, 2-hydroksietaanisulfonihapon, etaani-1,2-disulfonihapon, bentseenisulfonihapon, 4-metyyllibentseenisulfonihapon, naftaleeni-2-sulfonihapon, 2- tai 3-fosfoglyseraatin, glukoosi-6-fosfaatin, N-sykloheksyyliisulfamiinihapon (jolloin muodostuu syklamaatteja) tai muiden happamien orgaanisten yhdisteiden, kuten askorbiinihapon kanssa. Kaavan I mukaiset,

20 happamia ja emäksisiä ryhmiä sisältävät yhdisteet voivat muodostaa myös sisäisiä suoloja.

Eristykseen ja puhdistukseen voidaan käyttää myös farmaseuttisesti sopimattomia suoloja.

25

Tämän keksinnön mukaisilla yhdisteillä on estovaikutus retroviraalisiin aspartaattiproteaaseihin, etenkin HIV-proteaasia estäviä vaikutuksia. Ensisijaisesti ne estävät

30 seuraavassa selitettävässä testissä konsentraatioissa, joiden IC_{50} -arvot ovat 10 - 1000 nM, etenkin 10 - 100 nM, HIV-1:n HIV-proteaasin vaikutuksen ja tästä syystä ne ovat sopivia aineita näiden tai läheisten retrovirusten aiheuttamia sairauksia, kuten AIDS:ia vastaan.

35

Kaavan I mukaisten yhdisteiden kyky inhiboida esim. HIV-1-proteaasin proteolyyttinen aktiivisuus voidaan osoittaa

esimerkiksi menetelmän mukaisesti, jonka ovat esittäneet A. D. Richards et al. julkaisussa J. Biol. Chem. 265(14), 7733 - 7736 (1990). Tällöin yhdistelmä-HIV-1-proteaasin (valmistus: Billich, S., et al., J. Biol. Chem. 263(34), 17905 - 17908 (1990)) substraattina käytetään synteettistä kromoforista peptidiä (esim. HKARVL[NO₂]FEANleS (Bachem, Sveitsi, vrt. M. W. Pennington et al., Peptides 1990, ed.: E. Girault and D. Andrew (1991), ESCOM Sci. Publ. B. V., s. 787 - 789) tai ikosapeptidiä, kuten RRSNQVSQNYPIVQNIQGRR (valmistettu peptidisynteesillä tunnettujen menetelmien mukaisesti: J. Schneider et al., Cell 54, 363 - 368 (1988)), joka vastaa gag-esiasteproteiinin jotakin lohkaisukohtaa. Tämä substraatti ja sen lohkaisutuotteet voidaan mitata korkeapainenestekromatografialla (HPLC).

Testattava kaavan I mukainen estoaine liuotetaan esimerkiksi dimetyylisulfoksiidiin; suoritetaan entsyymitestin, että estoaineen sopivia laimennuksia 20 mM β -morfolinoetaanisulfonihappo- (MES)-puskurissa, pH 6,0, lisätään analyysiseokseen, joka sisältää 67,2 μ M yllä mainittua kromoforista peptidiä 0,3 M natriumasetaatissa, 0,1 M NaCl:ssä, pH 7,4, tai 122 μ M yllä mainittua ikosapeptidiä 20 mM MES-puskurissa, pH 6,0. Eriksen suuruus on kulloinkin 100 μ l. Reaktio käynnistetään lisäämällä ensiksi mainitussa tapauksessa 2 μ l, toisessa tapauksessa 10 μ l HIV-I-proteaasia ja pysäytetään ensiksi mainitussa tapauksessa 15 minuutin kuluttua lisäämällä 100 μ l 0,3 M HClO₄:ää, toisessa tapauksessa tunnin ajan 37°C:ssa kestäneen inkubaation jälkeen lisäämällä 10 μ l 0,3 HClO₄:ää. Näyte sentrifugoidaan pois 5 minuutin ajan 10.000 x g:ssä ja 100 μ l (erä, jossa on kromoforista peptidiä) tai vast. 20 μ l (ikosapeptidierä) saatua supernatanttia levitetään 125 x 4,6 mm:n Nucleosil® C18-5 μ -HPLC-pylväälle (Macherey & Nagel, Düren) ja eluoidaan, minkä jälkeen reaktiotuotteet kvantifoidaan lohkaisutuotteen piikinkorkeuden perusteella 280 (erä, jossa on kromoforista peptidiä) tai 215

nm:ssa (erä, jossa on ikosapeptidiä), gradientti: 100 %
 E1.1 -> 50 % E1.1/50 % E1.2 (E1.1: 75 % asetonitriiliä,
 90 % H₂O:ta, 0,1 % trifluorietikkahappoa (TFA); E1.2: 75 %
 asetonitriiliä, 25 % H₂O:ta, 0,08 % TFA:ta) 15 minuutin
 5 kuluessa; läpivirtausnopeus 1 ml/min.

Tällöin kaavan I mukaisten yhdisteiden IC₅₀-arvoiksi saa-
 daan etenkin (IC₅₀ = konsentraatio, joka alentaa HIV-1-
 proteaasin aktiviteettiä ilman estoainetta esiintyvän
 10 kontrollin suhteen 50 %:illa) saadaan edullisesti n. 10⁻⁸
 - 10⁻⁶ M, etenkin 10⁻⁸ - 10⁻⁷ M.

Eräässä toisessa testissä voidaan osoittaa, että tämän
 keksinnön mukaiset yhdisteet suojaavat soluja, jotka HIV
 15 normaalisti infektoi, tällaiselta infektiolta tai ainakin
 hidastavat tällaista infektiota. Tällöin ihmisen T-solu-
 leukemia-solulinjaa MT-2 (Science 229, 563 (1985)), jotka
 ovat herkkiä HIV:n sytopatogeenisen vaikutuksen suhteen,
 inkuboidaan HIV-1:n kanssa yksinään tai HIV-1:n kanssa
 20 keksinnön mukaisten yhdisteiden läsnäollessa ja arvioi-
 daan muutaman päivän kuluttua näin käsiteltyjen solujen
 elinkykyisyys. Tätä varten MT-2-solut pidetään 37°C:ssa
 kosteassa ilmassa, joka sisältää 5 % CO₂:ta, RPMI 1640-
 alustassa (Gibco, Sveitsi; RPMI 1640 sisältää aminohap-
 25 poseoksen ilman L-Gln:ää), jota on täydennetty 10 %:illa
 lämpöinaktivoitua fetaalista vasikanseerumia, L-gluta-
 miinilla, Hepesillä (2-[4-(2-hydroksietyyli)-1-piperat-
 sino]-etaanisulfoni-happo) ja vakioantibiooteilla. 50 µl
 kulloinkin kyseessä olevaa testiyhdistettä viljelyalus-
 30 tassa ja 100 µl HIV-1:tä viljelyalustassa (800 TCID₅₀/ml)
 (TCID₅₀ = Tissue Culture Infectious Dose 50 = annos, joka
 infektoi 50 % MT-2-soluista) laitetaan 4 x 10³ eksponen-
 tiaalisesti kasvavaan MT-2-soluun 50 µl:ssa viljelyalus-
 taa syvennystä kohden 96-koloisille mikrotiitterilevyil-
 35 le. Rinnakkaisiin eriin toisella mikrotiitterilevyllä,
 jossa on soluja ja testiyhdistettä, laitetaan 100 µl vil-
 jelyalustaa ilman virusta. 4 päivää kestävän inkuboinnin

jälkeen selvitetään 10 μ l:ssa solusupernatanttia käänteistranskripti- (RT) -aktiivisuus. RT-aktiivisuus määritetään seoksessa, jossa on 50 mM Tris:iä (α, α, α -tris(hydroksimetyyli)-metyyliamiini, Ultra pur, Merck, Saksan Liittotasavalta), pH 7,8; 75 mM KCl:ää, 2 mM di-
 5 tiotreitolia, 5 mM $MgCl_2$:ta, 0,05 % Nonidet P-40:tä (detergentti; Sigma, Sveitsi), 50 μ g/ml Polyadenylic Acid:ia (Pharmacia, Ruotsi), 1,6 μ g/ml dT(12-18):aa (Sigma, Sveitsi). Seos suodatetaan 0,45 μ :n Acrodisc-suodattimen
 10 (Gelman Sciences Inc, Ann Arbor) läpi ja säilytetään -20°C:ssa. Tämän liuoksen määräeriin lisätään 0,1 % (v/v) [alfa- ^{32}P]dTTP:tä, jotta radioaktiiviseksi loppuaktiivisuudeksi saadaan 10 μ Ci/ml. 10 μ l viljelysuperna-tanttia siirretään uudelle 96-koloiselle mikrotiitterilevylle ja
 15 tähän lisätään 30 μ l mainittua RT-seosta. Sekoittamisen jälkeen levyä inkuboidaan 1,5 - 3 tunnin ajan 37°C:ssa. 5 μ l tätä reaktioseosta siirretään DE81-paperille (Whatman). Kuivatettuja suodattimia pestään 3 kertaa 5 minuutin ajan 300 mM NaCl/25 mM tri-natriumsitraatilla ja 1
 20 kerran 95%:isella etanolilla ja kuivatetaan uudelleen ilmassa. Arviointi tapahtuu Matrix Packard 96well counter-laitteella (Packard, Zürich, Sveitsi). ED90-arvot lasketaan ja ne määritetään kulloinkin kyseessä olevan testiyhdisteen alhaisimpana konsentraationa, joka vähentää RT-aktiivisuutta 90 %:illa verrattuna testiaineella
 25 käsittelemättömiin solueriin. RT-aktiivisuus on tällöin HIV-1-lisääntymisen mitta.

Keksinnön mukaisten yhdisteiden ED90 on tällöin edullisesti 10^{-8} - 10^{-6} M, etenkin 10^{-8} M - 10^{-7} M.

Tämän keksinnön mukaisilla yhdisteillä on edullisia farmakokineettisiä ominaisuuksia, joista voidaan odottaa, että ne kehittävät in vivo mainitut estovaikutukset. Si-
 35 ten esimerkiksi veren taso annettaessa intravenoosisesti tai intraperitoneaalisesti 20 mg/kg jotakin mainituista yhdisteistä hiirissä 1 tunnin kuluttua antamisesta on

suunnilleen samanlainen tai korkeampi kuin ED90 soluanalyysissä.

5 Annettaessa peroraalisesti 120 mg/kg jotakin mainituista yhdisteistä voidaan 30 minuutin kuluttua antamisesta havaita hiiren veressä konsentraatioita, jotka ovat samoin suurempia kuin ED90 soluanalyysissä, etenkin suunnilleen kymmenkertainen soluanalyysin ED90-arvon suhteen.

10 Veren tason määrittäminen suoritetaan esimerkiksi seuraavasti. Tutkittavat yhdisteet liuotetaan liuottimeen, kuten DMSO:hon (dimetyylisulfoksidi). Lisätään liuos, jossa on hydroksipropyli- β -syklodekstriiniä (20 % w/v) vedessä, kunnes saadaan vaikuttavan aineen haluttu konsentraatio
15 (esimerkiksi 2 mg/ml parenteraalisesti, 12 mg/ml oraalisesti) säätämällä samalla DMSO:n 5%:inen konsentraatio (v/v). Yhdisteitä, jotka ovat näissä olosuhteissa liukenemattomia, käytetään ainoastaan intraperitoneaalisesti, liukenevia yhdisteitä lisäksi intravenoosisesti. Yhdisteiden antamisen jälkeen (esimerkiksi 20 mg/kg intravenoosisesti tai intraperitoneaalisesti tai 120 mg/kg peroraalisesti) otetaan verta eri ajankohtina, esim. 30 tai 60 minuutin kuluttua. Ajankohtaa kohden käytetään kolmen hiiren verta ja supernatantti otetaan talteen joko
25 jokaiselle hiirelle yksinään tai kolmen hiiren yhdisteytystä verestä sen jälkeen, kun on lisätty liuotinta, esim. asetonitriiliä ja sentrifugoitu. Vaikuttavan aineen konsentraatio mitataan HPLC:n avulla, esimerkiksi Nucleosil®5C₁₈-pylväällä (Macherey-Nagel), jonka pituus on 120
30 mm ja läpimitta 4,6 mm, käyttämällä ajoaineena joko 60 % asetonitriiliä/40 % vettä/0,05 % trifluorietikkahappoa (v/v) tai 50 % asetonitriiliä/40 % vettä/0,05 % trifluorietikkahappoa (v/v) (virtausnopeus 1 ml/min.) ilmaisemalla ja kvantifioimalla 200 nm:ssa.

35

Kaavan I mukaisten yhdisteiden seuraavissa mainituissa ryhmissä voidaan käyttää mielekkäällä tavalla, esim.

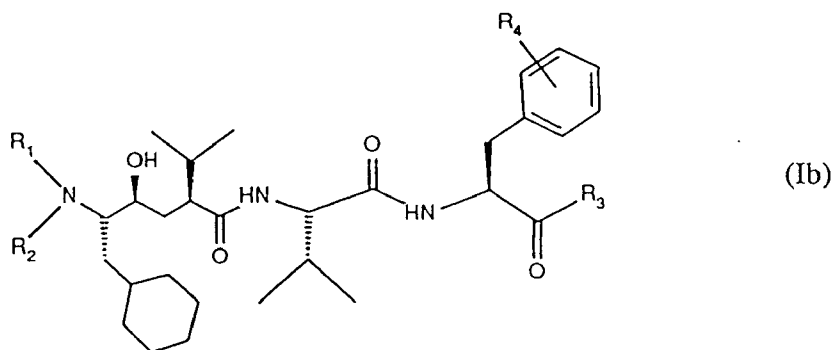
yleisten määritelmien korvaamiseksi erityisillä määritelmillä, tähteiden määritelmiä yllä mainituista yleisistä määritelmistä.

- 5 Edullisia ovat kaavan I mukaiset yhdisteet tai tällaisten suolan muodostavia ryhmiä sisältävien yhdisteiden farmaseuttisesti käyttökelpoiset suolat, joissa R_1 merkitsee vetyä, R_2 merkitsee vetyä, alempialkoksikarbonyyliä, etenkin sek- tai tert-alempialkyyli-oksikarbonyyliä, esim.
- 10 butoksikarbonyyliä, kuten tert-butoksikarbonyyliä tai isobutoksikarbonyyliä, erityisen edullisesti tert-butoksikarbonyyliä, tai heterosyklyylikarbonyyliä, jossa heterosyklyyli sisältää 5 tai 6 rengasatomia, on tyydyttynyt ja sitoutunut rengastyyppiätomien kautta karbonyyliryhmään
- 15 ja sisältää rengasjäsenenä sitovan tyyppiätomien lisäksi substituomattoman tai C_1 - C_4 -alkyyliähteellä substituoidun ryhmän NH, O, S, S=O tai SO_2 , etenkin piperatsinokarbonyyliä, N- C_1 - C_4 -alkyyli-piperatsinokarbonyyliä, esim. N-metyyli- tai N-etyylipiperatsinokarbonyyliä, morfolinokarbonyyliä, tiomorfolinokarbonyyliä, S-oksotiomorfolinokarbonyyliä tai S,S-dioksotiomorfolinokarbonyyliä, erityisen edullisesti morfolinokarbonyyliä, R_3 merkitsee morfolinoa, tiomorfolinoa, S-oksotiomorfolinoa tai S,S-dioksotiomorfolinoa, etenkin morfolinoa tai tiomorfolinoa,
- 20 noa, erityisen edullisesti morfolinoa, ja R_4 merkitsee vetyä.

Vielä edullisempia ovat kaavan Ib

30

35



mukaiset yhdisteet, jossa kaavassa tähteillä R_1 , R_2 , R_3 ja R_4 on tähän asti kaavan I mukaisille yhdisteille esitetyt merkitykset, tai tällaisten suolan muodostavia ryhmiä sisältävien yhdisteiden farmaseuttisesti käyttökelpoiset suolat.

Erityisen edullisia ovat kaavan Ib mukaiset yhdisteet tai tällaisten suolan muodostavia ryhmiä sisältävien yhdisteiden farmaseuttisesti käyttökelpoiset suolat, joissa R_1 merkitsee vetyä, R_2 merkitsee vetyä, alempialkoksikarbonyyliä, etenkin sek- tai tert-alempialkyyli-oksikarbonyyliä, esim. butoksikarbonyyliä, kuten tert-butoksikarbonyyliä tai isobutoksikarbonyyliä, erityisen edullisesti tert-butoksikarbonyyliä, tai heterosyklyylikarbonyyliä, jossa heterosyklyyli sisältää 5 tai 6 rengasatomia, on tyydyttynyt ja sitoutunut rengastyyppiin kautta karbonyyliryhmään ja sisältää rengasjäsenenä sitovan tyyppiin lisäksi substituomattoman tai C_1-C_4 -alkyyliähteellä substituoidun ryhmän NH, O, S, S=O tai SO_2 , etenkin piperatsinokarbonyyliä, N- C_1-C_4 -alkyyli-piperatsinokarbonyyliä, esim. N-metyyli- tai N-etyyli-piperatsinokarbonyyliä, morfolinokarbonyyliä, tiomorfolinokarbonyyliä, S-oksotiomorfolinokarbonyyliä tai S,S-diokso-tiomorfolinokarbonyyliä, erityisen edullisesti morfolinokarbonyyliä, R_3 merkitsee rengastyyppiin kautta sitoutunutta heterosyklyyliä, kuten yllä on määritelty heterosyklyylikarbonyylin R_3 yhteydessä, etenkin piperatsinoa, N- C_1-C_4 -alkyyli-piperatsinoa, esim. N-metyyli- tai N-etyyli-piperatsinoa, morfolinoa, tiomorfolinoa, S-okso-tiomorfolinoa tai S,S-diokso-tiomorfolinoa, erityisen edullisesti morfolinoa, ja R_4 merkitsee vetyä.

Vielä näitäkin edullisempia ovat kaavan Ib mukaiset yhdisteet tai tällaisten suolan muodostavia ryhmiä sisältävien yhdisteiden farmaseuttisesti hyväksyttävät suolat, joissa R₁ merkitsee vetyä, R₂ merkitsee vetyä, sek- tai tert-alempialkyyli-oksikarbonyyliä, piperatsinokarbonyy-

liä, N-C₁-C₄-alkyyli-piperatsinokarbonyyliä, morfolinokarbonyyliä, tiomorfolinokarbonyyliä, S-oksotiomorfolinokarbonyyliä tai S,S-dioksotiomorfolinokarbonyyliä, R₃ merkitsee morfolinoa, tiomorfolinoa, S-oksotiomorfolinoa tai S,S-dioksotiomorfolinoa, etenkin morfolinoa tai tiomorfolinoa, erityisen edullisesti morfolinoa ja R₄ merkitsee vetyä.

Erityisen edullisia ovat ne kaavan Ib mukaiset yhdisteet, joissa R₁ merkitsee vetyä, R₂ merkitsee alempialkoksikarbonyyliä, etenkin sek- tai tert-alempialkyyli-oksikarbonyyliä, kuten tert-butoksikarbonyyliä tai isobutoksikarbonyyliä, R₃ merkitsee morfolinoa ja R₄ merkitsee vetyä.

15

Ensisijaisesti keksintö koskee esimerkeissä mainittuja yhdisteitä tai näiden yhdisteiden farmaseuttisesti käyttökelpoisia suoloja, mikäli esiintyy suolan muodostavia ryhmiä.

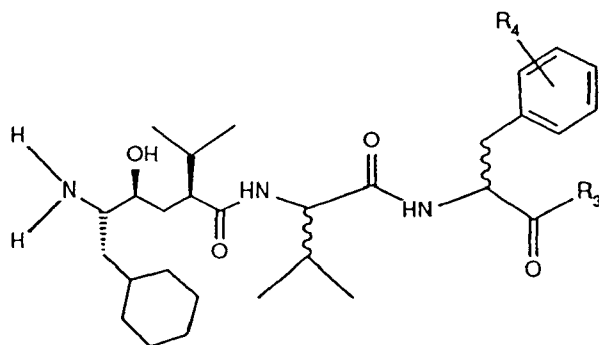
20

Kaavan I mukaiset yhdisteet ja tällaisten vähintään yhden suolan muodostavan ryhmän sisältävien yhdisteiden suolat valmistetaan sinänsä tunnettujen menetelmien mukaisesti esim. siten, että

25

a) kaavan I mukaisten yhdisteiden valmistamiseksi, joissa vähintään toinen tähteistä R₁ tai R₂ merkitsee alempialkyyliä ja toinen merkitsee vetyä tai R₁ ja R₂ merkitsevät molemmat alempialkyyliä ja muilla tähteillä on kaavan I mukaisille yhdisteille mainitut merkitykset, kaavan II

30

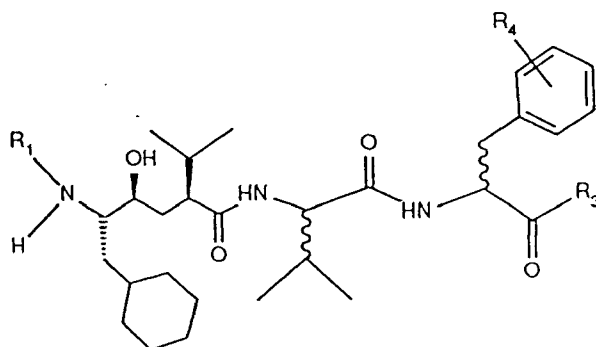


(II)

35

mukainen aminoyhdiste (joka vastaa kaavan I mukaista yhdistettä, jossa R_1 ja R_2 merkitsevät vetyä), jossa tähteillä R_3 ja R_4 on kaavan I mukaisille yhdisteille mainittu merkitykset ja jossa vapaat funktionaaliset ryhmät lukuun ottamatta reaktioon osallistuvia ryhmiä voivat esiintyä tarvittaessa suojatussa muodossa, saatetaan reagoimaan alkylointireagenssin kanssa tähteen alempialkyyli R_1 , tähteen alempialkyyli R_2 tai molempien tähteen alempialkyyli R_1 ja alempialkyyli R_2 liittämiseksi ja lohkaistaan esiintyvät suojaryhmät, tai

b) kaavan I mukaisen yhdisteen valmistamiseksi, jossa R_2 merkitsee alempialkoksikarbonyyliä, fenyyli- tai naftyyli-alempialkoksikarbonyyliä, heterosyklylikarbonyyliä, jossa heterosyklyyli sisältää 5 tai 6 rengasatomia, on tyydyttynyt ja sitoutunut rengastyyppiä atomin kautta karbonyyliryhmään ja sisältää rengasjäsenenä sitovan tyyppiä atomin lisäksi substituomattoman tai C_1 - C_4 -alkyyliä tähteillä substituoidun ryhmän NH, O, S, S=O tai SO₂, alempialkanoyyliä, fenyyli- tai naftyylialempialkanoyyliä tai alempialkaanisulfonyyliä ja muilla tähteillä on esitetyt merkitykset, ja jolloin vapaat funktionaaliset ryhmät lukuunottamatta reaktioon osallistuvia ryhmiä voivat esiintyä tarvittaessa suojatussa muodossa, kaavan IV



(IV)

mukainen aminoyhdiste, jossa tähteillä R_1 , R_3 ja R_4 on kaavan I mukaisille yhdisteille esitetyt merkitykset ja jossa vapaat funktionaaliset ryhmät lukuunottamatta reakti-

tioon osallistuvia ryhmiä voivat esiintyä tarvittaessa suojatussa muodossa, tai sen reaktiokykyinen aminojohdannainen kondensoidaan kaavan V

5

 R_2-OH

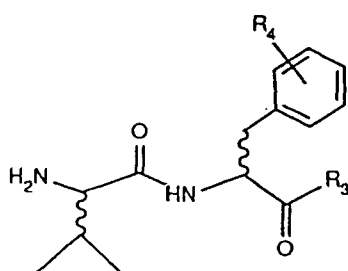
(V)

mukaisella hapolla, jossa R_2 merkitsee alempialkoksikarbonyyliä, fenyylim- tai naftyyli-alempialkoksikarbonyyliä, heterosyklylikarbonyyliä, jossa heterosyklyyli sisältää
 10 5 tai 6 rengasatomia, on tyydyttynyt ja sitoutunut rengastyyppiatomin kautta karbonyyliryhmään ja sisältää rengasjäsenenä sitovan tyyppiatomin lisäksi substituimattoman tai C_1-C_4 -alkyyli- tai -aryyli-ryhmän NH, O, S, S=O tai SO_2 , alempialkanoyyliä, fenyylim- tai naftyyli-alempialkanoyyliä tai alempialkaanisulfonyyliä ja jossa
 15 vapaat funktionaaliset ryhmät lukuunottamatta reaktioon osallistuvia ryhmiä voivat esiintyä tarvittaessa suojatussa muodossa, tai tämän reaktiokykyisellä happojohdannaisella ja lohkaistaan esiintyvät suojaryhmät, tai

20

c) kaavan VI

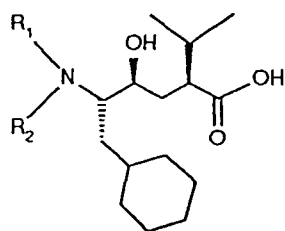
25



(VI)

30

mukainen aminoyhdiste, jossa tähteille R_3 ja R_4 on kaavan I mukaisille yhdisteille esitetyt merkitykset ja jossa
 vapaat funktionaaliset ryhmät lukuunottamatta reaktioon osallistuvia ryhmiä voivat esiintyä tarvittaessa suojatussa muodossa, tai sen reaktiokykyinen aminojohdannainen
 35 kondensoidaan kaavan VII



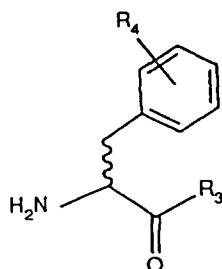
(VII)

5

mukaisella karboksyylihapolla, jossa tähteillä R_1 ja R_2 on
 kaavan I mukaisille yhdisteille esitetyt merkitykset ja
 jossa vapaat funktionaaliset ryhmät lukuunottamatta reaktio-
 10 tion osallistuvia ryhmiä voivat esiintyä tarvittaessa
 suojatussa muodossa, tai sen reaktiokykyisellä happojoh-
 dannaisella ja lohkaistaan esiintyvät suojaryhmät, tai

d) kaavan VIII

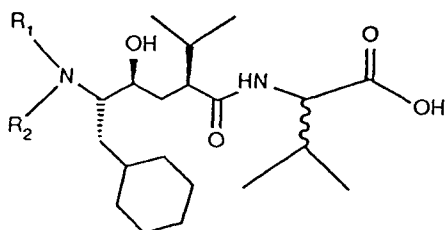
15



(VIII)

20

mukainen aminoyhdiste, jossa tähteillä R_3 ja R_4 on kaavan
 I mukaisille yhdisteille esitetyt merkitykset ja jossa
 vapaat funktionaaliset ryhmät lukuunottamatta reaktioon
 osallistuvia ryhmiä voivat esiintyä tarvittaessa suoja-
 25 tussa muodossa, tai sen reaktiokykyinen aminojohdannainen
 kondensoidaan kaavan IX



(IX)

30

mukaisella karboksyylihapolla, jossa tähteillä R_1 ja R_2 on
 35 kaavan I mukaisille yhdisteille esitetyt merkitykset ja
 jossa vapaat funktionaaliset ryhmät lukuunottamatta reaktio-
 tion osallistuvia ryhmiä voivat esiintyä tarvittaessa

suojatussa muodossa, tai sen reaktiokykyisellä happojohdannaissella ja lohkaistaan esiintyvät suojaryhmät, tai

e) kaavan X

5

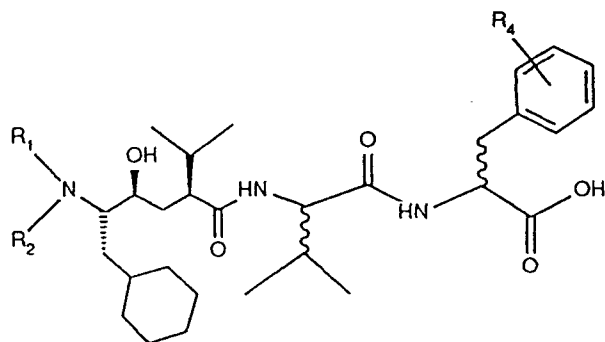
 R_3-H

(X)

mukainen yhdiste, jossa tähteellä R_3 on kaavan I mukaisille yhdisteille esitetyt merkitykset ja jossa vapaat funktionaaliset ryhmät lukuunottamatta reaktioon osallistuvia ryhmiä voivat esiintyä tarvittaessa suojatussa muodossa, tai sen reaktiokykyinen johdannainen kondensoidaan kaavan XI

15

20



(XI)

mukaisella karboksyylihapolla, jossa tähteillä R_1 , R_2 ja R_4 on kaavan I mukaisille yhdisteille esitetyt merkitykset ja jossa vapaat funktionaaliset ryhmät lukuunottamatta reaktioon osallistuvia ryhmiä voivat esiintyä tarvittaessa suojatussa muodossa, tai sen reaktiokykyisellä happojohdannaissella ja lohkaistaan esiintyvät suojaryhmät,

ja haluttaessa muunnetaan jonkin edellä esitetyn menetelmän a) - e) mukaisesti saatu kaavan I mukainen, vähintään yhden suolan muodostavan ryhmän sisältävä yhdiste sen suolaksi tai saatava suola vapaaksi yhdisteeksi tai joksikin toiseksi suolaksi ja/tai erotetaan mahdollisesti saatavat kaavan I mukaisten yhdisteiden isomeeriseokset ja/tai muunnetaan keksinnön mukainen kaavan I yhdiste joksikin toiseksi keksinnön mukaiseksi kaavan I yhdisteeksi.

Menetelmä a) (nukleofiilinen substituutio)

Kaavan II mukaisissa lähtöaineissa funktionaaliset ryhmät lukuunottamatta ryhmiä, joiden tulee osallistua reaktioon tai jotka eivät reagoi reaktio-olosuhteissa, on suojattu toisistaan riippumatta suojaryhmillä.

Alkylointireagenssina tähteen alempialkyyli R_1 , tähteen alempialkyyli R_2 tai molempien tähteiden alempialkyyli R_1 ja alempialkyyli R_2 liittämiseksi ovat etenkin seuraavat reagenssit:

Saksalaisessa hakemusjulkaisussa 2 331 133 on esitetty alkylointiaineita, jotka voidaan saattaa reagoimaan julkaisussa mainituissa olosuhteissa kaavan I mukaisen yhdisteen kanssa.

Muita alkylointiaineita ovat vastaavat kaavan III

20

R-Y

(III)

mukaiset alempialkyyliyhdisteet, jossa kaavassa R merkitsee tähdettä R_1 ja/tai R_2 vastaavaa alempialkyyliähdettä ja Y merkitsee poistuvaa ryhmää. Poistuva ryhmä on etenkin nukleofuginen poistuva ryhmä, jona on vahvalla epäorgaanisella tai orgaanisella hapolla esteröity hydroksi, kuten mineraalihapolla, esim. halogeenivetyhapolla, kuten kloorivety-, bromivety- tai jodivetyhapolla, tai vahvalla orgaanisella sulfonihapolla, kuten mahdollisesti esim. halogeenilla, kuten fluorilla substituoidulla alempialkaanisulfonihapolla tai aromaattisella sulfonihapolla, esim. mahdollisesti alempialkyyllillä, kuten metyyllillä, halogeenilla, kuten bromilla ja/tai nitrolla substituoidulla bentseenisulfonihapolla, esim. metaanisulfoni-, trimetaanisulfoni- tai p-tolueenisulfonihapolla esteröity hydroksi tai typpivetyhapolla esteröity hydroksi.

Reaktio voi tapahtua ensimmäisen tai toisen kertaluvun nukleofiilisen substituution olosuhteissa.

Esimerkiksi kaavan III mukainen yhdiste saatetaan reagoi-
 5 maan polaarisisä aprottisissa liuottimissa, esim. asetonissa, asetonitrilissä, nitrometaanissa, dimetyylisulfoksidissa, heksametyylifosforihappotriamidissa tai dime-
 10 tyyliformamidissa, kaavan II mukaisen aminoyhdisteen kanssa, tai reaktio suoritetaan prottisissa liuottimissa, esim. alkoholeissa, kuten metanolissa, etanolissa, etyleeniglykolissa tai isopropanolissa, tai vedessä, johon on sekoitettu mahdollisesti liukoiseksi tekeväksi aineeksi orgaanisia liuottimia, esim. etanolia, tetrahydrofuraania tai asetonia. Reaktio suoritetaan katalysaattoreiden, kuten Lewis-happojen, esim. $\text{SnCl}_4:n$, $\text{BF}_3:n$, $\text{AlCl}_3:n$, $\text{FeCl}_3:n$, $\text{ZnCl}_2:n$ tai $\text{SbCl}_5:n$ läsnäollessa tai puuttuessa, jolloin mainittuja Lewis-happoja käytetään etenkin silloin, kun Y on halogeeniatomi. Substitutioreaktio suoritetaan mahdollisesti alennetussa tai korotetussa lämpötilassa, esim. n. -40° - n. $120^\circ\text{C}:n$, etenkin n. -10° - n. $100^\circ\text{C}:n$ lämpötila-alueella ja mahdollisesti inertin kaasun, esim. typen tai argonin atmosfäärissä.

25 Reaktio voidaan suorittaa myös siten, että käytetään peräkkäin kahta erilaista kaavan III mukaista yhdistettä, niin että valmistetaan kaavan I mukaisia yhdisteitä, joissa R_1 ja R_2 merkitsevät erilaisia alempialkyyli-
 30 stökiometrisiä määriä lähtöyhdisteitä, esim. liitettäessä ensimmäinen alempialkyyli-
 35 tühde käyttämällä molaarista määrää ensimmäistä kaavan III mukaista yhdistettä, joka on vähemmän kuin kaavan II mukaisen yhdisteen molaarinen määrä, tai käyttämällä sopivia aminosuojaryhmiä, jotka lohkaistaan ensimmäisen alkyloinnin jälkeen, ja alkyloimalla tämän jälkeen toisella kaavan III mukaisella yhdis-

teellä, jossa on toinen alempialkyyli­tähde kuin ensimmäisessä yhdisteessä.

5 Lähtöaineissa esiintyvien funktionaalisten ryhmien, joiden reaktiota tulee välttää, etenkin karboksi-, amino-, imino- tai hydroksiryhmien suojaryhmiä ovat etenkin ne suojaryhmät (conventional protecting groups), joita käytetään tavanomaisesti peptidiyhdisteiden, mutta myös kefalosporiinien ja penisilliinien sekä nukleiinihappojohdannaisten ja sokereiden synteesissä. Nämä suojaryhmät 10 voivat esiintyä jo esiasteissa ja niiden tulee suojata kyseessä olevat funktionaaliset ryhmät ei-toivotuilta sivureaktioilta, kuten asyloinneilta, eetteröinneiltä, esteröinneiltä, hapetuksilta, solvolyyysiltä jne. Tietyissä tapauksissa suojaryhmät voivat tämän lisäksi saada 15 aikaan reaktioiden selektiivisen, esimerkiksi stereoselektiivisen kulun. Luonteenomaista suojaryhmille on se, että ne ovat lohkaistavissa helposti, s.o. ilman ei-toivottuja sivureaktioita, esimerkiksi solvolyyttisesti, pelkistyksen avulla, fotolyyttisesti tai myös entsymaattisesti, esim. fysiologisissa olosuhteissa ja että ne 20 eivät esiinny lopputuotteissa. Kaavan I mukaisilla, suojattuina funktionaalisia ryhmiä sisältävillä yhdisteillä voi olla suurempi metabolinen stabiilius tai muulla tavoin parantuneet farmakodynaamiset ominaisuudet kuin vastaavilla vapaita funktionaalisia ryhmiä sisältävillä yhdisteillä. 25

30 Funk­tionaalisten ryhmien suojaamista tällaisilla suojaryhmillä, itse suojaryhmiä sekä niiden lohkaisureaktioita on esitetty esimerkiksi vakio­teoksissa, kuten J. F. W. McOmie, "Protective Groups in Organic Chemistry", Plenum Press, Lontoo ja New York 1973, Th. W. Greene, "Protective Groups in Organic Synthesis", Wiley, New York 1989, 35 "The Peptides", osa 3 (E. Gross ja J. Meienhofer, julk.), Academic Press, Lontoo ja New York 1981, "Methoden der organischen Chemie", Houben-Weyl, 4. painos, osa 15/I,

- Georg Thieme Verlag, Stuttgart 1974, H.-D. Jakubke ja H. Jescheit, "Aminosäuren, Peptide, Proteine", Verlag Chemie, Weinheim, Deerfield Beach ja Basel 1982 ja Jochen Lehmann, "Chemie der Kohlenhydrate: Monosaccharide und Derivate", Georg Thieme Verlag, Stuttgart 1974.

Karboksiryhmä on suojattu esim. esteriryhmänä, joka on lohkaistavissa selektiivisesti miedoissa olosuhteissa. Esteröidyssä muodossa suojattu karboksiryhmä on esteröity ensisijaisesti alempialkyyli-ryhmällä, joka on edullisesti haarautunut alempialkyyli-ryhmän 1-asemassa tai substitu-

oituu alempialkyyli-ryhmän 1- tai 2-asemassa sopivilla substituentteilla.

Suojattu karboksiryhmä, joka on esteröity alempialkyyli-ryhmällä, joka on haarautunut alempialkyyli-ryhmän 1-asemassa, on esimerkiksi tert-alempialkoksikarbonyyli, esim. tert-butoksikarbonyyli, tai sek-alempialkoksikarbonyyli, esim. isobutoksikarbonyyli.

Suojattu karboksiryhmä, joka on esteröity alempialkyyli-ryhmällä, joka on substituoitu alempialkyyli-ryhmän 1- tai 2-asemassa sopivilla substituentteilla, on esimerkiksi yhden tai kaksi aryyli- tai aryyli-ryhmää sisältävä aryyli- metoksikarbonyyli, jossa aryyli merkitsee substituointia tai esim. alempialkyyli-ryhmällä, esim. tert-alempialkyyli-ryhmällä, kuten tert-butyylillä, alempialkoksilla, esim. metoksilla, hydroksilla, halogeenilla, esim. kloorilla ja/tai nitroilla mono-, di- tai trisubstituotua fenyyliä, esim. bent-syylioksikarbonyyli, mainituilla substituentteilla substituoitu bent-syylioksikarbonyyli, esim. 4-nitrobent-syylioksikarbonyyli tai 4-metoksibent-syylioksikarbonyyli, di-fenyyli- metoksikarbonyyli tai mainituilla substituentteilla

substituoitu difenyylietoksikarbonyyli, esim. di-(4-metoksifenyyli)-etoksikarbonyyli, fluorenyylietoksikarbonyyli, edelleen alempialkyyli-ryhmällä esteröity karboksi, jolloin alempialkyyli-ryhmä on substituoitu 1- tai 2-
 5 asemassa sopivilla substituentteilla, kuten 1-alempialkoksialempialkoksikarbonyyli, esim. metoksimetoksikarbonyyli, 1-metoksietoksikarbonyyli tai 1-etoksietoksikarbonyyli, 1-alempialkyyli-alempialkoksikarbonyyli, esim. 1-metyyli-alempialkoksikarbonyyli tai 1-etyyli-alempialkoksikarbonyyli,
 10 bonyyli, aroyylietoksikarbonyyli, jossa aroyyli-ryhmä merkitsee mahdollisesti esimerkiksi halogeenilla, kuten bromilla substituotua bentsoyyliä, esim. fenasyylioksikarbonyyli, 2-halogeenialempialkoksikarbonyyli, esim. 2,2,2-trikloorietoksikarbonyyli, 2-bromietoksikarbonyyli
 15 tai 2-jodietoksikarbonyyli, sekä 2-(trisubstituoitu silyyli)-alempialkoksikarbonyyli, jossa substituentit merkitsevät toisistaan riippumatta kulloinkin mahdollisesti, esim. alempialkyyli-, alempialkoksilla, aroyyli-, halogeenilla ja/tai nitrolla substituotua alifaattista,
 20 aralifaattista, sykloalifaattista tai aromaattista hiilivetytähdettä, esimerkiksi mahdollisesti yllä esitetyllä tavalla substituoitu alempialkyyli, fenyylialempialkyyli, sykloalkyyli tai fenyyli, esim. 2-trialempialkyyli-silyylialempialkoksikarbonyyli, kuten 2-trialempialkyyli-silyylietoksikarbonyyli, esim. 2-trimetyyli-silyylietoksikarbonyyli tai 2-(di-n-butyli-metyyli-silyyli)-etoksikarbonyyli, tai 2-triaryyli-silyylietoksikarbonyyli, kuten trifenyylisilyylietoksikarbonyyli.

30 Karboksiryhmä suojataan myös orgaanisena silyylioksikarbonyyli-ryhmänä. Orgaaninen silyylioksikarbonyyli-ryhmä on esimerkiksi trialempialkyyli-silyylioksikarbonyyli-ryhmä, esim. trimetyyli-silyylioksikarbonyyli tai etenkin tert-butyli-dimetyyli-silyylioksikarbonyyli. Silyylioksikarbonyyli-ryhmän piiatomi voi olla substituoitu myös kahdel-
 35 la alempialkyyli-, esim. metyyli-ryhmällä ja suojattavan yhdisteen toisen molekyylin amino- tai karboksiryhmällä.

Tällaisia suojaryhmiä sisältävät yhdisteet voidaan valmistaa käyttämällä silylointiaineena esim. dimetyylikloorisilaania.

- 5 Karboksiryhmä suojataan myös sisäisen esterin muodossa, jossa on sopivalla etäisyydellä, esim. γ -asemassa karboksiryhmän suhteen molekyylissä esiintyvä hydroksiryhmä, s.o. laktonin, etenkin γ -laktonin muodossa.
- 10 Suojattu karboksiryhmä on edullisesti tert-alempialkoksikarbonyyli, esim. tert-butoksikarbonyyli, bentsyylioksidikarbonyyli, 4-nitrobentsyylioksidikarbonyyli, 9-fluorenyylimetoksikarbonyyli tai difenyyylimetoksikarbonyyli, trialempialkyylisilyylioksidikarbonyyli, esim. tert-butyylidimetyylisilyylioksidikarbonyyli tai laktonin, etenkin γ -laktonin muodossa suojattu karboksiryhmä.

- 20 Suojattu aminoryhmä on suojattu aminosuojaryhmällä, esim. asyyliamino-, aryyylimetyyliamino-, eetteröidyn merkaptamino-, 2-asyyli-alempialk-1-enyyliamino- tai silyyliaminoryhmän muodossa tai atsidoryhmänä.

- 25 Asyyliaminoryhmässä asyyli on esimerkiksi orgaanisen, esim. korkeintaan 18 hiiliatomia sisältävän karboksyylihapon, etenkin mahdollisesti, esim. halogeenilla tai aryyllillä substituoidun alempialkaanikarboksyylihapon tai mahdollisesti, esim. halogeenilla, alempialkoksilla tai nitrolla substituoidun bentsoehapon, tai edullisesti hiilihappopuoliesterin asyyliähdde. Tällaisia asyyliiryhmiä
- 30 ovat etenkin alempialkanoyyli, kuten formyyl, asetyyli, propionyyl tai pivaloyyli, halogeenialempialkanoyyli, esim. 2-halogeeniasetyyli, kuten 2-kloori-, 2-bromi-, 2-jodi-, 2,2,2-trifluori- tai 2,2,2-triklooriasetyyli, mahdollisesti esim. halogeenilla, alempialkoksilla tai nitrolla substituoitu bentsooyyli, kuten bentsooyyli, 4-klooribentsooyyli, 4-metoksibentsooyyli tai 4-nitrobentsooyyli,
- 35 alempialkoksikarbonyyli, etenkin alempialkyylitähteen 1-

- asemassa haarautunut tai 1- tai 2-asemassa sopivasti substituoitu alempialkoksikarbonyyli, esim. tert-alempialkoksikarbonyyli, kuten tert-butoksikarbonyyli, aryyllialempialkoksikarbonyyli, esim. aryyylimetoksikarbonyyli,
- 5 jossa on yksi, kaksi tai kolme aryyliähdettä, jotka merkitsevät mahdollisesti esim. alempialkyyllillä, etenkin tert-alempialkyyllillä, kuten tert-butyylillä, alempialkoksilla, kuten metoksilla, hydroksilla, halogeenilla, kuten kloorilla ja/tai nitrolla mono- tai polysubstituoi-
- 10 tua fenyyliä, esim. bentsyylioksikarbonyyli, 4-nitrobentsyylioksikarbonyyli, difenyyylimetoksikarbonyyli, 9-fluorenyylimetoksikarbonyyli tai di-(4-metoksifenyyli)metoksikarbonyyli, aroyylimetoksikarbonyyli, jossa aroyyliryhmä merkitsee etenkin mahdollisesti, esim. halogeenilla,
- 15 kuten bromilla substituoitua bentsoyylia, esim. fenasyylioksikarbonyyli, 2-halogeeni-alempialkoksikarbonyyli, esim. 2,2,2-trikloorietoksikarbonyyli, 2-bromietoksikarbonyyli tai 2-jodietoksikarbonyyli, 2-(trisubstituoitu silyyli)-alempialkoksikarbonyyli, esim. 2-trialempialkyy-
- 20 lisilyyllialempialkoksikarbonyyli, kuten 2-trimetyyllisilyylietoksikarbonyyli tai 2-(di-n-butyylimetyyli-silyyli)-etoksikarbonyyli, tai triaryyllisilyyllialempialkoksikarbonyyli, esim. 2-trifenyyllisilyylietoksikarbonyyli.
- 25 Aryylimetyyliaminoryhmässä, esim. mono-, di- tai etenkin triaryylimetyyliaminoryhmässä aryyliähteet ovat etenkin mahdollisesti substituoituja fenyyliähteitä. Tällaisia ryhmiä ovat esim. bentsyyli-, difenylimetyyli- tai eten-
- 30 kin trityyliamino.
- Eetteröidyssä merkaptaminoryhmässä merkaptoryhmä esiintyy ensisijaisesti substituoituna aryyliationa tai aryyllialempialkyyliationa, jossa aryyli merkitsee esimerkiksi
- 35 mahdollisesti esim. alempialkyyllillä, kuten metyyllillä tai tert-butyylillä, alempialkoksilla, kuten metoksilla,

halogeenilla, kuten kloorilla ja/tai nitrolla substituotua fenyyliä, esim. 4-nitrofenyyliä.

- Aminosuojaryhmänä käyttökelpoisessa 2-asyyli-alempialk-1-
 5 enyyliähteessä asyyli on esim. alempialkaanikarboksyli-
 hapon, mahdollisesti esim. alempialkyyliä, kuten metyy-
 lillä tai tert-butyylillä, alempialkoksilla, kuten metok-
 silla, halogeenilla, kuten kloorilla ja/tai nitrolla sub-
 stituoidun bentsoehapon, tai etenkin hiilihappopuolieste-
 10 rin, kuten hiilihappo-alempialkyyliäpuoliesterin vastaava
 tähde. Vastaavia suojaryhmiä ovat ensisijaisesti 1-alem-
 pialkanoyyli-alempialk-1-en-2-yyli, esim. 1-alempialkano-
 yyli-prop-1-en-2-yyli, kuten 1-asetyyli-prop-1-en-2-yyli,
 tai alempialkoksikarbonyyli-alempialk-1-en-2-yyli, esim.
 15 alempialkoksikarbonyyli-prop-1-en-2-yyli, kuten 1-etoksi-
 karbonyyli-prop-1-en-2-yyli.

- Silyyliaminoryhmä on esimerkiksi trialempialkyyliäilyy-
 liaminoryhmä, esim. trimetyyliäilyyliamino tai tert-bu-
 20 tyyli-dimetyyliäilyyliamino. Silyyliaminoryhmän piiatomi
 voi olla myös substituoitu ainoastaan kahdella alempial-
 kyyliäryhmällä, esim. metyyliäryhmällä ja kaavan I toisen
 molekyylin aminoryhmällä tai karboksyliäryhmällä. Tällai-
 sia suojaryhmiä sisältävät yhdisteet voidaan valmistaa
 25 käyttämällä silylointiäineena esim. vastaavia kloo-
 risilaaneja, kuten dimetyylikloorisilaania.

- Aminoryhmä voidaan suojata myös muuntamalla protonoituun
 muotoon; protonidonaattoreina tulevat kysymykseen ensisi-
 30 jaisesti vahvat epäorgaaniset hapot, kuten rikkihappo,
 fosforihappo tai halogeenivetyhapot, esim. kloori- tai
 bromivetyhappo, tai orgaaniset sulfonihapot, kuten p-to-
 lueenisulfonihappo.

- Edullisia aminosuojaryhmiä ovat alempialkoksikarbonyyli,
 35 fenyyliäalempialkoksikarbonyyli, 9-fluorenyyliäalempialkok-
 sikarbonyyli, 2-alempialkanoyyli-alempialk-1-en-2-yyli

tai alempialkoksikarbonyyli-alempialk-1-en-2-yyli, etenkin edullisesti tert-butoksikarbonyyli tai bentsyylioksidikarbonyyli.

- 5 Iminosuojaryhmien suojaamiseksi voidaan käyttää kaikkia mainittuja yksiarvoisia aminosuojaryhmiä ja, mikäli kemiallisesti mahdollista, myös kaksiarvoisia aminosuojaryhmiä.
- 10 Hydroksiryhmä voi olla suojattu esimerkiksi asyyliiryhmällä, esim. halogeenilla, kuten kloorilla, substituoidulla alempialkanoyylillä, kuten 2,2-diklooriasetyylillä, tai etenkin hiilihappopuoliesterin suojattujen aminoryhmien yhteydessä mainitulla asyyliitähteellä. Eräs edullinen
- 15 hydroksisuojaryhmä on esimerkiksi 2,2,2-trikloorietoksidikarbonyyli, 4-nitrobentsyylioksidikarbonyyli, difenyylietoksidikarbonyyli tai trityyli. Hydroksiryhmä voi olla suojattu myös trialempialkyyilisilyylillä, esim. trimetyylisilyylillä, tri-isopropyylisilyylillä tai etenkin tert-
- 20 butyyli-dimetyylisilyylillä, helposti lohkaistavalla eetteröivällä ryhmällä, esim. alkyyliryhmällä, kuten tert-alempialkyyllillä, esim. tert-butyylillä, oksa- tai tia-alifaattisella tai -sykloalifaattisella, etenkin 2-oksatai 2-tia-alifaattisella tai -sykloalifaattisella hiilivetytähteellä, esimerkiksi 1-alempialkoksialempialkyyllillä tai 1-alempialkyyliutioalempialkyyllillä, kuten metoksimetyylillä, 1-metoksietyylillä, 1-etoksietyylillä, metyyliitiometyylillä, 1-metyyliutioetyylillä tai 1-etyyliutioetyylillä, tai 2-oksatai 2-tiasykloalkyyllillä, jossa on
- 25 5 - 7 rengasatomia, kuten 2-tetrahydrofuryylillä tai 2-tetrahydropyranyylillä, tai vastaavalla tia-analogilla, sekä 1-fenyylialempialkyyllillä, kuten bentsyyllillä, difenyyli-metyylillä tai trityylillä, jolloin fenyyliitähteet voivat olla substituoituja esimerkiksi halogeenilla,
- 30 esim. kloorilla, alempialkoksilla, esim. metoksilla ja/-tai nitrolla.

Kaksi molekyylissä esiintyvää, etenkin vierekkäistä hydroksiryhmää tai vierekkäiset hydroksi- ja aminoryhmä voi olla suojattu esimerkiksi kaksiarvoisilla suojaryhmillä, kuten etenkin, esimerkiksi yhdellä tai kahdella alempialkyyli-
 5 kyyliähteellä tai oksolla substituoidulla metyleeniryhmällä, esim. substituomattomalla tai substituoidulla alkylideenillä, esim. alempialkylideenillä, kuten isopropylideenillä, sykloalkylideenillä, kuten sykloheksyli-
 deenillä, karbonyyliryhmällä tai bentsylideenillä.

10

Karboksiryhmän vieressä oleva hydroksiryhmä voi olla suojattu muodostamalla sisäinen esteri (laktoni), etenkin γ -laktoni.

15 Edullisesti suojattu hydroksiryhmä on suojattu trialempialkyylisilyylillä tai laktonina, etenkin tert-butyylimetyylisilyylillä tai γ -laktonina.

Suojaryhmänä, esimerkiksi karboksisuojaryhmänä tarkoitetaan tämän hakemuksen merkityksessä nimenomaan myös helposti lohkaistavalla tavalla suojattavaan funktionaali-
 20 seen ryhmään, esimerkiksi karboksiryhmään yhdistettyä polymeeristä kantoainetta, kuten sellaista, joka sopii esim. Merrifield-synteesiin. Tällainen sopiva polymeerin kantoaine on etenkin kopolymeroimalla divinyylibentseenillä heikosti silloitettu polystyreenihartsia, joka
 25 sisältää reversiibeliin sidokseen sopivia siltajäseniä.

Suojaryhmien, jotka eivät ole halutun kaavan I mukaisen lopputuotteen osana, esim. karboksi-, amino-, imino- ja/-
 30 tai hydroksisuojaryhmien lohkaus tapahtuu sinänsä tunnetulla tavalla, esim. solvolyyisin, etenkin hydrolyysin, alkoholyysin tai asidolyysin avulla tai pelkistyksen avulla, etenkin hydraamalla tai muiden pelkistysaineiden
 35 avulla, sekä fotolyysin avulla mahdollisesti asteittain tai samanaikaisesti, jolloin voidaan käyttää myös entsyymaattisia menetelmiä. Suojaryhmien lohkausta selitetään

esimerkiksi edellä kappaleessa "Suojaryhmät" mainituissa vakioiteoksissa.

Siten esimerkiksi suojattu karboksi, esim. tert-alempialkoksikarbonyyli, 2-asemassa trisubstituoidulla silyyli-ryhmällä tai 1-asemassa alempialkoksilla tai alempialkyylioliolla substituoitu alempialkoksikarbonyyli tai mahdollisesti substituoitu difenyyli-
 5 metoksikarbonyyli voidaan muuntaa vapaaksi karboksiksi käsittelemällä sopivalla hapolla, kuten muurahaishapolla, kloorivedyllä tai tri-
 10 fluorietikkahapolla, mahdollisesti lisäämällä nukleofiilistä yhdistettä, kuten fenolia tai anisolia. Mahdollisesti substituoitu bentsyylioksikarbonyyli voidaan vapauttaa esim. hydraamalla, s.o. käsittelemällä vedyllä
 15 metallisen hydrauskatalysaattorin, kuten palladiumkatalysaattorin läsnäollessa. Edelleen sopivasti substituoitu bentsyylioksikarbonyyli, kuten 4-nitrobentsyylioksikarbonyyli voidaan muuntaa vapaaksi karboksiksi myös pelkistyk-
 20 sen avulla, esim. käsittelemällä alkalimetalli-ditioniitillä, kuten natrium-ditioniitillä, tai pelkistävällä metallilla, esim. sinkillä, tai pelkistävällä metallisuolalla, kuten kromi-II-suolalla, esim. kromi-II-kloridilla, tavanomaisesti vetyä luovuttavan aineen läsnäollessa, joka yhdessä metallin kanssa voi muodostaa
 25 syntyvää vetyä, kuten hapon, ensisijaisesti sopivan karboksyylihapon, kuten mahdollisesti esim. hydroksilla substituoitun alempialkaanikarboksyylihapon, esim. etikkahapon, muurahaishapon, glykoli-
 30 hapon, difenyyli-
 35 glykoli-
 hapon, maitohapon, mantelihapon, 4-kloorimantelihapon tai viinihapon, tai alkoholin tai tiolin läsnäollessa, jolloin lisätään edullisesti vettä. Käsittelemällä pelkistävällä metallilla tai metallisuolalla, kuten yllä on esitetty, myös 2-halogeena-alempialkoksikarbonyyli (mahdollisesti muuntamalla 2-bromia-alempialkoksikarbonyyliryhmä vastaavaksi 2-jodia-alempialkoksikarbonyyliryhmäksi) tai aroyyli-
 metoksikarbonyyli voidaan muuntaa vapaaksi karboksiksi. Aroyylimetoksikarbonyyli voidaan lohkaista samoin käsit-

telemällä nukleofiilisellä, etenkin suolan muodostavalla reagenssilla, kuten natriumtiofenolaatilla tai natriumjodidilla. 2-(trisubstituoitu silyyli)-alempialkoksikarbonyyli, kuten 2-trialempialkyyilisilyylialempialkoksikarbonyyli voidaan muuntaa vapaaksi karboksiksi myös käsittelemällä fluorivetyhapon fluoridianionin tuottavalla suolalla, kuten alkalimetallifluoridilla, esim. natrium- tai kaliumfluoridilla, mahdollisesti makrosyklisen polyeetterin ("kruunueetterin") läsnäollessa, tai orgaanisen kvaternaarisen emäksen fluoridilla, kuten tetra-alempialkyyliammoniumfluoridilla tai trialempialkyyliaryylialempialkyyliammoniumfluoridilla, esim. tetraetyyliammoniumfluoridilla tai tetrabutyyliammoniumfluoridilla aproottisen polaarisen liuottimen, kuten dimetyylisulfoksidin tai N,N-dimetyyliasetamidin läsnäollessa. Orgaanisena silyylioksidikarbonyylinä, kuten trialempialkyyilisilyylioksidikarbonyylinä, esim. trimetyylisilyylioksidikarbonyylinä suojattu karboksi voidaan vapauttaa tavanomaisella tavalla solvolyyttisesti, esim. käsittelemällä vedellä, alkoholilla tai hapolla, tai lisäksi fluoridilla, kuten yllä on esitetty. Esteröity karboksi voidaan vapauttaa myös entsymaattisesti, esimerkiksi esteraaseilla tai sopivilla peptidaaseilla, esim. esteröidyillä arginiinilla tai lyysiinillä, kuten lysiinimetyyliesterillä trypsiinin avulla. Sisäisenä esterinä, kuten γ -laktonina suojattu karboksi voidaan vapauttaa hydrolysoimalla hydroksidi-pitoisen emäksen, kuten maa-alkalimetallihydroksidin tai etenkin alkalimetallihydroksidin, esim. NaOH:n, KOH:n tai LiOH:n, etenkin LiOH:n läsnäollessa, jolloin samanaikaisesti vapautetaan vastaavasti suojattu hydroksiryhmä.

Suojattu aminoryhmä vapautetaan sinänsä tunnetulla ja suojaryhmien tyypistä riippuen erilaisella tavalla, etenkin solvolyyysin tai pelkistyksen avulla. Alempialkoksikarbonyyliamino, kuten tert-butoksidikarbonyyliamino voidaan lohkaista happojen, esimerkiksi mineraalihappojen, esim. halogeenivedyn, kuten kloorivedyn tai bromivedyn,

etenkin bromivedyn, tai rikki- tai fosforihapon, erityisesti kloorivedyn läsnäollessa polaarisissa liuottimissa, kuten vedessä tai karboksyylihapossa, kuten etikkahapossa, tai eettereissä, edullisesti syklisissä eettereissä, 5 kuten dioksaanissa, 2-halogeenialempialkoksikarbonyyliamino (mahdollisesti 2-bromialempialkoksikarbonyyliaminoryhmän muuntamisen jälkeen 2-jodialempialkoksikarbonyyliamino-ryhmäksi), aroyylimetoksikarbonyyliamino tai 4-nitrobentsyylioksikarbonyyliamino voidaan lohkaista 10 esim. käsittelemällä sopivalla pelkistysaineella, kuten sinkillä sopivan karboksyylihapon, kuten vesipitoisen etikkahapon läsnäollessa. Aroyylimetoksikarbonyyliamino voidaan lohkaista myös käsittelemällä nukleofiilisellä, etenkin suolan muodostavalla reagenssilla, kuten natrium- 15 tiofenolaatilla, ja 4-nitrobentsyylioksikarbonyyliamino myös käsittelemällä alkalimetalli-, esim. natrium-ditioniitillä. Mahdollisesti substituoitu difenyyylimetoksikarbonyyliamino, tert-alempialkoksikarbonyyliamino tai 2- (trisubstituoitu silyyli)-alempialkoksikarbonyyliamino, 20 kuten 2-trialempialkyyilisilyyलिएmpialkoksikarbonyyliamino voidaan vapauttaa käsittelemällä sopivalla hapolla, esim. muurahais- tai trifluorietikkahapolla, mahdollisesti substituoitu bentsyylioksikarbonyyliamino esim. hydraamalla, s.o. käsittelemällä vedyllä sopivan hydraus- 25 katalysaattorin, kuten palladiumkatalysaattorin läsnäollessa, edullisesti polaarisissa liuottimissa, kuten dialempialkyyलिएmpialkanoyyliamideissa, esim. dimetyyli-formamidissa, kuten syklisissä eettereissä, esim. dioksaanissa, tai alkoholeissa, kuten metanolissa, etanolissa tai propanolissa, jolloin metanoli on etenkin edullinen, 30 mahdollisesti substituoitu triaryylimetyyliamino tai formyyliaamino esim. käsittelemällä hapolla, kuten mineraalihapolla, esim. kloorivetyhapolla, tai orgaanisella hapolla, esim. muurahais-, etikka- tai trifluorietikkahapolla, 35 mahdollisesti veden läsnäollessa, ja silyyliaminona suojattu aminoryhmä esim. hydrolyysin tai alkoholyysin avulla. 2-halogeeniasetyylillä, esim. 2-klooriasetyylillä

suojattu aminoryhmä voidaan vapauttaa käsittelemällä tio-
virtsa-aineella emäksen läsnäollessa, tai tiovirtsa-ai-
neen tiolaattisuolalla, kuten alkalimetallitiolaatilla,
ja suorittamalla tämän jälkeen muodostuneen substituu-
5 tiotuotteen solvolyyysi, kuten alkoholyysi tai hydrolyysi.
2-(trisubstituoitu silyyli)-alempialkoksikarbonyylillä,
kuten 2-trialempialkyyilisilyylialempialkoksikarbonyylillä
suojattu aminoryhmä voidaan muuntaa vapaaksi aminoryhmäk-
si myös käsittelemällä fluorivetyhapon fluoridianioneja
10 tuottavalla suolalla, kuten yllä vastaavasti suojatun
karboksiryhmän vapauttamisen yhteydessä on esitetty. Sa-
malla tavalla voidaan lohkaista suoraan heteroatomiin,
kuten tyypeen sitoutunut silyyli, kuten trimetyylisilyyli
fluoridi-ionien läsnäollessa.

15

Iminoryhmien vapauttaminen tapahtuu lohkaisemalla kysees-
sä olevat suojaryhmät vastaavalla tavalla, kuten on esi-
tetty aminoyhdisteiden yhteydessä.

20 Atsidoryhmän muodossa suojattu amino muunnetaan vapaaksi
aminoksi esim. pelkistämällä, esimerkiksi hydraamalla
katalyyttisesti vedyllä hydrauskatalyysaattorin, kuten
platinaoksidin, palladiumin, palladium-aktiivihiiilen tai
Raney-nikkelin läsnäollessa, pelkistämällä merkaptoyhd-
25 teiden, kuten ditiotreitolin tai merkaptoetanolin avulla,
tai myös käsittelemällä sinkillä hapon, kuten etikkahapon
läsnäollessa. Katalyyttinen hydraus suoritetaan edulli-
sesti inertissä liuottimessa, kuten halogenoidussa hiili-
vedyssä, esim. metyleenikloridissa, tai myös vedessä tai
30 veden ja orgaanisen liuottimen, kuten alkoholin, etenkin
metanolin tai etanolin, tai dioksaanin seoksessa n. 20° -
25°C:ssa tai myös jäähdyttäen tai lämmittäen n. 0 -
50°C:n alueella normaalipaineen - 5 atm:n, etenkin n. 1
atm:n vetypaineissa.

35

Sopivalla asyyliiryhmällä, trialempialkyyilisilyyliiryhmällä
tai mahdollisesti substituoidulla 1-fenyylialempialkyy-

lillä suojattu hydroksiryhmä vapautetaan vastaavasti suojatun aminoryhmän mukaisesti. 2,2-diklooriasetyylillä suojattu hydroksiryhmä vapautetaan esim. emäksisen hydrolyysin avulla, tert-alempialkyyllillä tai 2-oksa- tai 2-tia-alifaattisella tai -sykloalifaattisella hiilivetytäh-
 5 teellä suojattu hydroksiryhmä asidolyysin avulla, esim. käsittelemällä mineraalilihapolla tai vahvalla karboksyylihapolla, esim. trifluorietikkahapolla. Kaksi hydroksiryhmää tai vierekkäiset amino- ja hydroksiryhmä, jotka on
 10 suojattu yhdessä kaksiarvoisella suojaryhmällä, etenkin esim. alempialkyyllillä yhden tai kaksi kertaa substituoidulla metyleeniryhmällä, kuten alempialkylideenillä, esim. isopropylideenillä, sykloalkylideenillä, esim. sykloheksylideenillä, tai bentsylideenillä, voidaan vapaut-
 15 taa happaman solvolyyysin avulla, etenkin mineraalilihapon tai vahvan orgaanisen hapon läsnäollessa. Trialempialkyyli-
 silyyli-ryhmä lohkaistaan samoin asidolyysin avulla, esim. mineraalilihapolla, etenkin fluorivetyhapolla, tai
 orgaanisen kvaternaarisen emäksen fluoridilla, kuten tetra-
 20 ra-alempialkyyliammoniumfluoridilla tai trialempialkyyli-
 aryylialempialkyyliammoniumfluoridilla, esim. tetra-
 etyyliammoniumfluoridilla tai tetrabutyyliammoniumfluori-
 dilla aproottisen polaarisen liuottimen, kuten dimetyy-
 lisulfoksidin tai N,N-dimetyyliasetamidin, tai vahvan
 25 karboksyylihapon läsnäollessa. 2-halogeenialempialkoksi-
 karbonyyli poistetaan yllä mainituilla pelkistysaineilla,
 esim. pelkistäväällä metallilla, kuten sinkillä, pelkistä-
 villä metallisuoloilla, kuten kromi-II-suoloilla, tai
 rikkiyhdisteillä, esimerkiksi natriumditioniitillä tai
 30 etenkin natriumsulfidilla ja rikkihiilellä.

Lämpötilat suojattujen funktionaalisten ryhmien vapaut-
 tamiseksi ovat edullisesti -80 - 100°C, etenkin edulli-
 sesti -20 - 50°C, esimerkiksi 10 - 35°C, kuten huoneen
 35 lämpötilan alueella.

Useampien suojattujen funktionaalisten ryhmien esiintyessä suojaryhmät voidaan haluttaessa valita siten, että samanaikaisesti voidaan lohkaista useampi kuin yksi tälläinen ryhmä, esimerkiksi asidolyyttisesti, kuten käsittelemällä trifluorietikkahapolla, tai vedyllä ja hydrauskatalyysaattorilla, kuten palladium-hiili-katalyysaattorilla. Toisaalta ryhmät voidaan valita myös siten, että niitä ei voida lohkaista kaikkia samanaikaisesti, vaan halutussa järjestyksessä, jolloin saadaan vastaavia välituotteita.

Menetelmä b) (kondensaatio amidisidoksen muodostamisessa)

Kaavojen IV ja V mukaisissa lähtöaineissa funktionaaliset ryhmät lukuunottamatta niitä ryhmiä, joiden tulee osallistua reaktioon tai jotka eivät reagoi reaktio-olosuhteissa tai reagoivat ainoastaan vähäisessä määrin, on suojattu toisistaan riippumatta suojaryhmillä.

20

Kondensaatio amidisidoksen muodostamiseksi voidaan suorittaa sinänsä tunnetulla tavalla, esimerkiksi vakiotekossissa, kuten Houben-Weyl, "Methoden der organischen Chemie", 4. painos, osa 15/II (1974), osa IX (1955), osa E 11 (1985), Georg Thieme Verlag, Stuttgart, "The Peptides" (E. Gross ja J. Meienhofer, julk.), osa 1 ja 2, Academic Press, Lontoo ja New York, 1979/1980, tai M. Bodansky, "Principles of Peptide Synthesis", Springer-Verlag, Berliini 1984, tai H.-D. Jakubke ja H. Jescheit, "Aminosäuren, Peptide, Proteine", Verlag Chemie, Weinheim, Deerfield Beach ja Basel, 1982, esitetyllä tavalla.

Kaavan V mukaiset karboksyylihapot esiintyvät joko vapaan karboksiryhmän kanssa tai tämän reaktiokykyisenä johdannaisena, esimerkiksi vapaasta karboksyyhdisteestä muodostettuna aktivoituna esterinä, reaktiokykyisenä anhydridinä tai edelleen reaktiokykyisenä syklisenä amidina. Reak-

tiokykyiset johdannaiset voidaan muodostaa myös in situ ja ne voivat esiintyä mahdollisesti ainoastaan siinä.

- Kaavan V mukaisten, karboksiryhmän sisältävien yhdisteiden aktivoituja estereitä ovat etenkin esteröivän tähteen liitántähiiliatomissa tyydyttymättömät esterit, esim. vinyyliesterityypiset, kuten vinyyliesteri (saatavissa esim. esteröimällä uudelleen vastaava esteri vinyyliasetaatilla; aktivoitun vinyyliesterin menetelmä), karbamoyyliesterit (saatavissa esim. käsittelemällä vastaava happo isoksatsoliumreagenssilla; 1,2-oksatsolium- tai Woodward-menetelmä) tai 1-alempialkoksivinyyliesterit (saatavissa esim. käsittelemällä vastaava happo alempialkoksiasetyleenillä; etoksiasetyleenimenetelmä) tai amidinotyyppiset esterit, kuten N,N'-disubstituoidut amidinoesterit (saatavissa esim. käsittelemällä vastaava happo sopivalla N,N'-disubstituoidulla karbodiimidillä, esim. N,N'-disykloheksyylikarbodiimidillä; karbodiimidi-menetelmä) tai N,N-disubstituoidut amidinoesterit (saatavissa esim. käsittelemällä vastaava happo N,N-disubstituoidulla syaaniamidilla; syaaniamidimenetelmä), sopivat aryyliesterit, etenkin elektroneja puoleensa vetävillä substituentteilla substituoidut fenyyliesterit (saatavissa esim. käsittelemällä vastaava happo sopivasti substituoidulla fenolilla, esim. 4-nitrofenolilla, 4-metyylisulfonyylifenolilla, 2,4,5-trikloorifenolilla, 2,3,4,5,6-pentakloorifenolilla tai 4-fenyyliidiatsofenolilla kondensatioaineen, kuten N,N'-disykloheksyylikarbodiimidin läsnäollessa; aktivoitujen aryyliestereiden menetelmä), syaanimetyyliesterit (saatavissa esim. käsittelemällä vastaava happo klooriasetonitriilillä emäksen läsnäollessa; syaanimetyyliesterimenetelmä), tioesterit, etenkin mahdollisesti esim. nitrolla substitoidut fenyyliutioesterit (saatavissa esim. käsittelemällä vastaava happo mahdollisesti esim. nitrolla substituoiduilla tiofenoleilla, mm. anhydridi- tai karbodiimidi-menetelmän avulla; aktivoitujen tioliestereiden menetel-

mä), tai etenkin amino- tai amidoesterit (saatavissa esim. käsittelemällä vastaava happo N-hydroksiamino- tai vast. N-hydroksiamidoyhdisteellä, esim. N-hydroksisukkinimidillä, N-hydroksipiperidiinillä, N-hydroksiftaaliimidillä, N-hydroksi-5-norborneeni-2,3-dikarboksyylihappoimidillä, 1-hydroksibentstriatsolilla tai 3-hydroksi-3,4-dihydro-1,2,3-bentstriatsin-4-onilla, esim. anhydridi- tai karbodi-imidi-menetelmän mukaisesti; aktivoitujen N-hydroksiestereiden menetelmä). Voidaan käyttää myös sisäisiä estereitä, esim. γ -laktoneita.

Happojen anhydridejä voivat olla näiden happojen symmetriset tai etenkin seka-anhydridit, esim. epäorgaanisten happojen kanssa muodostetut anhydridit, kuten happohalogenidit, etenkin happokloridit (saatavissa esim. käsittelemällä vastaava happo tionyylikloridilla, fosforipentakloridilla tai oksalyylikloridilla; happokloridimenetelmä), atsidit (saatavissa esim. vastaavasta happoesteristä vastaavan hydratsidin kautta ja käsittelemällä se typpihapokkeella; atsidimenetelmä), hiilihappopuoliestereiden, esim. hiilihappoalempialkyyli- tai puoliestereiden kanssa muodostetut anhydridit (saatavissa esim. käsittelemällä vastaava happo kloorimuurahaishappoalempialkyyli- tai puoliestereillä tai 1-alempialkoksikarbonyyli-2-alempialkoksi-1,2-dihydrokinoliinilla; O-alkyylihiili- tai puoli- ja seka-anhydridien menetelmä), tai dihalogenoidun, etenkin diklooratun fosforihapon kanssa muodostetut anhydridit (saatavissa esim. käsittelemällä vastaava happo fosforioksikloridilla; fosforioksikloridimenetelmä), muiden fosforihappojohdannais-
ten kanssa muodostetut anhydridit (esim. sellaisten kanssa, jotka voidaan saada fenyyli-N-fenyylifosforiamidokloridaatin kanssa tai saattamalla N-alkyylifosforihappoamidit reagoimaan sulfonihappoanhydridien ja/tai rasemisoitumista alentavien lisäaineiden, kuten N-hydroksibentstriatsolin läsnäollessa, tai syaanifosfonihappodietyyli-
liesterin läsnäollessa) tai fosforihapokejohdannais-
ten kanssa muodostetut anhydridit, tai orgaanisten happojen

kanssa muodostetut anhydritit, kuten orgaanisten karbok-
 syylihappojen kanssa muodostetut seka-anhydritit (saata-
 vissa esim. käsittelemällä vastaava happo mahdollisesti
 substituoidulla alempialkaani- tai fenyylialempial-
 5 kaanikarboksyylihappohalogenidilla, esim. fenyylietikka-
 happo-, pivaliinihappo- tai trifluorietikkahappokloridil-
 la; karboksyylihappo-seka-anhydridien menetelmä) tai or-
 gaanisten sulfonihappojen kanssa muodostetut anhydritit
 (saatavissa esim. käsittelemällä vastaavan hapon suola,
 10 kuten alkalimetallisuola sopivalla orgaanisella sul-
 fonihappohalogenidilla, kuten alempialkaani- tai aryyli-,
 esim. metaani- tai p-tolueenisulfonihappokloridilla; sul-
 fonihappo-seka-anhydridien menetelmä) sekä symmetriset
 anhydritit (saatavissa esim. kondensoimalla vastaava hap-
 15 po karbodi-imidin tai 1-dietyyliaminopropiinin läsnäol-
 lessa; symmetristen anhydridien menetelmä).

Sopivia syklisiä amideja ovat etenkin viisijäsenisten,
 aromaattisten diatsasyklien kanssa muodostetut amidit,
 20 esimerkiksi amidit, jotka voidaan valmistaa sopivien kar-
 bonyyliyhdisteiden kanssa, esim. amidit, jotka on muodos-
 tettu imidatsolien, esim. imidatsolin (saatavissa esim.
 käsittelemällä vastaava happo N,N'-karbonyylidi-imidatso-
 lilla; imidatsolimenetelmä) tai pyratsolien, esim. 3,5-
 25 dimetyylipyratsolin kanssa (saatavissa esim. happohydrat-
 sidin kautta käsittelemällä asetyyliasetonilla; pyratso-
 lidimenetelmä).

Kuten mainittiin, karboksyylihappojen johdannaiset, joita
 30 käytetään asylointiaineina, voidaan muodostaa myös in
situ, usein jopa yksinomaan. Tämä menetelmä on erityisen
 edullinen. Näin esim. N,N'-disubstituoidut amidinoesterit
 voidaan muodostaa in situ siten, että kaavan IV mukaisen
 lähtöaineen ja kaavan V mukaisen, asylointiaineena käy-
 35 tettävän hapon seos saatetaan reagoimaan sopivan N,N'-di-
 substituoidun karbodi-imidin, esim. N,N'-sykloheksyyli-
 karbodi-imidin läsnäollessa, esimerkiksi sopivan emäksen,

- kuten trietyyliamiinin läsnäollessa. Edelleen asylointi-
 aineena käytettävän hapon amino- tai amidoesterit voidaan
 muodostaa kaavan V mukaisen asyloitavan lähtöaineen läs-
 näollessa siten, että vastaavien happo- ja amino-lähtöai-
 5 neiden seos saatetaan reagoimaan N,N'-disubstituoidun
 karbodi-imidin, esim. N,N'-disykloheksyylikarbodi-imidin
 ja N-hydroksiamiinin tai N-hydroksi-amidin, esim. N-hyd-
 roksisukkinimidin läsnäollessa, mahdollisesti sopivan
 emäksen, esim. 4-dimetyyliamino-pyridiinin läsnäollessa.
 10 Edelleen aktivointi voidaan saada aikaan in situ saatta-
 malla reagoimaan N,N,N',N'-tetra-alkyyliuroniumyhdistei-
 den, kuten O-bentsotriatsol-1-yyli-N,N,N',N'-tetra-metyy-
 li-uronium-heksafluorifosfaatin kanssa. Lopuksi kaavan V
 mukaisten karboksyylihappojen fosforihappoanhydridejä
 15 voidaan muodostaa in situ siten, että alkyylifosforihap-
 poamidi, kuten heksametyylifosforihappotriamidi saatetaan
 reagoimaan sulfonihappoanhydridin, kuten 4-tolueenisul-
 fonihappoanhydridin läsnäollessa heksametyylifosforihap-
 potriamidin suolan, kuten tetrafluoriboraatin, esim. nat-
 20 riumtetrafluoriboraatin tai sen jonkin muun johdannaisen,
 kuten bentsotriatsol-1-yyli-oksi-tris-(dimetyyliamino)-
 fosfonium-heksafluoridin kanssa, edullisesti rasemisoitu-
 mista alentavan lisäaineen, kuten N-hydroksibentstriatso-
 lin läsnäollessa.
 25
 Kaavan IV mukaisten yhdisteiden aminoryhmässä, joka osal-
 listuu reaktioon, on edullisesti vähintään yksi reak-
 tiokykyinen vetyatomi, etenkin silloin, kun sen kanssa
 reagoiva karboksiryhmä esiintyy reaktiokykyisessä muodos-
 30 sa; se voi olla kuitenkin myös itse johdettu, esim. reak-
 tiolla fosfiitin, kuten dietyylikloorifosfiitin, 1,2-fe-
 nyleenikloorifosfiitin, etyylidikloorifosfiitin, ety-
 leenikloorifosfiitin tai tetraetyylipyrofosfiitin kanssa.
 Tällaisen, aminoryhmän sisältävän yhdisteen johdannainen
 35 on esim. myös karbamiinihappohalogenidi, jolloin reak-
 tioon osallistuva aminoryhmä on substituoitu halogeeni-
 karbonyylillä, esim. kloorikarbonyylillä.

Vapaan karboksyylihapon kondensaatio vastaavalla amiinilla voidaan suorittaa erityisen edullisella tavalla seuraavien kondensaatioaineiden läsnäollessa: N,N'-disubstitoidut karbodi-imidit, esimerkiksi dietyyli-, dipropyyli-, N-etyyli-N'-(3-dimetyyliaminopropyli)-karbodi-imidi tai etenkin disykloheksyylikarbodi-imidi, edelleen sopivat karbonyyliyhdisteet, esimerkiksi N,N'-karbonyyli-imidatsoli, 1,2-oksatsoliumyhdisteet, esim. 2-etyyli-5-fenyyli-1,2-oksatsolium-3'-sulfonaatti ja 2-tert-butyli-5-metyyli-isoksatsoliumperkloraatti, tai sopiva asyyliaminoyhdiste, esim. 2-etoksi-1-etoksikarbonyyli-1,2-dihydrokinoliini, N,N,N',N'-tetra-alkyyliuroniumyhdisteet, kuten O-bentstriatsol-1-yyli-N,N,N',N'-tetra-metyyli-uronium-heksafluorifosfaatti, edelleen aktivoidut fosforihappojohdannaiset, esim. difenyylifosforyyliatsidi, dietyylifosforyylisyanidi, fenyyli-N-fenyylifosforoamido-kloridaatti, bis-(2-okso-3-oksatsolidinyyli)fosfiinihappokloridi tai 1-bentstriatsolyylioksi-tris-(dimetyyliamino)-fosfonium-heksafluorifosfaatti, jolloin lisätään mahdollisesti rasemisoitumista estäviä aineita, kuten 1-hydroksibentstriatsolia.

Aktivoitujen estereiden, reaktiokkyisten anhydridien tai reaktiokkyisten syklisten amidien kondensaatio vastavilla amiineilla, myös silloin, kun nämä muodostetaan ainoastaan in situ, suoritetaan tavanomaisella tavalla orgaanisen emäksen, kuten yksinkertaisten trialempialkyyliamiinien, esim. trietyyliamiinin tai tributyyliamiinin, tai tilavia tähteitä sisältävän trialempialkyyliamiinin, esim. etyyliidi-isopropyliamiinin, ja/tai heterosyklisen amiinin, esim. pyridiinin, 4-dimetyyliaminopyridiinin tai etenkin n-metyylimorfoliinin läsnäollessa. Haluttaessa käytetään lisäksi vielä kondensaatioainetta, kuten on esitetty vapaiden karboksyylihappojen yhteydessä.

Happoanhydridien kondensaatio amiineilla voi tapahtua esim. epäorgaanisten karbonaattien, esim. ammonium- tai

alkalimetallikarbonaattien tai -vetykarbonaattien, kuten natrium- tai kaliumkarbonaatin tai -vetykarbonaatin läsnäollessa (tavanomaisesti yhdessä sulfaatin kanssa).

- 5 Karboksyylihappokloridit, esimerkiksi kaavan V mukaisesta haposta muodostetut kloorihiilihappojohdannaiset kondensoidaan vastaavilla amiineilla edullisesti orgaanisen amiinin, esim. edellä mainittujen trialempialkyyliamiinien tai heterosyklisten emästen läsnäollessa, mahdollisesti vetysulfaatin läsnäollessa.

- 15 Vastaavalla tavalla voidaan suorittaa useita yllä kaavan V mukaisten karboksyylihappojen yhteydessä esitettyjä reaktiotyyppejä myös pääteasemassa olevan sulfonyyliryhmän sisältävien kaavan V mukaisten yhdisteiden kohdalla (alempialkaanisulfonihappoja) kondensoitaessa kaavan V mukaisilla yhdisteillä sulfonamideiksi.

- 20 Näin voidaan käyttää esimerkiksi aktivoituja sulfonihappestereitä, esim. vastaavia, etenkin nitroryhmillä substituoituja aryyliestereitä, kuten fenyyliestereitä, jolloin kaavan IV mukainen amiinikomponentti voidaan käyttää myös alkalimetalliamidina, esim. alkalimetalliaryyliamidina, kuten natriumaniliiniamidina, tai typpipitoisten
- 25 heterosyklien alkalimetallisuolana, esim. kalium-pyrrolidina.

- Edelleen voidaan käyttää reaktiokykyisiä anhydridejä, kuten esim. vastaavia symmetrisiä (valmistettavissa esim. saattamalla alkaanisulfonihapoiset hopeasuolat reagoimaan alkaanisulfonyylikloridien kanssa) tai etenkin asymmetrisiä happoanhydridejä, esim. epäorgaanisten happojen kanssa muodostettuja anhydridejä, kuten sulfonyylihalogenideja, etenkin sulfonyyliklorideja (saatavissa esim. saattamalla vastaavat sulfonihapot reagoimaan epäor-
- 30 gaanisten happokloridien, esim. tionyylikloridin, fosforipentakloridin kanssa), orgaanisten karboksyylihappojen

- 5 kanssa muodostettuja anhydridejä (saatavissa esim. käsittelemällä sulfonihappohalogenidi karboksyylihapon suolalla, kuten alkalimetallisuolalla yllä mainitun sulfonihappo-seka-anhydridien menetelmän mukaisesti), tai atsideja (saatavissa esim. vastaavasta sulfonihappokloridista ja natriumatsidista tai vastaavan hydratsidin kautta ja käsittelemällä se typpihapokkeella yllä mainitun atsidimenetelmän mukaisesti).
- 10 Kondensaatio suoritetaan edullisesti inertissä, aproottisessa, etenkin vedettömässä liuottimessa tai liuotinseoksessa, esimerkiksi karboksyylihaloamidissa, esim. formamidissa tai dimetyyliformamidissa, halogenoidussa hiilivedyissä, esim. metyleenikloridissa, hiilitetrakloridissa
- 15 tai klooribentseenissä, ketonissa, esim. asetonissa, syklisessä eetterissä, esim. tetrahydrofuraanissa, esterissä, esim. etikkahappoetyyliesterissä, tai nitriilissä, esim. asetonitriilissä tai näiden seoksessa, mahdollisesti alennetussa tai korotetussa lämpötilassa, esim. n. -
- 20 40° - n. +100°C:n, etenkin edullisesti n. -10° - n. +50°C:n lämpötila-alueella ja ilman inerttiä kaasua tai inertin kaasun, esim. typen tai argonin atmosfäärissä.
- 25 Myös vesipitoiset, esimerkiksi alkoholiset, esim. etanoli tai aromaattiset liuottimet, esim. bentseeni tai tolueeni ovat mahdollisia. Alkalihydroksidien läsnäollessa emäksinä voidaan lisätä mahdollisesti myös asetonia.
- 30 Kondensaatio voi tapahtua myös kiintofaasisynteesinä tunnetun tekniikan mukaisesti, joka on peräisin R. Merrifieldiltä ja jota on selitetty esimerkiksi julkaisuissa Angew. Chem. 97, 801 - 812 (1985), Naturwissenschaften 71, 252 - 258 (1984) tai R. A. Houghten, Proc. Natl. Acad. Sci. USA 82, 5131 - 5135 (1985).
- 35 Suojaryhmillä suojattujen funktionaalisten ryhmien vapauttaminen saaduissa kaavan I mukaisissa, suojattuja

funktioita sisältävissä yhdisteissä tapahtuu yhden tai useamman menetelmän a) yhteydessä esitetyn menetelmän mukaisesti.

5 Menetelmä c) (kondensaatio amidisidoksen muodostamisessa)

Kaavojen VI ja VII mukaisissa lähtöaineissa funktionaaliset ryhmät lukuunottamatta ryhmiä, joiden tulee osallistua reaktioon tai jotka eivät reagoi reaktio-olosuhteissa tai reagoivat ainoastaan vähäisessä määrin, on suojattu toisistaan riippumatta suojaryhmillä.

Kondensaatio amidisidoksen muodostamiseksi, jolloin saadaan kaavan I mukainen yhdiste, jossa yksittäiset tai useammat funktionaaliset ryhmät esiintyvät mahdollisesti suojattuina, tapahtuu vastaavalla tavalla, kuten on esitetty menetelmässä b). Samoin vastaavat reaktiokykyiset happojohdannaiset ja reaktiokykyiset aminojohdannaiset vastaavat menetelmän b) yhteydessä esitettyjä.

20

Suojaryhmillä suojattujen funktionaalisten ryhmien vapauttaminen saaduissa kaavan I mukaisissa, suojattuja funktioita sisältävissä yhdisteissä tapahtuu yhden tai useamman menetelmän a) yhteydessä mainitun menetelmän mukaisesti.

25

Menetelmä d) (kondensaatio amidisidoksen muodostamisessa)

Kaavojen VIII ja IX mukaisissa lähtöaineissa funktionaaliset ryhmät lukuunottamatta ryhmiä, joiden tulee osallistua reaktioon tai jotka eivät reagoi reaktio-olosuhteissa tai reagoivat ainoastaan vähäisessä määrin, on suojattu toisistaan riippumatta suojaryhmillä.

30

Kondensaatio amidisidoksen muodostamiseksi, jolloin saadaan kaavan I mukainen yhdiste, jossa yksittäiset tai useammat funktionaaliset ryhmät esiintyvät mahdollisesti

35

suojattuina, tapahtuu vastaavalla tavalla, kuten on esitetty menetelmässä b). Samoin vastaavat reaktiokykyiset happojohdannaiset ja reaktiokykyiset aminojohdannaiset vastaavat menetelmän b) yhteydessä esitettyjä.

5

Suojaryhmillä suojattujen funktionaalisten ryhmien vapauttaminen saaduissa kaavan I mukaisissa, suojattuja funktioita sisältävissä yhdisteissä tapahtuu yhden tai useamman menetelmän a) yhteydessä esitetyn menetelmän mukaisesti.

10

Menetelmä e) (kondensaatio amidisidoksen muodostamisessa)

Kaavojen X ja IX mukaisissa lähtöaineissa funktionaaliset ryhmät lukuunottamatta ryhmiä, joiden tulee osallistua reaktioon tai jotka eivät reagoi reaktio-olosuhteissa tai reagoivat ainoastaan vähäisessä määrin, on suojattu toisistaan riippumatta suojaryhmillä.

15

Kondensaatio amidisidoksen muodostamiseksi, jolloin saadaan kaavan I mukainen yhdiste, jossa yksittäiset tai useammat funktionaaliset ryhmät esiintyvät mahdollisesti suojattuina, tapahtuu vastaavalla tavalla, kuten on esitetty menetelmässä b). Samoin vastaavat reaktiokykyiset happojohdannaiset vastaavat menetelmän b) yhteydessä esitettyjä, kaavan IX mukaiset reaktiokykyiset iminojohdannaiset vastaavat reaktiokykyisiä menetelmän b) yhteydessä esitettyjä aminojohdannaisia, mikäli tämä on kemiallisesti mahdollista.

25

30

Suojaryhmillä suojattujen funktionaalisten ryhmien vapauttaminen saaduissa kaavan I mukaisissa, suojattuja funktioita sisältävissä yhdisteissä tapahtuu yhden tai useamman menetelmän a) yhteydessä esitetyn menetelmän mukaisesti.

35

Ylimääräisiä menetelmätoimenpiteitä

Ylimääräisissä menetelmätoimenpiteissä, jotka suoritetaan haluttaessa, lähtöyhdisteiden funktionaaliset ryhmät, joiden ei tule osallistua reaktioon, esiintyvät suojamattomina tai tarvittaessa suojatussa muodossa, esimerkiksi yhdellä tai useammalla yllä menetelmän a) yhteydessä mainitulla suojaryhmällä suojattuina. Suojaryhmät lohkaistaan kerralla tai asteittain yhden tai useamman menetelmän a) yhteydessä mainitun menetelmän mukaisesti. Tällöin viitattakoon nimenomaan siihen, että aminoryhmä voi esiintyä atsidoryhmänä suojattuna ja että aminoryhmän vapauttamista atsidoryhmästä voidaan pitää tämän tekstin puitteissa myös suojaryhmän lohkaisuna.

Kaavan I mukaisten, vähintään yhden suolan muodostavan ryhmän sisältävien yhdisteiden suolat valmistetaan sinänsä tunnetulla tavalla. Näin voidaan muodostaa kaavan I mukaisten, happamia ryhmiä sisältävien yhdisteiden suoloja esim. käsittelemällä metalliyhdisteillä, kuten sopivien orgaanisten karboksyylihappojen alkalimetallisuoloilla, esim. 2-etyyli-heksaanihapon natriumsuolalla, orgaanisilla alkali- tai maa-alkalimetalliyhdisteillä, kuten vastaavilla hydroksideilla, karbonaateilla tai vetykarbonaateilla, kuten natrium- tai kaliumhydroksidilla, -karbonaatilla tai -vetykarbonaatilla, vastaavilla kalsiumyhdisteillä tai ammoniakilla tai sopivalla orgaanisella amiinilla, jolloin käytetään edullisesti stökiometrisiä määriä tai ainoastaan vähäistä ylimäärää suolan muodostavaa ainetta. Kaavan I mukaisten yhdisteiden happoadditiosuoloja saadaan tavanomaisella tavalla, esim. käsittelemällä hapolla tai sopivalla anioninvaihdinreagenssilla. Kaavan I mukaisten, happamia ja emäksisiä suolan muodostavia ryhmiä, esim. vapaan karboksiryhmän ja vapaan aminoryhmän sisältävien yhdisteiden sisäisiä suoloja voidaan muodostaa esim. neutraloimalla suola, kuten

happoadditiosuolat isoelektriseen pisteeseen, esim. heikoilla emäksillä tai käsittelemällä ioninvaihtimilla.

5 Suolat voidaan muuntaa tavanomaisella tavalla vapaiksi yhdisteiksi, metalli- ja ammoniumsuolat esimerkiksi käsittelemällä sopivilla hapoilla tai happamilla ioninvaihtimilla, ja happoadditiosuolat esimerkiksi käsittelemällä sopivilla emäksisillä aineilla tai emäksisillä ioninvaihtimilla.

10

Kaavan I mukaisen yhdisteen suolan muunto joksikin toiseksi voi tapahtua vapaan yhdisteen kautta tai vaihtamalla suoraan suolan muodostava ioni, esimerkiksi ioninvaihtokromatografialla.

15

Stereoisomeeriseokset, siis diastereomeerien ja/tai enantiomeerien seokset, kuten esimerkiksi raseemiset seokset voidaan erottaa sinänsä tunnetulla tavalla vastaaviksi isomeereiksi sopivien erotusmenetelmien avulla. Siten

20

voidaan diastereomeeriseokset erottaa yksittäisiksi diastereomeereiksi jakokiteytyksen, kromatografian, liuotinjaon jne. avulla. Rasemaatit voidaan erottaa toisistaan muuntamalla optiset antipodit diastereomeereiksi, saattamalla tämän jälkeen reagoimaan esimerkiksi optisesti aktiivisten yhdisteiden, esim. optisesti aktiivisten happojen tai emästen kanssa, kromatografoimalla optisesti aktiivisilla yhdisteillä täytetyissä pylväsmateriaaleissa tai entsyymaattisilla menetelmillä, esim. saattamalla selektiivisesti reagoimaan ainoastaan toinen molemmista

25

enantiomeereistä. Tämä erotus voi tapahtua sekä jonkin lähtötuotteen vaiheessa että itse kaavan I mukaisten yhdisteiden yhteydessä.

30

Saatavassa kaavan I mukaisessa yhdisteessä amino- tai
35 karboksamidiryhmä voidaan substituoida, vapaassa tai reaktiokykyisessä muodossa esiintyvä karboksiryhmä voidaan esteröidä tai amidoida tai vast. esteröity tai ami-

doitu karboksiryhmä voidaan muuntaa vapaaksi karboksiryhmäksi.

Aminoryhmän substituointi alkyloimalla liittämällä samalla alempialkyyli R_1 kaavan I mukaisten yhdisteiden valmistamiseksi, joissa R_2 merkitsee jotakin yllä mainituista tähteistä lukuunottamatta vetyä tai alempialkyyliä, ja/tai kaavan I mukaisten yhdisteiden alkyloimiseksi, joissa R_1 merkitsee piperatsinokarbonyyliä, vastaavien N- C_1 - C_4 -alkyyli-piperatsinoyhdisteiden valmistamiseksi tapahtuu esim. alkyloimalla.

Sopivia aineita kaavan I mukaisen yhdisteen alkyloimiseksi ovat esimerkiksi diatsoyhdisteet, esim. diatsometaani. Diatsometaani voidaan hajottaa inertissä liuottimessa, jolloin muodostunut vapaa metyleeni reagoi karboksamidiryhmän kanssa kaavan I mukaisessa yhdisteessä. Diatsomeetaanin hajotus tapahtuu edullisesti katalyyttisesti, esim. hienojakoisessa muodossa esiintyvän jalometallin, esim. kuparin, tai jalometallisuolan, esim. kupari(I)-kloridin tai kupari(II)-sulfaatin läsnäollessa.

Saksalaisessa hakemusjulkaisussa 2 331 133 on mainittu myös alkylointiaineita, jotka voidaan saattaa julkaisussa esitetyissä reaktio-olosuhteissa reagoimaan kaavan I mukaisen, karboksamidiryhmän sisältävän yhdisteen kanssa.

Muita alkylointiaineita ovat vastaavat alempialkyyliyhdisteet, joissa on substituentti X, jolloin X merkitsee poistuvaa ryhmää. Poistuva ryhmä on etenkin nukleofuginen poistuva ryhmä, jona on vahvalla epäorgaanisella tai orgaanisella hapolla esteröity hydroksi, kuten mineraalihapolla, esim. halogeenivetyhapolla, kuten kloorivety-, bromivety- tai jodivetyhapolla, tai vahvalla orgaanisella sulfonihapolla, kuten mahdollisesti, esim. halogeenilla, kuten fluorilla substituoidulla alempialkaanisulfonihapolla tai aromaattisella sulfonihapolla, esim. mahdolli-

sesti alempialkyyllillä, kuten metyyllillä, halogeenilla, kuten bromilla ja/tai nitrolla substituoidulla bentseenisulfonihapolla, esim. metaanisulfoni-, trime-
 5 taanisulfoni- tai p-tolueenisulfonihapolla esteröity hydroksi tai typpivetyhapolla esteröity hydroksi.

Reaktio voi tapahtua ensimmäisen tai toisen kertaluvun nukleofiilisen substituution olosuhteissa, esimerkiksi, kuten on esitetty menetelmän a) yhteydessä.

10

Saatavassa kaavan I mukaisessa yhdisteessä, jossa substituenteilla R_1 , R_2 ja R_3 on esitetyt merkitykset, R_4 merkitsee vapaata hydroksiryhmää ja muut funktionaaliset ryhmät esiintyvät suojatussa muodossa, vapaa hydroksiryhmä voi-
 15 daan eetteröidä C_1 - C_4 -alkyyliähteellä.

Eetteröinti voi tapahtua yllä mainituista alkylointiaineista valituilla, C_1 - C_4 -alkyyliähteiden liittämiseen sopivilla reagensseilla ja yllä esitetyissä reaktio-olosuhteissa, esim. diatsometaanilla, C_1 - C_4 -alkyylihalo-
 20 genideilla, sulfonihappoestereillä, Meerwein-suoloilla, 1-substituoiduilla 3-aryylitriatseeneilla jne.

Saatavassa kaavan I mukaisessa yhdisteessä tioryhmä, esim. tiomorfolinokarbonyylissä R_2 ja/tai tiomorfolinossa R_3 , voidaan hapettaa sulfinyyli- tai sulfonyyliryhmäksi tai sulfinyyli- tai sulfonyyliryhmä, kuten S-okso-tiomorfolinokarbonyylissä R_2 ja/tai S-okso-tiomorfolinossa R_3 , voidaan hapettaa sulfonyyliryhmäksi.
 25

30

Hapetus sulfonyyliryhmäksi voidaan suorittaa useimmilla tavanomaisista hapetusaineista. Etenkin käytetään sellaisia hapetusaineita, jotka hapettavat tioryhmän tai sulfinyyli- tai sulfonyyliryhmän selektiivisesti kaavan I mukaisen yhdisteen
 35 muiden funktionaalisten ryhmien, esim. amidifunktion tai hydroksiryhmän läsnäollessa, esimerkiksi aromaattisia tai alifaattisia peroksidikarboksyylihappoja, esim. perbent-

soehappoa, monoperftaalihappoa, m-klooriperbentsoehappoa, peretikkahappoa, permuurahaishappoa tai trifluoriperetikkahappoa. Hapetus peroksikarboksyylilapoilla tapahtuu tavanomaisissa, tähän tarkoitukseen sopivissa liuottimissa, esimerkiksi kloorihiilivedyissä, esim. metyleenikloridissa tai kloroformissa, eettereissä, kuten dietyyli-eetterissä tai dioksaanissa, estereissä, kuten etikkahapoetyyliesterissä tai vastaavissa -78°C :n ja huoneen lämpötilan välisissä lämpötiloissa, esim. -20° - $+10^{\circ}\text{C}$:ssa, etenkin edullisesti n. 0°C :ssa. Peroksikarboksyylilappo voidaan muodostaa myös in situ, esim. vetyperoksidilla etikkahapossa tai muurahaishapossa, joka sisältää mahdollisesti etikkahappoanhydridiä, esim. 30 - 90%:isella vetyperoksidilla etikkahappo/etikkahappoanhydridissä. Samoin sopivia ovat myös muut peroksoyhdisteet, esimerkiksi kaliumperoksomonosulfaatti alempialkanoli/vesi-seoksissa, esim. metanoli-vedessä tai etanoli-vedessä, tai vesipitoisessa etikkahapossa -70°C :n ja $+30^{\circ}\text{C}$:n, esim. -20°C :n ja huoneen lämpötilan välisissä lämpötiloissa, edelleen natriummetaperjodaatti metanolissa tai metanoli-vesi-seoksissa 0°C ja 50°C :n välisissä lämpötiloissa, esim. suunnilleen huoneen lämpötilassa.

Tioryhmän hapettamiseksi sulfinyyliryhmäksi käytetään selektiivisiä hapetusaineita ekvimolaarisina määrinä tai ainoastaan vähäisenä ylimääränä valvotuissa reaktio-olosuhteissa, jotta vältetään ylihapettuminen sulfonyyliryhmäksi. Sopivia ovat esimerkiksi natriummetaperjodaatti metanolissa tai metanoli-vesi-seoksissa -15°C :n ja huoneen lämpötilan välisissä lämpötiloissa, esim. n. 0°C :ssa, m-klooriperbentsoehappo metyleenikloridissa, kloroformissa tai etikkaesterissä -78°C :n ja 10°C :n välisissä lämpötiloissa, etenkin edullisesti -30° - 0°C :ssa, edelleen tert-butyylhypokloriitti alempialkanoleissa, esim. metanolissa, tai vetyperoksidi asetonissa tai etikkahapossa n. 0°C :n lämpötiloissa, tai yllä mainittu kaliumperoksomonosulfaatti alhaisissa lämpötiloissa.

Saatavassa kaavan I mukaisessa, sulfinyyliryhmän sisältävässä yhdisteessä tämä ryhmä voidaan pelkistää tioryhmäksi. Etenkin edullisia ovat selektiiviset pelkistysaineet, jotka jättävät muut kaavan I mukaisen yhdisteen funktionaaliset ryhmät, esim. amidifunktion muuttumattomiksi. Esimerkkeinä tällaisista selektiivisistä pelkistysaineista mainittakoon diklooriboraani, jota käytetään etenkin tetrahydrofuraanissa tai dimetoksietaanissa -30° - $+10^{\circ}\text{C}$:n lämpötiloissa, trifenyylifosfiini kiehuvaassa hiilitetrakloridissa, trikloorisilaani tai heksakloridisilaani, rautapentakarbonyyli, edelleen natriumvetysulfitti vesi-alkoholipitoisissa liuottimissa, esim. vesi-metanolissa, vesi-etanolissa tai myös vesi-tetrahydrofuraanissa -10° - $+50^{\circ}\text{C}$:n lämpötiloissa, edelleen natriumboorihydridi koboltti(II)kloridin läsnäollessa tai myös vety palladiumin, esim. palladium/hiilen katalyyttisten määrien läsnäollessa kiehuvaassa etanolissa.

Haluttaessa saatavassa kaavan I mukaisessa yhdisteessä sulfonyyliryhmä voidaan pelkistää tioryhmäksi, esimerkiksi di-isobutyylialuminiumhydridillä eetterissä tai tetrahydrofuraanissa.

Keksintö koskee myös niitä menetelmän suoritusmuotoja, joissa lähdetään jossakin vaiheessa välituotteena saatavasta yhdisteestä ja suoritetaan puuttuvat vaiheet tai menetelmä katkaistaan jossakin vaiheessa tai lähtöaine muodostetaan reaktio-olosuhteissa tai käytetään reaktiokykyisen johdannaisen tai suolan muodossa tai menetelmän mukaisesti saatava yhdiste tuotetaan menetelmän olosuhteissa ja käsitellään edelleen in situ. Tällöin lähdetään etenkin sellaisista lähtöaineista, jotka johtavat niihin yhdisteisiin, jotka on yllä esitetty erittäin edullisiksi.

Lähtöyhdisteitä

Uudet lähtöaineet ja/tai välituotteet sekä menetelmät niiden valmistamiseksi ovat samoin tämän keksinnön kohteena. Edullisesti käytetään sellaisia lähtöaineita ja reaktio-olosuhteet valitaan siten, että saadaan edulliseksi esitettyjä yhdisteitä.

Valmistettaessa kaikkia lähtöaineita vapaat funktionaaliset ryhmät, joiden ei tule osallistua kulloinkin kyseessä olevaan reaktioon, voivat esiintyä suojaamattomina tai suojatussa muodossa, etenkin suojattuina, erityisesti yllä menetelmän a) yhteydessä mainituilla suojaryhmillä. Nämä suojaryhmät voidaan vapauttaa sopivina ajankohtina menetelmän a) yhteydessä esitetyillä reaktioilla. Suolan muodostavia ryhmiä sisältäviä yhdisteitä voidaan käyttää kulloinkin myös suoloina, mikäli reaktiot tämän sallivat, ja suola voidaan muodostaa jokaisessa vaiheessa tai muuntaa jälleen vapaiksi yhdisteiksi.

20

Kaavoissa, mikäli asymmetristen hiiliatomien stereokemialla ei määritellä valitsemalla vastaavat sidossymbolit, asymmetriset hiiliatomit voivat esiintyä (S)-, (R)- tai (R,S)-konfiguraatiossa.

25

Kaavan II mukaiset aminoyhdisteet voidaan valmistaa siten, että tunnettujen menetelmien mukaisesti.

Ne voidaan valmistaa esimerkiksi kaavan I mukaisista yhdisteistä, joissa R_1 merkitsee vetyä, R_2 merkitsee menetelmän a) yhteydessä mainittujen suojaryhmien lohkaismenetelmien olosuhteissa lohkaistavaa ryhmää, esim. alempialkoksikarbonyyliä, fenyyl- tai naftyyli-alempialkoksikarbonyyliä ja muilla tähteillä on esitetty merkitykset, siten, että lohkaistaan vastaavat tähteet R_2 . Vastaavat kaavan I mukaiset yhdisteet voidaan valmistaa esimerkiksi jonkin menetelmien c), d) tai e) yhteydessä mai-

nitun menetelmän mukaisesti, niiden lähtöyhdisteet voidaan valmistaa alla esitetyllä tavalla.

5 Kaavan III mukaiset yhdisteet ovat tunnettuja tai ne voidaan valmistaa sinänsä tunnettujen menetelmien mukaisesti tai ne ovat kaupallisesti saatavia.

Kaavan IV mukaiset aminoyhdisteet voidaan valmistaa sinänsä tunnettujen menetelmien mukaisesti.

10

Esimerkiksi ne voidaan valmistaa kaavan I mukaisista yhdisteistä, joissa R_2 merkitsee menetelmän a) yhteydessä esitettyjen suojaryhmien lohkaismenetelmien olosuhteissa lohkaistavaa ryhmää, esim. alempialkoksikarbonyyliä, fenyyli- tai naftyylialempialkoksikarbonyyliä ja muilla tähteillä on esitetyt merkitykset, siten, että lohkaistaan vastaavat tähteet R_2 . Tähän tarvittavat kaavan I mukaiset yhdisteet voidaan valmistaa esimerkiksi jonkin menetelmien a), c), d) tai e) yhteydessä esitetyn menetelmän mukaisesti, jolloin menetelmän a) ollessa kyseessä mainittuja lohkaistavia tähteitä R_2 vastaava suojaryhmä esiintyy kaavan II mukaisessa suojatussa lähtöyhdisteessä ja muissa menetelmissä tähteellä R_2 on samoin vastaava merkitys.

25

Kaavan V mukaiset hapot ovat tunnettuja tai ne voidaan valmistaa sinänsä tunnettujen menetelmien mukaisesti tai ne ovat kaupallisesti saatavia.

30

Kaavan VI mukaiset aminoyhdisteet ova tunnettuja tai ne voidaan valmistaa sinänsä tunnettujen menetelmien mukaisesti, esimerkiksi peptidisynteesin avulla (D)-, (L)- tai (D,L)-valiinista, (D)-, (L)- tai (D,L)-(R₄-fenyyli)alaniinista ja kaavan X mukaisesta yhdisteestä tai vastavasti suojatuista johdannaisista kondensaatio-olosuhteissa menetelmän b) yhteydessä esitettyjen olosuhteiden mukaisesti.

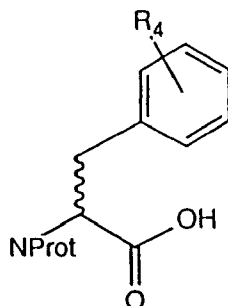
35

Edullisesti ne valmistetaan seuraavasti:

Kaavan XII

5

10



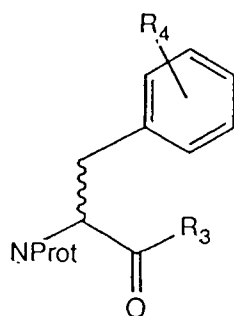
(XII)

mukainen yhdiste, jossa NProt merkitsee suojattua amino-ryhmää, etenkin aryyllialempialkoksikarbonyyliaminoa, kuten menetelmän a) yhteydessä on esitetty, esim. fenyyllialempialkoksikarbonyyliaminoa, kuten bentsyylioksikarbonyyliaminoa ja tähteellä R_4 on kaavan I mukaisille yhdisteille esitetyt merkitykset, etenkin vastaava yhdiste, jonka asymmetrisessä C-atomissa on (L)-konfiguraatio, tai sen vastaava happojohdannainen, esim. menetelmän b) yhteydessä esitettyjä happojohdannaista vastaava kondensoidaan reaktio-olosuhteissa, jotka vastaavat menetelmän b) yhteydessä mainittuja, kaavan X mukaisella yhdisteellä, edullisesti inertissä liuottimessa, kuten klooratussa hiilivedyissä, esim. metyleenikloridissa $-80 - 50^{\circ}\text{C:n}$, etenkin $-10 - 30^{\circ}\text{C:n}$ lämpötiloissa kondensaatioaineen, esim. sopivan N,N' -disubstituoidun karbodiimidin, esim. N,N' -disykloheksyylikarbodiimidin läsnäollessa (karbodiimidi-menetelmä).

30

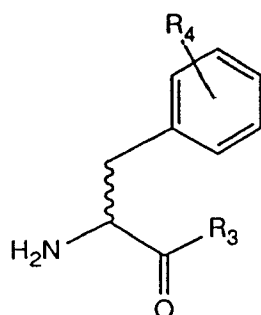
Saadaan kaavan XIII

35



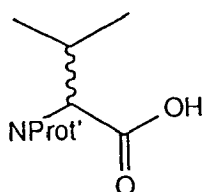
(XIII),

mukainen yhdiste, jossa tähteellä R_3 on kaavan I mukaisille yhdisteille esitetty merkitys ja muilla tähteillä on esitetyt merkitykset. Suojaryhmän vapauttaminen suojatussa aminoryhmässä NProt tapahtuu menetelmän a) yhteydessä mainituissa olosuhteissa, etenkin lohkaistaessa aryy-
 5 lialempialkoksikarbonyyli hydraamalla katalyyttisesti, etenkin jalometallikatalysaattoreiden, kuten platinan, rodiumin tai palladiumin läsnäollessa, mahdollisesti kantoina, kuten silikaattien, aktiivihiilen tai alu-
 10 miniumoksidien läsnäollessa, esim. palladium-aktiivihii-
 lellä polaarisisissa liuottimissa, esim. alkoholeissa, kuten metanolissa tai etanolissa $-80 - 50^{\circ}\text{C:n}$, etenkin $-10 - 30^{\circ}\text{C:n}$ lämpötiloissa. Saadaan kaavan VIII



(VIII)

mukainen yhdiste, jossa tähteillä on esitetyt merkitykset. Tähteen (L)-, (D)- tai (D,L)-valiini liittämiseksi kaavan VIII mukainen aminoyhdiste kondensoidaan kaavan
 25 XIV



(XIV)

mukaisella karboksyylihapolla tai sen reaktiokykyisellä happojohdannaisella, jossa kaavassa NProt' merkitsee suojattua aminoryhmää, kuten yllä on esitetty tähteen NProt yhteydessä, menetelmän b) yhteydessä esitettyjä olosuhteita vastaavissa olosuhteissa, etenkin kaavan XIII mukaisen yhdisteen valmistamiseksi esitetyissä olosuhteissa, ja suojaryhmä lohkaistaan menetelmässä a) esitetyllä

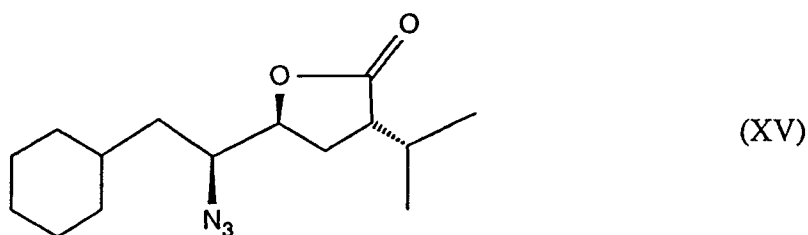
tavalla, edullisesti olosuhteissa, jotka on esitetty yllä suojaryhmien vapauttamiseksi kaavan XIII mukaisista yhdisteistä. Saadaan kaavan VI mukainen yhdiste, jossa tähteillä on esitetyt merkitykset.

5

Kaavan VII mukaiset yhdisteet voidaan valmistaa sinänsä tunnettujen menetelmien mukaisesti.

Edullisesti lähdetään kaavan XV

10



15

mukaisesta laktonista, joka valmistetaan julkaisussa J. Org. Chem. 54, 1178 - 1186 (1989) esitetyn menetelmän mukaisesti. Tämä yhdiste hydrolysoidaan lohkaisemalla tällöin laktoni, edullisesti alkalisten yhdisteiden, etenkin hydroksidien, esim. alkalimetallihydroksidien, kuten natriumhydroksidin tai kaliumhydroksidin läsnäollessa vesipitoisissa liuottimissa, esim. alkoholi/vesiseoksissa, kuten metanoli/vedessä tai etanoli/vedessä -80 - 50°C:n, etenkin -10 - 30°C:n lämpötiloissa, jolloin saadaan vastaava vapaa karboksyylihappo (5(S)-atsido-4(S)-hydroksi-6-sykloheksyyli-2(S)-isopropyyliheksaanihappo) tai vastaava suola, esim. alkalimetallisuola, kuten natriumsuola. Tästä valmistetaan nyt kaavan VII mukaiset yhdisteet seuraavasti:

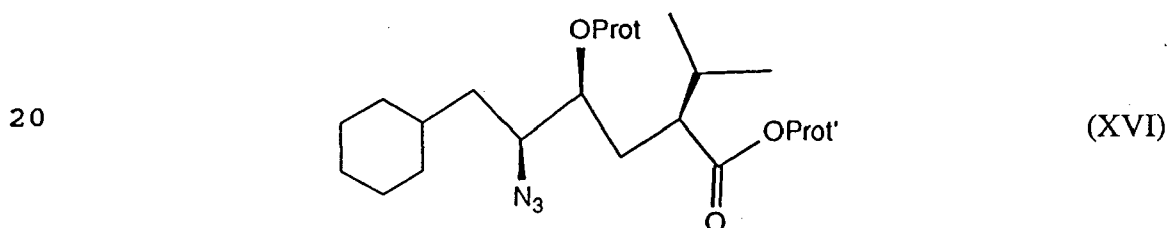
30

Ensin suojataan vapaa tai suolana esiintyvä karboksiryhmä ja vapaa hydroksiryhmä liittämällä jokin menetelmän a) yhteydessä esitetyistä suojaryhmistä. Edullisesti molempiin ryhmiin liitetään trialempialkyyilisilyyliryhmä, kuten tert-butyylidimetyylisilyyli, etenkin saattamalla 5(S)-atsido-4(S)-hydroksi-6-sykloheksyyli-2(S)-isopropyy-

35

liheksaanihappo tai vastaava suola, esim. alkalimetallisuola, kuten natriumsuola reagoimaan vastaavan trialempialkyylihalogeenisilaanin, esim. trialempialkyylikloorisilaanin, kuten tert-butyylidimetyylikloorisilaanin kanssa edullisesti emästen, kuten syklisten tai asyklisten typpiemästen, esim. imidatsolin läsnäollessa tai puuttuessa aproottisessa liuottimessa, etenkin karboksyylihappoamidissa, kuten dimetyyliformamidissa -80 - 50°C:n, etenkin -10 - 30°C:n lämpötiloissa ja suojakaasun puuttuessa tai etenkin suojakaasun, kuten typen tai argonin läsnäollessa.

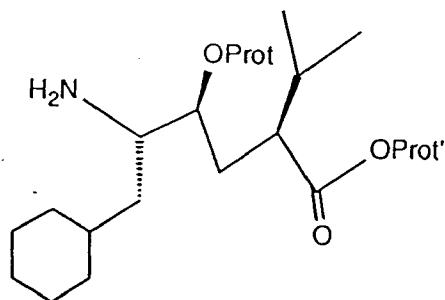
Kaavan VII mukaiset yhdisteet, jossa R_1 ja/tai R_2 merkitsee alempialkyyliä tai vetyä, jolloin ainakaan toinen tähteistä ei merkitse vetyä, voidaan valmistaa tästä siten, että näin saatu kaavan XVI



mukainen yhdiste, jossa OProt ja OProt' merkitsevät erilaisia tai edullisesti samanlaisia niistä esitetyistä suojaryhmistä, joita ei lohkaista hydraamalla, etenkin jotakin mainittua trialempialkyylisilyylitähdettä, hydraataan pelkistämällä atsiditähde, edullisesti katalysaattorin, esim. jalometallikatalysaattorin, kuten platinan, rodiumin tai palladiumin läsnäollessa, joka esiintyy vapaana tai kantoaineeseen sitoutuneena, esim. piihappogeeiliin, aluminiumoksidin tai aktiivihiileen sitoutuneena, esim. palladium-aktiivihiilen läsnäollessa polaarissa liuottimessa, kuten alkoholissa, esim. metanolissa tai etanolissa -80 - 50°C:n, etenkin -10 - 30°C:n lämpötiloissa normaalipaineessa tai korkeintaan 5 atm:n vetypaineessa.

Tällöin saadaan kaavan XVII

5



(XVII)

- 10 mukainen yhdiste, jossa tähteillä on viimeksi mainitut merkitykset. Tästä voidaan vapauttaa suoraan kaavan VII mukainen yhdiste lohkaisemalla suojaryhmät OProt ja OP-
- 15 rot', kuten menetelmässä a) on esitetty, jolloin orgaanisena silyylioksidikarbonyylinä, kuten trialempialkyy-
- lisilyylioksidikarbonyylinä, esim. trimetyyllisilyylioksi-
- 20 karbonyylinä suojattu karboksi vapautetaan tavanomaisella tavalla solvolyyttisesti, esim. käsittelemällä vedellä, alkoholilla, emäksellä, etenkin karbonaatilla, esim. alkalimetallikarbonaatilla, kuten kaliumkarbonaatilla, tai
- 25 hapolla, tai lisäksi fluoridilla, kuten menetelmässä a) on esitetty, edullisesti alkalikarbonaatilla vesi-alkoholipitoisessa liuoksessa, esim. metanolissa tai etanolissa vedessä -80 - 50°C:n, etenkin -10 - 30°C:n lämpötilassa suojakaasun, kuten argonin tai typen atmosfäärissä, kun
- 30 taas orgaanisena silyylioksina suojattu hydroksi voidaan vapauttaa hydrolysoimalla hydroksidipitoisen emäksen, kuten maa-alkalimetallihydroksidin tai etenkin alkalimetallihydroksidin, esim. NaOH:n, KOH:n tai LiOH:n läsnäollessa, tai asidolyysin avulla, esim. mineraalihapolla, etenkin fluorivetyhapolla, tai vahvalla karboksyylihapolla, tai etenkin amiinin fluorisuolalla, erityisesti tert-
- 35 butyyliammoniumfluoridilla aproottisessa polaarissa liuottimessa, esim. happoamidissa, kuten dimetyyliformamidissa -80 - 50°C:n, etenkin -10 - 30°C:n lämpötiloissa. Tällöin saadaan kaavan VII mukainen yhdiste, jossa R₁ ja R₂ merkitsevät vetyä. Vaihtoehtoisesti tähteet R₁ ja/tai R₂ vetyä lukuunottamatta voidaan liittää alkyloimalla kaavan

III mukaisella yhdisteellä, kuten menetelmässä a) on esitetty, ja/tai asyloimalla kaavan V mukaisella hapolla, kuten menetelmässä b) on esitetty, ja lohkaista vasta tämän jälkeen suojaryhmät, jolloin saadaan kaavan VII mukaisia yhdisteitä, joissa maksimaalisesti toinen tähteistä R_1 tai R_2 voi merkitä vetyä.

Kaavan VIII mukaiset yhdisteet voidaan valmistaa esimerkiksi kaavan XIII mukaisista yhdisteistä yllä esitetyllä tavalla.

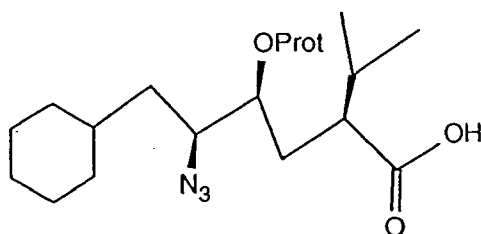
Kaavan IX mukaiset yhdisteet voidaan saada kaavan VII mukaisista karboksyylihapoista tai niiden reaktiokykyisistä johdannaisista, joissa sellaiset funktionaaliset ryhmät, joiden ei tule osallistua reaktioon, on suojattu menetelmässä a) esitetyllä tavalla, kondensoimalla (D)-, (L)- tai (D,L)-valiininilla, jossa karboksiryhmä on suojattu menetelmässä a) esitetyllä tavalla, muodostamalla amidisidos menetelmän b) yhteydessä esitetyissä reaktio-olosuhteissa, edullisesti vastaavissa reaktio-olosuhteissa, jotka on esitetty saatettaessa kaavan VIII mukaiset yhdisteet reagoimaan kaavan XIV mukaisiksi yhdisteiksi. Tarvittaessa esiintyvät suojaryhmät lohkaistaan menetelmässä a) esitetyllä tavalla.

Kaavan X mukaiset yhdisteet ovat tunnettuja tai ne voidaan valmistaa tunnettujen menetelmien mukaisesti tai ne ovat kaupallisesti saatavia.

Lopuksi kaavan XI mukaiset yhdisteet voidaan valmistaa kaavan IX mukaisista karboksyylihapoista tai niiden reaktiokykyisistä johdannaisista menetelmässä b) esitettyjä reaktio-olosuhteita vastaavissa olosuhteissa, etenkin kaavan XI mukaisten yhdisteiden valmistamiseksi kaavan VII mukaisista yhdisteistä esitetyissä olosuhteissa, jolloin vapaat funktionaaliset ryhmät lukuunottamatta reaktioon osallistuvia ryhmiä esiintyvät mahdollisesti suoja-

tussa muodossa, ja tarvittaessa lohkaistaan esiintyvät suojaryhmät menetelmässä a) esitetyllä tavalla.

Eräs edullinen muunnelmä kaavan I mukaisten yhdisteiden valmistamiseksi lähtee yllä esitetyllä tavalla kaavan XIII ja XIV mukaisista yhdisteistä valmistetuista kaavan VI mukaisista yhdisteistä ja yllä esitetyllä tavalla valmistetuista kaavan XVI mukaisista yhdisteistä, joissa vapaat funktionaaliset ryhmät lukuunottamatta reaktioon osallistuvia ryhmiä esiintyvät mahdollisesti suojatussa muodossa, kuten menetelmässä a) on esitetty. Tällöin karboksisuojaryhmä OProt' lohkaistaan selektiivisesti kaavan XVI mukaisesta yhdisteestä, edullisesti hydrolyysin avulla emäksen, kuten hiilihapon suolan, esim. alkalimetallikarbonaatin, kuten natriumkarbonaatin läsnäollessa vesialkoholisessa liuoksessa, esim. metanoli- tai etanoli-vesi-seoksessa $-80 - 50^{\circ}\text{C}$:n, etenkin $-10 - 30^{\circ}\text{C}$:n lämpötiloissa ilman suojakaasua tai etenkin suojakaasun, kuten typen tai argonin atmosfäärissä. Saadaan kaavan XVIII



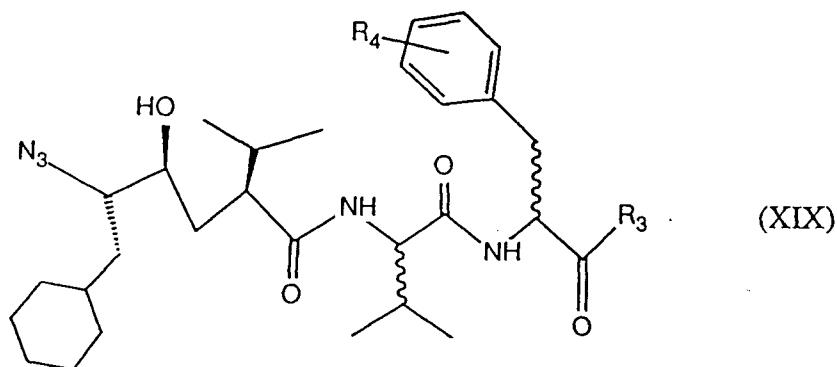
(XVIII)

mukainen yhdiste, jossa tähteillä on kaavan XVI mukaisille yhdisteille esitettyt merkitykset. Tämä kondensoidaan sitten kaavan VI mukaisella yhdisteellä amidisidoksen valmistamiseksi sopivissa olosuhteissa, kuten menetelmässä b) on esitetty, etenkin in situ-reaktion avulla kondensaatioaineen, kuten bentsotriatsol-1-yyli-oksi-tris-(di-metyyliamino)-fosfonium-heksafluori-fosfaatin, stee-risesti estyneen amiinin, kuten N-metyylimorfoliinin ja rasemisoitumista estävän yhdisteen, kuten 1-hydroksi-bents-triatsolin läsnäollessa polaarisisä liuottimessa, edullisesti happoamidissa, esim. dialempialkyyliamino-

alempialkanoyyliamidissa, kuten dimetyyliformamidissa -50 - 80°C:n , etenkin 0 - 30°C:n lämpötiloissa. Saadusta yhdisteestä lohkaistaan suojaryhmä OProt, kuten on esitetty hydroksisuojaryhmien lohkaisemiseksi menetelmässä a),
 5 etenkin hydrolyysin avulla hydroksidipitoisen emäksen, kuten maa-alkalihydroksidin tai etenkin alkalimetallihydroksidin, esim. NaOH:n, KOH:n tai LiOH:n läsnäollessa tai asidolyysin avulla, esim. mineraalihapoilla, edullisesti fluorivetyhapolla, tai vahvalla karboksyylihapolla, tai
 10 etenkin amiinin fluorisuolalla, erityisen edullisesti tert-butyyl ammoniumfluoridilla aproottisessa polaarises- sa liuottimessa, esim. happoamidissa, kuten dimetyylifor- amidissa -80 - 50°C:n , etenkin -10 - 30°C:n lämpötilois- sa. Saadaan kaavan XIX

15

20



mukainen yhdiste, jossa tähteillä on kaavan I mukaisille
 25 yhdisteille esitetyt merkitykset. Tästä saadaan kaavan I mukainen yhdiste, jossa R₁ ja R₂ merkitsevät vetyä, siten, että pelkistetään atsidiryhmä, edullisesti hydrataan, etenkin katalysaattorin, esim. jalometallikatalysaatto- rin, kuten platinan, rodiumin tai palladiumin läsnäolles-
 30 sa, joka esiintyy vapaana tai kantoaineeseen sidottuna, esim. piihappogeeliin, aluminiumoksidiin tai aktiivihii- leen sitoutuneena, esim. palladium-aktiivihiiilen läsnäol- lessa polaarises- sa liuottimessa, kuten alkoholissa, esim. metanolissa tai etanolissa -80 - 50°C:n , etenkin -10 -
 35 30°C:n lämpötiloissa normaalipaineessa tai korkeintaan 5 atm:n vetypaineessa.

Mainitusta kaavan I mukaisesta yhdisteestä, jossa R_1 ja R_2 merkitsevät vetyä, valmistetaan sitten yllä esitetyn menetelmän a) tai b), etenkin menetelmän b) mukaisesti kulloinkin saatavat kaavan I mukaiset yhdisteet.

5

Yleisiä huomautuksia menetelmien suhteen

Kaikki yllä mainitut menetelmävaiheet suoritetaan sinänsä tunnetuissa, etenkin erityisesti mainituissa reaktio-olosuhteissa liuottimien tai laimentimien puuttuessa tai tavanomaisesti niiden läsnäollessa, etenkin sellaisten läsnäollessa, jotka ovat käytettyjen reagenssien suhteen inerttejä ja liuottavat nämä, katalysaattoreiden, kondensaatioaineiden tai neutraloivien aineiden, esim. ioninvaihtimien, kuten kationinvaihtimien, esim. OH^- tai H^+ -muodossa, puuttuessa tai läsnäollessa reaktion ja/tai reaktioon osallistuvien aineiden tyypistä riippuen alennetussa, normaalissa tai korotetussa lämpötilassa, esim. -100°C - $n. 120^\circ\text{C}$:n, edullisesti -80°C - $n. 50^\circ\text{C}$:n lämpötila-alueella, etenkin -20 - 40°C :ssa, esim. 0 - 25°C :ssa atmosfäärissä paineessa tai suljetussa astias-
sa, mahdollisesti paineessa ja/tai inertissä atmosfäärissä, esim. argonin tai typen atmosfäärissä.

25 Kaikissa reaktiovaiheissa esiintyvät isomeeriseokset voidaan erottaa yksittäisiksi isomeereiksi, esim. diastereomeereiksi tai enantiomeereiksi tai isomeerien mielivaltaisiksi seoksiksi, esim. rasemaateiksi tai diastereomeeriseoksiksi, esimerkiksi menetelmien mukaisesti, joita on selitetty otsikolla "Ylimääräisiä menetelmätoimenpiteitä".

35 Liuottimiin, joista kulloinkin kyseessä olevaan reaktioon sopivat liuottimet voidaan valita, kuuluvat esimerkiksi vesi, esterit, kuten alempialkyylialempialkanoaatit, esim. etikkahappoetyyliesteri, eetterit, kuten alifaattiset eetterit, esim. dietyylieetteri, tai sykliset eette-

rit, esim. tetrahydrofuraani, nestemäiset aromaattiset hiilivedyt, kuten bentseeni tai tolueeni, alkoholit, kuten metanoli, etanoli tai 1- tai 2-propanoli, nitriilit, kuten asetonitriili, halogeenihiilivedyt, kuten mety-

5 leenikloridi, kloroformi tai tetrakloorimetaani, happo-

amidit, kuten dimetyyliformamidi, emäkset, kuten hetero-

sykliset typpiemäkset, esim. pyridiini, karboksyylihappo-

anhydridit, kuten alempialkaanihappoanhydridit, esim.

asetanhydridi, sykliset, lineaariset tai haarautuneet

10 hiilivedyt, kuten sykloheksaani, heksaani tai isopentaa-

ni, tai näiden liuottimien seokset, esim. vesiliuokset,

mikäli menetelmien selityksessä ei ole toisin mainittu.

Tällaisia liuottimia ja liuotinseoksia voidaan käyttää

myös suoritettaessa loppuvaiheita, esimerkiksi kromato-

15 grafiolla tai jaolla. Etusijalla ovat mainituille reak-

tioille kulloinkin spesifiset reaktio-olosuhteet.

Farmaseuttiset valmisteet

20 Keksintö koskee myös farmaseuttisia valmisteita, jotka sisältävät vaikuttavana aineena kaavan I mukaista yhdistettä.

25 Tämän keksinnön mukaisia farmakologisesti käyttökelpoisia yhdisteitä voidaan käyttää esim. farmaseuttisten valmisteiden valmistamiseksi, jotka sisältävät vaikuttavan määrän vaikuttavaa ainetta yhdessä tai sekoitettuna merkitsevään määrään epäorgaanisia tai orgaanisia, kiinteitä tai nestemäisiä, farmaseuttisesti käyttökelpoisia kanto-

30 aineita.

Keksinnön mukaiset farmaseuttiset valmisteet on tarkoitettu enteraaliseen, kuten nasaaliseen, bukkaliseen, rektaaliseen tai oraaliseen, tai parenteraaliseen, kuten

35 intramuskulaariseen tai intravenoosiseen käyttöön lämmiverisille (ihmisille ja eläimille) ja ne sisältävät vaikuttavan annoksen farmakologista vaikuttavaa ainetta yk-

sinään tai yhdessä merkitsevän määrän kanssa farmaseuttisesti käyttökelpoista kantoainetta. Vaikuttavan aineen annostus riippuu lämmilverisen lajista, painosta, iästä ja yksilöllisestä tilasta, yksilöllisistä farmakokineettisistä olosuhteista, käsiteltävästä sairaudesta sekä antotavasta.

Etenkin edullinen on farmaseuttinen valmiste, joka sopii annettavaksi lämmilveriselle, etenkin ihmiselle retroviraalisen aspartaattiproteaasin, kuten HIV-1- tai HIV-2-proteaasin estoaaineisiin reagoivan sairauden, kuten AIDS:in hoitoon tai profylaksiaan ja joka sisältää vaikuttavan, retroviraalista aspartaattiproteaasia, kuten HIV-1- tai HIV-2-proteaasia estävän määrän kaavan I mukaisesti yhdistettää tai sen suolaa ja yhtä tai useampaa kantoainetta.

Keksintö koskee myös menetelmää retrovirusten aiheuttamien sairauksien, esim. AIDS:in hoitamiseksi, etenkin silloin, kun HIV-1 aiheuttaa sairauden, tunnettu siitä, että annetaan terapeutisesti näitä sairauksia vastaan vaikuttava määrä keksinnön mukaisia kaavan I yhdisteitä, etenkin lämmilveriselle, etupäässä ihmiselle, joka tarvitsee tällaista hoitoa jonkin mainitun sairauden, etenkin AIDS:in johdosta. N. 70 kg painavalle lämmilveriselle, etenkin ihmiselle annettavat annosmäärät ovat edullisesti n. 3 mg - n. 10 g, etenkin n. 40 mg - n. 4 g, esim. suunnilleen 300 mg - 1,5 g/henkilö ja päivä jaettuna edullisesti 1 - 3 yksittäisannokseen, jotka voivat olla esim. yhtä suuria. Tavanomaisesti lapsille annetaan puolet aikuisen annoksesta.

Farmaseuttiset valmisteet sisältävät n. 1 % - n. 95 %, etenkin n. 20 % - n. 90 % vaikuttavaa ainetta. Keksinnön mukaiset farmaseuttiset valmisteet voivat esiintyä esim. annosyksikkömuodoissa, kuten ampulleina, pienpulloina, suppositorioina, rakeina, tabletteina tai kapsелеina.

Tämän keksinnön mukaiset farmaseuttiset valmisteet valmistetaan sinänsä tunnetulla tavalla, esim. tavanomaisten liuotus-, lyofilisointi-, sekoitus-, granulointi- tai rakeistusmenetelmien avulla.

5

Edullisesti käytetään vaikuttavan aineen liuoksia, tämän lisäksi myös suspensioita, nimittäin etenkin isotonisia vesiliuoksia tai -suspensioita, jolloin nämä esim. lyofilisoidujen valmisteiden ollessa kyseessä, jotka sisältävät vaikuttavan aineen yksinään tai yhdessä kantoaineen, esim. manniitin kanssa, voidaan valmistaa ennen käyttöä. Farmaseuttiset valmisteet voivat olla steriloituja ja/tai sisältää apuaineita, esim. säilöntä-, stabilointi-, kostutus- ja/tai emulgointiaineita, liukoiseksi tekeviä aineita, suoloja osmoottisen paineen säätämiseksi ja/tai puskureita ja ne valmistetaan sinänsä tunnetulla tavalla, esim. tavanomaisten liuotus- tai lyofilisointimenetelmien avulla. Mainitut liuokset tai suspensiot voivat sisältää viskositeettiä parantavia aineita, kuten natriumkarboksimeytyyliselluloosaa, karboksimeytyyliselluloosaa, dekstraania, polyvinyylipyrrolidonia tai gelatiinia.

Öljyssä olevat suspensiot sisältävät öljyisenä komponenttina injektioissa tavanomaisesti käytettyjä kasvi-, syn-

25 teettisiä tai puolisynteettisiä öljyjä. Tällaisina maittakoon etenkin nestemäiset rasvahappoesterit, jotka sisältävät happokomponenttina pitkäketjuista, 8 - 22, etenkin 12 - 22 hiiliatomia sisältävää rasvahappoa, kuten esim. lauriinihappoa, tridekyylihappoa, myristiinihappoa, pentadekyylihappoa, palmitiinihappoa, margariinihappoa, steariinihappoa, arakidiinihappoa, behenhappoa tai vastaavia tyydyttymättömiä happoja, kuten esim. öljyhappoa, elaidiinihappoa, erukahappoa, brasidiinihappoa tai lino-

30 lihappoa, mahdollisesti lisäämällä samalla antioksidantteja, kuten esim. E-vitamiinia, β -karotiinia tai 3,5-ditert-butyyli-4-hydroksitolueenia. Näiden rasvahappoestereiden alkoholikomponentissa on korkeintaan 6 hiiliatomia

- ja se on yksi- tai moniarvoinen, esim. yksi-, kaksi- tai kolme-arvoinen alkoholi, esim. metanoli, etanoli, propanoli, butanoli tai pentanoli tai niiden isomeerejä, ennen kaikkea kuitenkin glykoli tai glyseroli. Rasvahap-
- 5 poestereinä mainittakoon tästä syystä esimerkiksi: etyylioleaatti, isopropyyli-myristaatti, isopropyyli-palmitaatti, "Labrafil M 2375" (polyoksietyleeniglyserolitrioleaatti, valmistaja Gattefossé, Pariisi), "Miglyol 812" (ketjupituudeltaan $C_8 - C_{12}$ olevien tyydyttyneiden rasva-
- 10 happojen triglyseridi, valmistaja Hüls AG, Saksa), etenkin kuitenkin kasviöljyt, kuten puuvillansiemenöljy, manteliöljy, oliiviöljy, risiiniöljy, seesamiöljy, soi-jaöljy ja ennen kaikkea maapähkinäöljy.
- 15 Injektiovalmisteiden valmistus tapahtuu tavanomaisella tavalla steriileissä olosuhteissa, samoin täyttäminen ampulleihin tai pienpulloihin sekä säiliöiden sulkeminen.
- 20 Oraaliseen käyttöön tarkoitettuja valmisteita voidaan saada siten, että vaikuttava aine yhdistetään kiinteiden kantoaineiden kanssa, saatu seos granuloidaan mahdollisesti ja haluttaessa tai tarvittaessa sopivien apuaineiden lisäämisen jälkeen käsitellään tableteiksi, raeytimiksi tai kapseleiksi. Tällöin vaikuttavat aineet voidaan
- 25 sisällyttää myös muovikantoaineisiin, jotka luovuttavat ne tai antavat niiden diffundoitua annostellusti.
- Sopivia kantoaineita ovat etenkin täyteaineet, kuten sokerit, esim. laktoosi, sakkaroosi, manniitti tai sorbiitti, selluloosavalmisteet ja/tai kalsiumfosfaatit, esim. trikalsiumfosfaatti tai kalsiumvetyfosfaatti, edelleen sideaineet, kuten tärkkelysliisterit, jolloin käytetään
- 30 esim. maissi-, vehnä-, riisi- tai perunatärkkelystä, gelatiini, tragantti, metyyli-selluloosa, hydroksipropyyli-metyyli-selluloosa, natriumkarboksime-tyyli-selluloosa ja/tai polyvinyyli-pyrrolidoni, ja/tai haluttaessa hajotusai-
- 35

neet, kuten yllä mainitut tärkkelykset, edelleen karboksimetyylitärkkelys, ristisilloitettu polyvinyylipyrrolidoni, agar, algiinihappo tai sen suola, kuten natriumalgiinaatti. Apuaineita ovat ensisijaisesti juoksevuudensää-
 5 tö- ja voiteluaineet, esim. piihappo, talkki, steariinihappo tai sen suolat, kuten magnesium- tai kalsiumstearaatti ja/tai polyetyleeniglykoli. Raeytimet voidaan varustaa sopivilla, mahdollisesti mahanestettä kestäväillä päällysteillä, jolloin käytetään mm. konsentroituja soke-
 10 riliuoksia, jotka sisältävät mahdollisesti arabikumia, talkkia, polyvinyylipyrrolidonia, polyetyleeniglykolia ja/tai titaanioksidia, sopivissa orgaanisissa liuottimissa olevia lakkaliuoksia tai mahanestettä kestävien päällysteiden valmistamiseksi sopivien selluloosavalmisteiden, kuten etyyli-
 15 selluloosaftalaatin tai hydroksipropyylimetyyli-selluloosaftalaatin liuoksia. Kapselit ovat pistokapseleita, jotka on valmistettu gelatiinista, sekä pehmeitä, suljettuja kapseleita, jotka on valmistettu gelatiinista ja pehmentimestä, kuten glyserolista tai sorbiitista. Pistokapselit voivat sisältää vaikuttavan aineen granulaatin muodossa, esim. täyteaineiden, kuten laktoosin, sideaineiden, kuten tärkkelysten ja/tai liuku-
 20 aineiden, kuten talkin tai magnesiumstearaatin ja mahdollisesti stabilisaattoreiden kanssa. Pehmeissä kapseleissa vaikuttava aine liuotetaan tai suspendoidaan edullisesti sopiviin öljyisiin apuaineisiin, kuten rasvaisiin öljyihin, parafiiniöljyyn tai nestemäisiin polyetyleeniglycoleihin, jolloin voi olla lisätty samoin stabilisaattoreita ja/tai antibakteerisia aineita. Tabletteihin tai rae-
 25 päällysteisiin ja kapselin vaippoihin voidaan lisätä väriaineita tai pigmenttejä, esim. erilaisten vaikuttavan aineen annosten tunnistamiseksi tai merkitsemiseksi.

Seuraavat esimerkit havainnollistavat keksintöä, mutta ne
 35 eivät kuitenkaan rajoita sen laajuutta millä tavoin.

Lämpötilat esitetään celsiusasteina (°C). R_f -arvot, jotka esittävät kulloinkin kyseessä olevan aineen ajovälin suhdetta ajoainerintaman ajoväliin, selvitetään piihappogee-
 5 raavissa liuotinjärjestelmissä:

DC-ajoainejärjestelmät:

- | | | |
|----|---|---------------|
| | A: kloroformi/metanoli/vesi/etikkahappo | (75:27:5:0,5) |
| 10 | B: heksaani/etikkahappoetyyliesteri | (1:1) |
| | C: etikkahappoetyyliesteri | |
| | D: metyleenikloridi/metanoli | (9:1) |

Lyhenne " $R_f(A)$ " merkitsee esimerkiksi, että R_f -arvo on
 15 selvitetty liuotinjärjestelmässä A. Liuottimien määräsuhde toisiinsa on esitetty aina tilavuusosina (v/v). Myös pylväskromatografian ajoainejärjestelmien määritelmässä käytettyjen liuottimien määräsuhteet esitetään tilavuus-
 20 osina (v/v).

HPLC-järjestelmät:

Pylväs:

Nucleosil-C18® (Macherey & Nagel, Düren), 5 μ , 250 x 4,6
 mm, läpivirtausnopeus 1 ml/min., mittaus 215 nm:ssa.

Ajoaineet:

- I: 20 % -> 100 % asetonitriiliä/0,1 % trifluorietikkahap-
 poa vedessä/0,1 % trifluorietikkahappoa 35 minuutin ajan.
 II: 0 % -> 40 % asetonitriiliä/0,1 % trifluorietikkahap-
 30 poa vedessä/0,1 % trifluorietikkahappoa 30 minuutin ajan.

Muilla käytetyillä lyhenteillä on seuraavat merkitykset:

- atm - fysikaalisia atmosfäärejä (paineyksikkö) - 1 atm
 35 vastaa 1,013 baaria,
 Boc - tert-butylioksikarbonyyli,

- BOP - bentsotriatsol-1-yyli-oksi-tris-(di-metyyliamino)-
fosfonium-heksafluorifosfaatti,
Cha - sykloheksyylialaniini,
DC - ohutkerroskromatografia,
5 DCC - disykloheksyylikarbodi-imidi,
DMF - dimetyyliformamidi,
etikkaesteri - etikkahappoetyyliesteri,
eetteri - dietyylieetteri,
FAB-MS - fast-atom-bombardment-massaspektroskopia,
10 HOBt - 1-hydroksi-bentstriatsoli,
Pd/C - palladium-aktiivihiili (katalysaattori),
suolavesi - kyllästetty keittosuolaliuos,
TBAF - tetrabutyyliammoniumfluoridi (trihydraatti),
 t_{Ret} - retentioaika,
15 Z - bentsyylioksikarbonyyli.

Massaspektroskopiset mittausarvot saadaan "fast-atom-bombardment"- (FAB-MS)-menetelmän mukaisesti. Massa-arvot koskevat protonoitua molekyyli-ionia $(M+H)^+$.

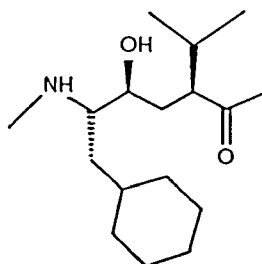
20

Luonnollisten α -aminohappojen kaksiarvoisten ryhmien nimittämiseksi käytetään peptidikemiassa tavanomaisia lyhenteitä. α -hiiliatomin konfiguraatio esitetään laittamalla eteen (L)- tai (D)-.

25

5(S)-amino-6-sykloheksyyli-4(S)-hydroksi-2(S)-isopropyyli-heksaanihapon kaksiarvoisen ryhmän kaava on

30



Esimerkki 1

5(S)-Boc-amino-6-sykloheksyyli-4(S)-hydroksi-2(S)-isopropyyli-heksanoyyli-(L)-valyyli-(L)-fenyyli-alanyyli-morfolin-4-yyliamidi

5

100 mg (0,17 mmoolia) 5(S)-amino-6-sykloheksyyli-4(S)-hydroksi-2(S)-isopropyyli-heksanoyyli-(L)-valyyli-(L)-fenyyli-alanyyli-morfolin-4-yyliamidia liuotetaan 5 ml:aan THF/vettä (1:1) ja sitten lisätään huoneen lämpötilassa

10 62 mg (0,28 mmoolia) di-tert-butyli-dikarbonaattia. 2 tunnin kuluttua liuotin haihdutetaan pois, jäännös liuotetaan etikkaesteriin ja pestään peräkkäin kyllästetyllä natriumbikarbonaattiliuoksella, vedellä ja suolavedellä. Orgaaniset uutteen pestään vedellä ja suolavedellä, kuivatetaan natriumsulfaatin päällä ja haihdutetaan. Raaka-

15 tuote kromatografoidaan piihappogeelillä heksaani/etikkaesterillä (1:1), jolloin saadaan otsikkoyhdiste amorfisena kiintokappaleena.

20 FAB-MS: $(M+H)^+ = 687$, $t_{Ret} (I) = 24,7 \text{ min.}$, $DC R_f(A) = 0,78$.

Lähtöaine valmistetaan seuraavasti:

25 1a) 5(S)-amino-6-sykloheksyyli-4(S)-hydroksi-2(S)-isopropyyliheksanoyyli-(L)-valyyli-(L)-fenyyli-alanyyli-(morfolin-4-yyli)-amidi

Liuosta, jossa on 387 mg (0,63 mmoolia) 5(S)-atsido-6-sykloheksyyli-4(S)-hydroksi-2(S)-isopropyyli-heksanoyyli-(L)-valyyli-(L)-Phe-morfolin-4-yyliamidia 40 ml:ssa metanolia, hydrataan käyttämällä läsnä 100 mg 10%:ista Pd/C:tä huoneen lämpötilassa ja 1 atm:n vetypaineessa 3,5 tunnin ajan. Suodatetaan pois katalysaattorista, suodos

30 haihdutetaan ja puhdistetaan kromatografisesti piihappogeelissä metyleenikloridin, metanolin ja väkevän ammonia-kin seoksella (90:10:0,1), jolloin saadaan otsikkoyhdiste

amorfisena kiintokappaleena. FAM-MS: $(M+H)^+ = 587$, t_{Ret} (I) = 14,6 min., DC $R_f(A) = 0,54$.

5 1b) 5(S)-atsido-6-sykloheksyyli-4(S)-hydroksi-2(S)-iso-propyyli-heksanoyyli-(L)-Val-(L)-Phe-morfolin-4-yyliamidi

Liuokseen, jossa on 570 mg (0,78 mmoolia) 5(S)-atsido-4(S)-(tert-butyylidimetyylisilyylioksi)-6-sykloheksyyli-2(S)-isopropyyli-heksanoyyli-(L)-Val-(L)-Phe-morfolin-4-yyliamidia 7 ml:ssa DMF:ää, lisätään 459 mg (1,57 mmoolia) TBAF:ää ja sekoitetaan 16 tunnin ajan huoneen lämpötilassa. Reaktioseos laimennetaan vedellä ja uutetaan 3x etikkaesterillä. Orgaaniset uutteen pestään 3x vedellä, 2 x kyllästetyllä natriumbikarbonaattiliuoksella ja 1x suolavedellä, kuivatetaan natriumsulfaatin päällä ja haihdutetaan. Raakatuotetta digeroidaan heksaanilla ja se tuottaa otsikkoyhdisteen. FAB-MS: $(M+H)^+ = 613$, t_{Ret} (I) = 24,7 min., DC $R_f(B) = 0,15$.

20 1c) 5(S)-atsido-4(S)-(tert-butyylidimetyylisilyylioksi)-6-sykloheksyyli-2(S)-isopropyyli-heksanoyyli-(L)-Val-(L)-Phe-morfolin-4-yyliamidi

25 Liuokseen, jossa on 412 mg (1 mmoolia) 5(S)-atsido-4(S)-(tert-butyylidimetyylisilyylioksi)-6-sykloheksyyli-2(S)-isopropyyli-heksaanihappoa 4 ml:ssa DMF:ää (esimerkki 1h), lisätään 487 mg (1,2 mmoolia) BOP:tä, 149 mg (1,1 mmoolia) HOBt:tä ja 330 μ l (3 mmoolia) N-metyylimorfoliinia ja sekoitetaan 30 minuutin ajan huoneen lämpötilassa. Tämän jälkeen lisätään liuos, jossa on 400 mg (1,2 mmoolia) H-(L)-Val-(L)-Phe-morfolin-4-yyliamidia (esimerkki 1g) 3 ml:ssa DMF:ää. 2,5 tunnin kuluttua reaktioseos laimennetaan vedellä ja uutetaan 3x etikkaesterillä. Orgaaniset uutteen pestään kyllästetyllä natriumbikarbonaattiliuoksella, vedellä ja kyllästetyllä natriumkloridiliuoksella, kuivatetaan natriumsulfaatin päällä ja haihdutetaan. Puhdistetaan kromatografisesti piihappogee-

lillä heksaani/etikkaesterin gradientilla (3:1 -> 1:1), jolloin saadaan otsikkoyhdiste jähmettyneenä vaahtona.

FAB-MS: $(M+H)^+ = 727$, $t_{Ret} (I) = 37,8$ min., DC $R_f(B) = 0,40$.

5

1d) Z-(L)-Phe-morfolin-4-yyliamidi

10 Liuos, jossa on 4,49 g Z-(L)-Phe-OH:ta 190 ml:ssa metyleenikloridia, jäädytetään 0°C:seen ja siihen lisätään 3,09 g DCC:tä. Sekoitetaan 20 minuutin ajan 0°C:ssa ja sitten lisätään tipoitain 15 minuutin kuluessa liuos, jossa on 1,31 ml morfoliinia 10 ml:ssa metyleenikloridia. Reaktioseosta sekoitetaan edelleen 24 tunnin ajan huoneen
15 lämpötilassa ja saostuneen disykloheksyylivirtsa-aineen suodattamisen jälkeen pestään peräkkäin metyleenikloridilla, natriumbikarbonaatin vesiliuoksella ja suolavedellä. Kuivatetaan natriumsulfaatin päällä ja haihdutetaan, jolloin saadaan raaka otsikkoyhdiste, joka kiteytyy esteristä. DC $R_f(C) = 0,55$.
20

1e) H-(L)-Phe-morfolin-4-yyliamidi

25 Liuos, jossa on 5,5 g Z-(L)-Phe-morfolin-4-yyliamidia ja 1,5 g 10%:ista Pd/C:tä 150 ml:ssa metanolia, muunnetaan otsikkoyhdisteeksi huoneen lämpötilassa 1 tunnin kuluessa hydraamalla vedyn lasketulla määrällä. Katalysaattorin poissuodattamisen jälkeen haihdutetaan, laimennetaan etikkaesterillä ja sitten saatu liuos pestään kyllästetyllä natriumbikarbonaattiliuoksella, kuivatetaan natriumsulfaatin päällä ja haihdutetaan alennetussa paineessa. Pylväskromatografian jälkeen (esimerkin 1 g mukaisesti) saadaan otsikkoyhdiste puhtaassa muodossa. DC $R_f(D) = 0,3$.

35

1f) Z-(L)-Val-(L)-Phe-morfolin-4-yyliamidi

- 5 Liuokseen, jossa on 2,14 g Z-(L)-Val-OH:ta 80 ml:ssa absoluuttista jäällä jäähdytettyä metyleenikloridia, lisätään 1,75 g DCC:tä ja sekoitetaan 20 minuutin ajan tässä lämpötilassa ja sitten lisätään tipoittain 15 minuutin kuluessa liuos, jossa on 2 g H-(L)-Phe-morfolin-4-yyliamidia. Reaktioseosta sekoitetaan edelleen 24 tunnin ajan
- 10 huoneen lämpötilassa, ja muodostunut virtsa-aine suodatetaan pois. Suodos pestään peräkkäin natriumbikarbonaatin vesiliuoksella ja suolavedellä, kuivatetaan natriumsulfaatin päällä ja haihdutetaan. Sekoitetaan eetterin kanssa ja suodatetaan pois liukenematon jäännös, jolloin saadaan haihduttamisen jälkeen otsikkoyhdiste, joka käsitellään edelleen ilman lisäpuhdistusta. DC $R_f(C) = 0,7$.
- 15

1g) H-(L)-Val-(L)-Phe-morfolin-4-yyliamidi

- 20 Esimerkin 1 e) mukaisesti 3,9 g Z-(L)-Val-(L)-Phe-morfolin-4-yyliamidia muunnetaan hydraamalla 10%:isen Pd/C:n (0,5 g) päällä 150 ml:ssa metanolia raa'aksi otsikkoyhdisteeksi, joka puhdistetaan pylväskromatografialla (SiO_2 , metyleenikloridi $\rightarrow$ metyleenikloridi/metanoli: 97,5:2,5
- 25 (v/v)). DC $R_f(D) = 0,4$.

1h) 5(S)-atsido-4(S)-(tert-butyylidimetyylisilyylioksi)-6-sykloheksyyli-2(S)-isopropyyli-heksaanihappo

- 30 Suspensioon, jossa on 11,5 g (35,8 mmoolia) 5(S)-atsido-4(S)-hydroksi-6-sykloheksyyli-2(S)-isopropyyli-heksaanihappo-natriumsuolaa (esimerkki 1i)) 45 ml:ssa DMF:ää, lisätään peräkkäin 11,5 g (168,9 mmoolia) imidatsolia ja 13,4 g (88,9 mmoolia) tert-butyylidimetyylikloorisilaania ja sekoitetaan 3,75 päivän ajan huoneen lämpötilassa typen atmosfäärissä. Reaktioseos kaadetaan jääve-
- 35 teen ja uutetaan 4x kulloinkin 250 ml:lla jääkylmää hek-

saania. Heksaanifaasi pestään kulloinkin 2x vedellä ja suolavedellä, kuivatetaan natriumsulfaatin päällä ja haihdutetaan. Kuivatetaan suurtyhjössä vakiopainoon, jolloin saadaan raaka 5(S)-atsido-4(S)-(tert-butyylidimetyylisilyylioksi)-6-sykloheksyyli-2(S)-isopropyyli-heksaanihappo-tert-butyylidimetyylisilyyliesteri vaaleankeltaisena öljynä. 10,1 g (17,9 mmoolia) tätä raakatuotetta liuotetaan 250 ml:aan metanolia ja siihen lisätään 0°C:ssa liuos, jossa on 2,72 g (19,7 mmoolia) kaliumkarbonaattia 26 ml:ssa vettä, ja muodostunutta emulsiota sekoitetaan 2 tunnin ajan huoneen lämpötilassa argonin atmosfäärissä. Reaktioseos haihdutetaan alennetussa paineessa, laimennetaan etikkaesterillä ja jääkylmällä suolavedellä, ja vesifaasin pH-arvo säädetään 0,5 M kaliumvetysulfaatti-
 15 liuoksella arvoon 2. Erotettu vesifaasi uutetaan vielä 3x etikkaesterillä. Yhdistetyt orgaaniset uutteen pestään jääkylmällä vedellä ja jääkylmällä suolavedellä, kuivate-
 taan natriumsulfaatin päällä ja haihdutetaan. Raakatuote koostuu seoksesta, jossa on 76,5 % otsikkoyhdistettä ja
 20 23,5 % 2(R)-epimeeriä. Diastereomeeripuhdas otsikkoyhdis-
 te saadaan kromatografisen puhdistamisen jälkeen piihap-
 pogeelipylväällä gradientilla metyleenikloridi -> 10 %
 metanolia metyleenikloridissa. t_{Ret} (I) = 37,1 min., DC
 R_f (B) = 0,27.

25

i) 5(S)-atsido-4(S)-hydroksi-6-sykloheksyyli-2(S)-isopro-
 pyyliheksaanihappo-natriumsuola

Liuokseen, jossa on 1 g (3,6 mmoolia) (2S,4S,5S)-5-atsi-
 30 do-6-sykloheksyyli-2-isopropyyli-4(S)-hydroksi-heksaani-
 happo- γ -laktonia (= (2S,4S,5S)-5-atsido-6-sykloheksyyli-
 2-isopropyyli-heksanolidi) (J. Org. Chem. 54, 1178
 (1989)) 30 ml:ssa metanolia ja 10 ml:ssa vettä, lisätään
 0°C:ssa 3,6 ml (3,6 mmoolia) 1 N natriumhydroksidia ja
 35 sekoitetaan 15 tunnin ajan huoneen lämpötilassa. Reak-
 tioseos haihdutetaan kokonaan ja jäännökseen lisätään
 kulloinkin 2x metanolia, heksaania ja metyleenikloridia

ja haihdutetaan puolestaan kokonaan. Tällä tavalla saadaan otsikkoyhdiste raakatuotteena, jota ei puhdisteta edelleen. $t_{Ret} (I) = 22,9 \text{ min.}$, $DC R_f(D) = 0,61$.

- 5 Esimerkki 2: 5(S)-amino-6-sykloheksyyli-4(S)-hydroksi-2(S)-isopropyyliheksanoyyli-(L)-valyyli-(L)-fenyyllialanyyli-(tiomorfolin-4-yyli)-amidi

- 10 Lähdetessä tiomorfoliinista morfoliinin sijasta valmistetaan otsikkoyhdiste välituotteiden kautta esimerkin 1i) - 1a) mukaisesti esimerkissä 1 esitetyn menetelmän mukaisesti.

Esimerkki 3: Gelatiiniliuos

15

- Edellä olevassa esimerkissä 1 tai 2 mainitun kaavan I mukaisen yhdisteen steriilisuodatettu vesiliuos, joka sisältää lisäksi 20 % syklodekstriiniä, ja steriili, fenolilla säilötty gelatiiniliuos sekoitetaan keskenään
20 lämmittäen aseptisissa olosuhteissa siten, että saadaan 1,0 ml liuosta, jonka koostumus on seuraava:

	vaikuttavaa ainetta	3 mg
	gelatiinia	150,0 mg
25	fenolia	4,7 mg
	tisl. vettä, jossa 20 % syklodekstriiniä	1,0 ml

Esimerkki 4: Steriili kuiva-aine injeksiota varten

- 30 5 mg edellä olevassa esimerkissä 1 tai 2 mainittua kaavan I mukaista, vaikuttavana aineena toimivaa yhdistettä liuotetaan 1 ml:aan vesiliuosta, jossa on 20 mg manniittia ja 20 % syklodekstriiniä liukoiseksi tekevänä aineena. Liuos steriilisuodatetaan ja täytetään aseptisissa olosuhteissa 2 ml:n ampulliin, syväjäädtytetään ja lyofilisoidaan. Ennen käyttöä lyofilisaatti liuotetaan 1
35 ml:aan tislattua vettä tai 1 ml:aan fysiologista keit-

tosuolaliuosta. Liuos käytetään intramuskulaarisesti tai intravenoosisesti. Tämä valmiste voidaan täyttää myös kaksikammioruiskutusampulleihin.

5 Esimerkki 5: Nenäsumute

Seokseen, jossa on 3,5 ml Myglyol 812®:ta ja 0,08 g bent-syylialkoholia, suspendoidaan 500 mg edellä olevassa esi-
 merkissä 1 tai 2 mainitun kaavan I mukaisen, vaikuttavan
 10 aineena toimivan yhdisteen hienoksi jauhettua ($< 5,0 \mu\text{m}$)
 jauhetta. Tämä suspensio täytetään annosteluventtiilillä
 varustettuun säiliöön. Säiliöön täytetään venttiilin
 kautta paineessa 5,0 g Freon 812®:ta. Ravistelemalla
 "Freon" liukenee Myglyol-bentsyylialkoholiseokseen. Tämä
 15 sumutesäiliö sisältää n. 100 yksittäisannosta, jotka voi-
 daan antaa yksitellen.

Esimerkki 6: Lakkatabletit

20 10.000 tabletin valmistamiseksi, jotka sisältävät kul-
 loinkin 100 mg vaikuttavaa ainetta, käsitellään seuraavat
 aineosat:

	vaikuttavaa ainetta	1000 g
25	maissitärkkelystä	680 g
	kolloidista piihappoa	200 g
	magnesiumstearaattia	20 g
	steariinihappoa	50 g
	natriumkarboksimeetyylitärkkelystä	250 g
30	vettä	quantum satis

Seos, jossa on vaikuttavana aineena edellä olevassa esi-
 merkissä 1 tai 2 mainittua kaavan I mukaista yhdistettä,
 50 g maissitärkkelystä ja kolloidista piihappoa, käsitel-
 35 lään kosteaksi massaksi tärkkelysliisterin kanssa, joka
 on valmistettu 250 g:sta maissitärkkelystä ja 2,2 kg:sta
 demineralisoitua vettä. Tämä massa puristetaan seulan

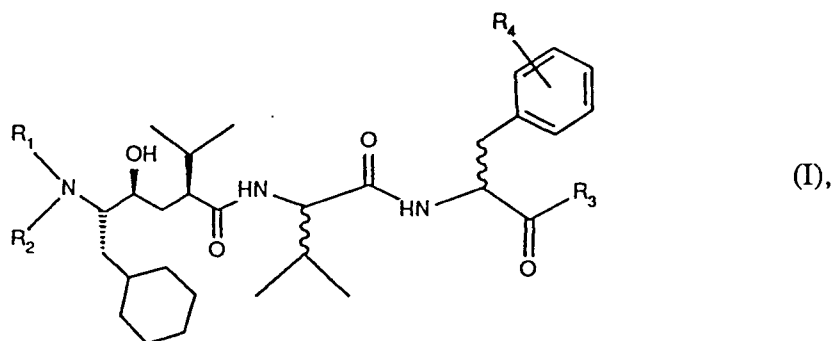
- läpi, jonka silmäkoko on 3 mm, ja kuivatetaan 45°C:ssa 30 minuutin ajan leijukerroskuivurissa. Kuivatettu granulaatti puristetaan seulan läpi, jonka silmäkoko on 1 mm, sekoitetaan edellä seulotun (seula 1 mm) seoksen kanssa,
- 5 jossa on 330 g maissitärkkelystä, magnesiumstearaatti, steariinihappo ja natriumkarboksimeetyylitärkkelys, ja puristetaan hieman kaareviksi tableteiksi.

Patenttivaatimukset

1. Analogiamenetelmä kaavan I

5

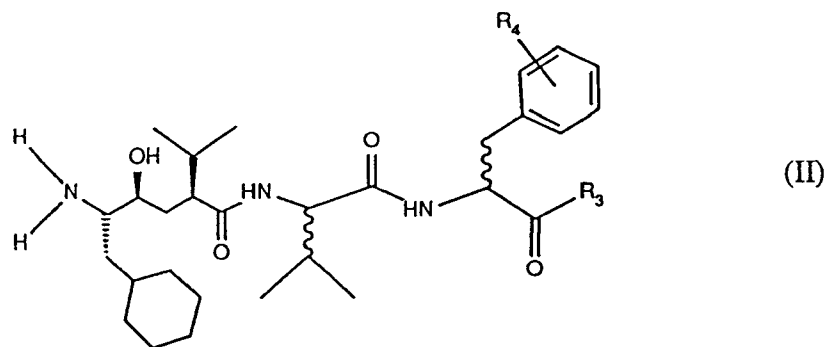
10



mukaisten yhdisteiden ja tällaisten suolan muodostavia
ryhmiä sisältävien yhdisteiden suolojen valmistamiseksi,
15 jossa kaavassa R₁ merkitsee vetyä tai alempialkyyliä, R₂
merkitsee vetyä, alempialkyyliä, alempialkoksikarbonyy-
liä, fenyyli- tai naftyyli-alempialkoksikarbonyyliä, he-
terosyklyylikarbonyyliä, jossa heterosyklyyli sisältää 5
tai 6 rengasatomia, on tyydyttynyt ja sitoutunut rengas-
20 typpiätomia kautta karbonyyliryhmään ja sisältää rengas-
jäsenenä sitovan typpiätomia lisäksi yhden tai useamman
heteroatomia, joita ovat substituoimaton tai C₁-C₄-alkyy-
litähteellä substituoitu NH, O, S, S=O tai SO₂, alempial-
kanoyyliä, fenyyli- tai naftyylialempialkanoyyliä tai
25 alempialkaanisulfonyyliä, R₃ merkitsee morfolinoa, tiomor-
folinoa, S-oksotiomorfolinoa tai S,S-dioksotiomorfolinoa,
jolloin tähteellä heterosyklyyli heterosyklyylikarbonyy-
lissä R₂ on sama merkitys kuin tähteellä R₃ tai tähteestä
R₃ poikkeava merkitys, ja R₄ merkitsee vetyä, hydroksia,
30 C₁-C₄-alkoksia, syanoa, trifluorimetyyliä tai fluoria, **tun-
nettu** siitä, että

a) kaavan I mukaisten yhdisteiden valmistamiseksi, joissa
vähintään toinen tähteistä R₁ tai R₂ merkitsee alempial-
35 kyyliä ja toinen merkitsee vetyä tai R₁ ja R₂ merkitsevät
molemmat alempialkyyliä ja muilla tähteillä on kaavan I
mukaisille yhdisteille mainitut merkitykset, kaavan II

5

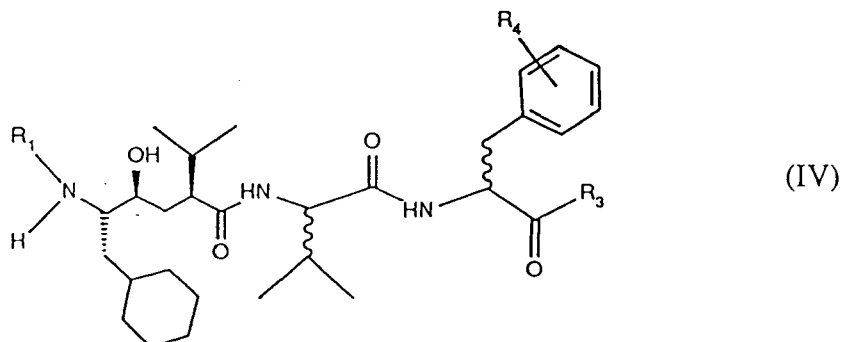


(II)

mukainen aminoyhdiste (joka vastaa kaavan I mukaista yhdistettä, jossa R₁ ja R₂ merkitsevät vetyä), jossa tähteillä R₃ ja R₄ on kaavan I mukaisille yhdisteille mainitut merkitykset ja jossa vapaat funktionaaliset ryhmät lukuunottamatta reaktioon osallistuvia ryhmiä voivat esiintyä tarvittaessa suojatussa muodossa, saatetaan reagoimaan alkylointireagenssin kanssa tähteen alempialkyyli R₁, tähteen alempialkyyli R₂ tai molempien tähteid

20 b) kaavan I mukaisen yhdisteen valmistamiseksi, jossa R₂ merkitsee alempialkoksikarbonyyliä, fenyyli- tai naftyyli-alempialkoksikarbonyyliä, heterosyklyylikarbonyyliä, jossa heterosyklyyli sisältää 5 tai 6 rengasatomia, on tyydyttynyt ja sitoutunut rengastyyppiätomia kautta karbonyyliryhmään ja sisältää rengasjäsenenä sitovan tyyppiätomia lisäksi substituoimattoman tai C₁-C₄-alkyyliäteillä substituoitua ryhmän NH, O, S, S=O tai SO₂, alempialkanoyyliä, fenyyli- tai naftyylialempialkanoyyliä tai alempialkaanisulfonyyliä ja muilla tähteillä on esitetyt merkitykset, ja jolloin vapaat funktionaaliset ryhmät lukuunottamatta reaktioon osallistuvia ryhmiä voivat esiintyä tarvittaessa suojatussa muodossa, kaavan IV

35



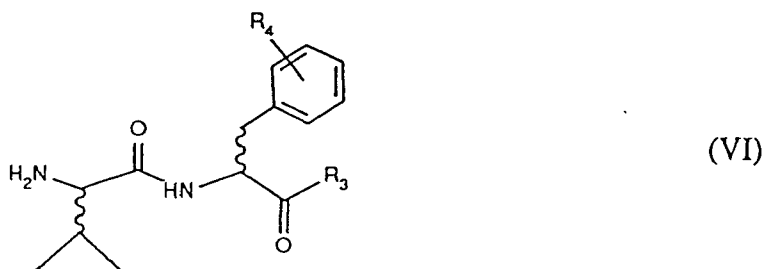
(IV)

mukainen aminoyhdiste, jossa tähteillä R_1 , R_3 ja R_4 on kaavan I mukaisille yhdisteille esitetyt merkitykset ja jossa vapaat funktionaaliset ryhmät lukuunottamatta reaktioon osallistuvia ryhmiä voivat esiintyä tarvittaessa suojatussa muodossa, tai sen reaktiokykyinen aminojohdannainen kondensoidaan kaavan V



mukaisella hapolla, jossa R_2 merkitsee alempialkoksikarbonyyliä, fenyyli- tai naftyyli-alempialkoksikarbonyyliä, heterosyklyylikarbonyyliä, jossa heterosyklyyli sisältää 5 tai 6 rengasatomia, on tyydyttynyt ja sitoutunut rengastyyppiätomien kautta karbonyyliryhmään ja sisältää rengasjäsenenä sitovan tyyppiätomien lisäksi substituoidun ryhmän NH, O, S, S=O tai SO₂, alempialkanoyyliä, fenyyli- tai naftyyli-alempialkanoyyliä tai alempialkaanisulfonyyliä ja jossa vapaat funktionaaliset ryhmät lukuunottamatta reaktioon osallistuvia ryhmiä voivat esiintyä tarvittaessa suojatussa muodossa, tai tämän reaktiokykyisellä happojohdannaisella ja lohkaistaan esiintyvät suojaryhmät, tai

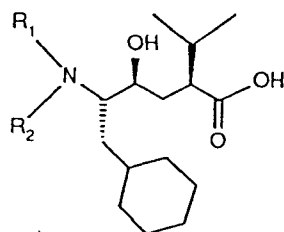
c) kaavan VI



mukainen aminoyhdiste, jossa tähteille R_3 ja R_4 on kaavan I mukaisille yhdisteille esitetyt merkitykset ja jossa vapaat funktionaaliset ryhmät lukuunottamatta reaktioon osallistuvia ryhmiä voivat esiintyä tarvittaessa suojatussa muodossa, tai tämän reaktiokykyisellä happojohdannaisella ja lohkaistaan esiintyvät suojaryhmät, tai

tussa muodossa, tai sen reaktiokykyinen aminojohdannainen kondensoidaan kaavan VII

5

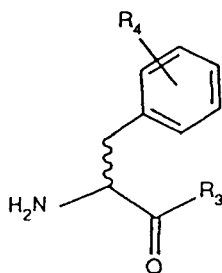


(VII)

10 mukaisella karboksyylihapolla, jossa tähteillä R_1 ja R_2 on
 kaavan I mukaisille yhdisteille esitetyt merkitykset ja
 jossa vapaat funktionaaliset ryhmät lukuunottamatta reakti-
 15 oon osallistuvia ryhmiä voivat esiintyä tarvittaessa
 suojatussa muodossa, tai sen reaktiokykyisellä happojoh-
 dannaissella ja lohkaistaan esiintyvät suojaryhmät, tai

d) kaavan VIII

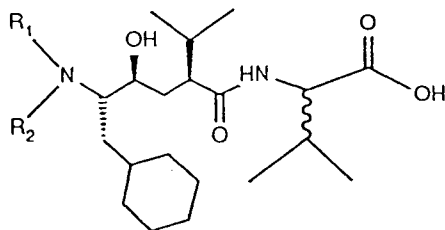
20



(VIII)

25 mukainen aminoyhdiste, jossa tähteillä R_3 ja R_4 on kaavan
 I mukaisille yhdisteille esitetyt merkitykset ja jossa
 vapaat funktionaaliset ryhmät lukuunottamatta reaktioon
 osallistuvia ryhmiä voivat esiintyä tarvittaessa suoja-
 30 tussa muodossa, tai sen reaktiokykyinen aminojohdannainen
 kondensoidaan kaavan IX

35



(IX)

mukaisella karboksyylihapolla, jossa tähteillä R_1 ja R_2 on
 kaavan I mukaisille yhdisteille esitetyt merkitykset ja
 jossa vapaat funktionaaliset ryhmät lukuunottamatta reakti-
 5 oon osallistuvia ryhmiä voivat esiintyä tarvittaessa
 suojatussa muodossa, tai sen reaktiokykyisellä happojoh-
 dannaissella ja lohkaistaan esiintyvät suojaryhmät, tai

e) kaavan X

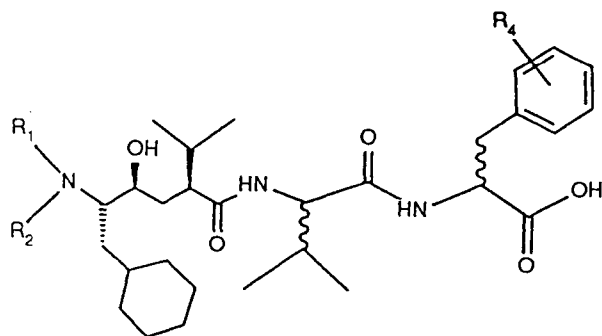
10

 R_3-H

(X)

mukainen yhdiste, jossa tähteillä R_3 on kaavan I mukaisil-
 le yhdisteille esitetyt merkitykset ja jossa vapaat funk-
 tionaaliset ryhmät lukuunottamatta reaktioon osallistuvia
 15 ryhmiä voivat esiintyä tarvittaessa suojatussa muodossa,
 tai sen reaktiokykyinen johdannainen kondensoidaan kaavan
 XI

20



(XI)

25

mukaisella karboksyylihapolla, jossa tähteillä R_1 , R_2 ja R_4
 on kaavan I mukaisille yhdisteille esitetyt merkitykset
 ja jossa vapaat funktionaaliset ryhmät lukuunottamatta
 reaktioon osallistuvia ryhmiä voivat esiintyä tarvittaes-
 30 sa suojatussa muodossa, tai sen reaktiokykyisellä happo-
 johdannaissella ja lohkaistaan esiintyvät suojaryhmät,

ja haluttaessa muunnetaan jonkin edellä esitetyn menetel-
 män a) - e) mukaisesti saatu kaavan I mukainen, vähintään
 35 yhden suolan muodostavan ryhmän sisältävä yhdiste sen
 suolaksi tai saatava suola vapaaksi yhdisteeksi tai jok-
 sikin toiseksi suolaksi ja/tai erotetaan mahdollisesti

saatavat kaavan I mukaisten yhdisteiden isomeeriseokset ja/tai muunnetaan keksinnön mukainen kaavan I yhdiste joksikin toiseksi keksinnön mukaiseksi kaavan I yhdisteeksi.

5

2. Patenttivaatimuksen 1 mukainen menetelmä kaavan I mukaisen yhdisteen tai tällaisen, suolan muodostavia ryhmiä sisältävän yhdisteen farmaseuttisesti käyttökelpoisten suolojen valmistamiseksi, jossa R_1 merkitsee vetyä, R_2 merkitsee vetyä, alempialkoksikarbonyyliä tai heterosyklyylikarbonyyliä, jossa heterosyklyyli sisältää 5 tai 6 rengasatomia, on tyydyttynyt ja sitoutunut rengastyyppiä atomin kautta karbonyyliryhmään ja sisältää rengasjäsenenä sitovan typpiä atomin lisäksi substituoimattoman tai C_1 - C_4 -alkyyliähteellä substituoitua ryhmän NH, O, S, S=O tai SO_2 , R_3 merkitsee morfolinoa, tiomorfolinoa, S-oksotiomorfolinoa tai S,S-dioksotiomorfolinoa ja R_4 merkitsee vetyä, **tunnettu** siitä, että käytetään vastaavasti substituoituja lähtöyhdisteitä.

20

3. Patenttivaatimuksen 1 mukainen menetelmä kaavan I mukaisen yhdisteen tai tällaisen, suolan muodostavia ryhmiä sisältävän yhdisteen farmaseuttisesti käyttökelpoisten suolojen valmistamiseksi, jossa R_1 merkitsee vetyä, R_2 merkitsee vetyä, sek- tai tert-alempialkyyli-oksikarbonyyliä, piperatsinokarbonyyliä, N- C_1 - C_4 -alkyyli-piperatsinokarbonyyliä, morfolinokarbonyyliä, tiomorfolinokarbonyyliä, S-oksotiomorfolinokarbonyyliä tai S,S-dioksotiomorfolinokarbonyyliä, R_3 merkitsee morfolinoa, tiomorfolinoa, S-oksotiomorfolinoa tai S,S-dioksotiomorfolinoa ja R_4 merkitsee vetyä, **tunnettu** siitä, että käytetään vastaavasti substituoituja lähtöyhdisteitä.

30

4. Patenttivaatimuksen 1 mukainen menetelmä kaavaan I kuuluvan kaavan Ib

35



10

20

25

30

8. Menetelmä farmaseuttisen valmisteiden valmistamiseksi, tunnettu siitä, että jonkin patenttivaatimuksissa 1 - 7

8. Menetelmä farmaseuttisen valmisteiden valmistamiseksi, tunnettu siitä, että jonkin patenttivaatimuksissa 1 - 7

mainitun menetelmän mukaisesti valmistettu kaavan I mukainen yhdiste tai sen farmaseuttisesti hyväksyttävä suola, mikäli esiintyy suolan muodostavia ryhmiä, käsitellään vähintään yhden farmaseuttisesti hyväksyttävän kant

5 toaineen kanssa.