



Ausschlusspatent

ISSN 0433-6461

(11) 0153 843

Erteilt gemäß § 5 Absatz 1 des Änderungsgesetzes
zum PatentgesetzInt.Cl.³

3(51) C 07 F 9/09

C 07 C103/52

MT FUER ERFINDUNGS- UND PATENTWESEN

In der vom Anmelder eingereichten Fassung veröffentlicht

1) AP C 07 F/ 222 879
6893/79-7(22) 25.07.80
(32) 25.07.79(44) 03.02.82
(33) CH

- 1) CIBA-GEIGY AG, BASEL;CH;
 2) TARCSAY, LAJOS,DR.;DE;BASCHANG, GERHARD,DR.;DE;HARTMANN, ALBERT,DR.;DE;
 3) STANEK, JAROSLAV,DR.;CS;
 4) CIBA-GEIGY AG, BASEL;CH;
 1) INTERNATIONALES PATENTBUERO BERLIN, 1020 BERLIN, WALLSTR.23/24

5) VERFAHREN ZUR HERSTELLUNG VON NEUEN MURAMYLPEPTIDEN

7)Die Erfindung betrifft Muramylpeptid-Verbindungen, insbesondere der Formel, worin R₁ z. B. Alkyl oder Phenyl, R₃ z.B. Wasserstoff oder Methyl und R₅ z.B. Wasserstoff oder gegebenenfalls, z.B. durch Hydroxy, Mercapto oder Methylmercapto, substituiertes Niederalkyl bedeuten, und worin einer der Reste A₁ und A₂ eine Gruppe der Formel steht, worin T die Gruppe der Formel -NH- oder -O-, und Y einen gegebenenfalls durch einen Rest der Formel -CO-O- oder -CO-NH- unterbrochenen Alkylrest bedeuten, und worin W fuer Wasserstoff und Z fuer eine Hydroxy-substituierte Aethylgruppe stehen, worin mindestens eine Hydroxygruppe durch einen langkettigen Acylrest verestert ist, oder W und Z fuer Hydroxymethyl stehen, worin Hydroxy durch einen langkettigen Acylrest verestert ist, und der andere gegebenenfalls veraethertes Hydroxy oder gegebenenfalls substituiertes Amino bedeutet. Die neuen Verbindungen zeigen immunpotenzierende Eigenschaften. -Formel und Gruppe der Formel-

Berlin, den 16.12.1980

2 2 2 8 7 9

- 1 -

AP C 07 C/222 879

57 926/11

Verfahren zur Herstellung von Muramylpeptiden

Anwendungsgebiet der Erfindung

Gegenstand der Erfindung sind neue lipophile Muramylpeptide, ferner Verfahren zu deren Herstellung sowie pharmazeutische Präparate, die diese lipophilen Muramylpeptide enthalten, wie auch deren Verwendung zur Stimulierung der Immunität.

Charakteristik der bekannten technischen Lösungen

Muramylpeptid-Derivate sind bekannt.

Es wird erwartet, daß lipophile Muramylpeptid-Derivate zu einem beträchtlichen Anteil von Liposomen adsorbiert werden. Weiterhin wurde von Muramylpeptiden, deren lipophile Eigenschaften durch Veresterung der Hydroxylgruppe in 6-Stellung des Glucoseteils erhöht waren, berichtet, daß sie starke Antitumorwirkung bei nur schwacher Pyrogenität aufweisen [I. Azuma, K. Sugimura, M. Yamawaki, M. Uemiya, S. Kusumoto, S. Okada, T. Shiba und Y. Yamamura, Infect. Immun., 20, 600 (1978); S. Kusumoto, M. Inage, T. Shiba, I. Azuma und Y. Yamamura, Tetrahedron Lett., 49, 4899 (1978); T. Shiba, S. Okada, S. Kusumoto, I. Azuma und Y. Yamamura, Bull. Chem. Soc. Jpn., 51, 3307 (1978)].

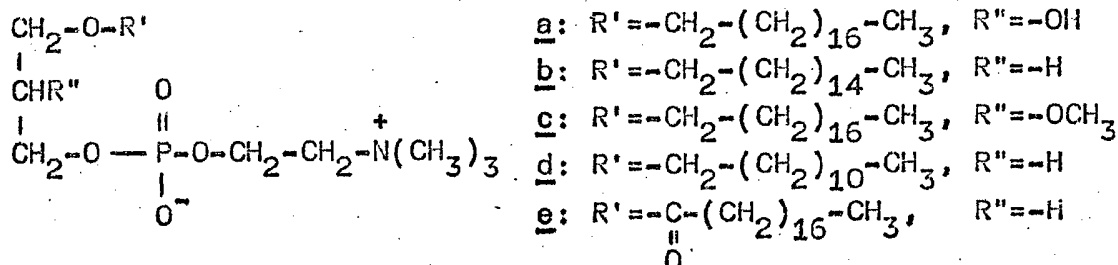
Von dem Rest A₁ bzw. A₂ strukturell verwandten Lysolecithin-Analoga der Formel

2 2 2 8 7 9 - 40 -

16.12.1980

AP C 07 C/222 879

57 926/11



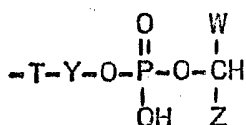
waren immunomodulierende Eigenschaften bekannt [P. G. Munder, H. U. Weltzien und M. Modolell in "Immunopathology", S. 411 bis 424, VII. Int. Symposium, Bad Schachen, P. A. Miescher ed., Schwabe, Basel 1976].

Ziel der Erfindung

Ziel der vorliegenden Erfindung war es, den lipophilen Charakter von Muramylpeptiden unter Erhalt ihrer immunomodulierenden Eigenschaften zu erhöhen.

Darlegung des Wesens der Erfindung

Der Erfindung liegt die Aufgabe zugrunde, den Rest A₁ bzw. A₂

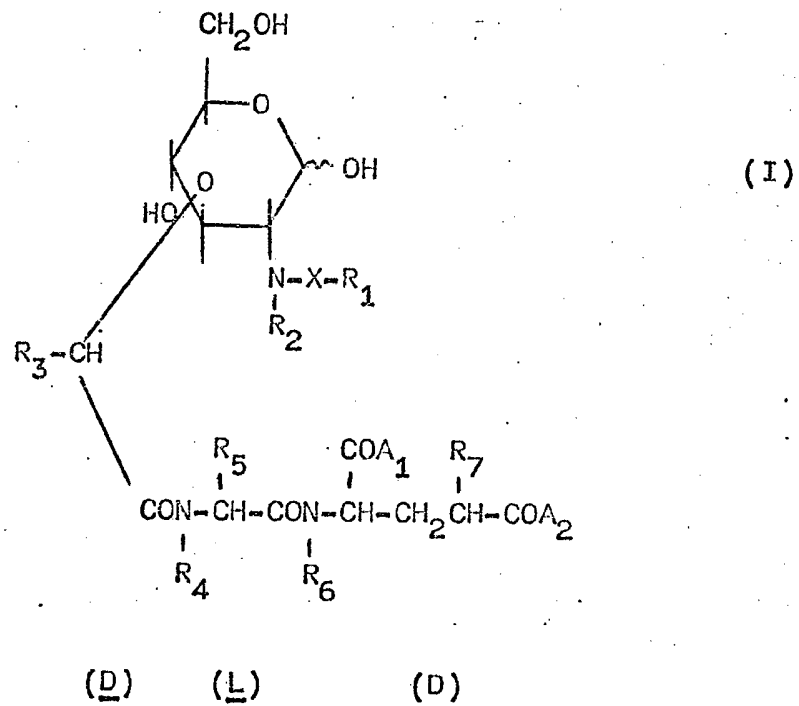


in Muramylpeptide einzuführen, wobei T, Y, W und Z wie weiter unten angegeben definiert sind.

Erfindungsgemäß werden Verbindungen der Formel

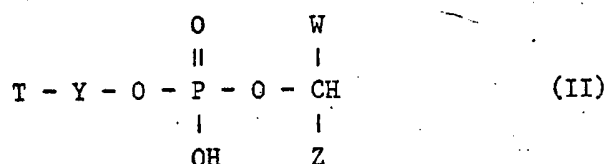
2 2 2 8 7 9 - 4 b -

16.12.1980
AP C 07 C/222 879
57 926/11



hergestellt,

worin X, Carbonyl oder Carbonyloxy, R_1 gegebenenfalls substituiertes Alkyl oder Aryl, R_2 , R_4 und R_6 Wasserstoff oder Niederalkyl, R_3 Wasserstoff oder Niederalkyl, R_5 Wasserstoff, Niederalkyl, freies oder funktionell abgewandeltes Hydroxyniederalkyl, freies oder funktionell abgewandeltes Mercaptoniederalkyl, gegebenenfalls substituiertes Aminoniederalkyl, Cycloalkyl, Cycloalkyl-niederalkyl, gegebenenfalls substituiertes Aryl oder Alkyl, stickstoffhaltiges Heterocyclyl oder Heterocyclyl-niederalkyl, oder R_4 und R_5 zusammen auch Alkylen mit 3-4 Kohlenstoffatomen, R_7 Wasserstoff oder gegebenenfalls verestertes oder amidiertes Carboxyl und einer der Reste A_1 und A_2 einen Rest der Formel



bedeutet, worin T für -NH oder -O steht, Y eine gegebenenfalls substituierte Alkylengruppe, die auch durch ein oder zwei Oxy-carbonyl und/oder Aminocarbonyl unterbrochen sein kann, W Wasserstoff und Z eine 1,2-Dihydroxyäthyl- oder 2-Hydroxyäthylgruppe, in der mindestens eine der Hydroxygruppen mit einer gegebenenfalls ungesättigten, langkettigen aliphatischen Carbonsäure verestert oder mit einem gegebenenfalls ungesättigten, langkettigen aliphatischen Alkohol veräthert ist, oder W und Z je eine mit einer gegebenenfalls ungesättigten, langkettigen aliphatischen Carbonsäure veresterte oder mit einem gegebenenfalls ungesättigten, langkettigen aliphatischen Alkohol verätherte Hydroxymethylgruppe darstellen, und der andere der Reste A_1 und A_2 freies oder veräthertes Hydroxy, Amino, Niederalkylamino oder Carboxamidoniederalkyl-amin ist.

2 2 2 8 7 9

5
-3-

Alkyl ist geradkettiges oder verzweigtes, in beliebiger Stellung gebundenes Alkyl mit bis zu 18 Kohlenstoffatomen, in erster Linie jedoch Niederalkyl.

Als Substituenten der gegebenenfalls substituierten Alkylgruppen kommen in erster Linie freie oder funktionell abgewandelte Hydroxy- oder Mercaptogruppen, wie verätherte oder veresterte Hydroxy- oder Mercaptogruppen, z.B. Niederalkoxy oder Niederalkylmercaptogruppen, oder Halogenatome oder freie oder funktionell abgewandelte Carboxyl-, wie Carbo-niederalkoxy- oder Carbamoylgruppen in Frage. Dabei kann der substituierte Alkylrest, wie Niederalkylrest, einen, zwei oder mehrere gleiche oder verschiedene Substituenten, insbesondere freie Hydroxylgruppen oder Halogenatome tragen.

Arylreste sind insbesondere monocyclische, sowie bicyclische Arylreste, in erster Linie Phenyl, aber auch Naphthyl. Sie können gegebenenfalls, z.B. durch Niederalkylgruppen, freies, verestertes oder veräthertes Hydroxy, z.B. Niederalkoxy oder Niederalkylendioxy oder Halogenatome, und/oder Trifluoromethylgruppen, mono-, di- oder polysubstituiert sein.

Aralkyl ist insbesondere Aryl-niederalkyl, worin Aryl die oben gegebene Bedeutung hat. In erster Linie steht Arylniederalkyl für Benzyl oder Phenyläthyl, worin der Phenylkern mono-, di- oder polysubstituiert sein kann.

Gegebenenfalls substituierte Aralkylreste sind insbesondere solche Reste die im aromatischen Kern gegebenenfalls, z.B. durch Niederalkyl, freie, verätherte oder veresterte Hydroxy- oder Mercaptogruppen, z.B. Niederalkoxy oder Niederalkylendioxy, sowie Niederalkylmercapto- oder Trifluormethylgruppen und/oder Halogenatome, mono-, di- oder polysubstituiert sind.

6
2 2 2 8 7 9 - 4 -

Cycloalkyl ist insbesondere Cycloalkyl mit 5 bis 6 Kohlenstoffatomen, wie Cyclopentyl oder Cyclohexyl, und Cycloalkyl-niederalkyl insbesondere ein solcher, worin der Cycloalkylrest 5 bis 6 Kohlenstoffatome besitzt und der Niederalkylrest in erster Linie Methyl oder Äethyl darstellt.

Stickstoffhaltiges Heterocyclyl ist insbesondere der Rest einer 5- oder 6-gliedrigen, ein oder zwei Stickstoffatome im Ring enthaltenden heterocyclischen Verbindung. Er kann ungesättigt oder auch gesättigt sein, und z.B. einen ankondensierten Phenylrest enthalten. Als solche seien z.B. die Pyrrolyl-, Indolyl-, Pyridyl- oder Imidazolylreste genannt.

Im stickstoffhaltigen Heterocyclyl-niederalkyl hat der Heterocyclyl-rest die oben genannte Bedeutung und der Niederalkylrest ist in erster Linie Methyl oder Äethyl.

Der Alkylenrest, der von den Resten R_4 und R_5 gebildet sein kann, ist vorzugsweise unsubstituiert und in erster Linie der Trimethylenrest.

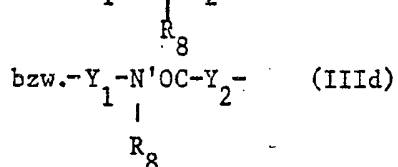
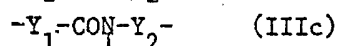
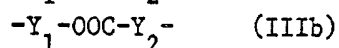
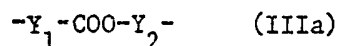
Eine gegebenenfalls veresterte oder amidierte Carboxylgruppe ist in erster Linie die Carboxylgruppe selbst, oder eine mit einem Niederalkanol veresterte Carboxylgruppe oder auch die Carbamoylgruppe, die am Stickstoffatom unsubstituiert, oder mit Alkyl, insbesondere Niederalkyl, Aryl, in erster Linie Phenyl, oder Aralkyl, wie Benzyl, mono- oder di-substituiert ist. Die Carbamoylgruppen kann aber auch einen Alkylen-, wie den Tetra- oder Pentamethylenrest tragen.

Als gegebenenfalls funktionell abgewandelte Hydroxy- oder Mercaptogruppen sind insbesondere verätherte oder veresterte Hydroxy- oder Mercaptogruppen zu nennen, wie Niederalkoxy, Niederacyloxy, z.B. Niederalkanoyloxy, oder Halogenatome, Niederalkylmercapto oder Niederacylmercapto, z.B. Niederalkanoylmercapto.

Als funktionell abgewandeltes Aminoniederalkyl sind insbesondere Mono- oder Diniederalkylamino-niederalkyl oder acyliertes Aminoniederalkyl, wie Methylamino-, Aethylamino-, Dimethylamino-, Diäthylamino-, Alkanoylamino-, z.B. Niederalkanoylamino-niederalkyl zu nennen.

Carboxamidoniederalkylamino ist in erster Linie 1-Carboxamido-niederalkylamino, z.B. Glycylamino-, Alanylamino, Valylamino oder Isoleucylamino.

Der Alkylenrest Y ist insbesondere ein Niederalkylenrest, vorzugsweise mit 2 oder 3 Kohlenstoffatomen. Der Alkylenrest Y kann aber auch ein durch oder einen Rest wie Oxycarbonyl oder N-R₈-carboxyamido unterbrochener Niederalkylenrest sein, und stellt dann insbesondere einen Rest der Formel



dar, worin einer der Reste Y₁ und Y₂ ein gegebenenfalls substituierter Niederalkylenrest und der andere ein gegebenenfalls substituierter Niederalkylenrest, der auch durch Oxycarbonyl oder N-R₈-Carboxamido unterbrochen sein kann, und Y₁ und Y₂ zusammen mehr als zwei Kohlenstoffatome aufweisen, und R₈ Wasserstoff oder Niederalkyl sind. Als Substituenten der Reste Y₁ und Y₂ sollen insbesondere freies oder funktionell abgewandeltes Hydroxy oder Hydroxyniederalkyl, freies oder funktionell abgewandeltes Mercapto oder Mercaptoniederalkyl, freies oder mono- oder di-niederalkyliertes oder acyliertes Amino-niederalkyl, Carboxamido, Alkyl, Cycloalkyl mit 5 bis 6 Kohlenstoffatomen, Aryl oder Aralkyl genannt werden,

wobei die Allgemeinbegriffe die oben angegebene Bedeutung haben können.

Eine langkettige aliphatische Carbonsäure ist insbesondere eine mit 12 bis 90 Kohlenstoffatomen, die auch 1 oder 2 Doppelbindungen aufweisen und gerade oder verzweigt sein kann. Bevorzugt sind solche mit 16 bis 22 Kohlenstoffatomen oder natürliche oder synthetische Mycolsäuren.

Ein langkettiger aliphatischer Alkohol ist insbesondere ein Alkanol mit 10-22 Kohlenstoffatomen, das auch eine oder zwei Doppelbindungen aufweisen und gerade und verzweigt sein kann. Bevorzugt sind solche Alkanole die 12-18 Kohlenstoffatome enthalten und deren Hydroxygruppe endständig ist.

Die im Zusammenhang mit der vorliegenden Beschreibung und den Patentansprüchen mit "Nieder" bezeichneten Reste und Verbindungen enthalten vorzugsweise bis und mit 7 und in erster Linie bis und mit 4 Kohlenstoffatome.

Vorstehend, wie nachfolgend können die Allgemeinbegriffe folgende Bedeutung haben:

Niederalkyl ist z.B. n-Propyl, n-Butyl, Isobutyl, sek.-Butyl oder tert.-Butyl, ferner n-Pentyl, n-Hexyl, Isohexyl oder n-Heptyl und in erster Linie Methyl oder Aethyl. In Aryl-, Cycloalkyl- oder Heterocyclylniederalkyl ist der Niederalkylrest insbesondere Methyl oder Aethyl, wobei der Aryl-, Cycloalkyl- oder Heterocyclyl-rest die obgenannte Bedeutung besitzt.

Niederalkoxy ist z.B. n-Propoxy, n-Butoxy, Isobutoxy, sek.-Butoxy oder tert.-Butoxy und in erster Linie Methoxy oder Aethoxy.

2 2 2 8 7 9 9

-1-

Niederalkylmercapto ist z.B. n-Propyl-, n-Butyl-, Isobutyl-, sek.-Butyl oder tert.-Butylmercapto und in erster Linie Methylmercapto oder Aethylmercapto.

Niederalkylendioxy ist insbesondere Methyendioxy, Aethylen- oder Propyendioxy.

Halogen steht für Fluor oder Brom, vorzugsweise jedoch für Chlor.

Niederalkanoyl ist insbesondere Propionyl oder Butyryl, in erster Linie jedoch Acetyl.

Synthetische Mycolsäuren sind insbesondere α -Alkyl- β -hydroxy-alkancarbonsäuren, worin der Alkylrest in α -Stellung 1-20, in erster Linie 1-14 und die Alkancarbonsäure 20-80, insbesondere 30 bis 34 Kohlenstoffatomen enthält. Sie können auch weitere Hydroxylgruppen, sowie Oxo-, Methylen- oder Aethylengruppen enthalten.

Natürliche Mycolsäuren sind insbesondere solche, wie sie aus lebenden Organismen, wie Bakterien, z.B. Mycobacterien, isoliert werden können.

Die neuen Verbindungen der vorliegenden Erfindung können in Form von Gemischen von Isomeren oder von reinen Isomeren vorliegen.

Die neuen lipophilen Muramylpeptide der vorliegenden Erfindung weisen eine Reihe wertvoller pharmakologischer Eigenschaften, insbesondere eine ausgeprägte immunpotenzierende Wirkung auf.

So wird durch diese Verbindungen in vivo die Antikörperbildungsfähigkeit von Mäusen erheblich gesteigert:

NMRI Mäusen werden durch intraperitoneale Injektion von 10 µg präzipitatfreiem BSA am Tag 0 immunisiert. 9, 15 und 29 Tage später werden Serumproben entnommen und auf ihren Gehalt an anti-BSA-Antikörpern mit einer passiven Haemagglutinationstechnik untersucht. In der verwendeten Dosis ist lösliches BSA für die Empfängertiere subimmunogen, d.h. es vermag keine oder nur eine ganz geringfügige Produktion von Antikörpern auszulösen. Zusätzliche Behandlung der Mäuse mit gewissen immunpotenzierenden Stoffen vor oder nach der Antigengabe führt zu einem Anstieg der Antikörpertiter im Serum. Der Effekt der Behandlung wird durch den erreichten Scorewert, d.h. durch die Summe der \log_2 Titerdifferenzen an den drei Blutungstagen ausgedrückt.

In diesem Test sind die Verbindungen der Formel (I) in der Lage, bei intraperitonealer oder subkutaner Applikation von 0,5-5 mg/kg Tier an fünf aufeinander folgenden Tagen nach Immunisierung mit BSA die Antikörperproduktion gegen BSA signifikant zu steigern. Sie sind diesbezüglich den herkömmlichen hydrophilen Muramylpeptiden hoch überlegen.

Auch Manifestationen der zellvermittelten Immunität können durch die genannten Verbindungen in vivo potenziert werden:

Während Sensibilisierung von Meerschweinchen mit BSA in inkomplettem Freund'schen Adjuvans nur zu humoraler Antikörperbildung führt, induziert die Beimischung der erfindungsgemässen lipophilen Muramylpeptide in einem Dosisbereich von 5-50 µg zur Antigen-Oelemulsion Spättyp-Ueberempfindlichkeit gegenüber BSA: 3 Wochen nach Immunisierung führt die intrakutane Injektion von BSA bei diesen Tieren zu einer lokalen Entzündungsreaktion mit Erythem und Verdickung der Haut, die innert 24 bis 48 Stunden ihr Maximum erreicht. Diese Spättyp-Reaktionen entsprechen quantitativ und qualitativ denjenigen, die üblicherweise durch Immunisierung mit BSA in komplettem Freund'schem Adjuvans (d.h. mit Zusatz von Mykobakterien) erhalten werden. Die

2 2 2 8 7 9 : ¹¹
-9-

ED₅₀-Werte (benötigte µg/Tier zur Induktion einer Differenz des Reaktionsvolumens (Erythemfläche x Hautdickenzunahme) bei behandelten und unbehandelten Tieren von 200 µl, 24 Stunden nach Auslösung) betragen 10-20 µg.

Besonders hervorzuheben ist auch die Fähigkeit solcher lipophiler Muramylpeptide, durch Applikation zusammen mit BSA in Liposomen (Eilecithin : Cholesterin 4:1 ; 4 mg/Tier) und ohne die toxische Mineralöl-Komponente, in Meerschweinchen eine Spättyp-Überempfindlichkeit gegen BSA zu induzieren. Quantitativ und qualitativ sind diese Spättyp-Reaktionen ebenfalls identisch mit denjenigen, die durch Immunisierung mit BSA in komplettem Freund'schem Adjuvans erhalten werden. Die ED₅₀-Werte betragen 100-300 µg pro Tier.

Die neuen Verbindungen der Formel (I) zeigen im Vergleich zu hydrophilen Muramyllopeptiden weitere zusätzliche Qualitätsverbesserungen:

Balb/c Mäuse werden durch intraperitoneale Injektion von 2×10^4 P815 Mastocytomzellen am Tag 0 immunisiert. Am Tag 15 werden die Milzzellen der so immunisierten Tiere in vitro auf das Vorhandensein zytotoxischer, gegen P815 Mastocytom-Zellen gerichteter T-Lymphocyten untersucht. Dazu werden die P815 Zielzellen mit ⁵¹Cr markiert und das Ausmass der zytotoxischen Reaktion durch Messen der Radioaktivität im Kulturüberstand ermittelt. In der verwendeten Dosis sind die P815 Mastocytomzellen für die Empfänger-Mäuse subimmunogen, d.h. sie induzieren keine oder nur ganz geringe Bildung zytotoxischer T-Zellen. Gleichzeitige intraperitoneale Applikation von 1 bis 50 µg der genannten Muramylpeptide der Formel I führen zu einer signifikanten Steigerung der Bildung zytotoxischer T-Zellen (Faktor 10 bis 30 gegenüber unbehandelte Mäusen).

Die immunpotenzierenden Eigenschaften der neuen Verbindungen der Formel (I) lassen sich auch im Falle der Induktion spezifischer Immuntoleranz gegen Transplantationsantigene durch Immunisierung mit adjuvierten Autoblasten bei der Maus darstellen:

In einer gemischten Lymphocytenkultur werden Milzlymphocyten des zukünftigen Transplantat-Empfängers (C57BL/6J Mäuse) mit bestrahlten Milzzellen des zukünftigen Transplantat-Spenders (CBA/J Mäuse) inkubiert. T-Lymphocyten mit spezifischen Rezeptoren für die Histokompatibilitätsantigene des Spenders proliferieren und werden zu Blasten; diese können durch Sedimentation von den andern Zellen abgetrennt werden. Die spezifischen Blasten exprimieren die relevanten idiotypischen Spezifitäten der Membranrezeptoren und werden adjuviert mit komplettem Freund'schem Adjuvans (CFA) als Autoimmunogene zur Induktion spezifischer Toleranz gegen die betreffenden Transplantationsantigene in die prospektiven Transplantat-Empfänger (C57 BL/6J) injiziert. Die Immunisierung erfolgt viermal in vierwöchigen Abständen mit autologen anti-CBA/J T Lymphoblasten. Adsorbate von T-Autoblasten mit den neuen Verbindungen der Formel (I) (10^9 Blasten werden in einer Lösung von 20 mg Substanz in 20 ml PBS suspendiert. Nach zweistündiger Inkubation werden die Zellen zentrifugiert und zweimal mit PBS gewaschen) sind in der Lage, spezifische Immuntoleranz in Abwesenheit von CFA zu induzieren, wobei die Adsorbate gleich wirksam sind wie Lymphoblasten in CFA.

Die neuen Verbindungen der Formel (I) sind ausserdem in der Lage, in Konzentrationen von 0,5-100 $\mu\text{g/ml}$ in Milzzellkulturen von normalen Mäusen die Bildung antikörperproduzierender Zellen zu induzieren (Vermehrung der 19S-plaquebildenden Zellen um einen Faktor 10 bis 30 über den Kontrollwert (in Abwesenheit der stimulierenden Substanzen): So werden in Anwesenheit der genannten Verbindungen z.B.

spezifische Antikörper gegen Schafererythrocyten gebildet, ohne dass den Kulturen Schafererythrocyten zur Immunisierung zugesetzt werden. Andererseits vermögen die genannten Substanzen im selben Konzentrationsbereich auch die immunologische Reaktivität von T-zellverarmten Milzzellkulturen (von kongential athymischen nu/nu Mäusen) gegenüber einem normalerweise thymusabhängigen Antigen (Schafererythrocyten) zu steigern (Faktor 10 bis 30 gegenüber unbehandelten Kontrollkulturen). Durch die genannten Verbindungen werden aber in vitro direkt oder indirekt nicht nur Proliferations- und Syntheseleistungen von B-Lymphocyten (d.h. von potentiell antikörperbildenden Zellen) induziert, sondern auch Effekte auf T-Lymphocyten (zu denen regulatorisch aktive Helfer- und Suppressorzellen sowie cytotoxische Effektorzellen gehören), vermittelt. So vermögen z.B. die erwähnten Verbindungen in einem Konzentrationsbereich von 1-20 µg/ml die Reaktivität von cortisonresistenten Thymuszellen gegenüber allogenen bestrahlten Stimulatorlymphocyten erheblich (bis zu 10-fach) zu potenzieren.

Die oben erwähnten Wirkungen kommen wahrscheinlich indirekt dadurch zustande, dass solche lipophilen Muramylpeptide Makrophagen aktivieren, die ihrerseits die Reaktivität von T- und B-Lymphocyten fördern. Tatsächlich kann man zeigen, dass die genannten Verbindungen bereits in geringen Konzentrationen (0,5-10 µg/ml) grosse Mengen "colony stimulating activity" (CSA) aus Maus-Makrophagen freisetzen (Induktion von bis zu 150-200 Kolonien innert 7 Tagen aus 10^5 Mäuse-Knochenmarkzellen, nach Zugabe von 20% Ueberstand aus während 24 Stunden mit Substanz inkubierten Makrophagenkulturen, im Vergleich zu 0-5 Kolonien bei Zugabe von Ueberständen unbehandelter Makrophagenkulturen). CSA ist ein biologischer Mediator, der für die Differenzierung von Knochenmark-Stammzellen zu Makrophagen und polymorphkernigen Leucocyten notwendig ist. Damit bewirken die genannten Verbindungen einen erhöhten Nachschub von Zellen, die für die unspezifische Resistenz und für die Induktion, Amplifikation und Expression spezifischer (lymphocytenvermittelter) Immunreaktionen von zentraler Bedeutung sind.

Die immunpotenzierende Wirkung der neuen Verbindungen kann in vivo nachgewiesen werden: So führt die Injektion eines Phospholipid-Derivates von Muramylpeptid gemäss der Erfindung innert 3-9 Stunden zu einem hohen Anstieg der CSA-Konzentration im Serum (bis zu 120 Kolonien pro 10^5 Mäuseknochenmarkzellen nach Zugabe von Chloroform extrahiertem Serum [5% Endkonzentration] im Vergleich zu 0-5 Kolonien bei unbehandelten Tieren). Dementsprechend wird durch Verabreichung derselben Verbindungen in vivo die Antikörperbildungsfähigkeit von Mäusen erheblich potenziert.

Die immunpotenzierenden Eigenschaften der neuen Verbindungen der Formel I lassen sich auch in Tumormodellen demonstrieren, so z.B. beim Ehrlich Ascites Tumor in der Maus.

Eine intraperitoneale Injektion von 10^6 syngen Ehrlich Ascites Tumorzellen führt bei Balb/c Mäusen durchschnittlich in 18 Tagen zum Absterben der Tiere. Injiziert man den Mäusen intraperitoneal 10^7 (Gruppe 1), 10^6 (Gruppe 2) und 10^5 (Gruppe 3) Ascites Tumorzellen, die man in vitro mit den neuen Verbindungen der Formel I beladen hat (10^9 Ascites Tumorzellen werden in einer Lösung von 40 mg der Prüfsubstanz in 20 ml phosphat-gepufferter physiologischer Kochsalzlösung (PBS) suspendiert und nach zweistündiger Inkubation bei 37°C werden die Zellen zentrifugiert und zweimal mit PBS gewaschen; die Zellen inkorporieren bei dieser Behandlung die Prüfverbindung in ihre Membran), so kommt es in 18 Tagen zu keinem Tumorstadium. Am 19. Tag werden die Tiere jeweils mit 10^6 nativen Ehrlich Ascites Tumorzellen intraperitoneal belastet. Folgende Effekte werden beobachtet:

Gruppe 1 : 8 von 10 Tieren überleben den 80. Tag

Gruppe 2 : 6 von 10 Tieren überleben den 80. Tag

Gruppe 3 : die Tiere sterben, wie die Kontrolltiere, nach 18 Tagen.

Die Verbindungen gemäss der vorliegenden Erfindung sind zudem wenig toxisch: Auch 5-malige intraperitoneale Applikation in einer Dosis von 100 mg/kg/Tag an fünf aufeinanderfolgenden Tagen wurde von Mäusen anscheinend symptomlos vertragen. Da die für die Immunstimulation benötigten Dosen sehr gering sind, ist die therapeutische Breite der neuen Verbindung sehr gross.

Die neuen Verbindungen gemäss der vorliegenden Erfindung können somit die zelluläre und besonders die humorale Immunität erheblich steigern, und zwar sowohl in Mischung mit dem Antigen selber (Adjuvanseffekt im engeren Sinne) als auch bei zeitlich und örtlich von der Antigeninjektion getrennter Zufuhr (systemische Immunpotenzierung).

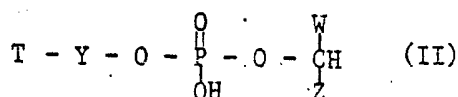
Die neuen Verbindungen gemäss der vorliegenden Erfindung können somit als Adjuvantien in Mischung mit Impfstoffen dazu benützt werden, den Impferfolg zu verbessern und den durch humorale Antikörper und/oder zelluläre Immunität vermittelten Infektionsschutz gegenüber bakteriellen, viralen oder parasitären Erregern zu verbessern.

Schliesslich eignen sich die beschriebenen Verbindungen in Mischung mit verschiedenen Antigenen als Adjuvantien bei der experimentellen und industriellen Herstellung von Antiseren für Therapie und

Diagnostik und bei der Induktion von immunologisch aktivierten Lymphocyten-populationen für Zelltransfervverfahren.

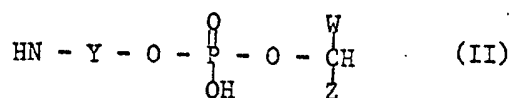
Darüberhinaus können die neuen Verbindungen auch ohne gleichzeitige Antigenezufuhr dazu benützt werden, bereits unterschwellig ablaufende Immunreaktionen bei Mensch und Tier zu fördern. Die Verbindungen eignen sich demnach besonders für die Stimulation der körperlichen Abwehr, z.B. bei chronischen und akuten Infektionen oder bei selektiven (antigenspezifischen) immunologischen Defekten, sowie bei angeborenen, aber auch bei erworbenen allgemeinen (d.h. nicht antigenspezifischen) immunologischen Defektzuständen, wie sie im Alter, im Verlauf schwerer Primärerkrankungen und vor allem nach Therapie mit ionisierenden Strahlen oder mit immunsuppressiv wirkenden Hormonen auftreten. Die genannten Stoffe können somit vorzugsweise auch in Kombination mit Antibiotika, Chemotherapeutika oder anderen Heilverfahren verabreicht werden, um immunologischen Schädigungen entgegenzuwirken. Schliesslich sind die beschriebenen Stoffe auch zur allgemeinen Prophylaxe von Infektionskrankheiten bei Mensch und Tier geeignet.

Die Erfindung betrifft besonders Verbindungen der Formel I, worin X Carbonyl, R₁ gegebenenfalls substituiertes Alkyl oder Aryl, R₂, R₃, R₄ und R₆ Wasserstoff oder Niederalkyl, R₅ Wasserstoff, gegebenenfalls durch Hydroxy, Niederalkoxy, Mercapto oder Niederalkylmercapto oder Halogen substituiertes Niederalkyl, Cycloalkyl oder Cycloalkylniederalkyl, worin der Cycloalkylrest 4-6 Kohlenstoffatome enthält, gegebenenfalls substituiertes Phenyl oder Phenylniederalkyl, ein oder zwei Azaatome enthaltendes Heterocyclyl oder Heterocyclylniederalkyl oder R₄ und R₅ zusammen auch Alkylen mit 3-4 Kohlenstoffatomen, R₇ Wasserstoff und einer der Reste A₁ und A₂ einen Rest der Formel



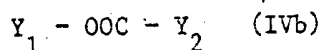
bedeuten, worin T für -NH oder -O steht, worin Y gegebenenfalls substituiertes Alkylen, das auch durch Carboxy oder Carboxyamido unterbrochen sein kann, W Wasserstoff und Z eine 1,2-Dihydroxyäthyl- oder 2-Hydroxyäthylgruppe darstellt, in der mindestens eine der Hydroxygruppen in der oben angegebenen Weise verestert oder veräthert ist und der andere der Reste A₁ und A₂ Hydroxy, Niederalkoxy, Amino, Niederalkylamino oder Carboxamido-niederalkylamino ist.

Die Erfindung betrifft insbesondere Verbindungen der Formel I, worin X Carbonyl, R₁ gegebenenfalls durch Hydroxy, Niederalkoxy oder Halogen substituiertes Niederalkyl oder gegebenenfalls durch Hydroxy, Niederalkoxy, Niederalkyl oder Halogen substituiertes Phenyl, R₂, R₄ und R₆ Wasserstoff, R₃ Wasserstoff oder Niederalkyl, R₅ Wasserstoff, gegebenenfalls durch Hydroxy, Niederalkoxy, Mercapto, Niederalkylmercapto oder Halogen substituiertes Niederalkyl mit 1-3 Kohlenstoffatomen, Cycloalkyl oder Cycloalkylniederalkyl, worin der Cycloalkylrest 4-6 Kohlenstoffatome und der Niederalkylrest 1-3 Kohlenstoffatome enthält, gegebenenfalls durch Hydroxy, Niederalkoxy oder Halogen substituiertes Phenyl oder Phenylniederalkyl mit 1-3 Kohlenstoffatomen im Niederalkylrest, ein oder zwei Azaatome enthaltendes Heterocyclyl oder Heterocyclyl-niederalkyl mit 5-6 Ringgliedern und 1-3 Kohlenstoffatomen im Niederalkylrest oder R₄ und R₅ zusammen auch Alkylen mit 3-4 Kohlenstoffatomen, R₇ Wasserstoff, und einer der Reste A₁ und A₂ einen Rest der Formel

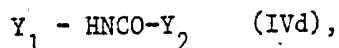


bedeutet, worin T für HN oder O steht Y gegebenenfalls substituiertes Niederalkyl oder einen Rest der Formel

2 2 2 8 7 9 - ¹⁸/₁₆ -

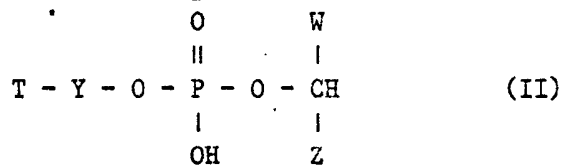


oder



bedeutet, worin Y_1 , und Y_2 je gegebenenfalls substituiertes Niederalkylen sind, W Wasserstoff, und Z eine 1,2-Dihydroxyäthyl- oder 2-Hydroxyäthylgruppe in der mindestens eine der Hydroxygruppen mit einer gegebenenfalls ein- oder zweifach ungesättigten aliphatischen Carbonsäure mit 16-22 Kohlenstoffatomen oder mit einer natürlichen oder synthetischen Mycolsäure verestert oder mit einem gegebenenfalls ein oder zweifach ungesättigten, aliphatischen Alkohol mit 12-18 Kohlenstoffatomen veräthert ist, darstellen und der andere der Rest A_1 und A_2 Hydroxy, Niederalkoxy, Amino, Niederalkylamino oder Carboxamidoniederalkylamino ist.

Die Erfindung betrifft in erster Linie Verbindungen der Formel I, worin X Carbonyl, R_1 Niederalkyl mit 1-3 Kohlenstoffatomen oder Phenyl, R_2 , R_4 und R_6 Wasserstoff, R_3 Wasserstoff oder Niederalkyl mit 1-3 Kohlenstoffatomen, R_5 Wasserstoff, gegebenenfalls durch Hydroxy, Methoxy, Mercapto, Methylmercapto oder Halogen substituiertes Niederalkyl mit 1-3 Kohlenstoffatomen, gegebenenfalls durch Hydroxy, Methoxy oder Halogen substituiertes Phenyl oder Phenylmethyl, ein oder zwei Azaatome enthaltendes Heterocyclyl oder Heterocyclylmethyl mit 5 Ringgliedern oder R_4 und R_5 zusammen auch Trimethylen, R_7 Wasserstoff und einer der Reste A_1 und A_2 einen Rest der Formel



bedeutet, worin T für HN oder O steht, Y Niederalkylen mit 2-3 Kohlenstoffatomen oder einen Rest der Formel (IVb) oder (IVd)

bedeutet, worin Y_1 , Y_2 , Y_3 und Y_4 unabhängig voneinander je gegebenenfalls durch Hydroxy, Niederalkoxy, Mercapto oder Niederalkylmercapto substituiertes Niederalkyl mit 1-3 Kohlenstoffatomen oder gegebenenfalls durch Hydroxy, Methoxy oder Halogen substituiertes Phenyl oder

16.12.1980

AP C 07 C/222 879

57 926/11

2 2 2 8 7 9 - ¹⁹~~47~~ -

Phenylniederalkyl oder ein oder zwei Azaatome enthaltendes Heterocyclyl oder Heterocyclniederalkyl mit 5 bis 6 Ringgliedern und 1 bis 3 Kohlenstoffatomen im Niederalkylrest, substituiertes Niederalkylen mit 1 bis 3 Kohlenstoffatomen sind, W Wasserstoff und Z eine 1,2-Dihydroxyäthyl- oder 2-Hydroxyäthylgruppe ist, in der mindestens eine der Hydroxygruppen mit einer gegebenenfalls ein- oder zweifach ungesättigten aliphatischen Carbonsäure mit 16 bis 20 Kohlenstoffatomen verestert oder mit einem gegebenenfalls ein- oder zweifach ungesättigten aliphatischen Alkohol mit 12 bis 18 Kohlenstoffatomen veräthert ist, und der andere der Reste A₁ und A₂ Hydroxy, Niederalkoxy, Amino, Niederalkylamino oder Carboxamidoniederalkylamino ist.

Insbesondere betrifft die Erfindung die neuen, in den Beispielen beschriebenen Muramylpeptide, wie N-Acetylmuramyl-L-alanyl-D-isoglutaminyl-2-(1',2'-dipalmitoyl-sn-glycero-3'-phosphoryl)-äthylamid; N-Acetyl-desmethylnuramyl-L-alanyl-D-isoglutaminyl-2-(1',2'-dipalmitoyl-sn-glycero-3'-phosphoryl)-äthylamid; N-Acetylmuramyl-L-alanyl-D-isoglutaminyl-2-oxy-methylcarbonyl-2-(1',2'-dipalmitoyl-sn-glycero-3'-phosphoryl)-äthylamid; N-Acetylmuramyl-L-alanyl-D-isoglutaminyl-L-alanyl-2-(1',2'-dipalmitoyl-sn-glycero-3'-phosphoryl)-äthylamid; N-Acetyl-desmethylnuramyl-L-alanyl-D-isoglutaminyl-2-(1',2'-O-di-hexadecyl-sn-glycero-3'-phosphoryl)-äthylamid; N-Acetyl-desmethylnuramyl-L-alanyl-D-isoglutaminyl-2-(1'-O-hexadecyl-sn-glycero-3'-phosphoryl)-äthylamid; N-Acetyl-desmethylnuramyl-L-alanyl-D-isoglutaminyl-2-(3'-palmitoyl-rac-glycero-1'-phosphoryl)-äthylamid; N-Acetyl-desmethylnuramyl-L-alanyl-D-isoglutaminyl-2-(1'-palmitoyl-2'-oleoyl-sn-glycero-3'-phosphoryl)-äthylamid; N-Acetyl-desmethylnuramyl-L-alanyl-D-isoglutamin-

2 2 2 8 7 9

20
- 47a -

16.12.1980

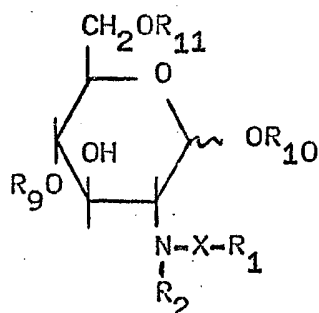
AP C 07 C/222 879

57 926/11

yl-2-(1'-palmitoyl-propandiol-3'-phosphoryl)-äthylamid;
 N-Acetyl-muramyl-L- α -aminobutyryl-D-isoglutaminyl-L-
 alanyl-2-(1',2'-dipalmitoyl-sn-glycero-3'-phosphoryl)-
 äthylamid; N-Acetyl-muramyl-L- α -aminobutyryl-D-isoglutamin-
 yl-L-alanyl-2-(1',2'-dipalmitoyl-rac-glycero-3'-phosphoryl)-
 äthylamid; N-Benzoyl-muramyl-L- α -aminobutyryl-D-iso-
 glutaminyl-L-alanyl-2-(1',2'-dipalmitoyl-sn-glycero-3'-
 phosphoryl)-äthylamid; N-Propionyl-desmethylnuramyl-L-
 alanyl-D-isoglutaminyl-L-alanyl-2-(1',2'-dipalmitoyl-sn-
 glycero-3'-phosphoryl)-äthylamid; N-Acetyl-muramyl-L-valyl-
 D-isoglutaminyl-L-alanyl-2-(1',2'-dipalmitoyl-sn-glycero-
 3'-phosphoryl)-äthylamid; N-Benzoyl-desmethylnuramyl-L- α -
 aminobutyryl-D-isoglutaminyl-L-alanyl-2-(1',2'-dipalmitoyl-sn
 glycero-3'-phosphoryl)-äthylamid; N-Acetyl-desmethyl-muramyl-
 L-alanyl-D-glutamyl- α -glycinamido- β -L-alanyl-2-(1',2'-
 dipalmitoyl-sn-glycero-3'-phosphoryl)-äthylamid.

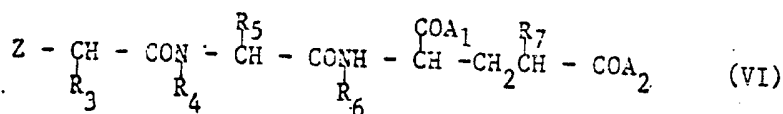
Die neuen Verbindungen der Formel I können nach an sich
 bekannten Methoden erhalten werden.

So lassen sie sich erhalten, wenn man eine Verbindung der
 Formel



(V),

worin X, R₁, R₂ die oben genannte Bedeutung haben und gege-
 benenfalls darin vorhandene Hydroxygruppen mit einer leicht
 abspaltbaren Schutzgruppe geschützt sind, R₉, R₁₀ und R₁₁
 eine leicht abspaltbare Schutzgruppe bedeuten oder eine
 Metallverbindung davon mit einer Verbindung der Formel



umsetzt, worin Z eine reaktionsfähig veresterte Hydroxygruppe darstellt, R_3 , R_4 , R_5 , R_6 , R_7 ; A_1 und A_2 die oben angegebene Bedeutung haben und gegebenenfalls darin vorhandene Hydroxygruppen durch eine leicht abspaltbare Schutzgruppe geschützt sind, und vorhandene Schutzgruppen abspaltet.

Eine reaktionsfähig veresterte Hydroxygruppe ist insbesondere eine mit einer starken anorganischen oder organischen Säure veresterte Hydroxygruppe, in erster Linie eine solche die mit Halogenwasserstoffsäure, wie Chlor-, Brom- oder insbesondere Jodwasserstoffsäure verestert ist.

Eine Metallverbindung ist insbesondere ein entsprechendes Alkalimetall-, z.B. Natrium- oder Kaliumderivat. Sie kann z.B. durch Behandeln einer Verbindung der Formel V mit einer geeigneten Base, wie einer entsprechenden Alkalimetallverbindung, wie Natriumhydrid, Natriumamid oder Butyllithium, hergestellt werden.

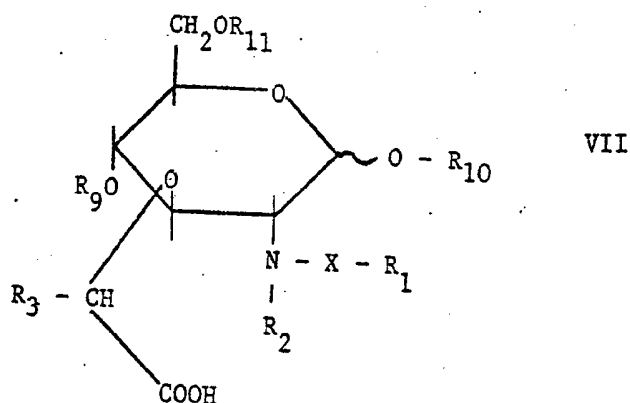
Leicht abspaltbare Schutzgruppen sind solche die aus der Peptid- bzw. Zuckerchemie bekannt sind. Für Hydroxygruppen sollen insbesondere Acylreste, z.B. Niederalkanoylreste wie Acetyl, Aroylreste, wie Benzoyl und vor allem von Kohlensäurederivaten sich ableitende Reste wie Benzyloxycarbonyl oder Niederalkoxycarbonyl, oder Alkyl, insbesondere tert.-Butyl, gegebenenfalls durch Nitro, Niederalkoxy oder Halogen substituiertes Benzyl, gegebenenfalls durch Halogen oder Niederalkoxy, wie Methoxy, substituiertes Triphenylmethyl; oder Tetrahydropyranyl oder gegebenenfalls substituierte Alkylidenreste, die die Sauerstoffatome in 4- und 6-Stellung verbinden, genannt werden. Solche Alkylidenreste sind insbesondere ein Niederalkyliden-, in erster Linie der Methyliden-, Isopropyliden- oder Propylidenrest oder auch ein gegebenenfalls substituierter Benzylidenrest.

22
222879 - 19 -

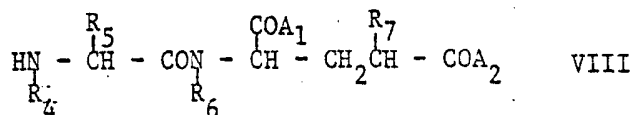
Diese Schutzgruppen können in an sich bekannter Weise abgespalten werden. So kann man sie durch saure Hydrolyse, Benzyl- oder Benzylidinreste auch hydrogenolytisch z.B. z.B. mit Wasserstoff in Gegenwart eines Edelmetall-, wie Palladium- oder Platin-katalysators entfernen.

Die verwendeten Ausgangsstoffe sind bekannt oder lassen sich in an sich bekannter Weise herstellen.

Die neuen Verbindungen können auch erhalten werden, wenn man in an sich bekannter Weise eine Verbindung der Formel



worin X, R₁, R₂ und R₃ die obengenannte Bedeutung besitzen und R₉, R₁₀ und R₁₁ für Wasserstoff oder eine leicht abspaltbare Schutzgruppe stehen, oder ein Derivat davon, mit einer Verbindung der Formel



worin R₄, R₅, R₆, R₇, A₁ und A₂ die obengenannte Bedeutung besitzen, mit der Massgabe, dass in diesen Resten vorhandene Carboxy- und, wenn erwünscht, freie Hydroxygruppen durch leicht abspaltbare Schutzgrup-

pen geschützt sind, oder ein Derivat davon, kondensiert und vorhandene Schutzgruppen abspaltet.

Die Kondensation erfolgt dabei z.B. in der Weise, dass man die Säure (VII) in aktivierter Form mit der Aminoverbindung (VIII) umsetzt oder dass man die Säure (VII) mit der Verbindung (VIII), deren Aminogruppe in aktivierter Form vorliegt, umsetzt. Die aktivierte Carboxylgruppe kann beispielsweise ein Säureanhydrid, vorzugsweise ein gemischtes Säureanhydrid wie z.B. mit Kohlensäureniederalkylester, wie Kohlensäureäthyl- oder isobutylester, ein Säureazid, ein Säureamid, wie ein Imidazolid, oder ein aktivierter Ester sein. Als aktivierte Ester seien insbesondere genannt: Cyanmethylester, Carboxymethylester, p-Nitrophenylthioester, p-Nitrophenylester, 2,4,5-Trichlorphenylester, Pentachlorphenylester, N-Succinimidester, N-Phthalimidester, 8-Chinolinester, 2-Hydroxy-1,2-dihydro-1-carboäthoxy-chinolin-ester, N-Hydroxypiperidinester oder Enolester, die mit N-Aethyl-5-phenyl-isoxazolium-3'-sulfonat gebildet werden. Aktivierte Ester können auch gegebenenfalls mit einem Carbodiimid unter Zusatz von N-Hydroxysuccinimid oder einem unsubstituierten oder z.B. durch Halogen, Methyl oder Methoxy substituierten 1-Hydroxybenzotriazol, 3-Hydroxy-4-oxo-3,4-dihydro-benzo[d]-1,2,3-triazin erhalten werden.

Die Aminogruppe ist beispielsweise durch Reaktion mit einem Phosphitamid aktiviert.

Unter den Methoden der Reaktion mit aktivierten Säuren, sind insbesondere diejenigen mit N-Aethyl-5-phenyl-isoxazolium-3'-sulfonat (Woodward Reagens K) oder 2-Aethoxy-1,2-dihydro-1-carboäthoxy-chinolin oder Carbodiimid zu erwähnen.

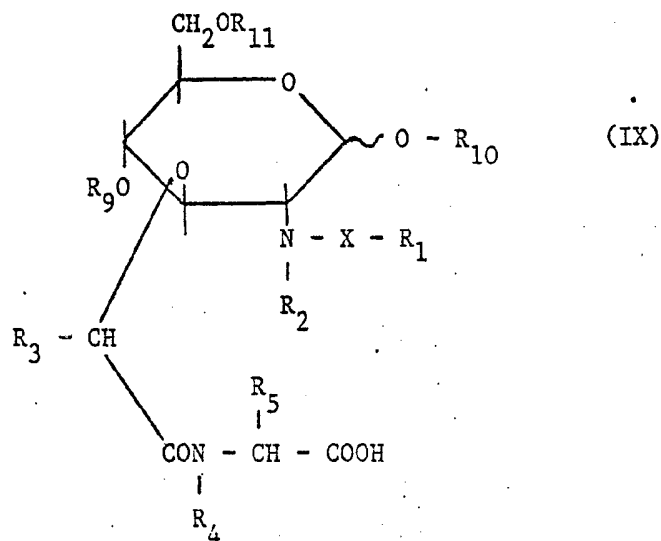
Leicht abspaltbare Schutzgruppen sind solche die aus der Peptid- bzw. Zuckerchemie bekannt sind. Für Carboxygruppen sollen insbesondere tertiär-Butyl, Benzyl oder Benzhydryl und für Hydroxygruppen insbesondere Acylreste, z.B. Niederalkanoylreste wie Acetyl, Aroylreste, wie Benzoyl und vor allem von Kohlensäurederivaten sich

ableitende Reste wie Benzyloxycarbonyl oder Niederalkoxycarbonyl, oder Alkyl, insbesondere tert.-Butyl, gegebenenfalls durch Nitro, Niederalkoxy oder Halogen substituiertes Benzyl, gegebenenfalls durch Halogen oder Niederalkoxy, wie Methoxy substituiertes Triphenylmethyl oder Tetrahydropyranol oder gegebenenfalls substituierte Alkylidenreste, die die Sauerstoffatome in 4- und 6-Stellung verbinden, genannt werden. Solche Alkylidenreste sind insbesondere ein Niederalkyliden-, in erster Linie der Methyliden-, Isopropyliden- oder Propylidenrest oder auch ein gegebenenfalls substituiertes, vorzugsweise in p-Stellung substituiertes Benzylidenrest.

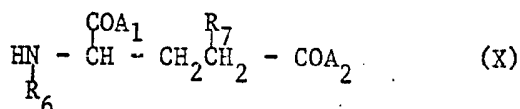
Diese Schutzgruppen können in an sich bekannter Weise abgespalten werden. So kann man sie durch saure Hydrolyse, Benzyl- oder Benzylidenreste auch hydrogenolytisch z.B. mit Wasserstoff in Gegenwart eines Edelmetall-, wie Palladium- oder Platin-katalysators entfernen.

Die verwendeten Ausgangsstoffe sind bekannt, oder lassen sich in an sich bekannter Weise herstellen.

Eine andere Verfahrensweise zur Herstellung dieser neuen Verbindungen besteht darin, dass man eine Verbindung der Formel



worin X , R_1 , R_2 , R_3 , R_4 und R_5 die obengenannte Bedeutung haben, mit der Massgabe, dass darin enthaltene freie Hydroxygruppen gegebenenfalls mit einer leicht abspaltbaren Schutzgruppe geschützt sind und R_9 , R_{10} und R_{11} Wasserstoff oder leicht abspaltbare Schutzgruppen darstellen oder Derivate davon mit einer Verbindung der Formel



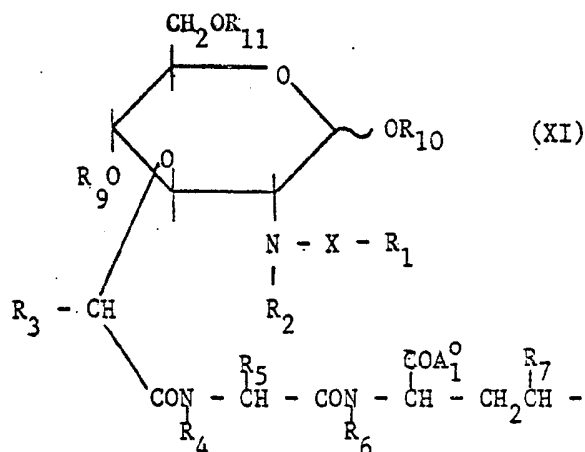
worin R_6 , R_7 , A_1 und A_2 die obengenannte Bedeutung haben, mit der Massgabe, dass in den Resten R_7 , A_1 und A_2 vorhandene freie Carboxylgruppen durch leicht abspaltbare Schutzgruppen geschützt sind, kondensiert und vorhandene Schutzgruppen abspaltet.

Die Kondensation erfolgt dabei z.B. in der Weise, dass man die Säure IX in aktivierter Form mit der Aminoverbindung X umsetzt, oder dass man die Säure IX mit der Verbindung X, deren Aminogruppen in aktivierter Form vorliegt, umsetzt. Die aktivierte Carboxylgruppe kann beispielsweise ein Säureanhydrid, vorzugsweise ein gemischtes Säureanhydrid, ein Säureamid oder ein aktivierter Ester sein. Als solche kommen insbesondere die oben genannten Säureanhydride, Amide oder Ester in Frage. Die Aminogruppe ist beispielsweise durch Reaktion mit einem Phosphitamid aktiviert.

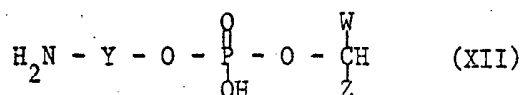
Auch die leicht abspaltbaren Schutzgruppen entsprechen den bereits oben genannten. Sie können in an sich bekannter Weise abgespalten werden; durch saure Hydrolyse, Benzyl- oder Benzylidenreste auch hydrogenolytisch, beispielsweise mit Wasserstoff in Gegenwart eines Edelmetall-, wie Palladium- oder Platin-katalysators.

Die Ausgangsstoffe lassen sich in an sich bekannter Weise erhalten. So kann man z.B. entsprechende in 3-Stellung unsubstituierte Zucker mit einer Halogen- R_3 -acetamido- R_4 -essigsäure umsetzen, oder eine Verbindung der Formel VII mit einer Amino- R_5 -essigsäure, deren Carboxylgruppe geschützt ist in der oben gezeigten Weise umsetzen, und die Schutzgruppen abspalten.

Eine weitere Verfahrensweise zur Herstellung dieser neuen Verbindungen, worin T für NH steht, besteht darin, dass man in an sich bekannter Weise eine Verbindung der Formel



worin X , R_1 , R_2 , R_3 , R_4 , R_5 , R_6 und R_7 die obgenannte Bedeutung haben, R_8 , R_9 und R_{10} Wasserstoff oder eine leicht abspaltbare Schutzgruppe darstellen und einer der Reste A_1^O und A_2^O eine aktivierte Hydroxygruppe darstellt und der andere veräthertes Hydroxy, Amino, Niederalkylamino oder Carboxamidoniederalkylamino ist, mit einer Verbindung der Formel



worin Y , W und Z die obgenannte Bedeutung besitzen, kondensiert.

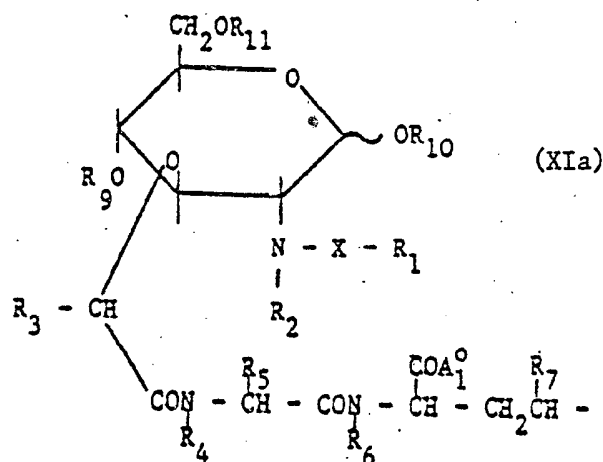
Die aktivierte Carbonsäuregruppe COA_1^{O} , bzw. COA_2^{O} kann beispielsweise ein Säureanhydrid z.B. mit Kohlensäureniederalkylester, wie Kohlensäureäthyl oder das Isobutylester, ein Säureazid, ein Säureamid, wie ein Imidazolid, Isooxazolid oder ein aktivierter Ester sein. Als aktivierter Ester seien insbesondere genannt: Cyanmethylester, Carboxymethylester, p-Nitrophenylthioester, Methoxyäthylthioester, Acetylaminoäthylthioester, p-Nitrophenylester, 2,4,5-Trichlorphenylester, N-Succinimidester, N-Phthalimidester, 8-Chinolinester, N-Piperidinester. Aktive Ester können auch gegebenenfalls mit einem Carbodiimid unter Zusatz von N-Hydroxysuccinimid oder einem unsubstituierten oder z.B. durch Halogen, Methyl oder Methoxy substituierten 1-Hydroxybenzotriazol oder 3-Hydroxy-4-oxo-3,4-dihydro-benzo[d]-1,2,3-triazin erhalten werden.

Man bevorzugt als aktive Ester solche mit N-Hydroxysuccinimid oder deren C-Substitutionsprodukten, wie N-Hydroxy-methyl- oder -dimethylsuccinimid, oder die Umsetzung mit Carbodiimid, wie Carbodiimid selbst oder 1-Aethyl-3-(3-dimethylaminopropyl)-carbodiimid.

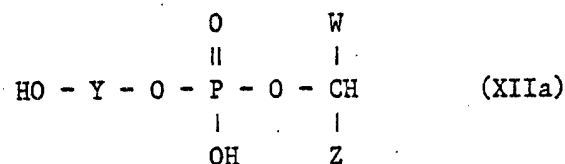
Die dazu verwendeten Ausgangsstoffe sind bekannt oder lassen sich in an sich bekannter Weise herstellen.

Steht in den neuen Verbindungen der Formel I T für O, kann man sie auch erstellen, wenn man in an sich bekannter Weise eine Verbindung der Formel

222879 - 28 - 25 -



worin X, R₁, R₂, R₃, R₄, R₅, R₆ und R₇ die obengenannte Bedeutung haben, R₈, R₉ und R₁₀ Wasserstoff oder eine leicht abspaltbare Schutzgruppe darstellen und einer der Reste A₁^o und A₂^o eine Hydroxygruppe darstellt und der andere veräthertes Hydroxy, Amino, Niederalkylamino oder Carboxamidoniederalkylamino ist, mit einer Verbindung der Formel



worin Y, W und Z die obengenannte Bedeutung besitzen, wobei die Säure XIa oder der Alkohol XIIa) in reaktionsfähiger Form vorliegt, in an sich bekannter Weise verestert.

Diese Reaktion lässt sich so durchführen, dass man die freie Säure mit dem Alkohol in Gegenwart eines wasserabspaltenden Mittels, wie einem Carbodiimid, z.B. Dicyclohexylcarbodiimid und einem Amin, wie Pyridin oder Dimethylaminopyridin, einem Trialkylamin z.B. Trimethylamin verestert. Man kann aber auch die Carbonsäure z.B. in Form eines Salzes, wie Natrium- oder Kaliumsalz mit einem reaktionsfähigen Ester des Alkohols, z.B. einem Ester mit einer starken anorganischen oder organischen Säure, wie einer Halogen-

wasserstoffsäure, z.B. Chlor-, Brom- oder Jodwasserstoffsäure oder einer organischen Sulfonsäure, wie p-Toluolsulfonsäure oder Methan- oder Aethansulfonsäure umgesetzt.

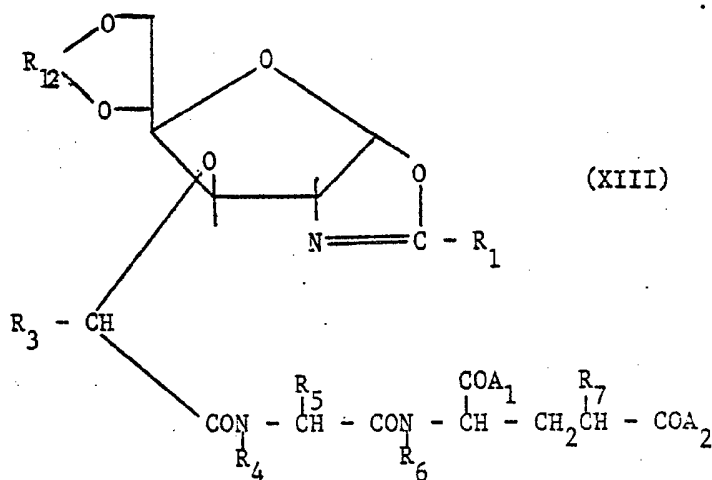
Ferner ist es auch möglich den Alkohol gegebenenfalls als Salz, z.B. Natrium- oder Kaliumalz, mit einer aktivierten Carbonsäure umsetzen. Als aktivierte Carbonsäuren sind insbesondere Anhydride, in erster Linie gemischte Säureanhydride, wie ein Säureazid oder Halogenid oder ein aktivierter Ester zu nennen, wie Cyanmethylester, Carboxymethylester, p-Nitrophenylthioester, p-Nitrophenylester, 2,4,5-Trichlorphenylester, Pentachlorphenylester, N-Succinimidester, N-Phthalimidester, 8-Chinolinester, 2-1,2-dihydro-1-carboäthoxy-chinolin-ester, N-Piperidinester oder Enolester, die mit N-Aethyl-5-phenylisoxazolium-3'-sulfonat gewonnen werden. Aktivierte Ester können auch gegebenenfalls mit einem Carbodiimid unter Zusatz von N-Hydroxysuccinimid oder einem unsubstituierten oder z.B. durch Halogen, Methyl oder Methoxy substituierten 1-Hydroxybenzotriazol, 3-Hydroxy-4-oxo-3,4-dihydro-benzo[d]-1,2,3-triazin erhalten werden.

Leicht abspaltbare Schutzgruppen sind solche die aus der Peptid- bzw. Zuckerchemie bekannt sind. Für Carboxygruppen sollen insbesondere tertiär-Butyl, Benzyl oder Benzhydryl und für Hydroxygruppen insbesondere Acylreste, z.B. Niederalkanoylreste wie Acetyl, Aroylreste, wie Benzoyl und vor allem von der Kohlensäure sich ableitende Rest wie Benzyloxycarbonyl oder Niederalkoxycarbonyl, oder Alkyl, insbesondere tert.-Butyl, gegebenenfalls durch Nitro, Niederalkoxy oder Halogen substituiertes Benzyl, gegebenenfalls durch Halogen oder Niederalkoxy, wie Methoxy substituiertes Triphenylmethyl oder Tetrahydropyranyl oder gegebenenfalls substituierte Alkylidenreste, die die Sauerstoffatome in 4- und 6-Stellung verbinden, genannt werden. Solche Alkylidenreste sind insbesondere ein Niederalkyliden-, in erster Linie der

Aethyliden-, Isopropyliden- oder Propylidenrest oder auch ein gegebenenfalls substituierter, vorzugsweise in p-Stellung substituierter Benzylidenrest.

Diese Schutzgruppen können in an sich bekannter Weise abgespalten werden. So kann man sie durch saure Hydrolyse, Benzyl oder Benzylidenrest auch hydrogenolytisch z.B. mit Wasserstoff in Gegenwart eines Edelmetall-, wie Palladium oder Platinkatalysators entfernen.

Ferner ist es auch möglich die neuen Verbindungen der Formel I, worin X eine Carbonylgruppe und R_2 Wasserstoff sind, zu erhalten, wenn man in einer Verbindung der Formel



worin R_1 , R_3 , R_4 , R_5 , R_6 , R_7 , A_1 und A_2 die obengenannte Bedeutung haben und R_{12} eine Alkyliden- oder Cycloalkylidengruppe ist, den Oxazolin- und den Dioxolanring sauer aufspaltet, und gegebenenfalls vorhandene Schutzgruppen abspaltet.

Alkyliden ist darin insbesondere Niederalkyliden, wie Isopropyliden, und Cycloalkyliden in erster Linie Cyclopentyliden oder Cyclohexyliden.

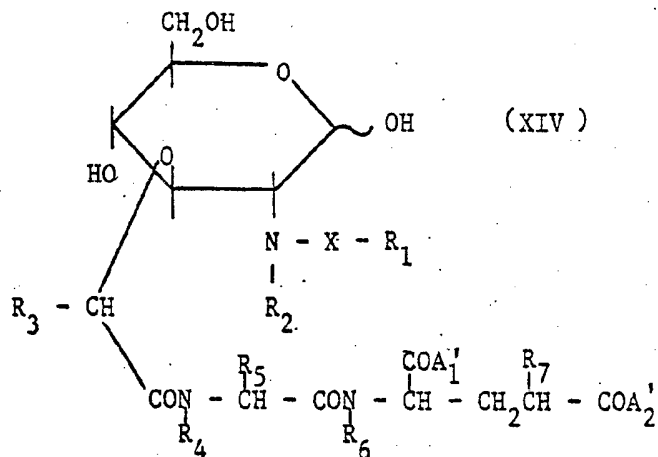
Diese Spaltung erfolgt ebenfalls in an sich bekannter Weise, z.B. mit einem sauren Ionenaustauscher, insbesondere solchen mit Sulfonsäuregruppen, wie Amberlite IR-120 (ein Styrolharz mit stark sauren Sulfogruppen) oder Dowex 50 (Polystyrolsulfonsäuren) oder einer starken anorganischen oder organischen Säure, wie Salzsäure, Bromwasserstoffsäure, Schwefelsäure oder einer Sulfonsäure, z.B. Methansulfonsäure, oder einer gegebenenfalls im aromatischen Ring substituierten Phenylsulfonsäure, wie p-Toluolsulfonsäure oder Trifluoressigsäure. Arbeitet man dabei in Gegenwart von Wasser, erhält man in 1-Stellung eine freie Hydroxygruppe. Ist auch eine der Carboxylgruppen A_1 bzw. A_2 und/oder R_7 mit einem Alkohol, insbesondere einem Niederalkanol verestert, lässt sie sich, insbesondere bei höherer Temperatur mit wässriger Säure verseifen.

In den erhaltenen Verbindungen lassen sich Schutzgruppen am Peptidrest nachträglich, z.B. durch Hydrogenolyse, wie z.B. mit katalytisch angeregtem Wasserstoff oder Hydrolyse, abspalten.

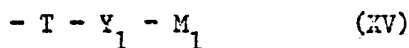
Die dabei verwendeten Ausgangsstoffe lassen sich z.B. erhalten, wenn man in ein entsprechendes Oxazolin, mit einer freien Hydroxygruppe in 3-Stellung des Zuckerrestes den R_3 -Acetamidopeptidrest in einer oder mehreren Stufen einführt.

Verbindungen der Formel I, worin Y_1 einen Rest der Formel IIIc oder IIIId darstellt, kann man auch dadurch gewinnen, dass man eine Verbindung der Formel

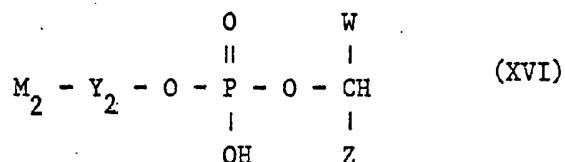
2 2 2 8 7 9 - ³²₂₉ -



worin einer der Reste A_1' und A_2' einen Rest der Formel



und der andere der Reste A_1' und A_2' veräthertes Hydroxy oder Amino, Niederalkylamino oder Carboxamidoniederalkyl ist, und einer Verbindung der Formel



worin X_1 , R_1 , R_3 , R_4 , R_5 , R_6 , R_7 , Y_1 , Y_2 , W und Z die oben genannten Bedeutungen haben und darin vorhandene Hydroxygruppen gegebenenfalls durch leicht abspaltbare Schutzgruppen geschützt sind und einer der Reste M_1 und M_2 eine freie Aminogruppe oder ein aktiviertes Derivat davon und der andere eine Carbonsäuregruppe oder ein aktiviertes Derivat davon bedeutet, kondensiert und gegebenenfalls vorhandene Schutzgruppen abspaltet.

Leicht abspaltbare Schutzgruppen sind solche die aus der Peptid- bzw. Zuckerchemie bekannt sind. Für Carboxygruppen sollen insbesondere tertiäre-Butyl, Benzyl, gegebenenfalls durch Halogen oder Niederalkoxy, wie Methoxy substituiertes Triphenylmethyl oder Benzhydryl und für Hydroxygruppen insbesondere Acylreste, z.B. Niederalkanoylreste wie Acetyl, Aroylreste, wie Benzoyl und vor allem von der Kohlensäure sich ableitende Rest wie Benzyloxycarbonyl oder Niederalkoxycarbonyl, oder Alkyl, insbesondere tert.-Butyl, gegebenenfalls durch Nitro, Niederalkoxy oder Halogen substituiertes Benzyl oder Tetrahydropyranyl oder gegebenenfalls substituierte Alkylidenreste, die die Sauerstoffatome in 4- und 6-Stellung verbinden, genannt werden. Solche Alkylidenreste sind insbesondere ein Niederalkyliden-, in erster Linie der Aethyliden-, Isopropyliden- oder Propylidenrest oder auch ein gegebenenfalls substituierter, vorzugsweise in p-Stellung substituierter Benzylidenrest.

Diese Schutzgruppen können in an sich bekannter Weise abgespalten werden. So kann man sie durch saure Hydrolyse, Benzyl- oder Benzylidenreste auch hydrogenolytisch z.B. mit Wasserstoff in Gegenwart eines Edelmetall-, wie Palladium- oder Platin-katalysators entfernen.

Die verwendeten Ausgangsstoffe sind bekannt, oder lassen sich in an sich bekannter Weise herstellen.

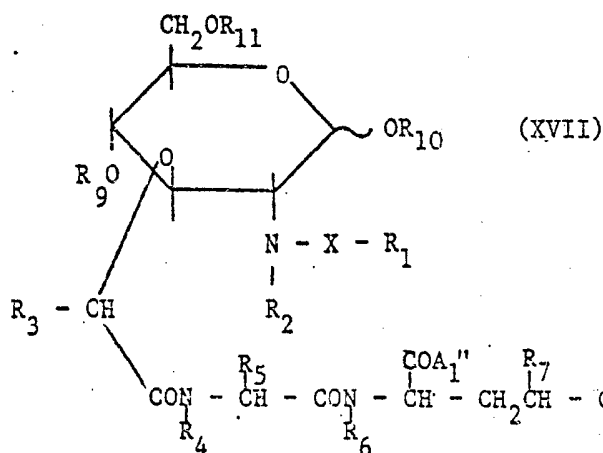
Die Kondensation erfolgt dabei z.B. in der Weise, dass man die Verbindung (XIV) in Form der aktivierten Carbonsäuren mit der Aminoverbindung (XVI) umsetzt oder dass man die Säure (XIV) mit der Verbindung (XVI) deren Aminogruppe in aktivierter Form vorliegt, umsetzt. Die aktivierte Carboxylgruppe kann beispielsweise ein Säureanhydrid, vorzugsweise ein gemischtes Säureanhydrid wie z.B. mit Kohlensäureniederalkylester, wie Kohlensäureäthyl oder Isobutylester ein Säureazid, ein Säureamid, wie ein Imidazolid, Isoxazolid oder ein aktivierter Ester sein. Als aktivierte

Ester seien insbesondere genannt: Cyanmethylester, Carboxymethylester, p-Nitrophenylthioester, p-Nitrophenylester, 2,4,5-Trichlorphenylester, Pentachlorphenylester, N-Succinimidester, N-Phtalimidester, 8-Chinolinester, 2-1,2-dihydro-1-carboäthoxy-chinolinester, N-Piperidinester oder Enolester, die mit N-Aethyl-5-phenylisoxazolium-3'-sulfonat gewonnen werden. Aktivierte Ester können auch gegebenenfalls mit einem Carbodiimid unter Zusatz von N-Hydroxysuccinimid oder einem unsubstituierten oder z.B. durch Halogen, Methyl oder Methoxy substituierten 1-Hydroxybenzotriazol, 3-Hydroxy-4-oxo-3,4-dihydro-benzo[d]-1,2,3-triazin erhalten werden.

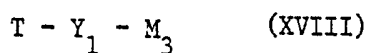
Die Aminogruppe ist beispielsweise durch Reaktion mit einem Phosphitamid aktiviert.

Unter den Methoden der Reaktion mit aktivierten Säuren sind insbesondere diejenigen mit N-Aethyl-5-phenylisoxazolium-3'-sulfonat (Woodward Reagens K) oder 2-Aethoxy-1,2-dihydro-1-carboäthoxy-chinolin oder Carbodiimid zu erwähnen.

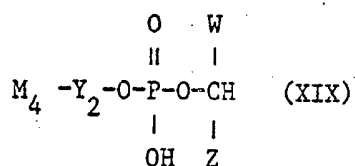
Verbindungen der Formel I, worin Y einen Rest der Formel IIIa oder IIIb darstellt, lassen sich auch erhalten, wenn man eine Verbindung der Formel



worin eine der Reste A₁" und A₂" einen Rest der Formel



mit einer Verbindung der Formel



worin X, R₁, R₃, R₄, R₅, R₆, R₇, T, Y₁, Y₂, W und Z die oben genannte Bedeutung haben und gegebenenfalls darin vorhandene Hydroxygruppen durch leicht abspaltbare Schutzgruppen geschützt sind, R₉, R₁₀ und R₁₁ leicht abspaltbare Schutzgruppen darstellen, und der andere der Reste A₁" und A₂" veräthertes Hydroxy, Amino, Niederalkylamino oder Carboxamidoniederalkyl ist, und einer der Reste M₃ und M₄ eine freie Hydroxygruppe und der andere eine freie Carboxylgruppe darstellt, wobei gegebenenfalls einer der beiden Reste M₃ und M₄ in reaktionsfähiger Form vorliegt, in an sich bekannter Weise verestert.

Diese Reaktion lässt sich so durchführen, dass man die freie Säure mit Alkohol in Gegenwart eines wasserabspaltenden Mittels, wie einem Carbodiimid, z.B. Dicyclohexylcarbodiimid, und einem Amin wie Pyridin, Dimethylaminopyridin, einem Trialkylamin z.B. Trimethylamin verestert. Man kann aber auch die Carbonsäure z.B. in Form eines Salzes, mit einem reaktionsfähigen Ester des Alkohols, z.B. einem Ester mit einer starken anorganischen oder organischen Säure, wie einer Halogenwasserstoffsäure, z.B. Chlor-, Brom- oder Jodwasserstoffsäure oder einer organischen Sulfonsäure, wie p-Toluolsulfonsäure oder Methan- oder Aethansulfonsäure umsetzen.

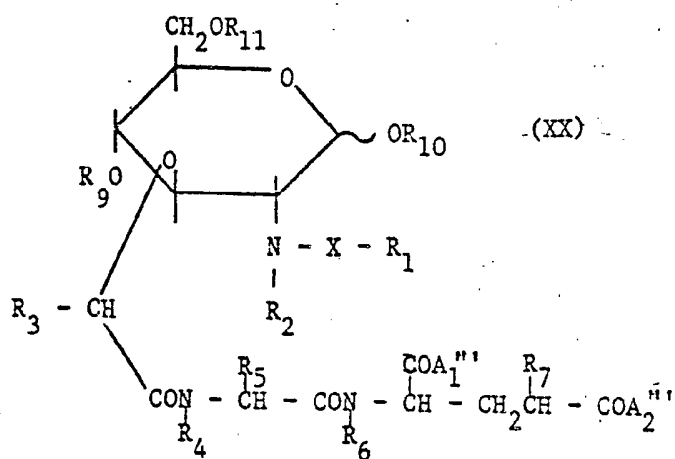
Ferner ist es auch möglich den Alkohol gegebenenfalls als Salz, z.B. Natrium- oder Kaliumsalz, mit einer aktivierten Carbonsäure umzusetzen. Als aktivierte Carbonsäuren sind insbesondere Anhydride, in erster Linie gemischte Säureanhydride, wie ein Säureazid oder Halogenid oder ein aktivierter Ester zu nennen, wie Cyanmethylester, Carboxymethylester, p-Nitrophenylthioester, p-Nitrophenylester, 2,4,5-Trichlorphenylester, Pentachlorphenylester, N-Hydroxysuccinimidester, N-Hydroxyphthalimidester, 8-Hydroxychinolinester, 2-Hydroxy-1,2-dihydro-1-carboäthoxy-chinolin-ester, N-Hydroxypiperidinester oder Enolester, die mit N-Aethyl-5-phenylisoxazolium-3'-sulfonat gewonnen werden. Aktivierte Ester können auch gegebenenfalls mit einem Carbodiimid unter Zusatz von N-Hydroxysuccinimid oder einem unsubstituierten oder z.B. durch Halogen, Methyl oder Methoxy substituierten 1-Hydroxybenzotriazol, 3-Hydroxy-4-oxo-3,4-dihydro-benzo[d]-1,2,3-triazin erhalten werden.

Leicht abspaltbare Schutzgruppen sind solche die aus der Peptid- bzw. Zuckerchemie bekannt sind. Für Carboxygruppen sollen insbesondere tertiär-Butyl, Benzyl, gegebenenfalls durch Halogen oder Niederalkoxy, wie Methoxy substituiertes Triphenylmethyl oder Benzhydryl und für Hydroxygruppen insbesondere Acylreste, z.B. Niederalkanoylreste wie Acetyl, Aroylreste, wie Benzoyl und vor allem von der Kohlensäure sich ableitende Rest wie Benzyloxycarbonyl oder Niederalkoxycarbonyl, oder Alkyl, insbesondere tert.-Butyl, gegebenenfalls durch Nitro, Niederalkoxy oder Halogen substituiertes Benzyl oder Tetrahydropyranol oder gegebenenfalls substituierte Alkylidenreste, die die Sauerstoffatome in 4- und 6-Stellung verbinden, genannt werden. Solche Alkylidenreste sind insbesondere ein Niederalkyliden-, in erster Linie der Äthyliden-, Isopropyliden- oder Propylidenrest oder auch ein gegebenenfalls substituiertes, vorzugsweise in p-Stellung substituierter Benzylidenrest.

Diese Schutzgruppen können in an sich bekannter Weise abgespalten werden. So kann man sie durch saure Hydrolyse, Benzyl- oder Benzylidenreste auch hydrogenolytisch z.B. mit Wasserstoff in Gegenwart eines Edelmetall-, wie Palladium- oder Platinkatalysators entfernen.

Die verwendeten Ausgangsstoffe sind bekannt und lassen sich in an sich bekannter Weise herstellen.

Eine weitere Verfahrensmethode zur Herstellung der neuen Verbindungen der Formel I besteht darin, dass man eine Verbindung der Formel

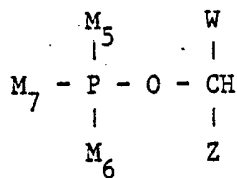


worin X, R₁, R₂, R₃, R₄, R₅, R₆ und R₇ die obgenannte Bedeutung haben und gegebenenfalls darin vorhandene Hydroxygruppen mit einer leicht abspaltbaren Schutzgruppe geschützt wird, R₉, R₁₀ und R₁₁ leicht abspaltbare Schutzgruppen bedeuten und einer der Reste A₁^{''} und A₂^{''} für T-Y-OH steht, worin Y, R und der andere der Reste A₁^{''} und A₂^{''} die obgenannten Bedeutungen besitzen, mit einer den Rest der Formel



worin M_5 Wasserstoff, Hydroxy oder Oxo bedeutet, abgebenden Verbindung umgesetzt, falls M_5 Wasserstoff oder Hydroxy ist, mit einem schwachen Oxydationsmittel oxydiert, und vorhandene Schutzgruppen abspaltet.

Als Rest der Formel XXI abgebende Verbindungen sollten insbesondere Verbindungen der Formel



genannt werden, worin W, Z und M_5 die obgenannte Bedeutung besitzen, M_6 Wasserstoff oder eine leicht abspaltbare Schutzgruppe und M_7 gegebenenfalls reaktionsfähig abgewandeltes Hydroxy ist.

Eine leicht abspaltbare Schutzgruppe M_6 ist insbesondere Niederalkyl, wie Methyl oder Aethyl, Niederalkenyl, wie Aethenyl oder 1-Methyl-propenyl oder Benzyl.

Eine gegebenenfalls reaktionsfähig abgewandeltes Hydroxy M_7 ist insbesondere die freie Hydroxygruppe, eine mit einer starken anorganischen oder organischen Säure verestertes Hydroxy, wie mit einer Halogenwasserstoff-, Niederalkancarbonsäure oder Aryl oder Alkylansulfonsäure, z.B. p-Toluolsulfonsäure, Methan- oder Aethansulfonsäure veresterte Hydroxygruppe. Sie kann aber auch für eine Phenoxy- oder Niederalkoxygruppe stehen.

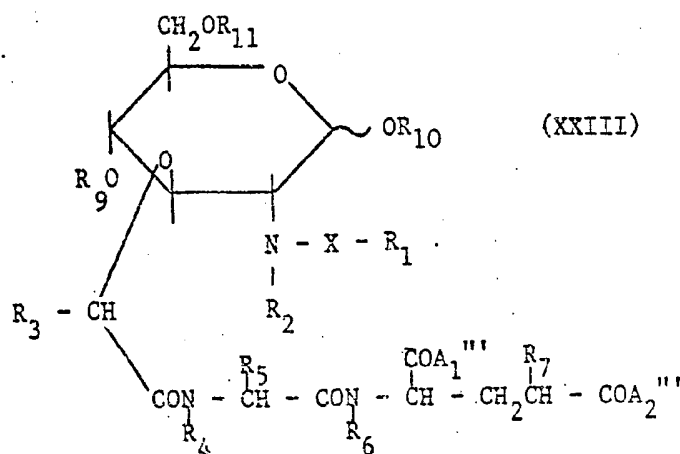
Diese Reaktion wird vorzugsweise in Gegenwart eines säurebindenden Mittels, wie Pyridin, Triniederalkylamin, z.B. Triäthylamin oder Trimethylamin, eines Imidazols, oder einer anorganischen Base, wie Natrium- oder Kaliumhydroxyd, oder Natrium oder Kaliumalkoholats durchgeführt, wobei man als Lösungsmittel ein aprotisches Lösungsmittel, wie Dimethylsulfoxyd oder Acetonitril bevorzugt.

Ist in den erhaltenen Verbindungen M_5 Wasserstoff oder Hydroxy, oxydiert man z.B. mit einer Persäure, wie Benzoeperensäure oder einem Alkylhydrogenoxyd.

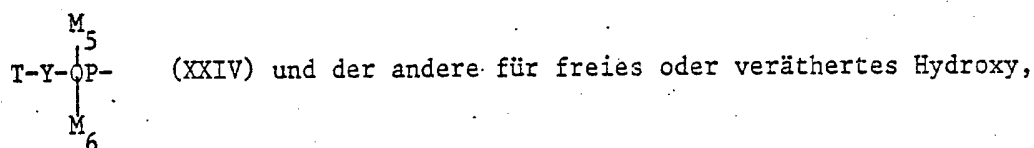
Die Abspaltung einer Schutzgruppe M_6 geht meist gemeinsam mit der Abspaltung der übrigen Schutzgruppen. Diese können in an sich bekannter Weise, z.B. hydrogenolytisch z.B. mit Wasserstoff in Gegenwart eines Edelmetall- wie Palladium- oder Platin-katalysators oder durch saure Hydrolyse entfernt werden.

Die Ausgangsstoffe sind bekannt, und lassen sich auf an sich bekannte Weise, z.B. einer der vorstehend genannten entsprechend abgewandelten Methode herstellen.

Im weiteren kann man die neuen Verbindungen der Formel I auch herstellen, wenn man eine Verbindung der Formel



worin X , R_1 , R_2 , R_3 , R_4 , R_5 , R_6 , R_7 die obgenannten Bedeutungen besitzen und gegebenenfalls darin vorhandene Hydroxygruppe mit einer leicht abspaltbaren Schutzgruppe geschützt sind, R_9 , R_{10} und R_{11} leicht abspaltbare Schutzgruppen bedeuten und einer der Reste A_1'' und A_2''



Amino, Niederalkylamino oder Carboxamidoniederalkylamino steht, worin T , Y und M_6 die obgenannte Bedeutung besitzt und M_5 Wasserstoff, Hydroxy oder Oxo bedeutet, mit einer Verbindung der Formel



worin W und Z die obgenannte Bedeutung besitzen, umgesetzt, falls M_5 Wasserstoff oder Hydroxy ist, mit einem schwachen Oxydationsmittel oxydiert, und vorhandene Schutzgruppen abspaltet.

Eine leicht abspaltbare Schutzgruppe M_6 ist insbesondere Niederalkyl, wie Methyl oder Aethyl, Niederalkenyl, wie Aethenyl oder 1-Methyl-propenyl oder Benzyl.

Eine gegebenenfalls reaktionsfähig abgewandeltes Hydroxy M_7 ist insbesondere die freie Hydroxygruppe, eine mit einer starken Säure verestertes Hydroxy, wie mit einer Halogenwasserstoff-, Nitroalkancarbonsäure oder Aryl- oder Alkylsulfonsäure, z.B. p-Toluolsulfonsäure, Methan- oder Aethansäure veresterte Hydroxygruppe. Sie kann aber auch für eine Phenoxy- oder Niederalkoxygruppe stehen.

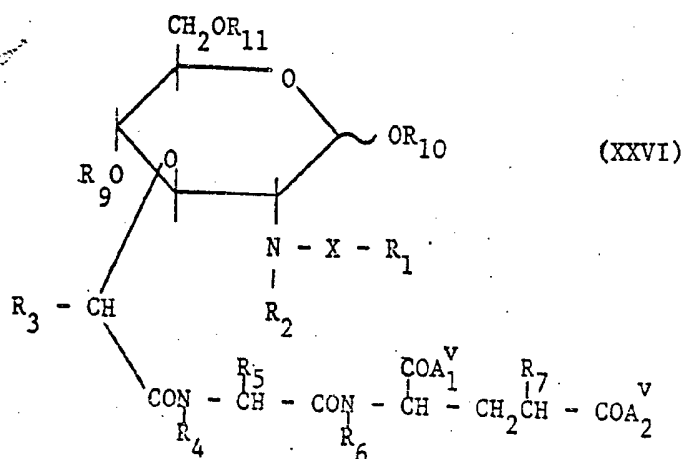
Diese Reaktion wird vorzugsweise in Gegenwart eines säurebindenden Mittels, wie Pyridin, Triniederalkylamin, z.B. Triäthylamin oder Trimethylamin, eines Imidorols, oder einer anorganischen Base, wie Natrium- oder Kaliumhydroxy, oder Natrium oder Kaliumalkoholats durchgeführt, wobei man als Lösungsmittel ein aprotisches Lösungsmittel, wie Dimethylsulfoxyd oder Acetonitril bevorzugt.

Ist in den erhaltenen Verbindungen M_5 Wasserstoff oder Hydroxy, oxydiert man z.B. mit einer Persäure, wie Benzoessäure oder einem Alkylhydrogenoxyd.

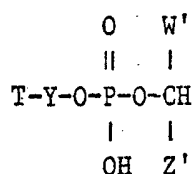
Die Abspaltung einer Schutzgruppe M_6 geht meist gemeinsam mit der Abspaltung der übrigen Schutzgruppen. Diese können in an sich bekannter Weise, z.B. hydrogenolytisch z.B. mit Wasserstoff in Gegenwart eines Edelmetall- wie Palladium- oder Platin-katalysators oder durch saure Hydrolyse entfernt werden.

Die Ausgangsstoffe sind bekannt, und lassen sich auf an sich bekannte Weise, z.B. einer der vorstehend genannten abgewandelten Methoden herstellen.

Ferner kann man die Verbindungen der Formel I auch dadurch erhalten, dass man eine Verbindung der Formel



worin X , R_1 , R_2 , R_3 , R_4 , R_5 , R_6 , R_7 die obgenannte Bedeutung haben und gegebenenfalls davon vorhandene Hydroxygruppe mit einer leicht abspaltbaren Schutzgruppe geschützt wird, R_9 , R_{10} und R_{11} leicht abspaltbare Schutzgruppen bedeuten und einer der Reste A_1^v und A_2^v für



stehen und der andere für freies oder veräthertes Hydroxy, Amino, Niederalkylamino oder Carboxamidoniederalkyl-amin mit einer gegebenenfalls ungesättigten, langkettigen aliphatischen Carbonsäure verestert, oder mit einem gegebenenfalls ungesättigten langkettigen aliphatischen Alkohol veräthert und die Schutzgruppen abspaltet.

Die Veresterung, wie auch die Verätherung erfolgt in an sich bekannter Weise, so verwendet man vorzugsweise die langkettige Säure und den langkettigen Alkohol in Form eines reaktionsfähigen Derivates, wie eines Anhydrids, vorzugsweise eines gemischten Anhydrids z.B. mit einer Halogenwasserstoffsäure, oder einem Ester, ebenfalls z.B. mit einer Halogenwasserstoffsäure.

Die Abspaltung der Schutzgruppen, welche den vorgenannten entsprechen, lässt sich in üblicher Weise, insbesondere hydrogenolytisch oder durch saure Hydrolyse durchführen.

Die Ausgangsstoffe lassen sich z.B. nach einer der oben genannten, entsprechend abgewandelten Methoden durchführen.

Die oben beschriebenen Verfahren werden nach an sich bekannten Methoden durchgeführt, in Abwesenheit oder vorzugsweise in Anwesenheit von Verdünnungs- oder Lösungsmitteln, wenn notwendig, unter Kühlen oder Erwärmen, unter erhöhtem Druck und/oder in einer Inertgas-, wie Stickstoffatmosphäre.

Dabei sind unter Berücksichtigung aller im Molekül befindlichen Substituenten, wenn erforderlich, insbesondere bei Anwesenheit leicht hydrolysierbarer O-Acylreste, besonders schonende Reaktionsbedingungen, wie kurze Reaktionszeiten, Verwendung von milden sauren oder basischen Mitteln in niedriger Konzentration, stöchiometrische Mengenverhältnisse, Wahl geeigneter Katalysatoren, Lösungsmittel, Temperatur- und/oder Druckbedingungen, anzuwenden.

Die Erfindung betrifft auch diejenigen Ausführungsformen des Verfahrens, bei denen man von einer auf irgendeiner Stufe des Verfahrens als Zwischenprodukt erhältlichen Verbindung ausgeht und die fehlenden Verfahrensschritte durchführt, oder das Verfahren auf irgendeiner Stufe abbricht, oder einen Ausgangsstoff unter den Reaktionsbedingungen bildet oder in Form eines reaktionsfähigen Derivats oder Salzes verwendet. Dabei geht man vorzugsweise von solchen Ausgangsstoffen aus, die verfahrensgemäss zu den oben als besonders wertvoll beschriebenen Verbindung führen.

Die vorliegende Erfindung betrifft ebenfalls pharmazeutische Präparate, welche Verbindungen der Formel I enthalten. Bei den erfindungsgemässen pharmazeutischen Präparaten handelt es sich um solche zur enteralen, wie oralen, nasalen oder rektalen, sowie parenteralen Verabreichung an Warmblüter, welche den pharmakologischen Wirkstoff allein oder zusammen mit einem pharmazeutisch anwendbaren Trägermaterial enthalten. Die Dosierung des Wirkstoffes hängt von der Warmblüter-Spezies, dem Alter und dem individuellen Zustand, sowie von der Applikationsweise ab.

Die neuen pharmazeutischen Präparate enthalten von etwa 10% bis etwa 95%, vorzugsweise von etwa 20% bis etwa 90% des Wirkstoffs. Erfindungsgemässe pharmazeutische Präparate können z.B. in Dosiseinheitsform, wie Dragées, Tabletten, Kapseln, Suppositorien oder Ampullen vorliegen.

Die pharmazeutischen Präparate der vorliegenden Erfindung werden in an sich bekannter Weise, z.B. mittels konventioneller Misch-, Granulier-, Dragier-, Lösungs- oder Lyophilisierungsverfahren hergestellt. Ausser den auf Seite 36 erwähnten Applikationsarten können auch pharmazeutische Präparate insbesondere zur oralen Anwendung erhalten werden, indem man den Wirkstoff mit festen Trägerstoffen kombiniert, ein erhaltenes Gemisch gegebenenfalls granuliert, und das Gemisch bzw. Granulat, wenn erwünscht oder notwendig nach Zugabe von geeigneten Hilfsstoffen, zu Tabletten oder Dragée-Kernen verarbeitet. Dabei kann man sie auch in Kunststoffträger einbauen, die die Wirkstoffe dosiert abgeben oder difundieren lassen.

Geeignete Trägerstoffe sind insbesondere Füllstoffe, wie Zucker, z.B. Lactose, Saccharose, Mannit oder Sorbit, Cellulosepräparate und/oder Calciumphosphate, z.B. Tricalciumphosphat oder Calciumhydrogenphosphat, ferner Bindemittel, wie Stärkekleister unter Verwendung z.B. von Mais-, Weizen-, Reis- oder Kartoffelstärke, Gelatine, Traganth, Methylcellulose, Hydroxypropyl-methylcellulose, Natriumcarboxymethylcellulose und/oder Polyvinylpyrrolidon, und/oder, wenn erwünscht Sprengmittel, wie die obgenannten Stärken, ferner Carboxymethylstärke, quervernetztes Polyvinylpyrrolidon, Agar, Algin-säure oder ein Salz davon, wie Natriumalginat, Hilfsmittel sind in erster Linie Fliessregulier- und Schmiermittel, z.B. Kieselsäure, Talk, Stearinsäure oder Salze davon, wie Magnesium- oder Calciumstearat, und/oder Polyäthylenglykol. Dragées-Kerne werden mit geeigneten, gegebenenfalls magensaftresistenten Ueberzügen versehen, wobei man u.a. konzentrierte Zuckerlösungen, welche gegebenenfalls arabischen Gummi, Talk, Polyvinylpyrrolidon, Polyäthylenglycol und/oder Titandioxid enthalten, Lacklösungen in geeigneten organischen Lösungs-

2 2 2 8 7 9

45
- 42 -

16.12.1980

AP C 07 C/222 879

57 026/11

mitteln oder Lösungsmittelgemischen oder zur Herstellung von Magensaft-resistenten Überzügen, Lösungen von geeigneten Cellulosepräparaten, wie Acetylcellulosephthalat oder Hydroxypropylmethylcellulosephthalat, verwendet. Den Tabletten oder Dragée-Überzügen können Farbstoffe oder Pigmente, z. B. zur Identifizierung oder zur Kennzeichnung verschiedener Wirkstoffdosen, beigelegt werden.

Die erfindungsgemäßen Verbindungen der Formel I können weder durch einen Schmelzpunkt charakterisiert werden, noch sind spektroskopische Daten wie NMR- und IR-Spektren zur einwandfreien Charakterisierung geeignet.

Ungeeignet zur Feincharakterisierung ist ferner wegen der dominierenden Natur der Lipidteile auch die Angabe von Rf-Werten.

Da jedoch die Struktur der Ausgangsstoffe genau bekannt ist (vgl. DE-OS 2 655 500; die jeweils verwendete Phospholipidkomponente ist kommerziell erhältlich), und da die Verknüpfung von Phospholipid und Muramylpeptid eindeutig ist, ist damit auch die Sequenz der Bausteine im Endprodukt und dessen Struktur eindeutig festgelegt.

In den Verbindungen der Formel I kann das über ein Sauerstoffatom an Phosphor gebundene Proton leicht mit Basen abgespalten werden. Üblicherweise liegen die Verbindungen der Formel I in Form eines Gemisches der freien Verbindungen und ihrer Salze vor. So liegen die in den nachfolgenden Beispielen beschriebenen Muramylpeptide der Formel I zu etwa 40 bis 55 % als Natriumsalze vor. Diese Salze gehören zum Gegenstand der Erfindung.

16.12.1980

AP C 07 C/222 879

57 926/11

2 2 2 8 7 9 - ⁴⁶42a -

Die Erfindung betrifft generell auch die Salze der Verbindungen der Formel I mit irgendwelchen anderen salzbildenden Gruppen, z. B. freien Carboxylgruppen, in erster Linie pharmazeutisch verwendbare, nichttoxische Salze, z. B. Metall- oder Ammoniumsalze.

Ausführungsbeispiel

Die nachfolgenden Beispiele illustrieren die oben beschriebene Erfindung. Sie sollen diese jedoch in keiner Weise einschränken. Temperaturen werden in Celsiusgraden angegeben.

Beispiel 1: Zu einer Lösung von 1,4 mMol 1,2-Dipalmitoyl-sn-glycero-3-phosphoryl-äthanolamin und von 2,5 ml mMol Triäthylamin in 25 ml eines Gemisches aus Chloroform-Methanol-Wasser, 65:25:4, wird eine Lösung von 2 mMol N-Acetylmuramyl-L-alanyl-D-isoglutamin-N-hydroxysuccinimidester in 6,5 ml Dimethylacetamid zugetropft. Nach 18 Stunden Rühren bei 20°C wird die Lösung bei reduziertem Druck auf ca. 15 ml eingeeengt; dabei entsteht eine Emulsion. Diese wird mit 200 ml Wasser verdünnt und gefriergetrocknet. Der Rückstand wird in 30 ml Wasser suspendiert und extensiv gegen Wasser dialysiert. Das Innendialysat, das das gewünschte Produkt enthält, wird gefriergetrocknet. Das N-Acetylmuramyl-L-alanyl-D-isoglutaminyl-2-(1',2'-dipalmitoyl-sn-glycero-3'-phosphoryl-)äthylamid wird durch Chromatographie an einer Sephadex LH-20 Säule gereinigt. Elutionsgemisch: Chloroform-Methanol-Essigsäure-Wasser, 25:15:4:2. Die Verbindung zeigt im Dünnschichtchromatogramm auf Silicagel folgende Rf-Werte: 0,31 (in Chloroform-Methanol-Wasser, 65:25:4) bzw. 0,64 (in Chloroform-Methanol-Essigsäure-Wasser, 25:15:4:2).

Die neue Verbindung wird analytisch dadurch charakterisiert, dass die Bausteine - N-Acetylmuraminsäure, Palmitinsäure, Phosphat, L-Alanin und D-Glutaminsäure- quantitativ bestimmt werden: -N-Acetylmuraminsäure wird durch mit Hilfe der Morgan-Elson-Reaktion nach der Modifikation von J.M. Ghuyssen et al. [in "Methods in Enzymology" 8, 629 (1966)] spektrophotometrisch bestimmt.

Phosphat wird nach Lowry et al. [J.Biol.Chem. 207, 1 (1954)] quantitativ bestimmt.

Palmitinsäure und die Aminosäuren werden in einem Totalhydrolysat (6N HCl, 24 Std. 110°C) gaschromatographisch bzw. mit Hilfe eines Aminosäureanalysators unter Verwendung von Pentadecansäure bzw. Norleucina als interne Standards quantitativ bestimmt.

2 2 2 8 7 9

48
- 44 -

Die gefundenen molaren Verhältnisse bezogen auf Phosphat sind wie folgt:

$\text{PO}_4^{'''}$: N-Acetylmuraminsäure: L-Alanin:D-Glutaminsäure: Palmitinsäure = 1:0,92:0,91:0,95:2,18.

Der N-Acetylmuramyl-L-alanyl-D-isoglutamin-N-hydroxysuccinimidester, der als Ausgangsstoff verwendet wird, lässt sich z.B. wie folgt herstellen:

2 mMol N-Acetylmuramyl-L-alanyl-D-isoglutamin, 2,2 mMol N-Hydroxysuccinimid und 2,2 mMol Dicyclohexylcarbodiimid werden in 6,5 ml Dimethylacetamid gelöst und 18 Stunden bei 20°C gerührt. Der ausgefallene Dicyclohexylharnstoff wird abgetrennt und die Lösung direkt für die Kondensation mit dem Phospholipid verwendet.

Das 1,2-Dipalmitoyl-sn-glycero-3-phosphoryl-äthanolamin, das als Ausgangsstoff verwendet wird, ist ein kommerziell erhältliches synthetisches Präparat.

Beispiel 2: In analoger Weise zu Beispiel 1 erhält man N-Acetyl-desmethylnuramyl-L-alanyl-D-isoglutaminyl-2-(1',2'-dipalmitoyl-sn-glycero-3'-phosphoryl-)äthylamin, ausgehend von 1,2-Dipalmitoyl-sn-glycero-3-phosphoryl-äthanolamin und N-Acetyl-desmethylnuramyl-L-alanyl-D-isoglutamin-N-hydroxysuccinimidester auf Silicagel folgende Rf-Werte:

0,29 (in Chloroform-Methanol-Wasser, 65:25:4), bzw. 0,65 (in Chloroform-Methanol-Essigsäure-Wasser, 25:15:4:2).

Beispiel 3: In analoger Weise zu Beispiel 1 erhält man N-Acetyl-muramyl-L-alanyl-D-isoglutaminyl- γ -oxy-methylcarbonyl-2-(1',2'-dipalmitoyl-sn-glycerol-3'-phosphoryl-)äthylamid, ausgehend von 1,2-Dipalmitoyl-sn-glycerol-3-phosphoryl-äthanolamin und von dem N-Hydroxysuccinimidester von N-Acetylmuramyl-L-alanyl-D-isoglutamin- γ -carboxymethylester.

Die Verbindung zeigt im Dünnschichtchromatogramm auf Silicagel folgende Rf-Werte: 0,28 (in Chloroform-Methanol-Wasser, 65:25:4), bzw. 0,68 (in Chloroform-Methanol-Essigsäure-Wasser, 25:15:4:2).

Beispiel 4: In analoger Weise zu Beispiel 1 erhält man N-Acetylmuramyl-L-alanyl-D-isoglutaminyl-L-alanyl-2-(1',2'-dipalmitoyl-sn-glycerol-3'-phosphoryl-)äthylamid, ausgehend von 1,2-Dipalmitoyl-sn-glycerol-3-phosphoryl-äthanolamin und N-Acetylmuramyl-L-alanyl-D-isoglutaminyl-L-alanin-N-hydroxysuccinimidester. Rf-Wert im Dünnschichtchromatogramm auf Silicagel: 0,3 (im System Chloroform-Methanol-Wasser, 65:25:4).

Beispiel 5: In analoger Weise zu Beispiel 1 erhält man N-Acetyl-desmethylnuramyl-L-alanyl-D-isoglutaminyl-2-(1',2'-O-di-hexadecyl-sn-glycerol-3'-phosphoryl-)äthylamid, ausgehend von 1,2-O-Hexadecyliden-sn-glycerol-3-phosphoryl-äthanolamin und N-Acetyl-desmethylnuramyl-L-alanyl D-isoglutamin-N-hydroxysuccinimidester. Rf-Wert im Dünnschichtchromatogramm auf Silicagel: 0,43 (in Chloroform-Methanol-Wasser, 65:25:4).

Das 1,2-O-Dihexadecyl-sn-glycerol-3-phosphoryl-äthanolamin, das als Ausgangsstoff verwendet wird, ist ein kommerziell erhältliches synthetisches Präparat.

Beispiel 6: In analoger Weise zu Beispiel 1 erhält man N-Acetyl-desmethylnuramyl-L-alanyl-D-isoglutaminyl-2-(3'-palmitoyl-rac-glycero-1'-phosphoryl)-äthylamid, ausgehend von 3-Palmitoyl-rac-glycero-1-phosphoryl-äthanolamin und N-Acetyl-desmethylnuramyl-L-alanyl-D-isoglutamin-N-hydroxysuccinimidester. Rf-Wert im Dünnschichtchromatogramm auf Silicagel: 0,47 (in Chloroform-Methanol-Wasser, 65:25:4).

Das 3-Palmitoyl-rac-glycero-1-phosphoryl-äthanolamin, das als Ausgangsstoff verwendet wird, ist ein kommerziell erhältliches synthetisches Präparat.

Beispiel 7: In analoger Weise zu Beispiel 1 erhält man N-Acetyl-desmethylnuramyl-L-alanyl-D-isoglutaminyl-2-(1'-palmitoyl-2'-oleoyl-sn-glycero-3'-phosphoryl)-äthylamid, ausgehend von 1-Palmitoyl-2-oleoyl-sn-glycero-3-phosphoryl-äthanolamin und N-Acetyl-desmethylnuramyl-L-alanyl-D-isoglutamin-N-hydroxysuccinimidester. Rf-Wert im Dünnschichtchromatogramm auf Silicagel: 0,33 (in Chloroform-Methanol-Wasser, 65:24:4)

Das 1-Palmitoyl-2-oleoyl-sn-glycero-3-phosphoryl-äthanolamin, das als Ausgangsstoff verwendet wird, ist ein kommerziell erhältliches synthetisches Präparat.

Beispiel 8: In analoger Weise zu Beispiel 1 erhält man N-Acetyl-desmethylnuramyl-L-alanyl-D-isoglutaminyl-2-(1'-palmitoyl-propandiol-3'-phosphoryl)-äthylamid, ausgehend von 1-Palmitoyl-propandiol-3-phosphoryl-äthanolamin und N-Acetyl-desmethylnuramyl-L-alanyl-D-isoglutamin-N-hydroxysuccinimidester.

Rf-Wert im Dünnschichtchromatogramm auf Silicagel: 0,49 (in Chloroform-Methanol-Wasser, 65:25:4).

Das 1-Palmitoyl-propandiol-3-phosphoryl-äthanolamin, das als Ausgangsstoff verwendet wird, ist ein kommerziell erhältliches synthetisches Präparat.

Beispiel 9: In analoger Weise zu den vorstehenden Beispielen erhält man N-Acetylmuramyl-L-alanyl-D-isoglutaminyl-glycerophospholipid Derivate durch Kondensation von N-Acetylmuramyl-L-alanyl-D-isoglutamin mit folgenden Phospholipiden:

- 1,2-O-Hexadecyliden-sn-glycero-3-phosphoryl-äthanolamin,
- 1-Palmitoyl-2-oleoyl-sn-glycero-3-phosphoryl-äthanolamin,
- 3-Palmitoyl-rac-glycero-1-phosphoryl-äthanolamin,
- 1-Palmitoyl-propandiol-3-phosphoryl-äthanolamin.

Beispiel 10: In analoger Weise zu den vorstehenden Beispielen erhält man N-Acetylmuramyl-L-alanyl-D-isoglutaminyl-L-alanyl-glycerophospholipid Derivate durch Kondensation von N-Acetylmuramyl-L-alanyl-D-isoglutaminyl-L-alanin mit folgenden phospholipiden:

- 1,2-O-Hexadecyliden-sn-glycero-3-phosphoryl-äthanolamin
- 1-Palmitoyl-2-oleoyl-sn-glycero-3-phosphoryl-äthanolamin
- 3-Palmitoyl-rac-glycero-1-phosphoryl-äthanolamin
- 1-Palmitoyl-propandiol-3-phosphoryl-äthanolamin

Beispiel 11: In analoger Weise zu den vorstehenden Beispielen erhält man N-Acetyl-desmethylnuramyl-L-alanyl-D-isoglutaminyl-L-alanyl-glycerophospholipid Derivate durch Kondensation von N-Acetylmuramyl-L-alanyl-D-isoglutaminyl-L-alanin mit folgenden Phospholipiden:

- 1,2-Dipalmitoyl-sn-glycero-3-phosphoryl-äthanolamin,
- 1,2-O-Hexadecyliden-sn-glycero-3-phosphoryl-äthanolamin,
- 1-Palmitoyl-2-oleoyl-sn-glycero-3-phosphoryl-äthanolamin,
- 3-Palmitoyl-rac-glycero-1-phosphoryl-äthanolamin,
- 1-Palmitoyl-propandiol-3-phosphoryl-äthanolamin.

Ausgangsstoffe lassen sich wie folgt erhalten:

A) Zu einer Lösung von 6 g (10mM)

α -Benzyl-N-acetyl-muramyl-L-alanyl-D-isoglutamin und 1,75 ml (11mM) Bromessigsäurebenzylester in 100 ml Dimethylformamid werden unter Ausschluss von Feuchtigkeit und gutem Rühren 1,87 ml (11mM) N,N-Diisopropyl-äthylamin, gelöst in 50 ml Dimethylformamid, innert 1 1/4 Stunden zugetropft. Nach Rühren über Nacht bei Raumtemperatur wird das Reaktionsgemisch im Hochvakuum vom Dimethylformamid befreit und der Rückstand mit 100 ml Wasser versetzt. Das ausfallende Oel verfestigt sich rasch und kristallisiert durch. Nach Rühren im Eisbad wird die Suspension abgesaugt, die erhaltenen Kristalle mit etwas Wasser gewaschen und über phosphorpentoxid getrocknet.

Nach Resuspendieren der Kristalle in Petroläther, Filtrieren und Trocknen (50°) verbleiben 6,2 g (85% d.Th.) farbl. Kristalle, Fp. 194; 195-98° $[\alpha]_D^{20} + 1^\circ$ (C = 1,3; Methanol)

B) 6,5 g (8,85 mM) α -Benzyl-N-acetyl-muramyl-L-alanyl-D-isoglutamin - γ -benzyloxycarbonylmethylester werden in 200 ml Methanol/Wasser 1:1 in Gegenwart von 0,5 g Pd-Kohle/10%-ig während 40 Stunden (40°) mit Wasserstoff behandelt.

Das Reaktionsgemisch wird auf die übliche Weise vom Katalysator befreit und das Filtrat zur Trockne verdampft.

Das anfallende Oel wird in 75 ml sek. Butanol gesättigtem Wasser gelöst, 6 x mit je 50 ml mit Wasser gesättigtem sek. Butanol und 1 x mit Essigsäureäthylester extrahiert. Die organischen Phasen werden mit Wasser (s.o.) rückextrahiert und die bereinigten wässrigen Phasen nach Behandlung mit Kohle (Darco G 60) zur Trockene verdampft. Der Rückstand wird 2 x mit Wasser versetzt, eingedampft und schliesslich lyophilisiert

Man erhält 4,0 g (82% d.Th.) weisses Lyophilisat $[\alpha]_D^{20} + 34 \pm 1^\circ$ (C = 0,8; Wasser)

C) 6,1 g α -Benzyl-N-acetyl-muramyl-L-alanyl-D-isoglutamin und 3,5 g L-Alaninbenzylester-hydrochlorid werden in 30 ml Dimethylformamid gelöst, die Lösung auf 0° abgekühlt und nacheinander mit 1,4 ml Triäthylamin, 1,1 g N-Hydroxysuccinimid und schliesslich mit 2,3 g Dicyclohexylcarbodiimid versetzt.

Nach 48 stündigem Rühren bei Raumtemperatur wird die Suspension filtriert, der Niederschlag mit wenig Dimethylformamid gewaschen und das Filtrat im Hochvakuum zur Trockene verdampft. Der Rückstand wird in 100 ml Wasser bei 0° suspendiert, der Niederschlag abfiltriert und nach Trocknen aus Methanol/Wasser rekristallisiert.

Man erhält 5,5 g (74% d.Th.) $[\alpha]_D^{20} + 70 + 1^\circ$ (C = 0,5; Methanol)

D) 3,4 g α -Benzyl-N-acetyl-muramyl-L-alanyl-D-isoglutaminyl-L-alaninbenzylester, gelöst in 100 ml Methanol/Wasser 2:1, werden in Gegenwart von Pd-Kohle/10%-ig während 40 Stunden mit Wasserstoff behandelt. Der Katalysator wird abgesaugt, das Filtrat fast zur Trockene verdampft und der Rückstand nach Lösen in 40 ml mit sek. Butanol gesättigtem Wasser 3x mit je 40 ml wassergesättigtem sek. Butanol extrahiert. Nach Rückextraktion der organischen Phase mit Wasser (3x 40 ml, s.o.) werden die vereinigten Wasserextrakte eingedampft und lyophilisiert.

2,2 g (80% d.Th.) farbl. Pulver $[\alpha]_D^{20} + 9 + 1^\circ$ (C = 1,1; Wasser)

Beispiel 12: In analoger Weise werden die folgenden Verbindungen erhalten. (Ermittlung der Analysenwerte wie in Beispiel 1):

-N-Benzoyl-muramyl-L-alanyl-D-isoglutaminyl-2-(1',2'-dipalmitoyl-sn-glycero-3'-phosphoryl)-äthylamid

54
2 2 2 8 7 9 - 54 -

-N-Benzoyl-muramyl-L-alanyl-D-isoglutaminyl-2-(1'-palmitoyl-sn-glycero-3'-phosphoryl)-äthylamid

-N-Benzoyl-muramyl-L-alanyl-D-isoglutaminyl-2-(1'-palmitoyl-propandiol-3'-phosphoryl)-äthylamid

-N-Benzoyl-muramyl-L-alanyl-D-isoglutaminyl-2-(1',2'-dihexadecyl-rac-glycero-3'-phosphoryl)-äthylamid

-N-Benzoyl-muramyl-L-alanyl-D-isoglutaminyl-2-(1'-hexadecyl-rac-glycero-3'-phosphoryl)-äthylamid

-N-Benzoyl-muramyl-L-alanyl-D-isoglutaminyl-2-(1',3'-dipalmitoyl-glycero-2'-phosphoryl)-äthylamid

-N-Benzoyl-muramyl-L-alanyl-D-isoglutaminyl-L-alanyl-2-(1',2'-dipalmitoyl-sn-glycero-3'-phosphoryl)-äthylamid

-N-Benzoyl-muramyl-L-alanyl-D-isoglutaminyl-L-alanyl-2-(1'-palmitoyl-sn-glycero-3'-phosphoryl)-äthylamid

-N-Benzoyl-muramyl-L-alanyl-D-isoglutaminyl-L-alanyl-2-(1'-palmitoyl-propandiol-3'-phosphoryl)-äthylamid

-N-Benzoyl-muramyl-L-alanyl-D-isoglutaminyl-L-alanyl-2-(1',2'-dihexadecyl-rac-glycero-3'-phosphoryl)-äthylamid

-N-Benzoyl-muramyl-L-alanyl-D-isoglutaminyl-L-alanyl-2-(1'-hexadecyl-rac-glycero-3'-phosphoryl)-äthylamid

2 2 2 8 7 9

55
- 31 -

- N-Benzoyl-muramyl-L-alanyl-D-isoglutaminyl-L-alanyl-2-(1',3'-dipalmitoyl-glycerol-2'-phosphoryl)-äthylamid,
- N-Benzoyl-muramyl-L-alanyl-D-glutaminyl-L-alanyl-2-(1',2'-dipalmitoyl-sn-glycerol-3'-phosphoryl)-äthylamid,
- N-Benzoyl-muramyl-L-alanyl-D-glutaminyl-L-alanyl-2-(1'-palmitoyl-sn-glycerol-3'-phosphoryl)-äthylamid,
- N-Benzoyl-muramyl-L-alanyl-D-glutaminyl-L-alanyl-2-(1'-palmitoyl-propandiol-3'-phosphoryl)-äthylamid,
- N-Benzoyl-muramyl-L-alanyl-D-glutaminyl-L-alanyl-2-(1',2'-dihexadecyl-rac-glycerol-3'-phosphoryl)-äthylamid,
- N-Benzoyl-muramyl-L-alanyl-D-glutaminyl-L-alanyl-2-(1'-hexadecyl-rac-glycerol-3'-phosphoryl)-äthylamid,
- N-Benzoyl-muramyl-L-alanyl-D-glutaminyl-L-alanyl-2-(1',3'-dipalmitoyl-glycerol-2'-phosphoryl)-äthylamid,
- N-Acetyl-desmethylnuramyl-L-seryl-D-isoglutaminyl-2-(1',2'-dipalmitoyl-sn-glycerol-3'-phosphoryl)-äthylamid,
- N-Acetyl-desmethylnuramyl-L-seryl-D-isoglutaminyl-2-(1'-palmitoyl-sn-glycerol-3'-phosphoryl)-äthylamid,
- N-Acetyl-desmethylnuramyl-L-seryl-D-isoglutaminyl-2-(1'-palmitoyl-propandiol-3'-phosphoryl)-äthylamid,
- N-Acetyl-desmethylnuramyl-L-seryl-D-isoglutaminyl-2-(1',2'-dihexadecyl-rac-glycerol-3'-phosphoryl)-äthylamid,

-N-Acetyl-desmethylnuramyl-L-seryl-D-isoglutaminy1-2-(1'-hexadecyl-rac-glycero-3'-phosphoryl)-äthylamid,

-N-Acetyl-desmethylnuramyl-L-seryl-D-isoglutaminy1-2-(1',3'-dipalmitoyl-glycero-2'-phosphoryl)-äthylamid,

-N-Acetyl-desmethylnuramyl-L-seryl-D-isoglutaminy1-L-alany1-2-(1',2'-dipalmitoyl-sn-glycero-3'-phosphoryl)-äthylamid,

-N-Acetyl-desmethylnuramyl-L-seryl-D-isoglutaminy1-L-alany1-2-(1'-palmitoyl-sn-glycero-3'-phosphoryl)-äthylamid,

-N-Acetyl-desmethylnuramyl-L-seryl-D-isoglutaminy1-L-alany1-2-(1'-palmitoyl-propandiol-3'-phosphoryl)-äthylamid,

-N-Acetyl-desmethylnuramyl-L-seryl-D-isoglutaminy1-L-alany1-2-(1',2'-dihexadecyl-rac-glycero-3'-phosphoryl)-äthylamid,

-N-Acetyl-desmethylnuramyl-L-seryl-D-isoglutaminy1-L-alany1-2-(1'-hexadecyl-rac-glycero-3'-phosphoryl)-äthylamid,

-N-Acetyl-desmethylnuramyl-L-seryl-D-isoglutaminy1-L-alany1-2-(1',3'-dipalmitoyl-glycero-2'-phosphoryl)-äthylamid,

-N-Acetyl-desmethylnuramyl-L-seryl-D-glutaminy1-L-alany1-2-(1',2'-dipalmitoyl-sn-glycero-3'-phosphoryl)-äthylamid,

-N-Acetyl-desmethylnuramyl-L-seryl-D-glutaminy1-L-alany1-2-(1'-palmitoyl-sn-glycero-3'-phosphoryl)-äthylamid,

-N-Acetyl-desmethylnuramyl-L-seryl-D-glutaminy1-L-alany1-2-(1'-palmitoyl-propandiol-3'-phosphoryl)-äthylamid,

- N-Acetyl-desmethylnuramyl-L-seryl-D-glutaminy-L-alanyl-2-(1',2'-dihexadecyl-rac-glycero-3'-phosphoryl)-äthylamid,
- N-Acetyl-desmethylnuramyl-L-seryl-D-glutaminy-L-alanyl-2-(1'-hexadecyl-rac-glycero-3'-phosphoryl)-äthylamid,
- N-Acetyl-desmethylnuramyl-L-seryl-D-glutaminy-L-alanyl-2-(1',3'-dipalmitoyl-glycero-2'-phosphoryl)-äthylamid,
- N-Acetyl-desmethylnuramyl-L- α -aminobutyryl-D-isoglutaminy-2-(1',2'-dipalmitoyl-sn-glycero-3'-phosphoryl)-äthylamid,
- N-Acetyl-desmethylnuramyl-L- α -aminobutyryl-D-isoglutaminy-2-(1'-palmitoyl-sn-glycero-3'-phosphoryl)-äthylamid,
- N-Acetyl-desmethylnuramyl-L- α -aminobutyryl-D-isoglutaminy-2-(1'-palmitoyl-propandiol-3'-phosphoryl)-äthylamid,
- N-Acetyl-desmethylnuramyl-L- α -aminobutyryl-D-isoglutaminy-2-(1',2'-dihexadecyl-rac-glycero-3'-phosphoryl)-äthylamid,
- N-Acetyl-desmethylnuramyl-L- α -aminobutyryl-D-isoglutaminy-2-(1'-hexadexyl-rac-glycero-3'-phosphoryl)-äthylamid,
- N-Acetyl-desmethylnuramyl-L- α -aminobutyryl-D-isoglutaminy-2-(1',3'-dipalmitoyl-glycero-2'-phosphoryl)-äthylamid,
- N-Acetyl-desmethylnuramyl-L- α -aminobutyryl-D-isoglutaminy-L-alanyl-2-(1',2'-dipalmitoyl-sn-glycero-3'-phosphoryl)-äthylamid,
- N-Acetyl-desmethylnuramyl-L- α -aminobutyryl-D-isoglutaminy-L-alanyl-2-(1'-palmitoyl-sn-glycero-3'-phosphoryl)-äthylamid,

-N-Acetyl-desmethylnuramyl-L- α -aminobutyryl-D-isoglutaminyl-L-alanyl-2-(1'-palmitoyl-propandiol-3'-phosphoryl)-äthylamid,

-N-Acetyl-desmethylnuramyl-L- α -aminobutyryl-D-isoglutaminyl-L-alanyl-2-(1',2'-dihexadecyl-rac-glycerol-3'-phosphoryl)-äthylamid,

-N-Acetyl-desmethylnuramyl-L- α -aminobutyryl-D-isoglutaminyl-L-alanyl-2-(1'-hexadecyl-rac-glycerol-3'-phosphoryl)-äthylamid,

-N-Acetyl-desmethylnuramyl-L- α -aminobutyryl-D-isoglutaminyl-L-alanyl-2-(1',3'-dipalmitoyl-glycerol-2'-phosphoryl)-äthylamid,

-N-Acetyl-desmethylnuramyl-L- α -aminobutyryl-D-glutaminyl-L-alanyl-2-(1',2'-dipalmitoyl-sn-glycerol-3'-phosphoryl)-äthylamid,

-N-Acetyl-desmethylnuramyl-L- α -aminobutyryl-D-glutaminyl-L-alanyl-2-(1'-palmitoyl-sn-glycerol-3'-phosphoryl)-äthylamid,

-N-Acetyl-desmethylnuramyl-L- α -aminobutyryl-D-glutaminyl-L-alanyl-2-(1'-palmitoyl-propandiol-3'-phosphoryl)-äthylamid,

-N-Acetyl-desmethylnuramyl-L- α -aminobutyryl-D-glutaminyl-L-alanyl-2-(1',2'-dihexadecyl-rac-glycerol-3'-phosphoryl)-äthylamid,

-N-Acetyl-desmethylnuramyl-L- α -aminobutyryl-D-glutaminyl-L-alanyl-2-(1'-hexadecyl-rac-glycerol-3'-phosphoryl)-äthylamid,

-N-Acetyl-desmethylnuramyl-L- α -aminobutyryl-D-glutaminyl-L-alanyl-2-(1',3'-dipalmitoyl-glycerol-2'-phosphoryl)-äthylamid,

-N-Acetyl-muramyl-L- α -aminobutyryl-D-isoglutaminyl-2-(1',2'-dipalmitoyl-sn-glycerol-3'-phosphoryl)-äthylamid,

-N-Acetyl-muramyl-L- α -aminobutyryl-D-isoglutaminyl-2-(1'-palmitoyl-sn-glycero-3'-phosphoryl)-äthylamid,

-N-Acetyl-muramyl-L- α -aminobutyryl-D-isoglutaminyl-2-(1'-palmitoyl-propandiol-3'-phosphoryl)-äthylamid,

-N-Acetyl-muramyl-L- α -aminobutyryl-D-isoglutaminyl-2-(1',2'-dihexadecyl-rac-glycero-3'-phosphoryl)-äthylamid,

-N-Acetyl-muramyl-L- α -aminobutyryl-D-isoglutaminyl-2-(1'-hexadecyl-rac-glycero-3'-phosphoryl)-äthylamid,

-N-Acetyl-muramyl-L- α -aminobutyryl-D-isoglutaminyl-2-(1',3'-dipalmitoyl-glycero-2'-phosphoryl)-äthylamid,

-N-Acetyl-muramyl-L- α -aminobutyryl-D-isoglutaminyl-L-alanyl-2-(1',2'-dipalmitoyl-sn-glycero-3'-phosphoryl)-äthylamid,

-N-Acetyl-muramyl-L- α -aminobutyryl-D-isoglutaminyl-L-alanyl-2-(1'-palmitoyl-sn-glycero-3'-phosphoryl)-äthylamid,

-N-Acetyl-muramyl-L- α -aminobutyryl-D-isoglutaminyl-L-alanyl-2-(1'-palmitoyl-propandiol-3'-phosphoryl)-äthylamid,

-N-Acetyl-muramyl-L- α -aminobutyryl-D-isoglutaminyl-L-alanyl-2-(1',2'-dihexadecyl-rac-glycero-3'-phosphoryl)-äthylamid,

-N-Acetyl-muramyl-L- α -aminobutyryl-D-isoglutaminyl-L-alanyl-2-(1'-hexadecyl-rac-glycero-3'-phosphoryl)-äthylamid,

-N-Acetyl-muramyl-L- α -aminobutyryl-D-isoglutaminyl-L-alanyl-2-(1',3'-dipalmitoyl-glycero-2'-phosphoryl)-äthylamid,

2 2 2 8 7 9

60
- 56 -

-N-Acetyl-muramyl-L- α -aminobutyryl-D-glutaminy-L-alanyl-2-(1',2'-dipalmitoyl-sn-glycero-3'-phosphoryl)-äthylamid,

-N-Acetyl-muramyl-L- α -aminobutyryl-D-glutaminy-L-alanyl-2-(1'-palmitoyl-sn-glycero-3'-phosphoryl)-äthylamid,

-N-Acetyl-muramyl-L- α -aminobutyryl-D-glutaminy-L-alanyl-2-(1'-palmitoyl-propandiol-3'-phosphoryl)-äthylamid,

-N-Acetyl-muramyl-L- α -aminobutyryl-D-glutaminy-L-alanyl-2-(1',2'-dihexadecyl-rac-glycero-3'-phosphoryl)-äthylamid,

-N-Acetyl-muramyl-L- α -aminobutyryl-D-glutaminy-L-alanyl-2-(1'-hexadecyl-rac-glycero-3'-phosphoryl)-äthylamid,

-N-Acetyl-muramyl-L- α -aminobutyryl-D-glutaminy-L-alanyl-2-(1',3'-dipalmitoyl-glycero-2'-phosphoryl)-äthylamid,

-N-Acetyl-desmethylnuramyl-L-alanyl-D-glutamyl- α -glycinamid- γ -2-(1',2'-dipalmitoyl-sn-glycero-3'-phosphoryl)-äthylamid,

-N-Acetyl-desmethylnuramyl-L-alanyl-D-glutamyl- α -glycinamid- γ -L-alanyl-2-(1',2'-dipalmitoyl-sn-glycero-3'-phosphoryl)-äthylamid,

-N-Acetyl-desmethylnuramyl-L-alanyl-D-glutaminy-L-alanyl-2-(1',2'-dipalmitoyl-sn-glycero-3'-phosphoryl)-äthylamid,

-N-Acetyl-desmethylnuramyl-L-alanyl-D-glutaminy-2-(1',2'-dipalmitoyl-sn-glycero-3'-phosphoryl)-äthylamid,

-N-Acetyl-desmethylnuramyl-L-seryl-D-glutaminy-2-(1',2'-dipalmitoyl-sn-glycero-3'-phosphoryl)-äthylamid,

2 2 2 8 7 9

- 57 -

-N-Acetyl-desmethylnuramyl-L- α -aminobutyryl-D-glutaminy1-2-(1',2'-dipalmitoyl-sn-glycero-3'-phosphoryl)-äthylamid,

-N-Acetylnuramyl-L- α -aminobutyryl-D-glutaminy1-2-(1',2'-dipalmitoyl-sn-glycero-3'-phosphoryl)-äthylamid,

-N-Acetyl-muramyl-L-valyl-D-isoglutaminy1-2-(1',2'-dipalmitoyl-sn-glycero-3'-phosphoryl)-äthylamid,

N-Acetyl-muramyl-L-valyl-D-isoglutaminy1-L-alanyl-2-(1',2'-dipalmitoyl-sn-glycero-3'-phosphoryl)-äthylamid,

-N-Propionyl-normuramyl-L-alanyl-D-isoglutaminy1-2-(1',2'-dipalmitoyl-sn-glycero-3'-phosphoryl)-äthylamid,

-N-Propionyl-normuramyl-L-alanyl-D-isoglutaminy1-L-alanyl-2-(1',2'-dipalmitoyl-sn-glycero-3'-phosphoryl)-äthylamid,

-N-Acetyl-muramyl-L-prolyl-D-isoglutaminy1-2-(1',2'-dipalmitoyl-sn-glycero-3'-phosphoryl)-äthylamid,

-N-Acetyl-muramyl-L-prolyl-D-isoglutaminy1-L-alanyl-2-(1',2'-dipalmitoyl-sn-glycero-3'-phosphoryl)-äthylamid,

-N-Benzoyl-normuramyl-L- α -aminobutyryl-D-isoglutaminy1-2-(1',2'-dipalmitoyl-sn-glycero-3'-phosphoryl)-äthylamid,

-N-Benzoyl-normuramyl-L- α -aminobutyryl-D-isoglutaminy1-L-alanyl-2-(1',2'-dipalmitoyl-sn-glycero-3'-phosphoryl)-äthylamid,

-N-Acetyl-muramyl-L-threonyl-D-isoglutaminy1-2-(1',2'-dipalmitoyl-sn-glycero-3'-phosphoryl)-äthylamid,

-N-Acetyl-muramyl-L-threonyl-D-isoglutaminy1-L-alanyl-2-(1',2'-dipalmitoyl-sn-glycero-3'-phosphoryl)-äthylamid.

2 2 2 8 7 9

- 58 -

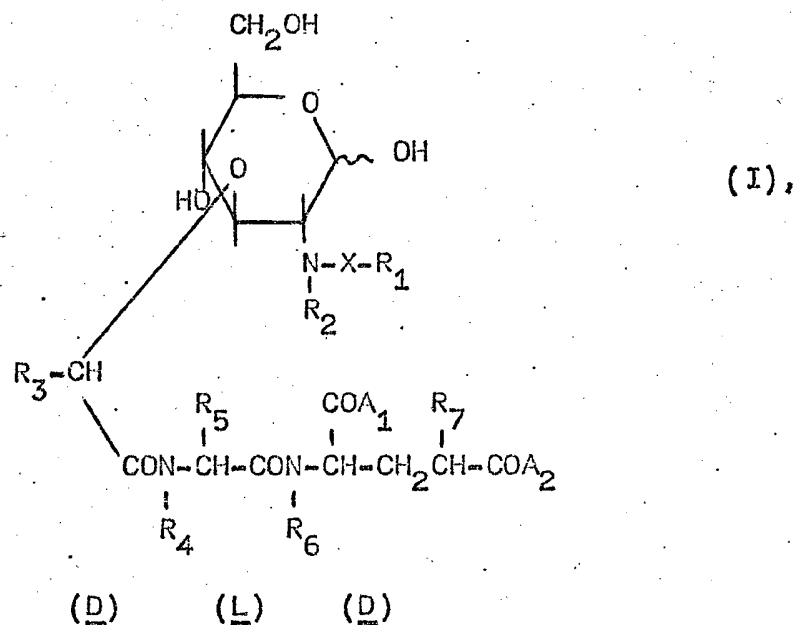
16.12.1980

AP C 07 C/222 879

57 926/11

Erfindungsanspruch

1. Verfahren zur Herstellung von Muramylpeptiden der Formel



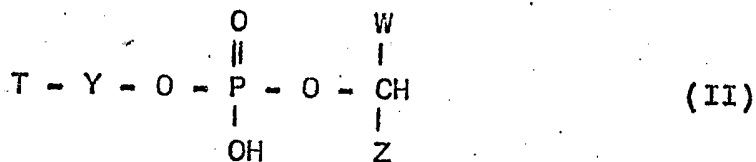
worin X Carbonyl oder Carbonyloxy, R_1 gegebenenfalls substituiertes Alkyl oder Aryl, R_2 , R_4 und R_6 Wasserstoff oder Niederalkyl, R_3 Wasserstoff oder Niederalkyl, R_5 Wasserstoff, Niederalkyl, freies oder funktionell abgewandeltes Hydroxyniederalkyl, freies oder funktionell abgewandeltes Mercaptoniederalkyl, gegebenenfalls substituiertes Aminoniederalkyl, Cycloalkyl, Cycloalkyl-niederalkyl, gegebenenfalls substituiertes Aryl oder Aralkyl, stickstoffhaltiges Heterocyclyl oder Heterocyclyl-niederalkyl oder R_4 und R_5 zusammen auch Alkylen mit 3 bis 4 Kohlenstoffatomen, R_7 Wasserstoff oder gegebenenfalls verestertes oder amidiertes Carboxyl und einer der Reste A_1 und A_2 einen Rest der Formel

2 2 2 8 7 9 - 63
- 59 -

16.12.1980

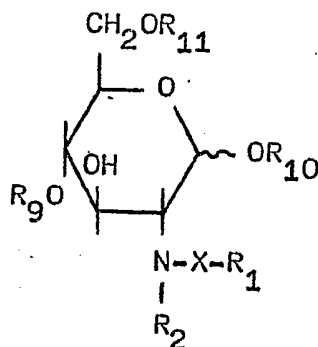
AP C 07 C/222 879

57 926/11



bedeutet, worin T für -HN oder -O steht, Y eine gegebenenfalls substituierte Alkylengruppe, die auch durch ein oder zwei Oxycarbonyl und/oder Aminocarbonyl unterbrochen sein kann, W Wasserstoff und Z eine 1,2-Dihydroxyäthyl- oder 2-Hydroxyäthylgruppe, in der mindestens eine der Hydroxygruppen mit einer gegebenenfalls ungesättigten, langkettigen aliphatischen Carbonsäure verestert oder mit einem gegebenenfalls ungesättigten, langkettigen aliphatischen Alkohol veräthert ist, oder W und Z je eine mit einer gegebenenfalls ungesättigten, langkettigen aliphatischen Carbonsäure veresterte oder mit einem gegebenenfalls ungesättigten, langkettigen aliphatischen Alkohol verätherte Hydroxymethylgruppe darstellen und der andere der Reste A₁ und A₂ freies oder veräthertes Hydroxy, Amino, Niederalkylamino oder Carboxamidoniederalkylamin ist, und ihren Salzen, gekennzeichnet dadurch, daß man in an sich bekannter Weise

a) eine Verbindung der Formel



(V),

16.12.1980

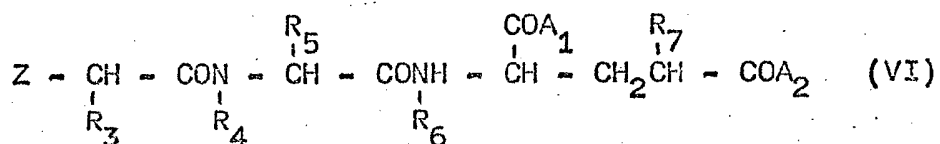
AP C 07 C/222 879

57 926/11

2 2 2 8 7 9

⁶⁴
- 59a -

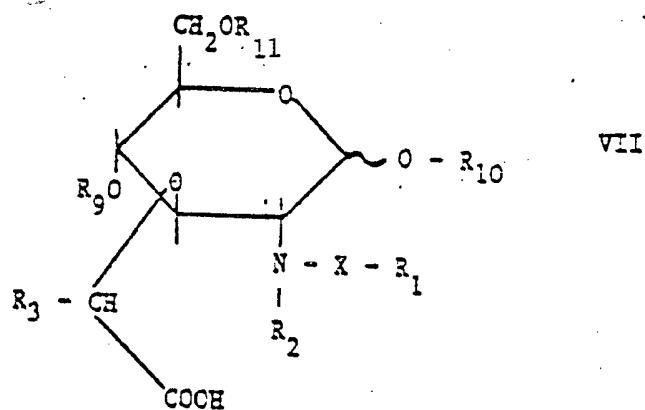
worin X, R₁, R₂ die oben genannte Bedeutung haben und gegebenenfalls darin vorhandene Hydroxygruppen mit einer leicht abspaltbaren Schutzgruppe geschützt sind, R₉, R₁₀ und R₁₁ eine leicht abspaltbare Schutzgruppe bedeuten oder eine Metallverbindung davon mit einer Verbindung der Formel



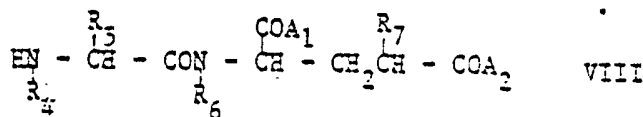
2 2 2 8 7 9 ⁶⁵ - 60 -

umsetzt, worin Z eine reaktionsfähig veresterte Hydroxygruppe darstellt, R_3, R_4, R_5, R_6, R_7 ; A_1 und A_2 die oben angegebene Bedeutung haben und gegebenenfalls darin vorhandene Hydroxygruppen durch eine leicht abspaltbare Schutzgruppe geschützt sind, und vorhandene Schutzgruppen abspaltet, oder

b) eine Verbindung der Formel



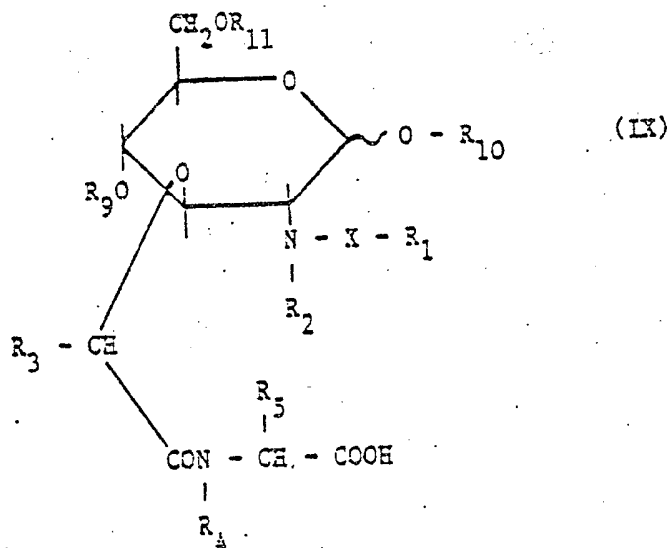
worin X, R_1, R_2 und R_3 die obgenannte Bedeutung besitzen und R_9, R_{10} und R_{11} für Wasserstoff oder eine leicht abspaltbare Schutzgruppe stehen, oder ein Derivat davon, mit einer Verbindung der Formel



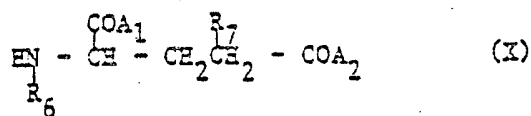
worin R_4, R_5, R_6, R_7, A_1 und A_2 die obgenannte Bedeutung besitzen, mit der Massgabe, dass in diesen Resten vorhandene Carboxy- und, wenn erwünscht, freie Hydroxygruppen durch leicht abspaltbare Schutzgruppen geschützt sind, oder ein Derivat davon, kondensiert und vorhandene Schutzgruppen abspaltet, oder

222879 - ⁶⁶61 -

c) eine Verbindung der Formel



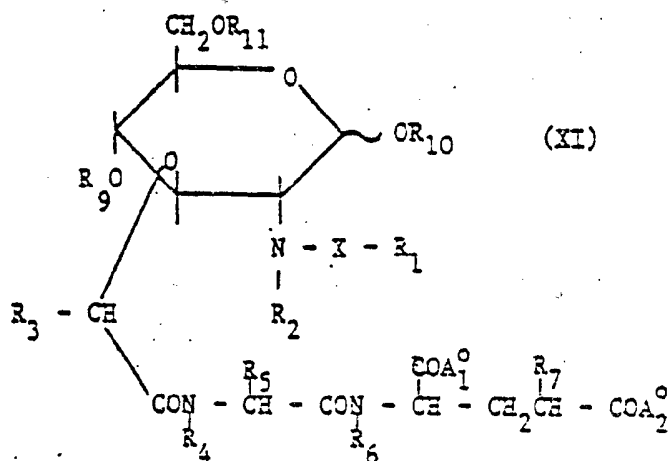
worin X, R₁, R₂, R₃, R₄ und R₅ die obengenannte Bedeutung haben, mit der Massgabe, dass darin enthaltene freie Hydroxygruppen gegebenenfalls mit einer leicht abspaltbaren Schutzgruppe geschützt sind und R₉, R₁₀ und R₁₁ Wasserstoff oder leicht abspaltbare Schutzgruppen darstellen oder Derivate davon mit einer Verbindung der Formel



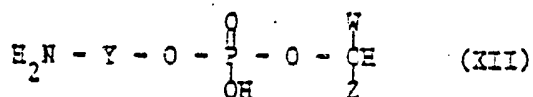
worin R₆, R₇, A₁ und A₂ die obgenannte Bedeutung haben, mit der Massgabe, dass in den Resten R₇, A₁ und A₂ vorhandene freie Carboxylgruppen durch leicht abspaltbare Schutzgruppen geschützt sind, kondensiert und vorhandene Schutzgruppen abspaltet, oder

2 2 2 8 7 9 - 67 - 62 -

d) eine Verbindung der Formel

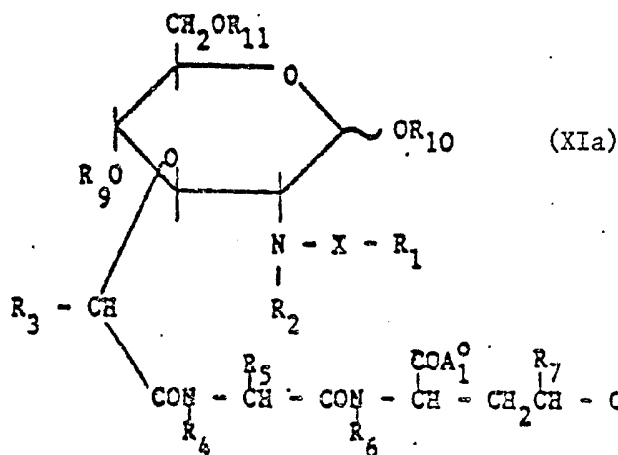


worin X, R₁, R₂, R₃, R₄, R₅, R₆ und R₇ die obgenannte Bedeutung haben, R₃, R₉ und R₁₀ Wasserstoff oder eine leicht abspaltbare Schutzgruppe darstellen und einer der Reste A₁^O und A₂^O eine aktivierte Hydroxygruppe darstellt und der andere veräthertes Hydroxy, Amino, Niederalkylamino oder Carboxamidniederalkylamino ist, mit einer Verbindung der Formel

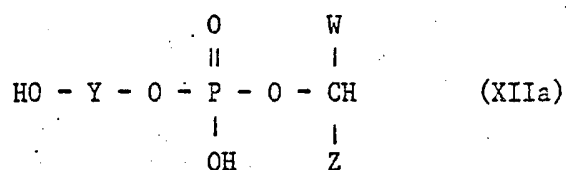


worin Y, W und Z die obgenannte Bedeutung besitzen, kondensiert, oder

e) eine Verbindung der Formel

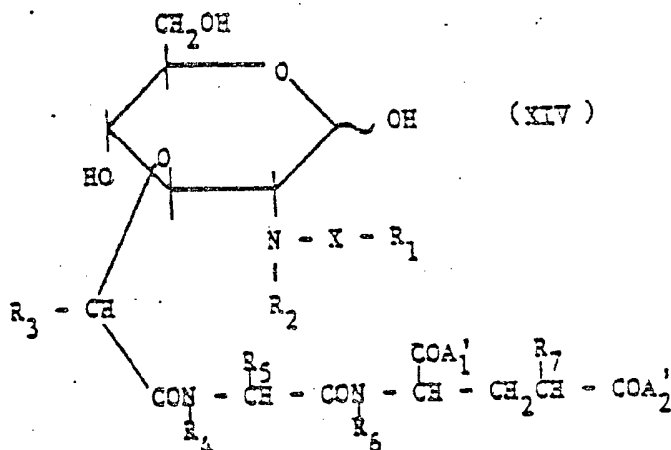


worin X, R₁, R₂, R₃, R₄, R₅, R₆ und R₇ die obgenannte Bedeutung haben, R₈, R₉ und R₁₀ Wasserstoff oder eine leicht abspaltbare Schutzgruppe darstellen und einer der Reste A₁^O und A₂^O eine Hydroxygruppe darstellt und der andere veräthertes Hydroxy, Amino, Niederalkylamino oder Carboxamidoniederalkylamino ist, mit einer Verbindung der Formel

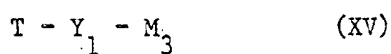


worin Y, W und Z die obgenannte Bedeutung besitzen, wobei die Säure XIa oder der Alkohol XIIa) in reaktionsfähiger Form vorliegt, und gegebenenfalls vorhandene Schutzgruppen abspaltet, oder

f) eine Verbindung der Formel

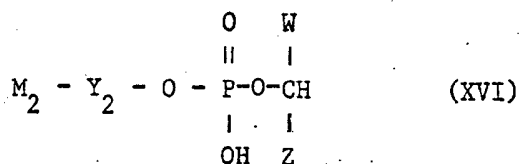


worin eine der Reste A₁' und A₂' einen Rest der Formel



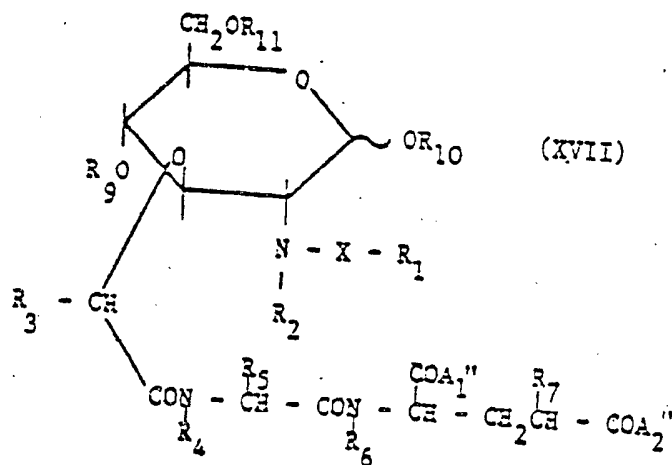
2 2 2 8 7 9 - ⁶⁹ 64 -

und der andere der Reste A_1' und A_2' veräthertes Hydroxy oder Amino, Niederalkylamino oder Carboxamidoniederalkyl ist, und einer Verbindung der Formel



worin $X_1, R_1, R_3, R_4, R_5, R_6, R_7, Y_1, Y_2, W$ und Z die oben genannten Bedeutungen haben und darin vorhandene Hydroxygruppen gegebenenfalls durch leicht abspaltbare Schutzgruppen geschützt sind und einer der Reste M_1 und M_2 eine freie Aminogruppe oder ein aktiviertes Derivat davon und der andere eine Carbonsäuregruppe oder ein aktiviertes Derivat davon bedeutet, kondensiert und gegebenenfalls vorhandene Schutzgruppen abspaltet, oder

g) eine Verbindung der Formel

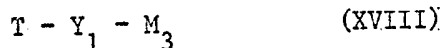


222879

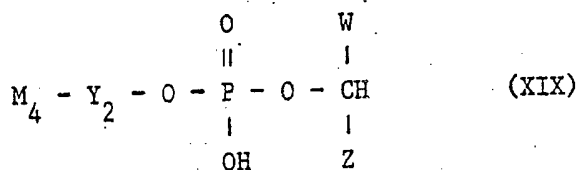
70

- 65 -

worin eine der Reste A_1'' und A_2'' einen Rest der Formel

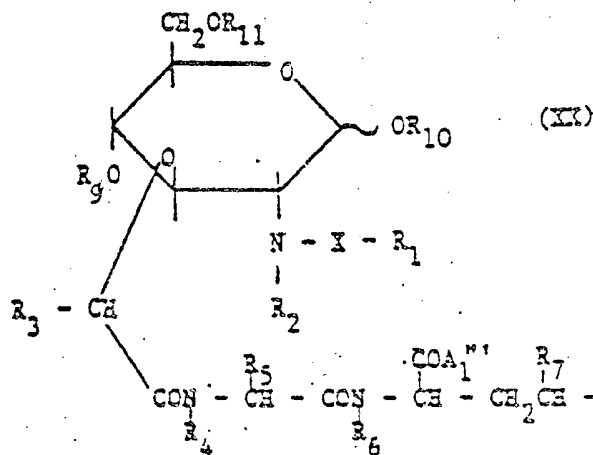


mit einer Verbindung der Formel



worin X , R_1 , R_3 , R_4 , R_5 , R_6 , R_7 , T , Y_1 , Y_2 , W und Z die oben genannte Bedeutung haben und gegebenenfalls darin vorhandene Hydroxygruppen durch leicht abspaltbare Schutzgruppen geschützt sind, R_9 , R_{10} und R_{11} leicht abspaltbare Schutzgruppen darstellen, und der andere der Reste A_1'' und A_2'' veräthertes Hydroxy, Amino, Niederalkylamino oder Carboxamidoniederalkyl ist, und einer der Reste M_3 und M_4 eine freie Hydroxygruppe und der andere eine freie Carboxylgruppe darstellt, wobei gegebenenfalls einer der beiden Reste M_3 und M_4 in reaktionsfähiger Form vorliegt, verestert und gegebenenfalls vorhandene Schutzgruppen abspaltet, oder

h) eine Verbindung der Formel



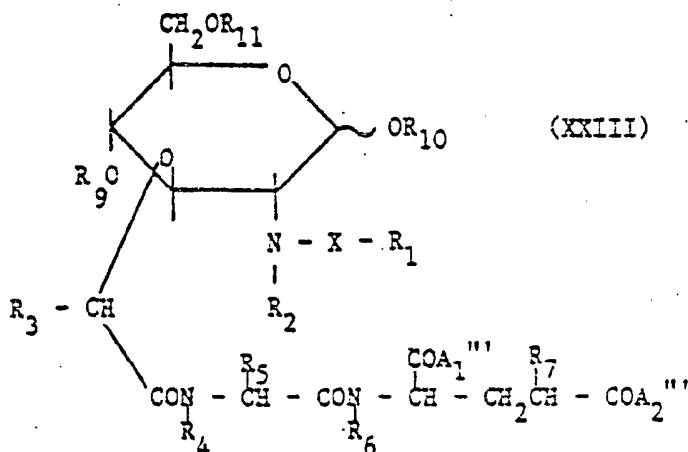
222879 - 71 - 66 -

worin X , R_1 , R_2 , R_3 , R_4 , R_5 , R_6 und R_7 die obgenannte Bedeutung haben und gegebenenfalls darin vorhandene Hydroxygruppen mit einer leicht abspaltbaren Schutzgruppe geschützt wird, R_9 , R_{10} und R_{11} leicht abspaltbare Schutzgruppen bedeuten und einer der Reste A_1''' und A_2''' für $T-Y-OH$ steht, worin Y , T und der andere der Reste A_1''' und A_2''' die obgenannten Bedeutungen besitzen, und einer den Rest der Formel



worin M_5 Wasserstoff, Hydroxy oder Oxo bedeutet, abgebenden Verbindung umgesetzt, falls M_5 Wasserstoff oder Hydroxy ist, mit einem schwachen Oxydationsmittel oxydiert, und vorhandene Schutzgruppen abspaltet, oder

i) eine Verbindung der Formel



worin X , R_1 , R_2 , R_3 , R_4 , R_5 , R_6 , R_7 die obgenannten Bedeutungen besitzen und gegebenenfalls darin vorhandene Hydroxygruppe mit einer leicht abspaltbaren Schutzgruppe geschützt sind, R_9 , R_{10} und R_{11} leicht abspaltbare Schutzgruppen bedeuten und einer der Reste A_1''' und A_2'''

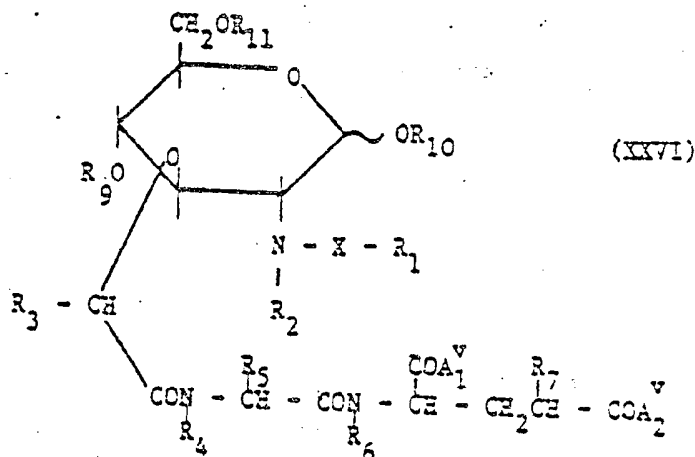
222879 - 67 -

$\begin{array}{c} M_5 \\ | \\ T-Y-OP \end{array}$ (XXIV) und der andere für freies oder veräthertes Hydroxy,
 $\begin{array}{c} | \\ OM_6 \end{array}$
 Amino, Niederalkylamino oder Carboxamidoniederalkylamino steht,
 worin T, Y und M_6 die obgenannte Bedeutung besitzt und M_5 Wasserstoff, Hydroxy oder Oxo bedeutet, mit einer Verbindung der Formel



worin W und Z die obgenannte Bedeutung besitzen, umsetzt, falls
 M_5 Wasserstoff oder Hydroxy ist, mit einem schwachen Oxydationsmittel
 oxydiert, und vorhandene Schutzgruppen abspaltet, oder

k) eine Verbindung der Formel



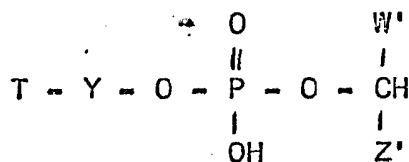
worin X, R_1 , R_2 , R_3 , R_4 , R_5 , R_6 , R_7 die obgenannte Bedeutung haben und
 gegebenenfalls davon vorhandene Hydroxygruppe mit einer leicht
 abspaltbaren Schutzgruppe geschützt wird, R_9 , R_{10} und R_{11} leicht
 abspaltbare Schutzgruppen bedeuten und einer der Reste A_1^v und A_2^v
 für

16.12.1980

AP C 07 C/222 879

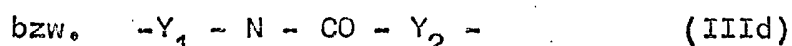
57 926/11

222879 - 68 -



stehen und der andere für freies oder veräthertes Hydroxy, Amino, Niederalkylamino oder Carboxamidoniederalkylamin mit einer gegebenenfalls ungesättigten, langkettigen aliphatischen Carbonsäure verestert oder mit einem gegebenenfalls ungesättigten langkettigen aliphatischen Alkohol veräthert und die Schutzgruppe abgespalten oder

- 1) in einer Verbindung der Formel I, in der eine oder mehrere funktionelle Gruppen durch Schutzgruppen geschützt sind, diese Schutzgruppen abgespalten und, wenn erwünscht, eine erhaltene Verbindung der Formel I in ihre Salze überführt.
2. Verfahren nach Punkt 1, gekennzeichnet dadurch, daß man Muramylpeptide herstellt, worin Y ein Niederalkylenrest, vorzugsweise mit 2 bis 3 Kohlenstoffatomen, ist.
3. Verfahren nach Punkt 1, gekennzeichnet dadurch, daß man Muramylpeptide herstellt, worin Y einen Rest der Formel



darstellt, worin einer der Reste Y_1 und Y_2 ein gegebenen-

16.12.1980

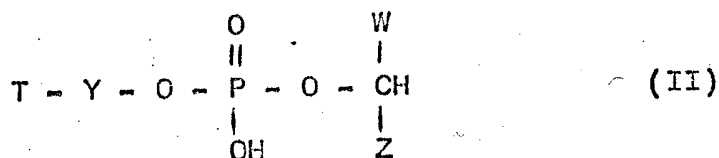
AP C 07 C/222 879

57 926/11

2 2 2 8 7 9 - ⁷⁴69 -

falls substituierter Niederalkylenrest und der andere ein gegebenenfalls substituierter Niederalkylenrest, der auch durch Oxycarbonyl oder -N-R₈- Carboxamido unterbrochen sein kann, und Y₁ und Y₂ zusammen mehr als zwei Kohlenstoffatome aufweisen und R₈ Wasserstoff oder Niederalkyl ist.

4. Verfahren nach Punkt 1, gekennzeichnet dadurch, daß man Muramylpeptide der Formel I herstellt, worin X Carbonyl, R₁ gegebenenfalls substituiertes Alkyl oder Aryl, R₂, R₃, R₄ und R₆ Wasserstoff oder Niederalkyl, R₅ Wasserstoff, gegebenenfalls durch Hydroxy, Niederalkoxy, Mercapto oder Niederalkylmercapto oder Halogen substituiertes Niederalkyl, Cycloalkyl oder Cycloalkylniederalkyl, worin der Cycloalkylrest 4 bis 6 Kohlenstoffatome enthält, gegebenenfalls substituiertes Phenyl oder Phenylniederalkyl, ein oder zwei Azaatome enthaltendes Heterocyclyl oder Heterocyclyniederalkyl oder R₄ und R₅ zusammen auch Alkylen mit 3 bis 4 Kohlenstoffatomen, R₇ Wasserstoff und einer der Reste A₁ und A₂ einen Rest der Formel



bedeuten, worin T für -HN oder -O steht, Y gegebenenfalls substituiertes Alkylen, das auch durch Carboxy oder Carboxyamido unterbrochen sein kann, W Wasserstoff und Z eine 1,2-Dihydroxyäthyl- oder 2-Hydroxyäthylgruppe darstellt, in der mindestens eine der Hydroxygruppen in der oben angegebenen Weise verestert oder veräthert ist, und der andere der Reste A₁ und A₂ Hydroxy, Niederalkoxy, Amino, Niederalkylamino oder Carboxamidoniederalkylamino ist.

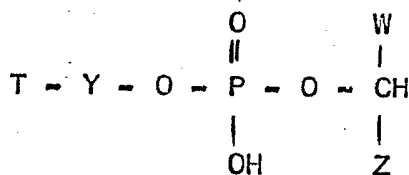
16.12.1980

AP C 07 C/222 879

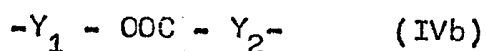
57 926/11

2 2 2 8 7 9 - ⁷⁵70 -

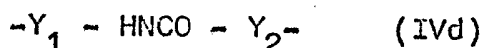
5. Verfahren nach Punkt 1, gekennzeichnet dadurch, daß man Muramylpeptide der Formel I herstellt, worin X Carbonyl, R_1 gegebenenfalls durch Hydroxy, Niederalkoxy oder Halogen substituiertes Niederalkyl oder gegebenenfalls durch Hydroxy, Niederalkoxy, Niederalkyl oder Halogen substituiertes Phenyl, R_2 , R_4 und R_6 Wasserstoff, R_3 Wasserstoff oder Niederalkyl, R_5 Wasserstoff, gegebenenfalls durch Hydroxy, Niederalkoxy, Mercapto, Niederalkylmercapto oder Halogen substituiertes Niederalkyl mit 1 bis 3 Kohlenstoffatomen, Cycloalkyl oder Cycloalkylniederalkyl, worin der Cycloalkylrest 4 bis 6 Kohlenstoffatome und der Niederalkylrest 1 bis 3 Kohlenstoffatome enthält, gegebenenfalls durch Hydroxy, Niederalkoxy oder Halogen substituiertes Phenyl oder Phenylniederalkyl mit 1 bis 3 Kohlenstoffatomen im Niederalkylrest, ein oder zwei Azaatome enthaltendes Heterocyclyl oder Heterocyclyniederalkyl mit 5 bis 6 Ringgliedern und 1 bis 3 Kohlenstoffatomen im Niederalkylrest oder R_4 und R_5 zusammen auch Alkylen mit 3 bis 4 Kohlenstoffatomen, R_7 Wasserstoff und einer der Reste A_1 und A_2 einen Rest der Formel



bedeutet, worin T für -HN oder -O steht, Y gegebenenfalls substituiertes Niederalkylen oder einen Rest der Formel



oder



bedeutet, worin Y_1 und Y_2 je gegebenenfalls substitu-

222879

76
- 74 -

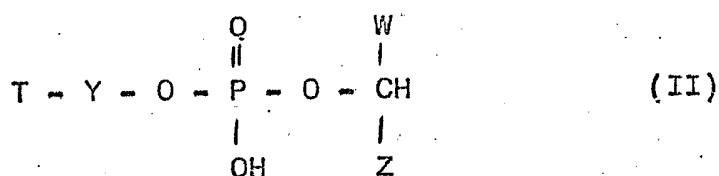
16.12.1980

AP C 07 C/222 879

57 926/11

iertes Niederalkylen sind, W Wasserstoff und Z eine 1,2-Dihydroxyäthyl- oder 2-Hydroxyäthylgruppe, in der mindestens eine der Hydroxygruppen mit einer gegebenenfalls ein- oder zweifach ungesättigten aliphatischen Carbonsäure mit 16 bis 22 Kohlenstoffatomen oder mit einer natürlichen oder synthetischen Mycolsäure verestert oder mit einem gegebenenfalls ein oder zweifach ungesättigten aliphatischen Alkohol mit 12 bis 18 Kohlenstoffatomen veräthert ist, darstellen und der andere der Reste A_1 und A_2 Hydroxy, Niederalkoxy, Amino, Niederalkylamino oder Carboxamidoniederalkylamino ist.

6. Verfahren nach Punkt 1, gekennzeichnet dadurch, daß man Muramylpeptide der Formel I herstellt, worin X Carbonyl, R_1 Niederalkyl mit 1 bis 3 Kohlenstoffatomen oder Phenyl, R_2 , R_4 und R_6 Wasserstoff, R_3 Wasserstoff oder Niederalkyl mit 1 bis 3 Kohlenstoffatomen, R_5 Wasserstoff, gegebenenfalls durch Hydroxy, Methoxy, Mercapto, Methylmercapto oder Halogen substituiertes Niederalkyl mit 1 bis 3 Kohlenstoffatomen, gegebenenfalls durch Hydroxy, Methoxy, oder Halogen substituiertes Phenyl oder Phenylmethyl, ein oder zwei Azaatome enthaltendes Heterocyclyl oder Heterocyclylmethyl mit 5 Ringgliedern oder R_4 und R_5 zusammen auch Trimethylen, R_7 Wasserstoff und einer der Reste A_1 und A_2 einen Rest der Formel



bedeutet, worin T für -HN oder -O steht, Y Niederalkylen mit 2 bis 3 Kohlenstoffatomen oder einen Rest der Formeln

16.12.1980

AP C. 07 C/222 879

57 926/11

2 2 2 8 7 9 - ~~77~~ -

(IVb) oder (IVd) bedeutet, worin Y_1 , Y_2 , Y_3 und Y_4 unabhängig voneinander je gegebenenfalls durch Hydroxy, Niederalkoxy, Mercapto oder Niederalkylmercapto substituiertes Niederalkyl mit 1 bis 3 Kohlenstoffatomen oder gegebenenfalls durch Hydroxy, Methoxy oder Halogen substituiertes Phenyl oder Phenylniederalkyl oder ein oder zwei Azaatome enthaltendes Heterocyclyl oder Heterocyclniederalkyl mit 5 bis 6 Ringgliedern und 1 bis 3 Kohlenstoffatomen im Niederalkylrest, substituiertes Niederalkylen mit 1 bis 3 Kohlenstoffatomen sind, W Wasserstoff und Z eine 1,2-Dihydroxyäthyl- oder 2-Hydroxyäthylgruppe ist, in der mindestens eine der Hydroxygruppen mit einer gegebenenfalls ein- oder zweifach ungesättigten aliphatischen Carbonsäure mit 16 bis 20 Kohlenstoffatomen verestert oder mit einem gegebenenfalls ein- oder zweifach ungesättigten aliphatischen Alkohol mit 12 bis 18 Kohlenstoffatomen veräthert ist, und der andere der Reste A_1 und A_2 Hydroxy, Niederalkoxy, Amino, Niederalkylamino oder Carboxamidoniederalkylamino ist.

7. Verfahren nach Punkt 1, gekennzeichnet dadurch, daß man N-Acetylmuramyl-L-alanyl-D-isoglutaminyl-2-(1',2'-dipalmitoyl-sn-glycero-3'-phosphoryl)-äthylamid herstellt.
8. Verfahren nach Punkt 1, gekennzeichnet dadurch, daß man N-Acetyl-desmethyilmuramyl-L-alanyl-D-isoglutaminyl-2-(1',2'-dipalmitoyl-sn-glycero-3'-phosphoryl)-äthylamid herstellt.

16.12.1980

AP C 07 C/222 879

57 926/11

222879 - ⁷⁸~~75~~ -

9. Verfahren nach Punkt 1, gekennzeichnet dadurch, daß man N-Acetylmuramyl-L-alanyl-D-isoglutaminyl-~~4~~-oxy-methyl-carbonyl-2-(1',2'-dipalmitoyl-sn-glycero-3'-phosphoryl)-äthylamid herstellt.
10. Verfahren nach Punkt 1, gekennzeichnet dadurch, daß man N-Acetylmuramyl-L-alanyl-D-isoglutaminyl-L-alanyl-2-(1',2'-dipalmitoyl-sn-glycero-3'-phosphoryl)-äthylamid herstellt.
11. Verfahren nach Punkt 1, gekennzeichnet dadurch, daß man N-Acetyl-desmethylemuramyl-L-alanyl-D-isoglutaminyl-2-(1',2'-O-di-hexadecyl-sn-glycero-3'-phosphoryl)-äthylamid herstellt.
12. Verfahren nach Punkt 1, gekennzeichnet dadurch, daß man N-Acetyl-desmethylemuramyl-L-alanyl-D-isoglutaminyl-2-(1'-O-hexadecyl-sn-glycero-3'-phosphoryl)-äthylamid herstellt.
13. Verfahren nach Punkt 1, gekennzeichnet dadurch, daß man N-Acetyl-desmethylemuramyl-L-alanyl-D-isoglutaminyl-2-(3'-palmitoyl-rac-glycero-1'-phosphoryl)-äthylamid herstellt.
14. Verfahren nach Punkt 1, gekennzeichnet dadurch, daß man N-Acetyl-desmethylemuramyl-L-alanyl-D-isoglutaminyl-2-(1'-palmitoyl-2'-oleoyl-sn-glycero-3'-phosphoryl)-äthylamid herstellt.
15. Verfahren nach Punkt 1, gekennzeichnet dadurch, daß man N-Acetyl-desmethylemuramyl-L-alanyl-D-isoglutaminyl-2-(1'-palmitoyl-propandiol-3'-phosphoryl)-äthylamid herstellt.

2 2 2 8 7 9 - ⁷⁹~~74~~ -

16.12.1980

AP C 07 C/222 879

57 926/11

16. Verfahren nach Punkt 1, gekennzeichnet dadurch, daß man N-Acetyl-muramyl-L- α -aminobutyryl-D-isoglutaminyl-L-alanyl-2-(1',2'-dipalmitoyl-sn-glycero-3'-phosphoryl)-äthylamid herstellt.
17. Verfahren nach Punkt 1, gekennzeichnet dadurch, daß man N-Acetyl-muramyl-L- α -aminobutyryl-D-isoglutaminyl-L-alanyl-2-(1',2'-dipalmitoyl-rac-glycero-3'-phosphoryl)-äthylamid herstellt.
18. Verfahren nach Punkt 1, gekennzeichnet dadurch, daß man N-Benzoyl-muramyl-L- α -aminobutyryl-D-isoglutaminyl-L-alanyl-2-(1',2'-dipalmitoyl-sn-glycero-3'-phosphoryl)-äthylamid herstellt.
19. Verfahren nach Punkt 1, gekennzeichnet dadurch, daß man N-Propionyl-desmethylnuramyl-L-alanyl-D-isoglutaminyl-L-alanyl-2-(1',2'-dipalmitoyl-sn-glycero-3'-phosphoryl)-äthylamid herstellt.
20. Verfahren nach Punkt 1, gekennzeichnet dadurch, daß man N-Acetyl-muramyl-L-valyl-D-isoglutaminyl-L-alanyl-2-(1',2'-dipalmitoyl-sn-glycero-3'-phosphoryl)-äthylamid herstellt.
21. Verfahren nach Punkt 1, gekennzeichnet dadurch, daß man N-Benzoyl-desmethylnuramyl-L- α -aminobutyryl-D-isoglutaminyl-L-alanyl-2-(1',2'-dipalmitoyl-sn-glycero-3'-phosphoryl)-äthylamid herstellt.
22. Verfahren nach Punkt 1, gekennzeichnet dadurch, daß man N-Acetyl-desmethyl-muramyl-L-alanyl-D-glutamyl- α -glycinamido- β -L-alanyl-2-(1',2'-dipalmitoyl-sn-glycero-3'-phosphoryl)-äthylamid herstellt.

2 2 2 8 7 9 ⁸⁰ - 75 -

16.12.1980

AP C 07 C/222 879

57 926/11

23. Verfahren nach einem der Punkte 1 bis 23, gekennzeichnet dadurch, daß man in einer Verbindung der Formel I, in der die Hydroxylgruppen in 1-, 4- und/oder 6-Stellung des Zuckerteils durch Schutzgruppen geschützt sind, diese Schutzgruppen abspaltet.
24. Verfahren nach einem der Punkte 1 bis 23, gekennzeichnet dadurch, daß man in einer Verbindung der Formel I, in der eine oder mehrere Carboxylgruppen durch Schutzgruppen geschützt sind, diese Schutzgruppen abspaltet.
25. Verfahren nach einem der Punkte 1 bis 23, gekennzeichnet dadurch, daß man zur Abspaltung von Schutzgruppen mit einer Säure behandelt.
26. Verfahren nach einem der Punkte 1 bis 23, gekennzeichnet dadurch, daß man als Verbindungen mit einer oder mehreren reaktionsfähig veresterten Hydroxygruppen Verbindungen verwendet, worin die Hydroxygruppe(n) mit einer starken anorganischen Säure oder einer Sulfonsäure verestert ist (sind).
27. Verfahren nach einem der Punkte 1 bis 23, gekennzeichnet dadurch, daß man als Verbindungen mit einer oder mehreren reaktionsfähig veresterten Hydroxygruppen Verbindungen verwendet, worin die Hydroxygruppe(n) mit einer Halogenwasserstoffsäure verestert ist (sind).

16.12.1980

AP C 07 C/222 879

57 926/11

222879 - ⁸⁴75 -

28. Verfahren nach einem der Punkte 1 bis 23, gekennzeichnet dadurch, daß man als Verbindungen mit einer oder mehreren Hydroxyschutzgruppen Verbindungen verwendet, worin die Hydroxygruppe(n) mit Acyl-, Aroyl-, oder von Kohlesäurederivaten sich ableitenden Resten oder mit in α -Stellung verzweigten Alkylresten oder mit α -Mono-, -Di- oder -Tri-arylniederalkylresten oder mit acetalbildenden Resten geschützt ist (sind).
29. Verfahren nach einem der Punkte 1 bis 23, gekennzeichnet dadurch, daß man als Verbindungen mit einer oder mehreren Hydroxyschutzgruppen Verbindungen verwendet, worin die Hydroxygruppe(n) mit Niederalkanoyl-, Benzoyl-, Benzyloxycarbonyl-, Niederalkoxycarbonyl-, tert.-Butyl- oder mit gegebenenfalls substituierten Benzyl-, Triphenylmethyl- oder Tetrahydropyranylresten geschützt ist (sind).
30. Verfahren nach einem der Punkte 1 bis 23, gekennzeichnet dadurch, daß man als Verbindungen mit einer oder mehreren Carboxyschutzgruppen Verbindungen verwendet, worin die Carboxygruppe(n) mit tert.-Butyl-, Benzyl- oder mit gegebenenfalls durch Halogen oder Niederalkoxy substituierten Triphenylmethyl- oder Benzhydrylresten geschützt ist (sind).
31. Verfahren nach einem der Punkte 1 bis 23, gekennzeichnet dadurch, daß man als Verbindungen mit einer oder mehreren aktivierten Carbonsäuregruppen Verbindungen verwendet, worin die Carbonsäuregruppe(n) als Anhydrid, Azid, aktiviertes Amid oder als aktivierter Ester vorliegt (vorliegen).

222879

⁸²
- XX -

16.12.1980

AP C 07 C/222 879

57 926/11

32. Verfahren nach Punkt 32, gekennzeichnet dadurch, daß man als Säureanhydride solche mit Kohlensäureniederalkylester, als Säureamide Imidazolide oder Isooxazolide und als aktivierte Ester Cyan- oder Carboxymethylester, Acetylaminoäthylthioester, p-Nitro- oder 2,4,5-Trichlorphenylester, N-Succinimid-, N-Phthalimid- oder N-Piperidinester, 8-Chinolinester, Methoxyäthylthioester oder durch Umsetzung mit Carbodiimid unter Zusatz von N-Hydroxysuccinimid oder einem 1-Hydroxybenzotriazol oder 3-Hydroxy-4-oxo-3,4-dihydro-benzo-[d]-1,2,3-triazin erhaltene Ester verwendet.