



SUOMI-FINLAND

(FI)

Patentti- ja rekisterihallitus
Patent- och registerstyrelsen

(B) (11) KUULUTUSJULKAISU
UTLAGGNINGSSKRIFT

89058

C (45) Patentti myönnetty
Patent meddelat 10 08 1993

(51) Kv.1k.5 - Int.cl.5

C 07K 5/02, C 07D 233/64

(21) Patenttihakemus - Patentansökning 880734

(22) Hakemispäivä - Ansökningsdag 17.02.88

(24) Alkuperä - Löpnummer 17.02.88

(41) Tullut julkiseksi - Blivit offentlig 28.08.88

(44) Nähtävääksipanon ja kuul.julkaisun pvm. -
Ansökan utlagd och utl.skriften publicerad 30.04.93

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

27.02.87 JP 62-46454 P
18.08.87 JP 62-206146 P

12.05.87 JP 62-115144 P
16.11.87 JP 62-289017 P

(71) Hakija - Sökande

1. Yamanouchi Pharmaceutical Co., Ltd., No. 3-11, Nihonbashi-Honcho 2-chome, Chuo-ku, Tokyo, Japan, (JP)

(72) Keksijä - Uppfinnare

1. Nakano, Kohji, 1086-1, Sanagaya, Shiraoka-cho, Minamisaitama-gun, Saitama, Japan, (JP)
2. Fujikura, Takashi, 3-17, Shirahata 4-chome, Urawa-shi, Saitama, Japan, (JP)
3. Hara, Ryuichiro, 3-19-11, Honcho, Nakano-ku, Tokyo, Japan, (JP)
4. Ichihara, Masato, 3-16-1, Hasune, Itabashi-ku, Tokyo, Japan, (JP)
5. Fukunaga, Yukiko, 3-19-6, Nakajujo, Kita-ku, Tokyo, Japan, (JP)
6. Shibasaki, Masayuki, 3-27-81107, Nakadai, Itabashi-ku, Tokyo, Japan, (JP)

(74) Asiamies - Ombud: Leitzinger Oy

(54) Keksinnön nimitys - Uppfinningens benämning

Menetelmä valmistaa reniini-inhibiittoreina käytettäviä
2-(L-alanyli-L-histidyyliamino)-butanoli-johdannaisia
Förfarande för framställning av som renin-inhibitorer använda
2-(L-alanyl-L-histidylamino)-butanol-derivat

(56) Viitejulkaisut - Anförda publikationer

FI A 874787 (C 07K 5/06), FI A 873295 (C 07K 5/06), EP A 104041 (C 07C 103/52),
EP A 128762 (C 07C 103/52), EP A 189203 (C 07K 5/06), EP A 200406

(57) Tiivistelmä - Sammandrag

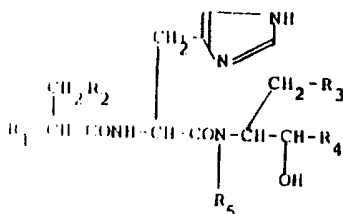
Kohteena ovat uudet seuraavan kaavan

(I) mukaiset yhdisteet ja niiden suolat:

Uppfinningen avser nya föreningar
med formeln I och deras salter.

Kaavan (I) mukainen yhdiste

Dessa föreningar förväntas vara
nyttiga som renin-inhibitorer.
Föreningarna förväntas sålunda
vara nyttiga som läkemedel, spe-
ciellt som antihypertensiva ämnen.



(I)

Näiden yhdisteiden odotetaan olevan
hyödyllisiä reniini-inhibiittoreina.
Yhdisteiden odotetaan siten olevan
hyödyllisiä lääkeaineina, erityisesti
antihypertensiivisinä aineina.

Menetelmä valmistaa reniini-inhibiittoreina käytettäviä
2-(L-alanyyli-L-histidyyliamino)-butanoli-johdannaisia
Förfarande för framställning av som remin-inhibitorer använda
2-(L-alanyl-L-histidylamino)-butanol-derivat

Reniini on asparagiini-proteinaasi, joka katalysoi angiotensinogeeni-glykoproteiinin spesifistä hydrolyysiä angiotensiini I-dekapeptidiksi. Dipeptidyyli-karboksipeptidaasi, joka on angiotensiinin muuntoentsyymi (ACE), muuntaa sen jälkeen sen oktapeptidiksi AII, joka on äärimmäisen tehokas vasokonstriktori ja sen lisäksi myös aldosteronin vapauttamista ja siten natriumin pidättymistä edistävä aine. Aminopeptidaasit vaikuttavat edelleen AII:een, jolloin saadaan AIII, joka saa aikaan samanlaisia vaikutuksia kuin AII, mutta pienemmässä määrin. Tämä kaskadi-reaktio, josta käytetään nimitystä reniini-angiotensiini-systeemi, on sen vuoksi tärkeä ala verenpaineen ja elektrolyyttien homeostaasin säätelyssä.

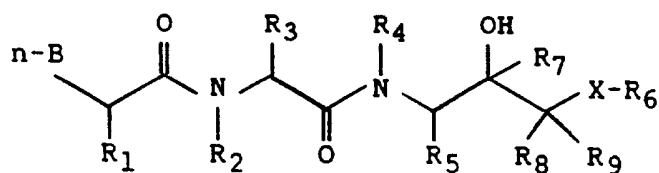
"Reniini-inhibiittori" estää reniinin ja angiotensinogeenin välisen reaktion ja pienentää angiotensiini I:n muodostumista, mikä johtaa angiotensiini II:n (AII), joka saa aikaan korkean verenpaineen ja joka myös edistää aldosteronin vapautumista, muodostumisen estämiseen. Koska reniinillä on huomattava spesifisyys substraattiaan kohtaan, tämän entsyymin inhibiittoreiden tulisi saada aikaan vieläkin suuremman reaktion reniini-angiotensiini-systeemissä. Reniini-angiotensiini-systeemin käsitteleminen reniini-inhibiittoreilla (näiden joukossa substraatin kanssa analoginen inhibiittori, esifragmentin osasta saadut peptidit, pepstatiini/statiini-pohjaiset inhibiittorit ja muuta substraatin transiitiotilan analogit tai välivaiheanalogit) on rajoitetussa määrässä tapauksia alentanut verenpainetta. Tällaisia äskettäin löydettyjä reniini-inhibiittoreita on esitetty julkaisussa: J. Med. Chem., 28, 1553/1985), J. Med. Chem., 28, 1756(1985). Tokukaisho.61-33152, Tokukaisho.61-122296, Tokukaisho.61-236770, 61-275257 ja 61-275258.

Jotta reniini-inhibiittorit olisivat hyödyllisiä kliinisessä käytössä, niillä on oltava seuraavat ominaisuudet:

- (1) Voimakas inhibiitiovaikutus ihmisreniiniin.
- (2) Kliiniseen käyttöön sopiva, vaikutusaikaa pidentävä vaikutus.
- (3) Erinomainen absorboituminen suoliston läpi.
- (4) Kyky estää erittäin spesifisesti ihmisreniiniä.

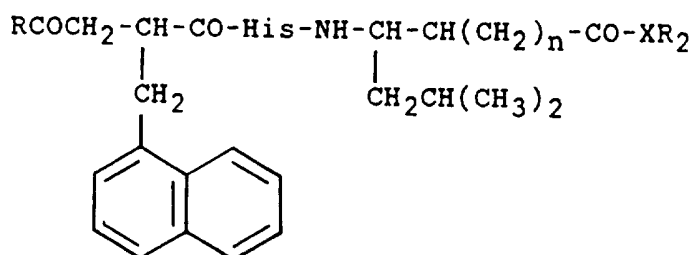
Eräillä transiitiotilan analogeilla (stattiinipohjaiset inhibiittorit) oli jossakin määrin inhiboiva vaikutus ja eräät peptidit, joissa on N-terminaalisia ja/tai C-terminaalisia suojaryhmiä, ovat jossakin määrin pidentäneet vaikutusta. Edellä mainittuja kohtia (1) - (4) ei kuitenkaan ole alalla täydellisesti ratkaistu.

Suoliston läpi tapahtuvan absorboitumisen parantamiseksi uskotaan tarvittavan pienimolekyylisiä yhdisteitä. Tutkimuksen avulla on yritetty löytää transiitiotilan analogien pienimolekyylisiä tripeptidejä ja dipeptidejä; aikaisemmat pienimolekyyliset transiitiotilan analogiset reniini-inhibiittorit ovat kuitenkin menettäneet huomattavasti aktiivisuudestaan proteinaasien vaikutuksesta ruoansulatuskanavassa. Vain edellä mainitussa Tokukaisho.61-236770-julkaisussa on kuvattu eräitä reniini-inhibiittoripeptidejä, jotka jossakin määrin absorboituvat oraalisen antamisen jälkeen. Näiden inhibiittoreiden tapauksessa ihmisreniiniin kohdistuva spesifinen aktiivisuus ja vaikutuksen pidentyminen eivät ole kuitenkaan riittäviä, ja siten aktiivisuutta on yhä tarpeen parantaa. Toisaalta edellä mainitussa Tokukaisho.61-33152-julkaisussa on kuvattu eräitä seuraavan kaavan mukaisia yhdisteitä



jossa R_6 sisältää "heteroaryylin" eräänlaisena aryylinä. Heterorengasta ei ole kuitenkaan spesifisesti kuvattu.

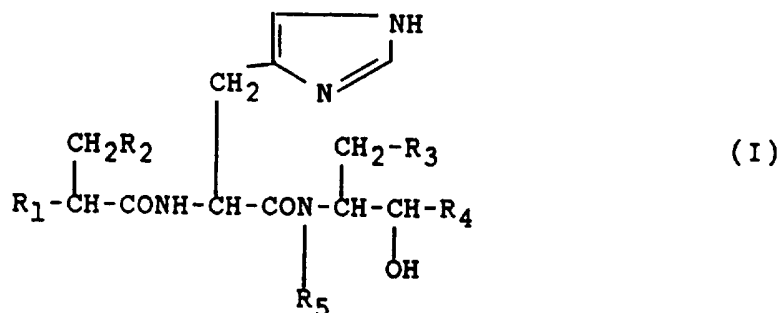
Lisäksi patenttijulkaisuissa EP 172347 ja 200406 on esitetty eräitä reniini-inhibiittoreita, kuten



Esillä olevan keksinnön mukaiset yhdisteet (so. kaavan (I) mukaiset yhdisteet) ovat kuitenkin rakenteellisesti täysin erilaisia näihin alan aikaisempiin yhdisteisiin verrattuna.

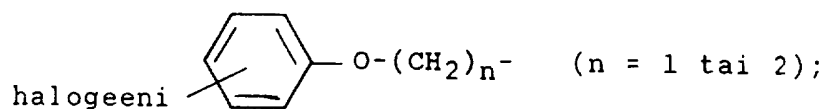
Tutkimusten, joiden kohteena on ollut saada ominaisuuksiltaan edellä olevien kohtien (1) - (4) mukaista reniiniä, tuloksena saatu kaavan (I) mukaisia yhdisteitä, joilla on havaittu olevan nämä ominaisuudet (1) - (4) ja niiden uskotaan olevan kliinisesti hyödyllisiä reniini-inhibiittoreita.

Tämän keksinnön kohteena on siten menetelmä valmistaa reniini-inhibiittoreina käytettäviä 2-(L-alanyyli-L-histidyyliamino)-butanoli-johdannaisia, joiden kaava I on

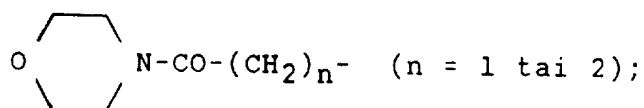


jossa R_1 on

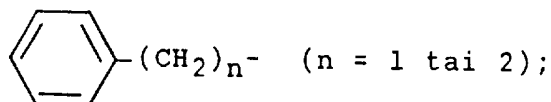
1)



2)

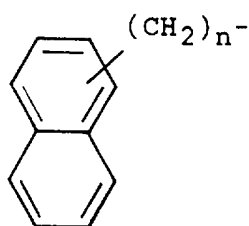


3)



4) suoraketjuinen tai haarautunut C_1-C_6 alkoksikarbonyyliami-
no;

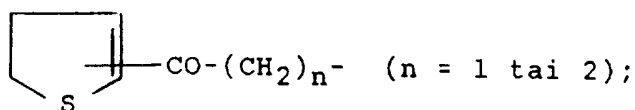
5)



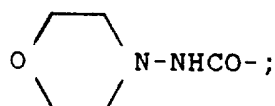
6) suoraketjuinen tai haarautunut C_1-C_6 alkoksikarbonyyli;

7) $-CONH-$ suoraketjuinen tai haarautunut C_1-C_6 alkyleeni-OH;

8)

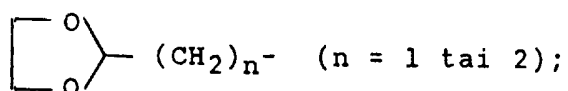


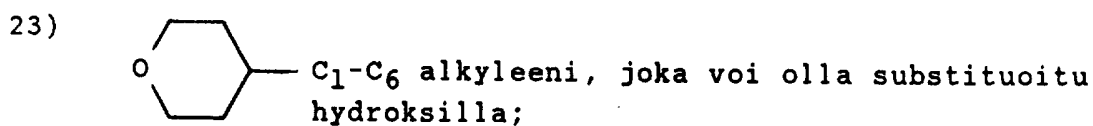
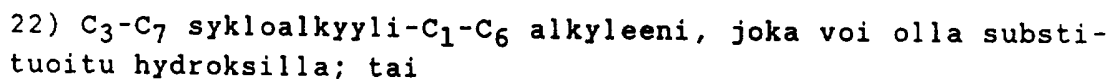
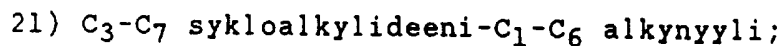
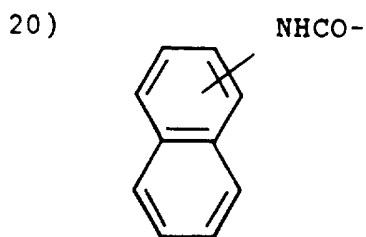
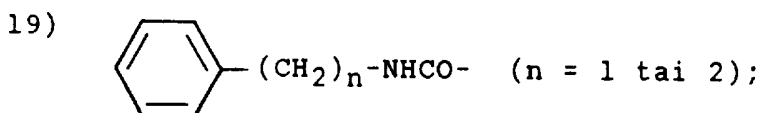
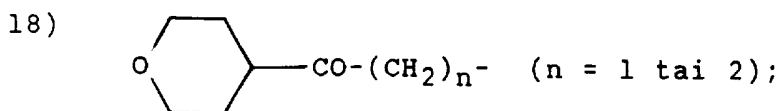
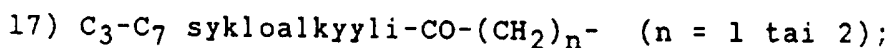
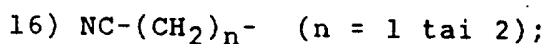
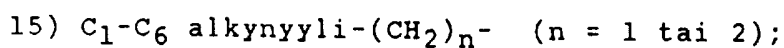
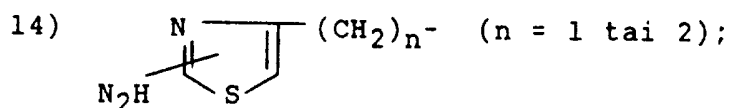
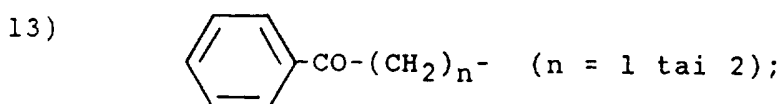
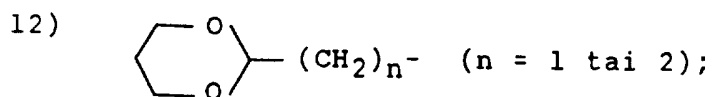
9)



10) suoraketjuinen tai haarautunut C_1-C_6 alkyylikarbonyyli-
 $(CH_2)_n-$ ($n = 1$ tai 2);

11)





R_2 on

1) fenyyli; tai

2) naftyyli

R_3 on

1) suoraketjuinen tai haarautunut C_1-C_6 alkyyli;

2) sykloheksyyli; tai

3) fenyyli;

R_4 on

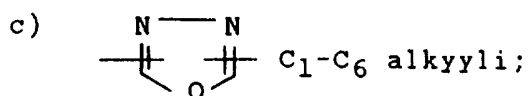
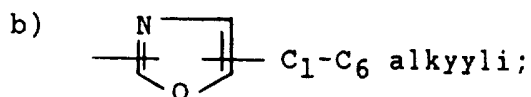
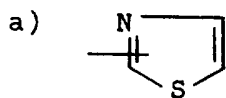
1) nitrometyyli;

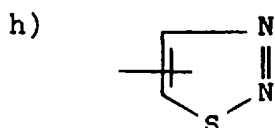
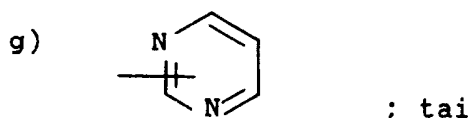
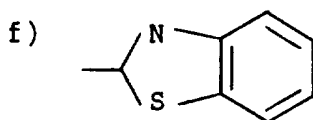
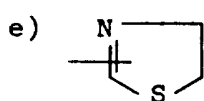
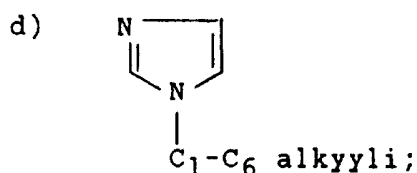
2) $-COOR^C$ (R^C on suoraketjuinen tai haarautunut C_1-C_6 alkyyli);

3) $-(CH_2)-S-R^d$

$(O)_n$ ($n = 0, 1$ tai 2);

R^d on tetratsolyyli, joka voi olla substituoitu alemmalla alkyyllillä, karbamoyyli-alempi alkyyllillä, tai tarkoittaa heterosyklistä ryhmää





R₅ on

1) vety; tai

2) C₁-C₆ alkyyli.

Käytetty nimitys "alempi" tarkoittaa suoraketjuista tai haara-
rautunutta hiiliketjua, jossa on enintään 6 hiiliatomia, ellei
toisin ole mainittu. Alemmasta alkyyli-ryhmästä ovat siten
konkreettisia esimerkkejä metyyli, etyyli, propyyli, isopro-
pyyli, butyyli, isobutyyli, sek-butyyli, tert-butyyli, pentyy-
li, isopentyyli, neopentyyli, tert-pentyyli, 1-metyyllibutyyli,
2-metyyllibutyyli, 1,2-dimetyyllipropyyli, heksyyli, isoheksyy-
li, 1-metyyllipentyyli, 2-metyyllipentyyli, 3-metyyllipentyyli,
1,1-dimetyyllibutyyli, 1,2-dimetyyllibutyyli, 2,2-dimetyyllibu-
tyyli, 1,3-dimetyyllibutyyli, 2,3-dimetyyllibutyyli, 3,3-dime-

tyylibutyyli, 1-etyylibutyyli, 2-etyylibutyyli, 1,1,2-trimetyylipropyli, 1,2,2-trimetyylipropyli, 1-etyyli-1-metyyli-propyyli ja 1-etyyli-2-metyylipropyyliryhmiä jne.

"Karbamoyyli-alempi-alkyyli" on ryhmä, joka voidaan saada substituomalla mikä tahansa vetyatomi "alemmassa alkyyliissä" "karbamoyylillä" ($-\text{CONH}_2$). Konkreettisia esimerkkejä "karbamoyyli-alempi-alkyylistä" ovat karbamoyylimetyyli, karbamoyylietyyli (2- tai 1-karbamoyylietyyli), 3-karbamoyylipropyli, 2-karbamoyylipropyli, 1-karbamoyylipropyli, karbamoyylietyyli, karbamoyylipentyyli, karbamoyyliheksyyli, karbamoyylibutyyli ja niiden haarautuneet alempi-alkyyli-johdokset.

"Sykloalkyyli" tarkoittaa C_3 - C_7 -rengasalkyyliä. Konkreettisia esimerkkejä ovat syklopropyyli, syklobutyyli, syklopentyyli, sykloheksyyli, sykloheptyyli jne.

Esimerkkejä ryhmästä "alempi alkynyyli" ovat etynyyli, propynyyli jne.

Ryhminä "alempi alkoksiryhmä" mainittakoon lisäksi metoksi, etoksi, propoksi, isopropoksi, butoksi, isobutoksi, sek-butoksi, tert-butoksi, pentyylioksi (amyylioksi), isopentyylioksi, tert-pentyylioksi, neopentyylioksi, 2-metyylibutoksi, 1,2-dimetyylipropoksi, 1-etyylipropoksi ja heksyylioksiryhmät ja vastaavat.

Alkyleeniryhmässä on mieluummin 1 - 6 hiiliatomia. Yksittäisiä esimerkkejä ovat: metyleeni, etyleeni, metyylimetyyleeni,



(-CH), trimetyyleeni, tetrametyyleeni, 3,3-dimetyylitetrametyyleeni, 4,4-dimetyylitetrametyyleeni, 1,1,3-trimetyylitrimetyyleeni, 1,1,2-trimetyylitrimetyyleeni, 1,1,2,2-tetrametyylietyyleeni, 1,1-dimetyyli-2-etyylietyyleeni, 1,1-dietyylietyyleeni.

"Sykloalkylideeni" on erityisesti C_3 - C_7 alifaattinen kahdenarvoinen ryhmä. Konkreettisia esimerkkejä ovat syklopropylidee-

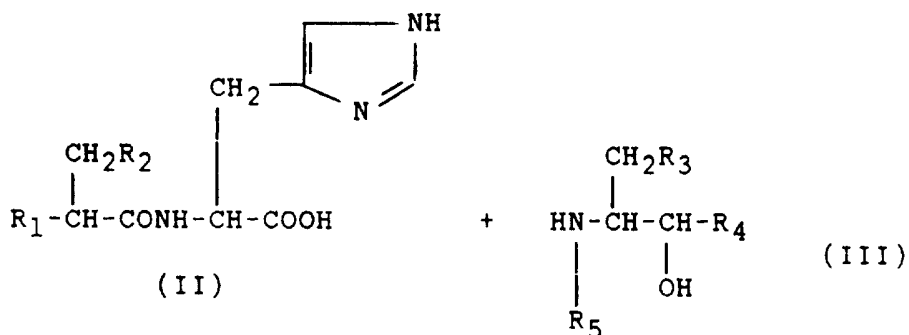
ni, syklobutylideeni, syklopentylideeni, sykloheksylideeni, sykloheptylideeni ja vastaavat.

Esillä oleva keksintö käsittää yhdisteiden (I) suolat. Esimerkkejä tällaisista suoloista ovat happoadditiosuolat epäorgaanisten happojen, kuten mineraalihappojen kanssa (esimerkiksi suolahappo, bromivetyhappo, jodivetyhappo, rikkihappo, typpihappo ja fosforihappo ja vastaavat) ja erilaisten orgaanisten happojen kanssa, kuten muurahais-, etikka-, oksaali-, sitruuna-, meripihka-, fumaari-, maleiini-, omena-, viini-, metaanisulfony- ja etaanisulfonyhappojen ja vastaavien kanssa. Suoloja muodostavia ovat myös happamat aminohapot, kuten asparagiinihappo, glutamiinihappo.

Eräillä keksinnön mukaisilla yhdisteillä voi ilmeisestikin olla erilaisia isomeereja, kuten optisia isomeereja, diastereoisomeereja ja geometrisia isomeereja. Esillä oleva keksintö kattaa eristetyt isomeerit ja niiden seokset. Erityisesti kaavan (I) mukaisissa yhdisteissä on 3 - 4 asymmetristä hiiliatomia, ja näillä on optisia isomeereja. Käsillä olevien yhdisteiden suoloina mainittakoon myös suola alkalien kanssa (esimerkiksi natrium, kalium jne.), maa-alkalimetallien kanssa (magnesium, kalsium jne.) ja orgaanisen emäksen kanssa (dietyyliamiini, trietyyliamiini, dietanoliamiini, sykloheksyyliamiini).

Tämän keksinnön mukaan kaavan (I) yhdisteet voidaan valmistaa esimerkiksi seuraavilla menetelmillä.

Menetelmä 1



tai sen C-terminaalisesti
aktiivinen esteri

-----> kaavan (I) mukainen yhdiste

Kaavan (I) mukaiset yhdisteet voidaan valmistaa saattamalla kaavan (II) mukainen yhdiste reagoimaan kaavan (III) mukaisen yhdisteen kanssa ja tarvittaessa poistamalla suojaryhmä.

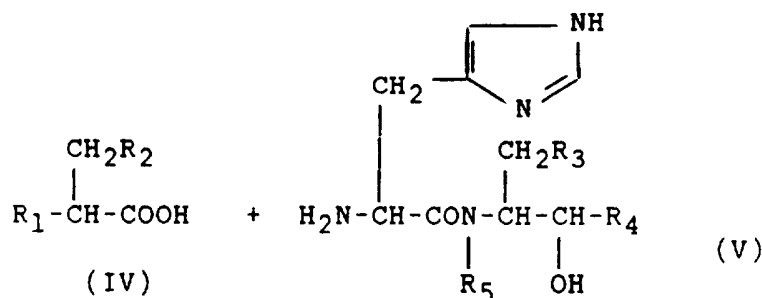
Kaavan (II) mukaisina yhdisteinä voidaan käyttää vapaata happoa tai N-hydroksyyliamiini-aktiivista esteriä. Reaktiossa voidaan käyttää kytkentämenetelmää kondensointiaineen läsnäollessa. Aktiivisina estereinä käytetään fenoliaktiivista esteriä (N-nitrofenoli-aktiivinen esteri jne.), N-hydroksyyliamiini-aktiivinen esteri, 1-hydroksibentsotriatsoli-aktiivinen esteri jne.), hiilihappomono-alkyyliesteriä, seka-happo (orgaaninen happo)-anhydridiä, seka-fosforihappo-aktiivista esteriä (difenyylifosforyylikloridi ja N-metyylimorfoliini), happoatsidia (valmistettu happohydratsiinista ja typpihalogenidi). C-terminaalisena aktiivisena yhdisteenä voidaan käyttää myös happoanhydridiä.

KytKentämenetelmässä käytetään kytkentäaineena N,N'-disykloheksyylikarbodi-imidiä, karbonyylidi-imidatsolia, difenyylifosforyyliatsidia (DPPA) jne. Reaktio voidaan tavallisesti suorittaa liuottimen läsnäollessa jäähdyttäen tai huoneen

lämpötilassa. Liuottimena voidaan käyttää orgaanista liuotinta, joka ei ota osaa reaktioon (esimerkiksi dimetyyliformamidi, dimetyyliasetamidi, dioksaani tetrahydrofuraani, eetteri, dikloorimetaani, dikloorietaani, kloroformi, hiilitetrakloridi, dimetoksimetaani, dimetoksietaani, etyyliasetatti, bentseeni, asetonitriili, dimetyylkisulfoksidi) tai näiden orgaanisten liuottimien seosta. Tietyn laatuinen aktiivinen esteri on ehkä saatettava tai on pakko saattaa reagoimaan vedettömissä tai kuivissa olosuhteissa. Tasainen reaktio saadaan aikaan käyttämällä mieluummin N-metyylimorfoliinia, trietyyliamiinia, trimetyyliamiinia. So. tällaisen emäksen mukanaolo voi johtaa tasaiseen reaktioon. Ottaen huomioon suojaryhmiin ja rasemisoitumiseen liittyvät ongelmat, on kaikkein suositeltavampaa käyttää atsidimenetelmää tai kytkentämenetelmää, jossa käytetään dietyylifosforyylisyanidia jne. Jos suojaryhmiä käytetään, ne poistetaan reaktion jälkeen. Karboksyylin suojaryhmänä voidaan käyttää mieluummin peptidien synteesissä tavallisesti käytettyä esteriryhmää, kuten bentsyyliä, p-nitrobentsyyliä, difenyylimetyyliä (bentsohydryyli), trityyliä jne. (so. substituoitua bentsyyliä, tert-butyyliä, metyyliä, etyyliä jne. (so. alemmat alkyyliä), fenasyyliä, 4-pikolyyliä, sykloheksyyliä jne. Imidatsolyylin suojaryhmänä voidaan käyttää bentsyyliä, edellä mainittua substituoitua bentsyyliä, tert-butyyliä jne.

Suojaryhmät voidaan poistaa tavallisilla menetelmillä.

Menetelmä 2



tai sen C-terminaalisesti
aktiivinen esteri

—————> kaavan (I) mukainen yhdiste

Esillä olevan keksinnön mukaiset kaavan (I) yhdisteet voidaan valmistaa myös saattamalla reagoimaan kaavan (IV) mukainen yhdiste ja kaavan (V) mukainen yhdiste ja tarvittaessa poistamalla suojaryhmä.

Reaktio-olosuhteet jne. ovat samat kuin menetelmässä 1.

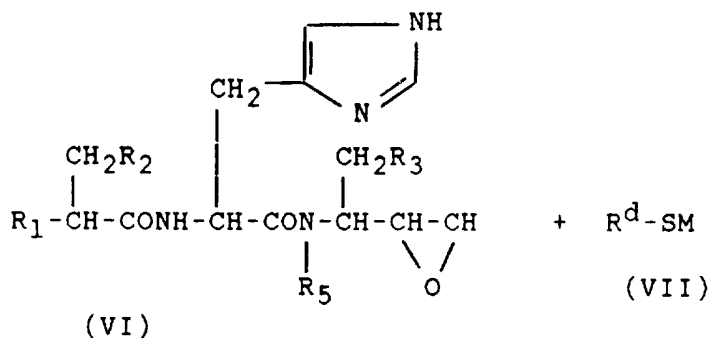
Muut menetelmät

Kaavan (I) mukaisen yhdisteen substituenttien laadusta riippuen voidaan käyttää erilaisia menetelmiä. Esterijohdokset voidaan esimerkiksi valmistaa saattamalla karboksyylihappo tai sen reaktiivinen johdos reagoimaan alemman alkoholin tai alemman alkyylihalogenidin kanssa (so. alkoholi-reaktiivinen esteri), [tavallinen esteröinti]; ja vapaa karboksyylihappo voidaan valmistaa tavanomaisen hydrolyysireaktion avulla esterijohdoksiksi.

Siinä tapauksessa, että ryhmässä R_1 on $>N-CO$ -osa, voidaan vastaavaa karboksyylihappoa tai sen C-terminaalisesti aktiivista esteriä käyttää lähtöaineena, joka saatetaan reagoimaan R_1 -ryhmään perustuvan amidijohdoksen kanssa.

Kaavan (I) yhdisteet, joissa on alempi alkanoyyli-osa, voidaan valmistaa käyttämällä vastaavaa hydroksijohdosta tai sen reaktiivista johdosta lähtöaineena, joka saatetaan reagoimaan alemman alkaanikarboksyylihapon tai sen reaktiivisen johdoksen kanssa.

Siinä tapauksessa, että R_4 on $-CH_2SR^d$, voidaan käyttää seuraavaa reaktiomenetelmää



_____ > kaavan (I) mukainen yhdiste

Tässä tapauksessa kaavan (I) mukainen yhdiste voidaan siten valmistaa saattamalla reagoimaan kaavan (VI) mukainen yhdiste ja kaavan (VII) mukainen yhdiste.

M on vety tai alkalimetalliatomi; ja esimerkkejä alkalimetallista ovat natrium, kalium jne. Tämä reaktio voidaan suorittaa miluummin liuottimessa, joka ei ota osaa reaktioon. Tällaisesta liuottimesta esimerkkejä ovat N,N-dimetyyliformamidi, dimetyylisulfoksidi, eetteri, tetrahydrofuraani, dioksaani, metanoli, etanoli, isopropanoli, asetoni, metyylietyyliketoni, dikloorimetaani, etyleenikloridi, kloroformi, hiilitetrakloridi jne. (orgaaniset liuottimet), vesi ja veden ja orgaanisen liuottimen seos. Siinä tapauksessa, että merkaptaniyhdistettä käytetään kaavan (VI) mukaisena yhdisteenä, reaktio suoritetaan mieluummin emäksen läsnäollessa. Esimerkkejä emäksestä ovat trietyyliamiini, trimetyyliamiini, kaliumkarbonaatti, natriumkarbonaatti, kaliumhydroksidi jne. (orgaaniset emäkset ja epäorgaaniset emäkset). Reaktiolämpötilaa ei ole erityisesti rajoitettu. Lähtöaineiden laadusta jne. riippuen reaktio voidaan suorittaa jäähdyttäen, ympäristön lämpötilassa tai kuumentuen.

Siinä tapauksessa, että ryhmässä R₁ on -COCH₂-osa, voidaan käsillä olevat yhdisteet valmistaa saattamalla vastaava karboksyylihapo tai sen johdos reagoimaan vastaavan halogenidin

tai sulfonaatin kanssa [$X-CH_2-$: X =halogeeni tai p-tolueenisulfonyylioksi, metaanisulfonyyli (orgaaninen sulfonihapporyhmä)] tavalliseen tapaan.

Siinä tapauksessa, että esillä olevan keksinnön mukaisissa yhdisteissä on tioetteri-osa, voidaan käyttää tavallista tioettereiden muodostamisreaktiota (esimerkiksi vastaavan merkaptani ($---SH$)-yhdisteen tai sen alkalimetallijohdoksen reaktio vastaavan halogenidin tai sulfonaatin kanssa).

Esillä olevan keksinnön mukaisia yhdisteitä voidaan käyttää sellaisenaan, vapaassa muodossa tai suoloinaan. Eristäminen ja puhdistaminen voidaan suorittaa tavanomaisten kemiallisten toimenpiteiden avulla, kuten uuttamalla, kiteyttämällä, kiteyttämällä uudelleen, erilaisten kromatograafisten tekniikoiden avulla jne.

Esillä olevan keksinnön mukaisissa yhdisteissä voivat rasemaatit, optisesti aktiiviset muodot, diastereoisomeerit ja vastaavat olla yksinään tai seoksena. Stereokemiallisesti puhtaita isomeereja voidaan saada käyttämällä sopivia raaka-aineita tai tavanomaisen raseemisen erottamisen avulla [esimerkiksi käsittelemällä tavanomaisella optisesti aktiivisella hapolla (viinihappo jne.) ja sen jälkeen suorittamalla optinen erotus jne.]. Diastereoisomeerien seos voidaan erottaa tavalliseen tapaan, esimerkiksi fraktiokiteyttämällä, kromatograafisesti jne.

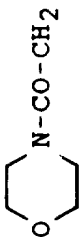
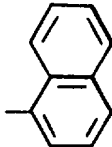
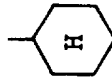
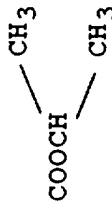
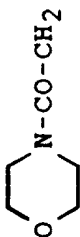
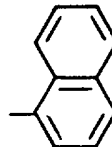
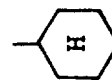
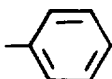
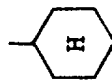
Kaavan (I) mukaisilla yhdisteillä ja niiden seoksilla on voimakas, spesifinen reniiniä inhiboiva aktiivisuus. Niillä voidaan myös pidentää vaikutusaikaa tavalla, joka sopii kliiniseen antamiseen, ja lisäksi ne absorboituvat erinomaisesti suoliston läpi. Keksinnön mukaisten yhdisteiden voidaan siten odottaa olevan hyödyllisiä korkean verenpaineen, erityisesti reniini-angiotensiini-pohjaisen korkean verenpaineen hoitamisessa ja estämisessä. Esillä olevan keksinnön mukaisten yhdis-

teiden erinomaiset vaikutukset on osoitettu seuraavan kokeen avulla.

(1) Ihmisplasman reniiniä inhiboiva vaikutus.

Ihmisplasmaan (250 μ l), jonka angiotensiini I:n muodostamisaktiivisuus oli 0,5 ng/ml/h (37°C) lisättiin 225 μ l entsyymi-inhibiittoria (BAL, 8-hydroksisulfaatti, pH 4,6) ja 25 μ l testattavan yhdisteen liuosta dimetyylisulfoksidissa ja seosta sekoitettiin. Osaa sekoitetusta seoksesta inkuboitiin 2 tuntia 37°C:ssa ja lopun seoksen annettiin seistä sellaisenaan 4°C:ssa. Kummastakin seoksesta otettiin 100 μ l ja mitattiin angiotensiini I:n muodostumismäärien ero RIA-menetelmällä 37°C:ssa ja 4°C:ssa, minkä jälkeen laskettiin IC₅₀-konsentraatio (M) 50-prosenttisesti estävä konsentraatio.

Seuraavassa on esitetty osa saaduista tuloksista.

Esim. n:o	R ₁	R ₂	R ₃	R ₄	IC ₅₀ /ihmis- plasma
Esim. 40					4×10^{-9}
TZ: 1-metyyli-5-tetratsolyli					
Esim. 7				CH ₂ -S-TZ	5×10^{-10}
Esim. 9	(CH ₃) ₃ COCONH-			CH ₂ -S-TZ	4×10^{-9}

Seokset, jotka sisältävät tehokkaina komponentteina yhtä tai useampaa yhdistettä (I) tai niiden suolaa, voidaan valmistaa tabletteina, jauheina, rakeina, granulaatteina, kapsелеina, pillereinä, nesteinä, ruiskeina, lääkepuikkoina, voiteina, hap-valmisteena jne. käyttämällä tavanomaisia kantajia, apuaineita jne. tai muita lisäaineita. Ne voidaan antaa oraalisesti (mukaanlukien kielen alla) tai parenteraalisesti.

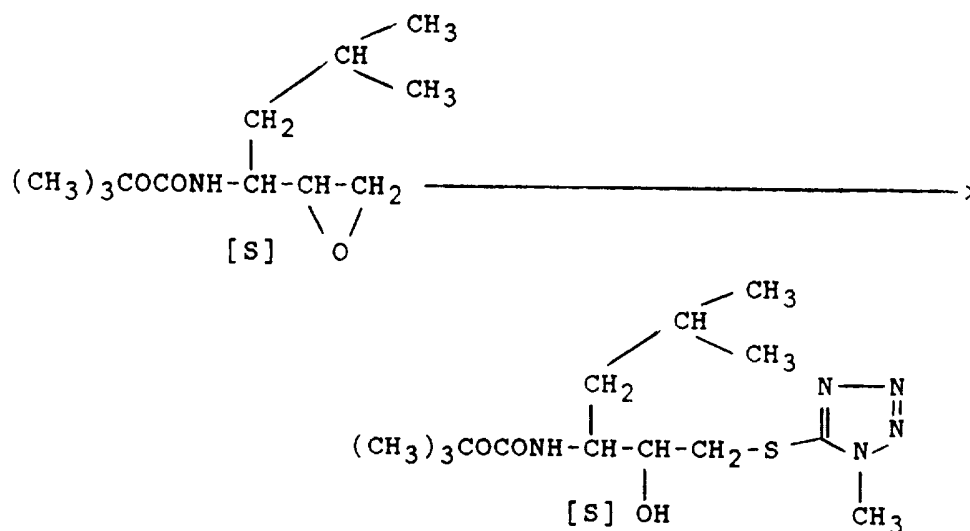
Lääketieteellisiin preparaatteihin tarkoitettuja kantajia ja apuaineita ovat kiinteät tai nestemäiset toksittomat farmaseuttiset aineet. Tällaisista aineista esimerkkejä ovat laktoosi, magnesiumstearaatti, tärkkelys, talkki, gelatiini, agar, pektiini, arabikumi, oliiviöljy, sesamöljy, kaakaovoi, etyleeniglykoli jne. ja muut tavallisesti käytetyt aineet.

Esillä olevan keksinnön mukaisten yhdisteiden kliininen annostus voidaan määrittää sopivalla tavalla riippuen hoidettavan potilaan tilasta, painosta, iästä, sukupuolesta jne. Se on yleensä 0,5 - 5000 mg päivässä aikuisille, annettuna yhtenä tai kahtena annoksena (oraalisesti 1 - 5000 mg, parenteraalisesti: 0,1 - 1000 mg).

Käsillä olevat yhdisteet, jotka ovat luonteeltaan peptidimäisiä, voidaan tavallisesti antaa farmaseuttisena seoksena, kuten tabletteina, pillereinä, kapsелеina jne., jotka on valmistettu käyttämällä kantajia ja apuaineita, joita tavallisesti käytetään oraaliseen tai parenteraaliseen antamiseen, kuten ruiskeena annettaviin farmaseuttisiin peptidiseoksiin.

Vertailuesimerkin yhdisteet valmistettiin tavanomaisilla menetelmillä. (Vertailuesimerkki)

1. (2RS,3S)-3-N-t-butoksikarbonyyliamino-5-metyyli-1-(1-metyyli-tetratsolyylitio)-2-heksanoli.



(m/z): 346 ($M^+ + 1$), 290, 246
 (KBr) cm^{-1} : 3368, 1688,

(CDCl_3 , TMS

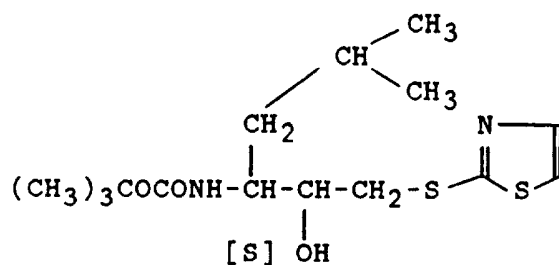
δ ppm: 0,94 (d, 6H, $-\text{CH}-\text{CH}_3$)
 1,42 (s, 9H, t-Bu O^-)
 3,40 (d, 2H, $-\text{CH}-\text{CH}_2-\text{S}$)
 |
 OH

3,96 (s, 3H, $-\text{S}-\text{CH}_2-\text{N}$)

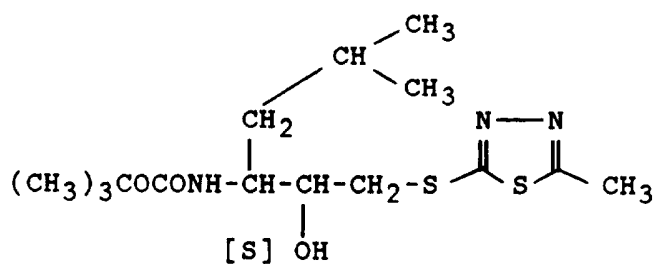
2. - 5

Samalla tavalla kuin kohta 1 edellä, valmistettiin seuraavat:

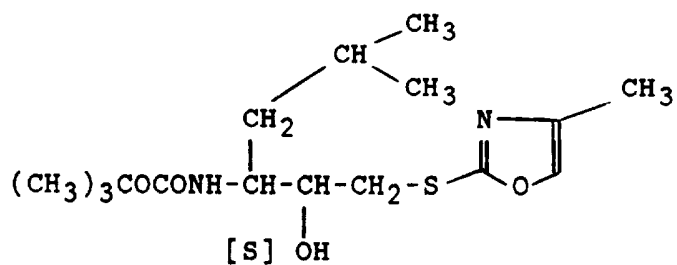
2. (2RS,3S)-3-N-t-butoksykarbonyyliamino-5-metyyli-1-(2-tiat-solyyliitio)-2-heksanoli



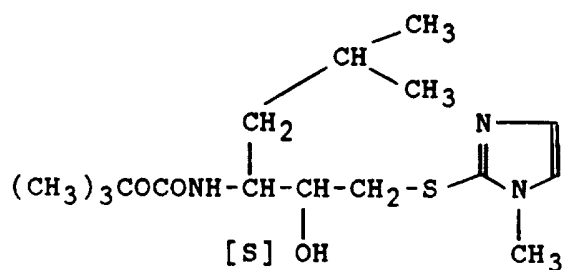
3. (2RS,3S)-3-N-t-butoksikarbonyyliamino-5-metyyli-1-[(5-metyyli-1,3,4-tiadiatsol-2-yyli)tio]-2-heksanoli.



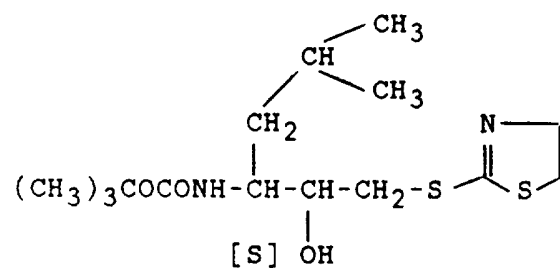
4.



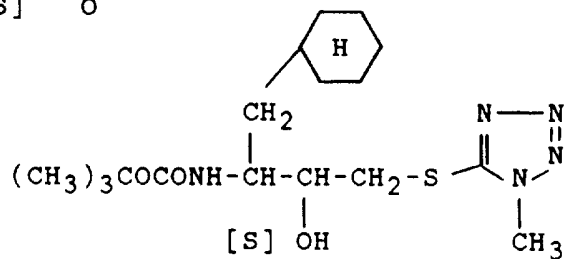
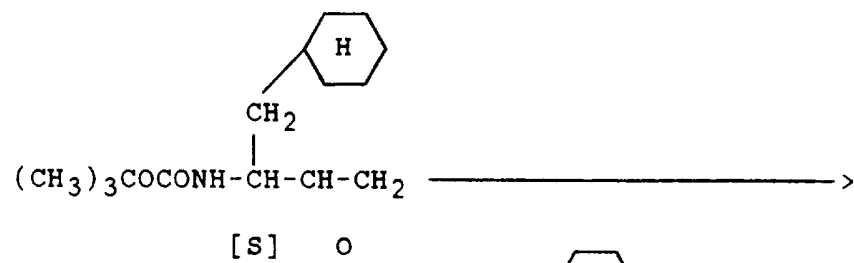
5.



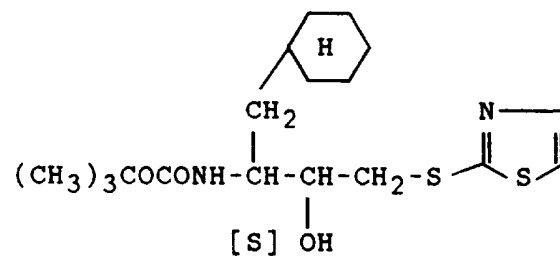
6.



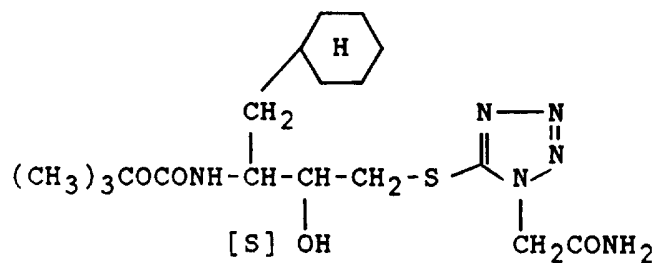
7.



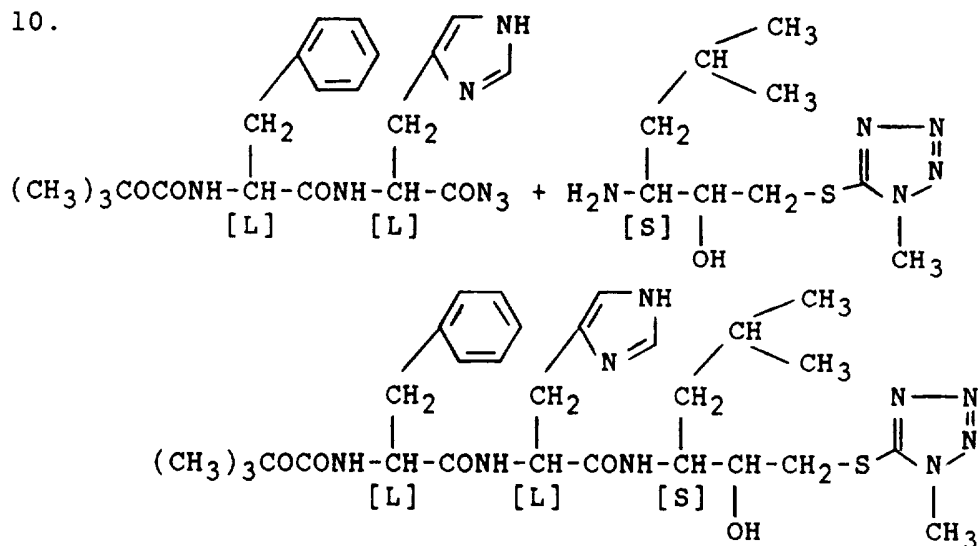
8.



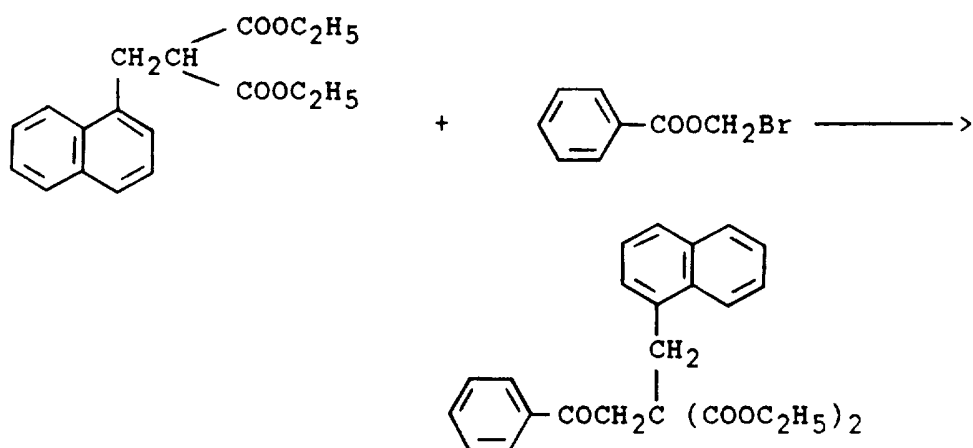
9.



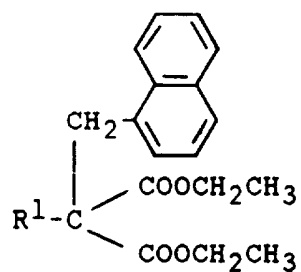
10.



11.



12.



13. 2-(1-naftyyylimettyyli)-2-[2-okso-2-(tetrahydropyran-4-yyli)ettyyli]malonihappo-dietyyliesteri

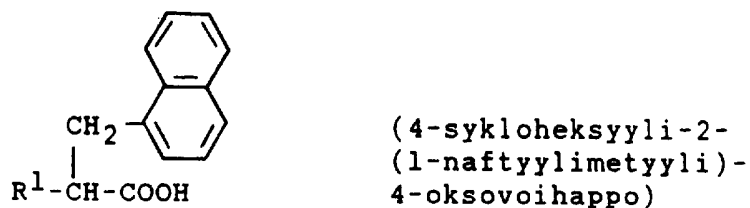
14. 2-[2-(3-tienyyli)-2-oksoetyyli]-2-(1-naftyyylimetyyli)-malonihappo-dietyyliesteri

15. 2-[2-(2-tienyyli)-2-oksoetyyli]-2-(1-naftyyylimetyyli)-malonihappo-dietyyliesteri

16. 2-(3-metyyli-2-oksobutyyli)-2-(naftyyylimetyyli)-malonihappo-dietyyliesteri

17. 2-(1-naftyyylimetyyli)-4-fenyyli-4-oksovoihappo

18.



19. 4-sykloheksyyli-2-(1-naftyyylimetyyli)-4-oksovoihappo

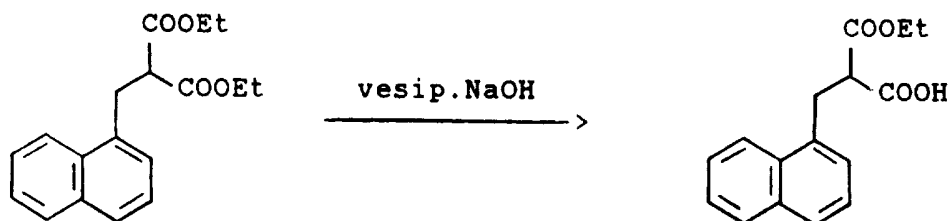
20. 2-(1-naftyyylimetyyli)-4-okso-4-(tetrahydropyran-4-yyli)-voihappo

21. 4-(3-tienyyli)-2-(1-naftyyylimetyyli)-4-oksovoihappo

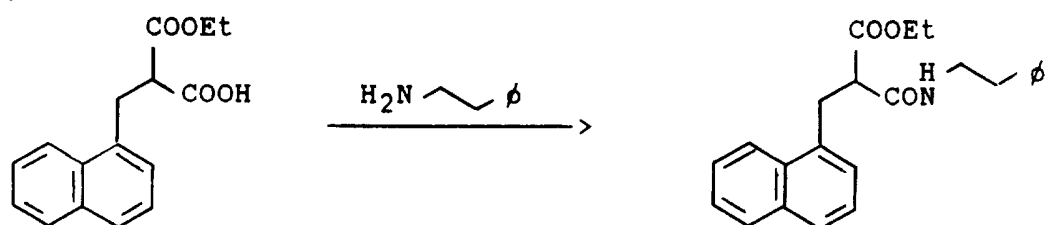
22. 4-(2-tienyyli)-2-(1-naftyyylimetyyli)-4-oksovoihappo

23. 5-metyyli-2-(1-naftyyylimetyyli)-4-oksoheksaanihappo

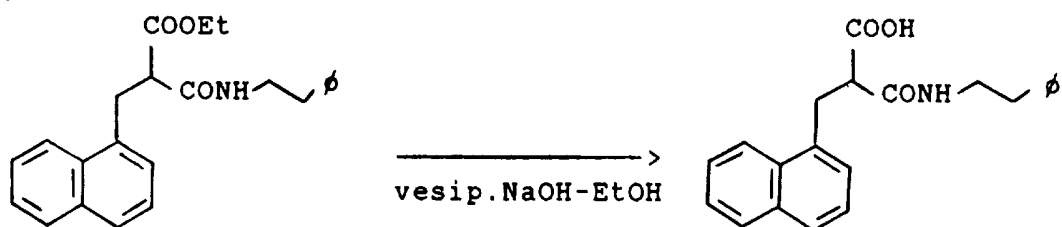
24. 2-(1-naftyyylimetyyli)malonihappo-monoetyyliesteri



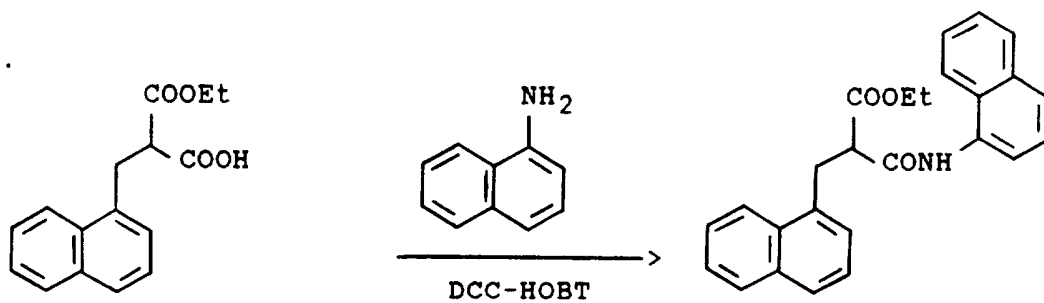
25.



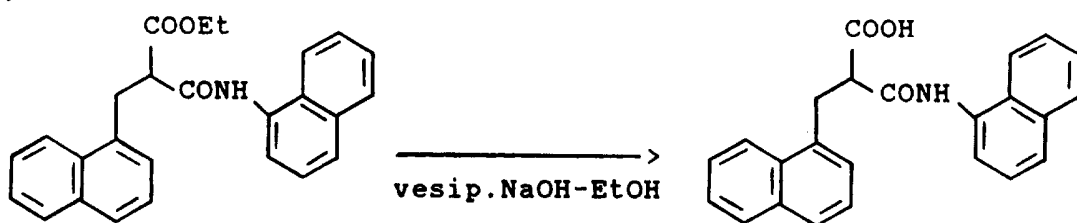
26.



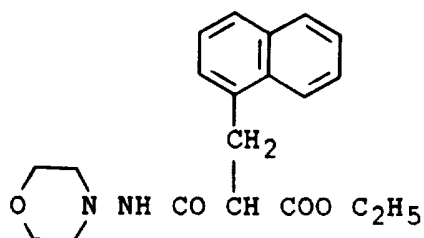
27.



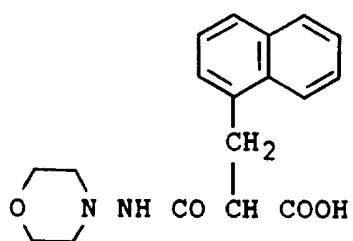
28.



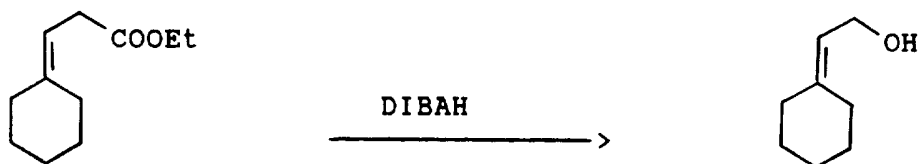
29.



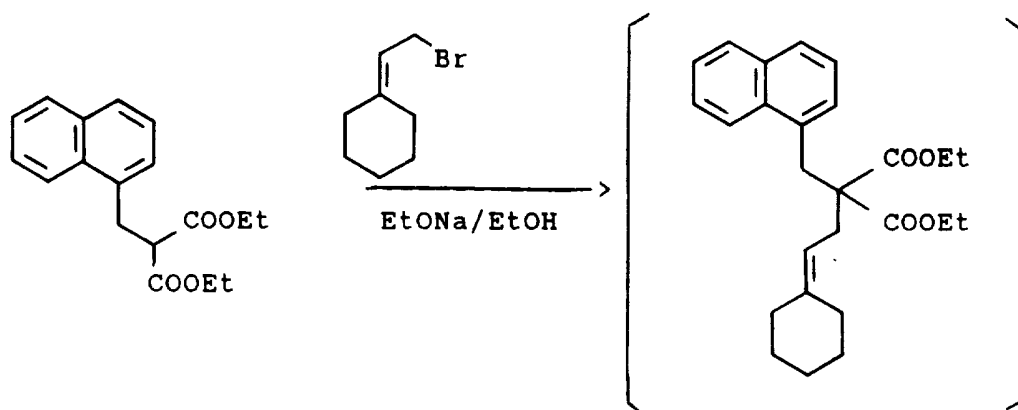
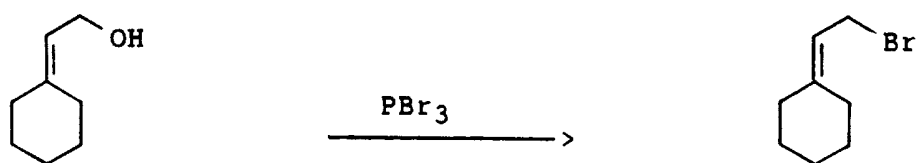
30.

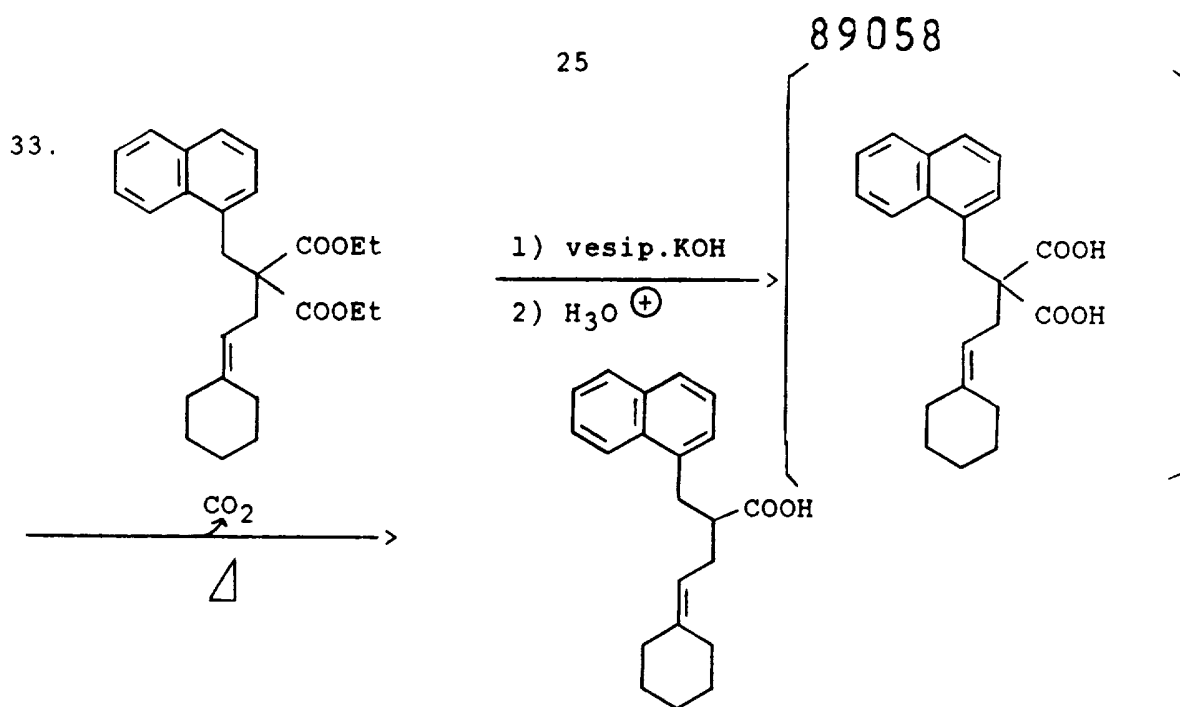


31.

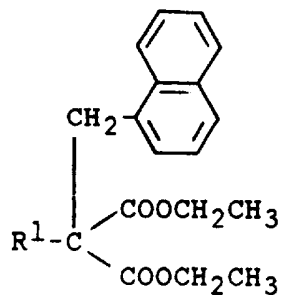


32.





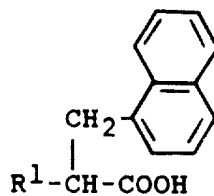
34.



35. 2-(3-propargyyli)-2-(1-naftyyylimettyyli)malonihappo

36. 2-[2-(1,3-dioksolan-2-yyli)ettyyli]-2-(1-naftyyylimettyyli)-malonihappo-dietyyliesteri

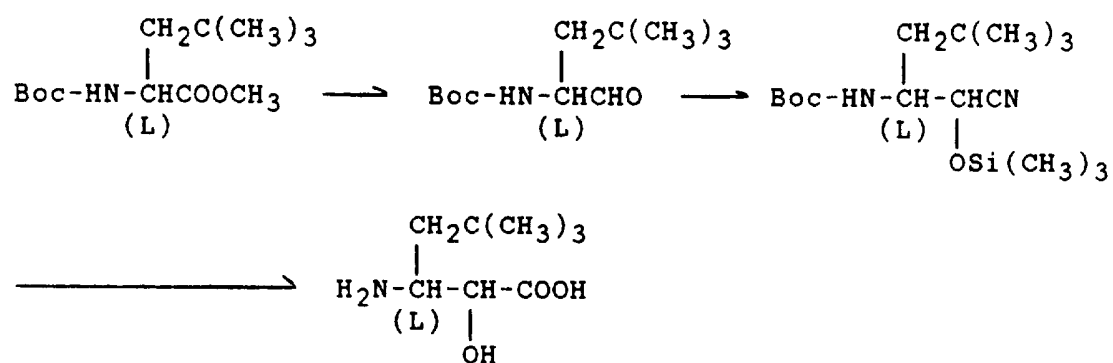
37.



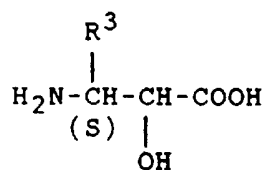
38. 2-(1-naftyyylimettyyli)-4-pentiinihappo

39. 4-(1,3-dioksolan-2-yyli)-2-(1-naftyyylimettyyli)voihappo

40. (2RS,3S)-3-amino-5,5-dimetyyli-2-hydroksiheksaanihappo

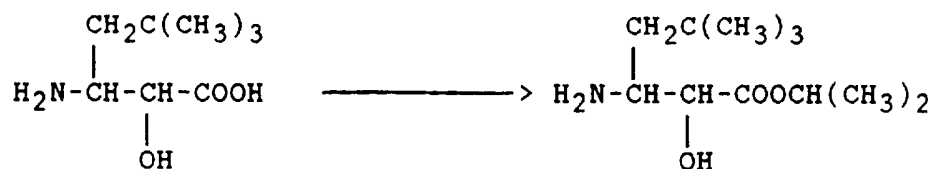


41. - 43.

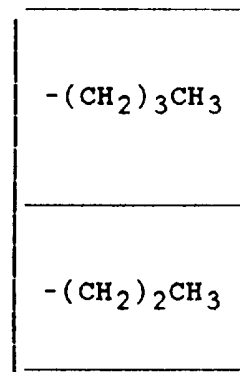
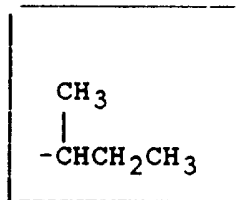
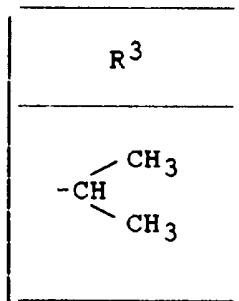
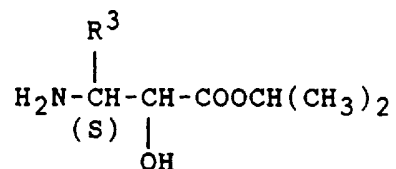


R ³
$ \begin{array}{c} \text{CH}_3 \\ \diagup \\ -\text{CH} \\ \diagdown \\ \text{CH}_3 \end{array} $
$ \begin{array}{c} \text{CH}_3 \\ \\ -\text{CHCH}_2\text{CH}_3 \end{array} $
$ -(\text{CH}_2)_3\text{CH}_3 $

44. (2RS,3S)-3-amino-5,5-dimetyyli-2-hydroksiheksaanihappo-isopropyyliesteri



45. - 48.



49. (2RS,3S)-3-amino-2-hydroksi-4-sykloheksyylivoihappo

50. (2RS,3S)-3-amino-2-hydroksi-4-sykloheksyylivoihappo-isopropyyliesteri

51. (2RS,3S)-3-amino-2-hydroksi-4-sykloheksyylivoihappo-metyyliesteri

52. 4-(p-fluorifenoksi)-2-(1-naftyylimetyyli)voihappo

53. (2RS,3S)-3-N-t-butoksikarbonyyliamino-4-sykloheksyyli-1-(1-metyyli-5-tetratsolyylitio)-2-butanoli.

1,4 ml trietyyliamiinia (10 millimoolia) lisättiin liuokseen, jossa oli 2,29 g (10 millimoolia) 3-t-butoksikarbonyyliamino-4-sykloheksyyli-1,2-oksobutaania ja 1,16 g (10 millimoolia) 1-metyyli-5-merkaptotetratsolia 20 ml:ssa tetrahydrofuraania, ja seosta sekoitettiin yön yli huoneen lämpötilassa. Reaktioseokseen lisättiin 100 ml etyyliasetaattia ja seos pestiin vedellä, kuivattiin magnesiumsulfaatilla ja väkevöitiin alipaineessa. Jäännökseen lisättiin eetteri-n-heksaania, jolloin saatiin 1,5 g haluttua yhdistettä valkoisena jauheena.

Sulamispiste: 120 - 136°C

IR (KBr) cm^{-1} : 3356, 2936, 1688, 1530, 1178

NMR (CDCl_3): 1,42 (s, 9H, t-BuO-), 3,38, 3,93

Edellä olevan kohdan 43 mukaisella tavalla valmistettiin seuraavat yhdisteet.

54. (3S)-1-(bentsotiatsolyylitio)-3-t-butylioksikarbonyyliamino)-1-(2-bentsotiatsolyylitio)-4-sykloheksyyli-2-butanoli

55. (3S)-3-t-butylioksikarbonyyliamino-4-sykloheksyyli-1-[(5-hydroksimetyyli-1,3,4-tiadiatsol-2-yyli)tio]-2-butanoli

56. (3S)-3-t-butylioksikarbonyyliamino-4-sykloheksyyli-1-[(5-metyyli-1,3,4-tiadiatsol-2-yyli)tio]-2-butanoli

57. (3S)-3-t-butoksikarbonyyliamino-4-sykloheksyyli-1-(2-pyrimidinyylitio)-2-butanoli

58. (3S)-3-t-butoksikarbonyyliamino-4-sykloheksyyli-1-(1,2,3-tiadiatsol-5-yylitio)-2-butanoli

59. (3S)-3-t-butoksikarbonyyliamino-4-sykloheksyyli-1-(1-etyyli-5-tetratsolyyli)tio-2-butanoli

60. (3S)-3-[(N-t-butoksikarbonyyli-L-histidyyli)amino]-4-sykloheksyyli-1-(2-tiatsolyylitio)-2-butanoli

61. (3S)-3-[(N-t-butoksikarbonyyli-L-histidyyli)amino]-4-sykloheksyyli-1-[(5-metyyli-1,3,4-tiadiatsol-2-yyli)tio]-2-butanoli

62. (3S)-3-[(N-t-butoksikarbonyyli-L-histidyyli)amino]-4-sykloheksyyli-1-(2-pyrimidinyylitio)-2-butanoli

63. (3S)-3-[(N-t-butoksikarbonyyli-L-histidyyli)amino]-4-sykloheksyyli-1-(1,2,3-tiadiatsol-5-yylitio)-2-butanoli

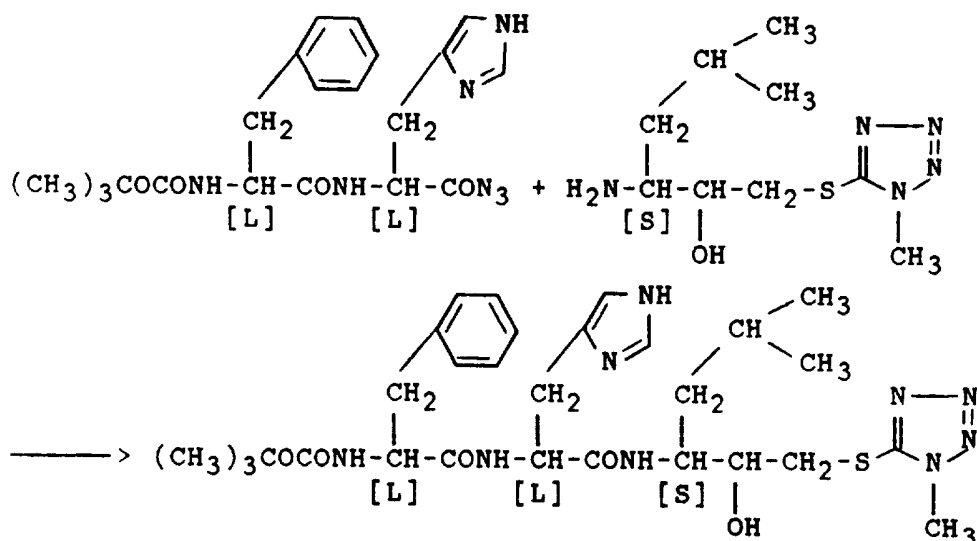
64. (3S)-3-[(N-t-butoksikarbonyyli-L-histidyyli)amino]-4-sykloheksyyli-1-[(1-etyyli-5-tetratsolyyli)tio]-2-butanoli

65. (3S)-[(N-t-butoksikarbonyyli-L-histidyyli)amino]-4-sykloheksyyli-1-[(1-metyyli-5-tetratsolyyli)sulfonyyli]-2-butanoli

66. (3S)-(N-t-butoksikarbonyyliamino)-4-sykloheksyyli-1-[(1-metyyli-5-tetratsolyyli)sulfonyyli]-2-butanoli

67. (3S)-3-(N-t-butoksikarbonyyliamino)-5-metyyli-1-nitro-2-heksanoli

Esimerkki 1



(2RS,3S)-3-(N-t-butoksykarbonyyli-L-fenyyli-alanyyli-L-histidinyliamino)-5-metyyli-1-[(1-metyyli-5-tetratsolyyli)tio]-2-heksanoli

t-butoksykarbonyyli-L-fenyyli-alanyyli-L-histidinyylihydratsidia (416 mg, 1 millimooli) liuotettiin 10 ml:aan dimetyyli-formamidia. Saatu liuos jäädytettiin -10°C :een, tähän lisättiin 0,84 ml 4N/(HCl/dioksaania ja 0,2 ml isoamyyli-nitriittiä samalla sekoittaen, minkä jälkeen seosta sekoitettiin 30 minuuttia -30°C :ssa ja seokseen lisättiin 0,45 ml N-metyyli-morfoliinia samalla jäädyttäen -40°C :ssa.

Erikseen lisättiin 5 ml 4N-HCl/dioksaania 3-N-t-butoksykarbonyyliamino-5-metyyli-1-(1-metyyli-5-tetratsolyylitio)-2-heksanoliin (345 mg) ja seosta sekoitettiin 1 tunti huoneen lämpötilassa. Reaktioseos väkevöitiin alipaineessa kuiviin ja jäännös liuotettiin 10 ml:aan dimetyyli-formamidia. Tämä liuos lisättiin edellä mainittuun reaktioseokseen ja saatua seosta sekoitettiin yön yli kylmähuoneessa. Reaktioseokseen lisättiin 100 ml etyyliasettaattia, pestiin vesipitoisella natriumvety-

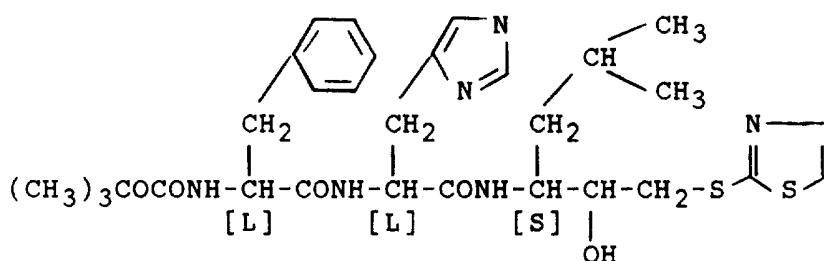
karbonaatilla ja vedellä ja sen jälkeen seos kuivattiin magnesiumsulfaatilla ja väkevöitiin alipaineessa. Saatuun jäänöksen lisättiin kloroformia, jolloin haluttu yhdiste saatiin valkoisena jauheena (75 mg).

R_f=0,17 (kloroformi:metanoli=5:1)

Massaspektri (m/z): 630 (M⁺+1)

IR (KBr) cm⁻¹; 3312, 1698, 1660, 1642

Esimerkki 2



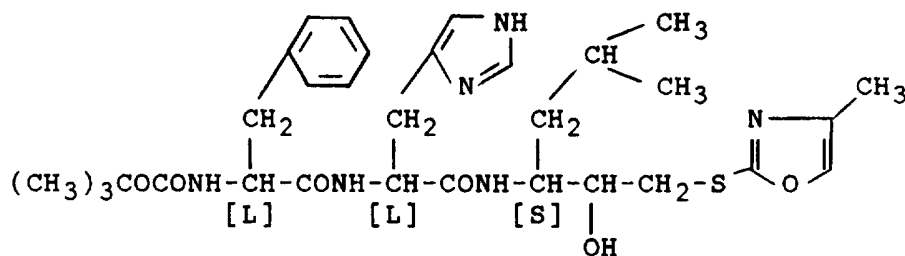
Esimerkin 1 mukaisella tavalla saatiin (2RS,3S)-3-(N-t-butoksikarbonyyli-L-fenyyli-L-histidyyliamino)-5-metyyli-1-(2-tiatsolyylitio)-2-heksanoli.

R_f=0,58 (kloroformi:metanoli=5:1)

Massaspektri (m/z): 631 (M⁺+1)

IR (KBr) cm⁻¹: 3316, 1698, 1644, 1537

Esimerkki 3



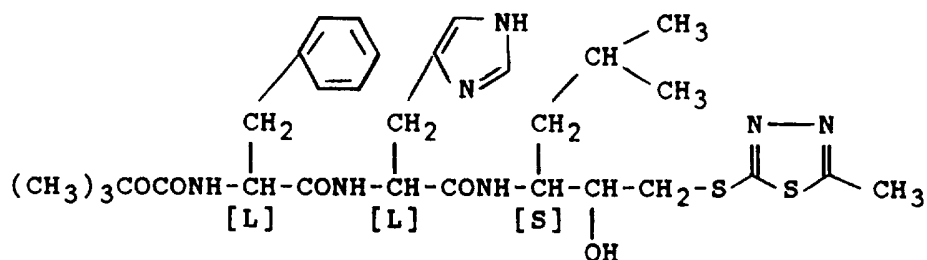
Esimerkin 1 mukaisella tavalla saatiin (2RS,3S)-3-(N-t-butoksikarbonyyli-L-fenyyli-L-histidyyliamino)-5-metyyli-1-[(4-metyylioksatsol-2-yyli)tio]-2-heksanoli.

R_f=0,60 (kloroformi:metanoli=5:1)

Massaspektri (m/z): 629 (M⁺+1)

IR (KBr) cm⁻¹: 3328, 1696, 1646, 1522, 1170

Esimerkki 4



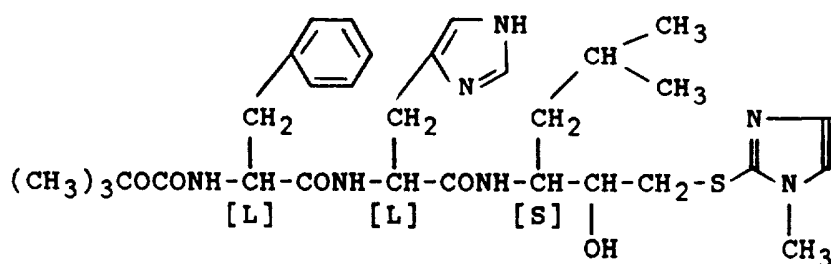
Esimerkin 1 mukaisella tavalla saatiin (2RS,3S)-3-(N-t-butok-sikarbonyyli-L-fenyyli-alanyyli-L-histidyyliamino)-5-metyyli-1-[(5-metyyli-1,3,4-tiadiatsol-2-yyli)tio]-2-heksanoli.

R_f=0,41 (kloroformi:metanoli=5:1)

Massaspektri (m/z): 646 (M⁺+1)

IR (KBr) cm⁻¹: 3312, 1698, 1663, 1642, 1530

Esimerkki 5



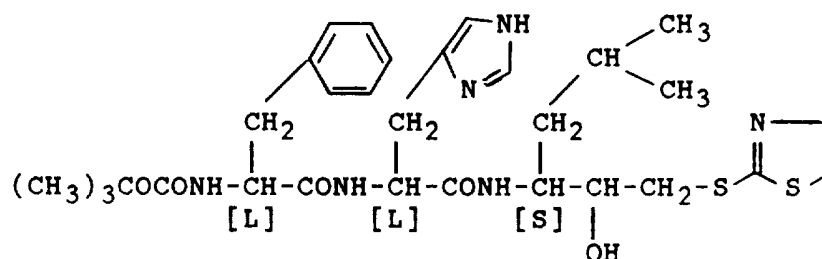
Esimerkin 1 mukaisella tavalla saatiin (2RS,3S)-3-(N-t-butok-sikarbonyyli-L-fenyyli-alanyyli-L-histidyyliamino)-5-metyyli-1-[(1-metyyli-imidatsol-2-yyli)tio]-2-heksanoli.

R_f=0,55 (kloroformi:metanoli=5:1)

Massaspektri (m/z): 628 (M⁺+1)

IR (KBr) cm⁻¹: 3324, 1654, 1522

Esimerkki 6



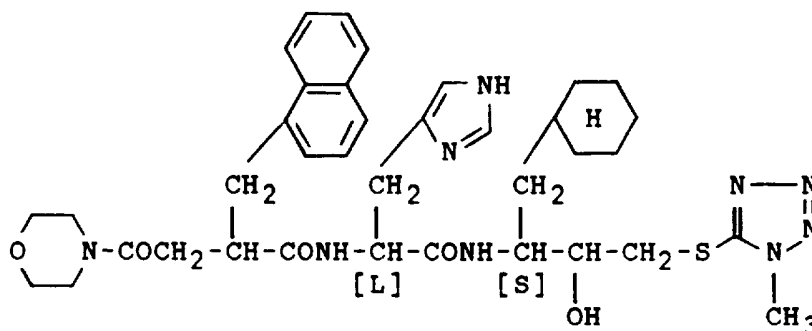
Esimerkin 1 mukaisella tavalla saatiin (2RS,3S)-3-(N-t-butoksykarbonyyli-L-fenyyliamino)-5-metyyli-1-[(2-tiatsolin-2-yyli)tio]-2-heksanoli.

R_f=0,62 (kloroformi:metanoli=5:1)

Massaspektri (m/z): 633 (M⁺+1)

IR (KBr) cm⁻¹: 3328, 1668, 1558

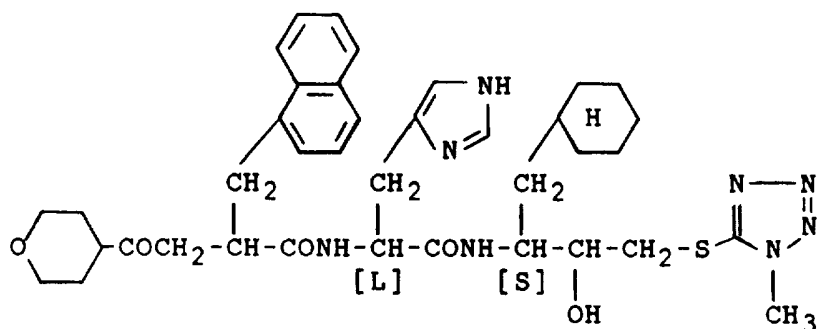
Esimerkki 7



(2RS,3S)-3-[N-[1,4-diokso-4-morfolino-2-(1-naftyyliimetyyli)-butyyli-L-histidyyliamino]]-4-sykloheksyyli-1-(1-metyyli-5-tetratsolyyllitio)-2-heksanoli.

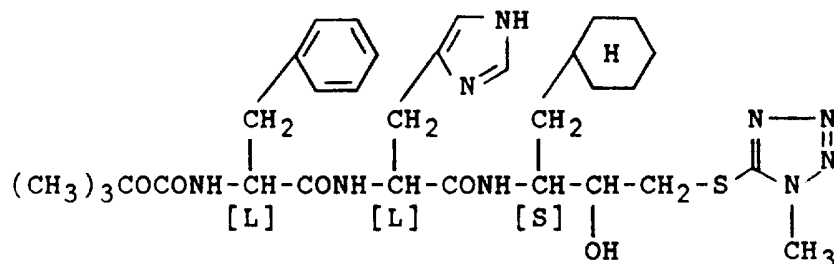
5 ml 4N-HCl/dioksaania lisättiin (2RS,3S)-3-[(N-t-butoksykarbonyyli-L-histidyyli)amino]]-4-sykloheksyyli-1-(1-metyyli-5-tetratsolyyllitio)-2-butanoliin (260 mg, 0,5 millimoolia), seosta sekoitettiin 1 tunti huoneen lämpötilassa ja sen jälkeen se väkevöitiin alipaineessa kuiviin. Jäännökseen lisät-

IR (KBr) cm^{-1} : 3328, 1652, 1450, 1116



IR (KBr) cm^{-1} : 3328, 1705, 1660

Esimerkki 9



(2RS,3S)-3-(N-t-butoksikarbonyyli-L-fenyyli-alanyyli-L-histidyyliamino)-4-sykloheksyyli-1-(1-metyyli-5-tetratsolyylitio)-2-butanoli.

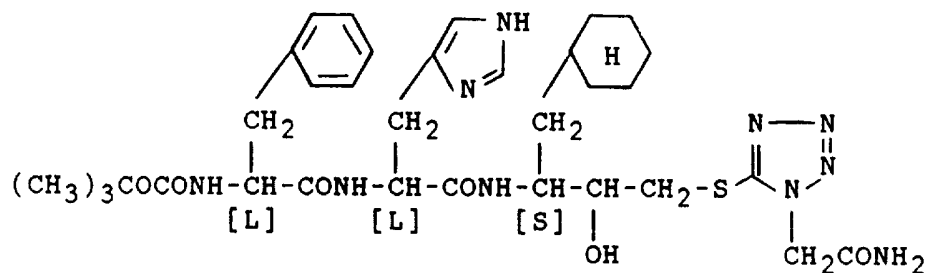
Liuos, joka sisälsi 416 mg (1 millimooli) t-butoksikarbonyyli-L-fenyyli-alanyyli-L-histidiinihydratsidia ja 10 ml dimetyyli-formamidia, jäähdytettiin -40°C :een, liuokseen lisättiin 4N-HCl-dioksaania (0,84 ml) ja 0,2 ml isoamyylinitriittiä, minkä jälkeen seosta sekoitettiin 30 minuuttia $-20 - -30^{\circ}\text{C}$:ssa. Seos jäähdytettiin -40°C :een, minkä jälkeen siihen lisättiin N-metyylimorfoliinia. Erikseen lisättiin 5 ml 4N-HCl/dioksaania 3-(N-t-butoksikarbonyyliamino)-4-sykloheksyyli-1-(1-metyyli-5-tetratsolyylitio)-2-butanoliin (385 mg) ja seosta sekoitettiin yön yli huoneen lämpötilassa. Reaktioseos väkevöitiin alipaineessa ja jäännös liuotettiin 10 ml:aan dimetyyli-formamidia. Edellä saatu reaktioliuos lisättiin tähän liuokseen ja seosta sekoitettiin yön yli kylmähuoneessa. Reaktioseokseen lisättiin 100 ml etyyliasetaattia ja seos pestiin vesipitoisella natriumvetykarbonaatilla ja vedellä, kuivattiin magnesiumsulfaatilla ja väkevöitiin alipaineessa. Jäännös pylväskromatografoidiin ja haluttua yhdistettä sisältävä jae väkevöitiin. Jäännökseen lisättiin eetteriä, jolloin saatiin 110 mg haluttua yhdistettä valkoisena jauheena.

$R_f=0,48$ (kloroformi:metanoli=5:1)

Massaspektri (m/z): 670 (M^++1)

IR (KBr) cm^{-1} : 3328, 1696, 1662, 1642, 1528, 1172

Esimerkki 10



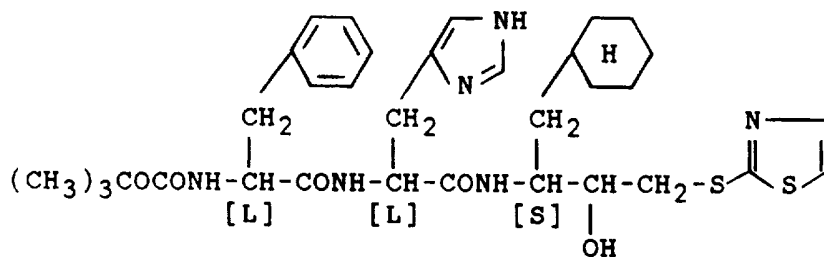
Esimerkin 9 mukaisesti saatiin (2RS,3S)-3-(N-t-butoksikarbonyyli-L-fenyyli-alanyyli-L-histidyyliamino)-4-sykloheksyyli-1-(1-karbamoyylimetyyli-5-tetratsolyylitio)-2-butanoli.

R_f=0,27 (kloroformi:metanoli=5:1)

Massaspektri (m/z): 713 (M⁺+1)

IR (KBr) cm⁻¹: 3328, 1696, 1664, 1642, 1170

Esimerkki 11



Esimerkin 9 mukaisesti saatiin (2RS,3S)-3-(N-butoksikarbonyyli-L-fenyyli-alanyyli-L-histidyyliamino)-4-sykloheksyyli-1-(2-(tiatsolyylitio)-2-butanoli.

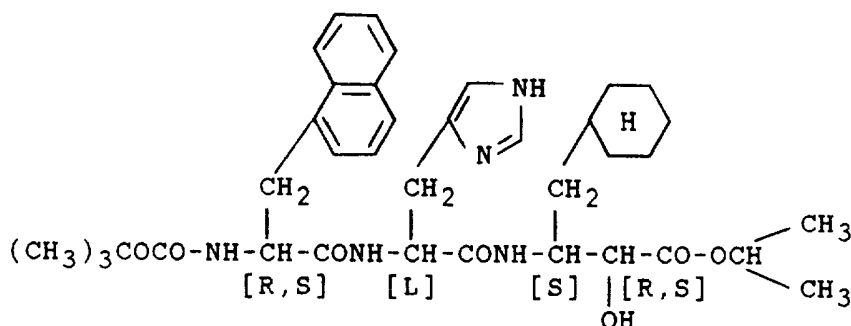
R_f=0,54 (kloroformi:metanoli=5:1)

Massaspektri (m/z): 671 (M⁺+1)

IR (KBr) cm⁻¹: 3336, 1696, 1646, 1528, 1170

Esimerkki 12

(2RS,3S)-3-[N-[2(R,S)-t-butoksikarbonyyliamino-3-(1-naftyyli)-propionyyli]-L-histidyyli]amino-2-hydroksi-4-sykloheksyyli-voihappo-isopropyyliesteri



(R¹: t-butoksikarbonyyliamino, R²: isopropoksi) 4N-HCl/dioksaaniliuosta lisättiin N-Boc histidinyyli(2RS,3S)-3-amino-2-hydroksi-4-sykloheksyyli-voihappo-isopropyyliesteriin, (290 mg) ja seosta sekoitettiin 1 tunti huoneen lämpötilassa. Reaktioseos väkevöitiin alipaineessa kuiviin. Jäännökseen lisättiin 190 mg Boc-3-(1-naftyyli)-alaniinia ja liuotettiin kuivaan dimetyyliformamidiin, minkä jälkeen tähän lisättiin 98 mg syanofosfonihappodietyyliesteriä ja 122 mg trietyyliamiinia jäissä jäähdyttäen. Seosta sekoitettiin 30 minuuttia. Seosta sekoitettiin yön yli, minkä jälkeen siihen lisättiin 50 ml vettä ja seos uutettiin 100 ml:lla etyyliasetaattia. Uute pestiin 5-prosenttisella natriumvetykarbonaatin vesiliuoksella ja kylästetyllä natriumkloridin vesiliuoksella ja kuivattiin vedettömällä magnesiumsulfaatilla. Liuotin poistettiin tislamalla alipaineessa, jolloin puhdistamaton tuote saatiin värittömänä karamellimaisena aineena. Tämä tuote pylväskromatografoitiin silikageelillä (liuotin: kloroformi:metanoli=95:5) tuotteen puhdistamiseksi, jolloin saatiin haluttu yhdiste (170 mg) värittömänä jauheena.

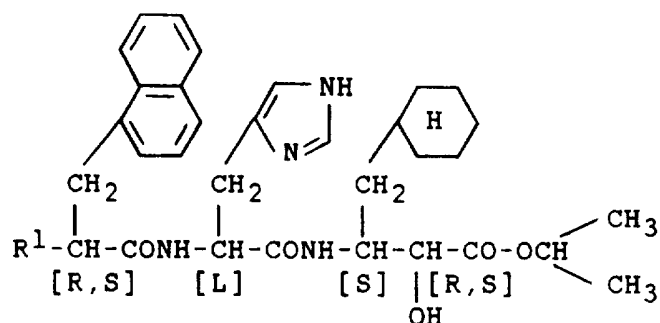
Rf=0,45 (kloroformi:metanoli=9:1)

MS (FAB): 678 (M⁺+1)

IR^{KBr}_{cm⁻¹}: 3280, 2930, 1710, 1670

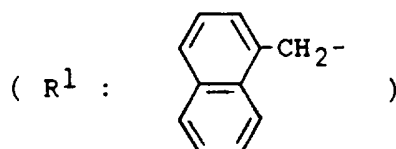
Esimerkit 13 - 27

Esimerkin 12 mukaisesti saatiin seuraavat yhdisteet.



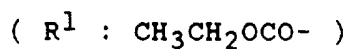
Esimerkki 13

(2RS,3S)-3-[N-[2-(1-naftyyli)metyyli-3-(1-naftyyli)propionyyli]-L-histidyyli]amino-2-hydroksi-4-sykloheksyylivoihappo-isopropyyliesteri



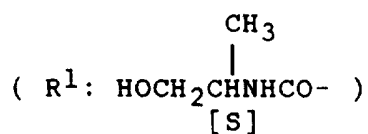
Esimerkki 14

(2RS,3S)-3-[N-[2-etoksikarbonyyli-3-(1-naftyyli)propionyyli]-L-histidyyli]amino-2-hydroksi-4-sykloheksyylivoihappo-isopropyyliesteri



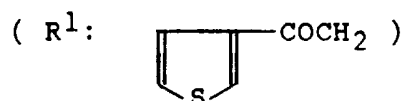
Esimerkki 15

(2RS,3S)-3-[N-[2-(2-hydroksi-1(S)-metyylietyylikarbamoyyli)-3-(1-naftyyli)propionyyli]-L-histidyyli]amino-2-hydroksi-4-sykloheksyylivoihappo-isopropyyliesteri



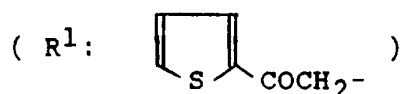
Esimerkki 16

(2RS,3S)-3-[N-[(2RS)-4-(3-tienyyli)-2-(1-naftyyylimetyyli)-4-oksobutanoyyli]-L-histidyyli]amino-2-hydroksi-4-sykloheksyy-livoihappo-isopropyliesteri



Esimerkki 17

(2RS,3S)-3-[N-[(2RS)-4-(2-tienyyli)-2-(1-naftyyylimetyyli)-4-oksobutanoyyli]-L-histidyyli]amino-2-hydroksi-4-sykloheksyy-livoihappo-isopropyliesteri



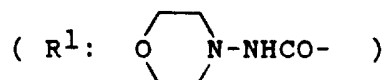
R_f = 0,59

MS (m/z): 687 (M⁺+1)

IR_{max}^{KBr} cm⁻¹ : 2932, 1736, 1660

Esimerkki 18

(2RS,3S)-3-[N-[(2RS)-2-(N-morfolinokarbamoyyli)-2-(1-naftyyli-(propionyyli)-L-histidyyli]amino-2-hydroksi-4-sykloheksyyli-voihappo-isopropyliesteri



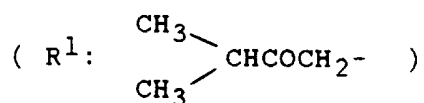
R_f = 0,45

MS (m/z): 691 (M⁺+1)

IR_{max}^{KBr} cm⁻¹ : 2932, 1736, 1670

Esimerkki 19

(2RS,3S)-3-[N-[(2RS)-6-metyyli-2-(1-naftyyylimetyyli)-4-okso-heksanoyyli]-L-histidyyli]amino-2-hydroksi-4-sykloheksyyli-voihappo-isopropyliesteri



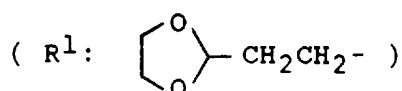
R_f = 0,54

MS (m/z): 647 (M⁺+1)

IR_{max}^{KBr} cm⁻¹ : 2936, 1734, 1712, 1660

Esimerkki 20

(2RS,3S)-3-[N-[2(RS)-4-(1,3-dioksolan-2-yyli)-2-(1-naftyyli-metyyli)-butanoyyli]-L-histidyyli]amino-2-hydroksi-4-syklohek-syyli-voihappo-isopropyliesteri



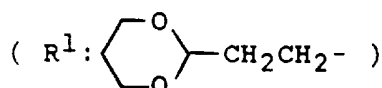
R_f = 0,67

MS (m/z): 663 (M⁺+1)

IR_{max}^{KBr} cm⁻¹ : 2936, 1734, 1652

Esimerkki 21

(2RS,3S)-3-[N-[2(RS)-4-(1,3-dioksan-2-yyli)-2-(1-naftyyli-metyyli)butanoyyli]-L-histidyyli]amino-2-hydroksi-4-syklo-heksyyli-voihappo-isopropyliesteri



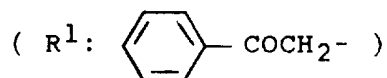
R_f = 0,45

MS (m/z): 676 (M⁺+1)

IR_{max}^{KBr} cm⁻¹ : 2936, 1736, 1654

Esimerkki 22

(2RS,3S)-3-[N-[2(RS)-4-fenyyli)-2-(1-naftyyylimettyyli)-4-okso-butanoyyli]-L-histidyyli]amino-2-hydroksi-4-sykloheksyyli-voihappo-isopropyliesteri



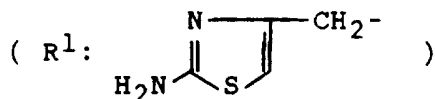
R_f = 0,63

MS (m/z): 681 (M⁺+1)

IR_{max}^{KBr} cm⁻¹ : 2932, 1736, 1682

Esimerkki 23

(2RS,3S)-3-[N-[(2RS)-2-(1-naftyyylimettyyli)-3-(2-aminotiatso-4-yyli)propionyyli]-L-histidyyli]amino-2-hydroksi-4-sykloheksyyli-voihappo-isopropyliesteri



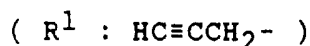
R_f = 0,34

MS (m/z): 675 (M⁺+1)

IR_{max}^{KBr} cm⁻¹ : 2988, 1732, 1654

Esimerkki 24

(2RS,3S)-3-[N-[(2RS)-2-(1-naftyyylimettyyli)-4-pentinoyyli]-L-histidyyli]amino-2-hydroksi-4-sykloheksyyli-voihappo-isopropyliesteri



R_f = 0,54

MS (m/z): 601 (M⁺+1)

IR_{max}^{KBr} cm⁻¹ : 3312, 1732, 1652

Esimerkki 25

(2RS,3S)-3-[[N-(2(RS)-3-syano-2-(1-naftyyylimetyyli)-propionyyli]-L-histidyyli]amino-2-hydroksi-4-sykloheksyyli]vohappo-isopropyyliesteri

(R¹ : NC CH₂-)

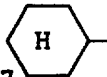
R_f = 0,63

MS (m/z): 602 (M⁺+1)

IR_{max}^{KBr} cm⁻¹ : 2936, 2253, 1738, 1664

Esimerkki 26

(2RS,3S)-4-sykloheksyyli-3-[N-[4-sykloheksyyli-1,4-diokso-2-(1-naftyyylimetyyli)butyyli]-L-histidyyli]amino-2-hydroksi-vohappo-isopropyyliesteri

(R¹ :  CO-CH₂-)

R_f = 0,17

MS (FAB) (m/z): 687 (M⁺+1)

IR_{max}^{KBr} cm⁻¹ : 2936, 2856, 1734, 1662

Esimerkki 27

(2RS,3S)-4-sykloheksyyli-3-[N-[1,4-diokso-2-(1-naftyyylimetyyli)-4-(tetrahydropyran-4-yyli)butyyli]-L-histidyyli]amino-2-hydroksivohappo-isopropyyliesteri

(R¹ :  CO-CH₂-)

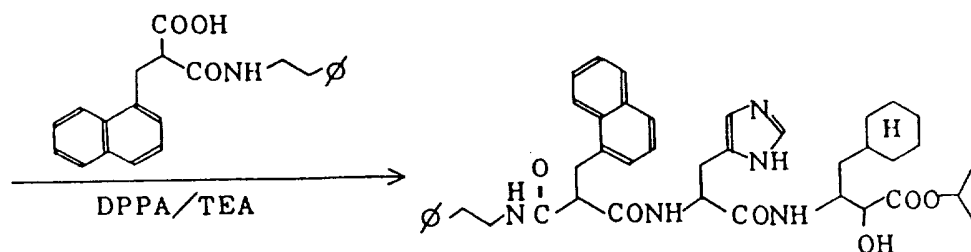
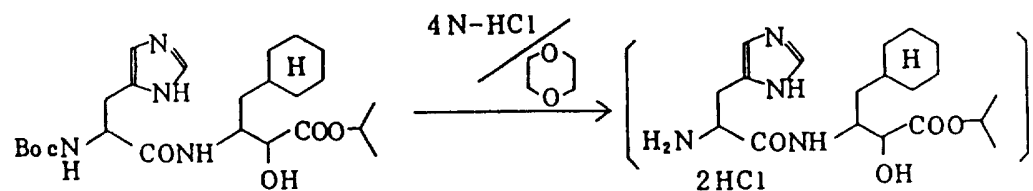
R_f = 0,08

MS (m/z): 689 (M⁺+1)

IR_{max}^{KBr} cm⁻¹ : 3336, 2936, 1734, 1664

Esimerkki 28

(2R,3S)-4-sykloheksyyli-2-hydroksi-3-[N-[3-(1-naftyyylimettyyli)-2(R,S)-(2-fenetyyliaminokarbonyyli)propionyyli]-L-histidyyli]aminovoihappo-isopropyliesteri



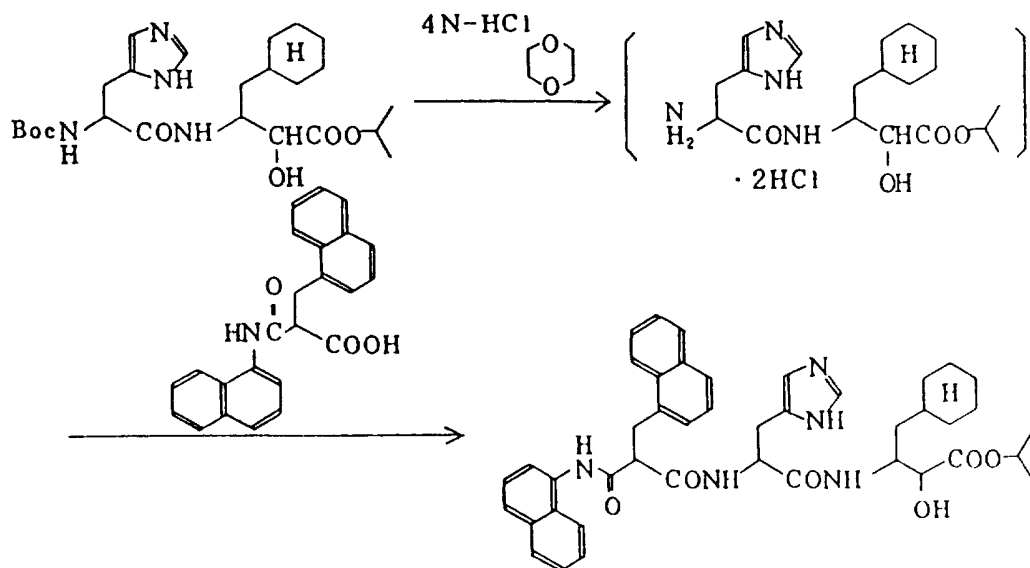
R_f = 0,36

MS: FAB (POS) (m/z): 710 (M⁺+1), 181

IR_{max}^{KBr} cm⁻¹ : 3316, 2932, 2856, 1738

Esimerkki 29

(2R,3S)-4-sykloheksyyli-2-hydroksi-3-[N-[3-(1-naftyyli)-(2R,S)-1-(1-naftyyliaminokarbonyyli)propionyyli]-L-histidyyli]aminovoihappo-isopropyliesteri



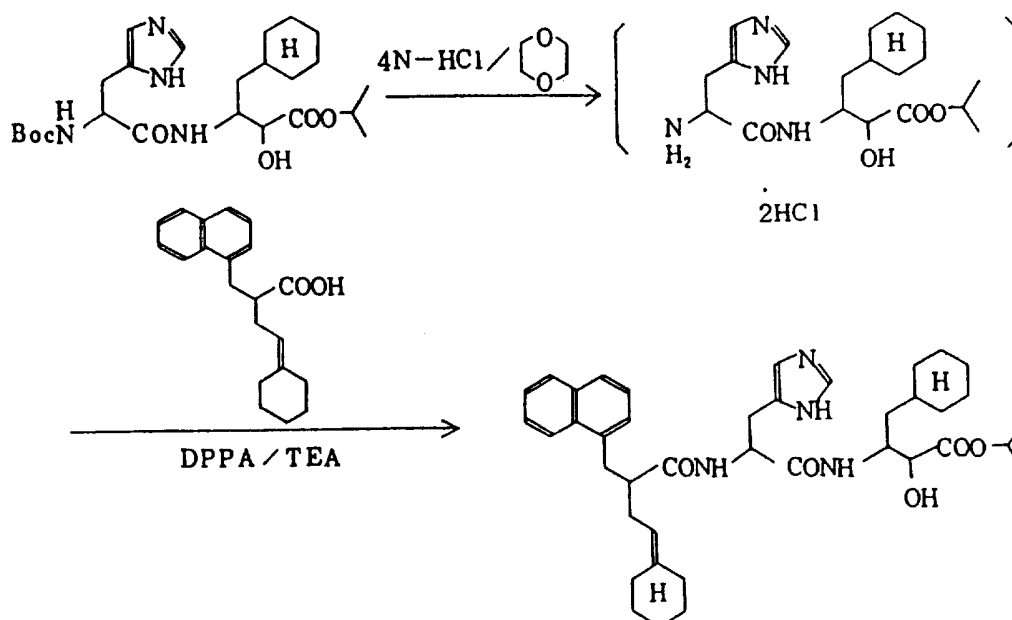
R_f = 0,40

MS: FAB (POS) (m/z): 732 (M⁺+1), 449

IR_{max}^{KBr} cm⁻¹ : 2932, 1732, 1670

Esimerkki 30

(2R,3S)-4-sykloheksyyli-2-hydroksi-3-[N-[(2R,S)-sykloheksyyli-deenimetyyli-3-(1-naftyyli)propionyyli]-L-histidyyli]aminovoi-happo-isopropyliesteri

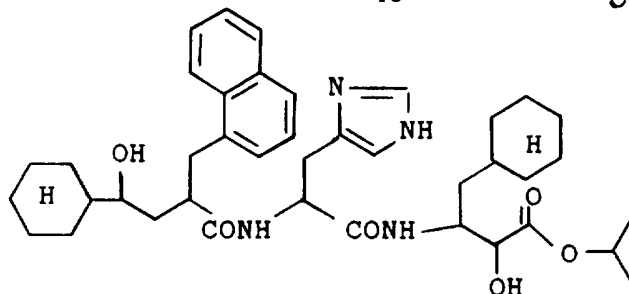


MS: FAB (POS) (m/z): 671 (M⁺+1), 400

IR_{max}^{KBr} cm⁻¹ : 3320, 2936, 2856, 1738

Esimerkki 31

(2R,3S)-4-sykloheksyyli-3-[N-[4-sykloheksyyli-4-hydroksi-2-(1-naftyyliimetyyli)-1-oksobutyli]-L-histidyyli]amino-2-hydroksivoihappo-isopropyliesteri



Noin 20 mg natriumboorihydridiä suspendoitiin 3 ml:aan metanolia ja suspensio jäähdytettiin jäissä jäähäuteella. Suspensioon lisättiin noin 20 mg (2RS,3S)-4-sykloheksyyli-3-[N-[4-sykloheksyyli-1,4-diokso-2-(1-naftyyylimetyyli)-1-butylyli]-L-histidyyli]amino-2-hydroksivoihappo-isopropyyliesteriä ja seosta sekoitettiin 40 minuuttia samalla jäähdyttären jäissä. Reatkioseokseen lisättiin 10 ml kyllästettyä vesipitoista natriumvetykarbonaattia ja seos uutettiin etyyliasetaatilla (20 ml x 3). Orgaaninen kerros kuivattiin vedettömällä natriumsulfaatilla ja liuotin poistettiin tislamalla. Jäännös liuotettiin pieneen määrään etyyliasetaattia ja tähän lisättiin n-heksaania, jolloin saatiin haluttu tuote värittöminä kiteinä. Saanto: 17 mg.

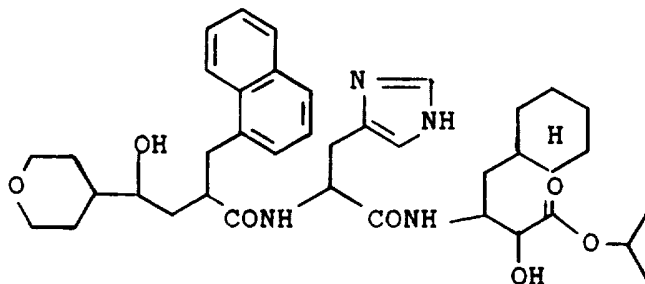
R_f=0,43 (kloroformi:metanoli=10:1)

MS: FAB (pos.); (m/z): 689 (M⁺+1)

IR_{max}^{KBr} cm⁻¹ : 3336, 2936, 1734, 1654

Esimerkki 32

Esimerkin 31 mukaisesti saatiin seuraavat yhdisteet.



(2RS,3S)-4-sykloheksyyli-3-hydroksi-3-[N-[4-hydroksi-4-(1-naftyyylimetyyli)-1-okso-4-(tetrahydropyran-4-yyli)butyyli]-L-histidyyli]aminovoihappo-isopropyyliesteri.

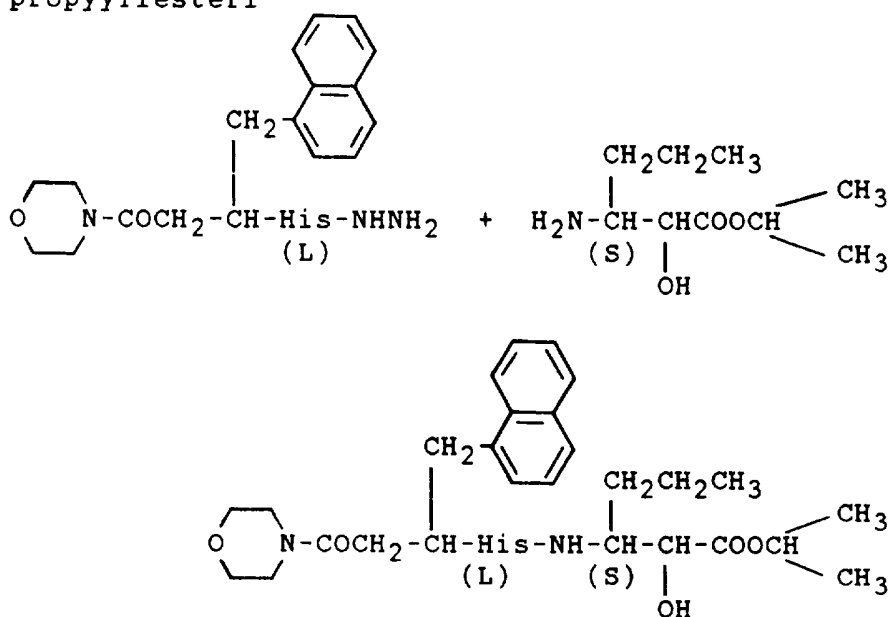
R_f=0,29 (kloroformi:metanoli=10:1)

MS: (m/z): 691 (M⁺+1)

IR_{max}^{KBr} cm⁻¹ : 3420, 2936, 1734, 1654

Esimerkki 33

(2RS,3S)-3-[N-[2-(1-naftyyylimetyyli)-3-(morfolinokarbonyyli)-propionyyli]-L-histidyyli]amino-2-hydroksiheksaanihappo-isopropyyliesteri



950 mg N-[2-(1-naftyyylimetyyli)-3-(morfolinokarbonyyli)-propionyyli]-L-histidiinihydratsidia liuotettiin 25 ml:aan dime-tyyliformamidia, liuokseen lisättiin 1,6 ml 4H HCl-dioksaania (1,6 ml) ja 0,46 ml isoamyylinitriittiä, minkä jälkeen seosta sekoitettiin 30 minuuttia. Reaktioseos jäähdytettiin -30°C:een ja neutraloitiin 0,92 ml:lla trietyyliamiinia, jolloin saatiin N-[2-(1-naftyyylimetyyli)-3-(morfolinokarbonyyli)propionyyli]-L-histidiiniatsidin liuos. Tämä atsidiliuos lisättiin tipot-

tain ja samalla jäädyttään liuokseen, joka sisälsi 378 mg (2RS,3S)-3-amino-2-hydroksiheksaanihappo-isopropyyliesteriä 12 ml:ssa dimetyyliformamidia. Saatua seosta sekoitettiin yön yli 4°C:ssa. Reaktioseokseen lisättiin vesipitoista kyllästettyä natriumvetykarbonaattia ja seos uutettiin etyyliasetaatilla. Orgaaninen kerros pestiin kyllästetyllä vesipitoisella natriumkloridilla ja kuivattiin vedettömällä natriumsulfaatilla. Liuotin poistettiin tislamalla alipaineessa ja jäännös pylväskromatografoitiin puhdistamista varten silikageelillä eluoimalla kloroformin ja metanolin (95:5)-seoksella, jolloin saatiin haluttua yhdistettä 160 mg värittömänä jauheena.

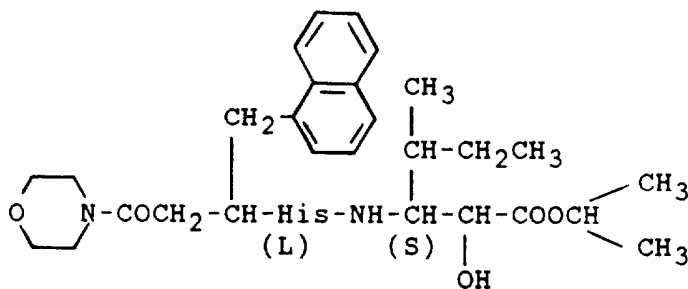
R_f=0,19 (kloroformi:metanoli=95:5)

MS (FAB); 636 (M⁺+1)

IR ^{KBr}_{max} cm⁻¹ : 3290, 2960, 2930, 1730, 1640

Esimerkki 34

(2RS,3S)-3-[N-[2-(1-naftyyylimetyyli)-3-(morfolinokarbonyyli)propionyyli]-L-histidyyli]amino-2-hydroksi-4-metyyliheksaanihappo-isopropyyliesteri



Reaktio suoritettiin esimerkin 33 mukaisella tavalla käyttämällä lähtöaineena 624 mg N-[2-(1-naftyyylimetyyli)-3-(morfolinokarbonyyli)propionyyli]-L-histidiinihydratsiinia ja 264 mg (2RS,3S)-3-amino-2-hydroksi-4-metyyliheksaanihappo-isopropyyliesteriä. Tuote puhdistettiin pylväskromatograafisesti silikageelillä (eluointiliuos: kloroformi:metanoli=95:5), jolloin saatiin 30 mg haluttua yhdistettä.

R_f=0,29 (kloroformi:metanoli=9:1)

MS (FAB); 650 (M⁺+1)

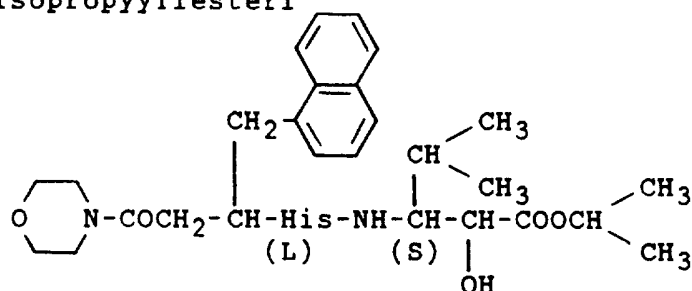
IR $\text{KBr}_{\text{max}} \text{ cm}^{-1}$: 3300, 2970, 1730, 1640

Esimerkit 35 - 38

Esimerkin 33 mukaisesti saatiin seuraavat yhdisteet.

Esimerkki 35

(2RS,3S)-3-[N-[2-(1-naftyyylimetyyli)-3-(morfolinokarbonyyli)-propionyyli]-L-histidyyli]amino-2-hydroksi-4-metyylivalerianahappo-isopropyylesteri



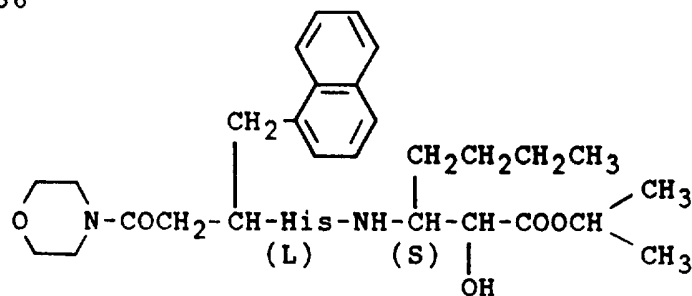
Sp.: 100 - 101°C

R_f=0,21

MS (FAB); 636 (M⁺+1)

IR $\text{KBr}_{\text{max}} \text{ cm}^{-1}$: 3300, 2970, 1730, 1660, 1630

Esimerkki 36



(2RS,3S)-3-[N-[2-(1-naftyyylimetyyli)-3-(morfolinokarbonyyli)-propionyyli]-L-histidyyli]amino-2-hydroksiheptaanihappo-isopropyliesteri

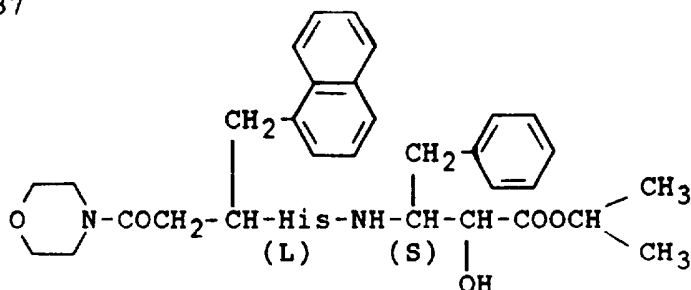
Sp.: 85 - 87°C

Rf=0,18

MS (FAS); 650 ($M^+ + 1$)

IR $\text{KBr}_{\text{max}} \text{cm}^{-1}$: 3290, 2940, 1735, 1640

Esimerkki 37

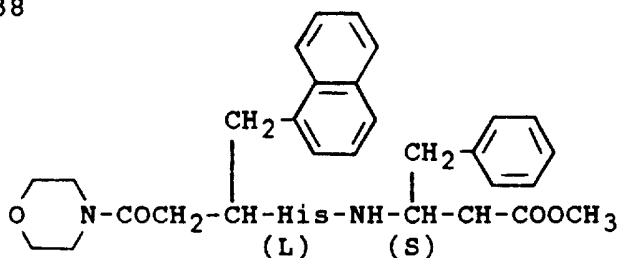


(2RS,3S)-3-[N-[2-(1-naftyyylimetyyli)-3-(morfolinokarbonyyli)-propionyyli]-L-histidyyli]amino-2-hydroksi-4-fenyyliivoihappo-isopropyliesteri

MS (FAB); 684 ($M^+ + 1$)

IR $\text{KBr}_{\text{max}} \text{cm}^{-1}$: 1738, 1646, 1112

Esimerkki 38



(2RS,3S)-3-[N-[2-(1-naftyyylimetyyli)-3-(morfolinokarbonyyli)-propionyyli]-L-histidyyli]amino-2-hydroksi-4-fenyyliivoihappo-metyyliesteri

MS (FAS); 656 ($M^+ + 1$)

IR $\text{KBr}_{\text{max}} \text{cm}^{-1}$: 1748, 1646, 1116

Esimerkki 39

(2RS,3S)-3-[N-[4-(p-fluorifenoksi)-2-(1-naftyyylimetyyli)-butyryyli]-L-histidyyli]amino-2-hydroksi-4-sykloheksyyli-voihappo-isopropyyliesteri

(a) N-[4-(p-fluorifenoksi)-2-(1-naftyyylimetyyli)butyryyli]-L-histidiini-metyyliesteri

20 ml dimetyyliformamidia lisättiin seokseen, jossa oli 1,5 g 4-(p-fluorifenoksi)-2-(1-naftyyylimetyyli)voihappoa, 0,6 g 1-hydroksibentsotriatsolia ja 1,1 g L-histidiini 2HCl-suolaa, ja seos neutraloitiin 1,3 ml:lla trietyyliamiinia. Seokseen lisättiin 1,0 g N,N'-disykloheksyylikarbodi-imidiä, minkä jälkeen sitä sekoitettiin yön yli huoneen lämpötilassa. Liukenematon aines poistettiin ja dimetyyliformamidi poistettiin tislamalla alipaineessa. Jäännökseen lisättiin 100 ml metyleenikloridia ja seos pestiin kyllästetyllä vesipitoiselle natriumvetykarbonaatilla ja vedellä. Orgaaninen kerros kuivattiin vedettömällä magnesiumsulfaatilla ja tämän jälkeen pylväskromatografoitiin puhdistamista varten silikageelillä. Saatiin 1,7 g haluttua yhdistettä valkoisena jauheena.

Sulamispiste: 65 - 69°C

IR (cm⁻¹): 1746, 1656, 1508, 1250

MS: 490 (M⁺+1)

(b) N-[4-(p-fluorifenoksi)-2-(1-naftyyylimetyyli)butyryyli]-L-histidiinihydratsidi

1,7 g edellä (a) saatua N-[4-(p-fluorifenoksi)-2-(1-naftyyylimetyyli)butyryyli]-L-histidiiniä liuotettiin 40 ml:aan metanolia, lisättiin 0,6 ml hydratsiinihydraattia ja sen jälkeen seosta sekoitettiin yön yli huoneen lämpötilassa. Reaktioliuos väkevöitiin alipaineessa, jäännökseen lisättiin 100 ml etyyliasetaatia ja sen jälkeen seos pestiin vedellä, kuivattiin magnesiumsulfaatilla ja väkevöitiin alipaineessa, jolloin saatiin haluttu tuote (1,5 g) valkoisena jauheena.

Sulamispiste: 87 - 91°C

IS (cm⁻¹): 3292, 1654, 1508, 1250

(c) (2RS,3S)-3-[N-[4-(p-fluorifenoksi)-2-(1-naftyyylimetyyli)-butyryyli]-L-histidyyli]amino-2-hydroksi-4-sykloheksyyli-voihappo-isopropyyliesteri

489 mg N-[(p-fluorifenoksi)-2-(1-naftyyylimetyyli)butyryyli]-L-histidiini-hydratsidia liuotettiin 18 ml:aan dimetyyliformamidia, tähän lisättiin -40°C:ssa 0,84 ml 4N HCl-dioksaania ja sen jälkeen 0,2 ml isoamyylinitriittiä, minkä jälkeen seosta sekoitettiin 30 minuuttia -20 - -30°C:ssa. Reaktioseos jäähdytettiin -40°C:een, siihen lisättiin 0,34 ml N-metyylimorfoliinia ja sen jälkeen 243 mg (2RS,3S)-3-amino-2-hydroksi-4-sykloheksyyli-voihappo-isopropyyliesteriä, minkä jälkeen reaktioseos kaadettiin 100 ml:aan jäävettä, uutettiin metyleenikloridilla ja pestiin kyllästetyllä natriumvetykarbonaatin vesiliuoksella ja vedellä ja kuivattiin vedettömällä magnesiumsulfaatilla. Tämän jälkeen puhdistettiin pylväskromatografoimalla silikaageelillä. Saatiin 300 mg haluttua yhdistettä valkoisena jauheena (Rf 0,52) (300 mg).

Rf-arvo: ohutlevykromatografia (Merck, precoat plate silica gel 60F₂₅₄) eluointiliuoksena (kloroformi-metanoli=5:1).

Esimerkki 40

(2RS,3S)-3-[N-[2-(1-naftyyylimetyyli)-3-morfolinokarbonyyli]-propionyyli]-L-histidyyli]amino-2-hydroksi-4-sykloheksyyli-voihappo-isopropyyliesteri

480 mg N-[(2-(1-naftyyylimetyyli)-3-morfolinokarbonyyli)-propionyyli]-L-histidiini-hydratsidia liuotettiin 13 ml:aan dimetyyliformamidia, tähän lisättiin -20°C:ssa 0,8 ml 4N HCl-dioksaania ja 0,17 ml isoamyylinitriittiä, minkä jälkeen seosta sekoitettiin 30 minuuttia. Reaktioseos jäähdytettiin -30°C:een ja neutraloitiin trietyyliamiinilla, jolloin saatiin N-[2-(1-naftyyylimetyyli)-3-(morfolinokarbonyyli)propionyyli]-

L-histidiiniatsidin liuos. Tämä atsidiliuos lisättiin tipotain ja näissä jäähdyttäen liuokseen, joka sisälsi 243 mg (2RS,3S)-3-amino-2-hydroksi-4-sykloheksyyliivohappo-isopropyyliesteriä 25 ml:ssa dimetyyliformamidia, ja seosta sekoitettiin yön yli 4°C:ssa. Reaktioseokseen lisättiin kyllästettyä vesipitoista natriumvetykarbonaattia ja seos uutettiin etyyliasetaatilla. Orgaaninen kerros pestiin kyllästetyllä vesipitoisella natriumkloridilla ja kuivattiin vedettömällä natriumsulfaatilla. Liuotin poistettiin tislamalla alipaineessa. Jäännös puhdistettiin pylväskromatografoimalla silikageelillä eluoiden kloroformin ja metanolin (95:5) seoksella. Näin saatiin 350 mg haluttua yhdistettä värittömänä jauheena ($R_f=0,34$) (350 mg).
Sulamispiste: 103 - 107°C
MS (FAB): 690 (M^++1)

Esimerkki 41

(2RS,3S)-3-[N-[2-(1-naftyyylimetyyli)-3-morfolinokarbonyyli]-propionyyli]-L-histidyyli]amino-2-hydroksi-4-sykloheksyyliivohappo-metyyliesteri

Reaktio suoritettiin esimerkin 40 mukaisella tavalla käyttämällä N-[2-(1-naftyyylimetyyli)-3-(morfolinokarbonyyli)-propionyyli]-L-histidiinihydratsidia (480 mg) ja 243 mg (2RS,3S)-3-amino-2-hydroksi-4-sykloheksyyliivohappo-metyyliesteriä. Tuote puhdistettiin pylväskromatograafisesti silikageelillä (eluintiliuos: kloroformi-metanolin=95:5), jolloin saatiin 150 mg haluttua yhdistettä värittömänä jauheena ($R_f=0,64$).
Sulamispiste: 83 - 87°C
MS (FAB): 662 (M^++1)

Esimerkki 42

N-(2-bentsyyli-3-fenyylipropionyyli)-L-histidyyli-(2RS,3S)-3-amino-2-hydroksi-4-sykloheksyyliivohappo-isopropyyliesteri

(a) N-tert-butoksikarbonyyli-L-histidyyli-(2RS,3S)-3-amino-2-hydroksi-4-sykloheksyylivoihappo-isopropyyliesteri

2,44 g (2RS,3S)-3-amino-2-hydroksi-4-sykloheksyylivoihappo-isopropyyliesteriä ja 2,75 g N-tert-butoksikarbonyyli-L-histidiiniä liuotettiin 130 ml:aan dimetyyliformamidia. Tähän li-sättiin jäissä jäähdyttäen 1,85 g syanofosforihappodietyyli-esteriä ja 2,17 g trietyyliamiinia, minkä jälkeen seosta sekoitettiin 30 minuuttia jäissä jäähdyttäen ja tämän jälkeen huoneen lämpötilassa 4 tuntia. Liuotin poistettiin tislaamalla alipaineessa ja jäännökseen lisättiin vettä. Seos uutettiin etyyliasetaatilla. Orgaaninen kerros pestiin 10-prosenttisella vesipitoisella sitruunahapolla, natriumvetykarbonaatin kylläs-tetyllä vesiliuoksella ja natriumkloridin kyllästetyllä vesi-liuoksella ja kuivattiin vedettömällä natriumsulfaatilla. Liuotin poistettiin tislaamalla alipaineessa. Jäännös puhdis-tettiin pylväskromatografoimalla (silikageeli) eluoimalla kloroformin ja metanolin (97:3) seoksella, jolloin saatiin haluttu yhdiste jauheena (700 mg).

NMR (CDCl₃) δ (ppm): 0,6-2,0 (m, 33H), 2,9-3,1 (m, 1H),
4,,08 (d, 1H, J=3,1Hz), 4,1-4,6 (m, 1H),
4,9-5,2 (m, 1H), 5,6-5,9 (m, 1H),
6,84 (s, 1H), 7,56 (s, 1H)

MS: 480 (M⁺)

(b) N-(2-bentsyyli-3-fenyylipropionyyli)-L-histidyyli-(2RS,3S)-3-amino-2-hydroksi-4-sykloheksyylivoihappo-isopropyyliesteri

120 mg N-tert-butoksikarbonyyli-L-histidyyli-(2RS,3S)-3-amino-2-hydroksi-4-sykloheksyylivoihappo-isopropyyliesteriä liuotet-tiin 60 ml:aan 4N HCl-dioksaania ja seosta sekoitettiin 40 mi-nuuttia huoneen lämpötilassa. Liuotin poistettiin tislaamalla alipaineessa kuiviin ja jäännökseen lisättiin 60 mg 2-bent-syyli-3-fenyylipropionihappoa. Tämän jälkeen seos liuotettiin 3 ml:aan dimetyyliformamidia ja lisättiin jäissä jäähdyttäen 41 mg syanofosforihappodietyyliesteriä ja tämän jälkeen tipot-

tain 53 mg trietyyliamiinia. Seosta sekoitettiin 30 minuuttia jäissä jäähdyttäen ja sen jälkeen yön yli huoneen lämpötilassa. Liuotin poistettiin tislamalla ja jäännökseen lisättiin vettä. Saatu seos uutettiin etyyliasetaatilla. Orgaaninen kerros pestiin 5-prosenttisella suolahapolla, natriumvetykarbonaatin kyllästetyllä vesiliuoksella ja natriumkloridin kyllästetyllä vesiliuoksella ja kuivattiin vedettömällä magnesiumsulfaatilla. Liuotin poistettiin tislamalla alipaineessa. Jäännös puhdistettiin pylväskromatograafisesti (silikageeli) eluoimalla kloroformin ja metanolin (95:5) seoksella, jolloin saatiin 70 mg haluttua yhdistettä värittömänä jauheena ($R_f=0,61$).

Sulamispiste: 91 - 94°C

MS (FAB): 603 (M^++1)

Esimerkki 43

Esimerkin 1 mukaisesti saatiin (3S)-3-(N-t-butoksykarbonyyli-L-fenyylialanyyli-L-histidyyliamino)-5-metyyli-1-nitro-2-heksanoli

Esimerkit 44 - 51

Esimerkin 8 mukaisesti valmistettiin seuraavat yhdisteet.

(3S)-4-sykloheksyyli-3-[[N-[1,4-diokso-4-morfolino-2-(1-naftyyliimetyyli)butyyli]-L-histidyyli]amino]-1-(2-tiatsolyyli-tio)-2-butanoli

(3S)-4-sykloheksyyli-3-[[N-[1,4-diokso-4-morfolino-2-(1-naftyyliimetyyli)butyyli]-L-histidyyli]amino]-1-[(5-metyyli-1,3,4-tiadiatsol2-yyli)tio]-2-butanoli

(3S)-4-sykloheksyyli-3-[[N-[1,4-diokso-4-morfolino-2-(1-naftyyliimetyyli)butyyli]-L-histidyyli]amino]-1-(2-pyrimidinyyli-tio)-2-butanoli

(3S)-4-sykloheksyyli-3-[[N-[1,4-diokso-4-morfolino-2-(1-naftyyylimettyyli)butyyli]-L-histidyyli]amino]-1-(1,2,3-tiadiatsol-5-yyli)-2-butanoli

(3S)-sykloheksyyli-3-[[N-[1,4-dioksi-2-(1-naftyyylimettyyli)-4-(3-tienyyli)butyyli]-L-histidyyli]amino]-1-(1-mettyyli-5-tetratsolyyli)-2-butanoli

(3S)-4-sykloheksyyli-3-[[N-[(1,4-diokso-4-morfolino)-2-(1-naftyyli)butyyli]-L-histidyyli]amino]-1-[(1-etyyli-5-tetratsolyyli)tio]-2-butanoli

(3S)-4-sykloheksyyli-3-[[N-[(1,4-diokso-4-morfolino)-2-(1-naftyyylimettyyli)butyyli]-L-histidyyli]amino]-1-[(1-mettyyli-5-tetratsolyyli)sulfonyyli]-2-butanoli

(3S)-4-sykloheksyyli-3-[[N-[(1,4-diokso-4-morfolino)-2-(1-naftyyylimettyyli)butyyli]-L-histidyyli]amino]-1-nitro-2-butanoli

Esimerkit 52 - 54

Esimerkin 9 mukaisesti valmistettiin seuraavat yhdisteet.

(3S)-1-(2-bentstiatsolyyli)-3-[(N-t-butoksikarbonyyli-L-fenyyli)amino]-4-sykloheksyyli-2-butanoli

(3S)-3-[(N-t-butoksikarbonyyli-L-fenyyli)amino]-4-sykloheksyyli-1-[(5-hydroksimettyyli-1,3,4-tiadiatsol-2-yyli)tio]-2-butanoli

(3S)-3-[(N-butoksikarbonyyli-L-fenyyli)amino]-4-sykloheksyyli-1-nitro-2-butanoli

Esimerkki 55

(3S)-3-[N-(t-butoksikarbonyyli-1-fenyyli-alanyyli-L-histidyyli)-N-metyyli]amino-4-sykloheksyyli-2-hydroksibutanonihappo-isopropyyliesteri

Esimerkki 56

(3S)-3-[[N-[3-(morfolino)karbonyyli]-2-(1-naftyyli-metyyli)-propionyyli]-L-histidyyli]-N-metyyli]amino-4-sykloheksyyli-2-hydroksivoihappo-isopropyyliesteri

Esimerkki 57

Isopropyyli (3S)-3-(t-butylioksikarbonyyli-L-fenyyli-alanyyli-L-histidyyli)amino-2-sykloheksyyli-2-hydroksibutyratti

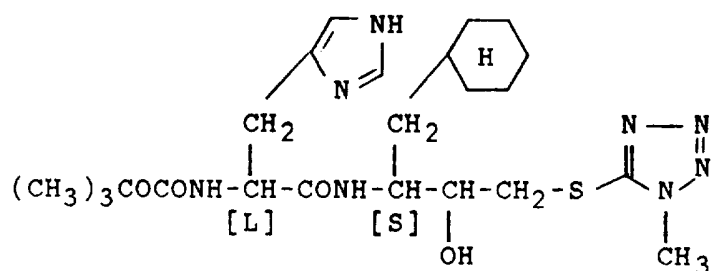
0,48 g isopropyyli (3S)-3-(t-butylioksikarbonyyli-L-histidyyli)-amino-2-sykloheksyyli-2-hydroksibutyrattia liuotettiin 10 ml:aan 4N HCl-dioksaania. Liuosta sekoitettiin huoneen lämpötilassa 1 tunti, minkä jälkeen liuotin poistettiin tislamalla. Jäännös liuotettiin 4 ml:aan dimetyyli-formamidia. Liuos jäähdytettiin jäällä, minkä jälkeen liuokseen lisättiin peräkkäin 0,52 ml trietyyliamiinia, 0,29 g t-butylioksikarbonyyli-fenyyli-alaniinia ja 0,26 g difenyylifosfatidyyliatsidia. Seosta sekoitettiin huoneen lämpötilassa, minkä jälkeen siihen lisättiin 30 ml kyllästettyä vesipitoista natriumvetykarbonaattia ja saatu orgaaninen kerros pestiin 30 ml:lla vettä, kuivattiin vedettömällä natriumsulfaatilla ja liuotin poistettiin tislamalla. Jäännös puhdistettiin pylväskromatografoimalla silikageelillä (CHCl_3 :metanoli=100:1). Tuote kiteytettiin uudelleen eetteri-n-heksaanista, jolloin saatiin haluttu yhdiste valkoisena jauheena (505 mg).

Rf: 0,33 (kloroformi:metanoli=10:1)

MS (FAB): 628 ($\text{M}^+ + 1$)

IR (KBr) (cm^{-1}): 3432, 2936, 1724, 1662

Vertailuesimerkki 57



(2RS,3S)-3-N-[(N^α-1-butoksykarbonyyli-L-histidyyli)amino]-4-sykloheksyyli-1-(1-metyyli-5-tetratsolyylitio)-2-butanoli

15 ml 4N-HCl/dioksaania lisättiin 3-N-t-butoksykarbonyyli-amino-4-sykloheksyyli-1-(1-metyyli-5-tetratsolyylitio)-2-butanoliin (1 g; 2,6 millimoolia). Seosta sekoitettiin huoneen lämpötilassa 1 tunti, minkä jälkeen se väkevöitiin alipaineessa kuiviin. Jäännökseen lisättiin 663 mg N-t-butoksykarbonyyli-L-histidiiniä ja 350 mg 1-hydroksibentsotriatsolia ja 20 ml dimetyyliformamidia. Seosta sekoitettiin jäissä jäähdyttäen, minkä jälkeen siihen lisättiin 0,37 ml trietyyliamiinia ja 600 mg N,N'-disykloheksyylikarbodi-imidiä ja sekoitettiin huoneen lämpötilassa yön yli. Liukenematon aines poistettiin suodattamalla. Lisättiin 100 ml etyyliasetaattia, minkä jälkeen seos pestiin vesipitoisella natriumvetykarbonaatilla ja vedellä, kuivattiin magnesiumsulfaatilla ja väkevöitiin. Jäännökseen lisättiin eetteri-n-heksaania, jolloin saatiin 520 mg haluttua yhdistettä valkoisena jauheena.

R_f=0,45 (kloroformi:metanoli=5:1)

MS (m/z): 523 (M⁺+1), 423

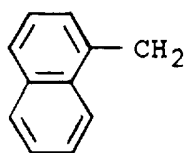
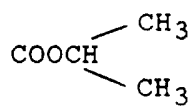
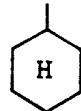
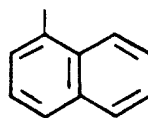
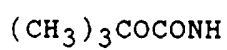
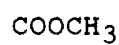
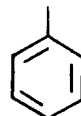
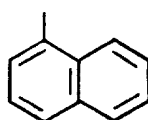
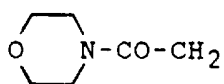
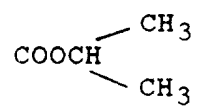
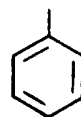
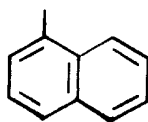
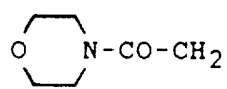
IR (KBr) cm⁻¹: 3364, 2936, 1698, 1646, 1526, 1172

Esimerkki 58

Esimerkin 33 mukaisesti saatiin (2RS,3S)-3-[N-[2-(1-naftyyli-metyyli)-3-morfolinokarbonyyli]propionyyli]-L-histidyyli]amino-5,5-dimetyyli-2-hydroksiheksaanihappo-isopropyyliesteri. Sulamispiste: 101 - 104°C

(Yhteenvedo valmistusesimerkeistä)

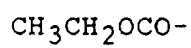
R_1	R_2	R_3	R_4



"

"

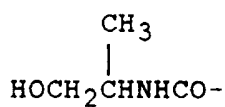
"



"

"

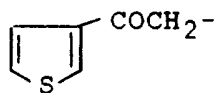
"



"

"

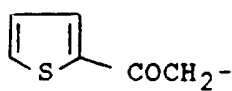
"



"

"

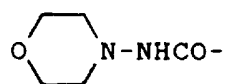
"



"

"

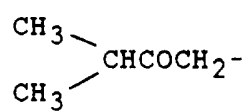
"



"

"

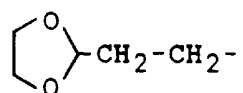
"



"

"

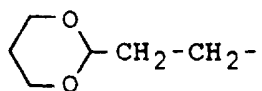
"



"

"

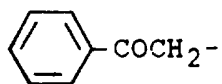
"



"

"

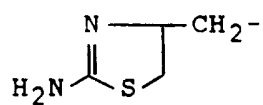
"



"

"

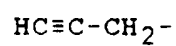
"



"

"

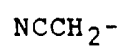
"



"

"

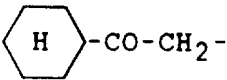
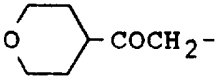
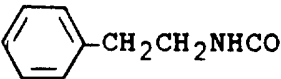
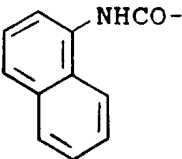
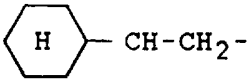
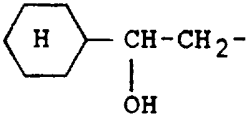
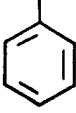
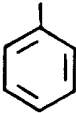
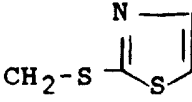
"

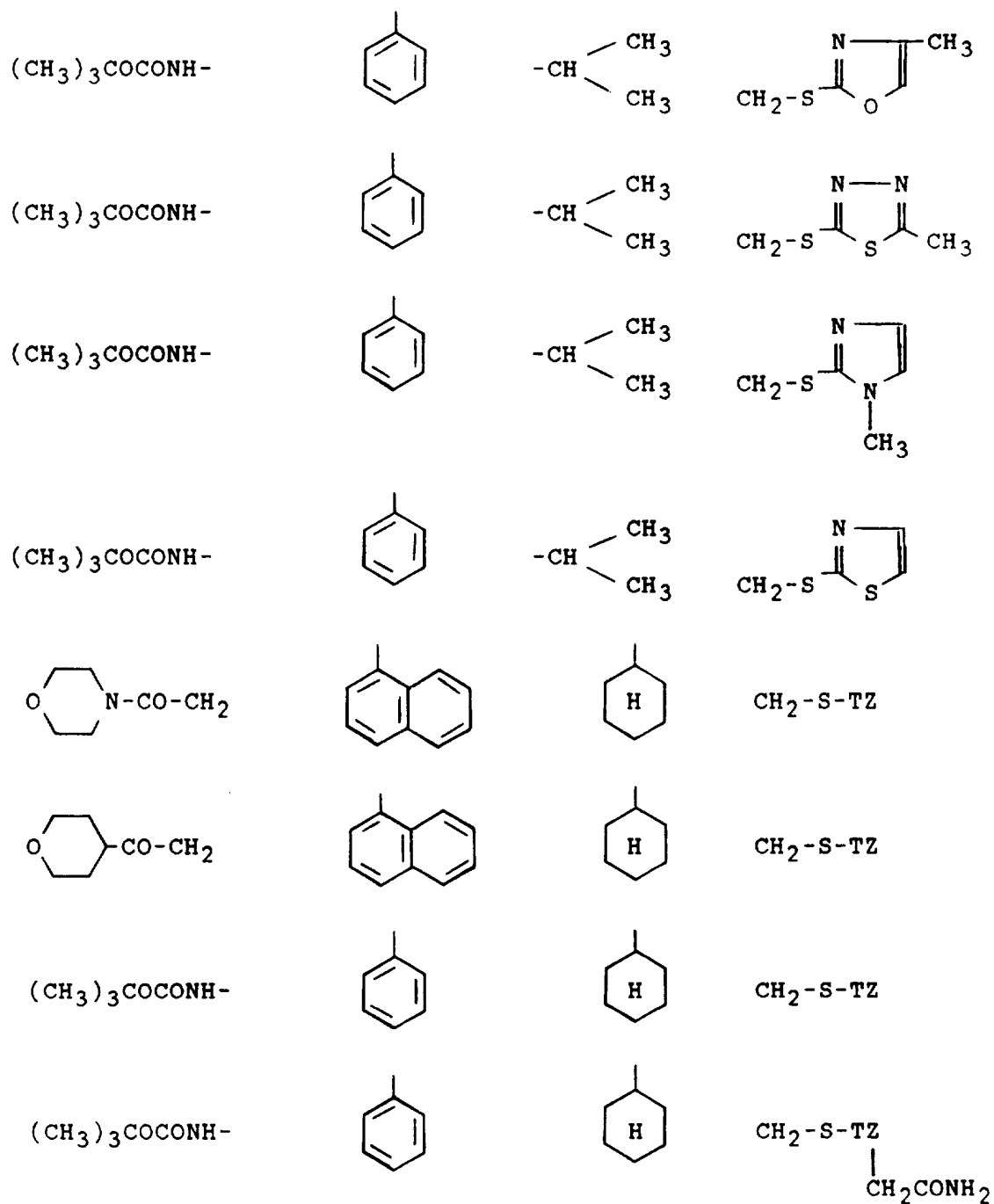


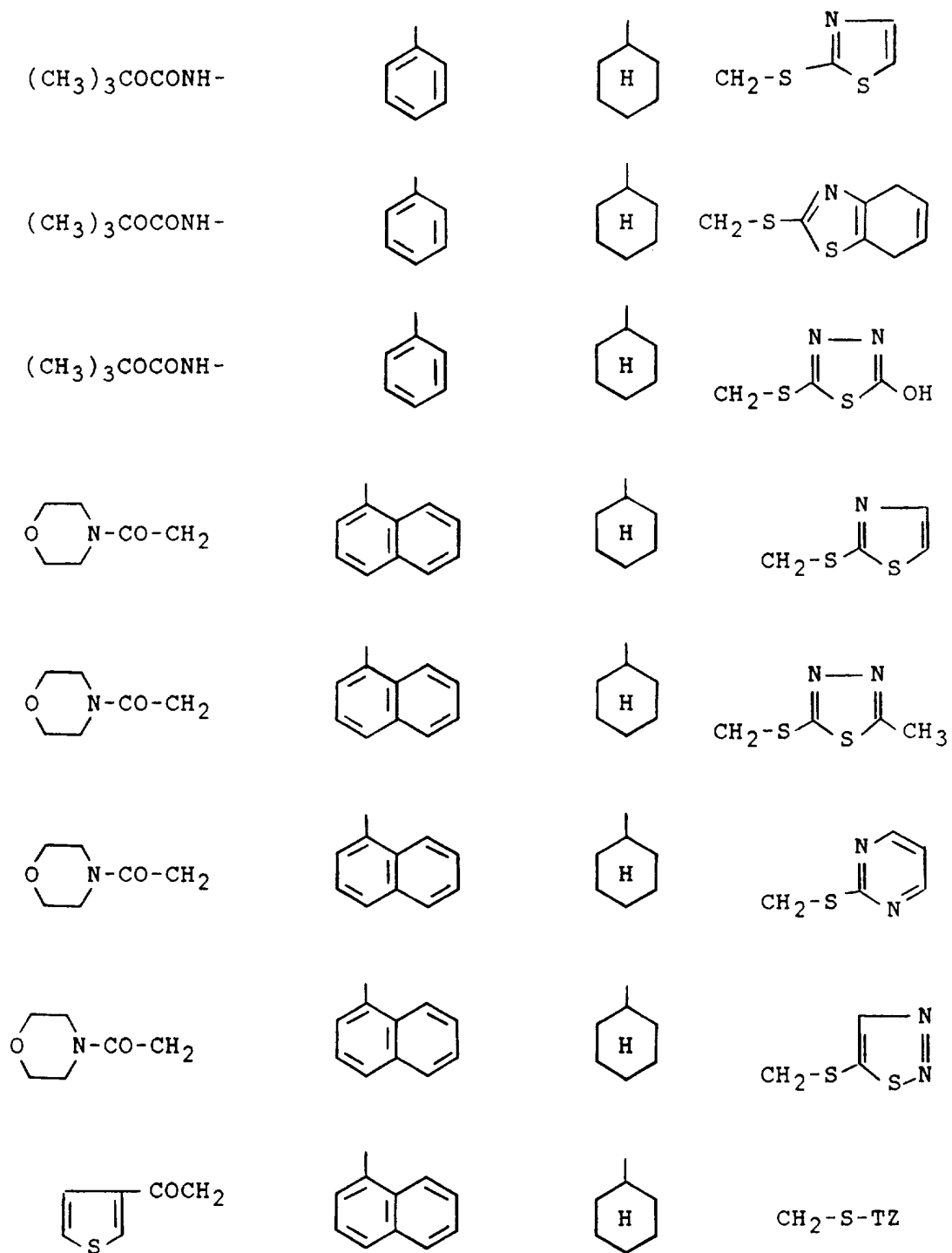
"

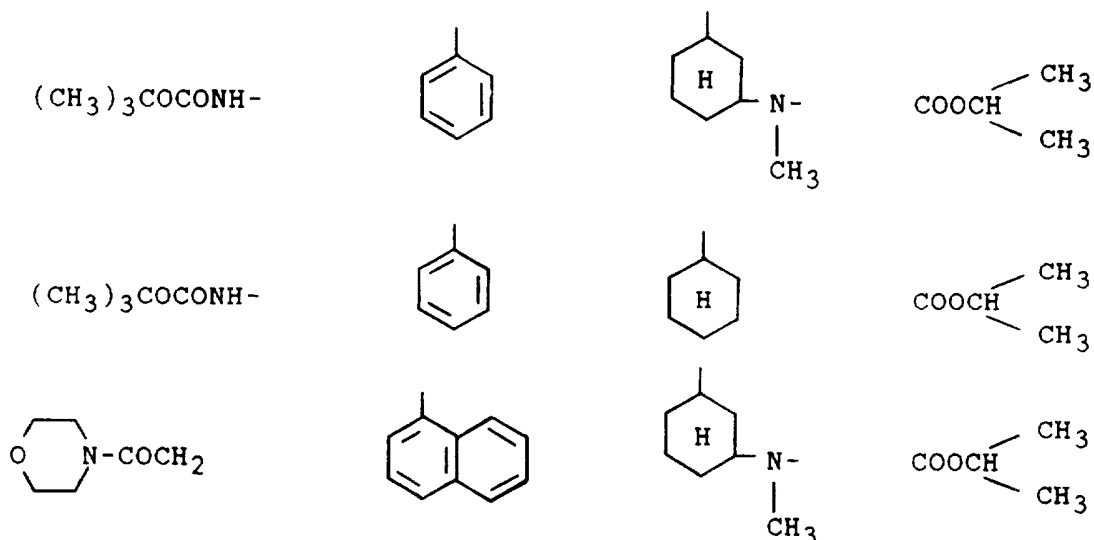
"

"

	"	"	"
	"	"	"
	"	"	"
	"	"	"
	"	"	"
	"	"	"
$(\text{CH}_3)_3\text{COCONH}-$		$-\text{CH} \begin{cases} \text{CH}_3 \\ \text{CH}_3 \end{cases}$	$\text{CH}_2-\text{S}-\text{TZ}$
$(\text{CH}_3)_3\text{COCONH}-$		$-\text{CH} \begin{cases} \text{CH}_3 \\ \text{CH}_3 \end{cases}$	







Edellä olevan esimerkin 55 yhdiste valmistettiin seuraavasti:

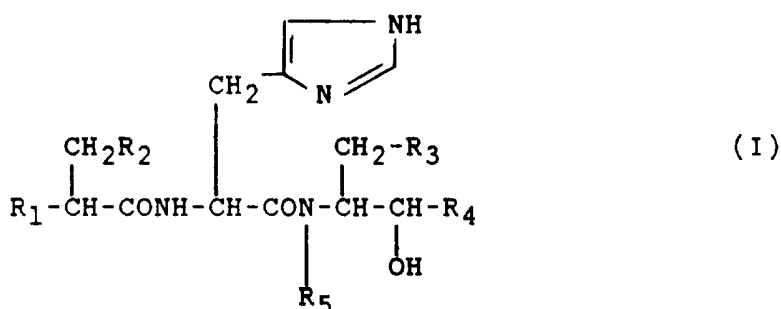
0,21 g t-butylioksikarbonyyli-L-fenyylialanyyli-L-histidyylihydratsidia liuotettiin 3 ml:aan dimetyyliformamidia. Seos jäähdytettiin -60°C :een, siihen lisättiin 0,43 ml 4H-HCl/1,4-dioksaania ja 0,10 ml isoamylinitriittiä, minkä jälkeen seosta sekoitettiin 30 minuuttia -20°C :ssa. Reaktioseos jäähdytettiin -60°C :een, tähän lisättiin peräkkäin 0,30 ml N-metyylimorfoliinia ja 5 ml dimetyyliformamidiliuosta, joka sisälsi (3S)-4-sykloheksyyli-2-hydroksi-3-metyyliaminobutaanihappo-isopropyyliesterin HCl-suolaa, ja seosta sekoitettiin 1 päivä 4°C :ssa. Reaktioseokseen lisättiin 50 ml natriumvetykarbonaatin kyllästettyä vesiliuosta ja seos uutettiin etyyliasetaatilla (100 ml x 3). Orgaaninen liuos pestiin peräkkäin 50 ml:lla vettä ja natriumkloridin kyllästetyllä vesiliuoksella ja sen jälkeen kuivattiin vedettömällä natriumsulfaatilla ja liuotin poistettiin tislamalla. Jäännös puhdistettiin pylväskromatograafisesti (silikageeli) (kloroformi:metanoli=100:1 - 10:1). Käsittelemällä eetteri-n-heksaanilla saatiin haluttu yhdiste valkoisena jauheena (0,12 g).
Rf: 0,39 (kloroformi:metanoli=10:1)

Edellä olevan esimerkin 56 mukainen yhdiste saatiin seruaavasti:

100 mg (3S)-3-[N-(t-butylioksikarbonyyli-L-histidyyli)-N-metyyli]amino-4-sykloheksyyli-2-hydroksibutaanihappo-isopropyliesteriä liuotettiin 3 ml:aan 4N-HCl/dioksaania ja liuosta sekoitettiin 1 tunti huoneen lämpötilassa. Liuotin poistettiin tislamalla ja jäännös liuotettiin 3 ml:aan dimetyyliformamidia. Liuos jäähdytettiin jäällä, siihen lisättiin 0,11 ml trietyyliamiinia, 76 mg 3-(morfolinokarbonyyli)-2-(1-naftyyli-metyyli)propionihappoa ja 0,05 ml difenyylifosfatidyyliatsidia, minkä jälkeen seosta sekoitettiin 1 päivä huoneen lämpötilassa. Reaktioseokseen lisättiin 30 ml natriumvetykarbonaatin kyllästettyä vesiliuosta ja seos uutettiin etyyliasetaatilla (50 ml x 3) ja orgaaninen kerros pestiin 30 ml:lla vettä, kuivattiin vedettömällä natriumsulfaatilla ja sen jälkeen liuotin poistettiin tislamalla. Jäännös puhdistettiin pylväskromatograafisesti silikageelillä (kloroformi:metanoli=100:1 - 20:1). Käsittelemällä eetter-n-heksaanilla saatiin 50 mg haluttua yhdistettä valkoisena jauheena. Rf: 0,44 (kloroformi:metanoli=10:1).

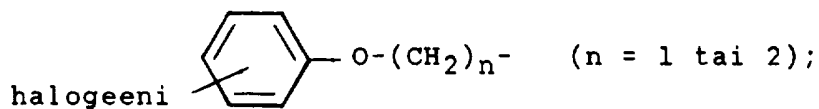
Patenttivaatimukset

1. Menetelmä valmistaa reniini-inhibiittoreina käytettäviä 2-(L-alanyyli-L-histidyyliamino)-butanoli-johdannaisia, joiden kaava I on

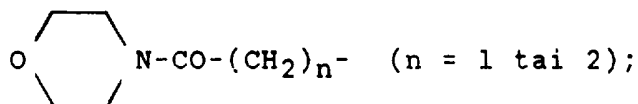


jossa R₁ on

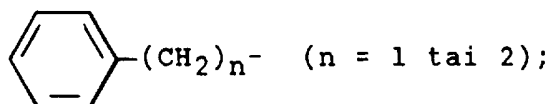
1)



2)

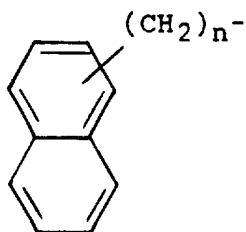


3)



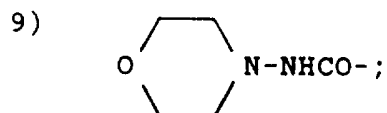
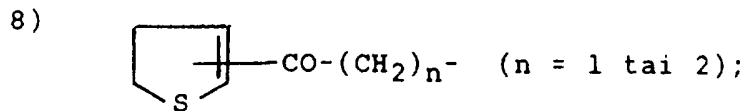
4) suoraketjuinen tai haarautunut C₁-C₆ alkoksikarbonyyliami-
no;

5)

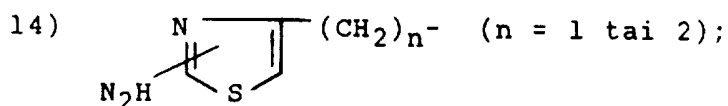
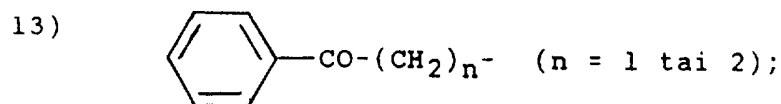
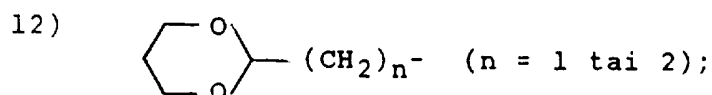
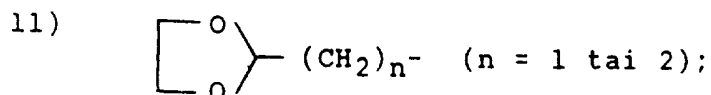


6) suoraketjuinen tai haarautunut C₁-C₆ alkoksikarbonyyli;

7) -CONH- suoraketjuinen tai haarautunut C₁-C₆ alkyleeni-OH;



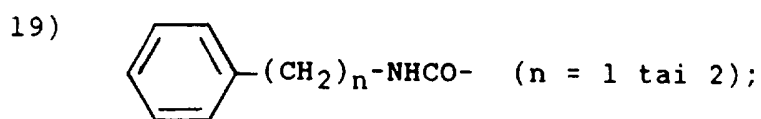
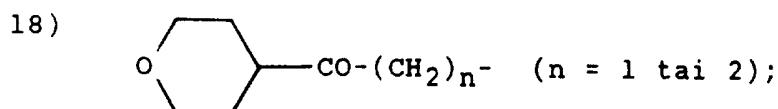
10) suoraketjuinen tai haarautunut $\text{C}_1\text{-C}_6$ alkyylikarbonyyli-
 $(\text{CH}_2)_n^-$ ($n = 1$ tai 2);



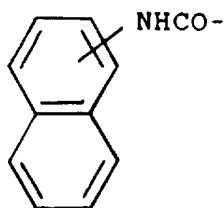
15) $\text{C}_1\text{-C}_6$ alkynyyli- $(\text{CH}_2)_n^-$ ($n = 1$ tai 2);

16) $\text{NC}-(\text{CH}_2)_n^-$ ($n = 1$ tai 2);

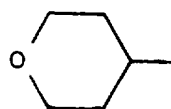
17) $\text{C}_3\text{-C}_7$ sykloalkyyli- $\text{CO}-(\text{CH}_2)_n^-$ ($n = 1$ tai 2);



20)

21) $\text{C}_3\text{-C}_7$ sykloalkylideeni- $\text{C}_1\text{-C}_6$ alkynyyli;22) $\text{C}_3\text{-C}_7$ sykloalkyyli- $\text{C}_1\text{-C}_6$ alkyleeni, joka voi olla substituoitu hydroksilla; tai

23)

 $\text{C}_1\text{-C}_6$ alkyleeni, joka voi olla substituoitu hydroksilla; R_2 on

1) fenyyli; tai

2) naftyyli

 R_3 on1) suoraketjuinen tai haarautunut $\text{C}_1\text{-C}_6$ alkyyli;

2) sykloheksyyli; tai

3) fenyyli;

 R_4 on

1) nitrometyyli;

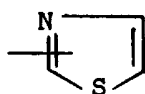
2) $-\text{COOR}^{\text{C}}$ (R^{C} on suoraketjuinen tai haarautunut $\text{C}_1\text{-C}_6$ alkyyli);

3) $-(\text{CH}_2)-\text{S}-\text{R}^d$

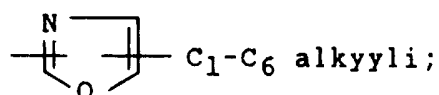
$\begin{array}{c} | \\ (\text{O})_n \end{array} \quad (n = 0, 1 \text{ tai } 2);$

R^d on tetratsolyyli, joka voi olla substituoitu alemmalla alkyyllilla, karbamoyyli-alempi alkyyllilla, tai tarkoittaa heterosyklistä ryhmää

a)

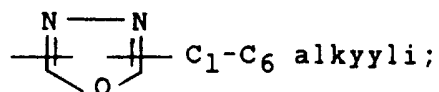


b)



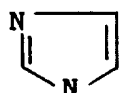
$\text{C}_1\text{-C}_6$ alkyyli;

c)



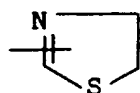
$\text{C}_1\text{-C}_6$ alkyyli;

d)

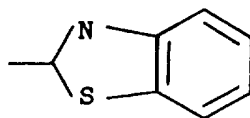


$\text{C}_1\text{-C}_6$ alkyyli;

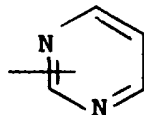
e)



f)

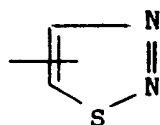


g)



; tai

h)



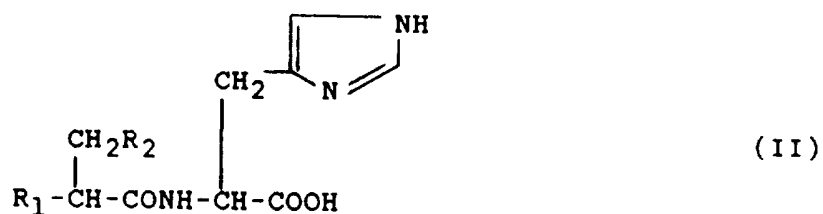
R_5 on

1) vety; tai

2) C_1-C_6 alkyyli,

t u n n e t t u siitä, että

a) yhdiste, jonka kaava II on



jossa

R_1 ja R_2 on edellä määritelty,

saatetaan reagoimaan yhdisteen tai sen C-terminaalisesti aktiivisen esterin kanssa, jonka kaava III on



jossa

R_3 , R_4 ja R_5 on edellä määritelty,

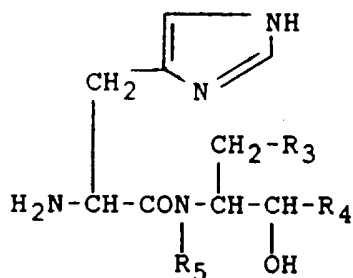
b) yhdiste, jonka kaava IV on



jossa

R_1 ja R_2 on edellä määritelty,

saatetaan reagoimaan yhdisteen tai sen C-terminaalisesti aktiivisen esterin kanssa, jonka kaava V on

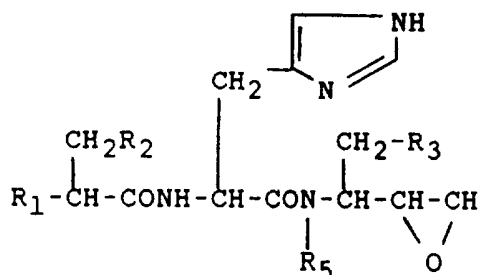


(V)

jossa

R_3 , R_4 ja R_5 on edellä määritelty,

c) yhdiste, jonka kaava VI on



(VI)

jossa

R_1 , R_2 , R_3 ja R_5 on edellä määritelty,

saatetaan reagoimeen yhdisteen kanssa, jonka kaava VII on

$$\text{R}^d-\text{SM}$$

(VII)

jossa

R^d on edellä määritelty ja M on vety tai alkalimetalliatomi

ja jolloin edellä olevan menetelmän mukaan saadusta yhdisteestä poistetaan tarvittaessa suojaryhmä.

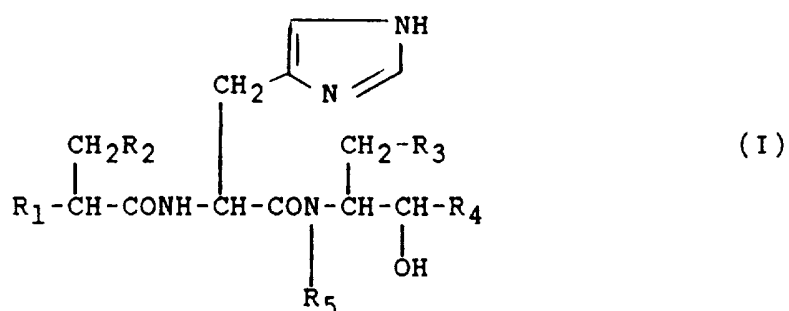
2. Patenttivaatimuksen 1 mukainen menetelmä, tunnettu siitä, että valmistetaan (2RS,3S)-3-[N-[2-(1-naftyyylimetyyli)-3-(morfolinokarbonyyli)propionyyli]-L-histidyyli]-amino-2-hydroksi-4-sykloheksyyliivohappo-isopropyyliesteri.

3. Patenttivaatimuksen 1 mukainen menetelmä, t u n n e t t u siitä, että valmistetaan (2RS,3S)-3-[N-[2-(1,4-diokso-4-morfolino-2-(1-naftyyylimetyyli)-3-(butyyli)-L-histidyyliamino)]-4-sykloheksyyli-1-(1-metyyli-5-tetratsolyylitio)]-2-butanoli.

4. Patenttivaatimuksen 1 mukainen menetelmä, t u n n e t t u siitä, että valmistetaan (2RS,3S)-3-[N-t-butoksikarbonyyli-L-fenyyli-alanyyli-L-histidyyliamino)-4-sykloheksyyli-1-(1-metyyli-5-tetratsolyylitio)]-2-butanoli.

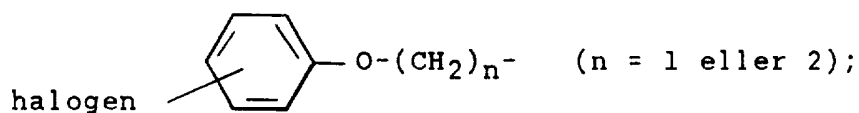
Patentkrav

1. Förfarande för framställning av som renin-inhibitorer använda 2-(L-alanyl-L-histidylamino)-butanol-derivat med formeln I

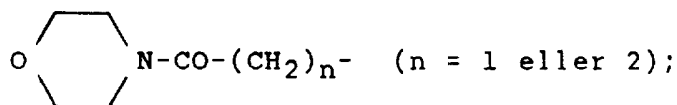


där R_1 är

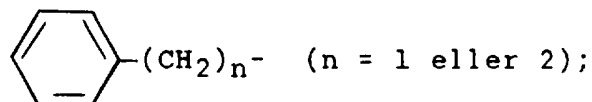
1)



2)

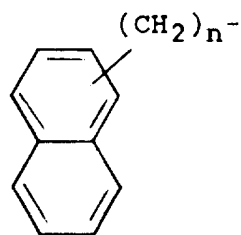


3)



4) rakkedjad eller förgrenad C_1 - C_6 alkoxikarbonylamino;

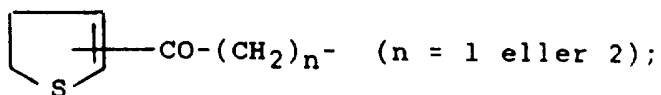
5)



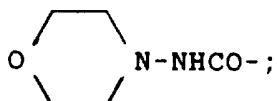
6) rakkedjad eller förgrenad C_1 - C_6 alkoxikarbonyl;

7) $-\text{CONH}-$ rakkedjad eller förgrenad C_1 - C_6 alkylen-OH;

8)

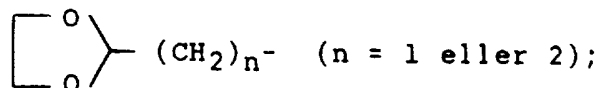


9)

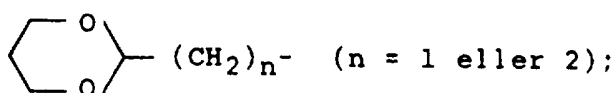


10) rakkedjad eller förgrenad $\text{C}_1\text{-C}_6$ alkylkarbonyl- $(\text{CH}_2)_n\text{---}$
($n = 1$ eller 2);

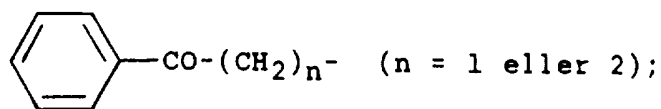
11)



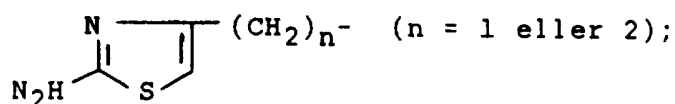
12)



13)



14)

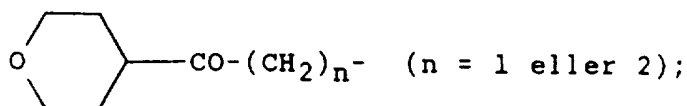


15) $\text{C}_1\text{-C}_6$ alkynyl- $(\text{CH}_2)_n\text{---}$ ($n = 1$ eller 2);

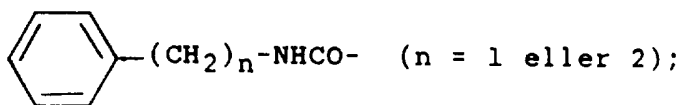
16) $\text{NC-(CH}_2\text{)}_n\text{---}$ ($n = 1$ eller 2);

17) $\text{C}_3\text{-C}_7$ cykloalkyl- $\text{CO-(CH}_2\text{)}_n\text{---}$ ($n = 1$ eller 2);

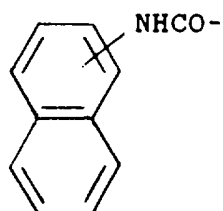
18)



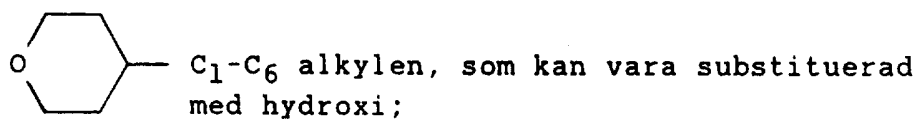
19)



20)

21) $\text{C}_3\text{-C}_7$ cykloalkyliden- $\text{C}_1\text{-C}_6$ alkynyl;22) $\text{C}_3\text{-C}_7$ cykloalkyl- $\text{C}_1\text{-C}_6$ alkylen, som kan vara substituerad med hydroxi; eller

23)

 R_2 är

1) fenyl; eller

2) naftyl

 R_3 är1) rakkedjad eller förgrenad $\text{C}_1\text{-C}_6$ alkyl;

2) cyklohexyl; eller

3) fenyl;

 R_4 är

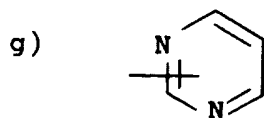
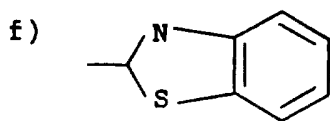
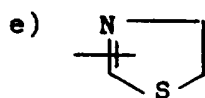
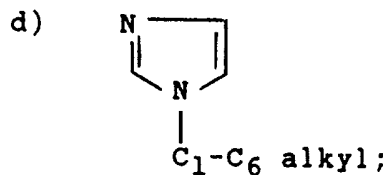
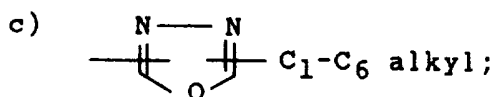
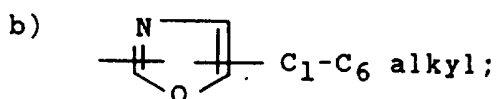
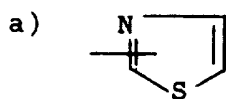
1) nitrometyl;

2) -COOR^c (R^c är rakkedjad eller förgrenad $\text{C}_1\text{-C}_6$ alkyl);

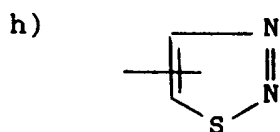
3) $-(\text{CH}_2)-\text{S}-\text{R}^d$

$(\text{O})_n$ ($n = 0, 1$ eller 2);

R^d är tetrazolyl, som kan vara substituerad med en lägre alkyl, karbamoyl-lägre alkyl, eller avser en heterosyklisk grupp



; eller



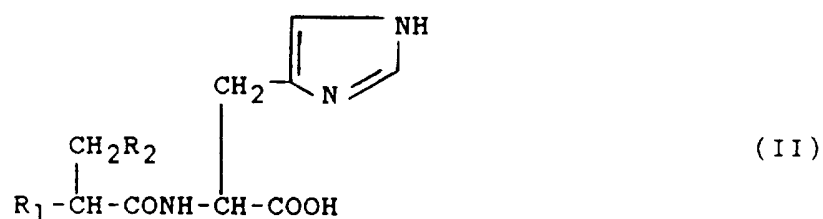
R_5 är

1) väte; eller

2) C_1-C_6 alkyl,

k ä n n e t e c k n a t därav, att

a) en förening med formeln II



där

R_1 och R_2 är ovan definierade,
omsätts med en förening eller dess C-terminalt aktiva ester,
med formeln III



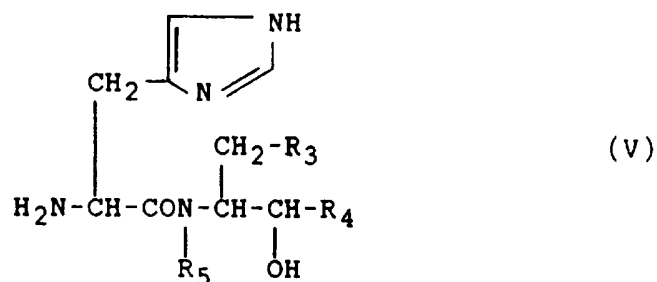
där

R_3 , R_4 och R_5 är ovan definierade,
b) en förening med formeln IV



där

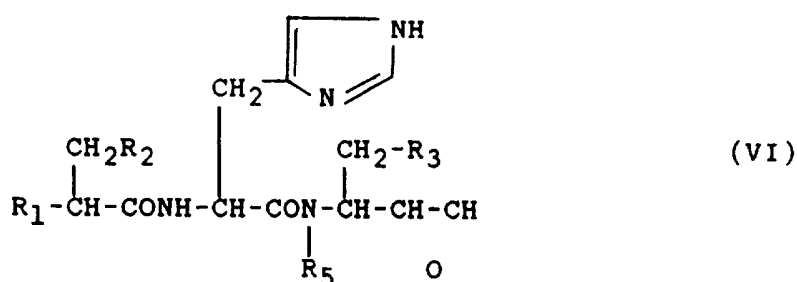
R_1 ja R_2 är ovan definierade,
omsätts med en föreningen eller dess C-terminalt aktiva ester,
med formeln V



där

R_3 , R_4 och R_5 är ovan definierade,

c) en förening med formeln VI



där

R_1 , R_2 , R_3 och R_5 är ovan definierade,
omsätts med en förening med formeln VII



där

R^d är ovan definierad och M är väte eller en alkalimetallatom
och varvid ur en enligt ovan nämnda förfaranden erhållen
förening vid behov avlägsnas skyddsgruppen.

2. Förfarande enligt patentkravet 1, k ä n n e t e c k n a t
därav, att (2RS,3S)-3-[N-[2-(1-naftylmetyl)-3-(morfolinokar-
bonyl)propionyl]-L-histidyl]-amino-2-hydroxi-4-cyklohexyl-
voisyra-isopropylester framställs.

3. Förfarande enligt patentkravet 1, k ä n n e t e c k n a t därav, att (2RS,3S)-3-[N-[2-(1,4-dioxo-4-morfolino-2-(1-naf-tylmetyl)-3-(butyl)-L-histidylamino)]-4-cyklohexyl-1-(1-metyl-5-tetrazolyltio)]-2-butanol framställs.

4. Förfarande enligt patentkravet 1, k ä n n e t e c k n a t därav, att (2RS,3S)-3-[N-t-butoxikarbonyl-L-fenylalanyl-L-histidylamino)-4-cyklohexyl-1-(1-metyl-5-tetrazolyltio)]-2-butanol framställs.