



FI 000105024B



SUOMI - FINLAND
(FI)

PATENTTI- JA REKISTERIHALLITUS
PATENT- OCH REGISTERSTYRELSEN

(12) PATENTTIJULKAISU
PATENTSKRIFT

(10) FI 105024 B

(45) Patentti myönnetty - Patent beviljats

31.05.2000

(51) Kv.lk.7 - Int.kl.7

C07D 211/44, 207/08, C07C 257/18,
C07D 221/22, 401/12
// (C07D 401/12, 211:44, 213:81)
(C07D 401/12, 209:14, 211:44)
(C07D 401/12, 207:08, 211:44)

(21) Patentihakemus - Patentansökning

921163

(22) Hakemispäivä - Ansökningsdag

18.03.1992

(24) Alkupaiva - Löpdag

18.03.1992

(41) Tullut julkiseksi - Blivit offentlig

27.09.1992

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

26.03.1991 CH 910/91 P

22.01.1992 CH 176/92 P

(73) Haltija - Innehavare

1 •F. Hoffmann - La Roche AG, 124 Grenzacherstrasse, 4002 Basel, SVEITSI, (CH)

(72) Keksijä - Uppfinnare

1 •Alig,Leo, 32 Liebrütistrasse, 4303 Kaiseraugst, SVEITSI, (CH)
2 •Hadvary,Paul, 8 Neumattenweg, 4105 Biel-Benken, SVEITSI, (CH)
3 •Hürzeler,Marianne, 12 Grod, 4658 Däniken, SVEITSI, (CH)
4 •Müller,Marcel, 10 Quellenweg, 4402 Frenkendorf, SVEITSI, (CH)
5 •Steiner,Beat, 18 Im Brunnacker, 4112 Bättwil, SVEITSI, (CH)
6 •Weller,Thomas, 3 Münzgasse 4, 4051 Basle, SVEITSI, (CH)

(74) Asiamies - Ombud. Kolster Oy Ab

Iso Roobertinkatu 23, 00120 Helsinki

(54) Keksinnön nimitys - Uppfinningens benämning

Menetelmä terapeuttisesti käyttökelpoisten N-(amidinobentsoyyli- tai amidinopyridyylikarbonyyli)-
α-aminohappojohdannaisien valmistamiseksi

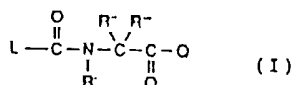
Förfarande för framställning av terapeutiskt användbara N-(amidinobensoyl- eller amidinopyridylkarbonyl)-
α-aminosyraderivat

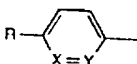
(56) Viitejulkaisut - Anförda publikationer

FI A 900463 (C07C 257/18), FI A 911148 (C07C 257/18), FI A 895860 (C07C 237/42),
Chemical Abstracts vol. 92 (1980), 208785s

(57) Tiivistelmä - Sammandrag

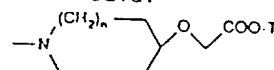
Keksintö koskee kaavan (I) mukaisten, te-
rapeuttisesti aktiivisten N-aroyyli-α-ami-
nokarboksylihappojohdannaisten valmistus-
ta,



jossa L on 

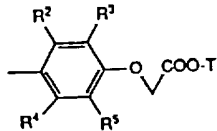
tai R'-NH(CH₂)_n

R', R'' ja R''' merkitsevät vetyä tai α-ami-
nokarboksylihappoissa tavanomaisia N-sub-
stituentteja tai sivuketjuja, jolloin
R':ssa, R'':ssa ja R''':ssa esiintyvät hydr-
oksi- tai karboksiryhmät voivat olla eet-
teröityjä tai esteröityjä tai amidoituja,
ja aminoryhmät voivat olla C₁₋₆-alkanoyloi-
tuja tai aroyloituja, Q voi olla esim.
ryhmä, jolla on kaava:



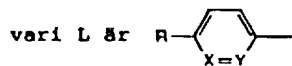
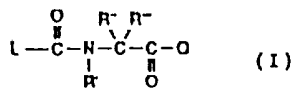
tai -N(V')(CH₂)_n-C(V'', V''')CH₂OCH₂COO-T

tai jos R¹ ja R² muodostavat yhdessä renkaan N- ja C-atomin kanssa, niin Q voi myös olla

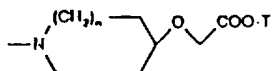


ja muilla symboleilla on patenttivaatimuksissa kuvatut merkitykset.

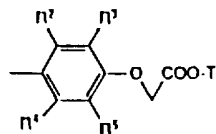
Uppfinningen avser framställning av terapeutiskt aktiva N-aryyl- α -aminokarbonsyraderivat med formeln (I),



eller R¹ -NH(CH₂)_n, R¹, R² och R³ betecknar väte eller i α -aminokarbonsyror sedvanliga N-substituenten eller sidokedjor, varvid de i R¹, R² och R³ ingående hydroxi- eller karboxigrupperna kan vara företrade eller förestrade eller amidrade, och aminogrupperna kan vara C₁₋₄-alkanoylerade eller aroylerade, Q kan vara exempelvis en grupp med formeln



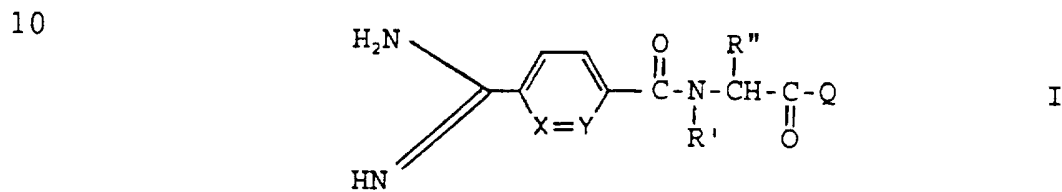
eller -N(V¹)(CH₂)_n-C(V², V³)CH₂OCH₂COO-T eller om R¹ och R² tillsammans bildar en ring med N- och C-atomen, kan Q även vara



och övriga symboler har i patentkraven definierade betydelser.

Menetelmä terapeuttisesti käyttökelpoisten N-(amidinobentsoyyli- tai amidinopyridyylikarbonyyli)- α -aminohappojohdannaisten valmistamiseksi

5 Esillä oleva keksintö koskee menetelmiä terapeuttisesti käyttökelpoisten N-(amidinobentsoyyli- tai amidinopyridyylikarbonyyli)- α -aminohappojohdannaisten valmistamiseksi, joilla on kaava I



15

jossa

toinen X:stä ja Y:stä on CH ja toinen on CH tai N,

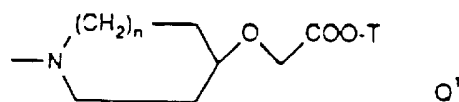
R' on vety tai metyyli,

R'' on vety, alempi alkyyli, fenyylili tai alempi alkyyli,

20 jossa on substituentti joukosta hydroksi, alempi alkoksi, alempi alkanoyylioksi, amino, karboksyyli, fenyylili, alemmalla alkoksilla, jodilla ja/tai hydroksilla substituoitu fenyylili ja indolyylili, tai R' ja R'' muodostavat yhdessä N- ja C-atomien kanssa, joihin ne ovat liittyneet, 5- tai 6-
 25 jäsenenisen renkaan,

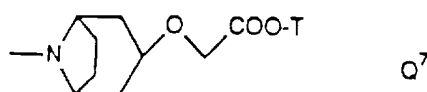
Q on ryhmä, jolla on kaava:

30



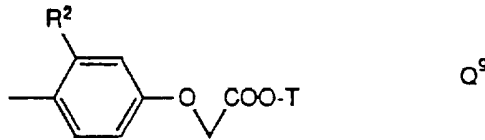
tai

35



tai, jos R' ja R'' muodostavat renkaan yhdessä N- ja C-atomien kanssa, joihin ne ovat liittyneet, niin Q voi myös olla ryhmä, jolla on kaava

5



10 n on luku 0 tai 1,
 R² merkitsee vetyä tai ryhmää -OCH₂COO-T',
 T ja T' merkitsevät vetyä, primääristä tai sekundääristä
 alempaa alkyylia tai fenyyli-alempi-alkyyliä,
 sekä niiden hydraattien ja solvaattien ja fysiologisesti
 15 käyttökelpoisten suolojen valmistamiseksi.

Uusille kaavan I mukaisille yhdisteille rakenteel-
 lisesti läheisiä yhdisteitä, joilla on samankaltaisia te-
 rapeuttisia ominaisuuksia kuin uusilla kaavan I mukaisilla
 yhdisteillä, tunnetaan FI-patenttihakemuksista 900463
 20 (vastaa EP-A-0381033), 911148 (vastaa EP-A-0445796) ja
 895860 (vastaa EP-A-037248) sekä viitteestä Chemical Abst-
 racts 92 (1980) 208785s. Läheisintä tunnettua tekniikkaa
 kyseisistä julkaisuista edustavat FI-patenttihakemus
 900463 ja sitä vastaava EP-A-0381033, joissa ei kuitenkaan
 25 kuvata yhtään piperidinyyli- tai atsabisyklo-oktaaniendo-
 yyliryhmää Q:na eikä yhtään rengasmaista alfa-aminokarbok-
 syylihapporyhmää -N(R')CH(R'')CO-. Uusilla kaavan I mukai-
 silla yhdisteillä on kuitenkin osoitettu olevan edullisem-
 mat terapeuttiset ominaisuudet kuin FI-patenttihakemukses-
 30 ta 900463 ja sitä vastaavasta hakemusjulkaisusta EP-A-
 0381033 tunnetuilla yhdisteillä.

Esillä olevan keksinnön yhteydessä Me tarkoittaa
 metyyliä, Ac asetyyliä, tBu t-butyylia, Boc t-butoksikar-
 bonyyliä, Z bentsyylioksikarbonyyliä, Fmoc 9-fluorenyyli-
 35 metoksikarbonyyliä, Val L-valyyliä, Phe L-fenyyli-alanyy-

liä, Ser L-seryyliä, Gly glysyyliä, Ala L-alanyyliä, Asp L- α -aspartyyliä, Leu L-leusyyliä, Tyr L-tyrosyyliä, Sar sarkosyyliä, Orn L-ornityyliä, Lys L-lysyyliä, Phg L- α -fenyyliglysyyliä, Pro L-prolyyliä, Glu L-glutamyyliä, Trp L-tryptofaania.

5
10
15
Ilmaisu "alempi" tarkoittaa ryhmiä, jotka sisältävät 1-6, edullisesti 1-4 C-atomia. Esimerkkejä alemmista alkyyliryhmistä ovat metyyli, etyyli, propyyli, isopropyyli, n-, s- tai t-butyli ja heksyyli. Esimerkkejä fysiologisissa olosuhteissa lohkaistavista alemmista alkyyliryhmistä ovat primääriset ja sekundääriset alemmat alkyyliryhmät.

15
Kaavan I mukaiset yhdisteet voivat olla solvatoituja, erityisesti hydratisoituja. Hydratisointi voi tapahtua valmistusmenetelmän yhteydessä tai vähitellen ensiksi vedettömän kaavan I mukaisen yhdisteen hygroskooppisten ominaisuuksien seurauksena.

20
25
30
Esimerkkeinä kaavan I mukaisten yhdisteiden fysiologisesti käytettävistä suoloista mainittakoon fysiologisesti hyväksyttävien mineraalihappojen, kuten suolahapon, rikkihapon tai fosforihapon kanssa muodostettavat suolat, tai orgaanisten happojen, kuten metaanisulfonihapon, etikkahapon, trifluorietikkahapon, sitruunahapon, fumaarihapon, maleiinihapon, viinihapon, meripihkahapon tai salisylihapon kanssa muodostettavat suolat. Vapaan karboksi-ryhmän sisältävät kaavan I mukaiset yhdisteet voivat muodostaa suoloja myös fysiologisesti hyväksyttävien emästen kanssa. Esimerkkejä tällaisista suoloista ovat alkalimetalli-, maa-alkalimetalli-, ammonium- ja alkyyliammoniumsuolat, kuten Na-, K-, Ca- tai tetrametyyliammoniumsuola. Kaavan I mukaiset yhdisteet voivat esiintyä myös amfoteerisina ioneina.

35
Kaavan I mukaiset yhdisteet, jotka sisältävät yhden tai useamman asymmetrisen C-atomin, voivat esiintyä enantiomeereinä, diastereomeereinä tai niiden seoksina, esimerkiksi rasemaatteina.

Edullisesti kaavassa I X on CH ja Y on N.

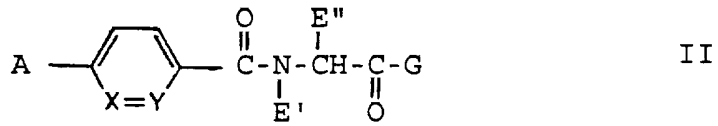
Kaavan I mukaisissa yhdisteissä, joissa $Q = Q^1$, n on edullisesti 1 ja T on vety tai metyyli.

Esimerkkejä edullisena pidetyistä kaavan I mukaisesti yhdisteistä ovat seuraavat:

- 5 [[1-[N-(p-amidinobentsoyyli)-L-alanyyli]-4-piperidinyyli]-oksi]etikkahappo,
 [[1-[N-[(5-amidino-2-pyridyyli)karbonyyli]-L-alanyyli]-4-piperidinyyli]oksi]etikkahappo,
 10 [[1-[N-(p-amidinobentsoyyli)-3-(4-hydroksi-3-jodifenyli)-L-alanyyli]-4-piperidinyyli]oksi]etikkahappo,
 [[1-[3-asetoksi-N-(p-amidinobentsoyyli)-L-alanyyli]-4-piperidinyyli]oksi]etikkahappo,
 15 [p-[[1-(p-amidinobentsoyyli)-2-pyrrolidinyyli]karbonyyli]-fenoksi]etikkahappo,
 [[1-[N-[(5-amidino-2-pyridyyli)karbonyyli]-L-tyrosyyli]-4-piperidinyyli]oksi]etikkahappo ja erityisesti
 [[1-[N-(p-amidinobentsoyyli)-L-tyrosyyli]-4-piperidinyyli]oksi]etikkahappo sekä
 20 (S)-1-[2-(5-amidinopyridin-2-yylikarbonyyliamino)-3-(4-metoksifenyli)propionyli]piperidin-4-yylioksietikkahappo,
 (S)-1-[2-(4-amidinobentsamido)-3-(4-metoksifenyli)propionyli]piperidin-4-yylioksietikkahappoetyyliesteri,
 (S)-1-[2-(4-amidinobentsamido)-3-(4-metoksifenyli)propionyli]piperidin-4-yylioksietikkahappo,
 25 [1-[N-(4-amidinobentsoyyli)-4'-heksyylioksi-L-fenyylialanyyli]piperidin-4-yylioksi]etikkahappo.

Keksinnön mukaiselle menetelmälle uusien, terapeuttisesti käyttökelpoisten kaavan I mukaisten yhdisteiden ja niiden hydraattien, solvaattien ja fysiologisesti käyttökelpoisten suolojen valmistamiseksi on tunnusomaista, että

a) yhdisteessä, jolla on kaava

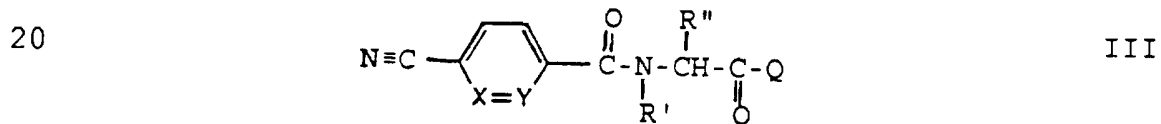


jossa

A on mahdollisesti suojattu amidinoryhmä,

10 E', E'' ja G merkitsevät samaa kuin R', R'' ja vastaavasti Q
 kaavassa I, jolloin kuitenkin G ryhmän -COOT sijasta si-
 sisältää tert-butoksykarbonyyliryhmän -COO-tBu ja E' ja E''
 voivat sisältää karboksyylihapoesteriryhmän ja/tai eette-
 riryhmän ja/tai suojatun aminoryhmän,
 lohkaistaan G:ssä oleva ryhmä -COO-tBu ja A:ssa, E':ssa
 15 tai E'':ssa mahdollisesti oleva eetteriryhmä, suojattu ami-
 no- tai amidinoryhmä tai karboksyylihapoesteriryhmä si-
 nänsä tunnetulla tavalla, tai

b) nitriilissä, jolla on kaava

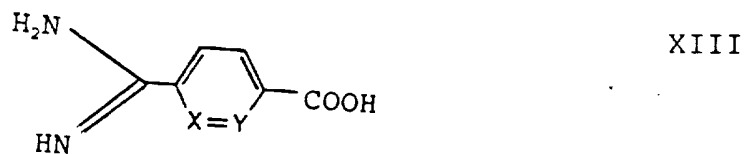


25 muutetaan syaaniryhmä amidinoryhmäksi sinänsä tunnetulla
 tavalla, tai

c) amiini, jolla on kaava



30 saatetaan reagoimaan hapon kanssa, jolla on kaava XIII



tai sen reaktiokykyisen johdannaisen kanssa sinänsä tunnetulla tavalla,

ja mahdollisesti suoritetaan saadulle kaavan I mukaiselle yhdisteelle yksi tai useampi seuraavista reaktioista:

- i) primäärinen tai sekundäärinen alempi alkoksikarbonyyliryhmä tai fenyyli-alempi-alkoksikarbonyyliryhmä -COOT tai -COOT' lohkaistaan vapaaksi karboksyyli-ryhmäksi,
- ii) karboksyyli-ryhmä -COOT tai -COOT' esteröidään primääriseksi tai sekundääriseksi alemmaksi alkoksikarbonyyliryhmäksi tai fenyyli-alempi-alkoksikarbonyyliryhmäksi,
- iii) jodataan ryhmän R" sisältämä fenyyli-ryhmä,
- iv) kaavan I mukainen yhdiste muutetaan fysiologisesti käyttökelpoiseksi suolaksi, ja
- v) kaavan I mukaisen yhdisteen suola muutetaan vapaaksi hapoksi tai emäkseksi.

Esimerkkejä lohkaistavista karboksyylihapoesteriryhmistä ovat bentsyyli-OCO- ja alempi-alkyyli-OCO, kuten tBu-OCO-. Esimerkkejä lohkaistavista suojatuista amino-, amidino- ja guanidinoryhmistä ovat -NH-Z, -NH-Boc ja N₃; -C(NH)NH-Z; -C(NH)NH-Boc, -C(N-Boc)N-(Boc)₂ ja -C(N-Boc)NH-Boc; -NHC(NH)NHNO₂ ja -NHC(N-Boc)NH-Boc. Esimerkki lohkaistavasta eetteriryhmästä on tBu-O-.

Esteriryhmät voidaan hydrolysoida sinänsä tunnetulla tavalla, esimerkiksi emäksellä, kuten alkalimetallihydroksidilla, esim. natriumhydroksidilla, liuottimessa, kuten metanolissa tai vedessä; tai hapolla, kuten suolahapolla. Bentsyyliesterit voidaan lohkaista hydraamalla ja lometallikatalysaattorin, kuten palladiumin aktiivihiilen pinnalla (Pd/C) läsnä ollessa, liuottimessa, kuten metanolissa, etanolissa, muurahaishapossa tai etikkahapossa, korkeintaan noin 40 °C:n lämpötilassa, edullisesti huoneenlämpötilassa. Tällöin lohkaistaan samanaikaisesti ryhmän A sisältämä amidinosuojaryhmä, kuten Z.

Esteriryhmät, kuten tBu-OCO- sekä amino- tai amidinuosuojaryhmät, kuten Boc, ja eetteriryhmät, kuten tBu-O-, voidaan lohkaista esim. hapolla, kuten muurahaishapolla tai trifluorietikkahapolla, haluttaessa liuottimessa, kuten dikloorimetaanissa, tai HCl:llä kyllästetyllä jääteikällä korkeintaan 40 °C:n lämpötilassa, edullisesti huoneenlämpötilassa.

Vaihtoehto b) voidaan saada aikaan siten, että nitriili III muutetaan saattamalla rikkivety reagoimaan trietyyliamiinin kanssa pyridiinissä tioamidiksi, tämä muutetaan metyloimalla metyylijodidilla asetonissa ja lopuksi suorittamalla ammonolyysi ammoniumasetaatilla metanolissa kaavan I mukaiseksi yhdisteeksi.

Amiinin IV kytkentä c) happoon XIII tai sen reaktiokykyiseen johdannaiseen, kuten happokloridiin, suoritetaan emäksen, kuten pikoliinin läsnä ollessa liuottimessa, kuten dikloorimetaanissa korkeintaan 40 °C:n lämpötilassa, edullisesti huoneenlämpötilassa.

Mahdollisia lisäreaktioita ovat reaktiokkyisten ryhmien lisäreaktioiden i) - iii) mukaan tapahtuvat funktionaaliset muutokset, kuten ryhmän Q sisältämä alempi alkoksikarbonyyliryhmän tai fenyyli-alempi-alkoksikarbonyyliryhmän -COO-T tai -COO-T' lohkaus, tai karboksiryhmän esteröinti hapossa I, tai sivuketjun R" sisältämän fenyyli-ryhmän jodaus.

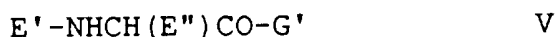
Ryhmän Q sisältämät butoksikarbonyyli- tai metoksikarbonyyliryhmät voidaan näin ollen saippuoida hapolla, kuten vesipitoisella suolahapolla tai etikkahapolla, tai emäksisissä olosuhteissa, esim. vesipitoisella natronlipeällä metanolissa, asetoksi-ryhmät taas kaliumkarbonaatilla metanolissa. Karboksiryhmän esteröinti saadaan aikaan esimerkiksi antamalla hapon reagoida sopivan alkoholin kanssa katalyyttisten määrien H₂SO₄:ää läsnä ollessa.

Fenyyli-ryhmän jodaus sivuketjussa R" voidaan suorittaa antamalla yhdisteen I reagoida klooriamiinin T

kanssa ja sen jälkeen natriumjodidin kanssa vedessä/DMF:ssä.

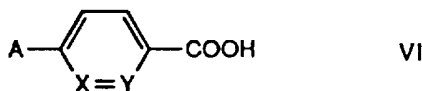
Kaavojen II ja III mukaiset yhdisteet ovat uusia. Niitä valmistetaan sinänsä tunnetulla tavalla.

5 Siten kaavan II mukaista yhdistettä valmistetaan saattamalla amiini, jolla on kaava V



10 jossa G' merkitsee jotakin ryhmistä Q¹, Q⁷ ja O⁹, jolloin ryhmä -COO-T ja mahdollisesti esiintyvä ryhmä -COO-T' ovat karboksyylihapoesteriryhminä, reagoimaan hapon kanssa, jolla on kaava VI

15



20

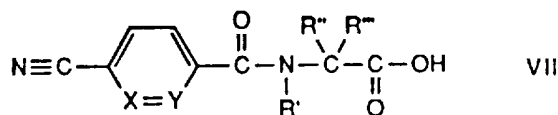
tai sen reaktiokykyisen johdannaisen, esim. happokloridin kanssa.

Tämä reaktio voidaan suorittaa mahdollisesti tetra-n-butyyliammoniumvetysulfaatin läsnä ollessa liuottimessa, kuten dikloorimetaanissa, ja emäksen, kuten vesipitoisen natriumbikarbonaatin läsnä ollessa.

25

Amiini H-Q^o, jossa Q^o on aminoryhmä Q¹ tai Q⁷, jolloin ryhmä -COO-T ja mahdollisesti esiintyvä ryhmä -COO-T' ovat karboksyylihapoesteriryhminä, voidaan saattaa reagoimaan hapon kanssa, jolla on kaava VII

30

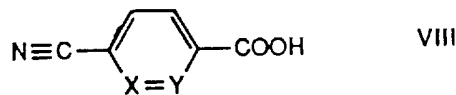


nitriiliksi III.

35

Tämä reaktio voidaan suorittaa 2-(1H-bentsotriatol-1-yyli)-1,1,3,3-tetrametyyliuronium-heksafluorifosfaatin (HBTU) ja orgaanisen emäksen, kuten N-metyylimorfoliinin läsnä ollessa liuottimessa, kuten DMF:ssä.

Yhdistettä II, jossa A on amidino, voidaan saada muutamalla syaaniryhmä amidinoryhmäksi yhdistettä II vastaavassa nitriilissä. Viimeksi mainittua voidaan valmistaa kytkemällä edellä olevan kaavan V mukainen amiini seuraavan kaavan VIII mukaiseen happoon

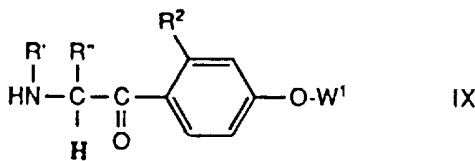


tai sen funktionaaliseen johdannaiseen, esimerkiksi happokloridiin.

Tämä kytkentä voidaan suorittaa 2-kloori-4,6-dimehtoksi-1,3,5-triatsiinin (CDMT) ja emäksen, kuten N-metyylimorfoliinin läsnä ollessa liuottimessa, kuten dikloorimetaanissa.

Nitriiliä III, jossa Q on ryhmä Q⁹, voidaan valmistaa esimerkiksi seuraavasti:

Amiini, jolla on kaava IX

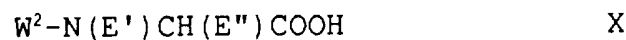


jossa R' ja R'' muodostavat yhdessä N- ja C-atomin kanssa renkaan, ja W¹ on suojaryhmä,

saatetaan reagoimaan hapon VIII tai sen funktionaalisen johdannaisen kanssa, suojaryhmä lohkaistaan ja muodostuneen fenolin annetaan reagoida bromietikkahappojohdannaisen BrCH₂COO-T kanssa.

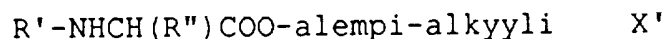
Amiinin IX reaktio happoa VIII vastaavan happokloridin kanssa voidaan suorittaa emäksen, kuten trietyyliamiinin läsnä ollessa DMF:ssä. Suojaryhmän W^1 , esimerkiksi bentsyylin lohkaus voi tapahtua suorittamalla hydrogennylyysi Pd/C:llä etanolissa, ja edellä olevan fenolin reaktio bromietikkahappojohdannaisen kanssa voidaan suorittaa DMF:ssä kaliumkarbonaatin läsnä ollessa.

5
10
Amineja IV ja V voidaan valmistaa esim. kytkemällä N-suojattu aminohappo, jolla on kaava X



amiiniin $H-Q^o$ ja poistamalla suojaryhmä W^2 , esimerkiksi Z tai Boc kytkentätuotteesta.

15
Happoja VII voidaan valmistaa kytkemällä hapon VIII funktionaalinen johdannainen, esim. happokloridi amiiniin



20
ja lohkaisemalla esteriryhmä kytkentätuotteesta. Tämä kytkentä voidaan saada aikaan esim. dikloorimetaanissa trietyyliamiinin läsnä ollessa. Alempi-alkyyli-ryhmä, esim. metyyli voidaan poistaa vesipitoisella LiOH:lla metanolissa.

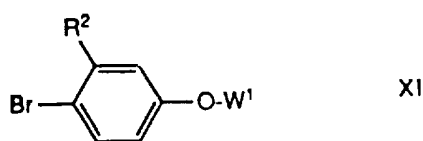
25
Aminohappo, jolla on kaava X''



30
voidaan myös saattaa suoraan reagoimaan happoa VIII vastaavan happokloridin kanssa vesipitoisen natriumbikarbonaatin läsnä ollessa, mahdollisesti tetrametyyliammoniumsulfaatin läsnä ollessa dikloorimetaanissa hapoksi VII.

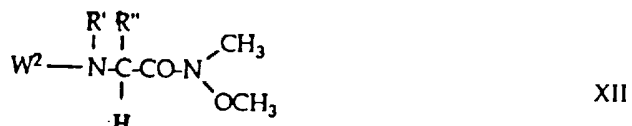
35
Amineja IX voidaan valmistaa siten, että kaavan XI mukaisen bromidin Grignard-reagenssi

11



5

saatetaan reagoimaan kaavan XII mukaisen yhdisteen kanssa



10

ja aminosuojaryhmä W² poistetaan reaktiotuotteesta.

Edellä käytettyjä muita amiineja HQ^o, joissa Q^o on aminoryhmä Q¹ tai Q⁷, jolloin ryhmä -COO-T ja mahdollisesti esiintyvä ryhmä -COO-T' ovat karboksyylihappoesteriryhminä, voidaan valmistaa, kuten seuraavissa esimerkeissä 15 la), b) c), 2a), 46a) b), 47a) ja 48 a) b) on kuvattu.

Kaavan I mukaiset yhdisteet, niiden solvaatit ja niiden suolat estävät sekä fibrinogeenin, fibronektiinin ja Willebrand-tekijän sitoutumisen verihituleiden fibrinogeenireseptoriin (glykoproteiini IIb/IIIa) että myös edellisten ja muiden yhteenkiinnittyneiden valkuaisaineiden, kuten vitronektiinin, kollageenin ja laminiinin sitoutumisen vastaaviin reseptoreihin eri solutyypin pinnalla. Mainitut yhdisteet saavat täten aikaan solu-solu- ja solu-matriisi-vuorovaikutuksen. Ne estävät erityisesti verihituletrombien muodostumista ja niitä voidaan käyttää hoidettaessa tai ennaltaehkäistäessä sairauksia, kuten tromboosia eli verisuonitukosta, aivoinfarktia, sydäninfarktia, tulehduksia ja arterioskleroosia eli valtimonkove- 20 vetustautia. Edelleen nämä yhdisteet vaikuttavat kasvain-soluihin siten, että ne estävät etäpesäkkeiden muodostumista. Täten niitä voidaan käyttää myös kasvainten kasvua estävinä aineina. Edelleen ne nopeuttavat haavojen parantumista. Koska ne estävät myös luun haurastumisen, niitä 25 voidaan käyttää osteoporoosin hoidossa.

30

..

..

35

...

Tällöin voidaan osoittaa seuraavasti, miten fibrinogeenin sitoutuminen fibrinogeenireseptoriin, glykoproteiini IIB/IIIa:han, estyy:

5 Glykoproteiini IIB/IIIa:ta saadaan ihmisen verihii-
taleiden Triton X-100-uutteista ja puhdistus tapahtuu lek-
tiini-affiniteettikromatografiaa (Analytical Biochemistry
151,1985, 169-177) käyttäen ja kromatografioimalla Arg-
Gly-Asp-Ser-affiniteettikolonilla (Science 231, 1986,
1559-62). Näin saatu reseptoriproteiini sitoutuu mikrotit-
10 terilevyihin. Fibrinogeenin spesifinen sitoutuminen immo-
bilisoituun eli liikkumattomaksi tehtyyn reseptoriin mää-
ritetään ELISA-menetelmän avulla ("enzyme-linked immuno-
sorbent assay" eli entsyymi-immunoanalyysi). Taulukossa 1
esitetyt IC_{50} -arvot vastaavat sitä testiaine-konsentraa-
15 tiota, joka tarvitaan estämään 50 %:sti fibrinogeenin
sitoutuminen immobilisoituun reseptoriin.

Taulukossa 1 esitetty keksinnön mukaisesti valmis-
tettujen kaavan I mukaisten N-amidinoaroyyli- α -aminohappo-
johdannaisten IC_{50} -arvoja, jolloin nähdään, että nämä ovat
20 samaa suuruusluokkaa riippumatta siitä, onko

a) Q substituoitu fenyyliiryhmä Q^9 (esimerkki 30, 31,
ja 33), substituoitu silloitettu piperidiiniryhmä Q^7 (esi-
merkki 47) tai substituoitu piperidinyyliiryhmä Q^1 , tai

b) R' ja R'' muodostavat yhdessä N- ja C-atomin
25 kanssa 5- tai 6-jäsenisen renkaan (esimerkki 24, 30, 31,
33 ja 27) tai R' ja R'' tarkoittavat toisistaan riippumatta
vetyä tai jotakuta patenttivaatimuksessa 1 esitettyä ryh-
mää.

30

Taulukko I

Kaavan I mukaisten N-aminoaroyyli- α -aminohappojohdannaisten I_{50} -arvot

Esim.	R'	R''	Q	IC ₅₀ (μ M)
1	H	H	Q ¹ (H)	0,01
3	H	Me	Q ¹ (H)	0,0017
4	H	Me	Q ¹ (H)	0,14
5	H	Me	Q ¹ (H)	0,001
6	H	iPr	Q ¹ (H)	0,027
7	H	iBu	Q ¹ (H)	0,033
8	Me	H	Q ¹ (H)	0,008
9	H	(CH ₂) ₃ NH ₂	Q ¹ (H)	0,08
10	H	(CH ₂) ₄ NH ₂	Q ¹ (H)	0,017
11	H	Ø	Q ¹ (H)	0,018
13	H	CH ₂ Ø	Q ¹ (H)	0,001
14	H	CH ₂ ØOH	Q ¹ (H)	0,018
15	H	CH ₂ ØOH	Q ¹ (Me)	0,053
16	H	CH ₂ Ø(J,OH)	Q ¹ (H)	0,002
17	H	CH ₂ Ø(J ₂ ,OH)	Q ¹ (H)	0,012
18	H	CH ₂ OAc	Q ¹ (H)	0,0017
19	H	CH ₂ OH	Q ¹ (H)	0,012
20	H	CH ₂ COOH	Q ¹ (H)	0,09
21	H	(CH ₂) ₂ COOH	Q ¹ (H)	0,16
24		(CH ₂) ₃	Q ¹ (H)	0,026
27		(CH ₂) ₄	Q ¹ (H)	0,008
30		(CH ₂) ₃	Q ⁹ (Me,H)	0,015
31		(CH ₂) ₃	Q ⁹ (H,H)	0,001
33		(CH ₂) ₃	Q ⁹ (H,OCH ₂ COOH)	0,014
37	H	CH ₂ ØOH	Q ¹ (H)	0,0003
38	H	CH ₂ ØOMe	Q ¹ (Et)	0,031
39	H	CH ₂ ØOMe	Q ¹ (1,H)	0,0008
40	H	CH ₂ ØOMe	Q ¹ (1,Et)	0,05
41	H	CH ₂ ØOMe	Q ¹ (1,H)	0,0007
42	H	CH ₂ -3-indolyyli	Q ¹ (1,H)	0,007
43	H	CH ₂ ØOH _{hex}	Q ¹ (1,H)	0,0016
44	Me	CH ₂ ØOMe	Q ¹ (1,H)	0,01
47	H	CH ₂ ØOH	Q ⁷ (H)	0,008
50	CH ₂ CH ₂ OMe	H	Q ¹ (1,H)	0,017

Esillä olevan keksinnön mukaisesti saatavien uusien yhdisteiden edut julkaisusta EP-A-0 381 033 tunnettuihin yhdisteisiin verrattuna käyvät ilmi taulukossa 2 esitetyistä vertailukoetuloksista, jotka on saatu tutkittaessa ihmisen verihitaleiden aggregoitumisen estymistä ihmisen

veriplasmassa. Kokeessa valmistettiin runsaasti ihmisen verihiutaleita sisältävää plasmaa (h-PRP) verestä, joka oli antikoaguloitu 1/10 tilavuudella 90 mM trinitriumsitraattia ja verihiutaleiden aggregoituminen mitattiin määrittämällä aggregometrillä valon läpikulun muutosnopeus. Lisättiin laimennussarja inhibiittoreita ja aggregoituminen indusoitiin agonisteilla: kollageeni (COL), ADP ja trombiini (THR), joiden loppupitoisuudet h-PRP:ssä olivat vastaavasti 2,5 µg/ml, 10 µM ja 0,2 U/ml. IC₅₀-arvot mainituilla kolmella agonistilla on esitetty taulukossa 2.

Taulukko 2

Ihmisen verihiutaleiden aggregoitumisen estyminen plasmassa

Yhdiste esimerkistä Keksintö		5	14	16	31	37	39	40	43
IC ₅₀ (µM)	ADP	0,027	0,027	0,033	0,041	0,011	0,013	0,009	0,021
	COL	0,026	0,024	0,021	0,041	0,010	0,015	0,011	0,016
	THR	0,026	0,092	0,030	0,038	0,013	0,019	0,011	0,029

Yhdiste esimerkistä EP-A-0 381 033		2	25	26	48	82	83
IC ₅₀ (µM)	ADP	0,65	0,18	0,15	1,00	0,18	0,051
	COL	0,33		0,13	0,90	0,45	0,070
	THR	0,42		0,09	1,20	0,37	0,060

Koetulokset osoittavat, että esillä olevan keksinnön mukaisesti valmistettavat yhdisteet ovat ylivoimaisia rakenteellisesti läheisiin, viitejulkaisun esimerkkien 25 ja 26, sekä esimerkkien 48, 82 ja 83 mukaisiin yhdisteisiin verrattuna, jotka viimeksi mainitun ryhmän yhdisteet kuuluvat kyseisen viitejulkaisun tehokkaimpien yhdisteiden joukkoon; vrt. IC₅₀-arvot.

Kaavan I mukaisten yhdisteiden toksisuus on vähäistä. Niinpä esimerkkien 3 ja 14 tuotteiden LD₅₀ on 250 mg/kg ja esimerkin 5 tuotteiden LD₅₀ on 500 mg/kg annosteltuna ruiskeena laskimoon hiirellä.

5 Lääkeaineet, jotka sisältävät kaavan I mukaista yhdistettä, sen solvaattia tai sen suolaa, voidaan annostella enteraalisesti, esimerkiksi suun kautta tabletteina, lakkatabletteina, lääkerakeina, kova- ja pehmeägelatiinikapseleina, liuoksina, emulsioina tai suspensioina, tai
10 rektaalisesti eli peräsuolen kautta, esimerkiksi peräpuikkoina, tai spraynä. Annostelu voi tapahtua myös parenteraalisesti, esimerkiksi injektio-liuoksina tai infuusiona.

Tablettien, lakkatablettien, lääkerakeiden ja kovagelatiinikapselien valmistamiseksi vaikuttavaan aineeseen
15 voidaan sekoittaa farmaseuttisesti inerttejä, epäorgaanisia tai orgaanisia täyteaineita. Tällaisina täyteaineina voidaan käyttää tableteissa, lääkerakeissa ja kovagelatiinikapseleissa esim. laktoosia, maissitärkkelystä, tai sen johdannaisia, talkkia, steariinihappoa tai sen suoloja.
20 Pehmeägelatiinikapseleissa käytettäviksi täyteaineiksi soveltuvat esim. kasvisöljyt, vahat, rasvat, puolikiinteät ja nestemäiset polyolit; kulloinkin aina vaikuttavan aineen laadusta riippuen ei pehmeägelatiinikapseleissa aina välttämättä tarvita ylipäättänsä mitään täyteaineita. Liuosten ja siirappien valmistuksessa käytettäviksi täyteaineiksi soveltuvat esim. vesi, polyolit, sakkaroosi, inverttisokeri ja glukoosi, ja injektio-liuoksissa käytettäviksi täyteaineiksi soveltuvat esim. vesi, alkoholit, polyolit, glyseroli ja kasvisöljyt, ja peräpuikkoihin taas
30 soveltuvat esim. luonnon tai kovetetut öljyt, vahat, rasvat ja puoliksi nestemäiset ja nestemäiset polyolit. Farmaseuttiset valmisteet voivat sisältää näiden ohella vielä säilöntäaineita, liukenemistä välittäviä aineita, stabiloimisaineita, kostutusaineita, emulgointiaineita, makeutusaineita, väriaineita, aromiaineita, suoloja osmoottisen
35

paineen muuttamiseksi, puskuriaineita, päällystysaineita tai antioksidantteja eli hapetuksen estoaineita.

Edellä mainittujen sairauksien hoidossa tai ennaltaehkäisyssä voi vaikuttavan aineen annostus vaihdella suuresti ja on luonnollisesti jokaisessa yksittäisessä tapauksessa sovitettava yksilöllisten vallitsevien tilanteiden mukaiseksi. Yleensä suun kautta tapahtuvassa annoste-
 5 lussa sopiva annostus aikuisella on noin 0,1 - 20 mg/kg, edullisesti noin 0,5 - 4 mg/kg/päivä, jolloin edellä ilmoitettu yläraja voidaan myös ylittää, jos se osoittautuu
 10 tarkoituksenmukaiseksi.

Esimerkki A

Kaavan I mukaista yhdistettä voidaan käyttää sinänsä tunnetulla tavalla vaikuttavana aineena seuraavan koostumuksen omaavien tablettien valmistukseen:
 15

	Tablettia kohti
Vaikuttavaa ainetta	200 mg
mikrokiteistä selluloosaa	155 mg
20 maissitärkkelystä	25 mg
talkkia	25 mg
hydroksipropyylimetyyliselluloosaa	<u>20 mg</u>
	425 mg

Esimerkki B

Kaavan I mukaista yhdistettä voidaan käyttää sinänsä tunnetulla tavalla vaikuttavana aineena seuraavan koostumuksen omaavien kapselien valmistukseen.

	Kapselia kohti
30 Vaikuttavaa ainetta	100,0 mg
maissitärkkelystä	20,0 mg
maitosokeria	95,0 mg
talkkia	4,5 mg
35 magnesiumstearaattia	<u>0,5 mg</u>
	220,0 mg

Edellä esitetyssä taulukossa 1 on esitetty eri esimerkkien mukaisesti valmistettujen kaavan I mukisten yhdisteiden ryhmien R, R² ja Q merkitykset.

Esimerkki 1

5 Liuoksen, jossa on 2,43 g [[1-[N-(p-amidinobentsoy-
 10 yyli)glysyili]-4-piperidinyyli]oksi]etikkahappo-t-butyylie-
 15 steriä 15 ml:ssa dikloorimetaani/trifluorietikkahappoa
 1:1, annetaan seistä 5 tuntia huoneenlämpötilassa. Liuot-
 timen haihduttamisen ja kromatografioinnin jälkeen [sily-
 loitu silikageeli (LiChroprep RP-18), metanoli/vesi-gra-
 dientti] saadaan 0,46 g [[1-[N-(p-amidinobentsoyyl)gly-
 syyli]-4-piperidinyyli]oksi]etikkahapon trifluoriasetaat-
 tia, sulamispisteen ollessa 233-236 °C. MS (FAB): 363
 (M+H)⁺.

15 Lähtöainetta voidaan valmistaa seuraavasti:

a) Liuokseen, jossa on 50 g 4-hydroksipiperidiiniä
 500 ml:ssa dikloorimetaania lisätään peräjälkeen 0 °C:ssa
 69,1 ml trietyyliamiinia ja 70,2 ml kloorimuurahai-
 bentsyyliesteriä. Muodostunutta suspensiota sekoitetaan
 20 yön ajan huoneenlämpötilassa ja lopuksi suodatetaan. Suo-
 doksen haihduttamisen jälkeen muodostuva jäännös liuote-
 taan etikkaesteriin, pestään vedellä ja 1N suolahapolla,
 kuivataan ja haihdutetaan. Saadaan 73,6 g N-bentsyylioksi-
 karbonyyli-4-hydroksipiperidiiniä, R_f = 0,56 (etikkaeste-
 25 ri/metanoli 9:1), MS (EI): 235 (M⁺).

b) Liuokseen, jossa on 30,1 g N-bentsyylioksi-
 karbonyyli-4-hydroksipiperidiiniä 300 ml:ssa toluenia lisätään
 28 ml bromietikkahappo-t-butyyliesteriä ja 1,4 g tetra-n-
 butyyliammoniumvetysulfaattia 10 ml:ssa vettä. Tämän jäl-
 30 keen tiputetaan liuos, jossa on 125 g natriumhydroksidia
 125 ml:ssa vettä. Sen jälkeen, kun on sekoitettu yön ajan,
 orgaaniset faasit erotetaan, kuivataan ja haihdutetaan.
 Kuivaamisen jälkeen saadaan 34,1 g N-bentsyylioksi-
 karbonyyli-4-[(t-butoksi)karbonyyli]-metoksi]-piperidiiniä,
 35 R_f = 0,76 (etikkaesteri). MS (EI): 293 (M-C₄H₈)⁺.

c) Liuokseen, jossa on 30 g kohdan b) tuotetta 50 ml:ssa etanolia lisätään 1,5 g Pd/C:tä (10%). Reaktioseos hydrataan huoneenlämpötilassa. Tämän jälkeen suodatetaan katalyysaattorista erilleen, pestään etanolilla ja suodos haihdutetaan. Saadaan 17,4 g 4-piperidinyylioksi-
5 etikkahappo-t-butyyliesteriä, $R_f = 0,14$ (etikkaesteri/metanolili 1:1).

MS (EI): 215 (M^+).

d) Kytkemällä 5,8 g (5,4 g:lla CDMT:tä aktivoitua) Z-glysiiniä 6,0 g:aan 4-piperidinyylioksi-
10 etikkahappo-t-butyyliesteriä ja 6,3 ml:aan N-metyylimorfoliinia dikloorimetaanissa, saadaan 10 g bentsyyli-[[[4-[(t-butoksikarbonyyli)metoksi]piperidinyyli]karbonyyli]metyyli]karbamaattia. MS (EI): 406 (M^+).

e) Hydrogenolysoimalla liuos, jossa on 10 g kohdan d) tuotetta 200 ml:ssa etanolia 0,7 g:n Pd/C:tä (10%) ja 1,4 ml:n etikkahappoa läsnä ollessa, eristetään sen jälkeen, kun on kromatografioitu silikageelillä käyttäen etikkaesteri/metanolia 1:1, 4,1 g 1-[(1-glysyyl-4-piperidinyyli)oksi]etikkahappo-t-butyyliesteriä, MS (EI): 273
20 ($M+H$)⁺, IR: 1746 cm^{-1} .

f) Seokseen, jossa on 4,1 g kohdan e) tuotetta ja 0,03 g tetra-n-butyyliammoniumvetysulfaattia 210 ml:ssa dikloorimetaania/kyllästettyänatriumvetykarbonaattiliuosta 4:3, lisätään huoneenlämpötilassa 2,95 g p-amidinobentsoylikloridi-hydrokloridia (valmistettu p-amidinobentsoehaposta antamalla reagoida tionyylikloridin kanssa THF:ssä DMF:n läsnä ollessa). Sen jälkeen, kun on sekoitettu yön ajan, laimennetaan dikloorimetaanilla ja vedellä, pH saadetaan arvoon 9-10 lisäämällä 1N natronlipeätä, orgaaniset
25 uutteet erotetaan, kuivataan ja haihdutetaan. Kuivaamisen jälkeen saadaan 2,43 g haluttua lähtöainetta, MS (FAB): 419 ($M+H$)⁺.
30

Esimerkki 2

A) Liuos, jossa on 1,5 g [[1-[N-(p-syanbentsoyyli)-glysyili]-4-piperidinyyli]oksi]-etikkahappometyyliesteriä 215 ml:ssa pyridiini/trietyyliamiinia 40:3, kyllästetään rikkivedyllä ja annetaan seistä 24 tuntia huoneenlämpötilassa. Liuottimen poistamisen jälkeen jäännös liuotetaan etikkaesteriin ja pestään kyllästetyllä natriumkloridiliuoksella. Orgaaniset uutteet kuivataan ja haihdutetaan. Sen jälkeen, kun jäännös on kromatografioitu silikageelillä käyttäen etikkaesteriä ja sen jälkeen etikkaesteri/metanolia, eristetään 1,34 g [[1-[N-[p-(tiokarbamoyyli)bentsoyyli]glysyili]-4-piperidinyyli]oksi]-etikkahappometyyliesteriä, MS (FAB): 394 (M+H)⁺.

B) Antamalla 1,25 g:n esivaihetta reagoida 7,5 ml:n kanssa metyylijodidia 150 ml:ssa asetonia kiehumislämpötilassa, saadaan tulokseksi suodattamisen ja liuottimen poistamisen jälkeen 1,65 g [[1-[N-[p-[1-(metyylitio)formimidoyyli]bentsoyyli]glysyili]-4-piperidinyyli]oksi]-etikkahappometyyliesteri-hydrojodidia, MS (FAB): 408 (M+H)⁺.

C) Suorittamalla ammonolyysi 1,5 g:lle kohdan B) tuotetta 0,32 g:n ammoniumasetaatia läsnä ollessa 100 ml:ssa metanolia kiehumislämpötilassa, saadaan 0,76 g [[1-[N-(p-(amidinobentsoyyli)glysyili)-4-piperidinyyli]oksi]-etikkahappometyyliesteri-hydrojodidia, jonka sulamispiste on 103-105 °C. MS (FAB): 377 (M+H)⁺.

Lähtönitriiliä voidaan valmistaa seuraavasti:

a) Esteröimällä 4-piperidinyylioksietikkahapon trifluoriasetaatti (valmistettu käsittelemällä esimerkin 1c) tuotetta trifluorietikkahapolla dikloorimetaanissa) metanolissa tionyylikloridin läsnä ollessa, saadaan 4-piperidinyylioksietikkahappometyyliesteri-hydrokloridi, MS (EI): 173 (M)⁺.

b) Kytkemällä 1,35 g kohdan a) tuotetta 1,18 g:aan N-(p-syanbentsoyyli)glysiiniä (valmistettu antamalla glysiinin reagoita p-syanbentsoyylikloridin kanssa kylläste-

tyssä natriumvetykarbonaattiliuoksessa) HBTU:n ja N-metyylimorfoliinin läsnä ollessa DMF:ssä, saadaan sen jälkeen, kun on kromatografioitu silikageelillä (etikkaesteri/metanoli 9:1 - 1:1) 1,66 g haluttua lähtönitriiliä, MS (EI):
 5 359 (M)⁺.

Esimerkki 3

13 g:sta [[1-[N-(p-amidinobentsoyyli)-L-alanyyli]-4-piperidinyyli]oksi]etikkahappo-t-butyyliesteriä saadaan käsittelemällä trifluorietikkahapolla dikloorimetaanissa
 10 (kuten esimerkissä 1 on kuvattu) metanoli/dietyylieetteristä uudelleenkiteytyksen jälkeen, 8,9 g [[1-[N-(p-amidinobentsoyyli)-L-alanyyli]-4-piperidinyyli]oksi]etikkahapon trifluoriasetaattia. Sp.: 120 °C (hajoten). MS (FAB): 377 (M+H)⁺. $[\alpha]^{20}_D = +24,7$ °C (c = 0,7 vedessä).

15 Lähtöainetta voidaan valmistaa seuraavasti:

a) Kytkemällä 18 g Z-L-alaniinia 17,4 g:aan 4-piperidinyylioksietikkahappo-t-butyyliesteriä ja sen jälkeen suorittamalla saadulle tuotteelle hydrogenolyysi, kuten esimerkissä 1d) ja e), saadaan tulokseksi 15,8 g 1-[(1-L-alanyyli-4-piperidinyyli)oksi]etikkahappo-t-butyyliesterin
 20 asetaattia. Sp.: 93-96 °C. $[\alpha]^{20}_D = +2,0$ °C (c = 1,0 metanolissa).

b) Kytkemällä 4,7 g kohdan a) tuotetta 3,4 g:aan p-amidino-bentsoyylikloridi-hydrokloridia, kuten esimerkissä 1f), saadaan tulokseksi 4,2 g haluttua lähtöainetta.
 25 MS (EI): 433 (M+H)⁺.

Esimerkki 4

0,3 g:sta [[1-[N-[p-[N-(t-butoksykarbonyyli)amidinobentsoyyli]-D-alanyyli]-4-piperidinyyli]oksi]etikkahappo-t-butyyliesteriä saadaan vastaavasti, kuten esimerkissä
 30 1, 0,1 g [[1-[N-(p-amidinobentsoyyli)-D-alanyyli]-4-piperidinyyli]oksi]etikkahappoa trifluoriasetaattina. Sp.: 115 °C (hajoten). $[\alpha]^{20}_D = -27,5$ °C (c = 0,8 vedessä). MS (FAB): 377 (M+H)⁺.

Lähtöainetta voidaan valmistaa seuraavasti:

5 a) Antamalla 3 g:n 4-piperidinyylioksietikkahappo-t-butyyliesteriä reagoida 2,43 g:n kanssa Z-D-alaniinia, kuten esimerkissä 1d) kuvattiin, saadaan sen jälkeen, kun on kromatografioitu silikageelillä käyttäen etikkaesteri/-heksaania 1:1, 3,1 g bentsyyli-[(R)-1-[[4-[(t-butoksykarbonyyli)metoksi]piperidinyyli]karbonyyli]etyyli]karbamaattia. MS (EI): 420 (M)⁺.

10 b) Hydrogenolysoimalla 3,1 g kohdan a) tuotetta, kuten esimerkissä 1e) kuvattiin, saadaan 2,5 g 1-[(1-D-alanyyli-4-piperidinyyli)oksi]-etikkahappo-t-butyyliesterin asetaattia. MS (EI): 215 (M-C₃H₅NO).

15 c) Antamalla 1 g:n esivaihetta reagoida 0,66 g:n kanssa p-amidinobentsoylikloridi-hydrokloridia DMF:ssä trietyyliamiinin läsnä ollessa ja käsittelemällä tämän jälkeen di-t-butyyli-dikarbonaatilla saadaan sen jälkeen, kun on kromatografioitu silikageelillä käyttäen dikloorimetani/metanolia 20:1, 0,3 g haluttua lähtöainetta. MS (FAB): 533 (M+H)⁺.

20 **Esimerkki 5**

Hydrolysoimalla 1,6 g [[1-[N-[(5-amidino-2-pyridyyli)karbonyyli]-L-alanyyli]-4-piperidinyyli]oksi]etikkahappo-t-butyyliesteriä kloorivedyllä kyllästetyssä jääetikassa, saadaan sen jälkeen, kun on kromatografioitu silyloidulla silikageelillä RP-18:sta ja on uudelleenkitetty THF/etikkaesteristä, 0,15 g [[1-[N-[(5-amidino-2-pyridyyli)karbonyyli]-L-alanyyli]-4-piperidinyyli]oksi]etikkahappoa. Sp.: yli 200 °C (hajoten). MS (FAB): 378 (M+H)⁺.

Lähtöainetta voidaan valmistaa seuraavasti:

30 a) Antamalla 2,4 g:n 1-[(L-alanyyli)-4-piperidinyyli]oksi]etikkahappo-t-butyyliesteriä (esimerkistä 3a) reagoida 1,0 g:n kanssa esimerkin 1d) mukaista 5-syan-2-pikoliinihappoa, saadaan 2,43 g [[1-[N-[(5-syan-2-pyridyyli)karbonyyli]-L-alanyyli]-4-piperidinyyli]oksi]etikkahappo-t-butyyliesteriä, MS (FAB): 417 (M+H)⁺.

35

b) Käsittelemällä edelleen 2,4 g esivaihetta, kuten esimerkissä 2A)B)C) on kuvattu, saadaan tulokseksi 2 g haluttua lähtöainetta. Sp.: 142-145 °C. MS (FAB): 434 (M+H)⁺.

Esimerkki 6

5 1 g:sta [[1-[N-(p-amidinobentsoyyli)-L-valyyli]-4-piperidinyyli]oksi]etikkahappo-t-butyyliesterinasettaattia saadaan vastaavasti, kuten esimerkissä 1 etikkaesteristä kiteyttämisen jälkeen 0,8 g [[1-[N-(p-amidinobentsoyyli)-L-valyyli]-4-piperidinyyli]oksi]etikkahappoatrifluoriasettaattina. Sp.: 210-211 °C. MS (FAB): 405 (M+H)⁺. $[\alpha]^{20}_D = +32,6$ °C (c = 0,8 vedessä).

10

Lähtöainetta voidaan valmistaa seuraavasti:

a) Kytkemällä 2,5 g Z-L-valiinia 2 g:aan 4-piperidinyylioksietikkahappo-t-butyyliesteriä, kuten esimerkissä 15 2b) on kuvattu, saadaan 4 g [[1-[N-[(bentsyylioksi)-karbonyyli]-L-valyyli]-4-piperidinyyli]oksi]etikkahappo-t-butyyliesteriä. MS (EI): 449 (M+H)⁺.

b) Vastaavasti, kuten esimerkissä 1e), mutta lisäämättä etikkahappoa, saadaan 1,9 g:sta esimerkin 6a) tuotetta, 1,4 g 1-[(1-L-valyyli-4-piperidinyyli)oksi]etikkahappo-t-butyyliesteriä. MS (EI): 315 (M+H)⁺.

20

c) Vastaavasti, kuten esimerkissä 1f) saadaan 3,3 g:sta esimerkin 6b) tuotetta ja 2,5 g:sta p-amidinobentsoyylikloridi-hydrokloridia, sen jälkeen, kun on kromatografioitu (silikageelillä; käyttäen dikloorimetaani/metanoli/etikkahappoa 95:4:1) ja kiteytetty dietyylieeteristä, 1,1 g haluttua lähtöasettaattia. Sp.: 179-182 °C. MS (FAB): 461 (M+H)⁺.

25

Esimerkki 7

30 1,5 g:sta [[1-[N-(p-amidinobentsoyyli)-L-leusyyli]-4-piperidinyyli]oksi]etikkahappo-t-butyyliesterinasettaattia saadaan vastaavasti, kuten esimerkissä 1 etikkaesteritekityksen jälkeen 1,1 g [[1-[N-(pamidinobentsoyyli)-L-leusyyli]-4-piperidinyyli]oksi]etikkahappoa trifluoriasettaattina. Sp.: 216-218 °C. MS (FAB): 419 (M+H)⁺. $[\alpha]^{20}_D = +22,5$ °C (c = 0,8 vedessä).

35

Lähtöasettaattia voidaan valmistaa seuraavasti:

a) Kytkemällä 2,6 g Z-L-leusiinia 2 g:aan 4-piperidinyylioksietikkahappo-t-butyyliesteriä, kuten esimerkissä 1d) on kuvattu, saadaan 4,1 g [[1-[N-[(bentsyylioksi)karbonyyli]-L-leusyyli]-4-piperidinyyli]oksi]etikkahappo-t-butyyliesteriä. MS (FAB): 463 (M+H)⁺.

b) Vastaavasti, kuten esimerkissä 6b) ja 1f), saadaan 4,1 g:sta esimerkin 7a) tuotetta, sen jälkeen, kun on kromatografioitu (silikageelillä; käyttäen dikloorimetani/metanoli/etikkahappoa 95:4:1) ja kiteytetty dietyyli-eetteristä, 1,5 g haluttua asetaattia. Sp.: 120-129 °C. (hajoten). MS (FAB): 475 (M+H)⁺.

Esimerkki 8

1,4 g:sta [[1-[(p-amidino-N-metyyllibentsamido)asetyyli]-4-piperidinyyli]oksi]etikkahappo-t-butyyliesterin asetaattia saadaan vastaavasti, kuten esimerkissä 1 dietyylieetteristä kiteytyksen jälkeen 0,9 g [[1-[(p-amidino-N-metyyllibentsamido)asetyyli]-4-piperidinyyli]oksi]etikkahappoa trifluoriasetaattina. Sp.: 134-135 °C. MS (FAB): 377 (M+H)⁺.

Lähtöainetta voidaan valmistaa seuraavasti:

a) Kytkemällä 2,0 g Z-sarkosiini-N-hydroksisukkinimidiesteriä 1,3 g:aan 4-piperidinyylioksietikkahappo-t-butyyliesteriä trietyyliamiinin läsnä ollessa THF:ssä, saadaan 2,1 g bentsyyli-[4-[[[(t-butoksykarbonyyli)metoksi]piperidino]karbamoyyli]metyyli]metyylikarbamaattia. MS (FAB): 421 (M+H)⁺.

b) Vastaavasti, kuten esimerkissä 6b) ja 1f), saadaan 4 g:sta esimerkin 8a) tuotetta, sen jälkeen, kun on kromatografioitu (silikageelillä; käyttäen dikloorimetani/metanoli/etikkahappoa 93:5:2) ja kiteytetty dietyyli-eetteristä, 1,5 g haluttua asetaattia. Sp.: 188-189 °C. MS (FAB): 432 (M+H)⁺.

Esimerkki 9

5,4 g:sta [[1-[N²-(p-amidinobentsoyyli)-N³-(t-butok-

sikarbonyyli)-L-ornityyli]-4-piperidinyyli]oksi]etikkahappo-t-butyyliesteriä saadaan vastaavasti, kuten esimerkissä 1, 4,9 g [[1-[N²-(p-amidinobentsoyyli)-L-ornityyli]-4-piperidinyyli]oksi]etikkahappoa trifluoriasetaattina. MS (FAB):
 5 420 (M+H)⁺. $[\alpha]^{20}_D = +4,5 \text{ }^\circ\text{C}$ (c = 0,8 MeOH).

Lähtöainetta voidaan valmistaa seuraavasti:

a) Antamalla 6 g:n 4-piperidinyylioksietikkahappo-t-butyyliesteriä reagoida 10,2 g:n kanssa N²-Z-N⁵-Boc-L-ornitiinia, kuten esimerkissä 1d) on kuvattu, saadaan sen
 10 jälkeen, kun on kromatografioitu silikafeelillä käyttäen etikkaesteri/heksaania 1:1, 11 g [[1-[N²-(bentsyylioksikarbonyyli)-N⁵-(t-butoksikarbonyyli)-L-ornityyli]-4-piperidinyyli]oksi]etikkahappo-t-butyyliesteriä MS (FAB): 564 (M+H)⁺.

15 b) Hydrogenolysoimalla 11 g kohdan a) tuotetta, kuten esimerkissä 1e) kuvattiin, saadaan 9 g [[1-[N⁵-(t-butoksikarbonyyli)-L-ornityyli]-4-piperidinyyli]oksi]etikkahappo-t-butyyliesterin asetaattia MS (FAB): 430 (M+H)⁺.

20 c) Antamalla 9 g:n kohdan b) tuotetta reagoida 4,4 g:n kanssa p-amidinobentsoyylikloridi-hydrokloridia, kuten esimerkissä 1f) on kuvattu, saadaan 5,7 g haluttua lähtöainetta. MS (FAB): 576 (M+H)⁺.

Esimerkki 10

0,54 g:sta [[1-[N²-(p-N-(t-butoksikarbonyyli)amidinobentsoyyli)-N⁵-(t-butoksikarbonyyli)-L-lysyli]-4-piperidinyyli]oksi]etikkahappo-t-butyyliesteriä saadaan vastaavasti, kuten esimerkissä 1, 0,35 g [[1-[N²-(p-amidinobentsoyyli)-L-lysyli]-4-piperidinyyli]oksi]etikkahappoa trifluoriasetaattina. MS (FAB): 434 (M+H)⁺. $[\alpha]^{20}_D = +12,4 \text{ }^\circ\text{C}$
 30 (c = 0,8 vedessä).

Lähtöainetta voidaan valmistaa seuraavasti:

a) Antamalla 2 g:n 4-piperidinyylioksietikkahappo-t-butyyliesteriä reagoida 2,8 g:n kanssa N²-Z-N⁶-Boc-L-lysiiniä, kuten esimerkissä 1d) on kuvattu, saadaan sen jäl-
 35 keen, kun on kromatografioitu silikageelillä käyttäen

etikkaesteri/heksaania 1:1, 2,6 g [[1-[N²-(bentsyylioksi-karbonyyli)-N⁶-(t-butoksykarbonyyli)-L-lysyili]-4-piperidinyyli]oksi]etikkahappo-t-butyyliesteriä MS (FAB): 578 (M+H)⁺.

5 b) Hydrogenolysoimalla 2,6 g saatua tuotetta, kuten esimerkissä 1e) kuvattiin, saadaan 2 g [[1-[N⁶-(t-butoksykarbonyyli)-L-lysyili]-4-piperidinyyli]oksi]etikkahappo-t-butyyliesterin asetaattia MS (FAB): 444 (M+H)⁺.

10 c) Antamalla 2 g:n esivaiheen tuotetta reagoida 1 g:n kanssa p-amidinobentsoyylikloridi-hydrokloridia, kuten esimerkissä 4c) on kuvattu, saadaan kromatografioinnin jälkeen (silikageeli; dikloorimetaani/metanoli 20:1) 1,95 g haluttua lähtöainetta. MS (FAB): 690 (M+H)⁺.

Esimerkki 11

15 0,4 g:sta [[1-[N-(p-amidinobentsoyyli)-L-fenyyliglysyili]-4-piperidinyyli]oksi]etikkahappo-t-butyyliesterin asetaattia saadaan vastaavasti, kuten esimerkissä 1, 0,25 g [[1-[N-(p-amidinobentsoyyli)-L-fenyyliglysyili]-4-piperidinyyli]oksi]etikkahappoa trifluoriasetaattina. Sp.: yli 250 °C (etikkaesteri/dietyylieetteri 1:1). MS (FAB): 439 (M+H)⁺. $[\alpha]_D^{20} = +6,5$ °C (c = 0,6 MeOH).

Lähtöainetta voidaan valmistaa seuraavasti:

25 a) Antamalla 1,85 g:n 4-piperidinyylioksietikkahappo-t-butyyliesteriä reagoida 3,5 g:n kanssa Z-L-fenyyliglysiini-N-hydroksisukkinimidiesteriä, kuten esimerkissä 8a) on kuvattu, saadaan sen jälkeen, kun on kromatografioitu silikageelillä käyttäen petrolieetteri/dietyylieetteriä 1:1, 3,8 g [[1-[N-bentsyylioksi-karbonyyli-L-fenyyliglysyili]-4-piperidinyyli]oksi]etikkahappo-t-butyyliesteriä MS (FAB): 483 (M+H)⁺.

30 b) Hydrogenolysoimalla 4,7 g saatua tuotetta, kuten esimerkissä 6b) kuvattiin, saadaan 3,2 g [[1-(L-fenyyliglysyili)-4-piperidinyyli]oksi]etikkahappo-t-butyyliesteriä. MS (FAB): 349 (M+H)⁺.

c) Antamalla 3,2 g:n esivaihetta reagoida 2,2 g:n kanssa p-amidinobentsoylikloridi-hydrokloridia, kuten esimerkissä 1f) on kuvattu, saadaan kromatografioinnin jälkeen (silikageeli; dikloorimetaani/metanoli/etikkahappo 95:5:2) 0,4 g haluttua asetaattia. Sp.: 207-220 °C (etikkaesteri, hajoten). MS (FAB): 495 (M+H)⁺.

Esimerkki 12

0,5 g:sta [[1-[1-(p-amidinobentsoylyli)-2-metyyli-L-prolyyli]-4-piperidinyyli]oksi]etikkahappo-t-butyyliesterin asetaattia saadaan vastaavasti, kuten esimerkissä 1, 0,14 g [[1-[1-(p-amidinobentsoylyli)-2-metyyli-L-prolyyli]-4-piperidinyyli]oksi]etikkahappoa trifluoriasetaattina. Sp.: 219 - 220 °C (asetonitriili). MS (FAB): 417 (M+H)⁺. $[\alpha]^{20}_D = +17,1$ °C (c = 0,9 MeOH).

15 Lähtöasetaattia voidaan valmistaa seuraavasti:

a) Antamalla 2-metyyli-L-proliini-hydrobromidin reagoida p-syan-bentsoylikloridin kanssa vastaavasti, kuten esimerkissä 2b), saadaan 1-(p-syanbentsoylyli)-2-metyyli-L-proliini. MS (EI): 213 (M-COOH)⁺.

20 b) Antamalla 1,67 g:n 4-piperidinyylioksietikkahappo-t-butyyliesteriä reagoida 0,8 g:n kanssa 1-(p-syanbentsoylyli)-2-metyyli-L-proliinin happokloridia (saatu käsittelemällä esivaiheen tuotetta tionyylikloridilla) saadaan 0,89 g [[1-[1-(p-syanbentsoylyli)-2-metyyli-L-prolyyli]-4-piperidinyyli]oksi]etikkahappo-t-butyyliesteriä. Sp.: 180-182 °C (etikkaesteri).

25 c) Käsittelemällä edelleen 0,89 g kohdan b) tuotetta, kuten esimerkissä 2A)B)C) on kuvattu, saadaan tuloksetti kromatografioinnin jälkeen (silyloitu silikageeli RP-18; vesi/metanoli 9:1) 0,59 g haluttua asetaattia. Sp.: 191-192 °C (etikkaesteri, hajoten). MS (FAB): 473 (M+H)⁺.

Esimerkki 13

2,5 g:sta [[1-[N-(p-amidinobentsoylyli)-3-fenylyli-L-alanyyli]-4-piperidinyyli]oksi]etikkahappo-t-butyyliesterin asetaattia saadaan vastaavasti, kuten esimerkissä 1,

35

1,9 g [[1-[N-(p-amidinobentsoyyli)-3-fenyyli-L-alanyyli]-4-piperidinyyli]oksi]etikkahappoa trifluoriasetaattina. Sp.: 234 - 235 °C (etikkaesteri). $[\alpha]^{20}_D = +17,9$ °C (c = 1,0 MeOH). MS (FAB): 453 (M+H)⁺.

5 Lähtöasettaattia voidaan valmistaa seuraavasti:

a) Antamalla 2,15 g:n 4-piperidinyylioksietikkahappo-t-butyyliesteriä reagoida 3,0 g:n kanssa Z-L-fenyylialaniinia, vastaavasti, kuten esimerkissä 2b) on kuvattu, saadaan 4,8 g [[1-(N-bentsyylioksidikarbonyyli-3-fenyyli-L-alanyyli)-4-piperidinyyli]oksi]etikkahappo-t-butyyliesteriä. MS (FAB): 497 (M+H)⁺.

b) Hydrogenolysoimalla 4,8 g saatua tuotetta, kuten esimerkissä 6b) kuvattiin, ja sen jälkeen antamalla reagoida 2,0 g:n kanssa p-amidinobentsoyylikloridi-hydroklooridia, kuten esimerkissä 1f) kuvattiin, saadaan kromatografioinnin jälkeen (silikageeli; dikloorimetaani/metanoli/etikkahappo 22:2:1) 2,5 g haluttua asetaattia. Sp.: 176 - 178 °C (dietyylieetteri). MS (FAB): 509 (M+H)⁺.

Esimerkki 14

20 2,5 g:sta [[1-[N-(p-amidinobentsoyyli)-3-(p-t-bu-
toksifenyyli)-L-alanyyli]-4-piperidinyyli]oksi]etikkahappo-t-butyyliesterin asetaattia saadaan vastaavasti, kuten esimerkissä 1, kromatografioinnin jälkeen (silyloitu silikageeli RP-18; vesi/metanoli-gradientti) 1,0 g [[1-[N-(p-amidinobentsoyyli)-L-tyrosyyli]-4-piperidinyyli]oksi]etikkahappoa trifluoriasetaattina. Sp.: 125 - 130 °C (etikkaesteri, hajoten). MS (FAB): 469 (M+H)⁺.

Lähtöasettaattia voidaan valmistaa seuraavasti:

a) Antamalla 2,15 g:n 4-piperidinyylioksietikkahappo-t-butyyliesteriä reagoida 3,71 g:n kanssa N-Z-(OtBu)-L-tyrosiinia, vastaavasti, kuten esimerkissä 2b) on kuvattu, saadaan kromatografioinnin jälkeen (silikageeli; dietyylieetteri/petrolieetteri 1:1) 4,8 g [[1-(N-bentsyylioksidikarbonyyli)-3-[p-(t-bioksifenyyli)]-L-alanyyli]-4-piperidinyyli]oksi]etikkahappo-t-butyyliesteriä. Sp.: 96 °C (di-

etyylieetteri), MS (EI): 417 ($M-C_7H_7-C_4H_8$)⁺, $[\alpha]_D^{20} = + 5,4$ °C (c = 0,8, CH₃OH).

b) Hydrogenolysoimalla 4,8 g esivaihetta, kuten esimerkissä 6b), ja sen jälkeen antamalla reagoida 1,5 g:n kanssa p-amidinobentsoylikloridi-hydrokloridia, kuten esimerkissä 1f), saadaan kromatografioinnin jälkeen (silykageeli; dikloorimetaani/metanoli/etikkahappo 22:2:1) 2,6 g haluttua asetaattia. Sp.: 170-172 °C (dietyylieetteri). MS (FAB): 581 (M+H)⁺.

10 **Esimerkki 15**

Esimerkissä 14 kuvatun kromatografioinnin sivutuotteenä eristetään 0,09 g [[1-[N-(p-amidinobentsoyyli)-L-tyrosyyli]-4-piperidinyyli]oksi]etikkahappometyyliesterin trifluoriasetaatti. Sp.: 189-190 °C (etikkaesteri).

15 MS (FAB): 483 (M+H)⁺.

Esimerkki 16

Antamalla 0,58 g:n [[1-[N-(p-amidinobentsoyyli)-L-tyrosyyli]-4-piperidinyyli]oksi]etikkahapon trifluoriasetaattia (esimerkki 14) reagoida klooriamiinin T kanssa ja sen jälkeen natriumjodidin kanssa vedessä/DMF:ssä 8:1, saadaan kromatografioinnin jälkeen (silyloitu silikageeli RP-18), vesi/asetonitriili-gradientti) 0,04 g [[1-[N-(p-amidinobentsoyyli)-3-(4-hydroksi-3-jodifenylyli)-L-alanyyli]-4-piperidinyyli]oksi]etikkahappoa, sulamispisteen ollessa 230 °C (vesi, hajoten). MS (FAB): 595 (M+H)⁺.

25

Esimerkki 17

Esimerkissä 16 kuvatusta reaktiosta eristetään ensiksi 0,09 g [[1-[N-(p-amidinobentsoyyli)-3-(4-hydroksi-3,5-dijodifenylyli)-L-alanyyli]-4-piperidinyyli]oksi]etikkahappoa, sulamispisteen ollessa 220-221 °C (vesi, hajoten). MS (FAB): 720 (M+H)⁺.

30

Esimerkki 18

1,3 g:sta [[1-[3-t-butoksi-N-[p-[N-(t-butokskarboonyyli)amidino]bentsoyyli]-L-alanyyli]-4-piperidinyyli]oksi]etikkahappo-t-butyliesteriä saadaan käsittelemällä

35

kloorivedyllä jäätetikassa kromatografioinnin jälkeen (silyloitu silikageeli RP-18), metanoli/vesi-gradientti) 0,45 g [[1-[3-asetoksi-N-(p-amidinobentsoyyli)-L-alanyyli]-4-piperidinyyli]oksi]etikkahappoa. $[\alpha]^{20}_D = +0,9 \text{ }^\circ\text{C}$ (c = 1,0 MeOH). MS (FAB): 435 (M+H)⁺.

5

Lähtöainetta voidaan valmistaa seuraavasti:

a) Kytkemällä 7,5 g Z-L-Ser(tBu)-OH:ta 7,0 g:aan 4-piperidinyylioksietikkahappo-t-butyyliesteriä ja sen jälkeen suorittamalla saadulle tuotteelle hydrogenolyysi, kuten esimerkissä 1d)e) kuvattiin, saadaan 10,6 g [[1-(3-t-butoksi-L-alanyyli)-4-piperidinyyli]oksi]etikkahappo-t-butyyliesterin asetaattia. Sp.: 76-78 °C. MS (FAB): 359 (M+H)⁺.

10

b) Antamalla 9,9 g:n esivaihetta reagoida 5,2 g:n kanssa p-amidinobentsoyylikloridi-hydrokloridia DMF:ssä trietyyliamiinin läsnä ollessa ja sen jälkeen käsittelemällä di-t-butyylidikarbonaatilla, saadaan sen jälkeen, kun on kromatografioitu silikageelillä käyttäen dikloorimetaani/metanolia 20:1 ja tämän jälkeen etikkaesteri/heksaania 3:1, saadaan 4,3 g [[1-[3-t-butoksi-N-[p-[N-(t-butoksikarbonyyli)amidino]bentsoyyli]-L-alanyyli]-4-piperidinyyli]oksi]etikkahappo-t-butyyliesteriä. Sp.: 162 - 165 °C. MS (FAB): 605 (M+H)⁺.

15

20

Esimerkki 19

1,0 g:sta [[1-[3-t-butoksi-N-[p-[N-(t-butoksikarbonyyli)amidino]bentsoyyli]-L-alanyyli]-4-piperidinyyli]oksi]etikkahappo-t-butyyliesteriä (esimerkki 18) saadaan vastaavasti, kuten esimerkissä 1, kromatografioinnin jälkeen (silyloitu silikageeli RP-18, vesi) 0,58 g [[1-[N-(p-amidinobentsoyyli)-L-seryyli]-4-piperidinyyli]oksi]-etikkahapon trifluoriasetaattia. $[\alpha]^{20}_D = +17,6 \text{ }^\circ\text{C}$ (c = 1,0 vesi). MS (FAB): 393 (M+H)⁺.

25

30

Esimerkki 20

5 g:sta L-N-(p-amidinobentsoyyli)-3-[[4-[(t-butoksikarbonyyli)-metoksi]piperidinyyli]karbonyyli]-β-alanii-

35

ni-t-butyyliesteriä saadaan vastaavasti, kuten esimerkissä 1, sen jälkeen, kun on kiteytetty etikkaesteri/THF:stä, 2,0 g L-N-(p-amidinobentsoyyli)-3-[[4-[(karbometoksi)piperidino]karbonyyli]-β-alaniinin trifluoriasetaattia, sulamis-
 5 lamispisteen ollessa 145-150 °C. MS (FAB): 421 (M+H)⁺.

Lähtöainetta voidaan valmistaa seuraavasti:

a) Kytkemällä 11 g Z-L-Asp(O-tBu)-OH:n monohydraattia 7,0 g:aan 4-piperidinyylioksietikkahappo-t-butyyliesteriä, kuten esimerkissä 2b) kuvattiin, saadaan 16 g L-N-
 10 (bentsyylioksikarbonyyli)-3-[[4-[(t-butoksikarbonyyli)metoksi]piperidino]karbonyyli]-β-alaniini-t-butyyliesteriä-MS (FAB): 521 (M+H)⁺.

b) Sen jälkeen kun 17 g:lle esivaihetta on suoritettu hydrogenolyysi, kuten esimerkissä 6b) kuvattiin, eristetään 11 g L-3-[[4-[(t-butoksikarbonyyli)metoksi]piperidino]karbonyyli]-β-alaniini-t-butyyliesteriä. MS (FAB):
 15 387 (M+H)⁺.

c) Kytkemällä 11 g esivaihetta 6,9 g:aan p-amidinobentsoyylikloridi-hydrokloridia, kuten esimerkissä 1f) kuvattiin, eristetään sen jälkeen, kun on kromatografioitu silikageelillä käyttäen dikloorimetaani/metanolia 9:1, 10,2 g haluttua lähtöainetta. MS (FAB): 533 (M+H)⁺.
 20

Esimerkki 21

0,5 g:sta [[1-[N-(p-amidinobentsoyyli)-4-t-butoksi-L-glutamoyyli]-4-piperidinyyli]oksi]etikkahappo-t-butyyliesteriä saadaan vastaavasti, kuten esimerkissä 1, sen jälkeen, kun on kiteytetty etikkaesteristä, 0,25 g [[1-[N-(p-amidinobentsoyyli)-L-α-glutamoyyli]-4-piperidinyyli]oksi]etikkahapon trifluoriasetaattia, sp.: 105-108 °C. [α]²⁰_D =
 30 +6,9 °C (c = 0,8, metanoli). MS (FAB): 435 (M+H)⁺.

Lähtöainetta voidaan valmistaa seuraavasti:

a) Kytkemällä 11 g Z-L-Glu(Ot-Bu)-OH:ta 7,0 g:aan 4-piperidinyylioksietikkahappo-t-butyyliesteriä, kuten esimerkissä 1d) kuvattiin, saadaan 15,4 g [[1-[N-(bentsyylioksikarbonyyli)-4-t-butoksi-L-glutamoyyli]-4-piperidi-
 35

nyyli]oksi]etikkahappo-t-butyyliesteriä. MS (FAB): 535 (M+H)⁺.

5 b) Sen jälkeen kun 15,4 g:lle esivaihetta on suoritettu hydrogenolyysi, kuten esimerkissä 6b) kuvattiin, saadaan 7,5 g [[1-(4-t-butoksi-L-glutamoyyli]-4-piperidinyyli]oksi]etikkahappo-t-butyyliesterin asetaattia. MS (FAB): 401 (M+H)⁺.

10 c) Kytkemällä 7,5 g esivaihetta 3,9 g:aan p-amidinobentsoylikloridi-hydrokloridia, kuten esimerkissä 1f) kuvattiin, saadaan 6,9 g [[1-[N-(p-amidinobentsooyli)-4-t-butoksi-L-glutamoyyli]-4-piperidinyyli]oksi]etikkahappo-t-butyyliesteriä. MS (FAB): 547 (M+H)⁺.

Esimerkki 22

15 2 g:sta [(R/S)-1-[N-(p-amidinobentsooyli)-L-alanyyli]-3-piperidinyyli]metoksi]etikkahappo-t-butyyliesteriä saadaan vastaavasti, kuten esimerkissä 1, 0,6 g [(R/S)-1-[N-(p-amidinobentsooyli)-L-alanyyli]-3-piperidinyyli]metoksi]etikkahapon trifluoriasetaattia. Sp.: 87 - 90 °C (etikkaesteri). MS (FAB): 391 (M+H)⁺.

20 Lähtöainetta voidaan valmistaa seuraavasti:

a) rac-3-(hydroksimetyyli)piperidiinistä saadaan vastaavasti, kuten esimerkissä 1a) rac-N-bentsyylioksidikarbonyyli-3-(hydroksimetyyli)piperidiiniä. MS (EI): 249 (M)⁺.

25 b) Kohdan a) tuotteesta saadaan vastaavasti, kuten esimerkissä 1b) bentsyyli-rac-3-[[t-butoksidikarbonyyli]metoksi]metyyli]-1-piperidiinikarboksilaattia. MS (EI): 307 (M-C₄H₈)⁺.

30 c) Kohdan b) tuote hydrataan vastaavasti, kuten esimerkissä 1c) rac-(3-piperidinyyli-metoksi]etikkahappo-t-butyyliesteriksi. MS (EI): 172 (M-C₄H₈)⁺.

d) Kytkemällä kohdan c) tuote Z-L-alaniiniin, kuten esimerkissä 1d), saadaan bentsyyli-[(S)-1-[[R/S]-3-[(t-butoksidikarbonyyli]metoksi]piperidino]karbonyyli]etyyli]-karbamaatti. MS (EI): 434 (M)⁺.

e) Hydraamalla kohdan d) tuote, kuten esimerkissä 1e), saadaan [[(R/S)-1-L-alanyyli]-3-piperidinyyli]metoksi]etikkahappo-t-butyyliesterin asetaatti. MS (EI): 285 (M-CH₃)⁺

5 f) Kytkemällä kohdan e) tuote p-amidinobentsoyyli-kloridi-hydrokloridiin, kuten esimerkissä 1f) saadaan kromatografioinnin jälkeen (silyloitu silikageeli RP-18) haluttu lähtöaine. MS (FAB): 447 (M+H)⁺.

Esimerkki 23

10 2,7 g:sta [[1-[N-(p-amidinobentsoyyli)-L-alanyyli]-4-(α, α, α -trifluori-m-tolyyli)-4-piperidinyyli]oksi]etikkahappo-t-butyyliesteriä saadaan vastaavasti, kuten esimerkissä 1, 0,7 g [[1-[N-(p-amidinobentsoyyli)-L-alanyyli]-4-(α, α, α -trifluori-m-tolyyli)-4-piperidinyyli]oksi]etikkahappoa. Sp.: 280 °C (vesi/metanoli). MS (FAB): 521 (M+H)⁺.

Lähtöainetta voidaan valmistaa seuraavasti:

20 a) 4-(3-trifluorimetyyli)fenyyli)piperidinin-4-olista saadaan vastaavasti, kuten esimerkissä 1a) bentsoyyli-4-hydroksi-4-(α, α, α -trifluori-m-tolyyli)-1-piperidiini-karboksilaatti. MS (EI): 379 (M)⁺.

b) Kohdan a) tuotteesta saadaan vastaavasti, kuten esimerkissä 1b) bentsoyyli-4-[(t-butoksykarbonyyli)metoksi]-4-(α, α, α -trifluori-m-tolyyli)-1-piperidiini-karboksilaatti. MS (FAB): 494 (M+H)⁺.

25 c) Hydraamalla kohdan b) tuote vastaavasti, kuten esimerkissä 1e), saadaan [[4-(α, α, α -trifluori-m-tolyyli)-4-piperidinyyli]oksi]etikkahappo-t-butyyliesterinasetaatti. MS (EI): 227 (M-C₆H₁₂O₃)⁺.

30 d) Kytkemällä kohdan c) tuote Z-L-alaniiniin, kuten esimerkissä 1d), saadaan bentsoyyli-[(S)-1-[[4-[(t-butoksykarbonyyli)metoksi]-4-(α, α, α -trifluori-m-tolyyli)-1-piperidinyyli]karbonyyli]etyyli]karbamaatti. MS (FAB): 565 (M+H)⁺.

35 e) Hydraamalla kohdan d) tuote, kuten esimerkissä 1e), saadaan 1-[[L-alanyyli]-4-(α, α, α -trifluori-m-tolyyli-

)-4-piperidinyyli]oksi]etikkahappo-t-butyyliesterin ase-
taatti. MS (EI): 415 (M-CH₃)⁺.

f) Kytkemällä kohdan e) tuote p-amidinobentsoyyli-
kloridi-hydrokloridiin, kuten esimerkissä 1f) saadaan ha-
luttu lähtöaine. MS (EI): 577 (M+H)⁺.

Esimerkki 24

Liuosta, jossa on 150 mg t-butyyl-[[1-[1-(p-amidi-
nobentsoyyli)-L-prolyyli]-4-piperidinyyli]oksi]asetaatia
10 ml:ssa dikloorimetaania ja 10 ml:ssa trifluorietikka-
happoa sekoitetaan 2 tuntia huoneenlämpötilassa ja haihdu-
tetaan. Jäännös suspensoidaan eetteriin ja imusuodatetaan.
Saadaan 141 mg [[1-[1-(p-amidinobentsoyyli)-L-prolyyli]-4-
piperidinyyli]oksi]etikkahappo-trifluoriasetaattia, jonka
sp. on 234 - 236 °C.

Lähtöainetta voidaan valmistaa seuraavasti:

a) 4,97 g 4-syanobentsoehappokloridia, 3,45 g
L-proliinia ja 0,73 g tetrametyyliammoniumsulfaattia se-
koitetaan 300 ml:ssa dikloorimetaania ja 150 ml:ssa
5-%:ista natriumvetykarbonaattiliuosta 48 tunnin ajan. Ve-
sipitoinen faasi saatetaan happameksi 3N rikkihapolla ja
uutetaan etikkaesterillä. Etikkaesterifaasi pestään kyl-
lästetyllä natriumkloridiliuoksella, kuivataan ja haih-
dutetaan. Kromatografioimalla jäännös silikageelillä
(RP-18) käyttäen vettä saadaan 3,70 g 1-(p-syanobentsoyy-
li)-L-proliinia, jonka sp. on 80 - 85 °C.

b) Kytkemällä 250 mg 1-(p-syanobentsoyyli)-L-pro-
liinia 215 mg:aan 4-piperidinyylioksietikkahappo-t-butyyl-
liesteriä, saadaan tulokseksi sen jälkeen, kun on kromato-
grafioitu silikageelillä käyttäen etikkaesteri/metanolia
(98:2) 300 mg t-butyyl-[[1-[1-(p-syanobentsoyyli)-L-pro-
lyyli]-4-piperidinyyli]oksi]asetaatia. MS: 442 (M+H)⁺.

c) Käsittelemällä 1 g esivaihetta, kuten esimerkis-
sä 2A)B)C) päästään t-butyyl-[[1-[1-[p-(tiokarbamoyyli)-
bentsoyyli]-L-prolyyli]-4-piperidinyyli]oksi]asetatin,
sp.: 108 - 110 °C ja

t-butylyli-[[1-[1-[p-(1-metyylitio)formimidoyyli)bentsoyyli]-L-prolyyli]-4-piperidinyyli]oksi]asettiin, sp.: 132 - 133 °C, kautta 72 mg:aan haluttua asetaattia, jonka sp. on 100 °C (hajoten).

5 **Esimerkki 25**

Vastaavasti, kuten esimerkissä 24 saadaan 150 mg:sta t-butylyli-[[1-[(4R)-1-(p-amidinobentsoyyli)-4-bentsyylioksi-L-prolyyli]-4-piperidinyyli]oksi]asettihydrojodidia silikageelillä kromatografioinnin jälkeen (RP-18, vesi/THF 95:5) 72 mg [[1-[(4R)-1-(p-amidinobentsoyyli)-4-bentsyylioksi-L-prolyyli]-4-piperidinyyli]oksi]-etikahappoa, jonka sp. on 226 - 227 °C.

Lähtöasetaattia voidaan valmistaa seuraavasti:

15 a) Liuokseen, jossa on 905 mg (4R)-hydroksi-L-proliinimetyyliesteriä ja 828 mg 4-syanobentsoylikloridia 50 ml:ssa dikloorimetaania lisätään 1,46 ml trietyyliamiinia. Sekoittamisen jälkeen liuos pestään kyllästetyllä natriumkloridiliuoksella, kuivataan ja haihdutetaan. Kromatografioimalla jäännös silikageelillä (etikkaesteri/heksaani 5:1), saadaan tulokseksi 810 mg (4R)-1-(p-syanobentsoyyli)-4-hydroksi-L-proliinimetyyliesteriä. Sp.: 101 - 20 102 °C.

25 b) Liuokseen, jossa on 730 mg esivaihetta ja 600 µl bentsyyli trikloori-asetimidaattia 5 ml:ssa sykloheksaania ja 5 ml:ssa dikloorimetaania, tiputetaan 40 µl trifluorimetaanisulfonihappoa. Muodostunut sakka imusuodatetaan ja suodos pestään 5%:sella natriumvetykarbonaattiliuoksella, kuivataan ja haihdutetaan. Kromatografioimalla jäännös silikageelillä (etikkaesteri) saadaan tulokseksi 940 mg 30 (4R)-4-bentsyylioksi-1-(p-syanobentsoyyli)-L-proliinimetyyliesteriä. MS: 305 (M-59).

35 c) 880 mg esivaihetta ja 1,2 ml 2N litiumhydroksidiliuosta sekoitetaan 10 ml:ssa metanolia. Metanolin poistamisen jälkeen vesipitoinen jäännös saatetaan happameksi 2,4 ml:lla 1N suolahappoa ja uutetaan etikkaesterillä.

Kuivaamalla orgaaninen faasi ja haihduttamalla, saadaan tulokseksi 470 mg (4R)-4-bentsyylioksi-1-(p-syanobentsoyyli)-L-proliinia. Sp.: 58 - 60 °C.

5 d) 450 mg kohdan c) tuotetta kytketään HBTU:n läsnä
ollessa 280 mg:aan 4-piperidinyylioksietikkahappo-t-butyyli-
liesteriä. Jäännös liuotetaan etikkaesteriin ja etikkaes-
terifaasi pestään 5-%:isella natriumvetykarbonaattiliuok-
sella, 1N kaliumvetysulfaattiliuoksella ja kyllästetyllä
10 natriumkloridiliuoksella, kuivataan ja haihdutetaan. Sen
jälkeen, kun jäännös on kromatografioitu silikageelillä
(dikloorimetaani/metanoli 98:2) saadaan 500 mg t-butyyli-
[[1-[(4R)-4-bentsyylioksi-1-(p-syanobentsoyyli)-L-prolyy-
li]-4-piperidinyyli]oksi]asettaattia. MS: 548 (M+H)⁺.

15 e) Käsittelemällä 400 mg esivaihetta, kuten esimer-
kissä 2A)B)C) saadaan 177 mg haluttua asetaattia. Hydrojodi-
didin sulamispiste on 148 - 150 °C.

Esimerkki 26

Liuosta, jossa on 1,60 g t-butyyli-[[1-[(4R)-1-(p-
amidinobentsoyyli)-4-hydroksi-L-prolyyli]-4-piperidinyy-
20 li]oksi]asettaattia 20 ml:ssa dikloorimetaania ja 20 ml:ssa
trifluorietikkahappoa sekoitetaan 2 tuntia huoneenlämpöti-
lassa ja haihdutetaan. Jäännös liuotetaan etanoliin ja
lisätään eetteriä. Imusuodattamalla ja kuivaamalla sakka,
saadaan tulokseksi 1,25 g [[1-[(4R)-1-(p-amidinobentsoyy-
25 li)-4-hydroksi-L-prolyyli]-4-piperidinyyli]oksi]etikkahap-
po-trifluoriasetaattia, jonka sp. on 220 °C (hajoten).

Lähtöasettaattia voidaan valmistaa seuraavasti:

30 a) Kytkemällä 14,78 g (4R)-1-(bentsyylioksikarbo-
nyyli)-4-hydroksi-L-proliinia 12,0 g:aan 4-piperidinyyli-
oksietikkahappo-t-butyyliesteriä, saadaan tulokseksi sen
jälkeen, kun on kromatografioitu silikageelillä (käyttäen
etikkaesteri/metanolia 95:5) 17,83 g t-butyyli-[[1-[(4R)-
1-(bentsyylioksikarboonyyli)-4-hydroksi-L-prolyyli]-4-pipe-
ridinyyli]oksi]asettaattia. MS: 463 (M+H)⁺.

c) Hydraamalla 17,0 g esivaihetta etanolissa 2,0 g:n Pd/C:tä (10%) läsnä ollessa, saadaan tulokseksi sen jälkeen, kun katalysaattori on suodatettu ja on haihdutettu 11,06 g t-butyylim-[1-[(4R)-4-hydroksi-L-prolyyli]-4-piperidinyyli]oksi]asetaatia. MS: 329 (M+H)⁺.

c) Antamalla 2,0 g:n esivaihetta reagoida 1,34 g:n kanssa p-amidinobentsoylikloridia esimerkin 1f) mukaisesti, saadaan tulokseksi 1,95 g haluttua asetaattia.

Esimerkki 27

10 Liuosta, jossa on 700 mg t-butyylim-[1-[[1-(p-amidinobentsoyli)-2-piperidinyyli]karbonyyli]-4-piperidinyyli]oksi]asetaatia 20 ml:ssa dikloorimetaania ja 20 ml:ssa trifluorietikkahappoa sekoitetaan 3 tuntia huoneenlämpötilassa ja haihdutetaan. Jäännös liuotetaan etanoliin ja lisätään eetteriä. Imusuodattamalla ja kuivaamalla sakka ja kromatografioimalla silikageelillä (RP-18, vesi/THF 9:1) saadaan tulokseksi 111 mg [[1-[[1-(p-amidinobentsoyli)-2-piperidinyyli]karbonyyli]-4-piperidinyyli]oksi]etikkahappoa, jonka sp. on 233 - 234 °C.

20 Lähtöasetaatia valmistetaan seuraavasti:

a) Kytkemällä 5,26 g 1-(bentsyylioksykarbonyyli)-2-piperidiinikarboksyylisäilyhappoa 4,30 g:aan 4-piperidinyylioksyetikkahappo-t-butyylim-esteriä ja kromatografioimalla silikageelillä (käyttäen etikkaesteri/heksaania 2:1) saadaan tulokseksi 7,33 g 2-[[4-[(t-butoksykarbonyyli)metoksi]piperidino]karbonyyli]-1-piperidiinikarboksyylisäilyhappobentsyyli-esteriä. MS: 461 (M+H)⁺.

c) Hydraamalla 4,6 g esivaihetta etanolissa 0,4 g:n Pd/C:tä (10%) läsnä ollessa, saadaan tulokseksi sen jälkeen, kun katalysaattori on suodatettu ja liuotin on haihdutettu 3,2 g t-butyylim-[1-(2-piperidinylikarbonyyli)-4-piperidinyyli]oksi]asetaatia. MS: 327 (M+H)⁺.

c) Antamalla 3,26 g:n esivaihetta reagoida 2,49 g:n kanssa p-amidinobentsoylikloridia esimerkin 1f) mukaisesti, saadaan tulokseksi 1,56 g haluttua asetaattia, sulamispisteen ollessa 93-95 °C.

Esimerkki 28

Liuosta, jossa on 130 mg t-butyylimorfoliini-[[[(1RS,2RS,3RS,4SR)-4-[[N-(p-amidinobentsoyyli)-L-alanyyli]amino]-2,3-diasetoksisykloheksyyli]oksi]asetaatii-hydrokloridia 5 ml:ssa dikloorimetaania ja 5 ml:ssa trifluorietikkahappoa sekoitetaan 2 tuntia huoneenlämpötilassa ja haihdutetaan. Suspensoimalla jäännös eetteriin ja imusuodattamalla saadaan tulokseksi 126 mg [[[(1RS,2RS,3RS,4SR)-4-[[N-(p-amidinobentsoyyli)-L-alanyyli]amino]-2,3-diasetoksisykloheksyyli]oksi]etikahappo-trifluoriasetaattia. MS: 507 (M+H)⁺.

Lähtöainetta valmistetaan seuraavasti:

a) Liuos, jossa on 4,64 g cis-4-amino-2-sykloheksen-1-olia, 10,2 g N-(bentsyylioksidikarbonyylioksi)sukkinimidiä ja 5,7 ml trietyyliamiinia DMF:ssä laimennetaan sekoittamisen jälkeen eetterillä, pestään kyllästetyllä natriumkloridiliuoksella, kuivataan ja haihdutetaan. Kromatografioimalla jäännös silikageelillä (etikkaesteri/heksaani 2:1) saadaan tulokseksi 5,62 g bentsyyli-(1RS,4SR)-4-hydroksi-2-syklohekseni-1-karbamaattia. MS:156 (M-91)⁺.

b) Faasinsiirto-olosuhteissa (30 ml tolueenia, 30 ml 50-%:ista natriumhydroksidiliuosta, 100 mg tetrabuttyliammoniumvetysulfaattia) annetaan 2,1 g:n esivaihetta reagoida 1,76 ml:n kanssa bromietikkahappo-t-butyylimorfoliini-estereitä. Sekoittamisen jälkeen orgaaninen faasi erotetaan, pestään kyllästetyllä natriumkloridiliuoksella, kuivataan ja haihdutetaan. Kromatografioimalla jäännös silikageelillä (heksaani/etikkaesteri 3:1) saadaan tulokseksi 1,91 g bentsyyli-(1RS,4SR)-4-[(t-butoksidikarbonyyli)metoksi]-2-syklohekseni-1-karbamaattia. MS: 333 (M-28)⁺.

c) Liuos, jossa on 722 mg esivaihetta, 280 mg N-metyylimorfoliini-N-oksidiä ja 26 mg osmiumtetroksidiä 20 ml:ssa asetonia ja 10 ml:ssa vettä, sekoitetaan ja sitten asetoni poistetaan alennetussa paineessa ja vesipitoinen faasi uutetaan eetterillä. Pesemällä orgaaninen faasi kyllästetyllä natriumkloridiliuoksella, kuivaamalla ja

5 haihduttamalla saadaan tulokseksi sen jälkeen, kun on kromatografioitu silikageelillä (etikkaesteri/heksaani 2:1) 476 mg bentsyyli-(1RS,2SR,3SR,4SR)-4-[(t-butoksikarbonyyli)-metoksi]-2,3-dihydroksisykloheksaani-karbamaattia. MS: 396 (M+H)⁺.

10 d) Liuos, jossa on 728 mg esivaihetta 10 ml:ssa etanolia hydrataan 100 mg:n 10%:ista Pd/C:tä läsnä ollessa. Sitten katalyysaattori suodatetaan erilleen, suodos haihdutetaan ja jäännös kytketään 30 ml:ssa THF:ää
15 697 mg:n HBTU:ta ja 200 µl:n trietyyliamiinia läsnä ollessa 410 mg:aan N-bentsyylioksikarbonyyli-L-alaniinia. Reaktioliuos laimennetaan eetterillä, pestään kyllästetyllä natriumbikarbonaattiliuoksella ja kyllästetyllä natriumkloridiliuoksella, kuivataan ja haihdutetaan. Kromatografioimalla silikageelillä (etikkaesteri/metanoli 95:5)
20 saadaan tulokseksi 521 mg bentsyyli-[(S)-1-[(1RS,2SR,3SR,4SR)-4-[(t-butoksikarbonyyli)metoksi]-2,3-dihydroksisykloheksyyli]karbamoyyli]etyyli]karbamaattia. MS: 467 (M+H)⁺.

25 e) Asetyloimalla 800 mg esivaihetta 10 ml:ssa asetanhydridiä ja 10 ml:ssa pyridiiniä ja haihduttamalla reaktioliuos, saadaan tulokseksi sen jälkeen, kun on kromatografioitu silikageelillä (etikkaesteri/heksaani 2:1) 670 mg bentsyyli-[(S)-1-[(1RS,2SR,3SR,4SR)-4-[(t-butoksikarbonyyli)metoksi]-2,3-asetoksisykloheksyyli]karbamoyyli]etyyli]karbamaattia. MS: 551 (M+H)⁺.

30 f) Hydraamalla 670 mg esivaihetta 10 ml:ssa etanolia 100 mg:n 10%:ista Pd/C:tä läsnä ollessa, suodattamalla katalyysaattori erilleen ja haihduttamalla liuos, saadaan tulokseksi sen jälkeen, kun on käsitelty (vastaavasti, kuten esimerkissä 1f)) 329 mg:lla p-amidinobentsoyylikloridia ja sen jälkeen, kun on kromatografioitu silikageelillä (RP-18, vesi/metanoli 9:1) 230 mg haluttua lähtöainetta.
35 MS: 563 (M+H)⁺.

Esimerkki 29

220 mg esimerkin 28 tuotetta ja 300 mg kaliumkarbonaattia sekoitetaan 10 ml:ssa metanolia huoneenlämpötilassa ja sitten metanoli haihdutetaan. Kromatografioimalla silikageelillä (RP-18, vesi/asetonitriili 95:5) saadaan tulokseksi 110 mg [[(1RS,2RS,3RS,4SR)-4-[N-(p-amidinobentsoyyli)-L-alanyyli]amino]-2,3-dihydroksisykloheksyyli]oksi]etikkahappoa.

Esimerkki 30

Käsittelemällä 1,3 g rac-[p-[[1-(p-syanbentsoyyli)-2-pyrrolidinyyli]karbonyyli]fenoksi]etikkahappometyyliesteriä, kuten esimerkissä 2A)B)C) on kuvattu, saadaan tulokseksi sen jälkeen, kun on kromatografioitu (silyloitu silikageeli RP-18, vesi/metanoli-gradientti) ja kiteytetty uudelleen etanolista, 0,45 g rac-[p-[[1-(p-amidinobentsoyyli)-2-pyrrolidinyyli]karbonyyli]fenoksi]etikkahappometyyliesterin asetaattia. Sp.: 210-211 °C. MS (FAB): 410 (M+H)⁺.

Lähtöainetta voidaan valmistaa seuraavasti:

a) Antamalla 8,3 g:sta p-bentsyylioksibromibentseeniä ja 0,8 g:sta magnesiumlastuja koostuvan Grignard-reagenssin reagoida 9,34 g:n kanssa Z-L-proliini-N-metoksimeytyyli-amidia THF:ssä, eristetään kromatografioinnin jälkeen (silikageeli, etyylietteri/petrolieetteri 1:1) 4,3 g rac-1-(bentsyylioksikarbonyyli)-2-(p-bentsyylioksibentsoyyli)-pyrrolidiiniä. MS (EI): 211 (C₁₄H₁₁O₂)⁺, 204 (C₁₂H₁₁N₂O₂)⁺. b) Hydraamalla 3,3 g esivaihetta, kuten esimerkissä 6b), ja sen jälkeen antamalla reagoida 1,32 g:n kanssa p-syanbentsoyylikloridia DMF:ssä trietyyliamiinin läsnä ollessa, saadaan 2,8 g rac-1-(p-syanbentsoyyli)-2-(p-hydroksibentsoyyli)pyrrolidiinia. Sp.: 194 - 196 °C (etikkaesteri). MS (EI): 320 (M)⁺.

c) Antamalla 2,8 g:n esivaihetta reagoida 1,53 g:n kanssa bromietikkahappometyyliesteriä DMF:ssä kaliumkarbonaatin läsnä ollessa saadaan tulokseksi kromatografioin-

nin jälkeen (silikageeli; dikloorimetaani/metanoli 99:1) 1,3 g haluttua lähtöainetta. MS (EI): 392 (M)⁺.

Esimerkki 31

5 Kuumentamalla 0,30 g esimerkin 30 tuotetta vesipi-
toisessa etikkahapossa saadaan kromatografioinnin jälkeen
(silyloitu silikageeli RP-18, vesi/asetonitriili-gradient-
ti) 0,11 g rac-[p-[[1-(p-amidinobentsoyyli)-2-pyrrolidi-
nyyli]karbonyyli]fenoksi]etikkahappoa. Sp.: yli 250 °C. MS
(FAB): 396 (M+H)⁺.

10 Esimerkki 32

Käsittelemällä 0,85 g [[4-[1-(p-syanbentsoyyli)-DL-
prolyyli]-m-fenyleeni]dioksi]dietikkahappo-dimetyylieste-
riä, kuten esimerkissä 2A)B)C) on kuvattu, saadaan sen
jälkeen, kun on kromatografioitu (silyloitu silikageeli
15 RP-18, vesi/metanoli-gradientti) ja kiteytetty dietyyli-
eetteristä, 0,09 g [[4-[1-(p-amidinobentsoyyli)-DL-prolyy-
li]-m-fenyleeni]dioksi]dietikkahappo-dimetyyliesterinase-
taattia. Sp.: 93-95 °C. MS (FAB): 498 (M+H)⁺.

Lähtöainetta voidaan valmistaa seuraavasti:

20 a) Antamalla 4 g:n 3-hydroksi-fenoksi-etikkahappo-
metyyliesterin magnesiumsuolaa reagoida 5,8 g:n kanssa
Z-L-prolinaalia ja eetteröimällä tuote 3,8 g:lla bromi-
etikkahappometyyliesteriä, kuten esimerkissä 30 c) kuvat-
tiin, saadaan kromatografioinnin jälkeen (silikageeli,
25 dietyylieetteri/petrolieetteri 4:1) 7,6 g [[4-[(RS)-[1-
(bentsyylioksidikarbonyyli)-DL-pyrrolyyli]hydroksimetyyli]-
m-fenyleeni]dioksi]dietikkahappodimetyyliesteriä. MS
(FAB): 488 (M+H)⁺.

30 b) 5,3 g:sta esivaihetta saadaan hapettamalla
7,5 ml:lla Jones-reagenssia dietyylieetterissä kromatogra-
fioinnin jälkeen (silikageeli; dikloorimetaani/metanoli
99:1) 2,2 g [[4-[1-(bentsyylioksidikarbonyyli)-DL-prolyyli]-
m-fenyleeni]dioksi]dietikkahappodimetyyliesteriä. MS (EI):
485 (M)⁺.

35

c) Hydraamalla 2,2 g esivaihetta, kuten esimerkissä 6b), ja sen jälkeen antamalla reagoida 1,0 g:n kanssa p-syanbentsoylikloridia kloroformissa trietyyliamiinin läsnä ollessa, saadaan kromatografioinnin jälkeen (silikageeli; dikloorimetaani/metanoli 99:1) 0,85 g haluttua lähtöainetta. MS (EI): 480 (M)⁺.

Esimerkki 33

0,009 g:sta esimerkin 32 tuotetta saadaan hydrolysoimalla vesipitoisella natronlipesellä metanolissa 50 °C:ssa sen jälkeen, kun on kromatografioitu (silyloitu silikageeli RP-18, vesi/asetonitriili-gradientti) ja kiteytetty etanolista, 0,09 g [[4-[1-(p-amidinobentsoyli)-DL-prolyyli]-m-fenyleeni]dioksi]dietikkahaponmononatrium-suolaa. Sp.: 241-242 °C. MS (FAB): 492 (M+Na)⁺, 470 (M+H)⁺.

Esimerkki 34

0,47 g:sta [[1-[N-(p-amidinobentsoyli)-L-tyrosyyli]-4-piperidinyyli]oksi]etikkahappoa (esimerkki 14) saadaan esteröimällä etanolissa katalyyttisten määrien kons. rikkihappoa läsnä ollessa kromatografioinnin jälkeen (LiChroprep RP-18, vesi/etanoli-gradientti) 0,3 g [[1-[N-(p-amidinobentsoyli)-L-tyrosyyli]-4-piperidinyyli]oksi]etikkahappoetyyliesteri-hemisulfaattia, sulamispisteen ollessa 182-184 °C (etanoli). MS (ISO = ionispray): 497 (M+H)⁺.

Esimerkki 35

0,48 g:sta [[1-[N-[5-(1-t-butoksiformamido)pentanoyyli]-3-(p-t-butoksifenyyli)-L-alanyyli]-4-piperidinyyli]oksi]etikkahappo-t-butyliesteriä saadaan vastaavasti, kuten esimerkissä 1 dietyylieetteristä kiteytyksen jälkeen 0,2 g [[1-[N-(5-aminopentanoyyli)-L-tyrosyyli]-4-piperidinyyli]oksi]etikkahapon trifluoriasetaattisuolaa. Sp.: 78 - 88 °C (hajoten). $[\alpha]^{20}_D = +11,6$ °C (c=0,7 metanolissa). MS (FAB): 422 (M+H)⁺.

Lähtöesteriä voidaan valmistaa seuraavasti:

Antamalla 0,7 g:n [[1-[3-(p-t-butoksifenyyli)-L-

alanyyli]-4-piperidinyyli]oksi]etikkahappo-t-butyylieste-
riä (valmistettu suorittamalla esimerkin 14a) tuotteelle)
hydrogenolyysi) reagoida 0,35 g:n kanssa N-Boc-5-amino-
5 pentaanihappoa HBTU:n ja N-metyylimorfoliinin läsnä olles-
sa (kuten esimerkissä 2b), saadaan 0,55 g lähtöesteriä.
[α]²⁰_D = +1,2 °C (c=0,4 metanolissa). MS (FAB): 634 (M+H)⁺.

Esimerkki 36

0,6 g:sta [(S)-3-(p-amidinobentsamido)-3-[[4-[(t-
10 butoksikarbonyyli)metoksi]piperidino]karbonyyli]propyyli]-
t-butylikarbamaattia saadaan vastaavasti, kuten esimer-
kissä 1 kromatografioinnin jälkeen (LiChroprep RP-18, ve-
si/metanoli-gradientti) ja sen jälkeen, kun on sekoitettu
THF:ssä, 0,26 g [[1-[(S)-2-(p-amidinobentsamido)-4-amino-
15 butanoyyli]-4-piperidinyyli]oksi]etikkahapon trifluoriase-
taattisuolaa, sulamispisteen ollessa yli 170 °C (hajoten).
[α]²⁰_D = +5,8 °C (c=0,5, vedessä). MS (EI): 406 (M+H)⁺.

Lähtöainetta voidaan valmistaa seuraavasti:

a) Antamalla 1,0 g:n 4-piperidinyylioksi]etikkahap-
po-t-butyyliesteriä reagoida 2,0 g:n kanssa N²-Fmoc-N⁴-Boc-
20 (S)-2,4-diaminovoihappoa HBTU:n ja Hunig-emäksen läsnä ol-
lessa, kuten esimerkissä 2b) kuvattiin, saadaan kromato-
grafioinnin jälkeen (silikageeli; EtOAc/heksaani 1:1,5)
2,2 g 3-t-butyyl-1-(fluoren-9-yylimetyyli)-(S)-1-[[4-[(t-
butoksikarbonyyli)metoksi]piperidino]karbonyyli]trimety-
25 leeni-dikarbamaattia, MS (FAB): 638 (M+H)⁺.

b) Antamalla 2,3 g:n kohdan a) tuotetta reagoida
piperidiinin kanssa (20% DMF:ssä) saadaan tulokseksi kro-
matografioinnin jälkeen (silikageeli, etikkaesteri/metano-
li 4:1) 0,65 g t-butyyl-[(S)-3-amino-3-[[4-[(t-butoksi-
30 karbonyyli)metoksi]piperidino]karbonyyli]propyyli]karba-
maattia. MS (FAB): 416 (M+H)⁺.

c) Antamalla 0,65 g:n kohdan b) tuotetta reagoida
0,38 g:n kanssa p-amidinobentsoyylikloridi-hydrokloridia
(kuten esimerkissä 1f) saadaan 0,6 g lähtökarbamaattia,
35 MS (FAB): 562 (M+H)⁺.

Esimerkki 37

0,25 g:sta [[1-[N-[(5-amidino-2-pyridyyli)karbonyyli]-3-(p-t-butoksifenyyli)-L-alanyyli]-4-piperidinyyli]oksi]etikkahappo-t-butyyliesteriä saadaan (vastaavasti, kuten esimerkissä 1) kromatografioinnin jälkeen (LiChroprep RP-18, vesi/metanoli-gradientti) ja sen jälkeen, kun on sekoitettu etikkaesterissä, 0,12 g [[1-[N-[(5-amidino-2-pyridyyli)karbonyyli]-L-tyrosyyli]-4-piperidinyyli]oksi]etikkahappoa, sulamispisteen ollessa 198-200 °C (hajoten).
 MS (FAB): 470 (M+H)⁺.

Lähtöainetta voidaan valmistaa seuraavasti:

a) Antamalla 2,5 g:n [[1-[3-(p-t-butoksifenyyli)-L-alanyyli]-4-piperidinyyli]oksi]etikkahappo-t-butyyliesteriä reagoida 0,85 g:n kanssa 5-syan-2-pikoliinihappoa (kuten esimerkissä 1d) saadaan 1,55 g [[1-[3-(p-t-butoksifenyyli)-N-[[5-syano-2-pyridyyli]-karbonyyli]-L-alanyyli]-4-piperidinyyli]oksi]etikkahappo-t-butyyliesteriä, sulamispisteen ollessa 122 - 123 °C (dietyylietteri/petrolieetteri 4:1). MS (FAB): 565 (M+H)⁺.

b) Käsittelemällä edelleen 1,43 g esivaiheen tuotetta, kuten esimerkissä 2A)B)C) on kuvattu, saadaan 0,98 g haluttua lähtöainetta. Sp.: 183-186 °C (MS (EI): 582 (M+H)⁺).

Esimerkki 38

Antamalla 0,7 g:n (S)-1-[2-(5-syanopyridin-2-yyli)karbonyyliamino]-3-(4-metoksifenyyli)propionyli]piperidin-4-yylioksietikkahappoetyyliesteriä reagoida, kuten esimerkissä 2A)B)C) on kuvattu, saadaan vedestä kiteyttämisen jälkeen 0,1 g (S)-1-[2-(5-amidinopyridin-2-yyli)karbonyyliamino]-3-(4-metoksifenyyli)propionyli]piperidin-4-yylioksietikkahappoetyyliesterin asetaattisuolaa. Sp.: 180 - 181 °C (hajoten). (MS (ISP): 512 (M+H)⁺).

Lähtöainetta voidaan valmistaa seuraavasti:

a) Antamalla 7 g:n N-Z-L-tyrosiini-dihydraattia reagoida 4,5 g:n kanssa 4-piperidinyyli-oksietikkahappo-

etyyliesteriä [saatu käsittelemällä vastaavaa t-butyylies-
 teriä, esimerkki 1c) trifluorietikkahapolla, ja sen jäl-
 keen etanolipitoisella suolahapolla], kuten esimerkissä
 5 ld), saadaan 6,5 g [[1-[N-(bentsyylioksidikarbonyyli)-L-ty-
 rosyyli]-4-piperidinyyli]oksi]etikkahappoetyyliesteriä.
 Tätä tuotetta käsitellään DMF:ssä kaliumkarbonaatin läsnä
 ollessa metyylijodidilla, jolloin kromatografioinnin jäl-
 keen (silikageeli, metyleenikloridi/metanoli 99:1) saadaan
 4,2 g (S)-1-[2-bentsyylioksidikarbonyyliamino-3-(4-metoksi-
 10 fenyyl)propionyyli]piperidin-4-yylioksietikkahappoetyy-
 liesteriä, $[\alpha]^{20}_D = +1,9 \text{ }^\circ\text{C}$ (c = 0,8 metanoli). MS (ISP):
 499 (M+H)⁺.

b) 4 g:sta kohdan a) tuotetta saadaan vastaavasti,
 kuten esimerkissä 1e) 3,5 g (S)-1-[2-amino-3-(4-metoksife-
 15 nyyl)propionyyli]piperidin-4-yylioksietikkahappoetyylies-
 teriä, MS (EI): 365 (M+H)⁺.

c) Kytkemällä 1,46 g kohdan b) tuotetta 0,74 g:aan
 5-syan-2-pikoliinihappoa esimerkin ld) mukaisesti saadaan
 sen jälkeen, kun on kromatografioitu silikageelillä (mety-
 20 leenikloridi/metanoli 40:1) 0,72 g lähtönitriiliä, MS
 (ISP): 495,5 (M+H)⁺.

Esimerkki 39

Saippuoimalla (S)-1-[2-(5-amidinopyridin-2-yylikar-
 bonyyliamino)-3-(4-metoksifenyyl)propionyyli]piperidin-4-
 25 yylioksietikkahappoetyyliesteri (esimerkki 38) pH:n olles-
 sa 12, saadaan kromatografioinnin jälkeen (LiChroprep RP-
 18, vesi/metanoli-gradientti) ja sen jälkeen, kun on se-
 koitettu etanolissa (S)-1-[2-(5-amidinopyridin-2-yylikar-
 bonyyliamino)-3-(4-metoksifenyyl)propionyyli]piperidin-4-
 30 yylioksietikkahappo, sulamispisteen ollessa yli 250 °C. MS
 (ISP): 484,4 (M+H)⁺.

Esimerkki 40

Kytkemällä 1,2 g (S)-1-[2-amino-3-(4-metoksifenyyl-
 35 li)propionyyli]piperidin-4-yylioksietikkahappoetyylieste-
 riä (esimerkki 38b) 0,77 g:aan 4-amidinobentsoehappoklori-

di-hydrokloridia 3-pikoliinissa (vastaavasti, kuten esimerkissä 1f) saadaan kromatografioinnin jälkeen (LiChroprep RP-18, vesi/etanoli-gradientti) ja sen jälkeen, kun on sekoitettu etikkaesterin kanssa 0,25 g (S)-1-[2-(4-amidinobentsamido)-3-(4-metoksifenyyli)propionyyli]piperidin-4-yylioksietikkahappoetyyliesterin hydrokloridia, sulamispisteen ollessa 105 - 107 °C. MS (ISP): 511,3 (M+H)⁺.

Esimerkki 41

Saippuomalla 0,35 g (S)-1-[2-(4-amidinobentsamido)-3-(4-metoksifenyyli)propionyyli]piperidin-4-yylioksietikkahappoetyyliesterin hydrokloridia (esimerkki 40) pH:n ollessa 12, saadaan sen jälkeen, kun on kromatografioitu (LiChroprep RP-18, vesi/metanoli-gradientti) ja kiteytetty etanoli/vedestä, 0,05 g (S)-1-[2-(4-amidino-bentsamido)-3-(4-metoksifenyyli)propionyyli]piperidin-4-yylioksietikkahappoa, sulamispisteen ollessa 191-192 °C. MS (ISP): 483,3 (M+H)⁺.

Esimerkki 42

1,6 g:sta [1-[N-(4-amidinobentsoyyli)-L-tryptofanyyli]piperidin-4-yylioksi]etikkahappo-t-butyliesteriä saadaan vastaavasti, kuten esimerkissä 1 sen jälkeen, kun on kromatografioitu (LiChroprep RP-18, vesi/metanoli-gradientti) ja sekoitettu THF:n ja asetonitriilin kanssa, 0,7 g [1-[N-(4-amidinobentsoyyli)-L-tryptofanyyli]piperidin-4-yylioksi]etikkahappoa, sulamispisteen ollessa 210 °C (hajoten). MS (ISP): 492,2 (M+H)⁺.

Lähtöesteriä valmistetaan seuraavasti:

a) Antamalla 5,1 g:n 4-piperidinyylioksietikkahappo-t-butyliesteriä (esimerkki 1c) reagoida 8,0 g:n kanssa Z-Trp-OH:ta HBTU:n ja N-metyylimorfoliinin läsnä ollessa, saadaan kuten esimerkissä 2b) kuvattiin kromatografioinnin jälkeen (silikageeli, metyleenikloridi/metanoli 20:1) 11,5 g [1-(N-bentsyylioksikarbonyyli-L-tryptofanyyli]piperidin-4-yylioksi]etikkahappo-t-butyliesteriä. MS (ISP): 536,0 (M+H)⁺.

b) Liuos, jossa on 6,6 g kohdan a) tuotetta metanolissa, kuumennetaan 10%:isen Pd-C:n ja ammoniumformiaatin läsnä ollessa kiehumislämpötilaan. Suodattamisen ja kromatografioinnin jälkeen (silikageeli, metyleenikloridi/metanoli 9:1) saadaan 4,3 g (1-L-tryptofanyyli-piperidin-4-yylioksi)etikkahappo-t-butyyliesteriä. MS (EI): 384 (M-NH₃)⁺.

c) Antamalla 1,9 g:n kohdan b) tuotetta reagoida 1,15 g:n kanssa 4-amidinobentsoehappokloridi-hydrokloridia pyridiinissä, kuten esimerkissä 1f) kuvattiin, saadaan kromatografioinnin jälkeen (silikageeli, metyleenikloridi/metanoli 7:1) 1,6 g lähtöesteriä, MS (ISP): 548,3 (M+H)⁺.

Esimerkki 43

Liuoksen, jossa on 3,2 g [1-[N-(4-amidinobentsoyyli)-4'-heksyylioksi-L-fenyylialanyyli]piperidin-4-yylioksi]etikkahappo-t-butyyliesteriä muurahaishapossa annetaan seistä yön ajan huoneenlämpötilassa. Sen jälkeen, kun on haihdutettu, kromatografioitu (LiChroprep RP-18, vesi/metanoli-gradientti) ja sekoitettu dietyylieetterin kanssa, eristetään 0,45 g [1-[N-(4-amidinobentsoyyli)-4'-heksyylioksi-L-fenyylialanyyli]piperidin-4-yylioksi]etikkahappoa, sulamispisteen ollessa 160 °C (hajoten). $[\alpha]^{20}_D = -3,2$ °C (c = 0,5 metanoli). MS (ISP): 553,2 (M+H)⁺

Lähtöesteriä valmistetaan seuraavasti:

a) Vastaavasti, kuten esimerkissä 38b) saadaan tulokseksi antamalla 5,6 g:n [[1-[N-(bentsyylioksi)karbonyyli]-L-tyrosyyli]-piperidinyyli]oksi]etikkahappo-t-butyyliesteriä reagoida 1-jodiheksaanin kanssa 80 °C:ssa kromatografioinnin jälkeen (silikageeli, heksaani/etikkaesteri 2,5:1) 3,9 g [1-(N-bentsyylioksi)karbonyyli-4'-heksyylioksi-L-fenyylialanyyli]piperidin-4-yylioksi]etikkahappo-t-butyyliesteriä, MS (EI): 445 (M-Z-NH₂)⁺.

b) Hydraamalla 3,9 g kohdan a) tuotetta metanolissa (vastaavasti, kuten esimerkissä 1c), saadaan 2,85 g [1-

(4'-heksyylioksi-L-fenyyli-alanyyli]piperidin-4-yylioksi]etikahappo-t-butyyliesteriä, MS (EI): 462 (M)⁺, 445 (M-NH₃)⁺.

c) Antamalla 0,5 g:n kohdan b) tuotetta reagoida 0,3 g:n kanssa 4-amidinobentsoehappokloridi-hydrokloridia pyridiinissä (vastaavasti, kuten esimerkissä 1f), saadaan kromatografioinnin jälkeen (silikageeli, metyleenikloridi/metanoli 5:1) 0,7 g lähtöesteriä, MS (ISP): 609,4 (M+H)⁺.

Esimerkki 44

10 Liuoksen, jossa on 0,65 g (R,S)-1-[2-(4-aminoimino-metyyli-N-metyylibentsoyyliamino)-3-(4-metoksifenyyli)propionyyli]piperidin-4-yylioksi]etikahappo-t-butyyliesteriä muurahaishapossa annetaan seistä yön ajan huoneenlämpötilassa. Sen jälkeen, kun on haihdutettu ja kromatografioitu 15 (LiChroprep RP-18, vesi/asetonitriili-gradientti), eristetään 0,13 g (R,S)-1-[2-(4-aminoiminometyyli-N-metyylibentsoyyliamino)-3-(4-metoksifenyyli)propionyyli]piperidin-4-yylioksi]etikahappoa, sulamispisteen ollessa 181-182 °C. MS (ISP): 497,1 (M+H)⁺

20 Lähtöesteriä valmistetaan seuraavasti:

a) Kytkemällä 1,37 g Z-N-Me-Tyr(Me)-OH:ta (J.A.C.S., 112, 1990, 7663) 0,86 g:aan 4-piperidinyylioksietikahappo-t-butyyliesteriä (esimerkki 1c), kuten esimerkissä 2b) kuvattiin, saadaan kromatografioinnin jälkeen (silikageeli, dietyylieetteri/heksaani 5:1) 1,6 g (R,S)-1-[2-(N-bentsyylioksikarbonyyli-N-metyyliamino)-3-(4-metoksifenyyli)propionyyli]piperidin-4-yylioksi]etikahappo-t-butyyliesteriä. MS (EI): 541,0 (M+H)⁺.

b) Hydraamalla 1,5 g kohdan a) tuotetta metanolissa 30 kuten esimerkissä 1c) kuvattiin, saadaan 1,05 g öljyä, jonka annetaan reagoida suoraan 0,58 g:n kanssa 4-amidinobentsoehappokloridi-hydrokloridia pyridiinissä, kuten esimerkissä 1f) kuvattiin. Kromatografioinnin jälkeen (silikageeli, metyleenikloridi/metanoli 9:1) saadaan 0,7 g lähtöesteriä, jonka sp. on 109-111 °C. MS (ISP): 553,2 (M+H)⁺.

Esimerkki 45

Esteröimällä 0,07 g (R,S)-1-[2-(4-aminoiminometyyli-N-metyyllibentsoyyliamino)-3-(4-metoksifenyyli)propionyyli]piperidin-4-yylioksietikkahappoa etanolissa, kuten
 5 esimerkissä 34 kuvattiin, saadaan sen jälkeen, kun on kromatografioitu (LiChroprep RP-18, vesi/etanoli-gradientti) ja sekoitettu dietyylieetterin kanssa 0,056 g (R,S)-1-[2-(4-aminoiminometyyli-N-metyyllibentsoyyliamino)-3-(4-metoksifenyyli)propionyyli]piperidin-4-yylioksietikkahappoetyyliesteriä, sulamispisteen ollessa 126-128 °C. MS (ISP):
 10 525,5 (M+H)⁺.

Esimerkki 46

100 mg:aan (S)-cis-1-[2-(4-amidinobentsoyyliamino)-propionyyli]-4-t-butoksikarbonyylimetoksi-pyrrolidin-3-yylioksietikkahappo-t-butyyliesteriä 5 ml:ssa metyleenikloridia, lisätään 5 ml trifluoretikkahappoa. Sen jälkeen, kun on sekoitettu huoneenlämpötilassa, liuottimet haihdutetaan ja jäännös kromatografioidaan silikageeli RP-18:sta käyttäen vesi/THF:ää (0-50%). Saadaan 73 mg (S)-cis-1-[2-(4-amidinobentsoyyliamino)propionyyli]-4-karboksimetoksi-pyrrolidin-3-yylioksietikkahappoa. MS: 437 (M+H)⁺.

Lähtöesteriä valmistetaan seuraavasti:

a) Faasinsiirto-olosuhteissa sekoitetaan 237 mg
 25 cis-N-bentsyylioksikarbonyylipyrrolidiini-3,4-diolia, 1 ml bromietikkahappo-t-butyyliesteriä ja 100 mg tetrabutyyliammoniumvetysulfaattia 10 ml:ssa tolueenia 10 ml:n kanssa 50%:ista natronlipeätä. Orgaaninen faasi pestään vedellä ja haihdutetaan. Kromatografioimalla haihdutusjäännös silikageelillä käyttäen etikkaesteri/heksaania (1:3) saadaan
 30 354 mg cis-3,4-bis-t-butoksikarbonyylimetoksi-pyrrolidiini-1-karboksyylihappo-bentsyyliesteriä. MS: 354 (M-111).

b) Esivaiheesta hydrataan 320 mg 10 ml:ssa EtOH:ta
 100 mg:n 10%:ista Pd/C:tä läsnä ollessa, katalysaattori
 35 suodatetaan erilleen 2 tunnin kuluttua ja jäännöstä sekoi-

tetaan 10 ml:ssa THF:ää 224 mg:n kanssa N-bentsyylioksi-
 karbonyyli-L-alaniini-N-hydroksisukkinimidiesteriä
 100 µl:n trietyyliamiinia läsnä ollessa. Reaktioliuos lai-
 mennetaan eetterillä, orgaaninen faasi pestään 1M KHSO₄-
 5 liuoksella, kuivataan ja haihdutetaan. Kromatografioimalla
 jäännös silikageelillä käyttäen heksaani/etikkaesteriä
 (1:1) saadaan 260 mg (S)-cis-1-(2-bentsyylioksi-
 karbonyyli-amino-propionyyli)-4-t-butoksi-
 karbonyylimetoksi-pyrroli-
 din-3-yylioksietikkahappo-t-butyyliesteriä. MS:537 (M+H)⁺.

10 c) Esivaiheesta hydrataan 250 mg 10 ml:ssa EtOH:ta
 100 mg:n 10%:ista Pd/C:tä läsnä ollessa, katalysaattori
 suodatetaan erilleen 4 tunnin kuluttua ja jäännöstä sekoit-
 tetaan 10 ml:ssa pyridiiniä 102 mg:n kanssa p-amidinobent-
 soyylikloridi-hydrokloridia. Haihduttamalla liuos ja kro-
 15 matografioimalla jäännös silikageeli RP-18:sta vesi/THF:ää
 (5-30%) käyttäen, saadaan 143 mg lähtöesteriä, jonka sp.
 on 127 °C (d).

Esimerkki 47

20 Liuosta, jossa on 150 mg (S)-8-[2-(4-aminoiminome-
 tyyli-bentsoyyliamino)-3-(4-t-butoksifenyyli)propionyyli]-
 8-atsabisyklo[3,2,1]oktan-endo-3-yylioksietikkahappo-etyy-
 liesteri-hydrokloridia sekoitetaan 5 ml:ssa CH₂Cl₂:ta ja
 2,5 ml:ssa trifluorietikkahappoa huoneenlämpötilassa ja
 haihdutetaan. Jäännöksestä saadaan eetteriä käyttäen ki-
 25 teitä, jotka imusuodatetaan ja liuotetaan 5 ml:aan EtOH:-
 ta. Liuokseen lisätään 40 mg NaOH:ta, 1 ml:aan vettä liuo-
 tettuna ja sekoitetaan huoneenlämpötilassa. Reaktioliuos
 neutraloidaan 1N suolahapolla ja haihdutetaan. Kromatogra-
 fioimalla jäännös silikageeli RP-18:sta vesi/THF:ää käyt-
 30 täen, saadaan 75 mg (S)-8-[2-(4-aminoiminometyyli-bentso-
 yyliamino)-3-(4-hydroksifenyyli)propionyyli]-8-atsabisyk-
 lo[3,2,1]oktan-endo-3-yylioksietikkahappoa, MS:495 (M+H)⁺.

Lähtöesteriä valmistetaan seuraavasti:

35 a) Liuokseen, jossa on 1 g N-bentsyylioksi-
 karbonyyli-nortropiinia ja 20 mg rodium(II)-asetaattia 3 ml:ssa

tolueenia lisätään 80 °C:ssa 2 ml diatsoetikkahappoetyyli-
 esterä 2 ml:ssa tolueenia. 3,5 tunnin kuluttua liuos
 haihdutetaan ja jäännös kromatografoidaan silikageelillä
 käyttäen heksaani/etikkaesteriä (20-50%). Saadaan 555 mg
 5 endo-3-etoksikarbonyylimetoksi-8-atsabisyklo[3,2,1]oktaa-
 ni-8-karboksyylihappo-bentsyyliesteriä. MS:348 (M+H)⁺.

b) Liuosta, jossa on 500 mg esivaihetta 20 ml:ssa
 EtOH:ta hydrataan 100 mg:n 10%:ista Pd/C:tä läsnä ollessa,
 10 katalysaattori suodatetaan erilleen 3 tunnin kuluttua ja
 suodos haihdutetaan. Jäännös liuotetaan 10 ml:aan THF:ää
 ja lisätään liuokseen, jossa on 828 mg N-Z-L-Tyr(tBu)-
 OH:ta, 140 µl N-metyylimorfoliinia ja 569 mg HBTU:ta
 10 ml:ssa THF:ää, ja, jota sekoitettiin 1 tunnin ajan
 0 °C:ssa. Sekoittamisen jälkeen reaktioliuos haihdutetaan
 15 ja jäännös kromatografoidaan silikageelillä käyttäen hek-
 saani/etikkaesteriä (1:1). Saadaan 650 mg (S)-8-[2-bent-
 syylioksikarbonyyliamino-3-(4-t-butoksifenyyli)propionyy-
 li]-8-atsabisyklo[3,2,1]oktan-endo-3-yylioksietikkahappo-
 etyyliesteriä. MS: 567 (M+H)⁺.

c) Esivaiheesta hydrataan 600 mg 20 ml:ssa EtOH:ta
 100 mg:n 10%:ista Pd/C:tä läsnä ollessa, katalysaattori
 suodatetaan erilleen 16 tunnin kuluttua ja jäännöstä se-
 koitetaan huoneenlämpötilassa 10 ml:ssa pyridiiniä
 262 mg:n kanssa p-amidinobentsoylikloridi-hydrokloridia.
 25 Haihduttamalla liuos ja kromatografioimalla jäännös sili-
 kageeli RP-18:sta, vesi/THF:ää (0-50%) käyttäen, saadaan
 198 mg lähtöesteriä, MS: 579 (M+H)⁺..

Esimerkki 48

706 mg (E) tai (Z)-(S)-[3-[2-[4-(t-butoksikarbonyy-
 30 li-imino-di-t-butoksikarbonyyliaminometyyli)bentsoyyliami-
 no]propionyyliamino]propoksi]etikkahappobutyyliesteriäse-
 koitetaan 1,5 ml:ssa metyleenikloridia ja 1,5 ml:ssa tri-
 fluorietikkahappoa 20 °C:ssa. Sen jälkeen, kun liuotin on
 haihdutettu vakuuissa, ja on haihdutettu tolueenin kanssa
 35 ja kiteytetty asetonitriilistä saadaan 407 mg (S)-[3-[2-

[4-(aminoiminometyyli)bentsoyyliamiño]propionyyliamino]-propoksi]etikkahappobutyylimiesteri-trifluoriasetaattia (1:1), sp.: 163-165 °C, $[\alpha]^{20}_D = +19$ °C (c = 0,5 metanolissa).

5 Lähtöainetta saadaan seuraavalla tavalla:

a) Akryylinitriili, glykolihappobutyylimiesteri ja kaliumkarbonaatti lämmitetään 60 °C:een. Sen jälkeen, kun on käsitelty edelleen etikkaesterillä ja vedellä, tislataan 2-syanetoksietikkahappobutyylimiesteri. Kiehumispiste: 10 100 - 120 °C, 0,3 mmHg (kuulaputki).

b) Tämä hydrataan etikkahapossa Pd/C:tä käyttäen ja tällöin saatu amiini kytketään N-bentsyylioksikarbonyyli-L-alaniinin kanssa (S)-[3-(2-bentsyylioksikarbonyyliamino)propionyyliamino]propoksi]etikkahappobutyylimiesteriksi, sulamispisteen ollessa 54-55 °C, $[\alpha]^{20}_D = -11,0$ °C (c = 0,5 metanolissa).

c) Hydraamalla Pd/C:llä etikkahapossa saadaan [3-(2-aminopropionyyliamino)propoksi]etikkahappobutyylimiesteri, joka kytketään p-[E/Z]-tri(t-butoksikarbonyyli)amidinobentsoehapon kanssa lähtöaineeksi. MS: 707 (M+H)⁺, $[\alpha]^{20}_D = +21,4$ °C (c = 0,5 metanolissa).

Esimerkki 49

416 mg (S)-[3-[2-[4-(aminoiminometyyli)bentsoyyliamino]propionyyliamino]propoksi]etikkahappobutyylimiesteriä sekoitetaan 8,3 ml:ssa 25-prosenttista suolahappoa 25 20 °C:ssa. Liuos haihdutetaan ja jäännös haihdutetaan veden kanssa. THF:stä saadaan 211 mg (S)-[3-[2-[4-(aminoiminometyyli)bentsoyyliamino]propionyyliamino]propoksi]etikkahappo-hydrokloridia hydraattina (1:1), sulamispisteen 30 ollessa 89-80 °C, $[\alpha]^{20}_D = +23,4$ °C (c = 0,5 metanolissa).

Esimerkki 50

1 g 1-[N-[4-(t-butoksikarbonyyli-imino-di-t-butoksikarbonyyliamino-metyyli)bentsoyyli]-N-(2-metoksietyyli)-glysyylipiperidin-4-yylioksietikkahappo-t-butyylimiesteriä sekoitetaan 3,8 ml:ssa metyleenikloridia ja 3,8 ml:ssa 35

trifluorietikkahappoa 20 °C:ssa. Liuotinseos haihdutetaan, jäännös haihdutetaan veden kanssa, liuotetaan etyylialkoholiin ja pH saatetaan metanolipitoisella ammoniakki-liuoksella arvoon 8, minkä jälkeen 1-[N-[4-(aminoiminometyyli)-bentsoyyli]-N-(2-metoksietyyli)glysyyli]piperidin-4-yylioksi-
5 etikkahappo kiteytyy hydraattina (2:1). Sulamispiste: > 250 °C. MS: 421 (100,M+H).

Lähtöesteriä voidaan saada seuraavalla tavalla:

a) N-(2-metoksietyyli)glysiini-t-butyyliesterin annetaan reagoida eetterissä ja kyllästetyssä, vesipitoisessa natriumbikarbonaattiliuoksessa kloorimuurahaishappobentsoyyliesterin kanssa N-bentsoyylioksi-karbonyyli-N-(2-metoksietyyli)glysiini-t-butyyliesteriksi, MS: 324 (82, M+H).
10

b) Tämä lohkaistaan metyleenikloridi/trifluorietikkahapossa N-bentsoyylioksi-karbonyyli-N-(2-metoksietyyli)-glysiiniiksi, MS: 267 (1,M).
15

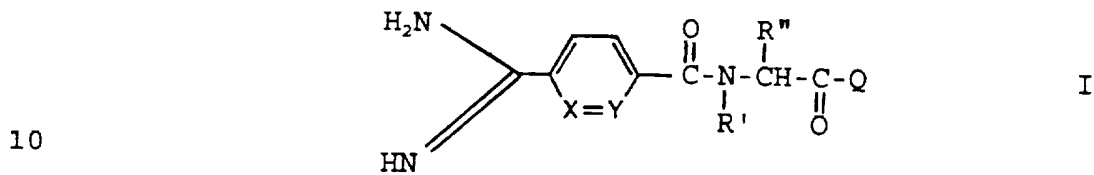
c) Kytkemällä viimeksi mainittu piperidin-4-yylioksi-etikkahappo-t-butyyliesteriin saadaan 1-[N-bentsoyylioksi-karbonyyli-N-(2-metoksietyyli)glysyyli]piperidin-4-yylioksi-
20 etikkahappo-t-butyyliesteri, MS: 465 (100,M+H).

d) Hydraamalla katalyyttisesti Pd/C:llä etanolissa saadaan 1-[N-(2-metoksietyyli)glysyyli]piperidin-4-yylioksi-etikkahappo-t-butyyliesteri, MS: 331 (100,M+H).

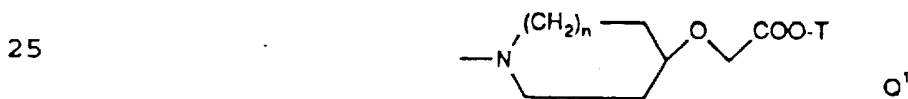
e) Tämä kytketään 4-(t-butoksi-karbonyyli-imino-di-t-butoksi-karbonyyli-amino-metyyli)bentsoehapon kanssa lähtöesteriksi, MS: 777 (70,M+H).
25

Patenttivaatimukset

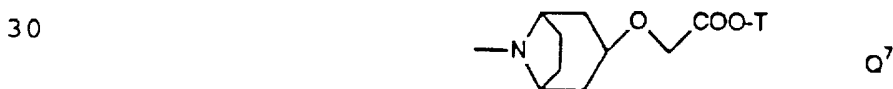
1. Menetelmä terapeuttisesti käyttökelpoisten N-
 (amidinobentsoyyli- tai amidinopyridyylikarbonyyli)- α -ami-
 5 nohappojohdannaisten valmistamiseksi, joilla on kaava I



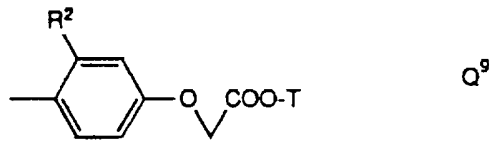
jossa
 toinen X:stä ja Y:stä on CH ja toinen on CH tai N,
 R' on vety tai metyyli,
 15 R" on vety, alempi alkyyli, fenyyli tai alempi alkyyli,
 jossa on substituentti joukosta hydroksi, alempi alkoksi,
 alempi alkanoyylioksi, amino, karboksyyli, fenyyli, alem-
 malla alkoksilla, jodilla ja/tai hydroksilla substituoitu
 fenyyli ja indolyyli, tai R' ja R" muodostavat yhdessä N-
 ja C-atomien kanssa, joihin ne ovat liittyneet, 5- tai 6-
 20 jäsenenisen renkaan,
 Q on ryhmä, jolla on kaava:



tai



35 tai, jos R' ja R" muodostavat renkaan yhdessä N- ja C-ato-
 mien kanssa, joihin ne ovat liittyneet, niin Q voi myös
 olla ryhmä, jolla on kaava



5

n on luku 0 tai 1,

R² merkitsee vetyä tai ryhmää -OCH₂COO-T',

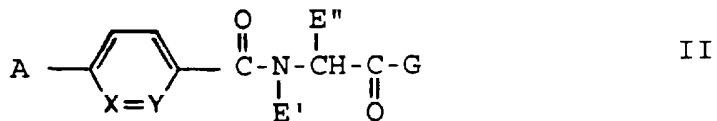
T ja T' merkitsevät vetyä, primääristä tai sekundääristä
10 alempaa alkyylia tai fenyyli-alempi-alkyyliä,

sekä niiden hydraattien ja solvaattien ja fysiologisesti
käyttökelpoisten suolojen valmistamiseksi,

t u n n e t t u siitä, että

a) yhdisteessä, jolla on kaava

15



20 jossa

A on mahdollisesti suojattu amidinoryhmä,

E', E'' ja G merkitsevät samaa kuin R', R'' ja vastaavasti Q
kaavassa I, jolloin kuitenkin G ryhmän -COOT sijasta si-
sältää tert-butoksikarbonyyliryhmän -COO-tBu ja E' ja E''

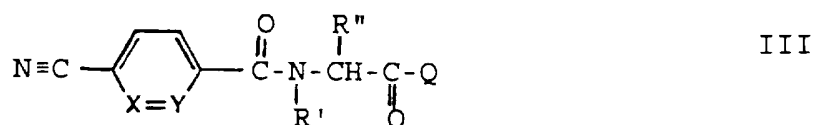
25 voivat sisältää karboksyylihappoesteriryhmän ja/tai eette-
riryhmän ja/tai suojatun aminoryhmän,

lohkaistaan G:ssä oleva ryhmä -COO-tBu ja A:ssa, E':ssa
tai E'':ssa mahdollisesti oleva eetteriryhmä, suojattu ami-
no- tai amidinoryhmä tai karboksyylihappoesteriryhmä si-
nänsä tunnetulla tavalla, tai

30

b) nitriilissä, jolla on kaava

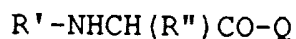
35



muutetaan syaaniryhmä amidinoryhmäksi sinänsä tunnetulla tavalla, tai

c) amiini, jolla on kaava

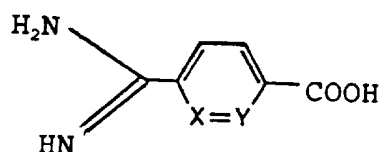
5



IV

saatetaan reagoimaan hapon kanssa, jolla on kaava XIII

10



XIII

tai sen reaktiokykyisen johdannaisen kanssa sinänsä tunnetulla tavalla,

15

ja mahdollisesti suoritetaan saadulle kaavan I mukaiselle yhdisteelle yksi tai useampi seuraavista reaktioista:

20

i) primäärinen tai sekundäärinen alempi alkoksikarbonyyliryhmä tai fenyylialempi-alkoksikarbonyyliryhmä -COOT tai -COOT' lohkaistaan vapaaksi karboksyyliryhmäksi, ii) karboksyyliryhmä -COOT tai -COOT' esteröidään primääriseksi tai sekundääriseksi alemmaksi alkoksikarbonyyliryhmäksi tai fenyylialempi-alkoksikarbonyyliryhmäksi,

25

iii) jodataan ryhmän R'' sisältämä fenyyliryhmä, iv) kaavan I mukainen yhdiste muutetaan fysiologisesti käyttökelpoiseksi suolaksi, ja v) kaavan I mukaisen yhdisteen suola muutetaan vapaaksi hapoksi tai emäkseksi.

30

2. Patenttivaatimuksen 1 mukainen menetelmä, t u n n e t t u siitä, että valmistetaan [[1-[N-(p-amidinobentsoyyli)-L-alanyyli]-4-piperidinyyli]oksi]etikkahappo.

35

3. Patenttivaatimuksen 1 mukainen menetelmä, t u n n e t t u siitä, että valmistetaan [[1-[N-[(5-amidino-2-pyridyyli)karbonyyli]-L-alanyyli]-4-piperidinyyli]oksi]etikkahappo.

4. Patenttivaatimuksen 1 mukainen menetelmä, t u n n e t t u siitä, että valmistetaan $[[1-[N-(p\text{-amidinobentsoyyli})-3-(4\text{-hydroksi-3-jodifenyyli})-L\text{-alanyyli}]-4\text{-piperidinyyli}]oksi]etikkahappo$.

5 5. Patenttivaatimuksen 1 mukainen menetelmä, t u n n e t t u siitä, että valmistetaan $[[1-[3\text{-asetoksi-N-(p\text{-amidinobentsoyyli})-L\text{-alanyyli}]-4\text{-piperidinyyli}]oksi]etikkahappo$.

10 6. Patenttivaatimuksen 1 mukainen menetelmä, t u n n e t t u siitä, että valmistetaan $[p-[[1-(p\text{-amidinobentsoyyli})-2\text{-pyrrolidinyyli}]karbonyyli]fenoksi]etikkahappo$.

15 7. Patenttivaatimuksen 1 mukainen menetelmä, t u n n e t t u siitä, että valmistetaan $[[1-[N-[(5\text{-amidino-2-pyridyyli})karbonyyli]-L\text{-tyrosyyli}]-4\text{-piperidinyyli}]oksi]etikkahappo$.

8. Patenttivaatimuksen 1 mukainen menetelmä, t u n n e t t u siitä, että valmistetaan $[[1-[N-(p\text{-amidinobentsoyyli})-L\text{-tyrosyyli}]-4\text{-piperidinyyli}]oksi]etikkahappo$.

20 9. Patenttivaatimuksen 1 mukainen menetelmä, t u n n e t t u siitä, että valmistetaan (S)-1-[2-(5-amidinopyridin-2-yylikarbonyyliamino)-3-(4-metoksifenyyli)propionyyli]piperidin-4-yylioksietikkahappo.

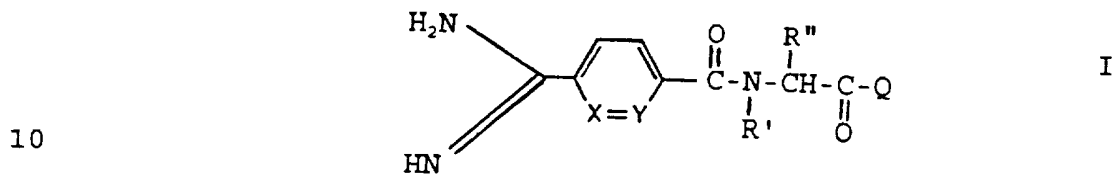
25 10. Patenttivaatimuksen 1 mukainen menetelmä, t u n n e t t u siitä, että valmistetaan (S)-1-[2-(4-amidinobentsamido)-3-(4-metoksifenyyli)propionyyli]piperidin-4-yylioksietikkahappoetyyliesteri.

30 11. Patenttivaatimuksen 1 mukainen menetelmä, t u n n e t t u siitä, että valmistetaan (S)-1-[2-(4-amidinobentsamido)-3-(4-metoksifenyyli)propionyyli]piperidin-4-yylioksietikkahappo.

12. Patenttivaatimuksen 1 mukainen menetelmä, t u n n e t t u siitä, että valmistetaan $[1-[N-(4\text{-amidinobentsoyyli})-4'\text{-heksyylioksi-L-fenyyli}alanyyli]piperidin-4\text{-yylioksi}]etikkahappo$.

Patentkrav

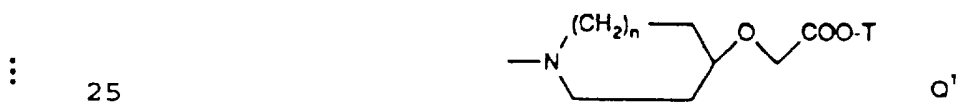
1. Förfarande för framställning av terapeutiskt användbara N-(amidinobensoyl- eller amidinopyridylkarbonyl)-
 5 α -aminosyraderivat med formeln I



vari

den ena av X och Y är CH och den andra är CH eller N,
 R' är väte eller metyl,

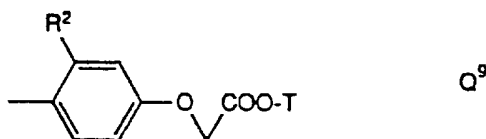
15 R'' är väte, lägre alkyl, fenyl eller lägre alkyl med en substituent ur gruppen hydroxi, lägre alkoxi, lägre alkanoyloxi, amino, karboxyl, fenyl, med lägre alkoxi, jod och/eller hydroxi substituerad fenyl och indolyl, eller R' och R'' tillsammans med de N- och C-atomer, vid vilka de är
 20 bundna, bildar en 5- eller 6-ledad ring,
 Q är en grupp med formeln:



eller



eller, då R' och R'' tillsammans med de N- och C-atomer, vid vilka de är bundna, bildar en ring, så kan Q ytterligare vara en grupp med formeln



5

n är ett tal 0 eller 1,

R² betecknar väte eller en grupp -OCH₂COO-T',

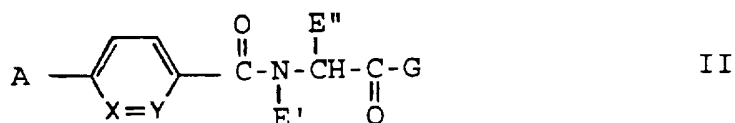
T och T' betecknar väte, primär eller sekundär lägre alkyl
10 eller fenyl-lägre-alkyl,

samt deras hydrater och solvater och deras fysiologiskt
användbara salter,

k ä n n e t e c k n a t av att

a) i en förening med formeln

15



20

vari

A är en eventuellt skyddad amidinogrupp,

E', E'' och G betecknar samma som R', R'' respektive Q i
formeln I, varvid G ändå i stället för gruppen -COOT inne-
håller en tert-butoxikarbonylgrupp -COO-tBu och E' och E''

25

kan innehålla en karboxylsyraestergrupp och/eller eter-
grupp och/eller skyddad aminogrupp,

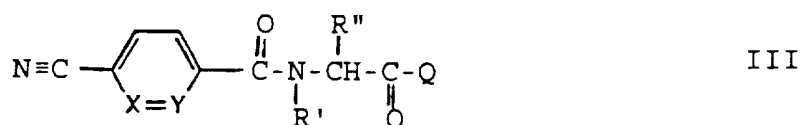
spjälkas den i G närvarande gruppen -COO-tBu och en even-
tuellt i A, E' eller E'' närvarande etergrupp, skyddad ami-
no- eller amidinogrupp eller karboxylsyraestergrupp på ett

30

i och för sig känt sätt, eller

b) i en nitril med formeln

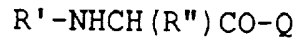
35



omvandlas cyangruppen till en amidinogrupp på ett i och för sig känt sätt, eller

c) en amin med formeln

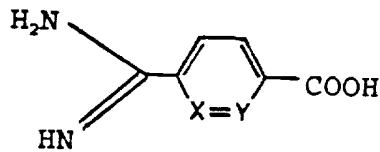
5



IV

omsätts med en syra med formeln XIII

10



XIII

eller ett reaktivt derivat därav på ett i och för sig känt sätt,

15

och eventuellt underkastas den erhållna föreningen med formeln I en eller flera av följande reaktioner:

i) en primär eller sekundär lägre alkokikarbonylgrupp eller fenyl-lägre-alkoxikarbonylgrupp -COOT eller -COOT' spjälkas till en fri karboxylgrupp,

20

ii) en karboxylgrupp -COOT eller -COOT' förestras till en primär eller sekundär lägre alkokikarbonylgrupp eller fenyl-lägre-alkoxikarbonylgrupp,

iii) en fenylgrupp i gruppen R" joderas,

25

iv) en förening med formeln I omvandlas till ett fysiologiskt användbart salt, och

v) ett salt av en förening med formeln I omvandlas till en fri syra eller bas.

30

2. Förfarande enligt patentkrav 1, k ä n n e - t e c k n a t av att man framställer [[1-[N-(p-amidino-bensoyl)-L-alanyl]-4-piperidinyloxi]ättiksyra.

3. Förfarande enligt patentkrav 1, k ä n n e - t e c k n a t av att man framställer [[1-[N-[(5-amidino-2-pyridyl)karbonyl]-L-alanyl]-4-piperidinyloxi]ättiksyra.

4. Förfarande enligt patentkrav 1, k ä n n e -
t e c k n a t av att man framställer [[1-[N-(p-amidi-
nobensoyl)-3-(4-hydroxi-3-jodfenyl)-L-alanyl]-4-piperidi-
nyl]oxi]ättiksyra.

5 5. Förfarande enligt patentkrav 1, k ä n n e -
t e c k n a t av att man framställer [[1-[3-acetoxi-N-(p-
amidinobensoyl)-L-alanyl]-4-piperidiny]oxi]ättiksyra.

6. Förfarande enligt patentkrav 1, k ä n n e -
t e c k n a t av att man framställer [p-[[1-(p-amidino-
10 bensoyl)-2-pyrrolidiny]karbonyl]fenoxi]ättiksyra.

7. Förfarande enligt patentkrav 1, k ä n n e -
t e c k n a t av att man framställer [[1-[N-[(5-amidino-
2-pyridyl)karbonyl]-L-tyrosyl]-4-piperidiny]oxi]ättik-
syra.

15 8. Förfarande enligt patentkrav 1, k ä n n e -
t e c k n a t av att man framställer [[1-[N-(p-amidino-
bensoyl)-L-tyrosyl]-4-piperidiny]oxi]ättiksyra.

9. Förfarande enligt patentkrav 1, k ä n n e -
t e c k n a t av att man framställer (S)-1-[2-(5-amidino-
20 pyridin-2-ylkarbonylamino)-3-(4-metoxifenyl)propionyl]pi-
peridin-4-yloxiättiksyra.

10. Förfarande enligt patentkrav 1, k ä n n e -
t e c k n a t av att man framställer (S)-1-[2-(4-amidino-
bensamido)-3-(4-metoxifenyl)propionyl]piperidin-4-yloxiät-
25 tiksyraetylester.

11. Förfarande enligt patentkrav 1, k ä n n e -
t e c k n a t av att man framställer (S)-1-[2-(4-amidino-
bensamido)-3-(4-metoxifenyl)propionyl]piperidin-4-yloxiät-
tiksyra.

12. Förfarande enligt patentkrav 1, k ä n n e -
t e c k n a t av att man framställer [1-[N-(4-amidino-
30 bensoyl)-4'-hexyloxi-L-fenylalanyl]piperidin-4-yloxi]ät-
tiksyra.