

(19)



SUOMI - FINLAND

(FI)

PATENTTI- JA REKISTERIHALLITUS

PATENT- OCH REGISTERSTYRELSEN

FINNISH PATENT AND REGISTRATION OFFICE

(10) **FI 803035 A7**

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

(21) Patentihakemus - Patentansökan - Patent application **803035**

(51) Kansainvälinen patenttiluokitus - Internationell patentklassifikation -
International patent classification
C07F

(22) Tekemispäivä - Ingivningsdag - Filing date **26.09.1980**

(23) Saapumispäivä - Ankomstdag - Reception date **26.09.1980**

(41) Tullut julkiseksi - Blivit offentlig - Available to the public **01.01.1981**

(43) Julkaisupäivä - Publiceringsdag - Publication date **12.06.2019**

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

28.09.1979 GB 7933700 07.08.1980 GB 8025806

(71) Hakija - Sökande - Applicant

1 • F Hoffmann-La Roche & Co, Basel Switzerland, TOWN UNKNOWN, SVEITSI, (CH)

(72) Keksijä - Uppfinnare - Inventor

1 • Atherton, Frank Ratcliffe, United Kingdom, ISO-BRITANNIA, (GB)

2 • Hall, Michael John, United Kingdom, ISO-BRITANNIA, (GB)

3 • Hassall, Cedric Herbert, TOWN UNKNOWN, ISO-BRITANNIA, (GB)

4 • Lambert, Robert Wilson, United Kingdom, ISO-BRITANNIA, (GB)

5 • Ringrose, Peter Stuart, TOWN UNKNOWN, ITÄVALTA, (AT)

(74) Asiamies - Ombud - Agent

Kolster Oy Ab, Salmisaarenaukio 1, 00180 Helsinki

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

Fosfonihappoja ja niiden valmistus.

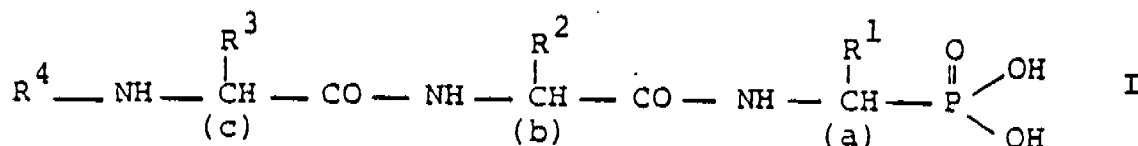
Fosforinsyror och förfarande för deras framställning.

F.Hoffmann-La Roche & Co Aktiengesellschaft,
Basel, Sveitsi

Fosfonihamppoja ja niiden valmistus - Fosforinsyror och förfarande för deras framställning

Tämä keksintö koskee uusia fosfonihappoja tai peptidijohdannaisia, menetelmää niiden valmistamiseksi sekä tähän uuteen yhdisteeseen perustuvia farmaseuttisia valmisteita ja niiden valmistusta. Lopuksi tämä keksintö koskee uusien yhdisteiden käyttöä.

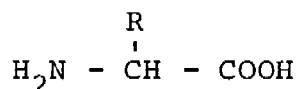
Keksinnön mukaisten yhdisteiden yhteydessä kysymyksessä ovat peptidijohdannaiset, joiden yleiskaava on



jossa R^1 on vety tai metyyli; R^2 ja R^3 vastaavat pienalkyyli-tähdet-tä, joka on luonteenomainen Δ -aminohapolle, jota ei normaalisti esiinny proteiineissa tai toinen näistä kahdesta substituentista vastaa sellaista pienalkyyli-tähdettä ja toinen proteiineissa nor-maalisti esiintyvälle Δ -aminohapolle luonteenomaista pienalkyyli-tähdettä; R^4 on L-pyroglutamyyli-tähde; konfiguraatio C-atomin (a)

kohdalla on R:ää vastaava mikäli $R' \neq H$), kun taas konfiguraatiot C-atomien (b) ja (c) kohdalla ovat L:ää vastaavat (mikäli R^2 tai $R^3 \neq H$), ja niiden fysiologisesti hyväksyttävät suolat.

Tässä patenttihakemuksessa ja siihen liittyvissä patenttivaihtimuksissa termi "pienalkyyli" merkitsee suora- tai sivuketjuisia alkyylitähteitä, joissa on lähinnä enintään 8 hiiliatomia, kuten esimerkiksi etyyliä, propyyliä, butyyliä, tert.-butyyliä, pentyyliä ja heksyyliä. Normaalisti proteiineissa esiintyvän tai esiintymättömän aminohapon luonteenomaisen tähteen yhteydessä kysymyksessä ovat yleiskaavan



mukaisen luonnon α -aminohapon R-substituentit.

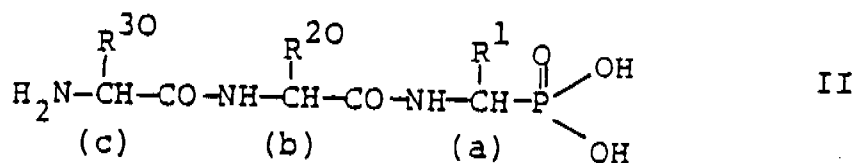
Jos aminohapon yhteydessä on kyseessä alaniini, niin R on metyyli, jos kyseessä on metioniini, niin R on 2-metyylitioetyyli, seriinin yhteydessä R on hydroksimetyyli ja tyrosiinissa R on p-hydroksibentsyyli, jne. R voi myös yhdessä aminoryhmän typpi-atomin kanssa olla sulkeutuneena renkaaksi, kuten proliinissa.

Jos R^1 vastaa kaavan I mukaisissa yhdisteissä metyyliä, konfiguraation on (a):lla merkityn C-atomien kohdalla oltava R, so. konfiguraation on oltava sellainen, jollaisena se saadaan korvattaessa luonnon α -aminohapon karboksyyli-ryhmä PO_3H_2 -ryhmällä.

Ensisijaisia ovat kaavan I mukaiset yhdisteet, joissa R^1 vastaa metyyliä. Ensisijaisia ovat edelleen yhdisteet, joissa R^2 ja R^3 vastaavat pienalkyylitähteitä, jotka ovat luonteenomaisia proteiineissa normaalisti esiintymättömille α -aminohapoille.

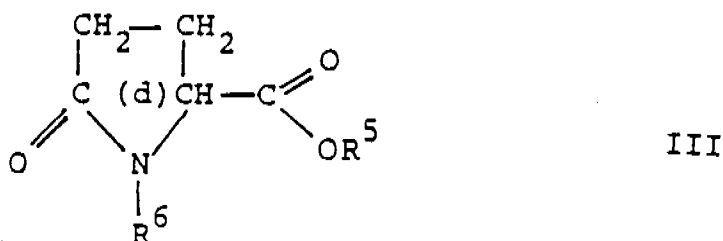
Esimerkkejä kaavan I mukaisista keksinnön mukaisista yhdisteistä ovat: (1R)-1-(L-pyroglutamyli-L-norvalyyli-norvalyyliamino)-etyylifosfonihappo, (L-pyroglutamyli-L-norvalyyli-L-norvalyyliamino)-metyylifosfonihappo, (1R)-1-(L-pyroglutamyli-L-(2-aminoheptanoyyli)-L-norvalyyliamino)-etyylifosfonihappo ja (1R)-1-(L-pyroglutamyli-L-alanyyli-L-norvalyyliamino)-etyylifosfonihappo.

Kaavan I mukaisia yhdisteitä ja niiden fysiologisesti hyväksyttäviä suoloja voidaan valmistaa keksinnön mukaisesti siten, että yhdisteen, jonka yleiskaava on



jossa R^1 on patenttivaatimuksessa 1 määriteltä; R^{20} :llä ja R^{30} :llä on patenttivaatimuksessa 1 R^2 :n ja R^3 :n osalta mainitut merkitykset, jolloin aminoryhmät ovat kuitenkin suojatut hydrogenolyytisesti lohkaistavissa olevalla suojaryhmällä, ja konfiguraatiot C-atomien (a), (b) ja (c) kohdalla ovat kuten kaavan I mukaisissa yhdisteissä,

annetaan reagoida yhdisteen kanssa, jonka kaava on



jossa R^5 on 2,4,5-trikloorifenyyli, pentakloorifenyyli tai sukkiini-imidyyli; R^6 vastaa vetyä tai aralkoksikarbonyyliryhmää ja konfiguraatio C-atomien (d) kohdalla on L:ää vastaava, reaktiotuote, jossa on suojattu aminoryhmä ja/tai aralkoksikarbonyyliryhmä, hydrogenolysoidaan ja näin saatu yhdiste muutetaan haluttaessa fysiologisesti hyväksyttäväksi suolaksi.

Esimerkkejä hydrogenolyytisesti lohkaistavista aminosuojaryhmistä, joita voi esiintyä kaavan II mukaisen yhdisteen substituentteissa R^{20} ja R^{30} , ovat aralkoksikarbonyyliryhmät, kuten esim. bentsyylioksikarbonyyli. Aminoryhmä voi olla myös nitroryhmän suojaamana, kuten nitroarginyyliiryhmän tapauksessa.

Yhdisteen II reaktio yhdisteen III kanssa voidaan suorittaa tunnetulla tavalla, esimerkiksi aktivoidun esterin menetelmällä. Reaktio voidaan suorittaa esimerkiksi orgaanisessa liuottimessa, kuten vesipitoisessa dimetyyliformamidissa, noin $0^\circ C$:ssa. Ensisi-

jaudessa suoritusmuodossa kaavan II mukainen yhdiste kondensoidaan kaavan III mukaisen yhdisteen kanssa, jossa R⁵ vastaa 2,4,5-trikloorifenyyli-ryhmää.

Saatu kondensaatti, jossa on suojattu aminoryhmä ja/tai aralkoksikarbonyyli-ryhmä R⁶, hydrogenolysoidaan suojatun aminoryhmän muuttamiseksi aminoryhmäksi ja/tai aralkoksikarbonyyli-ryhmän lohkaistuksi. Tämä hydrogenolyysi voidaan suorittaa tunnetulla tavalla, esimerkiksi jalometallikatalyytin kuten palladium/C:n tai platinaoksidin läsnäollessa.

Kaavan I mukaiset yhdisteet muodostavat fysiologisesti hyväksyttäviä suoloja fysiologisesti hyväksyttävien vahvojen orgaanisten ja epäorgaanisten happojen (esim. HCl:n, HBr:n, H₂SO₄:n, metaanisulfonihapon, p-tolueenisulfonihapon) ja emästen (esim. NaOH:n, KOH:n) kanssa.

Kaavan II mukaiset lähtöyhdisteet ovat tunnettuja yhdisteitä.

Kaavan III mukaisia lähtöyhdisteitä voidaan valmistaa esimerkiksi antamalla L-pyroglutamiinihapon tai N-aralkoksikarbonyyli-L-pyroglutamiinihapon reagoida 2,4,5-trikloorifenolin, pentakloorifenolin tai N-hydroksisukkiini-imidin kanssa N,N'-disykloheksyyli-karbodi-imidin läsnäollessa neutraalissa orgaanisessa liuotuksessa, kuten dimetyyli-formamidissa. Jos lähdetään N-aralkoksikarbonyyli-L-pyroglutamiinihaposta, niin kaavan III mukainen yhdiste, jossa R⁶ vastaa aralkoksikarbonyyliä, hydrogenolysoidaan tunnetulla tavalla, kuten edellä jo on esitetty. Joa käytetään kaavan III mukaista yhdistettä, jossa R⁵ vastaa sukkiini-imidyyli-ryhmää ja R⁶ on vety, tätä muodostetaan lähinnä in situ reaktioväliaineessa.

Keksinnön mukaisilla peptidijohdannaisilla on bakteereja tuhoava vaikutus lukuisiin gram-positiivisiin ja gram-negatiivisiin bakteereihin, kuten esim. lajeihin *Escherichia coli*, *Klebsiella* spp., *Serratia marcescens*, *Staphylococcus albus*, *Salmonella* spp., *Shigella* spp., *Streptococcus faecalis*, *Streptococcus pyogenes*, *Streptococcus pneumoniae* ja *Haemophilus influenzae*. Tämän mukaisesti yhdisteitä voidaan käyttää bakteeri-infektioiden hoitamiseen ja ennalta ehkäisemiseen ja niitä voidaan antaa parenteraalisesti.

Seuraava taulukko esittää tuloksia in vitro-kokeita käytettäessä (1R)-1-(L-pyroglutamyyli-L-norvalyyli-L-norvalyyliamino)-etyyli-fosfonihappoa muutamia edustavia patogeenisiä mikro-organismeja vastaan.

Taulukko

Mikro-organismi	M.I.C. ($\mu\text{g/ml}$)
E. coli	0,25
Klebsiella spp.	16
S. marcescens	30
S. albus	16
Salmonella spp.	20
Shigella spp.	1,1
S. faecalis	0,05
S. pyogenes	16
S. pneumoniae	2,4
H. influenzae	0,2

Sen lisäksi keksinnön mukaiset peptidijohdannaiset tehostavat antibioottien, lähinnä β -laktaami-antibioottien kuten penisilliinien, kefalosporiinien tai monosyklisten β -laktaami-antibioottien aktiivisuutta.

Esimerkkejä sopivista penisilliineistä ovat Ampicillin, Carbenicillin, Penicillin G, Subenicillin, Mecillinam, Pivmecillinam, Phenethicillin, Methicillin, Propicillin, Tocarcillin, Amoxycillin ja Piperacillin.

Sopivia kefalosporiineja ovat Cephalexin, Cephazolin, Cefoxitin, Cephradine, Cefsulodin, Cephmandol, Cephaloridin, Cephaloglycin, Cefatrizin, Cefacetril, Cefuroxim, Cefaclor, Cefotaxim, Cefazedon, jolloin Cephalexin on ensisijainen.

Esimerkkejä muista antibiooteista ovat D-Cycloserin, Rifampicin, Phosphonomycin, Centamycin, Vancomycin ja Kanamycin.

Edellä lueteltujen antibioottien yhteydessä kyseessä ovat tunnetut yhdisteet, joita voidaan valmistaa tunnetuin menetelmin.

Tämä keksintö koskee sen vuoksi myös farmaseuttisia valmisteita, jotka sisältävät kaavan I mukaisen peptidin ohella antibioottia.

Farmaseuttisten valmisteiden valmistus voi tapahtua sinänsä tunnetulla tavalla, esim. siten, että yksityiset aineosat sekoitetaan sopivien kantaja-aineiden kanssa ja saatetaan sopivaan gaaleeniseen muotoon. Kantajamateriaaleina tulevat kysymykseen kiinteät tai nestemäiset aineet, jotka soveltuvat käytettäväksi peptidijohdannaisten ja antibioottien yhteydessä. Kysymykseen voivat tulla orgaaniset tai epäorgaaniset aineet, jotka soveltuvat annettaviksi suoneen. Esimerkkejä sellaisista kantaja-aineista ovat vesi, gelatiini, manniitti, epäorgaaniset öljyt ja kasvisöljyt, arabikumi, propyleeniglykoli ja polyalkyleeniglykolit. Farmaseuttiset valmisteet voivat olla kiinteässä muodossa (esim. lyofilisaatteina) tai nestemäisessä muodossa (esim. liuoksina, suspensioina tai emulsioina). Valmistettaessa niitä voidaan käsitellä tavallisin farmaseuttisin menetelmin, kuten steriloidamalla. Lopuksi ne voivat sisältää lisäaineita, kuten säilytysaineita, stabilointiaineita, kostutusaineita tai emulgaattoreita, suoloja osmoottisen paineen muuttamiseksi tai puskureita. Puskuria käytettäessä farmaseuttisen valmisteen pH voi luonnollisesti vaihdella farmaseuttista käytäntöä vastaavalla hyvin tiedossa olevalla alueella.

Kaavan I mukaisen peptidijohdannaisen ja antibiootin painosuhte voi vaihdella avarsissa rajoissa. Tarkoituksenmukaisuussyistä se on alueella 1:100 - 100:1, lähinnä alueella 1:64 - 64:1. Erityisen ensisijainen painosuhte on välillä 1:16 - 16:1.

Peptidijohdannaisten päivittäinen annostus, joko pelkänä tai yhdistelmänä antibiootin kanssa, voi vaihdella avarissa rajoissa, riippuen sellaisista tekijöistä kuten erityisesti valitusta peptidijohdannaisesta tai antibiootista, hoidettavasta infektiosta jne. Siten esim. päivittäinen annos pelkän peptidijohdannaisen osalta voi olla parenteraalisesti annettaessa 800-200 mg. Jos peptidijohdannaisesta annetaan antibiootin yhteydessä, päivittäinen annos voi parenteraalisesti annettaessa olla noin 200-2000 mg. On selvää, että päivittäinen annos voidaan antaa yhtenä annoksena tai useina osa-annoksina ja että mainittuja annostuksia voidaan vaihdella sekä pienentämällä että suurentamalla niitä yksilöllisten tarpeiden ja erikoistilanteiden mukaisesti hoitavan lääkärin parhaaksi katsomalla tavalla.

Seuraavat esimerkit valaisevat keksintöä.

Esimerkki 1

8,0 g (25 mmoolia) (1R)-1-(L-norvalyyli-L-norvalyyliamino)-etyylifosfonihappoa liuotettiin sekoittaen seokseen, jossa oli 125 ml vettä ja 5,1 g (50 mmoolia) trietyyliamiinia. Lisättiin 125 ml dimetyyliformamidia ja liuos jäädytettiin 0°C:seen. Kun oli lisätty 20,3 g (66 mmoolia) L-pyroglutamiinihappo-2,4,5-trikloorifenyyliesteriä ja 125 ml dimetyyliformamidia 0°C:ssa, jäähdytys-hauteen annettiin lämmetä hitaasti sekoitusta käyttäen huoneen lämpötilaan. Saatu suspensio suodatettiin ja hyytelöinen sakka pestiin vesipitoisella dimetyyliformamidilla. Yhdistetyt suodokset haihdutettiin kuiviin vakuumissa ja jäännöstä käsiteltiin 20 ml:n kanssa dietyylieetteriä. Dietylieetteri poistettiin ja jäännös liuotettiin seokseen, jossa oli 500 ml metanolia ja 100 ml vettä. Kun oli lisätty 200 g Zerolit 225:tä, SRC 13, RSO_3H , ja sekoitettu 5 minuuttia, suodatettiin. Ioninvaihtajahartsin pestiin vedellä ja metanolilla. Suodoksen kanssa yhdistetty pesuvesi haihdutettiin kuiviin, jäännöstä käsiteltiin 250 ml:n kanssa asetonilla ja sekoitettiin muutaman tunnin ajan huoneen lämpötilassa. Sakka suodatettiin erilleen ja siitä saatiin asetonilla ja dietylieetterillä suoritettua pesun jälkeen 4,5 g (1R)-1-(L-pyroglutamyyli-L-norvalyyli-L-norvalyyliamino)-etyylifosfonihappoa, sp. 260°C (hajoten); $[\alpha]_D^{20} = -84,5^\circ$ (c = 0,55 % trifluorietikkahapossa).

Esimerkki 2

9,27 grammasta (30 mmoolia) (L-norvalyyli-L-norvalyyliamino)-metyylifosfonihappoa ja 18,5 grammasta (60 mmoolia) L-pyroglutamiinihappo-2,4,5-trikloorifenyyliesteriä saatiin esimerkin 1 mukaisella tavalla, asetonilla käsittelyn jälkeen, 9,1 g raakaa L-pyroglutamyyli-L-norvalyyli-L-norvalyyliamino)-metyylifosfonihappoa. Kiteyttämällä uudelleen vesi/etanoliseoksesta (1:4, til./til.) sulamispisteeksi saatiin 230-232°C (hajoten); $[\alpha]_D^{20} = -69,6^\circ$; $[\alpha]_{365}^{20} = -222^\circ$ (c = 0,5 % vedessä).

Esimerkki 3

Esimerkin 1 mukaisella tavalla, mutta käyttämällä ioninvaihtajavaiheessa metanoli/vesi-seosta (2:1, til./til.), 4,2 grammasta (12 mmoolia) (1R)-1- Z^- (-2-aminoheptanoyyli)-L-norvalyyliamino Z^- -etyylifosfonihappoa ja 9,3 grammasta (30 mmoolia) L-pyroglutamiinihappo-2,4,5-trikloorifenyyliesteriä saatiin 1,64 g raakaa (1R)-1- Z^- -pyroglu-

tamyyli-L-(2-aminoheptanoyyli)-L-norvalyyliamino- γ -etyylifosfonihappoa, jonka sulamispiste oli 225-230°C (hajoten), $[\alpha]_D^{20} = -63,9^\circ$, $[\alpha]_{20} = 208^\circ$ (c = 0,48 % trifluorietikkahapossa). Puhdistamalla metaanolin kanssa huoneen lämpötilassa sekoittaen, suodattamalla ja pesemällä dietyylieetterillä saatiin puhdasta tuotetta; sp. 235-237°C (hajoten); $[\alpha]_D^{20} = -70,6^\circ$; $[\alpha]_{365}^{20} = -232^\circ$ (c = 0,5 % trifluorietikkahapossa).

Lähtöaineena käytettyä (1R)-1-(L-2-aminoheptanoyyli)-L-norvalyyliamino- γ -etyylifosfonihappoa valmistettiin seuraavasti:

a) 3,6 g (25 mmoolia) L-2-aminoheptaanihappoa [*J. Biol. Chem.*, 203, 333 (1953)] liuotettiin sekoittaen 25 ml:aan (25 mmoolia) l-norm.natriumhydroksidia. Saatu liuos jäähdytettiin 0°C:seen ja vuorotellen lisättiin, kumpaakin viitenä eränä kaikkiaan 10 ml (40 mmoolia) 4-norm.natriumhydroksidia ja 6,5 g (38 mmoolia) bentsyyliklooriformiaattia, 30 minuutin kuluessa, jolloin lämpötila pidettiin välillä 0-10°C. Seosta sekoitettiin edelleen 4 tuntia sen lämmitessä hitaasti huoneen lämpötilaan. Sitten uutettiin dietyylieetterillä, eetteriuutteet pestiin vedellä, yhdistetyt vesiuutteet tehtiin happameksi lisäämällä 6-norm. HCl:a kunnes pH oli 2,0 ja uutettiin kolme kertaa dietyylieetterillä. Uutteet kuivattiin natriumsulfaatilla, suodatettiin ja konsentroitiin 7,8 grammaksi öljymäistä N-bentsyylioksikarbonyyli-L-2-aminoheptaanihappoa.

b) Saatu öljy liuotettiin sekoittaen 75 ml:aan dimetoksietaania, lisättiin 2,9 g (25 mmoolia) N-hydroksisukkiini-imidiä ja 0°C:seen jäähdyttämisen jälkeen 5,6 g (27,5 mmoolia) disykloheksyylikarbodi-imidiä. Seosta sekoitettiin 0°C:ssa ja sen annettiin olla tässä lämpötilassa paikoillaan yön ajan. Kiinteä sivutuote (5,9 g disykloheksyylivirtsa-ainetta) suodatettiin pois, suodos konsentroitiin öljyksi ja sitä käsiteltiin petrolieetterin kanssa. Saatu valkea kiinteä aine suodatettiin erilleen ja saatiin 9,2 g N-bentsyylioksikarbonyyli-L-2-aminoheptaanihappo-N-hydroksisukkiinipimidiä, sp. 65-67°C; $[\alpha]_D^{20} = -23,6^\circ$; $[\alpha]_{365}^{20} = -80,9^\circ$ (c = 1 % etanolissa).

c) 4,48 g (20 mmoolia) (1R)-1-(L-norvalyyliamino)-etyylifosfonihappoa liuotettiin sekoittaen seokseen, jossa oli 50 ml vettä ja 4,04 g (40 mmoolia) trietyyliamiinia. Kun oli lisätty 50 ml dimetyyliformamidia, liuos jäähdytettiin 0°C:seen, lisättiin tiput-

tamalla 9,2 g (24 mmoolia) N-bentsyylioksikarbonyyli-L-2-aminoheptaanihappo-N-hydroksisukkiini-imidiä 50 ml:ssa dimetyyliformamidia, jolloin reaktioseos pidettiin 0-5°C:ssa, ja lämmitettiin sitten vähitellen huoneen lämpötilaan. Suodattamisen jälkeen suodos haihdutettiin kuiviin, jäännökseen lisättiin 200 ml vettä ja saatua suspensiota käsiteltiin noin 20 ml:n kanssa 2-norm.HCl:a. Saatua sakkaa pestiin vedellä, suodatettiin ja sitä käsiteltiin usean tunnin ajan asetoninkanssa. Saanto: 8,7 g (90 %) (1R)-1- $\frac{1}{2}$ -N-bentsyylioksikarbonyyli-L-(2-aminoheptanoyyli)-L-norvalyyli $\frac{1}{2}$ -amino $\frac{1}{2}$ -etyylifosfonihappoa, sp. 180-190°C (hajoten).

d) 8,7 grammaa (18 mmoolia) (1R)-1- $\frac{1}{2}$ -N-bentsyylioksikarbonyyli-L-(2-aminoheptanoyyli)-L-norvalyyli $\frac{1}{2}$ -amino $\frac{1}{2}$ -etyylifosfonihappoa sekoitettiin 4 tuntia huoneen lämpötilassa seoksen kanssa, jossa oli 20 ml 45-%:tista bromivetyhappoa jääetikassa. Kun oli lisätty 150 ml dietyylieetteriä, saatiin kumimaista sakkaa, joka pestiin käyttämällä vielä 150 ml dietyylieetteriä ja liuotettiin sekoittamisen 100 ml:aan metanolia. Kun oli lisätty 10 ml propyleenioksidia, saatiin hyytelöistä sakkaa. Lisättiin vielä 100 ml metanolia ja seoksen annettiin olla paikoillaan yön ajan huoneen lämpötilassa. Sakka suodatettiin erilleen, pestiin ensin metanolilla ja sitten dietyylieetterillä ja saatiin 6,3 g raakaa (1R)-1- $\frac{1}{2}$ -L-(2-aminoheptanoyyli)-L-norvalyyliamino $\frac{1}{2}$ -etyylifosfonihappoa, sp. 250-255°C (hajoten). Kun oli sekoitettu 250 ml:n kanssa kuumaa vettä, jäähdytetty, suodatettu ja pesty etanolilla sekä dietyylieetterillä, saatiin lopuksi 5,36 g puhdasta ainetta, sp. 268-272°C (hajoten); $[\alpha]_D^{20} = -25,8^\circ$; $[\alpha]_{365}^{20} = -89,0^\circ$ (c = 0,36 % 2-norm.HCl:ssa).

Esimerkki 4

Esimerkin 1 mukaisella tavalla, mutta käyttämällä ioninvaihtovaiheessa metanoli/vesi-seosta (1:1, til./til.), 4,65 grammasta (15 mmoolia) (1R)-1-(L-alanyyli-L-norvalyyliamino)-etyylifosfonihappoa ja 11 grammasta (35 mmoolia) L-pyroglutamiinihappo-2,4,5-trikloorifenyyliesteriä saatiin 6,04 g raakatuotetta, josta puhdistamisen jälkeen asetonilla käsitellen saatiin 5,74 g puhdasta (1R)-1-(L-pyroglutamyyli-L-alanyyli-L-norvalyyliamino)-etyylifosfonihappoa, sp. 262-264°C (hajoten); $[\alpha]_D^{20} = -99,6^\circ$; $[\alpha]_{365}^{20} = -332^\circ$ (c = 0,05 % trifluorietikkahapossa).

Esimerkki 5

Injektioliuos, joka sisältää

1000 ml:aa kohden

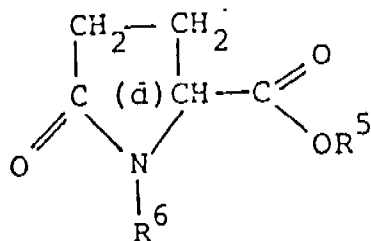
peptidijohdannaista	50,0 g
0,2-norm.NaOH-liuosta q.s.	ad pH 6,5
injektiotarkoituksiin soveltuvaa vettä ad	1000 ml

Esimerkki 6

Kovagelatiini-kapseleita, jotka sisältävät seuraavia aineosia:

Kapselia kohden

peptidijohdannaista	125,0 mg
Cephalexin'a	125,0 mg
maissitärkkelystä	20,0 mg
mikrokiteistä selluloosaa	34,0 mg
dioktyylinatriumsulfosukkinaattia	0,5 mg
steariinihappoa	<u>5,5 mg</u>
	310,0 mg



III

jossa R^5 on 2,4,5-trikloorifenyyli, pentakloorifenyyli tai sukkiini-imidylyli; R^6 vastaa vetyä tai aralkoksikarbonyyliryhmää ja konfiguraatio C-atomin (d) kohdalla on L:ää vastaava, reaktiotuote, jossa on suojattu aminoryhmä ja/tai aralkoksikarbonyyliryhmä, hydrogenolysoidaan ja näin saatu yhdiste muutetaan haluttaessa fysiologisesti hyväksyttäväksi suolaksi.

2. Patenttivaatimuksen 1 mukainen menetelmä, t u n n e t t u siitä, että kaavan II mukaisessa lähtöyhdisteessä R^1 on metyyli.

3. Patenttivaatimuksen 1 tai 2 mukainen menetelmä, t u n n e t t u siitä, että kaavan II mukaisessa lähtöyhdisteessä R^{20} ja R^{30} vastaavat kulloinkin pienalkyyliähdettä, joka on luonteenomainen α -aminohapolle, jota ei normaalisti esiinny proteiineissa.

4. Minkä tahansa patenttivaatimuksien 1-3 mukainen menetelmä, t u n n e t t u siitä, että kaavan II mukainen lähtöyhdiste on (1R)-1-(L-norvalyyli-L-norvalyyliamino)-etyyli-fosfonihappo.

5. Minkä tahansa patenttivaatimuksen 1-3 mukainen menetelmä, t u n n e t t u siitä, että kaavan II mukainen lähtöyhdiste on (L-norvalyyli-L-norvalyyliamino)-metyyli-fosfonihappo.

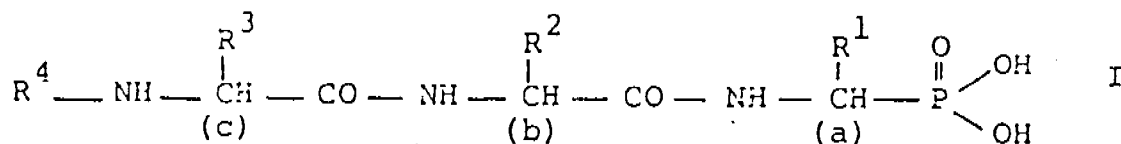
6. Minkä tahansa patenttivaatimuksien 1-3 mukainen menetelmä, t u n n e t t u siitä, että kaavan II mukainen lähtöyhdiste on (1R)-1-[L-(2-aminoheptanoyyli)-L-norvalyyliamino]-etyylifosfonihappo.

7. Minkä tahansa patenttivaatimuksien 1-3 mukainen menetelmä, t u n n e t t u siitä, että kaavan II mukainen lähtöyhdiste on (1R)-1-(L-alanyyli-L-norvalyyliamino)-etyylifosfonihappo.

8. Menetelmä minkä tahansa patenttivaatimuksien 1-7 mukaisesti saatavaan peptidyylifosfonihappoon pohjautuvien farmaseuttisten valmisteiden valmistamiseksi, t u n n e t t u siitä, että kaavan I mukainen peptidyylifosfonihappo tai sen fysiologisesti hyväksyttävä suola, haluttaessa antibiootin läsnäollessa, sekoitetaan myrkyttömän, neutraalin, terapeuttisesti hyväksyttävän, kiinteän tai nestemäisen kantajan kanssa ja saatu seos saatetaan haluttuun galeeniseen muotoon.

Patentkrav:

1. Förfarande för framställning peptidylfosforsyrer med allmänna formeln



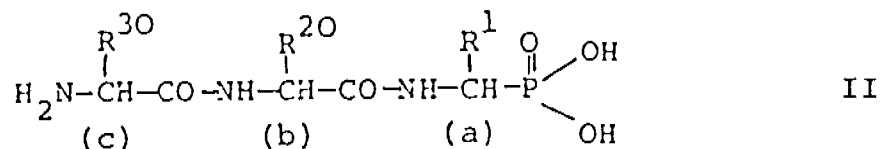
vari R^1 är väte eller metyl;

R^2 och R^3 är vardera en lägrealkylrest som är karakteristisk för en i proteiner normalt icke förekommande α -aminosyra eller någondera av substituenterna är en dylik lägrealkylrest och den andra betecknar en för en normal i proteiner förekommande α -aminosyra karakteristisk lägrealkylrest;

R^4 är L-pyroglutamylresten;

konfigurationen vid C-atomen (a) är R (sålänge som $R^1 \neq H$), medan konfigurationen vid C-atomerna (b) och (c) är L (sålänge som R^2 resp. $R^3 \neq H$),

och deras fysiologiskt fördragbar salt, k ä n n e t e c k n a t därav, att man omsätter en förening med allmänna formeln

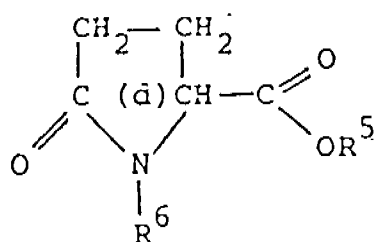


vari R^1 är som ovan definierats;

R^{20} och R^{30} har ovan för R^2 och R^3 angivna betydelser, varvid dock aminogrupeer skyddats medelst en hydrogenolytiskt avspjälkbar skyddsgrupp; och

konfigurationen vid C-atomerna (A), (b) och (c) är såsom i föreningarna med formeln I,

med en förening med formeln



III

vari R^5 är 2,4,5-triklorfenyl, pentaklorfenyl eller succinimidyl;
 R^6 är väte eller en aralkoxikarbonylgrupp och konfigurationen
vid C-atomen (d) är L,

undekastar en reaktionsprodukt, som innehåller en skyddad amino-
grupp och/eller en aralkoxikarbonylgrupp, hydrogenolys, och, ifall
önskvärt, överför en sålunda erhållen förening i ett fysiologiskt
fördragbart salt.

2. Förfarande enligt patentkravet 1, k ä n n e t e c k n a t
därav, att R^1 i utgångsföreningen med formeln II är metyl.

3. Förfarande enligt patentkravet 1 eller 2, k ä n n e t e c k n a t
därav, att i utgångsföreningen med formeln II betecknar R^{20}
och R^{30} vardera en lägrealkylrest, vilken är karakteristisk för en
i proteiner normalt icke förekommande α -aminosyra.

4. Förfarande enligt något av patentkraven 1-3, k ä n n e -
t e c k n a t därav, att utgångsföreningen med formeln II är
(1R)-1-(L-norvalyl-L-norvalylamino)-etyl-fosfonsyra.

5. Förfarande enligt något av patentkraven 1-3, k ä n n e -
t e c k n a t därav, att utgångsföreningen med formeln II är
(L-norvalyl-L-norvalylamino)-metyl-fosfonsyra.

6. Förfarande enligt något av patentkraven 1-3, k ä n n e -
t e c k n a t därav, att utgångsföreningen med formeln II är
(1R)-1-/L-(2-aminoheptanoyl)-L-norvalylamino/-etylfosfonsyra.

6. Förfarande enligt något av patentkraven 1-3, k ä n n e -
t e c k n a t därav, att utgångsföreningen med formeln II är
(1R)-1-(L-alanyl-L-norvalylamino)-ateylfosfonsyra.

Viitejulkaisuja - Anförda publikationer

Julkisia suomalaisia patenttihakemuksia: - Offentliga finska patentansökningar:

783959 (COFF 9/38)

Hakemus-, kuulutus- ja patenttijulkaisuja: - Ansökningspublikationer,
utläggnings- och patentskrifter:

FI

CH

DE H 2730 549 (COFF 9/65)

DK

FR

GB

NO

SE

US

Merkitse hakemusjulkaisun (esim. saksal. Offenlegungsschrift) numeron eteen H ja vastaavasti kuulutus- ja patenttijulkaisun numeron eteen K ja P.

EP

WO

Muita julkaisuja: - Andra publikationer:

19.3.1984

Vilho Hart

Allekirjoitus