

(19)



SUOMI - FINLAND

(FI)

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

(10) **FI 963169 A7**

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

(21) Patentihakemus - Patentansökan - Patent application 963169

(51) Kansainvälinen patenttiluokitus - Internationell patentklassifikation -
International patent classification
C07K 5/06

(22) Tekemispäivä - Ingivningsdag - Filing date 09.01.1995

(23) Saapumispäivä - Ankomstdag - Reception date 13.08.1996

(41) Tullut julkiseksi - Blivit offentlig - Available to the public 13.08.1996

(43) Julkaisupäivä - Publiceringsdag - Publication date 13.06.2019

(86) Kansainvälinen hakemus - 09.01.1995 PCT/US1995/000279
Internationell ansökan - International
application

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

14.02.1994 US 195407 12.04.1994 US 226799

(71) Hakija - Sökande - Applicant

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

(72) Keksijä - Uppfinnare - Inventor

1 •Flynn, Gary A., Cincinnati, OH 45243, AMERIKAN YHDYSVALLAT, (US)
2 •Beight, Douglas Wade, Cincinnati, OH 45246, AMERIKAN YHDYSVALLAT, (US)
3 •Warshawsky, Alan M., Cincinnati, OH 45242, AMERIKAN YHDYSVALLAT, (US)
4 •Mehdi, Shujaath, USA, AMERIKAN YHDYSVALLAT, (US)
5 •French, John Fitzhugh, Japan, JAPAN, (JP)
6 •Kehne, John Herr, USA, AMERIKAN YHDYSVALLAT, (US)

(74) Asiamies - Ombud - Agent

Kolster Oy Ab, Salmisaarenaukio 1, 00180 Helsinki

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

**Enkefalinaasin ja ACE:n inhibittoreina käyttökelpoisia uusia merkaptopa
setyyliamido-1,3,4,5-tetrahydrobents/c/-atsepin-3-onidisulfidijohdanna isia**

**Nya merkaptopoacetylamido 1,3,4,5-tetrahydro-benzo/c/azepin-3-on disulfi dderivat användbara som inhibitorer för enkefalinas
och ACE**

Enkefalinaasin ja ACE:n inhibiittoreina käyttökelpoisia uusia merkaptoasetyyliamido-1,3,4,5-tetrahydrobents[c]atsepin-3-onidisulfidijohdannaisia

5 **Keksinnön taustaa**

Tämä hakemus on continuation-in-part -hakemus hakemuksesta sarjanumero 08/195 407, tehty 14. helmikuuta 1994.

10 Enkefalinaasi tai tarkemmin sanottuna endopeptidaasi-24.11 on nisäkkään ektoentsyymi, joka liittyy tiettyjen verenkierron säätelypeptidien metaboliseen hajoamiseen. Tämä entsyymi, joka on Zn^{+2} -metallopeptidaasi, vaikuttaa siten, että se lohkaisee solun ulkopuoliset peptidit hydrofobisten ryhmien aminoryhmästä ja siten inaktivoi peptidit säätelevinä lähetteinä.

15 Enkefalinaasi liittyy erilaisten verenkierron säätelypeptidien metaboliseen hajoamiseen, jotka peptidit käsittävät endorfiinit, kuten β -endorfiinin ja enkefaliinit, eteishnatriureettisen peptidin (ANP) ja muut verenkierron säätelypeptidit.

20 Endorfiinit ovat luonnossa esiintyviä polypeptidejä, jotka sitoutuvat opiaattireseptoreihin aivojen eri alueilla ja siten aikaansaavat analgeettisen vaikutuksen nostamalla kipukynnystä. Endorfiinit esiintyvät erilaisissa muodoissa, jotka käsittävät α -endorfiinin, β -endorfiinin, gamma-endorfiinin sekä enkefaliinit. Enkefaliinit, so. Met-enkefaliini ja Leu-enkefaliini, ovat pentapeptidejä, joita esiintyy aivokudoksen, selkäytimen ja gastrointestinaalisen alueen hermopäätteissä. Kuten muutkin endorfiinit enkefaliinit aikaansaavat analgeettisen vaikutuksen sitoutumalla opiaattireseptoreihin aivoissa. Kun enkefalinaasi inhiboituu, luonnossa esiintyvien endorfii-

25 nien ja enkefaliinien metabolinen hajoaminen inhiboituu, jolloin aikaansaadaan tehokas endorfiini- tai enkefaliinivälitteinen analgeettinen vaikutus. Enkefalinaasin in-

30

35

hibointi olisi sen vuoksi käyttökelpoista potilaassa, joka kärsii akuutista tai kroonisesta kivusta. Enkefalinaasin inhibointi olisi myös käyttökelpoista masennuksen vastaisen vaikutuksen aikaansaamisessa ja opiaatin tai morfiinin antamisen lopettamiseen liittyvien vieroitusoireiden voimakkuuden vähenemisen aikaansaamisessa. Lisäksi enkefalinaasin inhibointi olisi myös käyttökelpoista ärtytysuolioireyhtymän hoidossa.

ANP viittaa ryhmään luonnossa esiintyviä peptidejä, jotka liittyvät verenpaineen homeostaattiseen säätelyyn sekä natrium- ja vesiarvoihin. ANP:n pituuden on todettu vaihtelevan noin 21:stä noin 126 aminohappoon tavallisen rakenteellisen piirteen käsittäessä yhden tai useampia 17 aminohapon disulfidirengassekvenssiä, jolloin eri amino- ja karboksipäätteiset sekvenssit ovat kiinnittyneet kysteiiniryhmään. ANP:n on todettu sitoutuvan spesifisiin sitoutumiskohtiin eri kudoksissa, jotka käsittävät munuaisten, lisämunuaisten, aortan ja verisuonten sileän lihaksen, jolloin affiniteetit vaihtelevat noin 50 pikomolaarisesta (pM) noin 500 nanomolaariseen (nM) [Needleman, Hypertension, 7, 469 (1985)]. Lisäksi uskotaan, että ANP sitoutuu spesifisiin reseptoreihin aivoissa ja mahdollisesti toimii neuromodulaattorina sekä tavallisena perifeerisenä hormonina.

ANP:n biologiset ominaisuudet käsittävät tehokkaat diureettiset/natriureettiset ja verisuonia laajentavat verenpainetta alentavat vaikutukset sekä inhiboivan vaikutuksen reniinin ja aldosteronin eritykseen [deBold, Science 230, 767 (1985)]. Kun enkefalinaasi inhiboituu, luonnossa esiintyvän ANP:n metabolinen hajoaminen inhiboituu, jolloin aikaansaadaan tehokkaita ANP-välitteisiä diureettisia, natriureettisia, verenpainetta alentavia, hypoaldosteroneemisia vaikutuksia. Enkefalinaasin inhibointi olisi sen vuoksi käyttökelpoista potilaassa, joka kärsii sairaustiloista, joille ovat tunnusomaisia poikke-

avuudet neste-, elektrolyytti-, verenpaine-, silmän sisäisen paineen, reniini- tai aldosteronihomeostaasissa, kuten näihin kuitenkin rajoittumatta korkeasta verenpaineesta, munuaissairauksista, hyperaldosteronemiasta, sydänhypertrofiasta, viherkaihista ja kongestiivisesta sydämen toiminnanvajavuudesta.

Lisäksi tämän keksinnön mukaiset yhdisteet ovat angiotensiinikonvertaasin (ACE:n) inhibiittoreita. ACE on peptidyylidipeptidaasi, joka katalysoi angiotensiini I:n muuttumista angiotensiini II:ksi. Angiotensiini II on verisuonia supistava aine, joka myös stimuloi lisämunuaiskuoren aldosteronieritystä. ACE:n inhibointi olisi sen vuoksi käyttökelpoista potilaassa, joka kärsii sellaisista sairaustiloista kuin korkea verenpaine ja kongestiivinen sydämen toiminnanvajavuus [katso William W. Douglas, "Polypeptides - Angiotensin, Plasma Kinins, and Others", kappale 27, Goodman and Gillman's the Pharmacological Basis of Therapeutics, 7. painos, 1985, s. 652 - 653, MacMillan Publishing Co., New York, New York]. Lisäksi on todettu, että ACE-inhibiittorit ovat käyttökelpoisia kognitiivisten häiriötilojen hoidossa [DE-hakemusjulkaisu nro 3 901-291, julkaistu 3. elokuuta 1989].

Lisäksi tämän keksinnön mukaiset yhdisteet ovat käyttökelpoisia sileäsolujakautumisen inhibiittoreina. Sileän lihaksen solujen jakautuminen lihasvaltimoiden intimassa on merkittävin syy verisuoniahtaamaan valtimonkovetustaudissa verisuonileikkauksen jälkeen ja sepelvaltimoangioplastian jälkeen. Useat eläinkokeet ovat osoittaneet, että reniini-angiotensiinisysteemillä on merkittävä rooli tässä verisuonivasteessa vauriolle. Krooninen hoito angiotensiinikonvertaasi- (ACE-) inhibiittoreilla vähensi myointimaalista paksunemista palloaurion jälkeen rotan päänvaltimossa tai aortassa. Powell, J.S., Muller, R.K.M. ja Baumgartner, H.R.; Suppression of the vascular response to injury: The role of angiotensin-converting enzyme

inhibitors. J. Am. Coll. Cardiol. 17: 137B - 142B, 1991. Hiljattain on todettu, että eteisenatriureettinen peptidi (ANP) vähentää myointimaalista jakautumista. ANP metabo-
 5 loituu nopeasti reseptorivälitteisen vapautumisen ja neutraaliendopeptidaasin (NEP:n) vaikutuksesta. NEP:n in-
 hibointi vähentää merkittävästi jakautumista pallovauri-
 oituneessa kanin verisuonistossa. Davis, H.R., McGregor, D.C., Hoos, L., Mullins, D.E. ja Sybertz, E.J.: Atrial
 10 natuuriuretic factor and the neutral endopeptidase inhibitor SCH42495 prevent myointimal proliferatation after vas-
 cular injury. Circ. 86: I-220, 1992. Nämä kokeet viittaa-
 vat siihen, että ACE:n ja NEP:n kaksoisinhibiittorin pitäisi olla terapeuttisesti käyttökelpoinen hoidettaessa
 tiloja, joissa tarvitaan sileäsolujakautumisen inhiboi-
 15 tia. Davis ja Sybertz, EP-patenttihakemus 533 084-A1, 24. maaliskuuta 1993.

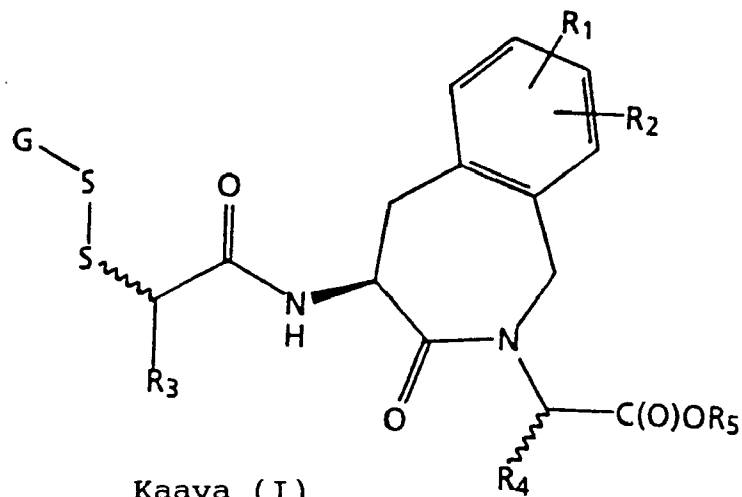
Keksinnön yhteenveto

Tämä keksintö tarjoaa uudet yhdisteet, joilla on
 20 kaava (I)

20

25

30

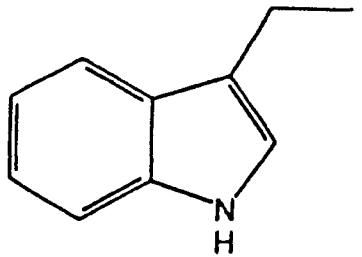


jossa

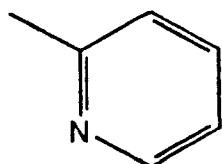
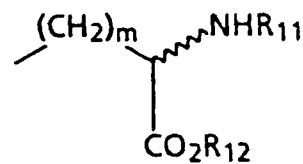
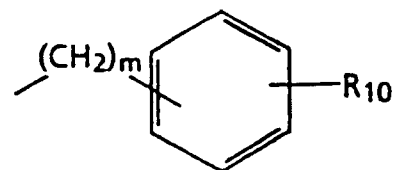
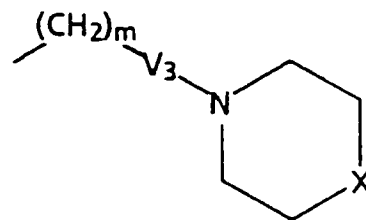
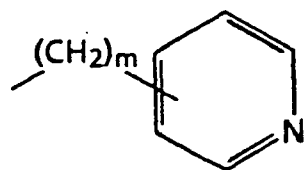
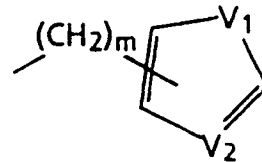
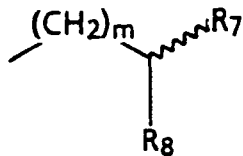
35 R_1 ja R_2 on kulloinkin valittu toisistaan riippumatta ryhmästä, jonka muodostavat vety, hydroksi, $-OR_6$, jossa R_6

on C_{1-4} -alkyyli tai Ar-Y-ryhmä, jossa Ar on aryyli ja Y on C_{0-4} -alkyyli; tai kun R_1 ja R_2 ovat kiinnittyneet vierekkäisiin hiiliatomeihin, R_1 ja R_2 voivat muodostaa yhdessä mainittujen vierekkäisten hiilien kanssa bentseenirenkaan tai metyleenidioksin;

R_3 on vety, C_{1-8} -alkyyli, $-CH_2OCH_2CH_2OCH_3$ tai Ar-Y-ryhmä;
 R_4 on vety, C_{1-6} -alkyyli, Ar-Y-ryhmä, $-CH_2CH_2SCH_3$, CH_2OH , $CH(OH)CH_3$, $CH_2CH_2C(=O)NH_2$, $CH_2C(=O)NH_2$ tai ryhmä, jolla on kaava



R_5 on vety, C_{1-4} -alkyyli tai Ar-Y-ryhmä tai $-CH_2OC(O)C(CH_3)_3$;
 G on radikaali, joka on valittu ryhmästä, jonka muodostavat:



jolloin

m on kokonaisluku 1 - 3;

R_7 on vety, C_{1-6} -alkyyli, $-CH_2CH_2S(O)_pCH_3$ tai aryylialkyyli, jolloin p on 0, 1 tai 2;

5 R_8 on vety, hydroksi, amino, C_{1-6} -alkyyli, N-metyyliamino, N,N-dimetyyliamino, $-CO_2R_9$ tai $-OC(O)R_9$, jolloin R_9 on vety, C_{1-6} -alkyyli tai fenyyli;

R_{10} merkitsee 1 tai 2 substituenttia, jotka on valittu toisistaan riippumatta ryhmästä, jonka muodostavat vety, C_{1-4} -alkyyli, C_{1-4} -alkoksi ja halogeeni;

R_{11} on vety, C_{1-6} -alkyyli tai Ar-Y-ryhmä;

R_{12} on vety tai C_{1-4} -alkyyli;

V_1 on O, S tai NH;

V_2 on N tai CH;

15 V_3 on suora sidos tai $-C(O)-$;

tai niiden stereoisomeerit tai farmaseuttisesti hyväksyttävät suolat.

Tämä keksintö tarjoaa edelleen menetelmän enkefaliinaasin inhiboimiseksi tämän tarpeessa olevassa potilaassa, joka menetelmä käsittää kaavan (I) mukaisen yhdisteen tehokkaan enkefaliinaasia inhiboivan määrän antamisen mainitulle potilaalle. Tämä keksintö tarjoaa myös menetelmän ACE:n inhiboimiseksi tämän tarpeessa olevassa potilaassa, joka menetelmä käsittää kaavan (I) mukaisen yhdisteen tehokkaan ACE:tä inhiboivan määrän antamisen mainitulle potilaalle.


Lisäksi tämä keksintö tarjoaa koostumuksen, joka sisältää analysoitavan määrän kaavan (I) mukaista yhdistettä seoksena tai muuten yhdessä inertin kantajan kanssa. Tämä keksintö tarjoaa myös farmaseuttisen koostumuksen, joka sisältää tehokkaan inhiboivan määrän kaavan (I) mukaista yhdistettä seoksena tai muuten yhdessä yhden tai useampien farmaseuttisesti hyväksyttävien kantajien tai täyteaineiden kanssa.


Keksinnön yksityiskohtainen kuvaus


Tässä hakemuksessa käytettynä:

5 a) Termi " C_{1-6} -alkyyli" viittaa tyydyttyneeseen haarautumattomaan tai haarautuneeseen hiilivetyradikaaliin, jossa on 1 - 6 hiiliatomia ja joka käsittää metyylin, etyylin, propyylin, isopropyylin, n-butyylin, isobutyylin, tertiäärisen butyylin, n-pentyylin, syklopentyylin, n-heksyylin, sykloheksyylin ja niiden kaltaiset;

10 b) termi " C_{1-4} -alkyyli" viittaa tyydyttyneeseen haarautumattomaan tai haarautuneeseen hiilivetyradikaaliin, jossa on 1 - 6 hiiliatomia ja joka käsittää metyylin, etyylin, propyylin, isopropyylin, n-butyylin, isobutyylin, tertiäärisen butyylin;

15 c) merkintä "  " viittaa sidokseen, joka suuntautuu eteenpäin sivun tasosta;

d) merkintä "  " viittaa sidokseen, joka suuntautuu taaksepäin sivun tasosta;

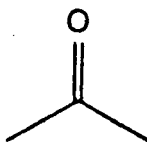
e) merkintä "  " viittaa sidokseen, jolle ei ole ilmoitettu stereokemiaa;

20 f) termi "halogeeni" viittaa fluoriatomiin, klooriatomiin, bromiatomiin tai jodiatomiin;

25 g) termi " C_{1-8} -alkyyli" viittaa tyydyttyneisiin haarautumattomiin tai haarautuneisiin hiilivetyradikaaleihin, joissa on 1 - 8 ja vastaavasti 1 - 10 hiiliatomia ja jotka käsittävät metyylin, etyylin, propyylin, isopropyyliin, n-butyylin, isobutyylin, tertiäärisen butyylin, pentyylin, isopentyylin, heksyylin, 2,3-dimetyyli-2-butyylin, heptyyllin, 2,2-dimetyyli-3-pentyylin, 2-metyyli-2-heksyylin, oktyyllin, 4-metyyli-3-heptyyllin ja niiden kaltaiset;

30 h) termi " C_{1-4} -alkoksi" viittaa haarautumattomaan tai haarautuneeseen alkoksiryhmään, joka sisältää 1 - 4 hiiliatomia, kuten metoksiin, etoksiin, n-propoksiin, isopropoksiin, n-butoksiin, isobutoksiin, t-butoksiin, jne.;

i) merkintä "-C(O)-" viittaa karbonyyliryhmään, jolla on kaava:



j) termi "Ar-Y-" viittaa radikaaliin, jossa Ar on aryyli-ryhmä ja Y on C₀₋₄-alkyyli;

10 k) termi "C₀₋₄-alkyyli" viittaa tyydyttyneeseen haarautumattomaan tai haarautuneeseen hiilivetyradikaaliin, jossa on 0 - 4 hiiliatomia ja joka käsittää sidoksen, metyylin, etyylin, propyylin, isopropyylin, n-butyylin, isobutyylin, tertiäärin butyylin ja niiden kaltaiset;

15 l) termi "Ar" tai "aryyli-ryhmä" viittaa fenyyli- tai naftyyli-ryhmään, joka on substituimaton tai substituoitu 1 - 3 substituentilla, jotka on valittu ryhmästä, jonka muodostavat metyleenidioksi, hydroksi, C₁₋₄-alkoksi, fluori ja kloori; erityisesti termin "aryyli-alkyyli" piiriin sisältyvät fenyyli, naftyyli, naftyyli-metyyli, fenyyli-metyyli tai bentsyyli, fenyyli-etyyli, p-metoksibentsyyli, 3,4-metyleenidioksibentsyyli, p-fluoribentsyyli ja p-klooribentsyyli;

20

m) termi "alkoksiryhmä" ja alkoksikarbonyyliryhmän alkoksiosa voivat merkitä haarautumatonta tai haarautunutta ketjua ja sisältää 1 - 8 hiiliatomia, edullisesti 1 - 4 hiiliatomia; erityisesti termin "alkoksiryhmä" piiriin kuuluvat metoksi, etoksi, t-butoksi ja niiden kaltaiset; erityisiä esimerkkejä alkoksikarbonyyliryhmistä ovat metoksikarbonyyli, etoksikarbonyyli, t-butoksikarbonyyli ja niiden kaltaiset;

25

30

n) termi "farmaseuttisesti hyväksyttävät suolat" viittaa joko happoadditiosuoloihin tai emäsadditiosuoloihin.

Ilmaisun "farmaseuttisesti hyväksyttävät happoad-
 ditiosuolat" tarkoitetaan soveltuvan mille tahansa ei-
 toksiselle kaavan (I) mukaisen yhdisteen tai sen minkä
 tahansa välituotteen orgaaniselle tai epäorgaaniselle
 5 happoadditiosuolalle. Esimerkkejä epäorgaanisista hapois-
 ta, jotka muodostavat sopivia suoloja, ovat mm. kloorive-
 ty-, bromivety-, rikki- ja ortofosforihappo, ja happome-
 tallisuolat, kuten natriummonovetyortofosfaatti ja kali-
 umvetysulfaatti. Esimerkkejä orgaanisista hapoista, jotka
 10 muodostavat sopivia suoloja, ovat mm. mono-, di- ja tri-
 karboksyylihapot. Esimerkkejä tällaisista hapoista ovat
 esimerkiksi etikka-, glykoli-, maito-, palorypäle-, malo-
 ni-, meripihka-, glutaari-, fumaari-, omena-, viini-,
 sitruuna-, askorbiini-, maleiini-, hydroksimaleiini-,
 15 bentsoe-, hydroksibentsoe-, fenyylietikka-, kaneli-, sa-
 lisykli-, 2-fenoksibentsoe- ja sulfonihapot, kuten p-to-
 lueenisulfonihappo, metaanisulfonihappo ja 2-hydroksi-
 etaanisulfonihappo. Tällaiset suolat voivat esiintyä joko
 hydratoidussa tai oleellisesti vedettömässä muodossa.

Ilmaisun "farmaseuttisesti hyväksyttävät emäsaddi-
 tiosuolat" tarkoitetaan soveltuvan mille tahansa ei-tok-
 sisille kaavan (I) mukaisen yhdisteen tai sen minkä ta-
 hansa välituotteen orgaanisille tai epäorgaanisille emäs-
 additiosuoloille. Esimerkkejä emäksistä, jotka muodosta-
 25 vat sopivia suoloja, ovat mm. alkalimetalli- tai maa-
 alkalimetallihydroksidit, kuten natrium-, kalium-, kalsi-
 um-, magnesium- tai bariumhydroksidit; ammoniakki ja ali-
 faattiset, sykliset tai aromaattiset orgaaniset amiinit,
 kuten metyyliamiini, dimetyyliamiini, trimetyyliamiini,
 30 trietyyliamiini, dietyyliamiini, isopropyylidietyyliamii-
 ni, pyridiini ja pikoliini.

Kuten tavallinen alan ammattimies ymmärtää, kaavan
 (I) mukaiset yhdisteet voivat esiintyä stereoisomeereinä.
 Minkä tahansa tämän hakemuksen viittauksen johonkin kaa-
 35 van (I) mukaisista yhdisteistä tarkoitetaan käsittävän

sekä spesifiset stereoisomeerit että stereoisomeerien seoksen. Spesifiset stereoisomeerit voidaan valmistaa stereospesifisellä synteisillä tai ne voidaan erottaa ja ottaa talteen alalla tunnetuilla menetelmillä, kuten kromatografialla, kromatografialla käyttäen kiraalistationää-

5 rifaaseja, tähän tarkoitukseen käytettävien reagenssien avulla muodostettujen additiosuolojen jakokiteytyksellä, kuten julkaisussa *Enantiomers, Racemates and Resolutions*, J. Jacques, A. Collet ja S.H. Wilen, Wiley (1981), on kuvattu.

10

Esimerkkejä yhdisteistä, jotka sisältyvät tähän keksintöön, ovat:

2-[4-(2-tio-3-fenyylipropionyyliamino)-3-okso-1,3,4,5-tetrahydrobents[c]atsepin-2-yyli]-4-metyylivaleriaanahappo, (S)-N-1-(2-metyylipropyli)-2-(tio)etyyliamiini, disulfidi;

15

2-[4-(2-tio-3-fenyylipropionyyliamino)-3-okso-1,3,4,5-tetrahydrobents[c]atsepin-2-yyli]-4-metyylivaleriaanahappo, (R)-1-(2-metyylipropyli)-2-(tio)etyyliamiini, disulfidi;

20

2-[4-(2-tio-3-fenyylipropionyyliamino)-3-okso-1,3,4,5-tetrahydrobents[c]atsepin-2-yyli]-4-metyylivaleriaanahappo, L-kysteinietyyliesteri, disulfidi;

2-[4-(2-tio-3-fenyylipropionyyliamino)-3-okso-1,3,4,5-tetrahydrobents[c]atsepin-2-yyli]-4-metyylivaleriaanahappo, N-asetyyli-L-kysteinietyyliesteri, disulfidi;

25

2-[4-(2-tio-3-fenyylipropionyyliamino)-3-okso-1,3,4,5-tetrahydrobents[c]atsepin-2-yyli]-4-metyylivaleriaanahappo, L-kysteini, disulfidi;

2-[4-(2-tio-3-fenyylipropionyyliamino)-3-okso-1,3,4,5-tetrahydrobents[c]atsepin-2-yyli]-4-metyylivaleriaanahappo, bentsyylitio, disulfidi;

30

2-[4-(2-tio-3-fenyylipropionyyliamino)-3-okso-1,3,4,5-tetrahydrobents[c]atsepin-2-yyli]-4-metyylivaleriaanahappo, etyyliitio, disulfidi;

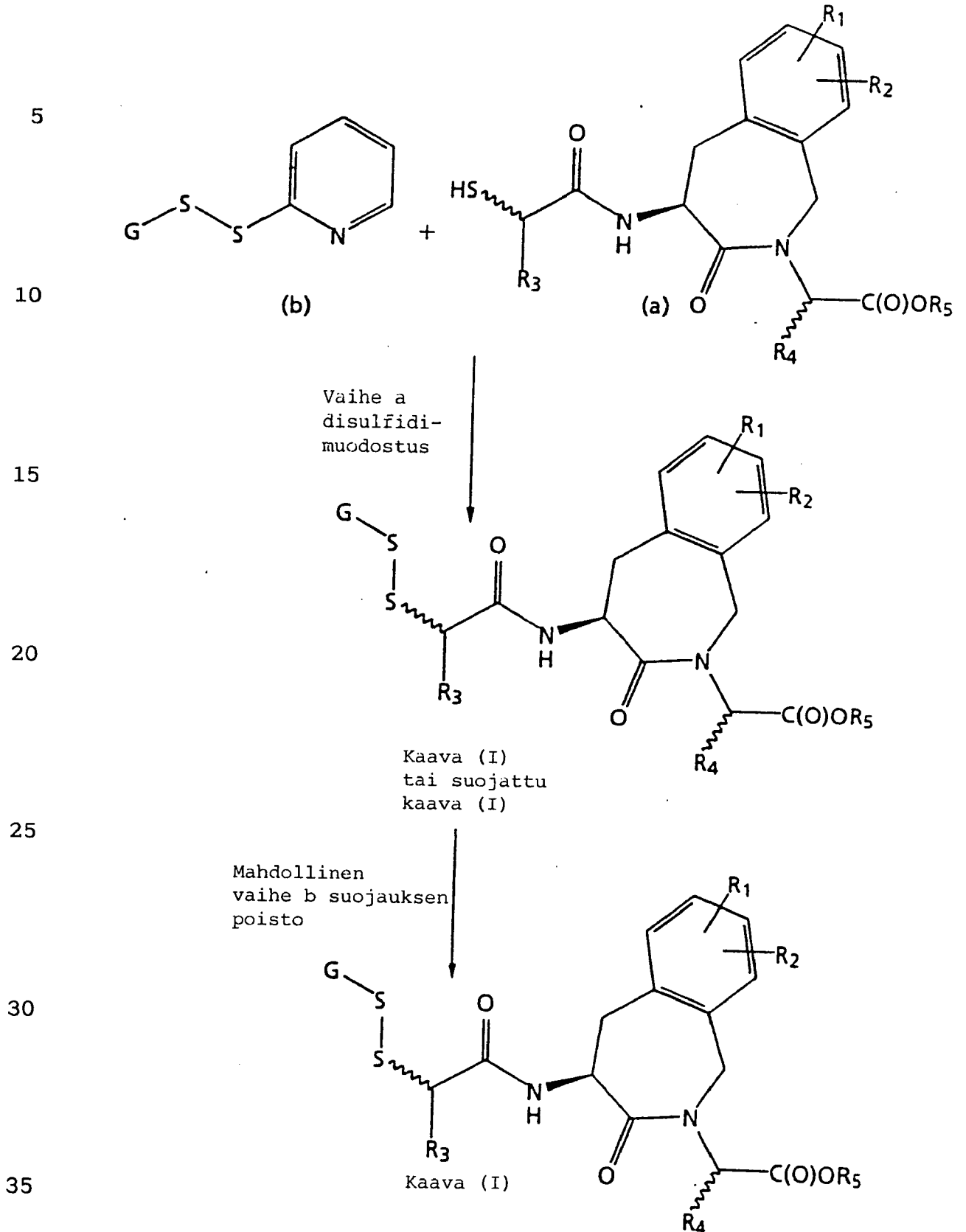
35

- 2-[4-(2-tio-3-fenyylipropionyylimino)-3-okso-1,3,4,5-tetrahydrobents[c]atsepin-2-yyli]-4-metyylivaleriaanahappo, disulfidi, 2-hydroksietyyliitio, disulfidi;
- 5 2-[4-(2-tio-3-fenyylipropionyylimino)-3-okso-1,3,4,5-tetrahydrobents[c]atsepin-2-yyli]-4-metyylivaleriaanahappo, t-butyyliesteri, 2-pyridyylimetyyliitio, disulfidi;
- 2-[4-(2-tio-3-fenyylipropionyylimino)-3-okso-1,3,4,5-tetrahydrobents[c]atsepin-2-yyli]-4-metyylivaleriaanahappo, 2-tioetikahappomorfoliinikarboksiamidi, disulfidi;
- 10 2-[4-(2-tio-3-fenyylipropionyylimino)-3-okso-1,3,4,5-tetrahydrobents[c]atsepin-2-yyli]-4-metyylivaleriaanahappo, t-butyyliesteri, bentsyyliitio, disulfidi;
- 2-[4-(2-tio-3-fenyylipropionyylimino)-3-okso-1,3,4,5-tetrahydrobents[c]atsepin-2-yyli]-4-metyylivaleriaanahappo, t-butyyliesteri, etyyliitio, disulfidi;
- 15 2-[4-(2-tio-3-fenyylipropionyylimino)-3-okso-1,3,4,5-tetrahydrobents[c]atsepin-2-yyli]-4-metyylivaleriaanahappo, t-butyyliesteri, disulfidi, 2-hydroksietyyliitio, disulfidi;
- 20 2-[4-(2-tio-3-fenyylipropionyylimino)-3-okso-1,3,4,5-tetrahydrobents[c]atsepin-2-yyli]-4-metyylivaleriaanahappo, t-butyyliesteri, 2-pyridyylimetyyliitio, disulfidi;
- 2-[4-(2-tio-3-fenyylipropionyylimino)-3-okso-1,3,4,5-tetrahydrobents[c]atsepin-2-yyli]-4-metyylivaleriaanahappo, t-butyyliesteri, 2-tioetikahappomorfoliinikarboksiamidi, disulfidi.
- 25

Yleinen synteessimenetelmä kaavan (I) mukaisten yhdisteiden valmistamiseksi on esitetty kaaviossa 1. Kaaviossa 1 kaikki substituentit, ellei toisin ole ilmoitettu, ovat edellä määritellyt. Kaaviossa 1 käytetyt lähtöaineet, reagenssit, tekniikat ja menetelmät ovat tavallisen alan ammattimiehen hyvin tuntevia ja ymmärtämiä.

30

Kaavio 1



Rakenteen (b) mukainen disulfidi voidaan saada alalla tunnetuilla menetelmillä tai menetelmillä, joita alalla analogisesti tunnetaan, B.P. Roques et al., J. Med. Chem. 33, 2473 - 2481 (1992). Rakenteen (a) mukainen tioli valmistetaan kaavion A mukaisesti.

5
Kaavion 1 vaiheessa a rakenteen (b) mukainen sopiva disulfidi saatetaan kosketukseen rakenteen (a) mukaisen sopivan tiolin kanssa, jolloin saadaan kaavan (I) mukainen disulfidi tai kaavan (I) mukainen suojattu disulfidi. Sopiva rakenteen (b) mukainen disulfidi on disulfidi, jossa G on sellainen, kuin kaavan (I) mukaiseen lopputuotteeseen halutaan, tai joka muodostaa suojauksen poistamisen jälkeen sellaisen G:n, joka kaavan (I) mukaiseen lopputuotteeseen halutaan. Sopiva rakenteen (a) mukainen tioli on tioli, jossa R_1 , R_2 , R_3 , R_4 ja R_5 ovat sellaisia, kuin kaavan (I) mukaiseen lopputuotteeseen halutaan, tai joka muodostaa suojauksen poistamisen jälkeen sellaiset $R_1:n$, $R_2:n$, $R_3:n$, $R_4:n$ ja $R_5:n$, jotka kaavan (I) mukaiseen lopputuotteeseen halutaan.

10
15
20
25
30
Esimerkiksi sopiva rakenteen (b) mukainen disulfidi saatetaan kosketukseen rakenteen (a) mukaisen sopivan tiolin kanssa. Reaktio toteutetaan sopivassa liuottimeksa, kuten etanolissa, metanolissa, dikloorimetaanissa tai etanolin tai metanolin ja dikloorimetaanin seoksissa. Liuottimesta poistetaan kaasut johtamalla sen läpi typpikaasuvirta 15 minuutin ajan, ennen kuin reaktio toteutetaan. Reaktio toteutetaan käyttäen 1,0 - 4,0 mooliekvivalenttia sopivaa rakenteen (b) mukaista yhdistettä. Reaktio toteutetaan lämpötiloissa 0 °C:sta liuottimeen refluksointilämpötilaan lämpötilan 10 °C - 30 °C ollessa edullinen. Reaktio kestää yleensä 1 - 48 tuntia. Tuote voidaan erottaa alalla hyvin tunnetuilla menetelmillä, kuten uuttamalla, haihduttamalla ja saostamalla. Tuote voidaan puhdistaa kromatografialla ja uudelleenkiteyttämällä.

Kaavion 1 mahdollisessa vaiheessa b kaavan (I) mukaisesta suojatusta disulfidista poistetaan suojaus, jolloin saadaan kaavan (I) mukainen disulfidi.

5 Alan ammattimies tuntee ja ymmärtää hyvin suojaryhmien valinnan, käytön ja poiston ja suojaryhmien poiston peräkkäisellä tavalla käyttäen sopivia suojaryhmiä, kuten suojaryhmiä, jotka on kuvattu julkaisussa Protecting
10 Groups in Organic Synthesis, T. Greene. Suojaryhmien poistolla tai tarvittaessa suojaryhmien poistolla peräkkäisellä tavalla saadaan kaavan (I) mukaisia disulfideja.

Seuraavissa esimerkeissä esitetään tavallisia kaaviossa 1 kuvattuja synteesejä. Nämä esimerkit on ymmärrettävä ainoastaan valaiseviksi eikä niiden tarkoiteta rajoittavan keksinnön piiriä millään tavalla. Seuraavissa
15 esimerkeissä käytettyinä seuraavilla termeillä on ilmoitetut merkitykset: "g" viittaa grammoihin, "mmol" viittaa millimoolleihin, "ml" viittaa millilitroihin, "°C" viittaa Celsius-asteisiin, "R_f" viittaa retentiotekijään, "sp." viittaa sulamispisteeseen, "haj." viittaa hajoamiseen, "M" viittaa molaarisuuteen ja "TLC" viittaa ohutkerroskromatografiaan.

Valmistus 1

25 2-[4-(2-merkaptio-3-fenyylipropionyylimino)-3-okso-1,3,4,5-tetrahydrobents[c]atsepin-2-yyli]-4-metyylivaleriaanahappo, tert-butyyliesteri

2-[4-(2-bentsoyylisulfanyyli-3-fenyylipropionyylimino)-3-okso-1,3,4,5-tetrahydrobents[c]atsepin-2-yyli]-4-metyylivaleriaanahapon tert-butyyliesteri (0,229 mmol) yhdistetään metanoliin (3 ml), josta on poistettu kaasut, ja jäädytetään jäähauteessa. Käsitellään 1 N vesipitoisella litiumhydroksidilla (1,0 ml), josta on poistettu kaasut, ja sekoitetaan antaen jäähauteen lämmetä vähitellen 3 tunnin aikana. Kun reaktioseos on 0 °C:inen, se tehdään happamaksi 5-%:isella kloorivetyhapolla. Jakouutetaan metyleenikloridilla ja vedellä, kuivataan (Na₂SO₄)
35

ja puhdistetaan silikageelikromatografialla, jolloin saadaan otsikon yhdiste.

Esimerkki 1

2-[4-(2-tio-3-fenyylipropionyylimino)-3-okso-1,3,-
5 4,5-tetrahydrobents[c]atsepin-2-yyli]-4-metyylivaleriaana-
happo, tert-butyyliesteri, (S)-N-(t-butoksykarbonyyli)-1-
(2-metyylipropyli)-2-(tio)etyylimini, disulfidi

Kaavio 1, vaihe a:

2-[4-(2-merkpto-3-fenyylipropionyylimino)-3-ok-
10 so-1,3,4,5-tetrahydrobents[c]atsepin-2-yyli]-4-metyyli-
valeriaanahapon tert-butyyliesteri (1,20 mmol) ja (S)-N-
(t-butoksykarbonyyli)-1-(2-metyylipropyli)-2-(tio)etyy-
liimini, 2-tiopyridiini, disulfidi (1,46 mmol) yhdiste-
tään etanolissa (10 ml), josta on poistettu kaasut. Se-
15 koitetaan 20 tuntia. Haihdutetaan tyhjössä. Kromatogra-
foidaan silikageelillä, jolloin saadaan otsikon yhdiste.

Esimerkki 2

2-[4-(2-tio-3-fenyylipropionyylimino)-3-okso-1,3,-
4,5-tetrahydrobents[c]atsepin-2-yyli]-4-metyylivaleriaana-
20 happo, tert-butyyliesteri, (R)-N-(t-butoksykarbonyyli)-1-
(2-metyylipropyli)-2-(tio)etyylimini, disulfidi

Kaavio 1, vaihe a:

2-[4-(2-merkpto-3-fenyylipropionyylimino)-3-ok-
so-1,3,4,5-tetrahydrobents[c]atsepin-2-yyli]-4-metyyli-
25 valeriaanahapon tert-butyyliesteri ja (R)-N-(t-butoksi-
karbonyyli)-1-(2-metyylipropyli)-2-(tio)etyylimini, 2-
tiopyridiini, disulfidi (1,46 mmol) yhdistetään etanolis-
sa (10 ml), josta on poistettu kaasut. Sekoitetaan 18
tuntia. Haihdutetaan tyhjössä. Kromatografoidaan silika-
30 geelillä, jolloin saadaan otsikon yhdiste.

Esimerkki 3

2-[4-(2-tio-3-fenyylipropionyyliamino)-3-okso-1,3,-
4,5-tetrahydrobents[c]atsepin-2-yyli]-4-metyylivaleriaana-
happo, (S)-N-1-(2-metyylipropyli)-2-(tio)etyyliamiini,
5 disulfidi

Kaavio 1, vaihe a:

2-[4-(2-tio-3-fenyylipropionyyliamino)-3-okso-1,3,-
4,5-tetrahydrobents[c]atsepin-2-yyli]-4-metyylivaleriaana-
happo, tert-butyyliesteri, (S)-N-(t-butoksykarbonyyli)-1-
10 (2-metyylipropyli)-2-(tio)etyyliamiini, disulfidi
(1,00 mmol) yhdistetään metyleenikloridin (5 ml) kanssa ja
käsitellään anisolilla (1,50 ml), sitten trifluorietikka-
hapolla (1,0 ml). Sekoitetaan huoneenlämpötilassa 15 tun-
tia, jakoutetaan etyyliasetaatilla ja suolaliuksella.
15 Orgaaninen kerros pestään suolaliuksella, kuivataan
(Na₂SO₄) ja puhdistetaan silikageelikromatografialla, jol-
loin saadaan otsikon yhdiste.

Esimerkki 4

2-[4-(2-tio-3-fenyylipropionyyliamino)-3-okso-1,3,-
20 4,5-tetrahydrobents[c]atsepin-2-yyli]-4-metyylivaleriaana-
happo, (R)-1-(2-metyylipropyli)-2-(tio)etyyliamiini, di-
sulfidi

Kaavio 1, vaihe a:

2-[4-(2-tio-3-fenyylipropionyyliamino)-3-okso-1,3,-
25 4,5-tetrahydrobents[c]atsepin-2-yyli]-4-metyylivaleriaana-
happo, tert-butyyliesteri, (R)-N-(t-butoksykarbonyyli)-1-
(2-metyylipropyli)-2-(tio)etyyliamiini, disulfidi
(1,2 mmol) yhdistetään metyleenikloridin (5 ml) kanssa ja
käsitellään anisolilla (1,20 ml), sitten trifluorietikka-
30 hapolla (1,0 ml). Sekoitetaan huoneenlämpötilassa 15 tun-
tia, jakoutetaan etyyliasetaatilla ja suolaliuksella.
Orgaaninen kerros pestään suolaliuksella, kuivataan
(Na₂SO₄) ja puhdistetaan silikageelikromatografialla, jol-
loin saadaan otsikon yhdiste.

Esimerkki 5

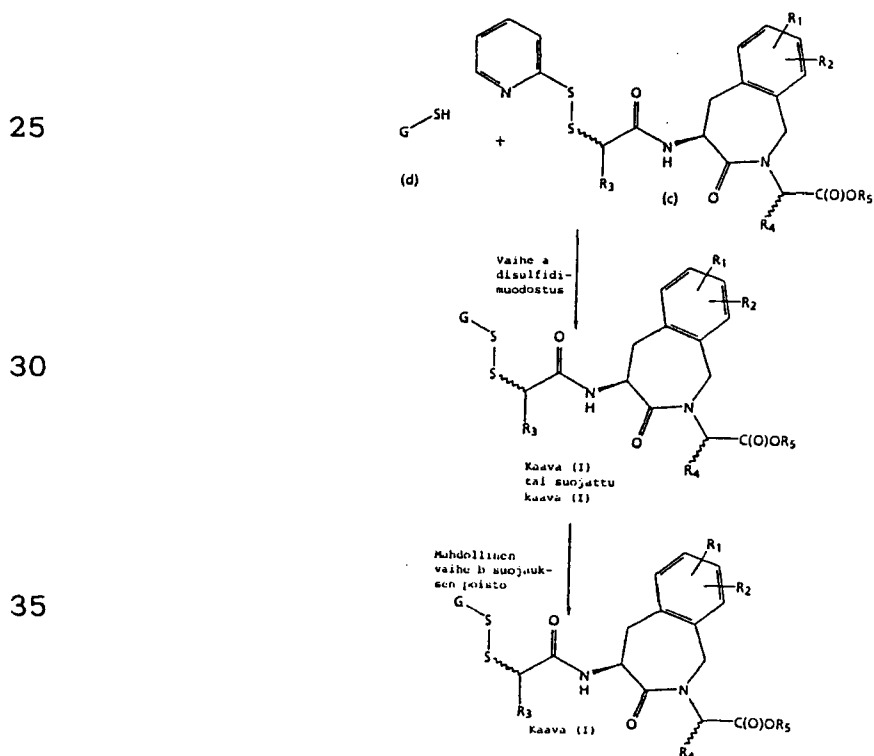
2-[4-(2-tio-3-fenyylipropionyylimino)-3-okso-1,3-,
4,5-tetrahydrobents[c]atsepin-2-yyli]-4-metyylivaleriaana-
happo, tert-butyyliesteri, 2-tiopyridiini, disulfidi

5 2-[4-(2-tio-3-fenyylipropionyylimino)-3-okso-1,3-,
4,5-tetrahydrobents[c]atsepin-2-yyli]-4-metyylivaleriaana-
happo, tert-butyyliesteri (4,0 mmol) ja 2,2'-ditiopyri-
diini (16,0 mmol) yhdistetään etanoliin (24 ml), josta on
poistettu kaasut, ja dikloorimetaaniin (6 ml). Sekoitetaan
10 inertissä atmosfäärissä ympäristön lämpötilassa 20 tuntia.
Haihdutetaan tyhjössä, jolloin saadaan jäännös. Jäännös
kromatografoidaan silikageelillä, jolloin saadaan otsikon
yhdiste.

Vaihtoehtoinen yleinen synteesimenetelmä kaavan (I)
15 mukaisten yhdisteiden valmistamiseksi on esitetty kaavios-
sa 2. Kaaviossa 2 kaikki substituentit, ellei toisin ole
ilmoitettu, ovat edellä määritellyt. Kaaviossa 2 käytetyt
lähtöaineet, reagenssit, tekniikat ja menetelmät ovat ta-
vallisen alan ammattimiehen hyvin tuntemia ja ymmärtämiä.

20

Kaavio 2



Kaavion 2 vaiheessa a sopiva rakenteen (d) mukainen tioli saatetaan kosketukseen rakenteen (4) mukaisen sopivan disulfidin kanssa, jolloin saadaan kaavan (I) mukainen disulfidi tai kaavan (I) mukainen suojattu disulfidi menetelmällä, joka on esitetty edellä kaavion A vaiheessa a. Sopiva rakenteen (d) mukainen tioli on tioli, jossa G on sellainen, kuin kaavan (I) mukaiseen lopputuotteeseen halutaan, tai joka muodostaa suojauksen poistamisen jälkeen sellaisen G:n, joka kaavan (I) mukaiseen lopputuotteeseen halutaan. Sopiva rakenteen (c) mukainen disulfidi on disulfidi, jossa R_1 , R_2 , R_3 , R_4 ja R_5 ovat sellaisia, kuin kaavan (I) mukaiseen lopputuotteeseen halutaan, tai joka muodostaa suojauksen poistamisen jälkeen sellaiset $R_1:n$, $R_2:n$, $R_3:n$, $R_4:n$ ja $R_5:n$, jotka kaavan (I) mukaiseen lopputuotteeseen halutaan. Sopiva rakenteen (c) mukainen yhdiste voidaan valmistaa menetelmillä, jotka tunnetaan analogisesti alalla, B.P. Roques et al., J. Med. Chem. 33, 2473 - 2481 (1992), rakenteen (a) mukaisista yhdisteistä, jotka on valmistettu kaavion A mukaisesti.

Kaavion 2 mahdollisessa vaiheessa b kaavan (I) mukaisesta suojatusta disulfidista poistetaan suojaus, jolloin saadaan kaavan (I) mukainen disulfidi, kuten kaavion 1 mahdollisessa vaiheessa b edellä on esitetty.

Seuraavissa esimerkeissä esitetään tavallisia kaaviossa 2 kuvattuja synteesejä. Nämä esimerkit on ymmärrettävä ainoastaan valaiseviksi eikä niiden tarkoiteta rajoittavan keksinnön piiriä millään tavalla. Seuraavissa esimerkeissä käytettyinä seuraavilla termeillä on ilmoitetut merkitykset: "g" viittaa grammoihin, "mmol" viittaa millimooleihin, "ml" viittaa millilitroihin, "°C" viittaa Celsius-asteisiin, " R_f " viittaa retentiotekijään, "sp." viittaa sulamispisteeseen, "haj." viittaa hajoamiseen, "M" viittaa molaarisuuteen ja "TLC" viittaa ohutkerroskromatografiaan.

Esimerkki 6

2-[4-(2-tio-3-fenyylipropionyylimino)-3-okso-1,3,-
4,5-tetrahydrobents[c]atsepin-2-yyli]-4-metyylivaleriaana-
happo, tert-butyyliesteri, N-(t-butoksikarbonyyli)-L-kys-
5 teinietyyliesteri, disulfidi

Kaavio 2, vaihe a:

2-[4-(2-tio-3-fenyylipropionyylimino)-3-okso-1,3,-
4,5-tetrahydrobents[c]atsepin-2-yyli]-4-metyylivaleriaana-
happo, tert-butyyliesteri, 2-tiopyridiini, disulfidi
10 (1,4 mmol) ja N-(t-butoksikarbonyyli)-L-kysteiinietyyli-
esteri (2,0 mmol) yhdistetään etanoliin/dikloorimetaaniin
(10 ml / 2 ml), josta on poistettu kaasut. Sekoitetaan 18
tuntia. Haihdutetaan tyhjässä, jolloin saadaan jäännös.
Jäännös kromatografoidaan silikageelillä, jolloin saadaan
15 otsikon yhdiste.

Esimerkki 7

2-[4-(2-tio-3-fenyylipropionyylimino)-3-okso-1,3,-
4,5-tetrahydrobents[c]atsepin-2-yyli]-4-metyylivaleriaana-
happo, tert-butyyliesteri, bentsyyliitio, disulfidi
20

Kaavio 2, vaihe a:

2-[4-(2-tio-3-fenyylipropionyylimino)-3-okso-1,3,-
4,5-tetrahydrobents[c]atsepin-2-yyli]-4-metyylivaleriaana-
happo, tert-butyyliesteri, 2-tiopyridiini, disulfidi
(1,4 mmol) ja bentsyyliitioli (1,7 mmol) yhdistetään etano-
25 liin/dikloorimetaaniin (15 ml / 3 ml), josta on poistettu
kaasut. Sekoitetaan 18 tuntia. Lisätään bentsyyliitiolia
(1,7 mmol) ja sekoitetaan 24 tuntia. Haihdutetaan tyhjä-
ssä, jolloin saadaan jäännös. Jäännös kromatografoidaan
silikageelillä, jolloin saadaan otsikon yhdiste.

Esimerkki 8

2-[4-(2-tio-3-fenyylipropionyyliamino)-3-okso-1,3,-
4,5-tetrahydrobents[c]atsepin-2-yyli]-4-metyylivaleriaana-
happo, tert-butyyliesteri, etyyliatio, disulfidi

5 Kaavio 2, vaihe a:

2-[4-(2-tio-3-fenyylipropionyyliamino)-3-okso-1,3,-
4,5-tetrahydrobents[c]atsepin-2-yyli]-4-metyylivaleriaana-
happo, tert-butyyliesteri, 2-tiopyridiini, disulfidi
(1,68 mmol) ja etyyliatioli (2,7 mmol) yhdistetään etano-
liin/dikloorimetaaniin (15 ml / 3 ml), josta on poistettu
10 kaasut. Sekoitetaan 18 tuntia. Lisätään etyyliatiolia
(2,7 mmol) ja sekoitetaan 24 tuntia. Haihdutetaan tyhjös-
sä, jolloin saadaan jäännös. Jäännös kromatografoidaan
silikageelillä eluoiden 30-%:isella etyyliasetaatilla hek-
15 saanissa, jolloin saadaan otsikon yhdiste kiinteänä ainee-
na.

Esimerkki 9

2-[4-(2-tio-3-fenyylipropionyyliamino)-3-okso-1,3,-
4,5-tetrahydrobents[c]atsepin-2-yyli]-4-metyylivaleriaana-
20 happo, tert-butyyliesteri, disulfidi, 2-hydroksietyyliatio,
disulfidi

Kaavio 2, vaihe a:

2-[4-(2-tio-3-fenyylipropionyyliamino)-3-okso-1,3,-
4,5-tetrahydrobents[c]atsepin-2-yyli]-4-metyylivaleriaana-
25 happo, tert-butyyliesteri, 2-tiopyridiini, disulfidi (1,54
mmol) ja 2-hydroksietyyliatioli (2,85 mmol) yhdistetään
etanoliin/dikloorimetaaniin (15 ml / 3 ml), josta on pois-
tettu kaasut. Sekoitetaan 18 tuntia. Laimennetaan dikloo-
rimetaanilla ja uutetaan kylläisellä natriumkloridiliuok-
30 sella. Orgaaninen kerros kuivataan MgSO₄:lla, suodatetaan
ja väkevöidään tyhjössä, jolloin saadaan jäännös. Jäännös
kromatografoidaan silikageelillä, jolloin saadaan otsikon
yhdiste.

Esimerkki 10

2-[4-(2-tio-3-fenyylipropionyyliamino)-3-okso-1,3,-
4,5-tetrahydrobents[c]atsepin-2-yyli]-4-metyylivaleriaana-
happo, tert-butyyliesteri, 2-pyridyylimetyylitio, disulfi-
di

5

Kaavio 2, vaihe a:

2-[4-(2-tio-3-fenyylipropionyyliamino)-3-okso-1,3,-
4,5-tetrahydrobents[c]atsepin-2-yyli]-4-metyylivaleriaana-
happo, tert-butyyliesteri, 2-tiopyridiini, disulfidi
(1,40 mmol) ja pyridyylimetyylitioli (2,10 mmol) yhdiste-
tään etanoliin/dikloorimetaaniin (10 ml / 2 ml), josta on
poistettu kaasut. Sekoitetaan 18 tuntia. Väkevöidään tyh-
jössä, jolloin saadaan jäännös. Jäännös kromatografoidaan
silikageelillä, jolloin saadaan otsikon yhdiste.

10

15

Valmistus 2

2-tiolietikkahappomorfoliinikarboksiamidi

Lähtöaineen valmistus kaavion 2 vaihetta a varten:

Klooriasetyylikloridi (2,00 ml, 25,0 mmol) ja N-
metyylimorfoliini (2,76 ml, 25,0 mmol) yhdistetään di-
kloorimetaanissa (100 ml). Jäähdytetään jäähauteessa. Li-
sätään morfoliinia (2,19 ml, 25,0 mmol) ja sekoitetaan
jäähauteessa 1 tunti. Lämmitetään ympäristön lämpötilaan
ja sekoitetaan 1 tunti. Uutetaan kylmällä 5-%:isella rik-
kihapon vesiliuoksella, kylläisellä natriumbikarbonaatin
vesiliuoksella ja kylläisellä natriumkloridin vesiliuok-
sella. Orgaaninen kerros kuivataan Na₂SO₄:lla, suodatetaan
ja haihdutetaan tyhjössä, jolloin saadaan kloorietikkahap-
pomorfoliinikarboksiamidi.

20

25

30

Edellä valmistettu kloorietikkahappomorfoliinikar-
boksiamidi (2,88 g, 17,6 mmol) ja tiolietikkahappo
(1,40 ml, 20,0 mmol) yhdistetään dimetyyliformamidissa
(10 ml), josta on poistettu kaasut. Lisätään hitaasti ce-
siumkarbonaattia (3,26 g, 10,0 mmol) jäähdyttäen tarpeen
mukaan reaktioseoksen lämpötilan pitämiseksi alle
40 °C:ssa. Sekoitetaan ympäristön lämpötilassa 16 tuntia.

35

Reaktioseosta jakouutetaan vedellä ja etyyliasetaatilla. Orgaaninen kerros kuivataan Na_2SO_4 :lla, suodatetaan ja haihdutetaan tyhjöissä, jolloin saadaan jäännös. Jäännös kromatografoidaan silikageelillä eluoiden peräkkäin
 5 4-0%:isella etyyliasetaatilla heksaanissa ja sitten 66-%:isella etyyliasetaatilla heksaanissa, jolloin saadaan 2-asetyylitioetikkahappomorfoliinikarboksiamidi.

Edellä saatu 2-asetyylitioetikkahappomorfoliini-
 10 karboksiamidi (2,50 g, 12,0 mmol) ja metanoli (50 ml), josta on poistettu kaasut, yhdistetään. Jäähdytetään jäähauteessa. Lisätään litiumhydroksidihydraattia (1,0 g, 24,0 mmol). Sekoitetaan 3 tuntia. Reaktioseos tehdään happamaksi pH-arvoon 1 käyttäen 6 M kloorivetyhappoliuosta. Reaktioseosta jakouutetaan vedellä ja dikloorimetaani-
 15 nilla. Orgaanista kerrosta uutetaan kylläisellä ammoniumkloridin vesiliuoksella. Orgaaninen kerros kuivataan Na_2SO_4 :lla, suodatetaan ja haihdutetaan tyhjöissä, jolloin saadaan jäännös. Jäännös kromatografoidaan silikageelillä eluoiden etyyliasetaatilla, jolloin saadaan otsikon yh-
 20 diste.

Esimerkki 11

2-[4-(2-tio-3-fenyylipropionyyliamino)-3-okso-1,3,-
 4,5-tetrahydrobents[c]atsepin-2-yyli]-4-metyylivaleriaana-
 happo, tert-butyyliesteri, 2-tioetikkahappomorfoliinikar-
 25 boksiamidi

Kaavio 2, vaihe a:

2-[4-(2-tio-3-fenyylipropionyyliamino)-3-okso-1,3,-
 4,5-tetrahydrobents[c]atsepin-2-yyli]-4-metyylivaleriaana-
 happo, tert-butyyliesteri, 2-tiopyridiini, disulfidi
 30 (1,40 mmol) ja 2-tiolietikkahappomorfoliinikarboksiamidi (2,0 mmol) yhdistetään etanoliin/dikloorimetaaniin (10 ml / 2 ml), josta on poistettu kaasut. Sekoitetaan 16 tuntia. Väkevöidään tyhjöissä, jolloin saadaan jäännös. Jäännös kromatografoidaan silikageelillä eluoiden 50-%:isella

etyyliasetaatilla dikloorimetaanissa, jolloin saadaan otsikon yhdiste.

Esimerkki 12

2-[4-(2-tio-3-fenyylipropionyylimino)-3-okso-1,3,-
5 4,5-tetrahydrobents[c]atsepin-2-yyli]-4-metyylivaleriaana-
happo, L-kysteiinietyyliesteri, disulfiditrifluorietikka-
happosuola

Kaavio 2, mahdollinen vaihe b:

2-[4-(2-tio-3-fenyylipropionyylimino)-3-okso-1,3,-
10 4,5-tetrahydrobents[c]atsepin-2-yyli]-4-metyylivaleriaana-
happo, tert-butyyliesteri, N-(t-butoksikarbonyyli)-L-kys-
teiinietyyliesteri, disulfidi (1,20 mmol), anisoli
(13,0 mmol) ja dikloorimetaani (15 ml) yhdistetään. Jääh-
dytetään jäähauteessa. Lisätään trifluorietikkahappoa
15 (3 ml). Sekoitetaan 2 tuntia jäähauteessa ja sitten lämmitetään
ympäristön lämpötilaan ja sekoitetaan vielä 2 tun-
tia. Haihdutetaan tyhjöissä, jolloin saadaan jäännös. Jään-
nökseen lisätään hiilitetrakloridia ja haihdutetaan tyh-
jössä, jolloin saadaan jäännös. Trituroidaan heksaanilla,
20 suodatetaan ja kuivataan tyhjöissä, jolloin saadaan otsikon
yhdiste.

Esimerkki 13

2-[4-(2-tio-3-fenyylipropionyylimino)-3-okso-1,3,-
4,5-tetrahydrobents[c]atsepin-2-yyli]-4-metyylivaleriaana-
25 happo, bentsyylitio, disulfidi

Kaavio 2, mahdollinen vaihe b:

2-[4-(2-tio-3-fenyylipropionyylimino)-3-okso-1,3,-
4,5-tetrahydrobents[c]atsepin-2-yyli]-4-metyylivaleriaana-
happo, tert-butyyliesteri, bentsyylitio, disulfidi
30 (1,02 mmol), anisoli (10,0 mmol) ja dikloorimetaani
(10 ml) yhdistetään. Jäähdytetään jäähauteessa. Lisätään
trifluorietikkahappoa (2,0 ml). Sekoitetaan 2,5 tuntia
jäähauteessa. Haihdutetaan tyhjöissä, jolloin saadaan jään-
nös. Jäännös liuotetaan dietyylieetteriin ja uutetaan 1 M
35 kloorivetyhappoliuoksella. Vesipitoista kerrosta uutetaan

dikloorimetaanilla. Orgaaniset kerrokset yhdistetään, kuivataan MgSO₄:lla, suodatetaan ja väkevöidään tyhjössä, jolloin saadaan jäännös. Jäännös kromatografoidaan silikageelillä, jolloin saadaan otsikon yhdiste.

5 **Esimerkki 14**

2-[4-(2-tio-3-fenyylipropionyyliamino)-3-okso-1,3,-
4,5-tetrahydrobents[c]atsepin-2-yyli]-4-metyylivaleriaana-
happo, etyyliitio, disulfidi

Kaavio 2, mahdollinen vaihe b:

10 2-[4-(2-tio-3-fenyylipropionyyliamino)-3-okso-
1,3,4,5-tetrahydrobents[c]atsepin-2-yyli]-4-metyylivale-
riaanahappo, tert-butyyliesteri, etyyliitio, disulfidi
(1,43 mmol), anisoli (10,0 mmol) ja dikloorimetaani
(14 ml) yhdistetään. Jäähdytetään jäähauteessa. Lisätään
15 trifluorietikkahappoa (2,0 ml). Sekoitetaan 2,5 tuntia
jäähhauteessa. Haihdutetaan tyhjössä, jolloin saadaan jään-
nös. Jäännös kromatografoidaan silikageelillä, jolloin
saadaan otsikon yhdiste.

Esimerkki 15

20 2-[4-(2-tio-3-fenyylipropionyyliamino)-3-okso-1,3,-
4,5-tetrahydrobents[c]atsepin-2-yyli]-4-metyylivaleriaana-
happo, 2-hydroksietyyliitio, disulfidi

Kaavio 2, mahdollinen vaihe b:

25 2-[4-(2-tio-3-fenyylipropionyyliamino)-3-okso-1,3,-
4,5-tetrahydrobents[c]atsepin-2-yyli]-4-metyylivaleriaana-
happo, tert-butyyliesteri, disulfidi, 2-hydroksietyyliitio,
disulfidi (0,9 mmol), anisoli (10,0 mmol) ja dikloorime-
taani (10 ml) yhdistetään. Jäähdytetään jäähauteessa. Li-
sätään trifluorietikkahappoa (2,0 ml). Sekoitetaan 2,5
30 tuntia jäähauteessa. Haihdutetaan tyhjössä, jolloin saa-
daan jäännös. Jäännös kromatografoidaan silikageelillä,
jolloin saadaan otsikon yhdiste.

Esimerkki 16

2-[4-(2-tio-3-fenyylipropionyyliamino)-3-okso-1,3,-
4,5-tetrahydrobents[c]atsepin-2-yyli]-4-metyylivaleriaana-
happo, 2-pyridyyli-metyyli-tio, disulfiditri-fluorietikkahap-
5 posuola

Kaavio 2, mahdollinen vaihe b:

2-[4-(2-tio-3-fenyylipropionyyliamino)-3-okso-1,3,-
4,5-tetrahydrobents[c]atsepin-2-yyli]-4-metyylivaleriaana-
happo, tert-butyyli-esteri, 2-pyridyyli-metyyli-tio, disulfi-
10 di (0,5 mmol), anisoli (6,9 mmol) ja dikloorimetaani
(15 ml) yhdistetään. Jäähdytetään jäähauteessa. Lisätään
trifluorietikkahappoa (1,4 ml). Sekoitetaan 3 tuntia jää-
hauteessa. Haihdutetaan tyhjöissä, jolloin saadaan jäännös.
15 Jäännökseen lisätään hiilitetrakloridia ja haihdutetaan
tyhjöissä, jolloin saadaan jäännös. Trituroidaan heksaanilla,
suodatetaan ja kuivataan, jolloin saadaan otsikon yhdiste.

Esimerkki 17

2-[4-(2-tio-3-fenyylipropionyyliamino)-3-okso-1,3,-
20 4,5-tetrahydrobents[c]atsepin-2-yyli]-4-metyylivaleriaana-
happo, 2-tioetikkahappomorfoliinikarboksiamidi, disulfidi

Kaavio 2, mahdollinen vaihe b:

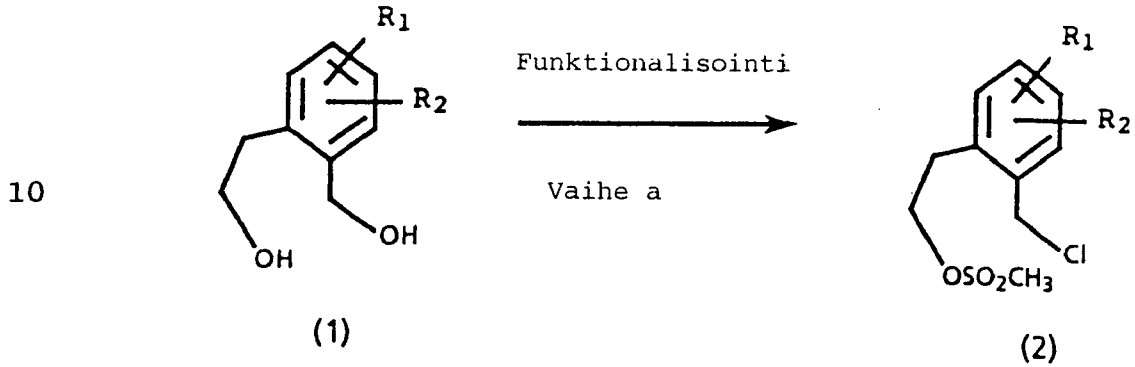
2-[4-(2-tio-3-fenyylipropionyyliamino)-3-okso-1,3,-
4,5-tetrahydrobents[c]atsepin-2-yyli]-4-metyylivaleriaana-
25 happo, tert-butyyli-esteri, 2-tioetikkahappomorfoliinikar-
boksiamidi, disulfidi (0,68 mmol), anisoli (6,9 mmol) ja
dikloorimetaani (7,5 ml) yhdistetään. Jäähdytetään jäähau-
teessa. Lisätään trifluorietikkahappoa (2,0 ml). Sekoite-
taan 2 tuntia jäähauteessa. Haihdutetaan tyhjöissä, jolloin
30 saadaan jäännös. Jäännös kromatografoidaan silikageelillä,
jolloin saadaan otsikon yhdiste.

Rakenteen (a) mukaiset yhdisteet voidaan valmistaa
käyttämällä tavallisen alan ammattimiehen hyvin tuntemia ja
ymmärtämiä menetelmiä ja tekniikoita. Yleinen synteesi-
35 kaavio näiden yhdisteiden valmistusta varten on esitetty

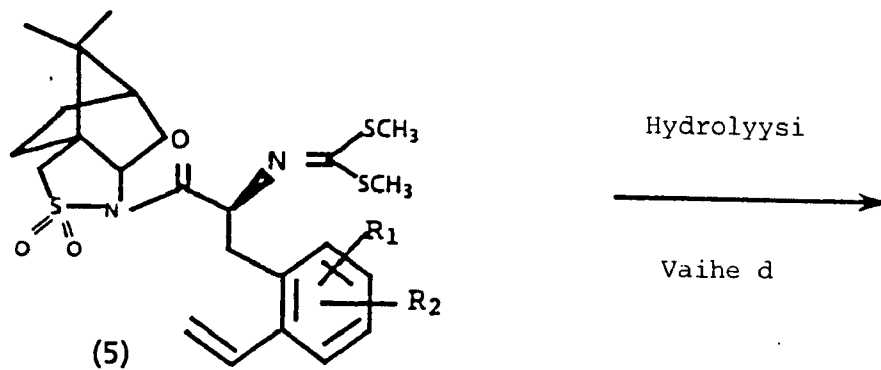
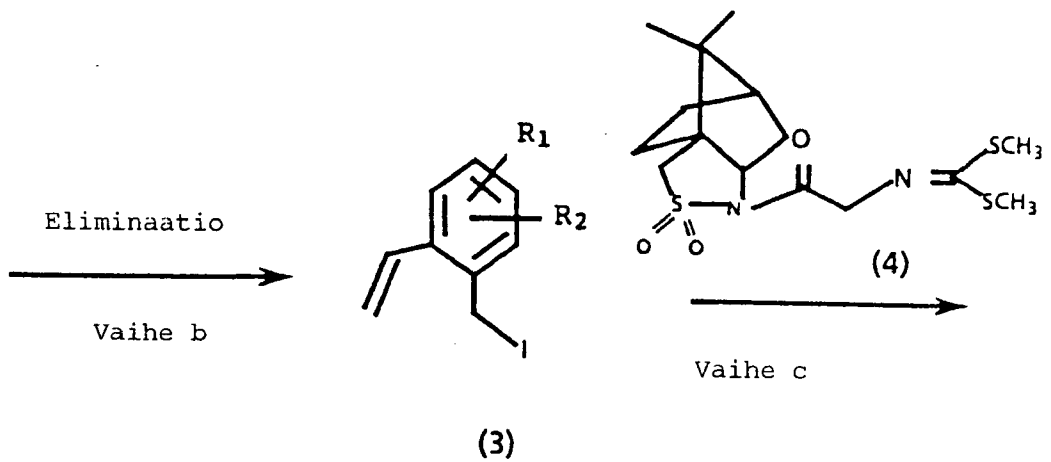
kaaviossa A, jossa kaikki substituentit, ellei toisin ole ilmoitettu, ovat edellä määritellyt.

Kaavio A

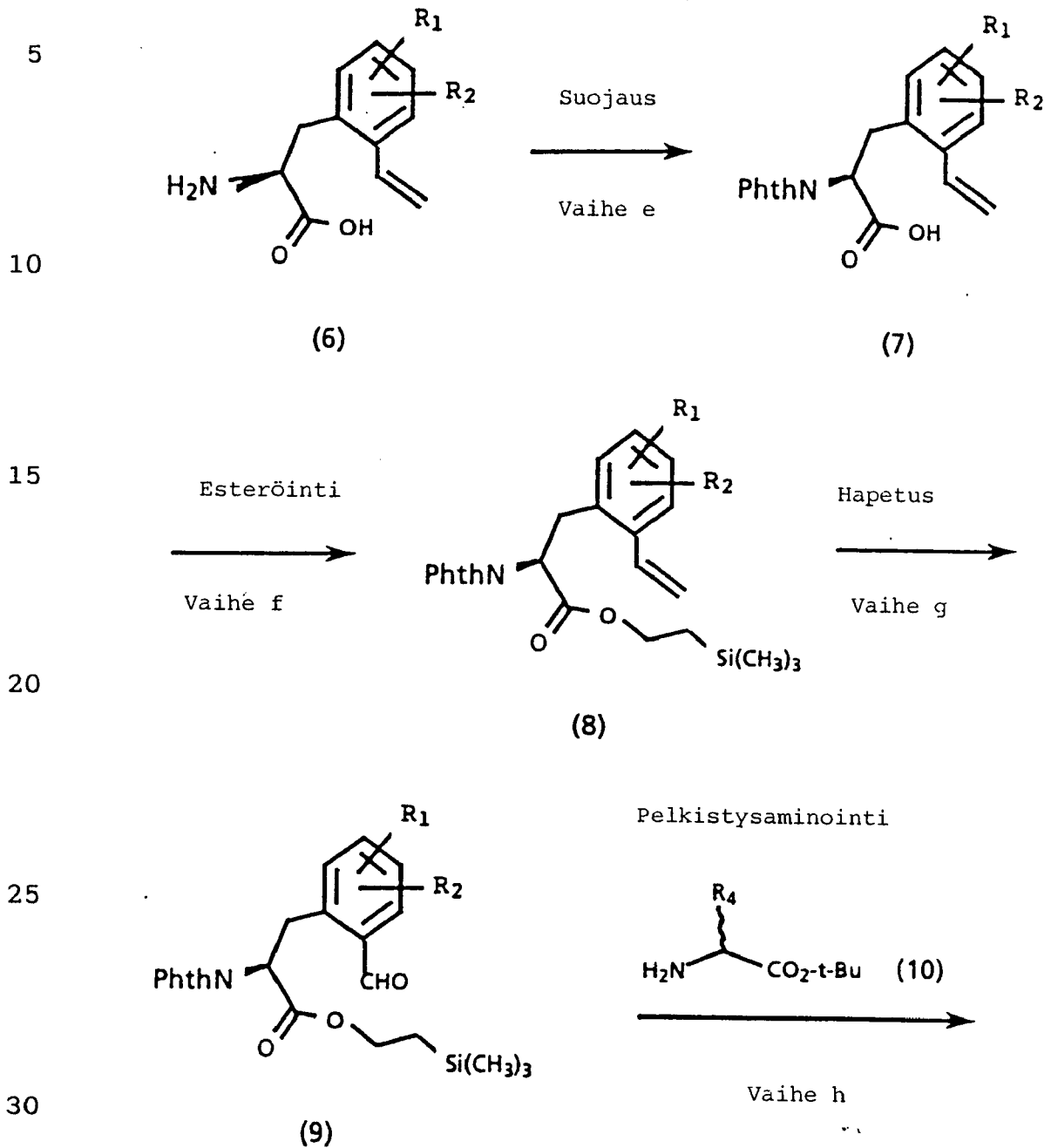
5



Additio/eliminaatio

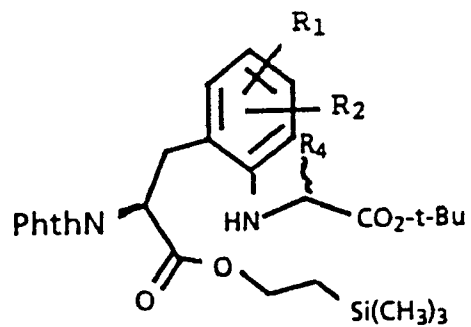


Kaavio A (jatkoa)



Kaavio A (jatkoa)

5



Hydrolyysi

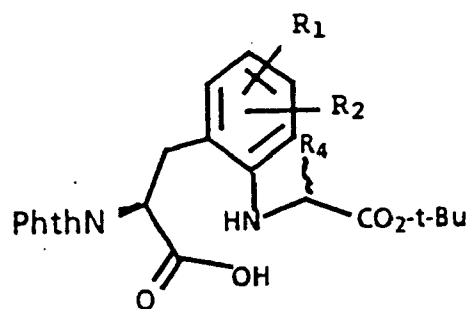


Vaihe i

10

(11)

15



Aminointi

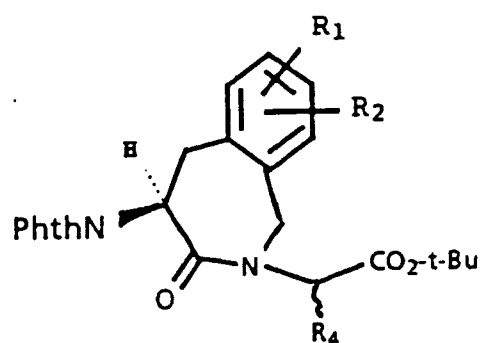


Vaihe j

20

(12)

25



Suojauksenpoisto

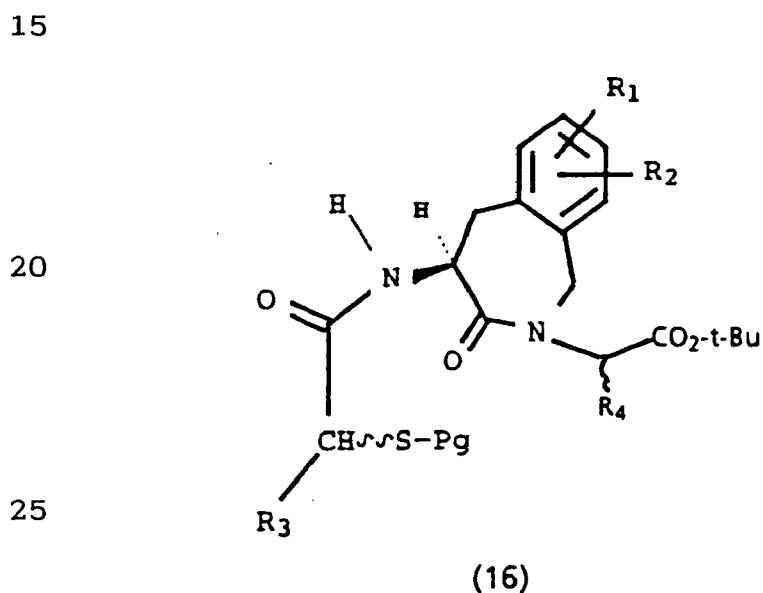
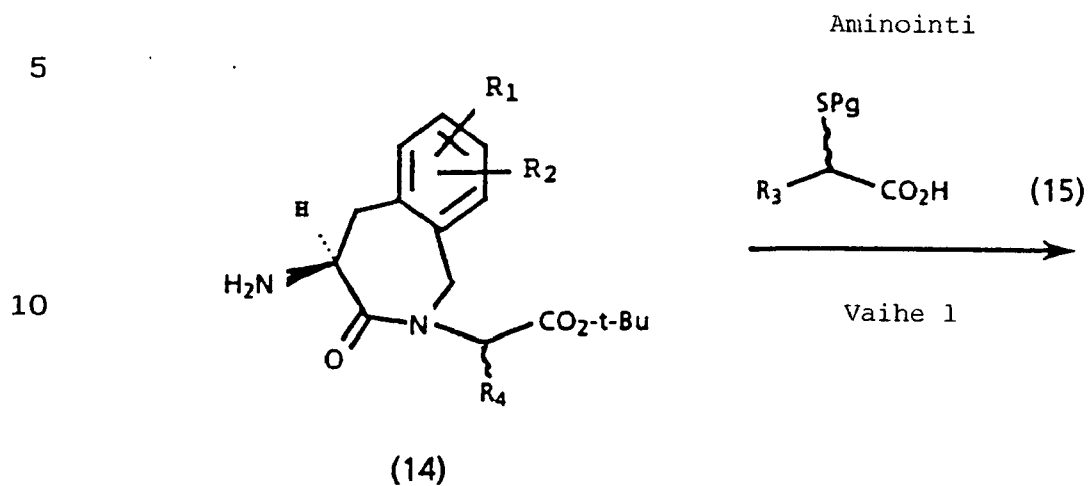


Vaihe k

30

(13)

Kaavio A (jatkoa)



Pg = asetyyli tai bentsoyyli

Vaiheessa a sopiva rakenteen (1) mukainen 2-(2-hydroksimetyylifenyyl)etanolijohdannainen funktionalisoidaan, jolloin saadaan vastaava rakenteen (2) mukainen metaanisulfonihappo-2-(2-kloorimetyylifenyyl)etyyliesterijohdannainen.

Esimerkiksi sopivaa rakenteen (1) mukaista 2-(2-hydroksimetyylifenyyli)etanoli johdannaista käsitellään aluksi litiumkloridilla ja sopivalla ei-nukleofiilisellä emäksellä, kuten kollidiinilla, sopivassa aproottisessa orgaanisessa liuottimessa, kuten dimetyyliformamidissa. Tämän jälkeen käsitellään sopivalla mesylointiaineella, kuten mesyylikloridilla. Reaktio suoritetaan tavallisesti lämpötilavälillä $-30\text{ }^{\circ}\text{C}$:sta huoneenlämpötilaan, edullisesti $0\text{ }^{\circ}\text{C}$:ssa, ja aikana, joka vaihtelee välillä 2 - 10 tuntia. Vastaava rakenteen (2) mukainen metaanisulfonihappo-2-(2-kloorimetyylifenyyli)etyyliesteri johdannainen otetaan talteen reaktioseoksesta alalla tunnetuilla uutomenetelmillä ja se voidaan puhdistaa kromatografialla.

Vaiheessa b rakenteen (2) mukaisen sopivan metaanisulfonihappo-2-(2-kloorimetyylifenyyli)etyyliesteri johdannaisen metaanisulfonaattifunktionaalisuus poistetaan ja kloori korvataan jodilla, jolloin saadaan vastaava rakenteen (3) mukainen 1-jodimetyyli-2-vinyylibentseeni johdannainen.

Esimerkiksi sopivaa rakenteen (2) mukaista metaanisulfonihappo-2-(2-kloorimetyylifenyyli)etyyliesteri johdannaista käsitellään sopivalla ei-nukleofiilisellä emäksellä, kuten kalium-tert-butoksidilla, sopivassa aproottisessa orgaanisessa liuottimessa, kuten dietyylieetterissä. Reaktio suoritetaan tavallisesti lämpötilavälillä $-30\text{ }^{\circ}\text{C}$:sta huoneenlämpötilaan, edullisesti $0\text{ }^{\circ}\text{C}$:ssa, ja aikana, joka vaihtelee 15 minuutista 5 tuntiin. Vastaava 1-kloorimetyyli-2-vinyylibentseeni johdannainen otetaan talteen reaktioseoksesta alalla tunnetuilla uutomenetelmillä.

Sopivaa 1-kloorimetyyli-2-vinyylibentseeni johdannaista käsitellään sitten sopivalla jodausaineella, kuten natriumjodidilla, sopivassa liuottimessa, kuten asetonissa. Reaktio toteutetaan lämpötilavälillä huoneenlämpötilasta liuottimen refluksointilämpötilaan ja aikana, joka

vaihtelee 15 minuutista 5 tuntiin. Vastaava rakenteen (3) mukainen 1-jodimetyyli-2-vinyylibentseenijohdannainen otetaan talteen reaktioseoksesta alalla tunnetuilla uut-tomenetelmillä.

5 Vaiheessa c sopivalle rakenteen (3) mukaiselle 1-jodimetyyli-2-vinyylibentseenijohdannaiselle suoritetaan additio, eliminaatioreaktio 2-(bismetyylisulfonyylimetyleeniamino)-1-(10,10-dimetyyli-3,3-diokso-3-tia-4-atsatrisyklo[5.2.1.0 1,5]dek-4-yyli)etanonin (4) kanssa, jol-
10 loin saadaan vastaava rakenteen (5) mukainen 2-(bismetyylisulfonyylimetyleeniamino)-1-(10,10-dimetyyli-3,3-diokso-3-tia-4-atsatrisyklo[5.2.1.0 1,5]dek-4-yyli)-3-(2-vinyylifenyyli)propan-1-onijohdannainen.

Esimerkiksi 2-(bismetyylisulfonyylimetyleeniami-
15 no)-1-(10,10-dimetyyli-3,3-diokso-3-tia-4-atsatrisyklo[5.2.1.0 1,5]dek-4-yyli)etanonin (4) anioni muodostetaan käsittelemällä 2-(bismetyylisulfonyylimetyleeniamino)-1-(10,10-dimetyyli-3,3-diokso-3-tia-4-atsatrisyklo[5.2.1.0 1,5]dek-4-yyli)etanonia (4) sopivalla ei-nukleofiilisellä
20 emäksellä, kuten n-butyylilitiumilla, sopivassa aprottisessa orgaanisessa liuottimessa, kuten tetrahydrofuraanisessa. Reaktio toteutetaan lämpötilavälillä -78 °C - -30 °C, edullisesti -78 °C:ssa, ja aikana, joka vaihtelee 30 mi-
25 nuutista 5 tuntiin. Sen jälkeen lisätään sopivaa rakenteen (3) mukaista 1-jodimetyyli-2-vinyylibentseenijohdannaista ja reaktio toteutetaan lämpötilavälillä -78 °C:sta huoneenlämpötilaan aikana, joka vaihtelee välillä 1 - 24 tun-
tia. Vastaava rakenteen (5) mukainen 2-(bismetyylisulfonyylimetyleeniamino)-1-(10,10-dimetyyli-3,3-diokso-3-tia-
30 4-atsatrisyklo[5.2.1.0 1,5]dek-4-yyli)-3-(2-vinyylifenyyli)propan-1-onijohdannainen otetaan talteen reaktioseoksesta alalla tunnetuilla uut-tomenetelmillä ja se voidaan puhdistaa kromatografialla.

Vaiheessa d sopiva rakenteen (5) mukainen 2-(bis-
35 metyylisulfonyylimetyleeniamino)-1-(10,10-dimetyyli-3,3-

diokso-3-tia-4-atsatrisyklo[5.2.1.0 1,5]dek-4-yyli)-3-(2-vinyylifenyyli)propan-1-onijohdannainen hydrolysoidaan, jolloin saadaan vastaava rakenteen (6) mukainen 2-amino-3-(2-vinyylifenyyli)propionihappojohdannainen.

5 Esimerkiksi sopivaa rakenteen (5) mukaista 2-(bis-metyylisulfonyylimetyleeniamino)-1-(10,10-dimetyyli-3,3-diokso-3-tia-4-atsatrisyklo[5.2.1.0 1,5]dek-4-yyli)-3-(2-vinyylifenyyli)propan-1-onijohdannaista käsitellään sopivalla hapolla, kuten vesipitoisella kloorivetyhapolla, 10 sopivassa orgaanisessa liuottimessa, kuten tetrahydrofuraanissa. Reaktio toteutetaan lämpötilavälillä -10 °C:sta huoneenlämpötilaan ja aikana, joka vaihtelee 30 minuutista 20 tuntiin. Liuotin haihdutetaan, minkä jälkeen käsitellään epäorgaanisella emäksellä, kuten vesipitoisella 15 litiumhydroksidilla, sopivassa orgaanisessa liuottimessa, kuten tetrahydrofuraanissa. Reaktio toteutetaan lämpötilavälillä -10 °C:sta huoneenlämpötilaan ja aikana, joka vaihtelee 30 minuutista 10 tuntiin. Happamaksi tekemisen jälkeen erotettiin vastaava rakenteen (6) mukainen 2-amino-3-(2-vinyylifenyyli)propionihappojohdannainen haihduttamalla liuottimet. 20

Vaiheessa e rakenteen (6) mukaisen sopivan 2-amino-3-(2-vinyylifenyyli)propionihappojohdannaisen aminofunktionaalisuus suojataan, jolloin saadaan vastaava rakenteen (7) mukainen 2-(1,3-diokso-1,3-dihydroisoindol-2-yyli)-3-(2-vinyylifenyyli)propionihappojohdannainen. 25

Esimerkiksi sopivaa rakenteen (6) mukaista 2-amino-3-(2-vinyylifenyyli)propionihappojohdannaista käsitellään sopivalla ftalimidisuoja-aineella, kuten N-etoksi-karbonyyliftalimidillä, niin että läsnä on sopiva ei-nukleofiilinen emäs, kuten vesipitoinen natriumkarbonaatti. Reaktio toteutetaan lämpötilavälillä -10 °C:sta huoneenlämpötilaan ja aikana, joka vaihtelee välillä 1 - 10 tuntia. Vastaava rakenteen (7) mukainen 2-(1,3-diokso-1,3-dihydroisoindol-2-yyli)-3-(2-vinyylifenyyli)propionihapp- 35

ojohtannainen otetaan talteen reaktioalueelta alalla tunnetuilla uuttomenetelmillä ja se voidaan puhdistaa kromatografialla.

Vaiheessa f rakenteen (7) mukaisen sopivan 2-(1,3-diokso-1,3-dihydroisoindol-2-yyli)-3-(2-vinyylifenyyli)-propionihappojohdannaisen karboksyylihappofunktionaalisuus esteröidään, jolloin saadaan vastaava rakenteen (8) mukainen 2-(1,3-diokso-1,3-dihydroisoindol-2-yyli)-3-(2-vinyylifenyyli)propionihappo, 2-trimetyylisilanyylietyyliesterijohdannainen.

Esimerkiksi sopivaa rakenteen (7) mukaista 2-(1,3-diokso-1,3-dihydroisoindol-2-yyli)-3-(2-vinyylifenyyli)-propionihappojohdannaisesta käsitellään 2-(trimetyylisilyyli)etanolilla niin, että läsnä on sopiva ei-nukleofiilinen emäs, kuten pyridiini, sopivassa orgaanisessa liuottimessa, kuten tetrahydrofuraanissa. Reaktio toteutetaan lämpötilavälillä -30 °C:sta huoneenlämpötilaan ja aikana, joka vaihtelee 5 minuutista 2 tuntiin. Sen jälkeen lisätään kytkentäainetta, kuten 1-(3-dimetyyliaminopropyyli)-3-etyylikarbodi-imidiä (EDC:tä) ja reaktio toteutetaan lämpötilavälillä -30 °C:sta huoneenlämpötilaan aikana, joka vaihtelee välillä 10 - 48 tuntia. Vastaava rakenteen (8) mukainen 2-(1,3-diokso-1,3-dihydroisoindol-2-yyli)-3-(2-vinyylifenyyli)propionihappo, 2-trimetyylisilanyylietyyliesterijohdannainen otetaan talteen reaktioalueelta alalla tunnetuilla uuttomenetelmillä ja se voidaan puhdistaa kromatografialla.

Vaiheessa g rakenteen (8) mukaisen sopivan 2-(1,3-diokso-1,3-dihydroisoindol-2-yyli)-3-(2-vinyylifenyyli)-propionihapon 2-trimetyylisilanyylietyyliesterijohdannaisen vinyylifunktionaalisuus hapetetaan, jolloin saadaan vastaava rakenteen (9) mukainen 2-(1,3-diokso-1,3-dihydroisoindol-2-yyli)-3-(2-formyyliifenyyli)propionihappo, 2-trimetyylisilanyylietyyliesterijohdannainen.

Esimerkiksi sopivaa rakenteen (8) mukaista 2-(1,3-diokso-1,3-dihydroisoindol-2-yyli)-3-(2-vinyylifenyyli)-propionihapon 2-trimetyylisilanyylietyyliesterijohdannais-
 ta käsitellään otsonilla sopivassa orgaanisessa liuottimessa, kuten metyleenikloridissa ja metanolissa. Reaktio
 5 toteutetaan lämpötilavälillä -78 °C - -50 °C ja aikana, joka tarvitaan, jotta sininen väri jää pysyväksi. Kun reaktioseos on puhdistettu tyypellä ja reaktio pysäytetty alalla tunnetuilla menetelmillä, kuten lisäämällä dime-
 10 tyylisulfidia ja pyridiiniä, vastaava rakenteen (9) mukainen 2-(1,3-diokso-1,3-dihydroisoindol-2-yyli)-3-(2-formyyli-
 lifenyyli)propionihapon 2-trimetyylisilanyylietyyliesterijohdannainen otetaan talteen reaktioalueelta alalla tunnetuilla uuttomenetelillä ja se voidaan puhdistaa kromato-
 15 grafialla.

Vaiheessa h sopivalle rakenteen (9) mukaiselle 2-(1,3-diokso-1,3-dihydroisoindol-2-yyli)-3-(2-formyyli-
 lifenyyli)propionihapon 2-trimetyylisilanyylietyyliesterijohdannaiselle suoritetaan pelkistävä aminointi rakenteen
 20 (10) mukaisen sopivan aminohapon tert-butyylisterijohdannaisen kanssa, jolloin saadaan vastaava rakenteen (11) mukainen 2-{2-[2-(1,3-diokso-1,3-dihydroisoindol-2-yyli)-
 2-(2-trimetyylisilanyylietoksikarbonyyli)etyyli]bentsyyliamino}etikahapon tert-butyylisterijohdannainen.

Esimerkiksi sopivaa rakenteen (9) mukaista 2-(1,3-diokso-1,3-dihydroisoindol-2-yyli)-3-(2-formyyli-
 lifenyyli)propionihapon 2-trimetyylisilanyylietyyliesterijohdannaisesta käsitellään sopivalla rakenteen (10) mukaisella
 aminohapon tert-butyylisterijohdannaisella sopivassa polaarisisessä orgaanisessa liuottimessa, kuten metanolissa,
 30 dehydratointiolosuhteissa, kuten käyttäen molekyyliseulaa. Reaktio toteutetaan lämpötilassa, joka vaihtelee -10 °C:sta liuottimen refluksointilämpötilaan, edullisesti huoneenlämpötilassa, ja aikana, joka vaihtelee 30 mi-
 35 nuutista 10 tuntiin. Sitten lisätään sopivaa pelkistintä,

kuten natriumsyaaniboorihydridiä, ja reaktio toteutetaan lämpötilassa, joka vaihtelee -10 °C:sta liuottimen refluksointilämpötilaan, edullisesti huoneenlämpötilassa, ja aikana, joka vaihtelee 30 minuutista 24 tuntiin. Vastaava rakenteen (11) mukainen 2-{2-[2-(1,3-diokso-1,3-dihydroisoindol-2-yyli)-2-(2-trimetyylisilanyylietoksikarbonyyli)etyyli]bentsyyliamino}etikkahapon tert-butyyliesterijohdannainen otetaan talteen reaktioalueelta alalla tunnetuilla uutomenetelmillä ja se voidaan puhdistaa kromatografialla.

Kuten alan ammattimies ymmärtää, niissä rakenteen (10) mukaisissa aminohapon tert-butyyliesterijohdannaisissa, joissa R₄:ssä on reaktiivinen funktionaalisuus, reaktiivinen funktionaalisuus voidaan suojata ennen vaiheen h pelkistävää aminointireaktiota. Tavallinen alan ammattimies tuntee hyvin sopivien suojaryhmien valinnan ja käytön ja se on kuvattu julkaisussa "Protective Groups in Organic Synthesis", Theodora W. Greene, Wiley (1981).

Vaiheessa i rakenteen (11) mukaisen sopivan 2-{2-[2-(1,3-diokso-1,3-dihydroisoindol-2-yyli)-2-(2-trimetyylisilanyylietoksikarbonyyli)etyyli]bentsyyliamino}etikkahapon tert-butyyliesterijohdannaisen esterifunktionaalisuus hydrolysoidaan, jolloin saadaan vastaava rakenteen (12) mukainen 2-{2-[2-(1,3-diokso-1,3-dihydroisoindol-2-yyli)etyyli]bentsyyliamino}etikkahapon tert-butyyliesterijohdannainen.

Esimerkiksi sopivaa rakenteen (11) mukaista 2-{2-[2-(1,3-diokso-1,3-dihydroisoindol-2-yyli)-2-(2-trimetyylisilanyylietoksikarbonyyli)etyyli]bentsyyliamino}etikkahapon tert-butyyliesterijohdannaista käsitellään sopivalla fluoridireagenssilla, kuten tetrabutyyliammoniumfluoridilla, sopivassa orgaanisessa liuottimeksa, kuten tetrahydrofuraanissa. Reaktio toteutetaan lämpötilavälillä -10 °C:sta huoneenlämpötilaan ja aikana, joka vaihtelee 30 minuutista 5 tuntiin. Vastaava rakenteen (12) mu-

kainen 2-{2-[2-(1,3-diokso-1,3-dihydroisoindol-2-yyli)-
 etyyli]bentsyyliamino}etikkahapon tert-butyyliesterijoh-
 dannainen otetaan talteen reaktioalueelta alalla tunne-
 tuilla uuttomenetelmillä ja se voidaan puhdistaa kromato-
 grafialla.

5 Vaiheessa j sopivalle rakenteen (12) mukaiselle 2-
 {2-[2-(1,3-diokso-1,3-dihydroisoindol-2-yyli)etyyli]bent-
 syyliamino}etikkahapon tert-butyyliesterijohdannaiselle
 suoritetaan renkaansulkemisaminointireaktio, jolloin saa-
 10 daan rakenteen (13) mukainen vastaava 2-[4-(1,3-diokso-
 1,3-dihydroisoindol-2-yyli)-3-okso-1,3,4,5-tetrahydro-
 bents[c]atsepin-2-yyli]etikkahapon tert-butyyliesteri-
 johdannainen.

15 Esimerkiksi sopivaa rakenteen (12) mukaista 2-{2-
 [2-(1,3-diokso-1,3-dihydroisoindol-2-yyli)etyyli]bentsyy-
 liamino}etikkahapon tert-butyyliesterijohdannaista käsi-
 tellään sopivalla aktivointiaineella, kuten isobutyyli-
 kloroformaatilla, niin että läsnä on sopiva ei-nukleofii-
 linen emäs, kuten N-metyylimorfoliini, sopivassa orgaani-
 20 sessä liuottimessa, kuten tetrahydrofuraanissa. Reaktio
 toteutetaan lämpötilavälillä -10 °C:sta liuottimen ref-
 luksointilämpötilaan ja aikana, joka vaihtelee 30 minu-
 tista 10 tuntiin. Vastaava rakenteen (13) mukainen 2-[4-
 (1,3-diokso-1,3-dihydroisoindol-2-yyli)-3-okso-1,3,4,5-
 25 tetrahydrobents[c]atsepin-2-yyli]etikkahapon tert-butyyl-
 iesterijohdannainen otetaan talteen reaktioalueelta
 haihduttamalla ja se voidaan puhdistaa kromatografialla.

Vaiheessa k rakenteen (13) mukaisen sopivan 2-[4-
 (1,3-diokso-1,3-dihydroisoindol-2-yyli)-3-okso-1,3,4,5-
 30 tetrahydrobents[c]atsepin-2-yyli]etikkahapon tert-butyyl-
 iesterijohdannaisen ftalimidisuojarahmä poistetaan, jol-
 loin saadaan vastaava rakenteen (14) mukainen 2-(4-amino-
 3-okso-1,3,4,5-tetrahydrobents[c]atsepin-2-yyli)etikkaha-
 pon tert-butyyliesterijohdannainen.

Esimerkiksi sopivan ftalimidisuojarahmät voidaan poistaa käyttäen hydratsiinimonohydraattia sopivassa proottisessa liuottimessa, kuten metanolissa. Reaktio toteutetaan lämpötilavälillä -10 °C:sta huoneenlämpötilaan ja aikana, joka vaihtelee 2 tunnista 4 vuorokauteen. Vastaa-
 5 taava rakenteen (14) mukainen 2-(4-amino-3-okso-1,3,4,5-tetrahydrobents[c]atsepin-2-yyli)etikkahapon tert-butyyliesterijohdannainen otetaan talteen reaktioalueelta suodattamalla ja haihduttamalla.

10 Vaiheessa 1 sopivalle rakenteen (14) mukaiselle 2-(4-amino-3-okso-1,3,4,5-tetrahydrobents[c]atsepin-2-yyli)etikkahapon tert-butyyliesterijohdannaiselle suoritetaan aminointireaktio rakenteen (15) mukaisen sopivan tioasettaatti- tai tiobentsoaattijohdannaisen kanssa, jolloin
 15 saadaan rakenteen (16) mukainen vastaava 2-[4-(2-asetyyli-sulfanyyli-3-fenyylipropionyyliamino)-3-okso-1,3,4,5-tetrahydrobents[c]atsepin-2-yyli]etikkahapon tert-butyyliesterijohdannainen tai vastaava 2-[4-(2-bentsoyylisulfanyyli-3-fenyylipropionyyliamino)-3-okso-1,3,4,5-tetrahydro-
 20 bents[[c]atsepin-2-yyli]etikkahapon tert-butyyliesterijohdannainen.

Esimerkiksi sopiva rakenteen (14) mukainen 2-(4-amino-3-okso-1,3,4,5-tetrahydrobents[c]atsepin-2-yyli)etikkahapon tert-butyyliesterijohdannainen voidaan saat-
 25 taa reagoimaan rakenteen (15) mukaisen sopivan tioasettaatti- tai tiobentsoaattijohdannaisen kanssa niin, että läsnä on kytkentäreagenssi, kuten EEDQ (1-etoksikarbonyyli-2-etoksi-1,2-dihydrokinoliini), DCC (1,3-disykloheksyylikarbodi-imidi) tai dietyylisyaanifosfonaatti, sopi-
 30 vassa aproottisessa liuottimessa, kuten metyleenikloridissa. Reaktio toteutetaan lämpötilavälillä -10 °C:sta huoneenlämpötilaan ja aikana, joka vaihtelee 1 tunnista 2 vuorokauteen. Vastaava rakenteen (16) mukainen 2-[4-(2-bentsoyylisulfanyyli-3-fenyylipropionyyliamino)-3-okso-
 35 1,3,4,5-tetrahydrobents[c]atsepin-2-yyli]etikkahapon tert-

butyyliesterijohdannainen otetaan talteen reaktioalueelta alalla tunnetuilla uuttomenetelmillä ja se voidaan puhdistaa kromatografialla.

Kuten alan ammattimies ymmärtää, ne rakenteen (16) mukaiset 2-[4-(2-asetyyლისulfanyyli-3-fenyylipropionyyli-amino)-3-okso-1,3,4,5-tetrahydrobents[c]atsepin-2-yyli]etikahapon tert-butyyliesterijohdannaiset tai 2-[4-(2-bentsoyylisulfanyyli-3-fenyylipropionyyliamino)-3-okso-1,3,4,5-tetrahydrobents[c]atsepin-2-yyli]etikahapon tert-butyyliesterijohdannaiset, joissa Pg on asetyyli- tai bentsoyylisuojarahma, voidaan hydrolysoida käyttäen alalla hyvin tunnettuja tekniikoita ja menetelmiä, jolloin saadaan rakenteen (a) mukaisia yhdisteitä. Tavallinen alan ammattimies tuntee hyvin sopivien suojauspoistoaineiden valinnan ja käytön ja se on kuvattu julkaisussa "Protective Groups in Organic Synthesis", Theodora W. Greene, Wiley (1981).

Esimerkiksi rakenteen (a) mukaisen sopivan tioasettaatti- tai tiobentsoaattiyhdisteen tioasettaatti- tai tiobentsoaattifunktionaalisuus, jossa rakenteessa R₅ on t-butyyli, voidaan poistaa litiumhydroksidilla sopivassa liuotinseoksessa, kuten tetrahydrofuraanissa ja etanolissa, jolloin saadaan sopiva rakenteen (a) mukainen tioyhdiste, jota käytetään lähtöaineena kaaviossa 1.

Rakenteen (a) mukaisen sopivan tioasettaatti- tai tiobentsoaattiyhdisteen t-butyyliesterifunktionaalisuus, jossa rakenteessa R₅ on t-butyyli, voidaan poistaa käyttäen trifluorietikkahappoa, jolloin saadaan sopiva rakenteen (a) mukainen tioasettaatti- tai tiobentsoaattikarboksylihappoyhdiste, jossa R₅ on vety.

Vaihtoehtoisesti rakenteen (a) mukaisen sopivan tioasettaatti- tai tiobentsoaattikarboksylihappoyhdisteen karboksylihappofunktionaalisuus voidaan uudelleenesteröidä käyttäen alalla hyvin tunnettuja ja ymmärrettyjä tekniikoita ja menetelmiä. Esimerkiksi rakenteen (a) mukai-

nen tioasetaatti- tai tiobentsoaattiyhdiste, jossa R_5 on C_{1-4} -alkyyli tai Ar-Y-ryhmä tai $-CH_2O-C(O)C(CH_3)_3$, voidaan valmistaa käsittelemällä rakenteen (a) mukaista tioasetaatti- tai tiobentsoaattikarboksyylihappoyhdistettä, jossa R_5 on vety, sopivalla C_{1-4} -alkyylihalogenidilla, Ar-Y-halogenidilla tai kloorimetyylipivalaattilla sopivassa aprottisessa liuottimessa, kuten dimetyyliformamidissa, yhdessä ei-nukleofiilisen emäksen, kuten cesiumkarbonaatin, kanssa.

Rakenteen (a) mukaisen sopivan tioasetaatti- tai tiobentsoaattiyhdisteen tioasetaatti- tai tiobentsoaattifunktionaalisuudet, jossa rakenteessa R_5 on C_{1-4} -alkyyli tai Ar-Y-ryhmä tai $-CH_2O-C(O)C(CH_3)_3$, voidaan hydrolysoida vastaaviksi rakenteen (a) mukaisiksi tiolihdisteiksi ammoniakilla sopivassa prottisessa liuottimessa, kuten metanolissa.

Lähtöaineet kaaviossa A esitetyissä yleisissä synteesimenetelmissä käyttöä varten ovat tavallisen alan ammattimiehen helposti saatavissa. Esimerkiksi 2-(bismetyylisulfanyylimetyleeniamino)-1-(10,10-dimetyyli-1,3-dioksos-3-tia-4-atsatrisyklo[5.2.1.0 1,5]dek-4-yyli)etanoni on kuvattu julkaisussa Tetrahedron Letters, s. 6009, 1989.

Seuraavissa esimerkeissä esitetään tavallisia kaaviossa A kuvattuja tavallisia synteesejä. Nämä esimerkit on ymmärrettävä ainoastaan valaiseviksi eikä niiden tarkoiteta rajoittavan keksinnön piiriä millään tavalla. Tässä käytettyinä seuraavilla termeillä on ilmoitetut merkitykset: "g" viittaa grammoihin; "mmol" viittaa millimoolleihin; "ml" viittaa millilitroihin; "kp." viittaa kiehumispisteeseen; "°C" viittaa Celsius-asteisiin; "mmHg" viittaa elohopeamillimetreihin; "µl" viittaa mikrolitroihin; "µg" viittaa mikrogrammoihin ja "µM" viittaa mikromolaarisuuteen.

Esimerkki 18

2-[4-(2-bentsyylisulfanyyli-3-fenyylipropionyylimino)-3-okso-1,3,4,5-tetrahydrobents[c]atsepin-2-yyli]-4-metyylivaleriaanahapon tert-butyyliesterin valmistus

5 Vaihe a: Metaanisulfonihappo-2-(2-kloorimetyylifenyyli)etyyliesteri

Homoftaalihappo (22,2 g, 0,123 mmol) liuotetaan tetrahydrofuraaniin (250 ml) ja lisätään tipoittain huoneenlämpötilassa lietteeseen, jonka muodostaa litiumalumiinihydridi (15,5 g, 0,407 mol) tetrahydrofuraanissa (500 ml). Kuumennetaan palautusjäähdyttären 18 tuntia, jäähdytetään jäähauteessa ja lisätään varovasti tipoittain vettä (16 ml) ja sen jälkeen 50-%:ista natriumhydroksidia (16 ml). Jäähaude poistetaan, lisätään hitaasti vettä sekoittaen ja sekoitetaan, kunnes harmaa sakka muuttuu valkoiseksi ja kaasun kehitys lakkaa. Suodatetaan kiinteä aine pestään metyleenikloridilla, kuivataan (MgSO₄) ja liuotin haihdutetaan tyhjöissä, jolloin saadaan 2-(2-hydroksimetyylifenyyli)etanoli viskoosina öljynä (18,4 g, 98 %).

2-(2-hydroksimetyylifenyyli)etanoli (12,0 g, 78,8 mmol) ja kollidiini (23 ml, 0,17 mol) sekoitetaan ja käsitellään litiumkloridilla (7,35 g, 0,173 mmol) dimetyylliformamidissa (125 ml). Jäähdytetään jäähauteessa ja käsitellään lisäämällä tipoittain mesyylikloridia (13,4 ml). Sekoitetaan 0 °C:ssa 4 tuntia, jakoutetaan jäävedellä (300 ml) ja 1:1-suhteisella eetterin ja pentaanin seoksella (2 x 400 ml). Orgaaninen kerros pestään kylläisellä CuSO₄-liuoksella (2 x 200 ml), kuivataan (MgSO₄) ja puhdistetaan silikageelikromatografialla (2,5:1-suhteinen heksaani/etyyliasetatti, sitten 2:1-suhteinen heksaani/etyyliasetatti), jolloin saadaan otsikon yhdiste vaaleankeltaisena öljynä (8,8 g, 45 %).

Vaihe b: 1-jodimetyyli-2-vinyylibentseeni

Metaanisulfonihappo-2-(2-kloorimetyylifenyyli)etyyliesteri (8,8 g, 35,4 mmol) liuotetaan eetteriin (80 ml) ja jäädytetään -35 °C:seen. Lisätään kalium-t-butoksidia (10 g, 89 mmol) ja sekoitetaan 30 minuuttia. Lisätään vettä (50 ml) ja eetteriä (150 ml), uutetaan, kuivataan (Na₂SO₄) ja puhdistetaan silikageelikromatografialla (2:3-suhteinen metyleenikloridi/pentaani), jolloin saadaan 1-kloorimetyyli-2-vinyylibentseeni värittömänä öljynä (4,43 g, 82 %).

1-kloorimetyyli-2-vinyylibentseeni (4,0 g, 26 mmol) liuotetaan asetoniin (100 ml) ja lisätään natriumjodidia (4,5 g, 30 mmol). Kuumennetaan varovasti palautusjäähdyttämällä 30 minuuttia. Jäädytetään, lisätään vettä (150 ml) ja uutetaan pentaanilla (200 ml). Kuivataan (MgSO₄) ja liuotin haihdutetaan tyhjiössä, jolloin saadaan otsikon yhdiste (95 %).

Vaihe c: 2-(bismetyylisulfanyylimetyleeniamino)-1-(10,10-dimetyyli-3,3-diokso-3-tia-4-atsatrisyklo[5.2.1.0 1,5]dek-4-yyli)-3-(2-vinyylifenyyli)propan-1-oni

2-(bismetyylisulfanyylimetyleeniamino)-1-(10,10-dimetyyli-3,3-diokso-3-tia-4-atsatrisyklo[5.2.1.0 1,5]dek-4-yyli)etanoni (7,91 g, 21,0 mmol) liuotetaan tetrahydrofuraaniin (100 ml) ja jäädytetään -78 °C:seen. Käsitellään lisäämällä tipoitain 1,6 M n-butyylilitiumia heksaanissa (13,1 ml, 21 mmol). Sekoitetaan 1,5 tuntia, sitten lisätään heksametyylifosfotriamidia (HMPA:ta) (4,25 ml, 24,4 mmol). Sekoitetaan 15 minuuttia ja lisätään kanyylin kautta 1-jodimetyyli-2-vinyylibentseenin (6,1 g, 25 mmol) liuos tetrahydrofuraanissa (100 ml). Sekoitetaan yön yli huoneenlämpötilassa, jakouutetaan kylläisellä ammoniumkloridilla (2 x 75 ml) ja etyyliasetaatilla (400 ml). Kuivataan (Na₂SO₄) ja puhdistetaan silikageelikromatografialla (2,5:1-suhteinen heksaani/etyyliasetaatit), jolloin saadaan otsikon yhdiste valkoisena kiinteänä aineena (4,5 g).

Vaihe d: 2-amino-3-(2-vinyylifenyyli)propionihappo

2-(bismetyylisulfanyylimetyleeniamino)-1-(10,10-dimetyyli-3,3-diokso-3-tia-4-atsatrisyklo[5.2.1.0 1,5]-dek-4-yyli)-3-(2-vinyylifenyyli)propan-1-oni (5,21 g, 10,6 mmol) liuotetaan tetrahydrofuraaniin (100 ml) ja 0,75 N kloorivetyhappoon (100 ml). Sekoitetaan huoneenlämpötilassa 24 tuntia, liuotin haihdutetaan tyhjössä, jolloin saadaan vetykloridisuola valkoisena kiinteänä aineena. Liuotetaan tetrahydrofuraaniin (200 ml) ja veteen (50 ml), lisätään litiumhydroksidimonohydraattia (1,9 g, 4,5 mmol) ja sekoitetaan huoneenlämpötilassa typpi-atmosfäärissä 4 tuntia. Uutetaan metyleenikloridiin (200 ml) ja pestään 2 N natriumhydroksidilla (50 ml). Tehdään happamaksi pH-välille 2 - 3 jäädyttämällä samalla jäähauteella ja väkevöidään tyhjössä, jolloin saadaan otsikon yhdiste luonnonvalkoisena kiinteänä aineena (3,40 g, 100 %).

Vaihe e: 2-(1,3-diokso-1,3-dihydroisoindol-2-yyli)-3-(2-vinyylifenyyli)propionihappo

2-amino-3-(2-vinyylifenyyli)propionihappo (3,40 g) liuotetaan veteen (75 ml) ja lisätään natriumkarbonaattia (1,97 g, 18,6 mmol) ja N-etoksikarbonyylifalimidia (2,81 g, 12,8 mmol). Sekoitetaan 2,5 tuntia, pestään metyleenikloridilla (200 ml), tehdään happamaksi pH-arvoon 1 kylmällä väkevällä kloorivetyhapolla ja uutetaan etyyliasetaatilla (3 x 200 ml), kuivataan (Na_2SO_4), liuotin haihdutetaan tyhjössä ja puhdistetaan silikageelikromatografialla (1:1:2 % heksaani/etyyliasetatti/etikkahappo), minkä jälkeen uudelleenkitetään (isopropanoli), jolloin saadaan otsikon yhdiste vaaleankeltaisena kiinteänä aineena (2,47 g).

Vaihe f: 2-(1,3-diokso-1,3-dihydroisoindol-2-yyli)-3-(2-vinyylifenyyli)propionihapon 2-trimetyylisilanyyli-etyyliesteri

2-(1,3-diokso-1,3-dihydroisoindol-2-yyli)-3-(2-vinyylifenyyli)propionihappo (2,47 g, 7,69 mmol) liuotetaan

tetrahydrofuraaniin (35 ml) ja jäädytetään jäähauteessa. Käsitellään pyridiinillä (1,6 ml, 20 mmol) ja 2-(trime-
 tyylisilyyli)etanolilla (2,3 ml, 16 mmol). Sekoitetaan 30
 5 minuuttia ja lisätään 1-(3-dimetyyliaminopropyli)-3-etyy-
 likarbodi-imidivetykloridia (EDC:tä) (2,21 g, 11,5 mmol).
 Sekoitetaan 22 tuntia 5 °C:ssa, sitten huoneenlämpötilassa
 1,5 tuntia. Jäädytetään 0 °C:seen, lisätään 0,6-kertai-
 sina kaikki reagenssit ja sekoitetaan huoneenlämpötilassa
 10 yön yli. Laimennetaan etyyliasetaatilla (150 ml), pestään
 5-%:isella rikkihapolla (40 ml) ja kylläisellä natriumve-
 tykarbonaatilla (40 ml). Palautusuutetaan metyleeniklori-
 dilla (100 ml), pestään suolaliuoksella (30 ml) ja kuiva-
 taan (Na₂SO₄). Liuotin haihdutetaan tyhjöissä ja puhdiste-
 taan silikageelikromatografiolla (2:1-suhteinen heksaani/
 15 etyyliasetaatti), jolloin saadaan otsikon yhdiste (2,61 g,
 81 %).

**Vaihe g: 2-(1,3-diokso-1,3-dihydroisoindol-2-yyli)-
 3-(2-formyylifenyyli)propionihapon 2-trimetyylisilanyyli-
 etyyliesteri**

20 2-(1,3-diokso-1,3-dihydroisoindol-2-yyli)-3-(2-vi-
 nyylifenyyli)propionihapon 2-trimetyylisilanyylietyyli-
 esterin (2,61 g, 6,19 mmol) liuotetaan metyleenikloridiin
 (70 ml) ja metanoliin (75 ml). Jäädytetään -78 °C:seen ja
 käsitellään otsonilla, kunnes sininen väri jää pysyväksi.
 25 Puhdistetaan typellä ja lisätään dimetyylisulfidia (7 ml)
 ja pyridiiniä (0,35 ml). Annetaan lämmetä huoneenlämpöti-
 laan vähitellen yön aikana. Jakouutetaan metyleeniklori-
 dilla (100 ml) ja vedellä (40 ml). Vesipitoista kerrosta
 uutetaan metyleenikloridilla (50 ml), kuivataan (Na₂SO₄) ja
 30 puhdistetaan silikageelikromatografiolla (2,5:1-suhteinen
 heksaani/etyylisilyyli), jolloin saadaan otsikon yhdiste
 värittömänä viskoosina öljynä (2,65 g, 100 %).

Vaihe h: 2-{2-[2-(1,3-diokso-1,3-dihydroisoindol-2-yyli)-2-(2-trimetyylisilanyylietoksikarbonyyli)etyyli]bentsyyliamino}-4-metyylivaleriaanahappo, tert-butyylies-
teri

5 2-(1,3-diokso-1,3-dihydroisoindol-2-yyli)-3-(2-
formyyli-fenyli)propionihapon 2-trimetyylisilanyylietyy-
liesteri (250 mg, 0,590 mmol) liuotetaan metanoliin
(15 ml) ja käsitellään L-leusiini-tert-butyylies-
10 terivety-
kloridilla (0,66 g, 3,0 mmol). Sekoitetaan huoneenlämpöti-
lassa 2 tuntia 3A molekyyliseulan kanssa, lisätään natri-
umsyaaniboorihydridiä (0,6 ml 1,0 M liuosta tetrahydrofu-
raanissa, 0,6 mmol), sekoitetaan 0,5 tuntia, lisätään
15 vielä natriumsyaaniboorihydridiä (0,3 ml) ja sekoitetaan
5 tuntia. Suodatetaan suodatusapuaineen läpi, liuotin
15 haihdutetaan tyhjässä ja jäännöstä jakoutetaan metylee-
nikloridilla (100 ml) ja kylläisellä natriumvetykarbonaa-
tilla (40 ml). Kuivataan (Na₂SO₄), liuotin haihdutetaan
20 tyhjässä ja puhdistetaan silikageelikromatografialla (5:1-
suhteinen heksaani/etyyliasetatti ja sen jälkeen 3:1-suh-
teinen heksaani/etyyliasetatti), jolloin saadaan otsikon
20 yhdiste (221 mg, 63 %).

Vaihe i: 2-{2-[2-karboksi-2-(1,3-diokso-1,3-dihy-
droisoindol-2-yyli)etyyli]bentsyyliamino}-4-metyylivale-
riaanahapon tert-butyylies-
teri

25 2-{2-[2-(1,3-diokso-1,3-dihydroisoindol-2-yyli)-2-
(2-trimetyylisilanyylietoksikarbonyyli)etyyli]bentsyyli-
amino}-4-metyylivaleriaanahapon tert-butyylies-
25 teristi (221 mg,
0,372 mmol) liuotetaan tetrahydrofuraaniin (5 ml) ja käsi-
tellään tetrabutyyliammoniumfluoridilla (0,43 ml, 1,0 M
30 liuos tetrahydrofuraanissa, 0,43 mmol). Sekoitetaan 1,5
tuntia, liuotin haihdutetaan tyhjässä ja jäännös liuote-
taan etyyliasetattiin (75 ml). Pestään 1 N kloorivetyha-
polla (25 ml) ja suolaliuoksella (25 ml). Kuivataan
(Na₂SO₄) ja liuotin haihdutetaan tyhjässä, jolloin saadaan
35 otsikon yhdiste valkoisena kiinteänä aineena (188 mg).

Vaihe j: 2-[4-((1,3-diokso-1,3-dihydroisoindol-2-yyli)-3-okso-1,3,4,5-tetrahydrobents[c]atsepin-2-yyli]-4-metyylivaleriaanahappo, tert-butyyliesteri

2-{2-[2-karboksi-2-(1,3-diokso-1,3-dihydroisoindol-2-yyli)etyyli]bentsyyliamino}-4-metyylivaleriaanahapon tert-butyyliesteri (188 mg) liuotetaan tetrahydrofuraaniin (10 ml) ja jäädytetään jäähauteessa. Lisätään peräkkäin N-metyylimorfoliinia (86 µl, 0,78 mmol) ja isobutyylidikloroformaattia (55 µl, 0,43 mmol). Sekoitetaan 2 tuntia, suodatetaan, suolat pestään kuivalla tetrahydrofuraanilla, liuotin haihdutetaan tyhjöissä ja puhdistetaan silikageelikromatografialla (1:1-suhteinen hekseeni/etyyliasetatti), jolloin saadaan otsikon yhdiste valkoisena kiinteänä aineena (64 mg, 93 %).

Vaihe k: 2-(4-amino-3-okso-1,3,4,5-tetrahydrobents[c]atsepin-2-yyli)-4-metyylivaleriaanahappo, tert-butyyliesteri

2-[4-((1,3-diokso-1,3-dihydroisoindol-2-yyli)-3-okso-1,3,4,5-tetrahydrobents[c]atsepin-2-yyli]-4-metyylivaleriaanahapon tert-butyyliesteri (160 mg, 0,336 mmol) liuotetaan metanoliin (3 ml) ja käsitellään hydratsiini-monohydraatin (0,40 ml, 0,40 mmol) liuoksella metanolissa. Sekoitetaan huoneenlämpötilassa 65 tuntia, suodatetaan suodatusapuaineen läpi, pestään metyleenikloridilla, suodatetaan suodatusapuaineen läpi ja kuivataan (MgSO₄). Liuotin haihdutetaan tyhjöissä, jolloin saadaan otsikon yhdiste (93 mg, 80,2 %).

Vaihe l: 2-[4-(2-bentsoyylisulfanyyli-3-fenyylipropionyyliamino)-3-okso-1,3,4,5-tetrahydrobents[c]atsepin-2-yyli]-4-metyylivaleriaanahappo, tert-butyyliesteri

2-(4-amino-3-okso-1,3,4,5-tetrahydrobents[c]atsepin-2-yyli)-4-metyylivaleriaanahapon tert-butyyliesteri (93 mg, 0,27 mmol) liuotetaan metyleenikloridiin (3 ml) ja käsitellään (S)-3-fenyyl-2-bentsoyylitiopropionihapolla (115 mg, 0,40 mmol) ja EEDQ:lla (100 mg, 0,40 mmol). Se-

koitetaan huoneenlämpötilassa 18 tuntia, liuotin haihdutetaan tyhjöissä, jäännös liuotetaan etyyliasettaattiin (40 ml) ja pestään 5-%:isella rikkihapolla (15 ml), sitten kylläisellä natriumvetykarbonaatilla (15 ml). Kuivataan (Na₂SO₄), liuotin haihdutetaan tyhjöissä ja puhdistetaan silikageelikromatografiolla (6:1-suhteinen heksaani/etyyliasettaatti ja sen jälkeen 2,5:1-suhteinen heksaani/etyyliasettaatti), jolloin saadaan otsikon yhdiste värittömänä öljynä (141 mg, 85 %).

10 **Esimerkki 19**

2-[4-(2-bentsoyylisulfanyyli-3-fenyylipropionyyliamino)-3-okso-1,3,4,5-tetrahydrobents[c]atsepin-2-yyli]-4-metyylivaleriaanahapon valmistus

2-[4-(2-bentsoyylisulfanyyli-3-fenyylipropionyyliamino)-3-okso-1,3,4,5-tetrahydrobents[c]atsepin-2-yyli]-4-metyylivaleriaanahapon tert-butyyliesteri (141 mg, 0,229 mmol) liuotetaan metyleenikloridiin (5 ml) ja käsitellään anisolilla (0,12 ml, 1,15 mmol), sitten trifluorietikkahapolla (1,5 M). Sekoitetaan huoneenlämpötilassa 15 tuntia, jakoutetaan etyyliasettaatilla (25 ml) ja suolaliuoksella (15 ml). Orgaaninen kerros pestään suolaliuoksella (15 ml), kuivataan (Na₂SO₄) ja puhdistetaan silikageelikromatografiolla (1:1-suhteinen heksaani/etyyliasettaatti, sitten 1:1:0,01-suhteinen heksaani/etyyliasettaatti/etikkahappo), jolloin saadaan otsikon yhdiste valkoisena kiinteänä aineena (157 mg).

Esimerkki 20

2-[4-(2-merkapto-3-fenyylipropionyyliamino)-3-okso-1,3,4,5-tetrahydrobents[c]atsepin-2-yyli]-4-metyylivaleriaanahapon valmistus

2-[4-(2-bentsoyylisulfanyyli-3-fenyylipropionyyliamino)-3-okso-1,3,4,5-tetrahydrobents[c]atsepin-2-yyli]-4-metyylivaleriaanahappo (0,229 mmol) liuotetaan metanoliin (3 ml), josta on poistettu kaasut, ja jäähdytetään jäähauteessa. Käsitellään 1 N vesipitoisella litiumhyd-

roksidilla (1,0 ml), josta on poistettu kaasut, ja sekoitetaan antaen jäähauteen lämmetä vähitellen 3 tunnin aikana. Kun reaktioseos on 0 °C:ssa, se tehdään happamaksi 5-%:isella kloorivetyhapolla. Jakouutetaan metyleenikloridilla (75 ml) ja vedellä (25 ml), kuivataan (Na₂SO₄) ja puhdistetaan silikageelikromatografiolla (3:1:0,01-suhteinen heksaani/etyyliasettaatti/etikkahappo, sitten 1:1:0,01-suhteinen heksaani/etyyliasettaatti/etikkahappo), jolloin saadaan otsikon yhdiste valkoisena kiinteänä aineena (84 mg, 80,8 %).

Tässä käytettynä termi "potilas" viittaa lämminverisiin eläimiin tai nisäkkäisiin, jotka käsittävät hiiret, rotat ja ihmiset. Potilas tarvitsee hoitoa enkefalinaasin inhiboimiseksi, kun potilas kärsii akuutista tai kroonisesta kivusta ja tarvitsee endorfiini- tai enkefaliinivälitteistä analgeettista vaikutusta. Lisäksi potilas tarvitsee hoitoa enkefalinaasin inhiboimiseksi, kun potilas kärsii sairaustilasta, jolle ovat tunnusomaisia poikkeavuudet neste-, elektrolyytti-, verenpaine-, silmän sisäisen paineen, reniini- tai aldosteronihomöostaasissa, kuten näihin kuitenkin rajoittumatta korkeasta verenpaineesta, munuaissairauksista, hyperaldosteronemiasta, sydänhypertrofiasta, viherkaihista ja kongestiivisesta sydämen toiminnanvajavuudesta. Näissä tapauksissa potilas tarvitsee ANP-välitteistä diureettista, natriureettista, verenpainetta alentavaa, hypoaldosteroneemista vaikutusta. Enkefalinaasin inhibio aikaansaisi endorfiini- tai enkefaliinivälitteisen analgeettisen vaikutuksen, kun endorfiinien ja enkefaliinien metabolinen hajoaminen inhiboituisi. Enkefalinaasin inhibio aikaansaisi ANP-välitteisen diureettisen, natriureettisen, verenpainetta alentavan, hypoaldosteroneemisen vaikutuksen, kun ANP:n metabolinen hajoaminen inhiboituisi. Enkefalinaasin inhibio säätelisi myös suolen sileän lihaksen supistumisky-

kyä ja olisi käyttökelpoinen ärsytyssuolioireyhtymän hoidossa.

Lisäksi potilas tarvitsee hoitoa enkefalinaasin inhiboimiseksi, kun potilas tarvitsee masennuksen vastais-
5 ta vaikutusta tai opiaatin tai morfiinin antamisen lopettamiseen liittyvien vieroitusoireiden voimakkuuden vähentämistä.

Niiden potilaiden identifiointi, jotka tarvitsevat hoitoa enkefalinaasin inhiboimiseksi, kuuluu alan ammattimiehen kykyihin ja tietoihin. Alan ammattikliinikko voi
10 helposti identifioida kliinisiä kokeita, fyysistätutkimusta ja lääketieteellistä historiaa/perhehistoriaa käyttäen ne potilaat, jotka tarvitsevat endorfiini- tai enkefaliinivälitteistä analgeettista vaikutusta tai jotka tarvitse-
15 vat ANP-välitteistä diureettista, natriureettista, verenpainetta alentavaa tai hypoaldosteroneemista vaikutusta.

Tehokas enkefalinaasia inhiboiva määrä kaavan (I) mukaista yhdistettä on määrä, joka on tehokas enkefalinaasin inhiboinnissa ja siten luonnossa esiintyvien ver-
20 renkierron säätelypeptidien, kuten endorfiinien, mukaanlukien enkefaliinit, ja ANP:n, metabolisen hajoamisen inhiboinnissa. Menestyksellisen hoidon ymmärretään myös käsittävän ennalta ehkäisyn potilaan hoidossa sellaisissa tapauksissa kuin esimerkiksi menettelyssä ennen leikkaus-
25 ta, jolloin potilas kärsii akuutista tai kroonisesta kivusta lähitulevaisuudessa.

Tehokas enkefalinaasia inhiboiva määrä kaavan (I) mukaista yhdistettä on määrä, joka on tehokas enkefalinaasin inhiboinnissa sen tarpeessa olevassa potilaassa ja
30 jolla aikaansaadaan esimerkiksi endorfiini- tai enkefaliinivälitteisiä analgeettisia vaikutuksia tai ANP-välitteinen diureettinen natriureettinen verenpainetta alentava hypoaldosteroneeminen vaikutus.

Tehokas enkefalinaasia inhiboiva annos voidaan
35 määrittää helposti käyttämällä tavanomaisia menetelmiä ja

toteamalla saadut tulokset analogisissa olosuhteissa. Määritettäessä tehokasta annosta otetaan huomioon useita tekijöitä, joita ovat näihin kuitenkin rajoittumatta: potilaan laji; sen koko, ikä ja yleinen terveydentila; kyseessä oleva tietty sairaus; sairauden aste tai osallisuus tai vakavuus; yksilöllisen potilaan vaste; kyseessä oleva annettava yhdiste; antotapa; annettavan valmisteen biosaatavuusominaisuudet; valittu annostushoito-ohje; ja samanlaisen lääkityksen käyttö.

10 Tehokas enkefalinaasia inhiboiva määrä kaavan (I) mukaista yhdistettä vaihtelee yleensä noin 0,01 milligrammasta kehon painon kilogrammaa kohti vuorokaudessa (mg/kg/vrk) noin 20 mg/kg/vrk:iin. Vuorokausiannos, joka on noin 0,1 mg/kg - noin 10 mg/kg, on edullinen.

15 Lisäksi tämä keksintö tarjoaa edelleen menetelmän ACE:n inhiboimiseksi tämän tarpeessa olevassa potilaassa, joka menetelmä käsittää kaavan (I) mukaisen yhdisteen tehokkaan ACE:tä inhiboivan määrän antamisen mainitulle potilaalle. Potilas tarvitsee hoitoa ACE:n inhiboimiseksi, 20 kun potilas kärsii korkeasta verenpaineesta, kroonisesta kongestiivisesta sydämen toiminnanvajavuudesta, hyperaldosteronemiasta tai kognitiivisista häiriöistä. ACE:n inhibitio vähentää angiotensiini II:n arvoja ja siten inhiboi sen aiheuttamia verisuonten verenpainetta kohottavia, 25 verenpainetta kohottavia ja hyperaldosteroneemisia vaikutuksia. Tehokas ACE:tä inhiboiva määrä kaavan (I) mukaista yhdistettä on se määrä, joka on tehokas ACE:n inhiboinnissa sen tarpeessa olevassa potilaassa ja jolla aikaansaadaan esimerkiksi verenpainetta alentava vaikutus. Tehokas ACE:tä inhiboiva määrä ja tehokas ACE:tä inhiboiva annos ovat samat kuin edellä on kuvattu tehokkaalle enkefalinaasia inhiboivalle määrälle ja annokselle.

Lisäksi tämä keksintö tarjoaa edelleen menetelmän sileäsolujakautumisesta kärsivän potilaan hoitamiseksi. 35 Tehokas sileäsolujakautumista inhiboiva määrä kaavan (I)

mukaista yhdistettä on se määrä, joka on tehokas sileäsolujakautumisen inhiboinnissa sen tarpeessa olevassa potilaassa ja jolla aikaansaadaan esimerkiksi vähentynyt myointimaallinen paksuneminen verisuonivaurion jälkeen. Tehokas sileäsolujakautumista inhiboiva määrä ja tehokas sileäsolujakautumista inhiboiva annos ovat samat kuin edellä on kuvattu tehokkaalle enkefalinaasia inhiboivalle määrälle ja annokselle.

Potilaan hoitoa toteutettaessa kaavan (I) mukaiset yhdisteet voidaan antaa missä tahansa muodossa tai millä tahansa tavalla, joka tekee yhdisteen biosaatavaksi tehokkaina määrinä, oraaliset ja parenteraaliset tavat mukaan luettuina. Yhdiste voidaan esimerkiksi antaa oraalisesti, ihonalaisesti, lihaksensisäisesti, laskimonsisäisesti, ihon läpi vaikuttavasti, nenän sisään, rektaalisesti ja niiden kaltaisilla tavoilla. Oraalinen antaminen on yleensä edullinen. Formulaatioiden valmistuksen ammattimies pystyy helposti valitsemaan oikean antomuodon ja -tavan hoidettavan sairaustilan, sairauden vaiheen ja muiden oleellisten olosuhteiden mukaan.

Kaavan (I) mukaiset yhdisteet voidaan antaa farmaseuttisten koostumusten tai lääkkeiden muodossa, jotka on valmistettu yhdistämällä kaavan (I) mukaiset yhdisteet farmaseuttisesti hyväksyttävien kantajien tai täyteaineiden kanssa, joiden osuuden ja luonteen määrää valittu antotapa ja tavanomainen farmaseuttinen käytäntö.

Toisessa toteutusmuodossa tämä keksintö tarjoaa koostumukset, jotka sisältävät kaavan (I) mukaista yhdistettä seoksena tai muuten yhdessä yhden tai useamman inertin kantajan kanssa. Nämä koostumukset ovat käyttökelpoisia esimerkiksi analyysistandardeina, sopivana keinona varastokuljetusten tekemiseksi tai farmaseuttisina koostumuksina. Analysoitava määrä kaavan (I) mukaista yhdistettä on määrä, joka on helposti mitattavissa alan ammattimiehen hyvin tuntemilla ja ymmärtämällä tavanomaisil-

la analyysimenetelmillä ja tekniikoilla. Analysoitavat määrät kaavan (I) mukaista yhdistettä vaihtelevat yleensä noin 0,001 paino-%:sta noin 75 paino-%:iin koostumuksesta. Inertit kantajat voivat olla mitä tahansa ainetta, joka ei hajota kaavan (I) mukaista yhdistettä tai muuten kovalenttisesti reagoi sen kanssa. Esimerkkejä sopivista inerteistä kantajista ovat vesi; vesipitoiset puskurit, kuten puskurit, jotka ovat yleensä käyttökelpoisia suuren suorituskyvyn omaavassa nestekromatografia- (HPLC-) analyysissä; orgaaniset liuottimet, kuten asetonitriili, etyyliasetatti, heksaani ja niiden kaltaiset; ja farmaseuttisesti hyväksyttävät kantajat tai täyteaineet.

Tarkemmin sanottuna tämä keksintö tarjoaa farmaseuttiset koostumukset, jotka sisältävät tehokkaan määrän kaavan (I) mukaista yhdistettä seoksena tai muuten yhdessä yhden tai useampien farmaseuttisesti hyväksyttävien kantajien tai täyteaineiden kanssa.

Farmaseuttiset koostumukset tai lääkkeet valmistetaan farmaseuttisella alalla hyvin tunnetulla tavalla. Kantaja tai täyteaine voi olla kiinteä, puolikiinteä tai nestemäinen aine, joka voi toimia vehikkelinä tai väliaineena aktiivista aineosaa varten. Sopivat kantajat tai täyteaineet ovat alalla hyvin tunnettuja. Farmaseuttinen koostumus voidaan sovittaa oraalista tai parenteraalista käyttöä varten ja se voidaan antaa potilaalle tablettien, kapselien, peräpuikkojen, liuoksen, suspensioiden tai niiden kaltaisten muodossa.

Farmaseuttiset koostumukset voidaan antaa oraalisesti, esimerkiksi inertin laimentimen kanssa tai syötäväksi kelpaavan kantajan kanssa. Ne voidaan sulkea gelatiinikapseleihin tai puristaa tableteiksi. Oraalisen terapettisen antamisen tarkoituksiin kaavan (I) mukaiset yhdisteet voidaan sekoittaa täyteaineiden kanssa ja käyttää tablettien, pillerien, kapselien, eliksiirien, suspensioiden, siirappien, vohvelien, purukumien ja niiden

kaltaisten muodossa. Näiden valmisteiden pitäisi sisältää vähintään 4 % kaavan (I) mukaista yhdistettä, aktiivista aineosaa, mutta tämä voi vaihdella kyseessä olevan muodon mukaan ja se voi sopivasti olla välillä 4 % - noin 70 % yksikön painosta. Koostumuksissa läsnä olevan aktiivisen aineosan määrä on sellainen, että saadaan antamiseen sopiva yksikköannostusmuoto.

Tabletit, pastillit, kapselit, pillerit ja niiden kaltaiset voivat sisältää myös yhtä tai useampia seuraavista adjuvanteista: sideaineet, kuten mikrokiteinen selluloosa, kumitragantti tai gelatiini; täyteaineet, kuten tärkkelys tai laktoosi, hajottavat aineet, kuten algiinihappo, Primogel, maissitärkkelys ja niiden kaltaiset; voiteluaineet, kuten magnesiumstearaatti tai Sterotex; luistoaineet, kuten kolloidinen piidioksidi; ja makeutusaineita, kuten sakkaroosia tai sakariinia, voidaan lisätä tai aromiaineita, kuten piparminttua, metyyliisalisylaattia tai appelsiiniaromiainetta. Kun annostusyksikkömuoto on kapseli, se voi sisältää edellä esitetyn tyyppisten aineiden lisäksi nestemäistä kantajaa, kuten polyetyleeniglykolia tai rasvaöljyä. Muut annostusyksikkömuodot voivat sisältää muita erilaisia aineita, jotka modifioivat annostusyksikön fysikaalista muotoa, esimerkiksi päällysteinä. Siten tabletit tai pillerit voidaan päällystää sokerilla, sellakalla tai muilla enteropinnoitteilla. Siirappi voi sisältää aktiivisen aineosan lisäksi sakkaroosia makeutusaineena ja tiettyjä säilöntäaineita, värejä ja väriaineita ja aromiaineita. Näiden eri koostumusten valmistuksessa käytettävien aineiden pitäisi olla farmaseuttisesti puhtaita ja ei-toksisia käytettyinä määrinä.

Parenteraalisen antamisen tarkoituksiin kaavan (I) mukaiset yhdisteet voidaan sisällyttää liuokseen tai suspensioon. Näiden valmisteiden pitäisi sisältää vähintään 0,1 % keksinnön mukaista yhdistettä, mutta tämä voi vaihdella 0,1 %:sta noin 50 %:iin sen painosta. Tällaisissa

koostumuksissa läsnä oleva aktiivisen aineosan määrä on sellainen, että aikaansaadaan sopiva annostus.

5 Liuokset tai suspensiot voivat myös sisältää yhtä tai useampia seuraavista adjuvanteista: steriilit laimentimet, kuten vesi injektointia varten, suolaliuos, sitou-
 10 tuneet öljyt, polyetyleeniglykolit, glyseroli, propyleeniglykoli tai muut synteettiset liuottimet; bakteerien vastaiset aineet, kuten bentsyylialkoholi tai metyylipara-
 15 beeni; antioksidantit, kuten askorbiinihappo tai natriumbisulfiitti; kelatointiaineet, kuten etyleenidiamiini-tetraetikkahappo; puskurit, kuten asetaatit, sitraatit tai fosfaatit, ja aineet toksisuuden säätöä varten, kuten natriumkloridi tai dekstroosi. Parenteraalinen valmiste voi-
 20 daan sulkea lasista tai muovista valmistettuihin ampulleihin, kertakäyttöruiskuihin tai moniannosviaaleihin.

Mitä tulee tietyn yleisen käyttökelpoisuuden omaavien rakenteellisesti läheisten yhdisteiden mihin tahansa ryhmään, tietyt ryhmät ja konfiguraatiot ovat kaavan (I) mukaisille yhdisteille edullisia niiden lopullisessa
 25 käyttösovellutuksessa.

Kaavan (I) mukaiset yhdisteet, joissa R_1 on vety tai alkoksi, ovat edullisia. Kaavan (I) mukaiset yhdisteet, joissa R_2 on vety tai alkoksi, ovat edullisia. Lisäksi kaavan (I) mukaiset yhdisteet, joissa R_3 on, ovat
 25 edullisia.

Seuraavat spesifiset kaavan (I) mukaiset yhdisteet ovat tämän keksinnön mukaisista yhdisteistä erityisen edullisia lopullisessa käyttösovellutuksessa:

2-[4-(2-tio-3-fenyylipropionyyliamino)-3-okso-1,3,4,5-
 30 tetrahydrobents[c]atsepin-2-yyli]-4-metyylivaleriaana-
 happo, (S)-N-1-(2-metyylipropyli)-2-(tio)etyyliamiini,
 disulfidi;

2-[4-(2-tio-3-fenyylipropionyyliamino)-3-okso-1,3,4,5-
 tetrahydrobents[c]atsepin-2-yyli]-4-metyylivaleriaana-

happo, (R)-1-(2-metyylipropyli)-2-(tio)etyyliamiini, disulfidi;

2-[4-(2-tio-3-fenyylipropionyyliamino)-3-okso-1,3,4,5-tetrahydrobents[c]atsepin-2-yyli]-4-metyylivaleriaana-

5 happo, L-kysteiinietyyliesteri, disulfidi;

2-[4-(2-tio-3-fenyylipropionyyliamino)-3-okso-1,3,4,5-tetrahydrobents[c]atsepin-2-yyli]-4-metyylivaleriaana-

happo, bentsyylitio, disulfidi;

2-[4-(2-tio-3-fenyylipropionyyliamino)-3-okso-1,3,4,5-tetrahydrobents[c]atsepin-2-yyli]-4-metyylivaleriaana-

10 happo, etyylylitio, disulfidi;

2-[4-(2-tio-3-fenyylipropionyyliamino)-3-okso-1,3,4,5-tetrahydrobents[c]atsepin-2-yyli]-4-metyylivaleriaana-

happo, disulfidi, 2-hydroksietyylylitio, disulfidi;

15 2-[4-(2-tio-3-fenyylipropionyyliamino)-3-okso-1,3,4,5-tetrahydrobents[c]atsepin-2-yyli]-4-metyylivaleriaana-

happo, 2-pyridyyylimetyylitio, disulfidi;

2-[4-(2-tio-3-fenyylipropionyyliamino)-3-okso-1,3,4,5-tetrahydrobents[c]atsepin-2-yyli]-4-metyylivaleriaana-

20 happo, 2-tioetikahappomorfoliinikarboksiamidi, disulfidi.

Seuraavat in vivo ja ex vivo -kokeet valaisevat tämän keksinnön mukaisten yhdisteiden käyttökelpoisuutta enkefalinaasi-inhibiittoreina ja ACE-inhibiittoreina. Nämä kokeet toteutetaan julkaisun J.F. French et al., J. Pharmcacol. Exp. Ther., 268 (1), 180 - 186 (1994) menetelmällä.

Koeyhdistettä tai vehikkeliä (99/1, etanoli/1-%:inen natriumbikarbonaattiliuos) annetaan koiraspuolisille Sprague-Dawley-rotille (Charles Rivers Breeding Laboratories Inc.), joita on pidetty paastolla. Antaminen toteutetaan vatsakalvonsisäisellä injektioilla. 3 tunnin kuluttua antamisesta rotat tapetaan ja munuaiset poistetaan ja pakastetaan. Kokonaiset munuaiset homogenisoidaan ja viedään Boothin ja Kennyn [Biochem. J., 142, 575 - 581

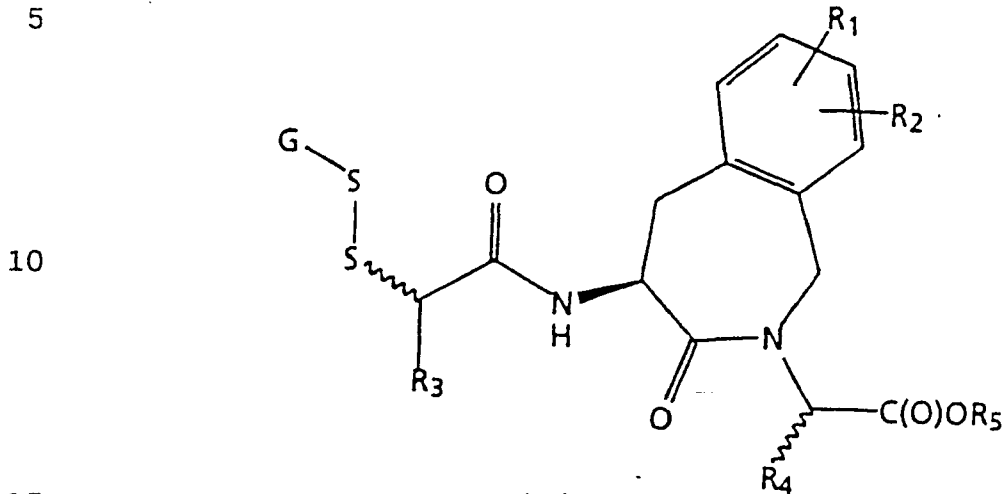
(1974)] menettelyn P2-vaiheeseen microvilli-fraktion valmistamista varten. P2-materiaali suspendoidaan uudelleen 50 mM HEPES-puskuriin, pH 8,0, joka sisältää 0,3 M NaCl:a ja 0,5 % Triton X-100:a, ja pidetään -20 °C:ssa ennen analyysiä. Entsyymiaktiivisuus voidaan mitata julkaisun Florentin et al., Anal. Biochem. 141, 62 - 69 (1984) fluorometrisillä menetelmillä. Entsyymi analysoidaan 50 mM HEPES-puskurissa (pH 7,4) 3,0 ml:n reaktiutilavuudessa, joka sisältää 12 µM dansyyli-D-AlaGly(p-nitro)PheGly-OH-substraattia ($K_m = 40 \mu\text{M}$) 25 °C:ssa. Lisätään entsyymi, joka on pienessä tilavuudessa, reaktion aloittamiseksi, ja fluoresenssin lisääntymisen nopeutta rekisteröidään jatkuvasti käyttäen fluorometriä (virittyminen 339 nm:llä, emissio 562 nm:llä). NEP-inhibitiota in vitro varten käytetään standardina Thiorphanina (Sigma Chemical Co.). Koe-yhdisteen tehokkuus määritetään mittaamalla entsyymiaktiivisuus koe-yhdisteellä käsitellyistä rotista saaduista munuaisista verrattuna entsyymiaktiivisuuteen vehikkelillä käsitellyistä rotista saaduista munuaisista. Thiorphanilla käsitellyt eläimet toimivat positiivisena vertailuna. ACE-aktiivisuus määritetään Ryanin [J.W. Ryan, Methods in Enzymatic Analysis, 3. painos, vol. 5, s. 20 - 34; toim. J. Bergmeyer and M. Grassi, Verlag Chemie, Weinheim 1983] radiometrisellä analyysimenetelmällä käyttäen tritioitua hippuryylyglysylyglyysiiniä (Ventrex Laboratories, Portland ME). Spektrofotometrisessä ACE-analyysissä käytetään puskuria. Happosammutuksen jälkeen tritioitu tuote uutetaan Ventrex Cocktail 1:een [B.N. Swanson et al., Anal. Biochem. 148, 401 - 407 (1985)] ja suoritetaan laskenta Beckmanin tuikelaskurilla. Radioaktiivisen tuotteen muodostumisen täydellistä inhiboitumista 1 µM enalaprilaa-tilla joko yhdiste- tai vehikkelikäsiteltyjen rotan munuaispreparaattien analyysissä käytetään spesifisyyden ACE:tä kohtaan osoittamiseksi.

Koiraspuoliset Sprague-Dawley-rotat (Charles Rivers Breeding Laboratories Inc.), jotka painavat 230 - 290 g, nukutetaan metoksifluoraanilla ja poistetaan selkäydin laittamalla ruostumatonta terästä oleva sauva (halkaisijaltaan 2,2 mm) oikean silmäkuopan läpi, aivojen läpi ja alas selkärankaan ristiluun alueelle. Rotan keuhkoja ventiloidaan endotrakeaalisen putken (Harvard Pump, malli 688) kautta. Ventiloidaan nopeudella 12,5 ml/minuutti 50 sysäyksellä annettuna. Systeeminen verenpaine rekisteröidään kanyylistä (PE 50, sisältää 0,01 % hepariinia), joka on pantu vasempaan kaulavaltimoon ja kiinnitetty painemuuntimeen (P23 DC). Systeemistä verenpainetta rekisteröidään jatkuvasti kokeen aikana polygrafilla (Grass malli 70). Oikeanpuoleisen reisilaskimon onteloon pannaan kanyyliin (PE 50) kiinnitetty 23 G:n injektioneula koeyhdisteen injektointia varten. 30 minuuttia selkäytimen poistamisen jälkeen annetaan angiotensiinin I (0,3 µg) laskimonsisäinen injektio. Angiotensiini I (ihmisen) valmistetaan 0,01-%:iseen askorbiinihappoliuokseen pitoisuutena 0,3 µg/ml varastoliuoksesta, jonka muodostaa 550 µg/ml 0,01-%isessä etikkahappoliuoksessa. Angiotensiinin I (0,3 µg) laskimonsisäinen injektointi toistetaan 10 minuutin välein, kunnes kaksi peräkkäistä injektiota antavat vasteet, joiden välinen ero on alle 10 %. Joko koeyhdistettä tai vehikkeliä annetaan vatsakalvonsisäisellä tai laskimonsisäisellä injektioilla. Angiotensiini I:ä (0,3 µg) annetaan laskimonsisäinen injektiona 15, 30, 45, 60, 90 ja 120 minuuttia koeyhdisteen tai vehikkelin antamisen jälkeen. Koeyhdisteen tehokkuus määritetään mittaamalla angiotensiinillä I indusoidun painevasteen pieneneminen koeyhdisteellä käsitellyille rotille verrattuna vehikkellä käsiteltyihin rottiin.

Patenttivaatimukset

1. Yhdiste, jolla on kaava

5



15

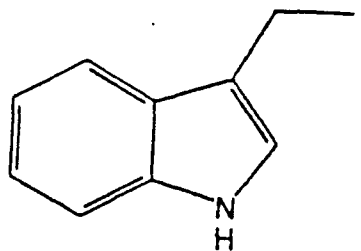
Kaava (I)

jossa

R₁ ja R₂ on kumpikin valittu toisistaan riippumatta ryhmästä, jonka muodostavat vety, hydroksi, -OR₆, jossa R₆ on C₁₋₄-alkyyli tai Ar-Y-ryhmä, jossa Ar on aryyli ja Y on C₀₋₄-alkyyli; tai kun R₁ ja R₂ ovat kiinnittyneet vierekkäisiin hiiliatomeihin, R₁ ja R₂ voivat muodostaa yhdessä mainittujen vierekkäisten hiilien kanssa bentseenirenkaan tai metyleenidioksin;

R₃ on vety, C₁₋₈-alkyyli, -CH₂OCH₂CH₂OCH₃ tai Ar-Y-ryhmä; R₄ on vety, C₁₋₆-alkyyli, Ar-Y-ryhmä, -CH₂CH₂SCH₃, CH₂OH, CH(OH)CH₃, CH₂CH₂C(=O)NH₂, CH₂C(=O)NH₂ tai ryhmä, jolla on kaava

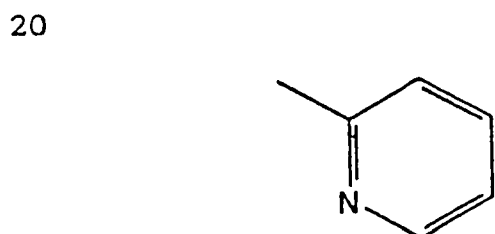
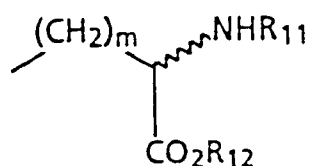
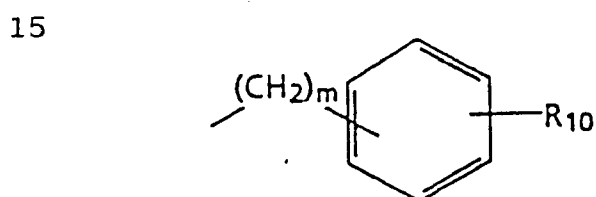
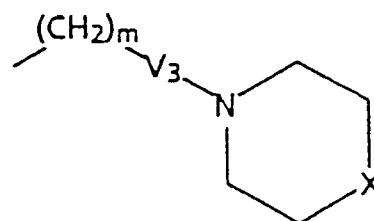
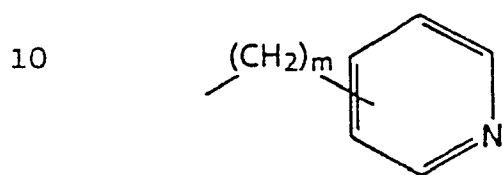
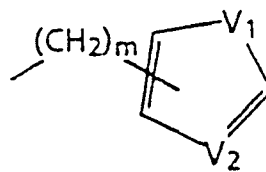
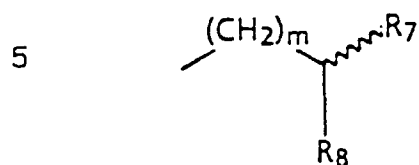
30



35

R₅ on vety, C₁₋₄-alkyyli tai Ar-Y-ryhmä tai -CH₂O-C(O)C(CH₃)₃;

G on radikaali, joka on valittu ryhmästä, jonka muodostavat:



25

jolloin

m on kokonaisluku 1 - 3;

R₇ on vety, C₁₋₆-alkyyli, -CH₂CH₂S(O)_pCH₃ tai aryylialkyyli, jolloin p on 1, 2 tai 3;

30 R₈ on vety, hydroksi, amino, C₁₋₆-alkyyli, N-metyyliamino, N,N-dimetyyliamino, -CO₂R₅ tai -OC(O)R₉, jolloin R₉ on vety, C₁₋₆-alkyyli tai fenyyli;

R₁₀ merkitsee 1 tai 2 substituenttia, jotka on valittu toisistaan riippumatta ryhmästä, jonka muodostavat vety, C₁₋₄-alkyyli, C₁₋₄-alkoksi ja halogeeni;

35

R_{11} on vety, C_{1-6} -alkyyli tai Ar-Y-ryhmä;

R_{12} on vety tai C_{1-4} -alkyyli;

V_1 on O, S tai NH;

V_2 on N tai CH;

5 V_3 on suora sidos tai $-C(O)-$;
tai sen stereoisomeerit tai farmaseuttisesti hyväksyttävät suolat.

2. Patenttivaatimuksen 1 mukainen yhdiste, jossa R_3 on fenyyli-

10 3. Patenttivaatimuksen 2 mukainen yhdiste, jossa R_5 on vety.

4. Koostumus, joka sisältää analysoitavan määrän patenttivaatimuksen 1 mukaista yhdistettä seoksena tai muuten yhdessä inertin kantajan kanssa.

15 5. Farmaseuttinen koostumus, joka sisältää tehokkaan immunosuppressiivisen määrän patenttivaatimuksen 1 mukaista yhdistettä seoksena tai muuten yhdessä yhden tai useampien farmaseuttisesti hyväksyttävien kantajien tai täyteaineiden kanssa.

20 6. Patenttivaatimuksen 1 mukainen yhdiste, jolloin yhdiste on 2-[4-(2-tio-3-fenyylipropionyyliamino)-3-okso-1,3,4,5-tetrahydrobents[c]atsepin-2-yyli]-4-metyylivale-riaanahappo, (S)-N-1-(2-metyylipropyli)-2-(tio)-etyyliamiini, disulfidi.

25 7. Patenttivaatimuksen 1 mukainen yhdiste, jolloin yhdiste on 2-[4-(2-tio-3-fenyylipropionyyliamino)-3-okso-1,3,4,5-tetrahydrobents[c]atsepin-2-yyli]-4-metyylivale-riaanahappo, (R)-1-(2-metyylipropyli)-2-(tio)etyyliamiini, disulfidi.

30 8. Patenttivaatimuksen 1 mukainen yhdiste, jolloin yhdiste on 2-[4-(2-tio-3-fenyylipropionyyliamino)-3-okso-1,3,4,5-tetrahydrobents[c]atsepin-2-yyli]-4-metyylivale-riaanahappo, L-kysteiinietyyliesteri, disulfidi.

35 9. Patenttivaatimuksen 1 mukainen yhdiste, jolloin yhdiste on 2-[4-(2-tio-3-fenyylipropionyyliamino)-3-okso-

1,3,4,5-tetrahydrobents[c]atsepin-2-yyli]-4-metyylivaleriaanahappo, bentsyyliitio, disulfidi.

5 10. Patenttivaatimuksen 1 mukainen yhdiste, jolloin yhdiste on 2-[4-(2-tio-3-fenyylipropionyyliamino)-3-okso-1,3,4,5-tetrahydrobents[c]atsepin-2-yyli]-4-metyyli-valeriaanahappo, etyyliitio, disulfidi.

10 11. Patenttivaatimuksen 1 mukainen yhdiste, jolloin yhdiste on 2-[4-(2-tio-3-fenyylipropionyyliamino)-3-okso-1,3,4,5-tetrahydrobents[c]atsepin-2-yyli]-4-metyyli-valeriaanahappo, disulfidi, 2-hydroksietyyliitio, disulfidi.

15 12. Patenttivaatimuksen 1 mukainen yhdiste, jolloin yhdiste on 2-[4-(2-tio-3-fenyylipropionyyliamino)-3-okso-1,3,4,5-tetrahydrobents[c]atsepin-2-yyli]-4-metyyli-valeriaanahappo, 2-pyridyyliimetyyliitio, disulfidi.

20 13. Patenttivaatimuksen 1 mukainen yhdiste, jolloin yhdiste on 2-[4-(2-tio-3-fenyylipropionyyliamino)-3-okso-1,3,4,5-tetrahydrobents[c]atsepin-2-yyli]-4-metyyli-valeriaanahappo, 2-tioetikkahappomorfoliinikarboksimidi, disulfidi.

14. Farmaseuttinen koostumus, joka sisältää patenttivaatimuksen 1 mukaista yhdistettä seoksena tai muuten yhdessä yhden tai useampien inerttien kantajien kanssa.

25 15. Patenttivaatimuksen 1 mukainen yhdiste farmaseuttisesti aktiivisena yhdisteenä käyttöä varten.

16. Patenttivaatimuksen 1 mukainen yhdiste enkefaliinaasin inhibiittorina käyttöä varten.

17. Patenttivaatimuksen 1 mukainen yhdiste ACE:n inhibiittorina käyttöä varten.

30 18. Patenttivaatimuksen 1 mukainen yhdiste sileäsolujakautumisen inhibiittorina käyttöä varten.

35 19. Patenttivaatimuksen 1 mukainen yhdiste analgeettisen vaikutuksen, verenpainetta alentavan vaikutuksen, diureettisen vaikutuksen tai käsityskykyä lisäävän vaikutuksen aikaansaamiseen käyttöä varten.

20. Patenttivaatimuksen 1 mukainen yhdiste kongestiivisen sydämen toiminnanvajavuuden tai ärsytyssuolioireyhtymän hoidossa käyttöä varten.

5 21. Patenttivaatimuksen 27 mukainen farmaseuttinen koostumus enkefalinaasin inhibointia varten.

22. Patenttivaatimuksen 28 mukainen farmaseuttinen koostumus ACE:n inhibointia varten.

23. Patenttivaatimuksen 29 mukainen farmaseuttinen koostumus sileäsolujakautumisen inhibointia varten.

10 24. Patenttivaatimuksen 30 mukainen farmaseuttinen koostumus analgeettisen vaikutuksen, verenpainetta alentavan vaikutuksen, diureettisen vaikutuksen tai käsityskykyä lisäävän vaikutuksen aikaansaamista varten.

15 25. Patenttivaatimuksen 31 mukainen farmaseuttinen koostumus kongestiivisen sydämen toiminnanvajavuuden tai ärsytyssuolioireyhtymän hoitamista varten.

20 26. Patenttivaatimuksen 1 mukaisen yhdisteen käyttö mahdollisesti yhdistelmänä farmaseuttisesti hyväksyttävän kantajan kanssa enkefalinaasin inhibointiin tarkoitettun farmaseuttisen koostumuksen valmistukseen.

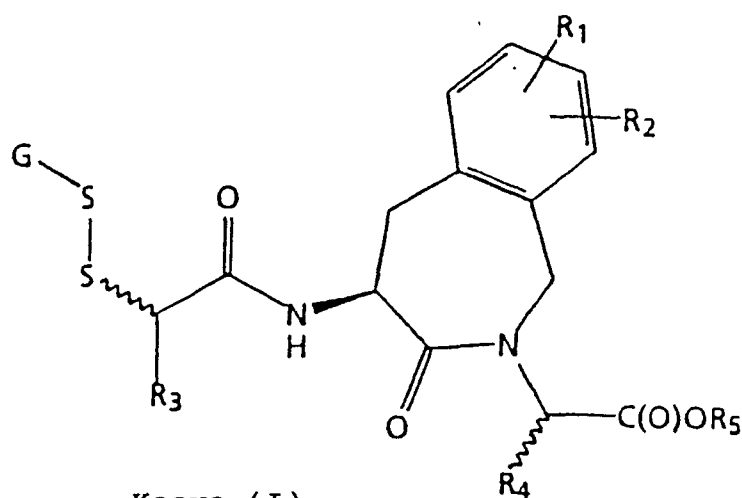
27. Patenttivaatimuksen 1 mukaisen yhdisteen käyttö mahdollisesti yhdistelmänä farmaseuttisesti hyväksyttävän kantajan kanssa ACE:n inhibointiin tarkoitettun farmaseuttisen koostumuksen valmistukseen.

25 28. Patenttivaatimuksen 1 mukaisen yhdisteen käyttö mahdollisesti yhdistelmänä farmaseuttisesti hyväksyttävän kantajan kanssa sileäsolujakautumisen inhibointiin tarkoitettun farmaseuttisen koostumuksen valmistukseen.

30 29. Patenttivaatimuksen 1 mukaisen yhdisteen käyttö mahdollisesti yhdistelmänä farmaseuttisesti hyväksyttävän kantajan kanssa analgeettisen vaikutuksen, verenpainetta alentavan vaikutuksen, diureettisen vaikutuksen tai käsityskykyä lisäävän vaikutuksen aikaansaamiseen tarkoitettun farmaseuttisen koostumuksen valmistukseen.

30. Patenttivaatimuksen 1 mukaisen yhdisteen käyttö mahdollisesti yhdistelmänä farmaseuttisesti hyväksyttävän kantajan kanssa kongestiivisen sydämen toiminnanvavuuden tai ärsytyssuolioireyhtymän hoitoon tarkoitetun farmaseuttisen koostumuksen valmistukseen.

31. Menetelmä yhdisteen valmistamiseksi, jolla on kaava



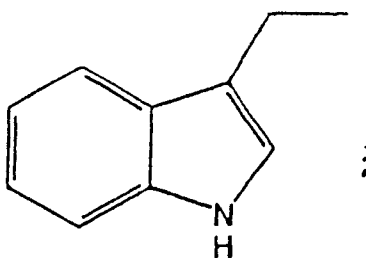
jossa

R_1 ja R_2 on kumpikin valittu toisistaan riippumatta ryhmästä, jonka muodostavat vety, hydroksi, $-OR_6$, jossa R_6 on C_{1-4} -alkyyli tai Ar-Y-ryhmä, jossa Ar on aryyli ja Y on C_{0-4} -alkyyli; tai kun R_1 ja R_2 ovat kiinnittyneet vierekkäisiin hiiliatomeihin, R_1 ja R_2 voivat muodostaa yhdessä mainittujen vierekkäisten hiilien kanssa bentseenirenkaan tai metyleenidioksin;

R_3 on vety, C_{1-8} -alkyyli, $-CH_2OCH_2CH_2OCH_3$ tai Ar-Y-ryhmä;

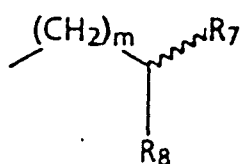
R_4 on vety, C_{1-6} -alkyyli, Ar-Y-ryhmä, $-CH_2CH_2SCH_3$, CH_2OH , $CH(OH)CH_3$, $CH_2CH_2C(=O)NH_2$, $CH_2C(=O)NH_2$ tai ryhmä, jolla on kaava

5

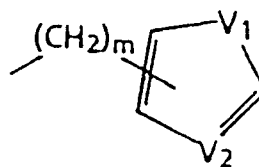


R_5 on vety, C_{1-4} -alkyyli tai Ar-Y-ryhmä tai $-CH_2OC(O)C(CH_3)_3$;
 G on radikaali, joka on valittu ryhmästä, jonka muodosta-
 vat:

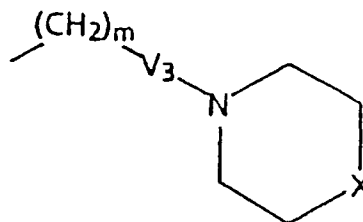
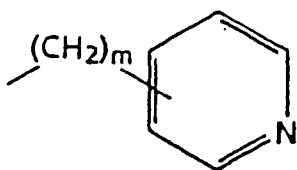
10



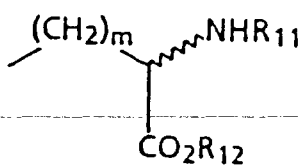
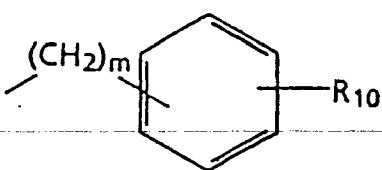
15



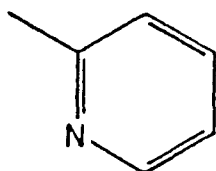
20



25



30



jolloin

m on kokonaisluku 1 - 3;

R_7 on vety, C_{1-6} -alkyyli, $-CH_2CH_2S(O)_pCH_3$ tai aryylialkyyli, jolloin p on 1, 2 tai 3;

R_8 on vety, hydroksi, amino, C_{1-6} -alkyyli, N-metyyliamino, N,N-dimetyyliamino, $-CO_2R_9$ tai $-OC(O)R_9$, jolloin R_9 on vety, C_{1-6} -alkyyli tai fenyyl;

R_{10} merkitsee 1 tai 2 substituenttia, jotka on valittu toisistaan riippumatta ryhmästä, jonka muodostavat vety, C_{1-4} -alkyyli, C_{1-4} -alkoksi ja halogeeni;

R_{11} on vety, C_{1-6} -alkyyli tai Ar-Y-ryhmä;

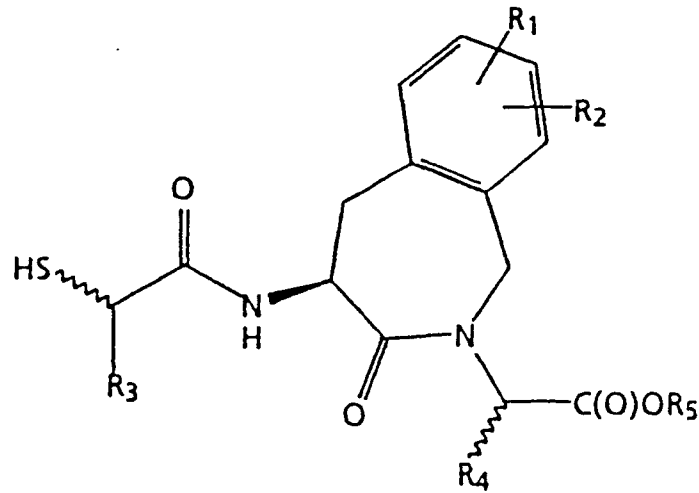
R_{12} on vety tai C_{1-4} -alkyyli;

V_1 on O, S tai NH;

V_2 on N tai CH;

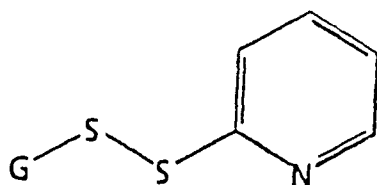
V_3 on suora sidos tai $-C(O)-$;

tai sen stereoisomeerien tai farmaseuttisesti hyväksyttävien suolojen valmistamiseksi, jossa menetelmässä yhdiste, jolla on kaava



jossa R_1 , R_2 , R_3 , R_4 ja R_5 ovat edellä määritellyt, saataan reagoimaan yhdisteen kanssa, jolla on kaava

5

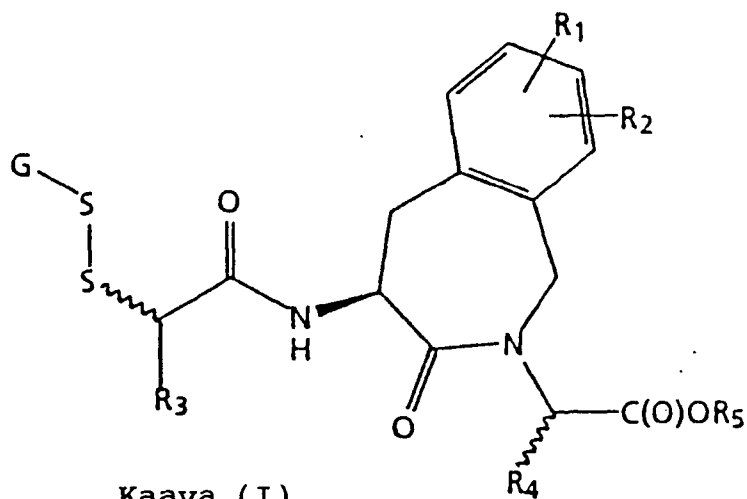


jossa G on edellä määritelty, ja mahdollisesti poistetaan suojaus ja mahdollisesti valmistetaan farmaseuttisesti hyväksyttävä suola saattamalla edelleen reagoimaan hyväksyttävän hapon tai hyväksyttävän emäksen kanssa.

32. Menetelmä yhdisteen valmistamiseksi, jolla on kaava

15

20



Kaava (I)

25

jossa

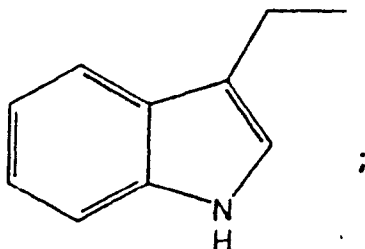
R_1 ja R_2 on kumpikin valittu toisistaan riippumatta ryhmästä, jonka muodostavat vety, hydroksi, $-OR_6$, jossa R_6 on C_{1-4} -alkyyli tai Ar-Y-ryhmä, jossa Ar on aryyli ja Y on C_{0-4} -alkyyli; tai kun R_1 ja R_2 ovat kiinnittyneet vierekkäisiin hiiliatomeihin, R_1 ja R_2 voivat muodostaa yhdessä mainittujen vierekkäisten hiilien kanssa bentseenirenkaan tai metyleenidioksin;

30

R_3 on vety, C_{1-8} -alkyyli, $-CH_2OCH_2CH_2OCH_3$ tai Ar-Y-ryhmä;

R_4 on vety, C_{1-6} -alkyyli, Ar-Y-ryhmä, $-CH_2CH_2SCH_3$, CH_2OH , $CH(OH)CH_3$, $CH_2CH_2C(=O)NH_2$, $CH_2C(=O)NH_2$ tai ryhmä, jolla on kaava

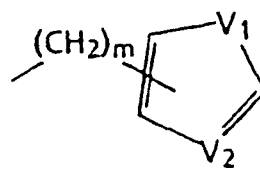
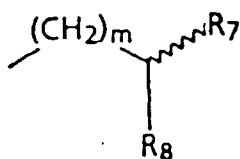
5



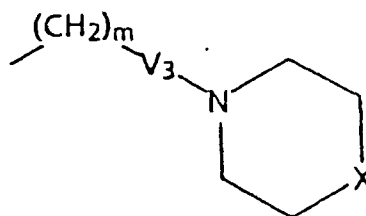
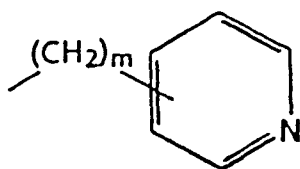
10

R_5 on vety, C_{1-4} -alkyyli tai Ar-Y-ryhmä tai $-CH_2OC(O)C(CH_3)_3$; G on radikaali, joka on valittu ryhmästä, jonka muodostavat:

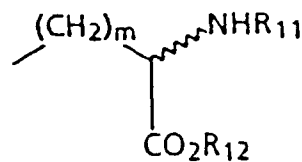
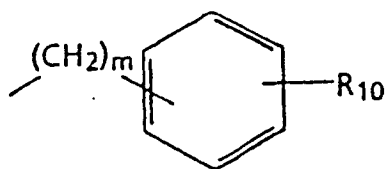
15



20

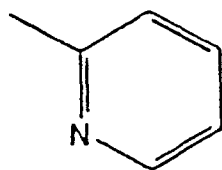


25



30

35



jolloin

m on kokonaisluku 1 - 3;

R_7 on vety, C_{1-6} -alkyyli, $-CH_2CH_2S(O)_pCH_3$ tai aryylialkyyli, jolloin p on 1, 2 tai 3;

5 R_8 on vety, hydroksi, amino, C_{1-6} -alkyyli, N-metyyliamino, N,N-dimetyyliamino, $-CO_2R_9$ tai $-OC(O)R_9$, jolloin R_9 on vety, C_{1-6} -alkyyli tai fenyyli;

10 R_{10} merkitsee 1 tai 2 substituenttia, jotka on valittu toisistaan riippumatta ryhmästä, jonka muodostavat vety, C_{1-4} -alkyyli, C_{1-4} -alkoksi ja halogeeni;

R_{11} on vety, C_{1-6} -alkyyli tai Ar-Y-ryhmä;

R_{12} on vety tai C_{1-4} -alkyyli;

V_1 on O, S tai NH;

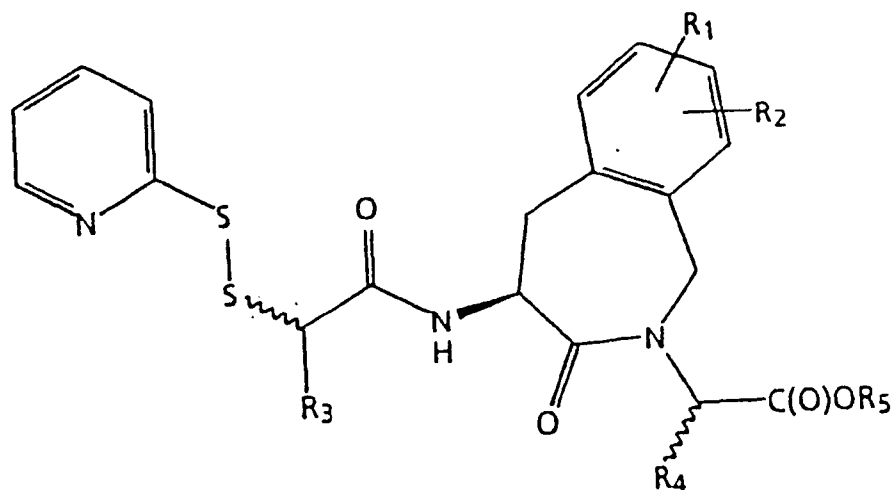
V_2 on N tai CH;

15 V_3 on suora sidos tai $-C(O)-$; tai sen stereoisomeerien tai farmaseuttisesti hyväksyttävien suolojen valmistamiseksi, jossa menetelmässä yhdiste, jolla on kaava

20

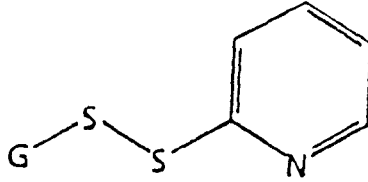
25

30



jossa R_1 , R_2 , R_3 , R_4 ja R_5 ovat edellä määritellyt, saate-
taan reagoimaan yhdisteen kanssa, jolla on kaava

5



jossa G on edellä määritelty, ja mahdollisesti poistetaan
suojaus ja mahdollisesti valmistetaan farmaseuttisesti
10 hyväksyttävä suola saattamalla edelleen reagoimaan hyväk-
syttävän hapon tai hyväksyttävän emäksen kanssa.