Octrooiraad

(10) A **Terinzagelegging** (11) **8000345**

**Nederland** (19) **NL**

(54) **Nieuwe trifluormethyl-oligopeptiden, werkwijze voor hun bereiding en hun toepassing in geneesmiddelen.**

(51) Int.Cl³.: C07C103/52.

(71) Aanvrager: DELALANDE S.A. te Courbevoie, Frankrijk.

(74) Gem.: Ir. H. Mathol c.s.
Octrooi- en Merkenbureau van Exter
Willem Witsenplein 3 & 4
2596 BK 's-Gravenhage.

(21) Aanvrage Nr. 8000345.

(22) Ingediend 18 januari 1980.

(32) Voorrang vanaf 19 januari 1979.

(33) Land van voorrang: Frankrijk (FR).

(31) Nummer van de voorrangsaanvrage: 7901410 .

(23) - -

(61) - - -

(62) - -

(43) Ter inzage gelegd 22 juli 1980.

De aan dit blad gehechte stukken zijn een afdruk van de oorspronkelijk ingediende beschrijving met conclusie(s) en eventuele tekening(en).

Aanvraagster : DELALANDE S.A., te COURBEVOIE, Frankrijk.

Korte aanduiding: Nieuwe trifluormethyl-oligopeptiden, werkwijze voor hun bereiding en hun toepassing in geneesmiddelen.

De uitvinding heeft betrekking op nieuwe trifluormethyl-oligopeptiden, een werkwijze voor hun bereiding en hun toepassing in geneesmiddelen.

Meer in het bijzonder bezitten deze nieuwe verbindingen de algemene formule 1 van het formuleblad, waarin -Y- of wel de groep -L-Ala-, in welk geval (R, n) een van de volgende betekenissen bezit: (isobutyl, 0), (cyclohexyl, 0), (fluor, 0), (N, N-diethylamino, 0), (H, 1), of wel een van de groepen -L-Pro-, -L-Phe-, -L-Val-, of -L-Leu- voorstelt, in welk geval n = 0 en R de isopropylgroep voorstelt.

Ter vereenvoudiging worden in het hiernavolgende de bovengenoemde groepen op de volgende wijze aangeduid: -Ala- ; -Pro- ; -Phe- ; -Val- ; -Leu- , waarbij de groepen -Lys-, -Ala-, -Pro-, -Phe- , -Val- en -Leu- de L-configuratie bezitten.

Tenslotte wordt opgemerkt, dat het symbool -Ala- de groep met formule 1a van het formuleblad, het symbool -Lys- de groep met formule 1b van het formuleblad, het symbool -Pro- de groep met formule 1c van het formuleblad, het symbool -Phe- de groep met formule 1d van het formuleblad, het symbool -Val- de groep met formule 1e van het formuleblad en het symbool -Leu- de groep met formule 1f van het formuleblad voorstelt.

De uitvinding heeft tevens betrekking op de additiezouten van de verbindingen met formule 1 met zuren en in het bijzonder anorganische zuren zoals zoutzuur.

Van de verbindingen met formule 1 en hun zouten zijn de voorkeursverbindingen diegene, waarin -Y- de groep -Ala- voorstelt en in het bijzonder diegene, waarin (R, n) de betekenissen (isobutyl, 0) en (fluor, 0) bezit.

Zoals reeds opgemerkt heeft de uitvinding tevens betrekking op een werkwijze voor de bereiding van de verbindingen met formule 1. Volgens deze werkwijze onderwerpt men verbindingen met formule 2 van het formuleblad, waarin Z de benzyloxycarbonylgroep voorstelt en het geheel (Y, n, R) een van de betekenissen (Ala, 0, isobutyl), (Ala, 0, cyclohexyl), (Ala, 0, fluor), (Ala, 0, N,N-diethylamino), (Ala, 1, H), (Pro, 0, isopropyl), (Phe, 0, isopropyl),

(Val, O, isopropyl), en (Leu, O, isopropyl) bezit, aan hydrogenolyse.

De hydrogenolysereaktie wordt in het bijzonder uitgevoerd in aanwezigheid van 10%'s palladium op koolstof en zoutzuur, in methanolische oplossing, waarbij het zoutzuur bij voorkeur aanwezig is in de vorm van een 1 N waterige oplossing.

De verbindingen met formule 2 zijn nieuwe verbindingen en kunnen op twee verschillende manieren bereid worden.

Volgens een eerste bereidingswijze worden de verbindingen met formule 2 verkregen door condensatie van de verbinding met formule 3 van het formuleblad, waarin Z dezelfde betekenis bezit als in formule 2, met verbindingen met formule 4 van het formuleblad, waarin het geheel (Y, n, R) dezelfde betekenis bezit als in formule 2, waarbij men deze condensatie bij voorkeur uitvoert in tetrahydrofuran in aanwezigheid van tetramethylguanidine en in het bijzonder bij een temperatuur omstreeks $0^{o}C$.

De verbinding met formule 3, die zelf verkregen wordt door condensatie, bijvoorbeeld in aanwezigheid van pyridine, in een mengsel van water en ethylacetaat en onder regeling van de pH van de oplossing op 4,5-5 met behulp van een 3N zoutzuuroplossing, van 7-hydroxy-N-ethylbenzisoxazolinium tetrafluorboraat met formule 5 van het formuleblad met de verbinding met formule 6 van het formuleblad, waarin Z nog steeds dezelfde betekenis bezit als in formule 2. De verbinding met formule 6 wordt verkregen door condensatie van N-ε-benzyloxycarbonyl-lysine met formule 6' van het formuleblad, waarin Z dezelfde betekenis bezit als in formule 2, met thioethyl-trifluoracetaat met formule 6", bij voorkeur bij kamertemperatuur en in een 1N waterige natriumhydroxyde-oplossing.

De verbindingen met formule 4 worden op hun beurt verkregen door verwijdering van de beschermende groep uit verbindingen met formule 7 van het formuleblad, waarin het geheel (Y, n, R) dezelfde betekenissen bezit als in formule 2 en BOC de tert.butyloxycarbonylgroep voorstelt, bij voorkeur met behulp van een oplossing van zoutzuur in azijnzuur.

Tenslotte worden de verbindingen met formule 7 verkregen door condensatie van de verbinding met formule 8 van het formuleblad

met verbindingen met formule 9 van het formuleblad, waarin het geheel (R', n) de betekenissen (isobutyl, 0), (cyclohexyl, 0), (fluor, 0), (N,N-diethylamino, 0) of (H, 1) bezit, en door condensatie van de verbinding met formule 10 van het formuleblad met verbindingen met formule 11 van het formuleblad, waarin Y' de groepen Pro, Phe, Val en Leu kan voorstellen, waarbij deze reakties bij voorkeur uitgevoerd worden volgens de methode van de gemengde anhydriden.

Volgens een tweede bereidingswijze worden de verbindingen met formule 2 verkregen door condensatie van de verbinding met formule 12 van het formuleblad, waarin Z de benzyloxycarbonylgroep voorstelt, met verbindingen met formule 9 van het formuleblad, en door condensatie van de verbinding met formule 10 van het formuleblad met verbindingen met formule 13 van het formuleblad, waarin Z dezelfde betekenissen bezit als in formule 12 en Y' een groep Pro, Phe, Val of Leu voorstelt, waarbij deze twee condensatiereakties bij voorkeur uitgevoerd worden onder dezelfde werkomstandigheden als voor de bereiding van de verbindingen met formule 2 door condensatie van de verbinding met formule 3 en de verbindingen met formule 4.

De verbinding met formule 12 en de verbindingen met formule 13 worden verkregen door condensatie van verbindingen met formule 14 van het formuleblad, waarin Z dezelfde betekenissen bezit als in formule 2 en Y een groep Ala, Pro, Phe, Val of Leu voorstelt, met de verbinding met formule 5 onder dezelfde werkomstandigheden als bij de bereiding van de verbindingen met formule 3.

Tenslotte worden de verbindingen met formule 14 verkregen door condensatie van verbindingen met formule 15 van het formuleblad, waarin Z en Y dezelfde betekenissen bezitten als in formule 14, met de verbinding met formule 6" onder dezelfde werkomstandigheden als bij de bereiding van de verbinding met formule 6.

De uitvinding zal nader toegelicht worden door de hierna volgende voorbeelden.

Voorbeeld I. Trifluoracetyl-lysyl-prolyl-para-isopropyl-anilide-chloorhydraat (formule 1)

Kodenummer: 60.

Men onderwerpt een oplossing van 0,257 g N-α-trifluoracetyl-N-ε-carbobenzoxy-lysyl-prolyl-p-isopropylanilide (formule 2)

(kodenummer 69, bereid in voorbeeld II) in 20 ml methanol en 0,5 ml 1N zoutzuur aan hydrogenolyse onder atmosferische druk en bij kamertemperatuur in aanwezigheid van 0,03 g 10%'s palladium op koolstof. Men filtreert, dampt het oplosmiddel af, neemt het residu op in benzeen en dampt opnieuw af. Men neemt het residu op in tetrahydrofuran, verdunt met ethylether en filtreert het gevormde neerslag af. Men verkrijgt 0,2 g van het gewenste produkt.

Opbrengst: 90%

Smeltpunt: 138°C

$\left[\alpha\right]_{546}^{25}$ : - 54°4 (C=1,DMF)

Ruwe formule : $C_{22}H_{32}ClF_3N_4O_3,H_2O$

Molecuulgewicht: 510,99

Elementair analyse

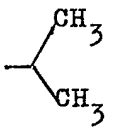
| | C | H | N |
|---|---|---|---|
| Berekend (%) | 51,71 | 6,71 | 10,97 |
| Gevonden (%) | 51,43 | 6,36 | 11,21 |

Op dezelfde wijze, doch uitgaande van de overeenkomstige reagentia, verkrijgt men de hierna in tabel A vermelde verbindingen met formule I.

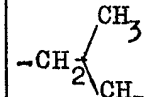
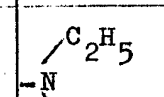
0008

Tabel A

Verbindingen met formule 1

| kode-nummer | R | n | -Y- | vorm | ruwe formule | molecuul-gewicht | smelt-punt (°C) | Op-brengst (%) | $[\alpha]_{546}^{25}$ | ELEMENTAIR-ANALYSE | | | |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| | | | | | | | | | | % | C | H | N |
| 60 |  | 0 | -Pro- | HCl+ $1H_2O$ | $C_{22}H_{32}ClF_3N_4O_3 + H_2O$ | 510,986 | 138 | 90 | - 54°4 (1,DMF) | Ber. | 51,71 | 6,71 | 10,97 |
| | | | | | | | | | | Gev. | 51,43 | 6,36 | 11,21 |
| 61 | " | " | -Phe- | HCl | $C_{26}H_{34}ClF_3N_4O_3$ | 543,03 | 180 | 87 | + 16°3 (1,MeOH) | Ber. | 57,51 | 6,31 | 10,32 |
| | | | | | | | | | | Gev. | 55,34 | 5,88 | 10,06 |
| 62 | " | " | -Val- | HCl + $\frac{4}{3}H_2O$ | $C_{22}H_{34}ClF_3N_4O_3 + 4/3\ H_2O$ | 519,007 | 190 | 92 | - 31°7 (1, DMF) | Ber. | 50,91 | 7,12 | 10,80 |
| | | | | | | | | | | Gev. | 50,83 | 6,60 | 14,13 |
| 63 | " | " | -Leu- | HCl + $\frac{4}{3}H_2O$ | $C_{22}H_{36}ClF_3N_4O_3 + 4/3\ H_2O$ | 533,034 | 132 | 92 | - 33°6 (1,DMF) | Ber. | 51,82 | 7,31 | 10,51 |
| | | | | | | | | | | Gev. | 51,75 | 6,84 | 10,75 |

Vervolg tabel A

| Kode-nr. | R | n | -Y- | Vorm | Ruwe formule | Molecuul-gewicht | Smelt-punt (°C) | Op-brengst (%) | $[\alpha]_{546}^{25}$ | ELEMENTAIR-ANALYSE | | | |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| | | | | | | | | | | % | C | H | N |
| 64 |  | 0 | -Ala- | HCl | $C_{21}H_{32}ClF_3N_4O_3$ | 480,959 | 124 | 85 | - 31°6 (1,1, DMF) | Ber. | 52,44 | 6,71 | 11,65 |
| | | | | | | | | | | Gev. | 50,63 | 6,39 | 11,38 |
| 65 |  | " | " | HCl + $\frac{1}{2}H_2O$ | $C_{23}H_{34}ClF_3N_4O_3 + \frac{1}{2}H_2O$ | 516,005 | 215 | 91 | - 30°7 (1,05,DMF) | Ber. | 53,53 | 6,84 | 10,86 |
| | | | | | | | | | | Gev. | 53,64 | 7,04 | 11,11 |
| 66 | -F | " | " | HCl | $C_{17}H_{23}ClF_4N_4O_3$ | 442,841 | 180 | 82 | - 79°2 (0,5, $H_2O$) | Ber. | 46,11 | 5,23 | 12,65 |
| | | | | | | | | | | Gev. | 44,56 | 4,93 | 12,25 |
| 67 |  | " | " | HCl + $\frac{1}{3}H_2O$ | $C_{21}H_{33}ClF_3N_5O_3$ | 556,456 | 158 | 90 | - 27°8 (1,DMF) | Ber. | 45,32 | 6,64 | 12,59 |
| | | | | | | | | | | Gev. | 45,22 | 6,42 | 12,31 |

8000345

Vervolg tabel A

| Kode-nr. | R | n | -Y- | Vorm | Ruwe formule | Molecuul-gewicht | Smelt-punt (°C) | Op-brengst (%) | $[\alpha]^{25}_{546}$ | ELEMENTAIR-ANALYSE | | | |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| | | | | | | | | | | % | C | H | N |
| 68 | H | 1 | -Ala- | HCl | $C_{18}H_{26}ClF_3N_4O_3$ | 456,894 | 205 | 88 | - 22°2 (1,DMF) | Ber. | 47,30 | 6,17 | 12,26 |
| | | | | | | | | | | Gev. | 47,80 | 6,01 | 12,24 |

Voorbeeld II. N-α-trifluoracetyl-N-ε-carbobenzoxy-lysyl-propyl-p-isopropylanilide (formule 2).

Kodenummer: 69.

Aan een op 0°C gekoelde oplossing van 0,2 g prolyl-p-isopropylanilide-chloorhydraat (formule 4) in 1,5 ml tetrahydrofuran voegt men 0,105 ml triethylamine, vervolgens 0,405 g 3-(N-α-trifluoracetyl-N-ε-carbobenzoxy-lysyloxy)-2-hydroxy-N-ethylbenzamide (formule 3, bereid in voorbeeld III) en tenslotte 0,095 ml tetramethylguanidine toe. Men roert 5 uur, verdunt met 20 ml water, extraheert met ethylacetaat, wast de organische fase met een waterige oplossing van kalium-waterstofsulfaat en vervolgens met een waterige oplossing van natriumbicarbonaat. Men droogt boven natriumsulfaat, dampt het oplosmiddel af, filtreert het produkt door een kolom van neutraal aluminiumoxyde (elutiemiddel: ethylacetaat) en kristalliseert het verkregen produkt in isopropylether. Men verkrijgt 0,31 g van het gewenste produkt.

Opbrengst: 70%

Smeltpunt: 117°C

Ruwe formule: $C_{30}H_{37}F_3N_4O_5$

$[\alpha]^{25}_{546}$ = -39°9 (C=1, DMF)

Molecuulgewicht: 590,64

Elementair-analyse:

| | C | H | N |
|---|---|---|---|
| Berekend (%) | 61,01 | 6,31 | 9,49 |
| Gevonden (%) | 61,02 | 6,31 | 9,67 |

Op dezelfde wijze, doch uitgaande van de overeenkomstige reagentia (verbindingen met formules 3 en 4) verkrijgt men de in de hiernavolgende tabel B vermelde verbindingen met formule 2 met de kodenummers 70, 71, 72 en 73.

Op dezelfde wijze, doch door condensatie van de verbinding met formule 12 met verbindingen met formule 9 en door condensatie van

verbindingen met formule 13 met de verbinding met formule 10 verkrijgt men de in de hierna volgende tabel B vermelde verbindingen met formule 2 met de kodenummers 74, 75, 76 en 77.

Tabel B

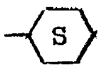
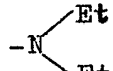
Verbindingen met formule 2

| Kode-nummer | R | n | Y | Ruwe formule | Molecuul-gewicht | Smelt-punt (°C) | Op-brengst (%) | $[\alpha]^{25}_{546}$ | ELEMENTAIR-ANALYSE % | C | H | N |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| 69 |  | 0 | Pro | $C_{30}H_{37}F_3N_4O_5$ | 590,64 | 117 | 70 | - 39°9 (1, DMF) | Ber. | 61,01 | 6,31 | 9,49 |
| | | | | | | | | | Gev. | 61,02 | 6,31 | 9,67 |
| 70 | " | 0 | Phe | $C_{34}H_{39}F_3N_4O_5$ | 640,70 | 203 | 62 | + 23°9 (1, DMF) | Ber. | 63,74 | 6,14 | 8,74 |
| | | | | | | | | | Gev. | 63,66 | 5,94 | 8,67 |
| 71 | " | 0 | Val | $C_{30}H_{39}F_3N_4O_5$ | 592,66 | 216 | 57 | + 5°2 (1, DMF) | Ber. | 60,80 | 6,63 | 9,45 |
| | | | | | | | | | Gev. | 60,70 | 6,67 | 9,61 |
| 72 | " | 0 | Leu | $C_{32}H_{41}F_3N_4O_5$ | 606,69 | 184 | 65 | - 6°4 (1,1,DMF) | Ber. | 61,37 | 6,81 | 9,23 |
| | | | | | | | | | Gev. | 71,07 | 6,85 | 9,27 |

8000345

8005008

Vervolg tabel B

| Kode-nummer | R | n | Y | Ruwe formule | Molecuul-gewicht | Smelt-punt (°C) | Opbr. (%) | $[\alpha]_{546}^{25}$ | ELEMENTAIR-ANALYSE | | | |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| | | | | | | | | | % | C | H | N |
| 73 |  | 0 | Ala | $C_{31}H_{39}F_3N_4O_5$ | 604,67 | 213 | 55 | - 11°7 (1, DMF) | Ber. | 61,58 | 6,50 | 9,27 |
| | | | | | | | | | Gev. | 61,88 | 6,77 | 9,51 |
| 74 | -i-Bu | 0 | " | $C_{29}H_{37}F_3N_4O_5$ | 578,63 | 180 | 60 | - 11°2 (1, DMF) | Ber. | 60,20 | 6,45 | 9,68 |
| | | | | | | | | | Gev. | 59,50 | 6,04 | 9,87 |
| 75 | -F | 0 | " | $C_{25}H_{28}F_4N_4C_5$ | 540,51 | 199 | 62 | - 48°3 (1, MeOH) | Ber. | 55,55 | 5,22 | 10,36 |
| | | | | | | | | | Gev. | 55,01 | 5,24 | 10,35 |
| 76 |  | 0 | " | $C_{29}H_{38}F_3N_5O_5$ | 593,65 | 196 | 58 | - 14°5 (1, DMF) | Ber. | 58,67 | 6,45 | 11,80 |
| | | | | | | | | | Gev. | 58,44 | 6,58 | 11,98 |

Vervolg tabel B

| Kode-nummer | R | n | Y | Ruwe formule | Molecuul-gewicht | Smelt-punt (°C) | Opbr. (%) | $[\alpha]^{25}_{546}$ | ELEMENTAIR-ANALYSE | | | |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| | | | | | | | | | % | C | H | N |
| 77 | H | 1 | Ala | $C_{26}H_{31}F_3N_4O_5$ | 536,55 | 190 | 52 | - 15°3 (0,9,DMF) | Ber. | 58,20 | 5,82 | 10,44 |
| | | | | | | | | | Gev. | 58,10 | 5,97 | 10,28 |

8000345

Voorbeeld III. 3-(N-α-trifluoracetyl-N-ε-carbobenzoxy-lysyl-oxy)-2-hydroxy-n-ethylbenzamide (formule 3).

Aan een oplossing van 1 g N-α-trifluoracetyl-N-ε-carbobenzoxy-lysine (formule 6) in 5,32 ml van een waterige 0,5 M natriumbicarbonaatoplossing en 5,32 ml ethylacetaat voegt men 0,3 ml pyridine toe en koelt de oplossing tot 0°C. Vervolgens regelt men de pH op 4,5-5 met behulp van 3 N zoutzuur en voegt in kleine hoeveelheden in 20 min. 0,73 g benzisoxazolinium-tetrafluorboraat (formule 5) toe. Vervolgens verdunt men met ethylacetaat, wast met een oplossing van kalium-waterstofsulfaat, vervolgens met een oplossing van natriumbicarbonaat en tenslotte met water. Men droogt boven natriumsulfaat, dampt het oplosmiddel af en kristalliseert het residu in een mengsel van isopropylether en petroleumether. Men verkrijgt 1,3 g van het gewenste produkt.

Opbrengst : 90%

Smeltpunt : 106°C

$[\alpha]_{546}^{25} = -49^{0}5$ (C=1, DMSO)

Op dezelfde wijze, doch uitgaande van de overeenkomstige reagentia (condensatie van de verbinding met formule 5 en verbindingen met formule 14) verkrijgt men de verbindingen met formules 12 en 13, die in ruwe toestand gebruikt worden.

Voorbeeld IV. N-α-trifluoracetyl-N-ε-carbobenzoxy-lysyl-alanine (formule 14).

Aan een oplossing van 1,9 g N-ε-carbobenzoxy-lysyl-alanine (formule 15) in 10 ml 1N natriumhydroxyde-oplossing in water voegt men 1,9 ml thioethyl-trifluoracetaat (formule 6") toe en roert 20 uur bij kamertemperatuur. Vervolgens zuurt men aan tot pH 3 met behulp van 1N zoutzuur, extraheert met ethylacetaat, dampt het oplosmiddel af en kristalliseert het verkregen ruwe produkt in petroleumether. Men gebruikt het aldus verkregen produkt direkt voor de bereiding van de verbinding met formule 12.

Op dezelfde wijze verkrijgt men de andere verbindingen met formule 14.

Eveneens op dezelfde wijze, doch uitgaande van

N-ε-carbobenzoxy-lysine (formule 6') en thioethyl-trifluoracetaat (6") verkrijgt men de verbinding met formule 6.

De verbindingen met formules 14 en 6 worden respektievelijk direkt toegepast voor de bereiding van de overeenkomstige verbindingen met formules 12 en 13 en met formule 3.

Voorbeeld V. N- tert.butoxycarbonyl-propyl-p-isopropylanilide (formule 7).

Aan een oplossing van N-tert.butoxycarbonylproline (formule 11) in 20 ml tetrahydrofuran voegt men 0,26 g N-methylmorfoline toe en koelt de oplossing op -15°C, voegt vervolgens 0,31 g isobutylchloorformiaat toe, roert 20 min. bij -15°C en voegt 0,35 g p-isopropylaniline (formule 10) toe. Men roert 1 uur, filtreert, dampt het filtraat in, neemt het residu op in ethylacetaat, wast met een waterige oplossing van kalium-waterstof-sulfaat en vervolgens met een waterige oplossing van natriumbicarbonaat, droogt boven natriumsulfaat en dampt het oplosmiddel af. Men herkristalliseert het residu in een mengsel van n-hexaan en isopropylether. Men verkrijgt aldus 0,55 g van het gewenste produkt.

Opbrengst : 70%

Smeltpunt : 162°C

Ruwe formule: $C_{19}H_{28}N_2O_3$

$[\alpha]_{546}^{25}$ = -89°1 (C=1, MeOH)

Molecuulgewicht: 332,38

Elementair-analyse:

| | C | H | N |
|---|---|---|---|
| Berekend (%) | 68,65 | 8,49 | 8,43 |
| Gevonden (%) | 68,71 | 8,67 | 8,52 |

Op dezelfde wijze, doch uitgaande van de overeenkomstige reagentia, verkrijgt men de verbindingen met formule 7 en in het bijzonder de in de hierna volgende tabel C vermelde verbindingen, waarin Y de groepen Phe, Val, Leu of Ala voorstelt, hetgeen nieuwe verbindingen zijn.

8008

Tabel C

Verbindingen met formule 7 $\underline{n = 0}$

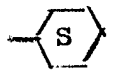
| Y | R | Ruwe formule | Molecuul-gewicht | Smelt-punt (°C) | Op-brengst (%) | $[\alpha]_{546}^{25}$ | Elementair-analyse | | | |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| | | | | | | | % | C | H | N |
| Pro |  | $C_{19}H_{28}N_2O_3$ | 332,38 | 162 | 70 | - 89°1 (1, MeOH) | Ber. | 68,65 | 8,49 | 8,43 |
| | | | | | | | Gev. | 68,71 | 8,67 | 8,52 |
| Phe | " | $C_{23}H_{30}N_2O_3$ | 382,18 | 126 | 62 | + 42°8 (1,MeOH) | Ber. | 72,22 | 7,90 | 7,32 |
| | | | | | | | Gev. | 72,05 | 7,97 | 7,23 |
| Val | " | $C_{19}H_{30}N_2O_3$ | 334,40 | 131 | 58 | - 30°1 (1, MeOH) | Ber. | 68,23 | 9,04 | 8,38 |
| | | | | | | | Gev. | 68,31 | 9,18 | 8,56 |
| Leu | " | $C_{20}H_{30}N_2O_3$ | 348,43 | Ruw toegepast | | | Ber. | - | - | - |
| | | | | | | | Gev. | - | - | - |

8000375



Vervolg tabel C

Verbindingen met formule 7 $n = 0$

| Y | R | Ruwe formule | Molecuul-gewicht | Smelt-punt (°C) | Op-brengst (%) | $[\alpha]_{546}^{25}$ | ELEMENTAIR-ANALYSE | | | |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| | | | | | | | % | C | H | N |
| Ala |  | $C_{20}H_{30}N_2O_3$ | 346,41 | 151 | 68 | - 21°4 (1,05;DMF) | Ber. | 69,33 | 8,73 | 8,08 |
| | | | | | | | Gev. | 69,53 | 9,05 | 7,93 |

Voorbeeld VI. Prolyl-p-isopropylanilide-chloorhydraat (formule 4).

Men laat een oplossing van 0,45 g van het in het voorafgaande voorbeeld verkregen N-tert.butoxycarbonyl-prolyl-p-isopropylanilide (formule 7) in 2,5 ml van een 2N oplossing van chloorwaterstofgas in azijnzuur gedurende 15 min. bij kamertemperatuur staan. Vervolgens verdunt men met ether, decanteert en kristalliseert de verkregen olie in ether. Men verkrijgt aldus 0,25 g van het gewenste produkt.

Opbrengst: 62%

Smeltpunt: 220°C

Ruwe formule: $C_{14}H_{21}ClN_2O$

$\left[\alpha\right]_{546}^{25} = -37°4$ (C=1,DMF)

Molecuulgewicht: 268,75

Elementair-analyse:

| | C | H | N |
|---|---|---|---|
| Berekend (%) | 62,56 | 7,87 | 10,42 |
| Gevonden (%) | 62,52 | 7,81 | 10,58 |

Op dezelfde wijze, doch uitgaande van de overeenkomstige reagentia, verkrijgt men de verbindingen met formule 4 en in het bijzonder de in de hierna volgende tabel D vermelde verbindingen, waarin Y de groepen Phe, Val, Leu of Ala voorstelt, hetgeen nieuwe verbindingen zijn.

Tabel D

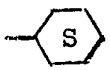
Verbindingen met formule 4, n = 0

| Y | R | Ruwe formule | Molecuul-gewicht | Smelt-punt (°C) | Op-brengst (%) | $[\alpha]_{546}^{25}$ | ELEMENTAIR-ANALYSE | | | |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| | | | | | | | % | C | H | N |
| Pro |  | $C_{14}H_{21}ClN_2O$ | 268,75 | 220 | 62 | - 37°4 (1,DMF) | Ber. | 62,56 | 7,87 | 10,42 |
| | | | | | | | Gev. | 62,52 | 7,81 | 10,58 |
| Phe | " | $C_{18}H_{23}ClN_2O$ | 318,79 | 185 | 92 | + 92°3 (1, DMF) | Ber. | - | - | - |
| | | | | | | | Gev. | - | - | - |
| Val | " | $C_{14}H_{23}ClN_2O$ | 270,76 | 235 | 85 | + 80°7 (1, DMF) | Ber. | 62,09 | 8,56 | 10,34 |
| | | | | | | | Gev. | 62,17 | 8,64 | 10,60 |
| Leu | " | $C_{15}H_{25}ClN_2O$ | 284,78 | 225 | 90 | + 63°7 (1, DMF) | Ber. | 63,25 | 8,85 | 9,83 |
| | | | | | | | Gev. | 63,36 | 8,86 | 10,00 |

8000345

Vervolg tabel D

Verbindingen met formule 4, n = 0

| Y | R | Ruwe formule | Molecuul-gewicht | Smelt-punt (°C) | Op-brengst (%) | $[\alpha]^{25}_{546}$ | ELEMENTAIR-ANALYSE | | | |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| | | | | | | | % | C | H | N |
| Ala |  | $C_{15}H_{23}ClN_2O$ | 282,77 | 205 | 87 | + 16° (1,16; DMF) | Ber. | - | - | - |
| | | | | | | | Gev. | - | - | - |

De verbindingen met formule 1 zijn in vitro onderzocht en bleken eigenschappen te bezitten als reversibele remmers van de elastasen uit de pancreas van varkens en uit de witte bloedlichaampjes van mensen. Het laatstgenoemde elastase was gezuiverd volgens de methode van TRAVIS (BAUGH R.J., TRAVIS J., (1976, Biochemistry, 15, 4. 836). De toegepaste onderzoekingsmethode is de bekende methode van DIXON (M. DIXON (1953), Biochemical Journal, 55, 1970) voor de bepaling van de remmingskonstanten $K_i$ van de verbindingen volgens de uitvinding ten aanzien van hydrolysereakties van succinyl-tri-L-alanine-paranitroanilide, die gekatalyseerd worden door de twee bovengenoemde elastasen (J. BIETH, B. SPIESS, C.G. WERMUTH, 1974, Biochemical Medecine, 11, 350). Alle bepalingen werden uitgevoerd bij 25°C in een 0,2 M bufferoplossing van tri-hydroxymethylaminomethaan met een pH van 8.

In tabel E zijn de resultaten vermeld, die verkregen zijn met de verbindingen met formule 1 alsmede met vergelijkingsverbinding (A), acetyl-L-prolyl-L-alanyl-L-propyl-L-alaninal voor elastase uit de pancreas (R.C. THOMPSON, Biochemistry, 1973, 12, 1, 47) en vergelijkingsverbinding (B), oliezuur, voor elastase uit witte bloedlichaampjes (B.M. ASHE en M. ZIMMERMAN, 1977, Bioch. Biophys. Res. Comm. 75, 1974).

Tabel E

| Onderzochte verbinding | $K_i$ (a) pancreas-elastase (M) | $K_i$ (a) leucocytaire elastase (M) |
|---|---|---|
| 60 | $2,2 \cdot 10^{-7}$ | $2 \cdot 10^{-6}$ |
| 61 | $4,5 \cdot 10^{-7}$ | $2 \cdot 10^{-6}$ |
| 62 | $3,6 \cdot 10^{-7}$ | $3,8 \cdot 10^{-6}$ |
| 63 | $3,3 \cdot 10^{-7}$ | $3 \cdot 10^{-7}$ |
| 64 | $7 \cdot 10^{-8}$ | $1 \cdot 10^{-6}$ |
| 65 | $1 \cdot 10^{-7}$ | $5 \cdot 10^{-7}$ |
| 66 | $4,5 \cdot 10^{-8}$ | $1,8 \cdot 10^{-5}$ |
| 67 | $1,5 \cdot 10^{-7}$ | $4,5 \cdot 10^{-7}$ |
| A | $8 \cdot 10^{-7}$ | - |
| B | - | $9 \cdot 10^{-6}$ |

(a) De waarden zijn verkregen in afwezigheid van elk oplosmiddel.

Voorts is de giftigheid van de verbindingen volgens de uitvinding bestudeerd bij muizen bij intraveneuze toediening. Meer in het bijzonder zijn de verbindingen onderzocht in de vorm van een oplossing in fysiologisch serum met 10% DMF.

Zo heeft men bijvoorbeeld geen enkel sterftegeval waargenomen bij toediening van 20, 40 en 80 mg per kg van de verbinding met kodenummer 63.

Door hun farmacologische eigenschappen kunnen de verbindingen volgens de uitvinding toegepast worden in geneesmiddelen, bijvoorbeeld ter behandeling van emphyseem.

C O N C L U S I E S

1. Trifluormethyl-oligopeptiden met de algemene formule 1 van het formuleblad, waarin Y de groep -L-Ala-, in welk geval (R, n) een van de betekenissen (isobutyl, 0), (cyclohexyl, 0), (fluor, 0), (N, N-diethylamino, 0) of (H, 1) bezit, of een van de groepen -L-Pro-, -L-Phe-, -L-Val- of -L-Leu- voorstelt, in welk geval n = 0 en R de isopropylgroep voorstelt.

2. Trifluormethyl-oligopeptiden met formule 1, waarin Y de groep -Ala- voorstelt.

3. Trifluormethyl-oligopeptide met formule 1, waarin Y de groep -Ala- voorstelt en (R, n) de betekenis (isobutyl, 0) bezit.

4. Trifluormethyl-oligopeptide met formule 1, waarin Y de groep -Ala- voorstelt en (R, n) de betekenis (fluor, 0) bezit.

5. Farmacologische samenstelling, m e t h e t k e n m e r k dat deze als werkzaam bestanddeel tenminste een verbinding volgens een of meer der conclusies 1-4 bevat.

6. Werkwijze voor de bereiding van verbindingen met formule 1, m e t h e t k e n m e r k, dat men verbindingen met formule 2 van het formuleblad, waarin Z de benzyloxycarbonylgroep voorstelt en het geheel (Y, n, R) een van de betekenissen (Ala, 0, isobutyl), (Ala, 0, cyclohexyl), (Ala, 0, fluor), (Ala, 0, N,N-diethylamino), (Ala, 1, H), (pro, 0, isopropyl), (Phe, 0, isopropyl), (Val, 0, isopropyl) of (Leu, 0, isopropyl) bezit, onderwerpt aan hydrogenolyse.

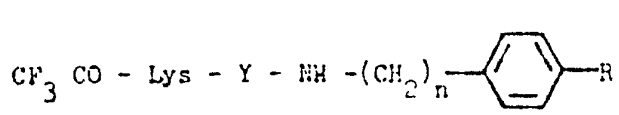
7. Werkwijze voor de bereiding van bij de werkwijze volgens conclusie 6 toegepaste verbindingen met formule 2, m e t h e t k e n m e r k, dat men de verbinding met formule 3 van het formuleblad, waarin Z dezelfde betekenis bezit als in formule 2, condenseert met verbindingen met formule 4 van het formuleblad, waarin het geheel (Y, n, R) dezelfde betekenissen bezit als in formule 2.

8. Werkwijze voor de bereiding van bij de werkwijze volgens conclusie 7 toegepaste verbindingen met formule 4, m e t h e t k e n m e r k, dat men de beschermende groep verwijdert uit verbindingen met formule 7, waarin het geheel (Y, n, R) dezelfde betekenissen bezit als in formule 2 en BOC de tert.butyloxycarbonylgroep voorstelt.

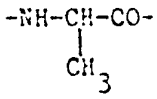
9. Werkwijze voor de bereiding van verbindingen met formule 2, m e t h e t k e n m e r k, dat men de verbinding met formule 12 van het formuleblad, waarin Z de benzyloxycarbonylgroep voorstelt, condenseert met verbindingen met formule 9 van het formuleblad, waarin (R', n) de betekenissen (isobutyl, 0), (cyclohexyl, 0), (fluor, 0), (N,N-diethylamino, 0) of (H, 1) bezit, en de verbinding met formule 10 van het formuleblad condenseert met verbindingen met formule 13 van het formuleblad, waarin Z dezelfde betekenissen bezit als in formule 12 en Y' een van de groepen Pro, Phe, Val en Leu voorstelt.

10. Werkwijze voor de bereiding van bij de werkwijze volgens conclusie 9 toegepaste verbindingen met formules 12 en 13, m e t h e t k e n m e r k, dat men verbindingen met formule 14 van het formuleblad, waarin Z dezelfde betekenis bezit als in formule 2 en Y een van de groepen Ala, Pro, Phe, Val of Leu voorstelt, condenseert met de verbinding met formule 5 van het formuleblad.

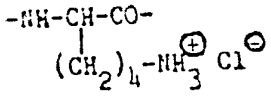
11. Als tussenprodukten de verbindingen met formules 2, 4, 7, 12, 13 en 14.



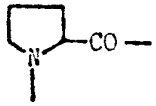
(1)



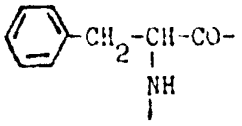
(1a)



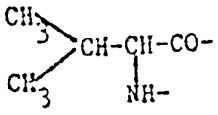
(1b)



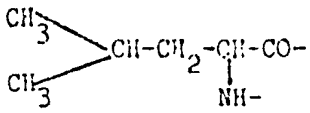
(1c)



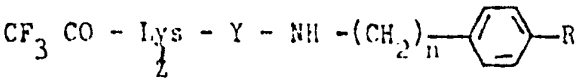
(1d)



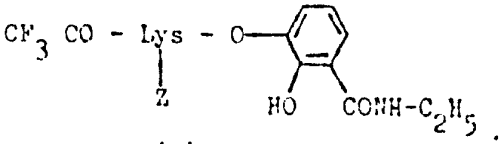
(1e)



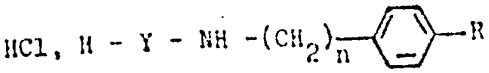
(1f)



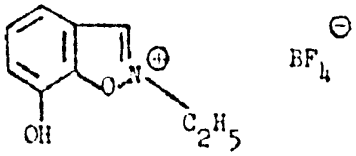
(2)



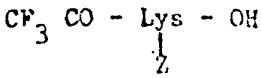
(3)



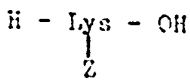
(4)



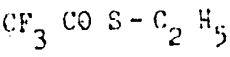
(5)



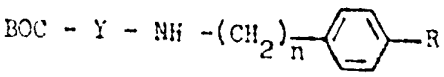
(6)



(6')

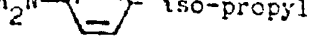


(6'')

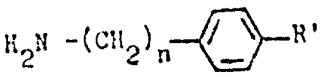


(7)

8000345



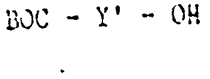
(8)



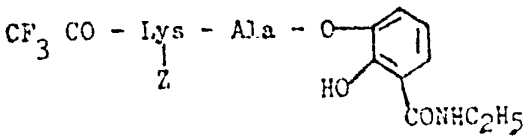
(9)



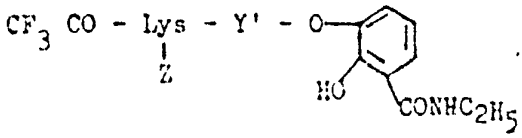
(10)



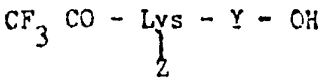
(11)



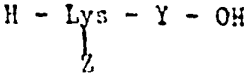
(12)



(13)



(14)



(15)