



SCHWEIZERISCHE EIDGENOSSENSCHAFT
BUNDESAMT FÜR GEISTIGES EIGENTUM

51 Int. Cl.³: C 07 C 103/52
C 07 C 143/72
C 07 C 145/00

Erfindungspatent für die Schweiz und Liechtenstein
Schweizerisch-liechtensteinischer Patentschutzvertrag vom 22. Dezember 1978



12 PATENTSCHRIFT A5

11

627 735

21 Gesuchsnummer: 7043/77

73 Inhaber:
F. Hoffmann-La Roche & Co. Aktiengesellschaft,
Basel

22 Anmeldungsdatum: 08.06.1977

30 Priorität(en): 25.06.1976 GB 26662/76
06.08.1976 GB 32847/76
14.03.1977 GB 10657/77

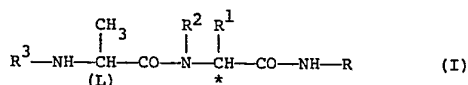
24 Patent erteilt: 29.01.1982

72 Erfinder:
Cedric Herbert Hassall, Welwyn/Herts (GB)
William Henry Johnson, Hitchin/Herts (GB)
Noel Allan Roberts, Welwyn Garden City/Herts (GB)

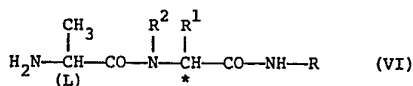
45 Patentschrift
veröffentlicht: 29.01.1982

54 Verfahren zur Herstellung von Dipeptidderivaten.

57 Dipeptidderivate der allgemeinen Formel



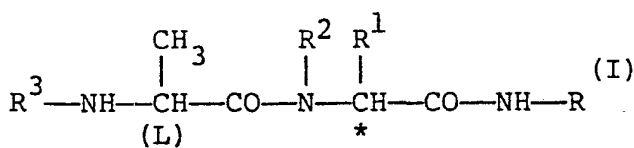
worin R Phenyl, substituiertes Phenyl, niederes Cycloalkyl oder n-(C₄-C₆)-Alkyl, R¹ und R² Wasserstoff oder Methyl, jedoch nicht gleichzeitig Wasserstoff; oder R¹ und R² zusammen Trimethylen; und R³ eine von einer Carbonsäure, einer Sulfonsäure oder einer Sulfinsäure abgeleitete Acylgruppe bedeutet, und worin das mit dem Stern bezeichnete C-Atom L-Konfiguration aufweist, sofern R¹ nicht Wasserstoff ist, sind als Elastasehemmer wirksam und können in der Behandlung degenerativer Erkrankungen, z.B. Arthritis, Verwendung finden. Sie werden hergestellt, indem man eine Verbindung der Formel



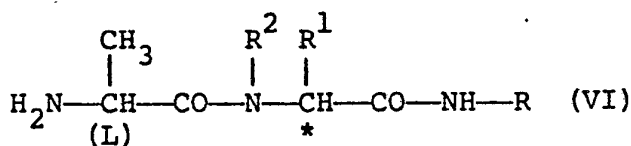
worin R, R¹ und R² die oben angegebenen Bedeutungen haben, mit einem die Gruppe R³ liefernden Acylderivat acyliert.

PATENTANSPRÜCHE

1. Verfahren zur Herstellung von Dipeptidderivaten der allgemeinen Formel



worin R Phenyl, substituiertes Phenyl, niederes Cycloalkyl oder n-(C₄-C₆)-Alkyl, R¹ und R² Wasserstoff oder Methyl, jedoch nicht gleichzeitig Wasserstoff; R¹ und R² zusammen Trimethylen; und R³ eine von einer Carbonsäure, einer Sulfonsäure oder einer Sulfinsäure abgeleitete Acylgruppe bedeutet, und worin das mit dem Stern bezeichnete C-Atom L-Konfiguration aufweist, sofern R¹ nicht Wasserstoff ist, dadurch gekennzeichnet, dass man eine Verbindung der Formel



worin R, R¹ und R² die oben angegebenen Bedeutungen haben, mit einem die Gruppe R³ liefernden Acylderivat acyliert.

2. Verfahren nach Anspruch 1, dadurch gekennzeichnet, dass man eine Verbindung der Formel VI mit einem eine Haloalkanoyl-, Nitroalkanoyl-, Cyanoalkanoyl-, Cycloalkyl-carbonyl-, Cycloalkylalkanoyl-, Aroyl-, Arylalkanoyl-, Alkoxy-carbonyl-, Aryloxy-carbonyl-, Arylalkoxy-carbonyl-, Aryl-sulfonyl-, Alkylsulfonyl-, Cycloalkylsulfonyl-, Cycloalkylsulfinyl-, Cycloalkyl-alkylsulfonyl- oder Cycloalkyl-alkylsulfinylgruppe liefernden Acylderivat umsetzt.

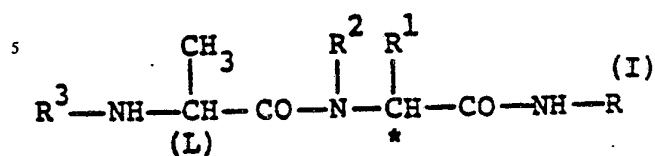
3. Verfahren nach Anspruch 1, dadurch gekennzeichnet, dass man eine Verbindung der Formel VI mit einem eine Trifluoracetyl-, Niederalkanoyl-, Niedercycloalkylcarbonyl-, Benzoyl-, Phenyl-niederalkanoyl-, Niederalkoxy-carbonyl-, Phenoxy-carbonyl-, Phenyl-niederalkoxy-carbonyl-, Benzolsulfonyl-, Naphthalinsulfonyl- oder Niederalkylsulfonylgruppe liefernden Acylderivat umsetzt, wobei die Benzoyl-, Phenoxy-carbonyl- und Benzolsulfonylgruppen und der Phenylteil der Phenyl-niederalkanoyl- und Phenyl-niederalkoxy-carbonylgruppen gegebenenfalls einen oder mehrere Halogen-, Niederalkyl-, Niederalkoxy- oder Nitrosubstituenten tragen.

4. Verfahren nach Anspruch 1, dadurch gekennzeichnet, dass man eine Verbindung der Formel VI mit einem eine Niederalkanoyl-, Niedercycloalkylcarbonyl-, Benzoyl-, Phenyl-niederalkanoyl-, Niederalkoxy-carbonyl-, Phenoxy-carbonyl- oder Phenyl-niederalkoxy-carbonylgruppe liefernden Acylderivat umsetzt, wobei die Benzoyl-, Phenoxy-carbonyl-, Phenyl-niederalkanoyl- und Phenyl-niederalkoxy-carbonylgruppen im Phenylteil gegebenenfalls einen oder mehrere Halogen-, Niederalkyl-, Niederalkoxy- oder Nitrosubstituenten tragen.

5. Verfahren nach einem der Ansprüche 1-4, dadurch gekennzeichnet, dass man von einer Verbindung der Formel VI ausgeht, in der R¹ Methyl und R² Wasserstoff oder R¹ und R² gemeinsam Trimethylen bedeuten.

6. Verfahren nach einem der Ansprüche 1-5, dadurch gekennzeichnet, dass man von einer Verbindung der Formel VI ausgeht, in der R Phenyl ist.

Die erfindungsgemäss erhältlichen Dipeptidderivate besitzen die allgemeine Formel



worin R Phenyl, substituiertes Phenyl, niederes Cycloalkyl oder n-(C₄-C₆)-Alkyl, R¹ und R² Wasserstoff oder Methyl, jedoch nicht gleichzeitig Wasserstoff; oder R¹ und R² zusammen Trimethylen; und R³ eine von einer Carbonsäure, einer Sulfonsäure oder einer Sulfinsäure abgeleitete Acylgruppe bedeutet, und worin das mit dem Stern bezeichnete C-Atom L-Konfiguration aufweist, sofern R¹ nicht Wasserstoff ist.

Die durch R³ dargestellte Acylgruppe kann z. B. Alkanoyl, Halo-alkanoyl, Nitro-alkanoyl, Cyano-alkanoyl, Cycloalkyl-carbonyl, Cycloalkyl-alkanoyl, Aroyl, Aryl-alkanoyl, Alkoxy-carbonyl, Aryloxy-carbonyl, Aryl-alkoxy-carbonyl, Arylsulfonyl, Alkylsulfonyl, Cycloalkylsulfonyl, Cycloalkylsulfinyl, Cycloalkyl-alkylsulfonyl oder Cycloalkyl-alkylsulfinyl sein.

Eine durch R dargestellte substituierte Phenylgruppe kann einen oder mehrere Halogen- (d. h. Fluor-, Chlor-, Brom- oder Jod-), nieder-Alkyl-, nieder-Alkoxy- oder Nitrosubstituenten tragen. Beispiele solcher Gruppen sind 4-Methoxyphenyl, 4-Nitrophenyl und 2,4-Dichlorphenyl. Der Ausdruck «Cycloalkyl» in bezug auf R bedeutet eine monocyclische Cycloalkylgruppe mit 3-8 C-Atomen, d. h. Cyclopropyl, Cyclobutyl, Cyclopentyl, Cyclohexyl, Cycloheptyl und Cyclooctyl, von den n-(C₄-C₆)-Alkylgruppen ist n-Pentyl bevorzugt.

Der Ausdruck «Alkanoyl» bezieht sich auf eine von einer geradkettigen oder verzweigt-kettigen Alkancarbonsäure abgeleitete Alkanoylgruppe, vorzugsweise eine nieder-Alkanoylgruppe wie Acetyl, Propionyl, Butyryl, Isobutyryl, Valeroyl, Pivaloyl. Der Ausdruck «Halo-alkanoyl» bezieht sich auf eine Alkanoylgruppe, die einen oder mehrere Halogenatome trägt. Vorzugsweise ist diese Gruppe eine Halo-(nieder-alkanoyl)-gruppe wie Monochloracetyl, Dichloracetyl oder insbesondere Trifluoracetyl. Der Ausdruck «Nitro-alkanoyl» bezieht sich auf eine Alkanoylgruppe, die eine Nitrogruppe trägt, vorzugsweise eine Nitro-(nieder-alkanoyl)-gruppe wie Nitroacetyl. Der Ausdruck «Cyano-alkanoyl» bezieht sich auf

eine Alkanoylgruppe mit einer Cyanogruppe, vorzugsweise eine Cyano-(nieder-alkanoyl)-gruppe wie Cyanoacetyl. Der Ausdruck «Cycloalkylcarbonyl» bezieht sich auf eine Gruppe der Formel R⁵-CO-, worin R⁵ nieder-Cycloalkyl (d. h. monocyclisches Cycloalkyl mit 3-8 C-Atomen, wie Cyclopentyl oder Cyclohexyl) oder ein aliphatisches überbrücktes und/oder kondensiertes Ringsystem, das durch Oxo oder Hydroxy substituiert sein kann. Ein Beispiel einer Cycloalkylcarbonylgruppe mit einem solchen Ringsystem ist Adamantylcarbonyl. Der Ausdruck «Cycloalkyl-alkanoyl» bezieht sich auf eine Alkanoylgruppe, in der ein Wasserstoffatom durch die vorstehend definierte Gruppe R⁵ ersetzt ist (z. B. Adamantylacetyl). Der Ausdruck «Aroyl» bezieht sich auf eine Aroylgruppe (z. B. Benzoyl), die einen oder mehrere Halogen-, nieder-Alkyl-, nieder-Alkoxy-, Nitro-, Amino- oder nieder-Alkanoylamino-Substituenten tragen kann. Der Ausdruck «Aryl-alkanoyl» bezieht sich auf eine Alkanoylgruppe, in der ein Wasserstoffatom durch eine Arylgruppe ersetzt ist. Der Ausdruck «Aryl» bedeutet hierbei eine Arylgruppe (z. B. Phenyl), die gegebenenfalls einen oder mehrere Halogen-, nieder-Alkyl-, nieder-Alkoxy-, Nitro-, Amino- oder nieder-Alkanoylamino-Substituenten trägt. Bevorzugte Aryl-alkanoylgruppen sind Aryl-(nieder-alkanoyl)-gruppen wie Phenacetyl oder Phenylpropionyl. Der Ausdruck «Alkoxy-carbonyl»

Die vorliegende Erfindung betrifft ein Verfahren zur Herstellung von Dipeptidderivaten.

bedeutet eine geradkettige oder verzweigte Alkoxy-carbonylgruppe, vorzugsweise eine nieder-Alkoxy-carbonylgruppe wie Methoxy-carbonyl und Äthoxy-carbonyl. Der Ausdruck «Aryloxy-carbonyl» bedeutet eine Aryloxy-carbonylgruppe, worin der Arylteil wie oben definiert ist. Der Ausdruck «Aryl-alkoxy-carbonyl» bedeutet eine Alkoxy-carbonylgruppe, die durch eine wie oben definierte Arylgruppe substituiert ist, vorzugsweise eine Aryl-(nieder-alkoxy-carbonyl)-gruppe wie Benzoyloxy-carbonyl. Der Ausdruck «Arylsulfonyl» bedeutet eine Arylsulfonylgruppe, worin der Arylteil wie oben definiert ist. Die Arylsulfonylgruppe kann beispielsweise Benzolsulfonyl oder Naphthalinsulfonyl (z. B. 1-Naphthalinsulfonyl) oder Benzolsulfonyl mit einem oder mehreren Substituenten sein, die in der Arylgruppe enthalten sein können, z. B. p-Toluolsulfonyl, 4-Chlorbenzolsulfonyl, 4-Aminobenzolsulfonyl, 4-Acetylamino-benzolsulfonyl, 4-Methoxybenzolsulfonyl und Mesitylensulfonyl. Die Alkylsulfonylgruppe ist vorzugsweise eine niedere Alkylsulfonylgruppe wie Methylsulfonyl. Der Ausdruck «Cycloalkylsulfonyl» bedeutet eine Gruppe der Formel R^5-SO_2- , worin R^5 die obige Bedeutung hat. Beispiele solcher Gruppen sind Adamantylsulfonyl (z. B. 1-Adamantylsulfonyl) und Camphersulfonyl (z. B. D-10-Camphersulfonyl). Der Ausdruck «Cycloalkylsulfinyl» bezieht sich auf eine Gruppe der Formel R^5-SO_2- , worin R^5 die obige Bedeutung hat. Beispiele solcher Gruppen sind Adamantylsulfinyl, wie 1-Adamantylsulfinyl. Der Ausdruck «Cycloalkyl-alkylsulfonyl» bedeutet eine Alkylsulfonylgruppe, die einen wie oben definierten Substituenten R^5 trägt, z. B. Isobornylmethylsulfonyl, und der Ausdruck «Cycloalkyl-alkylsulfinyl» bedeutet eine Alkylsulfinylgruppe, die einen wie oben definierten Substituenten R^5 trägt, z. B. Bornylmethylsulfinyl. Der Ausdruck «nieder» bezieht sich auf Gruppen mit vorzugsweise bis zu 6 C-Atomen. Beispiele von nieder-Alkyl- und nieder-Alkoxygruppen die wie die nieder-Alkanoylgruppen geradkettig oder verzweigt sein können, sind Methyl, Äthyl, Propyl, Isopropyl und Methoxy, Äthoxy, Propoxy und Isopropoxy.

In einer bevorzugten Ausführungsform der Erfindung ist R^3 Trifluoracetyl, nieder-Alkanoyl, nieder-Cycloalkyl-carbonyl, Benzoyl, Phenyl-nieder-alkanoyl, nieder-Alkoxy-carbonyl, Phenoxy-carbonyl, Phenyl-nieder-alkoxy-carbonyl, Benzolsulfonyl, Naphthalinsulfonyl oder nieder-Alkylsulfonyl, wobei die Benzoyl-, Phenoxy-carbonyl- und Benzolsulfonylgruppen und der Phenylteil der Phenyl-, nieder-Alkanoyl- und Phenyl-nieder-alkoxy-carbonylgruppen gegebenenfalls einen oder mehrere Halogen-, nieder-Alkyl-, nieder-Alkoxy- oder Nitro-substituenten tragen.

In einer weiteren bevorzugten Ausführungsform der Erfindung ist R^3 nieder-Alkanoyl, nieder-Cycloalkyl-carbonyl, Benzoyl, Phenyl-nieder-alkanoyl, nieder-Alkoxy-carbonyl, Phenoxy-carbonyl oder Phenyl-nieder-alkoxy-carbonyl, wobei die Benzoyl- und Phenoxy-carbonylgruppen und der Phenylteil der Phenyl-nieder-alkanoyl- und Phenyl-nieder-alkoxy-carbonylgruppen gegebenenfalls einen oder mehrere Halogen-, nieder-Alkyl-, nieder-Alkoxy- oder Nitrosubstituenten tragen.

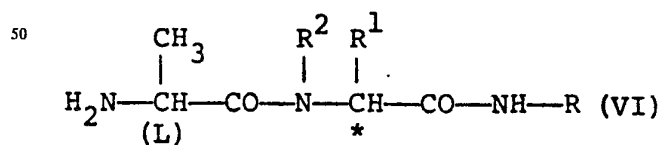
Eine bevorzugte Klasse von Dipeptidderivaten der Formel I sind diejenigen, in denen R^1 Wasserstoff und R^2 Methyl oder R^1 und R^2 zusammen Trimethylen darstellen. Eine weitere bevorzugte Klasse von Dipeptiden der Formel I sind diejenigen, in denen R^3 Alkanoyl, besonders nieder-Alkanoyl, ganz besonders Propionyl; oder Aroyl, besonders Benzoyl; oder Aryl-alkoxy-carbonyl, besonders Aryl-nieder-alkoxy-carbonyl, vor allem Benzoyloxy-carbonyl; oder Arylsulfonyl, besonders p-Toluolsulfonyl. Andere bevorzugte Reste R^3 sind Cycloalkylsulfonyl, Cycloalkylsulfinyl, Cycloalkyl-alkylsulfonyl und Cycloalkyl-alkylsulfinyl. Ein bevorzugter substituierter Phenylrest ist 4-Methoxyphenyl, 4-Nitrophenyl und 2,4-Di-

chlorphenyl. Eine bevorzugte niedere Cycloalkylgruppe R enthält 5–8 C-Atome.

Beispiele von Dipeptiden der Formel I sind:

- N-Benzoyloxy-carbonyl-L-alanyl-L-prolin-anilid,
- 5 N-Benzoyloxy-carbonyl-L-alanyl-L-prolin-2,4-dichloranilid,
- N-Benzoyloxy-carbonyl-L-alanyl-L-prolin-4-nitranilid,
- N-Benzoyloxy-carbonyl-L-alanyl-L-prolin-4-methoxyanilid,
- N-Acetyl-L-alanyl-L-prolin-anilid,
- N-Propionyl-L-alanyl-L-prolin-anilid,
- 10 N-Benzoyl-L-alanyl-L-prolin-anilid,
- N-Pivaloyl-L-alanyl-L-prolin-anilid,
- N-Hexanoyl-L-alanyl-L-prolin-anilid,
- N-Trifluoracetyl-L-alanyl-L-prolin-anilid,
- N-Cyanoacetyl-L-alanyl-L-prolin-anilid,
- 15 N-(1-Adamantyl-carbonyl)-L-alanyl-L-prolin-anilid,
- N-(1-Adamantyl-acetyl)-L-alanyl-L-prolin-anilid,
- N-(p-Toluolsulfonyl)-L-alanyl-L-prolin-anilid,
- N-Benzolsulfonyl-L-alanyl-L-prolin-anilid,
- N-(4-Nitrobenzolsulfonyl)-L-alanyl-L-prolin-anilid,
- 20 N-(1-Naphthalinsulfonyl)-L-alanyl-L-prolin-anilid,
- N-(1-Adamantylsulfinyl)-L-alanyl-L-prolin-anilid,
- N-(1-Adamantylsulfonyl)-L-alanyl-L-prolin-anilid,
- N-(D-10-Camphersulfonyl)-L-alanyl-L-prolin-anilid,
- N-(4-Acetylamino-benzolsulfonyl)-L-alanyl-L-prolin-anilid,
- 25 N-(4-Methoxybenzolsulfonyl)-L-alanyl-L-prolin-anilid,
- N-Mesitylensulfonyl-L-alanyl-L-prolin-anilid,
- N-Propionyl-L-alanyl-L-prolin-2,4-dichloranilid,
- N-Propionyl-L-alanyl-L-prolin-4-nitranilid,
- N-Propionyl-L-alanyl-L-prolin-4-methoxyanilid,
- 30 N-Benzoyloxy-carbonyl-L-alanyl-L-prolin-cyclopentylamid,
- N-Benzoyloxy-carbonyl-L-alanyl-L-prolin-cyclohexylamid,
- N-Benzoyloxy-carbonyl-L-alanyl-L-prolin-cycloheptylamid,
- N-Benzoyloxy-carbonyl-L-alanyl-L-prolin-cyclooctylamid,
- N-Propionyl-L-alanyl-L-prolin-cyclopentylamid,
- 35 N-Propionyl-L-alanyl-L-prolin-cyclohexylamid,
- N-(p-Toluolsulfonyl)-L-alanyl-L-prolin-cyclohexylamid,
- N-Propionyl-L-alanyl-L-prolin-cycloheptylamid,
- N-Propionyl-L-alanyl-L-prolin-cyclooctylamid,
- N-Benzoyloxy-carbonyl-L-alanyl-L-alanin-anilid,
- 40 N-Propionyl-L-alanyl-L-alanin-anilid,
- N-Benzoyloxy-carbonyl-L-alanyl-L-alanin-cyclohexylamid,
- N-Propionyl-L-alanyl-L-alanin-cyclohexylamid,
- N-Benzoyloxy-carbonyl-L-alanyl-L-prolin-n-pentylamid und
- 45 N-Propionyl-L-alanyl-L-prolin-n-pentylamid.

Die Dipeptidderivate der Formel I können erfindungsgemäss dadurch hergestellt werden, dass man eine Verbindung der Formel



55 worin R, R^1 , R^2 und * die obigen Bedeutungen haben, mit einem die Gruppe R^3 liefernden Acylderivat acyliert.

Die Acylierung einer Verbindung der Formel VI wird nach an sich bekannten Methoden durchgeführt. Beispielsweise kann eine Verbindung der Formel VI mit einem entsprechenden Säurechlorid, z. B. einem Cycloalkancarbonsäurechlorid wie Cyclohexancarbonsäurechlorid, einem Cycloalkyl-alkan-säurechlorid wie Adamantylacetylchlorid, einem Arylcarbon-säurechlorid wie Benzoylchlorid, einem Arylalkan-carbonsäurechlorid wie Phenacetylchlorid, einem Arylsulfonsäurechlorid wie p-Toluolsulfonylchlorid, Benzolsulfonylchlorid, 4-Nitro-benzolsulfonylchlorid oder 1-Naphthalinsulfonylchlorid, oder einem Alkansulfonylchlorid wie Methansulfonylchlorid, einem

Cycloalkansulfanylchlorid wie Adamantylsulfanylchlorid in Gegenwart einer Base, z.B. einem Alkalimetallhydroxyd wie Natriumhydroxyd, oder einem tertiären Amin wie Triäthylamin oder Pyridin umgesetzt werden. Die Umsetzung wird vorteilhafterweise bei Raumtemperatur durchgeführt. Zweckmässig arbeitet man in Gegenwart eines inerten organischen Lösungsmittels, wie einem halogenierten Kohlenwasserstoff, z.B. Methylenchlorid, wenn ein Alkalimetallhydroxyd als Base angewendet wird. Falls ein tertiäres Amin als Base verwendet wird, kann dieses im Überschuss vorhanden sein und dabei als Lösungsmittel dienen.

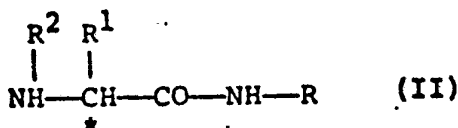
Nach einer anderen Methode wird eine Verbindung der Formel VI mit einem entsprechenden Säureanhydrid, z.B. einem Halo-alkancarbonsäureanhydrid wie Trifluoracetylchlorid oder einem Alkancarbonsäureanhydrid wie Propionsäureanhydrid, Isobuttersäureanhydrid oder N-Valeriansäureanhydrid, in Gegenwart einer Base, vorzugsweise einem tertiären Amin, insbesondere Pyridin, behandelt. Zweckmässig wird diese Behandlung bei etwa Raumtemperatur ausgeführt. Das tertiäre Amin kann im Überschuss vorhanden sein und als Lösungsmittel dienen. Die Umsetzung kann jedoch auch in Gegenwart eines geeigneten inerten organischen Lösungsmittels durchgeführt werden.

Nach einer weiteren Methode kann eine Verbindung der Formel VI mit einem entsprechenden Chlorameisensäureester in Gegenwart von N-Äthylmorpholin umgesetzt werden. Beispiele von Chlorameisensäureestern für diese Verfahrensweise sind nieder-Alkylester, insbesondere der Äthyl- und Isobutylester. Die Behandlung kann in einem inerten organischen Lösungsmittel, z.B. Tetrahydrofuran, und bei etwa Raumtemperatur durchgeführt werden.

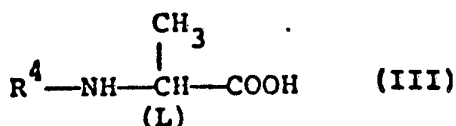
Nach einer weiteren Methode kann ein Hydrohalogenid, insbesondere das Hydrobromid, einer Verbindung der Formel VI mit einer entsprechenden Säure, welche die Gruppe R³ liefert, in Gegenwart eines geeigneten Kondensationsmittels, wie eines Carbodiimids, z.B. N,N-Dicyclohexylcarbodiimid, in an sich bekannter Weise umgesetzt werden. Die Acylierung wird in Gegenwart eines tertiärenamins, z.B. Triäthylamin oder N-Äthylmorpholin, und vorzugsweise in Gegenwart eines inerten organischen Lösungsmittels, wie eines chlorierten Kohlenwasserstoffes, z.B. Methylenchlorid, ausgeführt. Zweckmässig arbeitet man bei dieser Kondensation bei etwa 0 °C.

Die Ausgangsverbindungen der Formel VI können erhalten werden, indem man

a) ein Amid der allgemeinen Formel

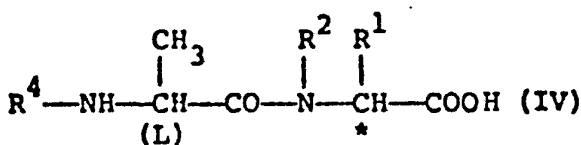


worin R, R¹, R² und * die obige Bedeutung haben, mit einem N-geschützten L-Alanin der allgemeinen Formel



worin R⁴ eine Schutzgruppe darstellt, kondensiert, oder

b) eine Verbindung der allgemeinen Formel



worin R¹, R², R⁴ und * die obige Bedeutung haben, amidiert und in beiden Fällen die Schutzgruppe R⁴ abspaltet.

Die durch R⁴ bezeichnete Schutzgruppe in den Verbindungen der Formeln III und IV kann jede in der Peptidchemie an sich bekannte Schutzgruppe sein. Beispielsweise kann R⁴ Trifluoracetyl, p-Toluolsulfonyl oder nieder-Alkoxy-carbonyl, z.B. tert.-Butoxycarbonyl; Aryloxy-carbonyl, z.B. Phenoxy-carbonyl; Aryl-nieder-alkoxy-carbonyl, z.B. Benzyloxy-carbonyl, sein. R⁴ kann beispielsweise auch Formyl, Trityl, 2-Biphenyl, Isopropyl-oxycarbonyl oder Phthaloyl darstellen. Vorzugsweise ist R⁴ eine Aryl-nieder-alkoxy-carbonylgruppe, insbesondere Benzyloxy-carbonyl.

Die Kondensation eines Amids der Formel II mit einem geschützten L-Alanin der Formel II gemäss Verfahrensvariante a) kann nach in der Peptidchemie bekannten Methoden durchgeführt werden, beispielsweise nach der Methode der gemischten Anhydride, nach der Azidmethode oder nach der Methode der aktivierten Ester oder Säurechloride.

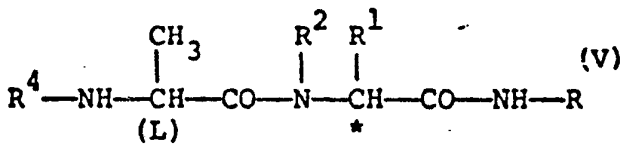
Beispielsweise kann ein Amid der Formel II mit einem geschützten L-Alanin der Formel III, worin die Carboxylgruppe als gemischtes Anhydrid mit einer anorganischen oder organischen Säure vorliegt, kondensiert werden. Zweckmässig wird ein N-geschütztes L-Alanin mit einer freien Carboxylfunktion mit einer tertiären Base, wie einem Tri-nieder-alkylamin, z.B. Triäthylamin oder N-Äthylmorpholin, in einem inerten organischen Lösungsmittel, z.B. Tetrahydrofuran, 1,2-Dimethoxyäthan, Dichlormethan, Toluol, Petroläther oder Gemischen davon, behandelt und das so erhaltene Salz mit einem Chlorameisensäureester, z.B. Chlorameisensäure-äthylester oder Isobutylester, bei niedriger Temperatur umgesetzt. Das erhaltene gemischte Anhydrid wird dann zweckmässig in situ mit einem Amid der Formel II kondensiert.

Ein Amid der Formel II kann auch mit einem N-geschützten L-Alanin umgesetzt werden, in dem die Carboxylgruppe als Säureazid vorliegt. Diese Kondensation wird am besten in Gegenwart eines inerten organischen Lösungsmittels, wie Dimethylformamid oder Äthylacetat, bei niedriger Temperatur durchgeführt. Das Amid der Formel II kann auch mit einem N-geschützten L-Alanin umgesetzt werden, dessen Carboxylgruppe als aktivierter Ester vorliegt, z.B. als p-Nitrophenyl, 2,4,5-Trichlorphenyl, N-Hydroxysuccinimid oder Hydroxybenzotriazolester. Diese Kondensation wird zweckmässig in einem inerten organischen Lösungsmittel, wie Dimethylformamid oder Tetrahydrofuran, durchgeführt. Weiterhin kann ein Amid der Formel II beispielsweise mit einem N-geschützten L-Alanin in Gegenwart von Dicyclohexylcarbodiimid kondensiert werden, wobei die Kondensation zweckmässig in Gegenwart eines inerten organischen Lösungsmittels, z.B. Dimethylformamid oder Methylenchlorid, bei niedriger Temperatur, z.B. 0 °C, ausgeführt wird. Schliesslich kann auch ein Amid der Formel II mit einem N-geschützten L-Alanin kondensiert werden, in dem die Carboxylgruppe als Säurechlorid vorliegt. Vorzugsweise wird diese Kondensation in Gegenwart einer Base, z.B. eines Alkalimetallhydroxyds wie Natriumhydroxyd, bei niedriger Temperatur, z.B. 0 °C, durchgeführt.

Die Amidierung eines Ausgangsmaterials der Formel IV gemäss Verfahrensvariante b) kann nach an sich bekannten Methoden durchgeführt werden. Beispielsweise kann eine Verbindung der Formel IV, worin R² eine Methylgruppe oder R¹ und R² zusammen Trimethylen darstellen, in der im Zusammenhang mit der Kondensation eines Amids der Formel II und eines N-geschützten L-Alanins der Formel III früher beschriebenen Weise in ein Säureazid, einen aktivierten Ester, ein gemischtes Anhydrid oder ein Säurechlorid umgewandelt werden, welches dann mit dem geeigneten Amin, welches die Gruppe R liefert, umgesetzt werden kann. Alternativ kann eine Carbonsäure der Formel IV, worin R² Methyl oder R¹

und R² zusammen Trimethylen darstellen, in Gegenwart von Dicyclohexylcarbodiimid amidiert werden. Falls eine Verbindung der Formel IV eingesetzt wird, worin R² Wasserstoff darstellt, muss bei der Amidierung Vorsorge getroffen werden, dass keine Racemisierung eintritt. Die Amidierung kann zweckmässigerweise nach der Azidmethode oder der N-Hydroxysuccinimid- oder Dicyclohexylcarbodiimid-Methode durchgeführt werden.

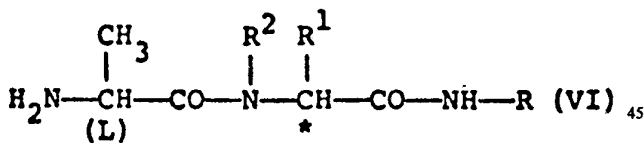
Die Kondensation eines Amids der Formel II mit einem N-geschützten L-Alanin der Formel III oder die Amidierung einer Verbindung der Formel IV liefert eine Verbindung der allgemeinen Formel



worin R, R¹, R², R⁴ und * die obige Bedeutung haben.

Die durch R⁴ dargestellte Schutzgruppe wird aus der Verbindung der Formel V in an sich bekannter Weise abgespalten. Beispielsweise kann die Abspaltung der Trifluoracetylgruppe durch Behandlung mit einer geeigneten Base, z. B. einem Alkalimetallhydroxyd, wie Natriumhydroxyd, vorgenommen werden. Die Spaltung der p-Toluolsulfonylgruppe kann durch Behandlung mit einem Alkalimetall, z. B. Natrium in flüssigem Ammoniak, ausgeführt werden. Die Spaltung einer nieder-Alkoxy-carbonyl-, Aryloxy-carbonyl-, Aryl-niederalkoxy-carbonylgruppe oder der 2-(Biphenyl)-isopropoxy-carbonylgruppe kann durch Hydrolyse, z. B. mit Bromwasserstoff in Eisessig, durchgeführt werden. Eine Aryl-niederalkoxy-carbonylgruppe kann auch durch Hydrogenolyse, z. B. in Gegenwart eines Palladiumkohlekatalysators oder Platin-oxyd, abgespalten werden. Die tert.-Butoxycarbonyl- oder 2-(Biphenyl)-isopropoxy-carbonylgruppe kann auch mittels Chlorwasserstoff in Dioxan oder Trifluoressigsäure gespalten werden.

Die Abspaltung der Schutzgruppe R⁴ aus einer Verbindung der Formel V liefert die gewünschte Verbindung der Formel



worin R, R¹, R² und * die obige Bedeutung haben, und die erforderlichenfalls isoliert werden kann, zweckmässig als Hydrohalogenid, beispielsweise als Hydrobromid.

Das als Ausgangsmaterial dienende Amid der Formel II kann z. B. durch Amidierung einer entsprechenden N-geschützten α -Aminocarbonsäure in einer Weise durchgeführt werden, die der früher im Zusammenhang mit der Amidierung einer Carbonsäure der Formel IV beschriebenen entspricht, worauf anschliessend die N-Schutzgruppe nach analogen Methoden, wie früher im Zusammenhang mit der Spaltung der Schutzgruppe R⁴ aus einer Verbindung der Formel VI beschrieben, abgespalten wird. Die Ausgangsstoffe der Formel III sind bekannte Verbindungen, die nach konventionellen Methoden aus L-Alanin hergestellt werden können. Die Ausgangsstoffe der Formel IV können beispielsweise durch Kondensation eines N-geschützten L-Alanins mit einem niederen Alkyl- oder Aryl-niederalkylester von L-Alanin, L-Prolin, N-Methylalanin oder Sarcosin nach an sich bekannten Methoden, beispielsweise nach der Methode der gemischten Anhydride, der Azidmethode oder der Methode der aktivierten Ester oder Säurechloride, hergestellt werden, wie weiter

oben im Zusammenhang mit der Kondensation der Verbindung der Formel II mit der Verbindung der Formel III angegeben, worauf gewünschtenfalls ein Ester zur entsprechenden Carbonsäure hydrolysiert wird.

Die erfindungsgemässen Dipeptidderivate der Formel I sind als Elastasehemmer wirksam.

Beispielsweise besitzen die erfindungsgemässen Dipeptide eine in vitro Aktivität der Elastasehemmung bei menschlicher Granulocysten-Elastase. Diese Aktivität kann in dem unten erwähnten Test unter Verwendung von menschlicher Granulocysten-Elastase als Enzym demonstriert werden. Das mit repräsentativen Dipeptiden der Formel I erhaltene Testresultat ist in der nachstehenden Tabelle I angegeben, wobei I₅₀ die Konzentration in Millimolen pro Liter ist, welche 50% Hemmung des Enzyms bewirkt.

Tabelle I

Dipeptid	I ₅₀
N-Hexanoyl-L-alanyl-L-prolin-anilid	0,8
N-Benzoyloxycarbonyl-L-alanyl-L-prolin-cyclohexylamid	1,0
N-Benzoyloxycarbonyl-L-alanyl-L-prolin-n-pentylamid	ca. 5,0
N-(p-Toluolsulfonyl)-L-alanyl-L-prolin-anilid	0,06
N-(1-Adamantylcarbonyl)-L-alanyl-L-prolin-anilid	0,6
N-(1-Adamantylacetyl)-L-alanyl-L-prolin-anilid	0,06
N-(1-Adamantylsulfonyl)-L-alanyl-L-prolin-anilid	0,007

Dipeptide der Formel I, worin R³ Acetyl, Trifluoracetyl oder Propionyl ist, zeigen eine in vitro-Aktivität bei der Hemmung von Schweinepankreas-Elastase. Diese Aktivität kann nach der Methode von L. Visser und E. R. Blout, Biochem. Biophys. Acta 268, 1972, 257, unter Verwendung von Schweinepankreas-Elastase als Enzym demonstriert werden. In der nachstehenden Tabelle II sind die mit einer Anzahl repräsentativer Dipeptidderivate der Formel I erhaltenen Testresultate angegeben, wobei K_i die Inhibitor-Konstante in Millimolen pro Liter bedeutet.

Tabelle II

Dipeptid	K _i (mmol/Liter)
N-Propionyl-L-alanyl-L-prolin-anilid	0,04
N-Propionyl-L-alanyl-L-prolin-4-nitroanilid	0,026
N-Propionyl-L-alanyl-L-prolin-cyclohexylamid	0,02
N-Propionyl-L-alanyl-L-alanin-anilid	0,04
N-Trifluoracetyl-L-alanyl-L-prolin-anilid	0,0014

Die Hemmung der in vivo-Elastaseaktivität von Verbindungen, in denen R³ Acetyl, Trifluoracetyl oder Propionyl ist, kann beispielsweise durch orale oder intraperitoneale Verabreichung an Ratten demonstriert werden, bei denen zuvor ein Ödem an der Hinterpfote durch subkutane Injektion eines proteolytischen Enzyms, wie Schweinepankreas-Elastase, erzeugt wurde. Auf orale oder parenterale Verabreichung eines solchen erfindungsgemässen Dipeptids wird die Grösse des Ödems reduziert.

Die erfindungsgemässen Dipeptide können in der Behandlung degenerativer Erkrankungen, die mit der Wirkung

elastaseartiger Enzyme verbunden sind, wie Emphyse oder Arthritis, Verwendung finden. Sie können auch in der Behandlung inflammatorischer Zustände eingesetzt werden, bei denen elastaseartige Enzyme als Mediator der Entzündung auftreten. Weiterhin können sie als Zusätze zu topischen Fungiziden und antibakteriellen Präparaten zur Behandlung von Infektionen verwendet werden.

Die Dipeptide der Formel I können als Medikamente in Form pharmazeutischer Präparate Verwendung finden, welche sie zusammen mit verträglichen pharmazeutischen Trägern enthalten. Die Verfahrensprodukte können als Heilmittel z. B. in Form pharmazeutischer Präparate Verwendung finden, welche sie in Mischung mit einem für die enterale, perkutane oder parenterale Applikation geeigneten pharmazeutischen, organischen oder anorganischen inerten Trägermaterial, wie z. B. Wasser, Gelatine, Gummi arabicum, Milchzucker, Stärke, Magnesiumstearat, Talk, pflanzliche Öle, Polyalkylenglykole, Vaseline usw. enthalten. Die pharmazeutischen Präparate können in fester Form, z. B. als Tabletten, Dragées, Suppositorien, Kapseln; in halbfester Form, z. B. als Salben; oder in flüssiger Form, z. B. als Lösungen, Suspensionen oder Emulsionen, vorliegen. Gegebenenfalls sind sie sterilisiert und bzw. enthalten Hilfsstoffe, wie Konservierungs-, Stabilisierungs-, Netz- oder Emulgiermittel, Salze zur Veränderung des osmotischen Druckes oder Puffer. Sie können auch noch andere therapeutisch wertvolle Stoffe enthalten.

Die erfindungsgemässen Dipeptide können in Dosierungsbereichen von etwa 5–30 mg, vorzugsweise 10 mg pro Tag verabreicht werden, wobei die Dosierung nach unten oder oben in Abhängigkeit von der zu verabreichenden Substanz und den individuellen Erfordernissen variiert werden kann.

Die folgenden Beispiele erläutern die Erfindung.

Beispiel 1

A) Herstellung des Ausgangsmaterials:

11,15 g N-Benzoyloxycarbonyl-L-alanin wurden in 75 ml trockenem Tetrahydrofuran gelöst und das Gemisch wurde auf -10°C gekühlt. Danach wurden 6,35 ml N-Äthylmorpholin und 6,5 ml Chlorameisensäure-isobutylester zugesetzt und die erhaltene Lösung wurde 20 Minuten bei -10°C gerührt. Sodann wurden 4,65 ml Anilin zugesetzt, das Gemisch 1 Stunde bei 0°C gerührt und dann 3 Stunden bei Raumtemperatur stehengelassen. Die Lösungsmittel wurden abgedampft und der Rückstand in 200 ml Chloroform gelöst. Die Lösung wurde mit 150 ml 1n Salzsäure, 150 ml Wasser und 150 ml 5%iger Natriumbicarbonatlösung gewaschen, über Magnesiumsulfat getrocknet und eingedampft. Der so erhaltene weisse Feststoff wurde mit 300 ml Petroläther behandelt und lieferte 11,89 g N-Benzoyloxycarbonyl-L-alanin-anilid vom Schmelzpunkt $161\text{--}163^{\circ}\text{C}$.

6 g N-Benzoyloxycarbonyl-L-alanin-anilid wurden in 30 ml 4n Bromwasserstoffsäure in Eisessig gelöst und die Lösung wurde 1 Stunde bei Raumtemperatur gerührt. Danach wurden 300 ml trockener Äther zugesetzt, und das abgeschiedene Öl wurde absitzen gelassen. Die Lösungsmittel wurden abdekantiert und das Öl mit 250-ml-Portionen Äther gewaschen, in wenig Methanol gelöst und mit überschüssigem Äthylacetat versetzt. Man erhielt 4 g L-Alanin-anilid-hydrobromid vom Schmelzpunkt $244\text{--}247^{\circ}\text{C}$.

B) Erfindungsgemässes Verfahren:

4,35 g N-Benzoyloxycarbonyl-L-alanin wurden in 40 ml trockenem Tetrahydrofuran gelöst und die Lösung wurde auf -10°C gekühlt. Danach wurden 2,47 ml N-Äthylmorpholin und anschliessend 2,56 ml Chlorameisensäure-isobutylester zugesetzt und die Lösung 20 Minuten bei -10°C gerührt.

4,95 g L-Alanin-anilid-hydrobromid wurden in 40 ml trockenem Dimethylformamid gelöst, die Lösung wurde auf 0°C gekühlt und mit 2,47 ml N-Äthylmorpholin versetzt.

Diese Lösung wurde dann mit der wie oben beschrieben hergestellten Lösung des gemischten Anhydrids versetzt, 1 Stunde bei 0°C und 16 Stunden bei Raumtemperatur stehen gelassen. Die Lösungsmittel wurden abgedampft und der weisse Feststoff wurde aus Äthanol umkristallisiert. Man erhielt 4,9 g N-Benzoyloxycarbonyl-L-alanyl-L-alanin-anilid vom Schmelzpunkt $219\text{--}221^{\circ}\text{C}$.

5,5 g N-Benzoyloxycarbonyl-L-alanyl-L-alanin-anilid wurden in 30 ml 4n Bromwasserstoffsäure in Eisessig gelöst und 10 1 Stunde bei Raumtemperatur gerührt. Danach wurden 300 ml trockener Äther zugesetzt, der weisse Feststoff absitzen gelassen und die Lösung abdekantiert. Der Feststoff wurde mit 250-ml-Portionen Äther gewaschen und aus Methanol/Äthylacetat umkristallisiert. Man erhielt 4,1 g L-Alanyl-L-alanin-anilid-hydrobromid.

4,1 g L-Alanyl-L-alanin-anilid-hydrobromid wurden in 120 ml trockenem Pyridin gelöst und die Lösung mit 3 ml Benzoylchlorid versetzt. Die Lösung wurde 3 Stunden bei Raumtemperatur gerührt und dann zur Trockene eingedampft. Danach wurden 50 ml Wasser zugesetzt, der Feststoff abfiltriert, mit 50 ml Wasser gewaschen und aus Äthanol umkristallisiert. Man erhielt 3,15 g N-Benzoyl-L-alanyl-L-alanin-anilid vom Schmelzpunkt $245\text{--}248^{\circ}\text{C}$; $[\alpha]_{\text{D}}^{20} = +66,6^{\circ}\text{C}$ ($c = 1,086\%$ in Dimethylformamid).

25 3,8 g L-Alanyl-L-alanin-anilid-hydrobromid wurden in 80 ml trockenem Pyridin gelöst und die Lösung mit 3,4 ml Propionsäureanhydrid versetzt. Die Lösung wurde 2 Stunden bei Raumtemperatur gerührt und dann zur Trockene verdampft. Der Feststoff wurde aus Äthanol und danach aus 30 Methanol umkristallisiert und man erhielt 1,9 g N-Propionyl-L-alanyl-L-alanin-anilid vom Schmelzpunkt $281\text{--}284^{\circ}\text{C}$; $[\alpha]_{\text{D}}^{20} = -101,1^{\circ}\text{C}$ ($c = 0,995\%$ in Essigsäure).

Beispiel 2

A) Herstellung des Ausgangsmaterials:

11,15 g N-Benzoyloxycarbonyl-L-alanin wurden in 75 ml trockenem Tetrahydrofuran gelöst und das Gemisch auf -10°C gekühlt. Danach wurden 6,35 ml N-Äthylmorpholin und sodann 6,5 ml Chlorameisensäure-isobutylester zugesetzt und die Lösung wurde 20 Minuten bei -10°C gerührt. Sodann wurde eine Lösung von 6,05 ml Cyclohexylamin in 75 ml Tetrahydrofuran zugegeben und die Lösung bei 0°C gerührt. Nach 30 Minuten verfestigte sich das Gemisch und es wurden 30 ml Dimethylformamid zugesetzt. Es wurde dann eine weitere Stunde bei 0°C gerührt, das Lösungsmittel abgedampft, Wasser zugesetzt und der Feststoff abfiltriert. Der Feststoff wurde mit 150 ml 1n Salzsäure, 150 ml Wasser, 150 ml 5%iger Natriumbicarbonatlösung und 150 ml Wasser gewaschen und dann unter vermindertem Druck getrocknet. Umkristallisation aus Äthylacetat lieferte 11,7 g N-Benzoyloxycarbonyl-L-alanin-cyclohexylamid vom Schmelzpunkt $163\text{--}164^{\circ}\text{C}$.

7,0 g N-Benzoyloxycarbonyl-L-alanin-cyclohexylamin wurden mit Bromwasserstoffsäure in Eisessig wie in Beispiel 1 beschrieben behandelt. Das L-Alanyl-L-alanin-cyclohexylamid 55 wurde als Öl erhalten.

B) Erfindungsgemässes Verfahren:

5,14 g N-Benzoyloxycarbonyl-L-alanin wurden in 40 ml trockenem Tetrahydrofuran gelöst und auf -10°C gekühlt. Danach wurden 2,92 ml N-Äthylmorpholin und anschliessend 60 3,01 ml Chlorameisensäure-isobutylester zugegeben und die Lösung wurde 20 Minuten bei -10°C gerührt.

Das oben beschriebene ölige L-Alanyl-L-alanin-cyclohexylamid wurde in 40 ml trockenem Dimethylformamid gelöst, die Lösung auf 0°C gekühlt und mit 2,92 ml N-Äthylmorpholin versetzt. Die Lösung wurde dann mit der gemäss dem vorstehenden Abschnitt hergestellten Lösung des gemischten Anhydrids vereinigt, 15 Minuten bei 0°C gerührt und dann mit 30 ml Dimethylformamid versetzt. Das Gemisch

löste sich nicht vollständig und wurde 72 Stunden stehen gelassen. Danach wurde die Suspension mit Wasser versetzt, filtriert, mit Äther gewaschen und getrocknet. Man erhielt 5,8 g N-Benzoyloxycarbonyl-L-alanyl-L-alanin-cyclohexylamid vom Schmelzpunkt 233–234 °C; $[\alpha]_D^{20} = -4,5^\circ\text{C}$ ($c = 0,9512\%$ in Dimethylformamid).

3,0 g N-Benzoyloxycarbonyl-L-alanyl-L-alanin-cyclohexylamid wurden mit Bromwasserstoffsäure in Eisessig wie in Beispiel 1 beschrieben behandelt und lieferten L-Alanyl-L-alanin-cyclohexylamid-hydrobromid als Öl.

Dieses Öl wurde in 50 ml trockenem Pyridin gelöst und die Lösung mit 2,1 ml Propionsäureanhydrid versetzt. Das Gemisch wurde 2 Stunden bei Raumtemperatur gerührt, eingedampft und der Rückstand aus Methanol umkristallisiert. Man erhielt 1,84 g N-Propionyl-L-alanyl-L-alanin-cyclohexylamid vom Schmelzpunkt 299–300 °C; $[\alpha]_D^{20} = -81,1^\circ\text{C}$ ($c = 1,0424\%$ in Eisessig).

Beispiel 3

A) Herstellung des Ausgangsmaterials:

289 g N-Benzoyloxycarbonyl-L-alanin-N-hydroxysuccinimidester wurden in 1800 ml 1,2-Dimethoxyäthan gelöst und die Lösung mit einer Lösung von 103,98 g L-Prolin in 1350 ml Wasser und anschliessend mit 267 ml Triäthylamin versetzt. Das Gemisch wurde 16 Stunden bei Raumtemperatur gerührt und darauf das Dimethoxyäthan abgedampft. Die wässrige Lösung wurde zweimal mit 300 ml Äthylacetat extrahiert, danach durch Zusatz von konz. Salzsäure auf pH 1–2 gebracht und mit 900 ml Äthylacetat zweimal extrahiert. Die organischen Phasen wurden vereinigt, zweimal mit je 400 ml Wasser gewaschen, über Natriumsulfat getrocknet, filtriert und eingedampft. Auf Zusatz mit 1600 ml Äther kristallisiert das Produkt aus, wurde abfiltriert, mit Äther gewaschen und getrocknet. Man erhielt 193,8 g N-Benzoyloxycarbonyl-L-alanyl-L-prolin vom Schmelzpunkt 124–125 °C. Eine zweite Fraktion von 27,6 g (Schmelzpunkt 123–124 °C) wurde durch Eindampfen der Mutterlauge, Verreiben mit 300 ml Äther und 1stündige Aufbewahrung bei 4 °C erhalten. Gesamtausbeute 77%; $[\alpha]_D^{20} = -91,2^\circ\text{C}$ ($c = 1,03\%$ in Methanol).

B) Erfindungsgemässes Verfahren

3,2 g N-Benzoyloxycarbonyl-L-alanyl-L-prolin wurden in 50 ml trockenem Tetrahydrofuran gelöst und die Lösung auf –10 °C gekühlt. Danach wurden nacheinander 1,27 ml N-Äthylmorpholin und 1,31 ml Chlorameisensäure-isobutylester zugesetzt und das Gemisch wurde 20 Minuten bei –10 °C gerührt. Sodann wurden 1,62 g 2,4-Dichloranilin zugesetzt und die erhaltene dunkelbraune Lösung 1 Stunde bei 0 °C gerührt und 72 Stunden bei Raumtemperatur stehen gelassen. Die Lösung wurde dann eingedampft, der Rückstand in 100 ml Chloroform gelöst und mit 80 ml 1n Salzsäure, 80 ml Wasser und 80 ml 5%iger Natriumbicarbonatlösung gewaschen. Die organische Phase wurde über Magnesiumsulfat getrocknet und zu einem braunen Öl eingedampft. Kristallisation aus Äthylacetat/Äther lieferte 3,03 g N-Benzoyloxycarbonyl-L-alanyl-L-prolin-2,4-dichloranilin vom Schmelzpunkt 136–137 °C; $[\alpha]_D^{20} = -151,1^\circ\text{C}$ ($c = 1,144\%$ in Methanol). Weitere 1,03 g vom Schmelzpunkt 136–137 °C wurden durch Eindampfen der Mutterlauge und Umkristallisation des Öls aus einem kleinen Volumen Äthylacetat/Äther erhalten. Die Totalausbeute betrug 66%.

2,54 g N-Benzoyloxycarbonyl-L-alanyl-L-prolin-2,4-dichloranilin wurden in 10 ml 4n Bromwasserstoffsäure in Eisessig gelöst und 1 Stunde gerührt. Nach Zusatz von 100 ml trockenem Äther zu der dunkelblauen Lösung wurde ein Öl ausgeschieden. Das Öl wurde absitzen gelassen, die Lösungsmittel abdekantiert und das Öl mit 100 ml Äther gewaschen. Das Öl wurde dann in 30 ml trockenem Pyridin gelöst und die Lösung mit 1,42 ml Propionsäureanhydrid versetzt. Die pur-

purfarbene Lösung wurde 2 Stunden bei Raumtemperatur gerührt und dann eingedampft. Letzte Spuren Pyridin wurden durch Zusatz von 50 ml Toluol und erneutes Abdampfen entfernt. Der Rückstand wurde in 100 ml Chloroform gelöst, die Lösung mit 80 ml 1n Salzsäure, 80 ml Wasser und 80 ml 5%iger Natriumbicarbonatlösung gewaschen, über Magnesiumsulfat getrocknet und zu einem Öl eingedampft. Dieses Öl wurde mit 40 ml Äthylacetat versetzt und 16 Stunden bei 4 °C stehen gelassen. Der auskristallisierte Feststoff wurde aus Äthylacetat/Petroläther umkristallisiert und lieferte 0,59 g N-Propionyl-L-alanyl-L-prolin-2,4-dichloranilid vom Schmelzpunkt 136,5–138 °C; $[\alpha]_D^{20} = -174,8^\circ\text{C}$ ($c = 992\%$ in Methanol).

Beispiel 4

3,2 g N-Benzoyloxycarbonyl-L-alanyl-L-prolin wurden in 50 ml trockenem Tetrahydrofuran gelöst und die Lösung wurde auf –10 °C gekühlt. Sodann wurden 1,27 ml N-Äthylmorpholin und danach 1,31 ml Chlorameisensäure-isobutylester zugesetzt und das Gemisch wurde 20 Minuten bei –10 °C gerührt. Nach Zusatz von 1,38 g 4-Nitroanilin wurde das Gemisch 1 Stunde bei 0 °C gerührt und dann 72 Stunden bei Raumtemperatur stehen gelassen. Das Gemisch wurde dann eingedampft und der Rückstand in 100 ml Äthylacetat gelöst. Die Lösung wurde mit 80 ml 1n Salzsäure, 80 ml Wasser und 80 ml 5%iger Natriumbicarbonatlösung gewaschen, über Magnesiumsulfat getrocknet und eingedampft. Das zurückbleibende Öl wurde an 100 g Silicagel mit Chloroform als Elutionsmittel chromatographiert. Der nach Eindampfen der Chloroformeluate erhaltene Rückstand wurde in Äther aufgenommen und 16 Stunden stehen gelassen, wobei sich reines kristallines N-Benzoyloxycarbonyl-L-alanyl-L-prolin-4-nitranilid ausschied. Schmelzpunkt 160–163 °C; $[\alpha]_D^{20} = -178,1^\circ\text{C}$ ($c = 0,975\%$ in Methanol). Ausbeute 1,5 g.

1,1 g N-Benzoyloxycarbonyl-L-alanyl-L-prolin-4-nitranilid wurden in 10 ml 4n Bromwasserstoffsäure in Essigsäure gelöst und die Lösung wurde 1 Stunde bei Raumtemperatur gerührt. Danach wurden 80 ml trockener Äther zugesetzt worauf sich ein Öl ausschied, welches absitzen gelassen wurde. Die Lösung wurde abdekantiert und das Öl mit zwei 80-ml-Portionen Äther gewaschen und in 20 ml trockenem Pyridin gelöst. Danach wurden 0,64 ml Propionsäureanhydrid zugesetzt und die Lösung wurde 1 Stunde bei Raumtemperatur gerührt. Danach wurde eingedampft und letzte Spuren Pyridin durch Zusatz von 50 ml Toluol und erneutes Abdampfen entfernt. Der Rückstand wurde in 100 ml Chloroform gelöst und die Lösung zweimal mit je 80 ml Wasser gewaschen, über Magnesiumsulfat getrocknet und zu einem Öl eingedampft. Das N-Propionyl-L-alanyl-L-prolin-4-nitranilid kristallisierte aus Äthylacetat/Petroläther in einer Ausbeute von 0,62 g, Schmelzpunkt 183–186 °C; $[\alpha]_D^{20} = -211,6^\circ\text{C}$ ($c = 1,014\%$ in Methanol).

Beispiel 5

In Analogie zu Beispiel 3 wurde aus N-Benzoyloxycarbonyl-L-alanyl-L-prolin und 4-Methoxyanilin das N-Benzoyloxycarbonyl-L-alanyl-L-prolin-4-methoxyanilid vom Schmelzpunkt 163–164 °C (aus Äthylacetat/Äther), $[\alpha]_D^{20} = -150,9^\circ\text{C}$ ($c = 1\%$ in Methanol) erhalten. Ausbeute 69%.

In Analogie zu Beispiel 3 wurde aus N-Benzoyloxycarbonyl-L-alanyl-L-prolin-4-methoxyanilid das N-Propionyl-L-alanyl-L-prolin-4-methoxyanilid vom Schmelzpunkt 169–171 °C (aus Äthylacetat), $[\alpha]_D^{20} = -191,6^\circ\text{C}$ ($c = 1,02\%$ in Methanol) erhalten. Ausbeute 52%.

Beispiel 6

6,4 g N-Benzoyloxycarbonyl-L-alanyl-L-prolin wurden in 100 ml trockenem Tetrahydrofuran gelöst und die Lösung wurde auf –10 °C gekühlt. Danach wurden 2,54 ml N-Äthylmorpholin und 2,62 ml Chlorameisensäure-isobutylester zuge-

setzt und das Gemisch wurde 20 Minuten bei -10°C gerührt. Sodann wurden 1,98 ml Cyclopentylamin zugesetzt und das Gemisch wurde 1 Stunde bei 0°C über Nacht bei Raumtemperatur gerührt. Das Gemisch wurde dann eingedampft und das auf Zusatz von Wasser kristallisierende Produkt in Äthylacetat aufgenommen. Die organische Phase wurde neutral gewaschen, über Natriumsulfat getrocknet und eingedampft. Das Produkt kristallisierte auf Zusatz von Äther. Man erhielt 4,8 g N-Benzoyloxycarbonyl-L-alanyl-L-prolin-cyclopentylamid, Schmelzpunkt $118-119^{\circ}\text{C}$, $[\alpha]_{\text{D}}^{20} = -93,5^{\circ}\text{C}$ ($c = 1,0228\%$ in Methanol).

3,9 g N-Benzoyloxycarbonyl-L-alanyl-L-prolin-cyclopentylamid wurden wie in Beispiel 7 beschrieben mit 4n Bromwasserstoffsäure in Essigsäure behandelt. Man erhielt 3,3 g L-Alanyl-L-prolin-cyclopentylamid-hydrobromid vom Schmelzpunkt $209-212^{\circ}\text{C}$.

Das so erhaltene L-Alanyl-L-prolin-cyclopentylamid-hydrobromid wurde in 40 ml Pyridin gelöst und die Lösung in 2,6 ml Propionsäureanhydrid versetzt. Das Gemisch wurde 2 Stunden bei Raumtemperatur gerührt, eingedampft und letzte Spuren Pyridin wurden durch Zusatz von Toluol und erneutes Verdampfen entfernt. Der Rückstand wurde aus Äthylacetat kristallisiert und lieferte 2,1 g N-Propionyl-alanyl-L-prolin-cyclopentylamid, Schmelzpunkt $172-173^{\circ}\text{C}$, $[\alpha]_{\text{D}}^{20} = -122,8^{\circ}\text{C}$ ($c = 1,0314\%$ in Methanol).

Beispiel 7

3,2 g N-Benzoyloxy-carbonyl-L-alanyl-L-prolin wurden in 50 ml trockenem Tetrahydrofuran gelöst und die Lösung auf -10°C gekühlt. Danach wurden 1,27 ml Chlorameisensäureisobutylester zugegeben und die Lösung wurde 20 Minuten bei -10°C gerührt. Nach Zusatz von 1,21 ml Cyclohexylamin wurde das Gemisch 1 Stunde bei 0°C gerührt und 16 Stunden bei Raumtemperatur stehen gelassen. Danach wurde die Mischung eingedampft und der Rückstand mit 100 ml Äthylacetat behandelt, mit 80 ml 1n Salzsäure, 80 ml Wasser und 80 ml 5%iger Natriumbicarbonatlösung gewaschen, getrocknet und zu einem Öl eingedampft. Man erhielt aus Äthylacetat/Äther 2,36 g N-Benzoyloxycarbonyl-L-alanyl-L-prolin-cyclohexylamid vom Schmelzpunkt $130,5-131,5^{\circ}\text{C}$. Eine zweite Fraktion von 0,95 g, Schmelzpunkt $130,5-131,5^{\circ}\text{C}$, wurde erhalten, indem die Mutterlauge über Nacht stehen gelassen wurde. Die Gesamtausbeute betrug 83%, $[\alpha]_{\text{D}}^{20} = -96,3^{\circ}\text{C}$ ($c = 1,175\%$ in Methanol).

2 g N-Benzoyloxycarbonyl-L-alanyl-L-prolin-cyclohexylamid wurden in 10 ml 4n Bromwasserstoffsäure in Essigsäure gelöst und 1 Stunde bei Raumtemperatur gerührt. Danach wurden 100 ml trockener Äther zugesetzt und das ausgeschiedene Öl wurde absitzen gelassen. Die Lösung wurde abdekantiert, das Öl mit 100 ml Äther gewaschen, in wenig Methanol gelöst und mit überschüssigem Äthylacetat versetzt. Man erhielt 1,75 g L-Alanyl-L-prolin-cyclohexylamid-hydrobromid vom Schmelzpunkt $233-236^{\circ}\text{C}$.

1,75 g L-Alanyl-L-prolin-cyclohexylamid-hydrobromid wurden in 30 ml trockenem Pyridin mit 1,3 ml Propionsäureanhydrid versetzt. Die Lösung wurde 2 Stunden bei Raumtemperatur gerührt, eingedampft und letzte Spuren Pyridin wurden durch Zusatz von 15 ml Toluol und erneutes Verdampfen entfernt. Der Rückstand wurde in 80 ml Chloroform gelöst, die Lösung mit zwei 50-ml-Portionen Wasser gewaschen, getrocknet und zu einem weissen Feststoff eingedampft. Durch Kristallisation aus Äthylacetat erhielt man 1,05 g N-Propionyl-L-alanyl-L-prolin-cyclohexylamid, Schmelzpunkt $172-174^{\circ}\text{C}$, $[\alpha]_{\text{D}}^{20} = -125,1^{\circ}\text{C}$ ($c = 0,991\%$ in Methanol).

Beispiel 8

6,4 g N-Benzoyloxycarbonyl-L-alanyl-L-prolin wurden in 75 ml trockenem Tetrahydrofuran gelöst und bei -10°C mit

2,54 ml N-Äthylmorpholin und 2,62 ml Chlorameisensäureisobutylester versetzt. Die Lösung wurde 20 Minuten bei -10°C gerührt und sodann mit 2,25 g Cycloheptylamin in 25 ml trockenem Tetrahydrofuran versetzt. Danach wurde 1 Stunde bei 0°C gerührt und 16 Stunden bei Raumtemperatur stehen gelassen. Das Gemisch wurde eingedampft und der Rückstand zweimal mit 50 ml Äthylacetat extrahiert. Die vereinigten Extrakte wurden nacheinander mit 1n Salzsäure, Wasser, 5%iger Natriumbicarbonatlösung und Wasser gewaschen und über Magnesiumsulfat getrocknet. Nach Eindampfen wurde ein Öl erhalten, das auf Zusatz von Petroläther kristallisierte. Umkristallisation aus Äthylacetat/Petroläther lieferte 5,6 g N-Benzoyloxycarbonyl-L-alanyl-L-prolin-cycloheptylamid, Schmelzpunkt $110-113^{\circ}\text{C}$, $[\alpha]_{\text{D}}^{20} = -92,4^{\circ}\text{C}$ ($c = 1,05\%$ in Methanol).

2,6 g N-Benzoyloxycarbonyl-L-alanyl-L-prolin-cycloheptylamid wurden in 15 ml 4n Bromwasserstoffsäure und Essigsäure gelöst und 1 Stunde bei Raumtemperatur gerührt. Danach wurden 100 ml wasserfreier Äther zugesetzt, wobei sich ein Öl ausschied. Die Ätherphase wurde abdekantiert und das Öl mit 100 ml wasserfreiem Äther gewaschen. Die Ätherschicht wurde erneut abdekantiert und das Öl in 30 ml trockenem Pyridin gelöst. Nach Zusatz von 1,6 g Propionsäureanhydrid wurde die Lösung 2 Stunden bei Raumtemperatur gerührt. Das Pyridin wurde abgedampft, danach wurden 50 ml Toluol zugesetzt und das Gemisch erneut verdampft. Der feste Rückstand wurde in 100 ml Chloroform aufgenommen und die Lösung mit Natriumchloridlösung gewaschen und getrocknet. Das Chloroform wurde abgedampft und das erhaltene Öl in wenig Äther gelöst und die Lösung mit Petroläther versetzt, wobei ein weisser Feststoff auskristallisierte. Man erhielt 1,85 g N-Propionyl-L-alanyl-L-prolin-cycloheptylamid vom Schmelzpunkt $155-156^{\circ}\text{C}$, $[\alpha]_{\text{D}}^{20} = -119,4^{\circ}\text{C}$ ($c = 0,91\%$ in Methanol).

Beispiel 9

6,4 g N-Benzoyloxycarbonyl-L-alanyl-L-prolin wurden in 75 ml trockenem Tetrahydrofuran gelöst und die Lösung bei -10°C mit 2,54 ml N-Äthylmorpholin und 2,62 ml Chlorameisensäureisobutylester versetzt. Das Gemisch wurde 20 Minuten bei -10°C gerührt und sodann mit 2,5 g Cyclooctylamin in 25 ml trockenem Tetrahydrofuran versetzt. Das Gemisch wurde 1 Stunde bei 0°C gerührt und 16 Stunden bei Raumtemperatur stehen gelassen. Das Tetrahydrofuran wurde abgedampft und der Rückstand mit 52-ml-Portion Äthylacetat extrahiert. Die vereinigten Extrakte wurden nacheinander mit 1n Salzsäure, Wasser, 5%iger Natriumbicarbonatlösung und Wasser gewaschen, getrocknet und eingedampft. Das erhaltene Öl kristallisierte auf Behandeln mit Äther/Petroläther. Nach Umkristallisation aus Äthylacetat/Petroläther wurden 5,1 g N-Benzoyloxycarbonyl-L-alanyl-L-prolin-cyclooctylamid vom Schmelzpunkt $94-96^{\circ}\text{C}$, $[\alpha]_{\text{D}}^{20} = -95^{\circ}\text{C}$ ($c = 1,02\%$ in Methanol) erhalten.

2 g N-Benzoyloxycarbonyl-L-alanyl-L-prolin-cyclooctylamid wurden in 10 ml 4n Bromwasserstoffsäure in Essigsäure gelöst und 1 Stunde bei Raumtemperatur gerührt. Auf Zusatz von 100 ml wasserfreiem Äther schied sich ein Öl aus der Lösung ab, das mit 100 ml wasserfreiem Äther gewaschen wurde. Das Öl wurde dann in 30 ml trockenem Pyridin aufgenommen, die Lösung mit 1,2 g Propionsäureanhydrid versetzt und 2 Stunden bei Raumtemperatur gerührt. Das Pyridin wurde durch Abdampfen entfernt und letzte Reste Pyridin wurden durch Zusatz von 50 ml Toluol und erneutes Abdampfen beseitigt. Der erhaltene Feststoff wurde in 100 ml Chloroform aufgenommen, die Lösung mit Natriumchloridlösung gewaschen, getrocknet und zu einem Öl eingedampft. Das Öl wurde in wenig Äther gelöst und die Lösung mit Petroläther versetzt, wobei ein weisser Feststoff auskristallisierte. Man

erhielt 0,9 g N-Propionyl-L-alanyl-L-prolin-cyclooctylamid vom Schmelzpunkt 142–143 °C, $[\alpha]_D^{20} = -120,3^\circ\text{C}$ ($c = 0,82\%$ in Methanol).

Beispiel 10

12,46 g N-Benzylloxycarbonyl-L-prolin wurden in 100 ml trockenem Tetrahydrofuran gelöst und die Lösung wurde auf -10°C gekühlt. Unter Rühren wurden 6,56 ml Chlorameisensäure-isobutylester und 6,35 ml N-Äthylmorpholin zugesetzt. Danach wurde 15 Minuten bei -10°C gerührt, mit 5,76 ml n-Pentylamin versetzt, eine weitere Stunde bei 0°C gerührt und schliesslich 16 Stunden bei Raumtemperatur stehen gelassen. Das Gemisch wurde zu einem Öl eingedampft und das Öl mit 400 ml Wasser versetzt. Danach wurde mit 250-ml-Portion Äthylacetat extrahiert und die organische Phase nacheinander mit 200-ml-Portionen 5%iger Citronensäurelösung, 100 ml Wasser, zweimal mit 100-ml-Portion 5%iger Natriumbicarbonatlösung und einmal mit 100 ml Wasser gewaschen. Danach wurde die organische Phase über Natriumsulfat getrocknet, eingedampft und mit 350 ml Petroläther versetzt. Das Produkt kristallisierte beim Anreiben, wurde abfiltriert und mit 100 ml Petroläther gewaschen. Man erhielt 10,16 g N-Benzylloxycarbonyl-L-prolin-n-pentylamid vom Schmelzpunkt $74-76^\circ\text{C}$. Eine weitere Fraktion von 0,8 g vom Schmelzpunkt $76-79^\circ\text{C}$ wurde aus der Mutterlauge erhalten.

5 g N-Benzylloxycarbonyl-L-prolin-n-pentylamid wurden in 20 ml 4n Bromwasserstoffsäure in Essigsäure gelöst und 1 Stunde gerührt. Auf Zusatz von 150 ml trockenem Äther schied sich ein Öl ab, das man absitzen liess. Der Äther wurde abdekantiert und das Öl mit weiteren 100 ml trockenem Äther gewaschen. Durch Eindampfen wurden 3,4 g öliges L-Prolin-n-pentylamid erhalten.

2,86 g N-Benzylloxycarbonyl-L-alanin wurden in 20 ml trockenem Tetrahydrofuran gelöst und die Lösung bei -10°C mit 1,63 ml N-Äthylmorpholin und 1,68 ml Chlorameisensäure-isobutylester versetzt und 15–20 Minuten bei -10°C gerührt.

3,4 g L-Prolin-n-pentylamid-hydrobromid wurden in 20 ml trockenem Dimethylformamid gelöst und bei 0°C mit 2 ml N-Äthylmorpholin versetzt. Das erhaltene Gemisch wurde mit der im vorangehenden Abschnitt erhaltenen Lösung der gemischten Anhydride vereinigt, 1 Stunde bei 0°C und über

Nacht bei Raumtemperatur gerührt. Nach Abdampfen der Lösungsmittel wurde ein Öl erhalten, das in 150 ml Äthylacetat gelöst und nacheinander mit zwei 60-ml-Portionen 5%iger Citronensäurelösung, 60 ml Wasser, zwei 60-ml-Portionen 5%iger Natriumbicarbonatlösung und 60 ml Wasser gewaschen wurde. Die organische Phase wurde über Magnesiumsulfat getrocknet und zu einem bald kristallisierenden Öl eingedampft. Umkristallisation aus Äthylacetat/Petroläther lieferte 2,7 g N-Benzylloxycarbonyl-L-alanyl-L-prolin-n-pentylamid vom Schmelzpunkt $103-105^\circ\text{C}$, $[\alpha]_D^{20} = -94,6^\circ\text{C}$ ($c = 1,114\%$ in Methanol).

2,5 g N-Benzylloxycarbonyl-L-alanyl-L-prolin-n-pentylamid wurden in 15 ml 4n Bromwasserstoffsäure in Essigsäure gelöst und 1 Stunde bei Raumtemperatur gerührt. Auf Zusatz von 150 ml trockenem Äther schied sich ein Öl ab, das man absitzen liess. Die Ätherschicht wurde abdekantiert und das Verfahren mit weiteren 150 ml frischem Äther wiederholt. Durch Eindampfen erhielt man 2,5 g L-Alanyl-L-prolin-n-pentylamid als weissen Feststoff.

2,15 g L-Alanyl-L-prolin-n-pentylamid wurden in 40 ml trockenem Pyridin gelöst und mit 3,6 ml Propionsäureanhydrid versetzt. Das Gemisch wurde 1,5 Stunden bei Raumtemperatur gerührt und dann zu einem Öl eingedampft. Das Öl wurde in 150 ml Chloroform gelöst, die Lösung mit 50 ml 5%iger Citronensäurelösung, 50 ml Wasser und 50 ml 5%iger Natriumbicarbonatlösung gewaschen. Die organische Phase wurde über Magnesiumsulfat getrocknet und eingedampft. Das erhaltene Öl kristallisierte aus Äthylacetat/Petroläther und lieferte 1,16 g N-Propionyl-L-alanyl-L-prolin-n-pentylamid, Schmelzpunkt $105-108^\circ\text{C}$, $[\alpha]_D^{20} = -151,7^\circ\text{C}$ ($c = 1,114\%$ in Wasser).

Beispiel A

Ein Aerosol kann die folgenden Inhaltsstoffe aufweisen:

	Gewichtsprozent
Dipeptid	1–5
Äthanol	15–35
Treibmittel	ad 100

Das Treibmittel kann Dichlordifluormethan oder ein 5 : 1-Gemisch Dichlortetrafluoräthan und Dichlortetrafluormethan sein.