

NORGE



**STYRET
FOR DET INDUSTRIELLE
RETTSVERN**

Utlegningssskrift nr. 125142

Int. Cl. C 07 c 103/52 Kl. 12q-6/01

Patentsøknad nr. 4227/68 Inngitt 24.10.1968

Løpedag -

Søknaden alment tilgjengelig fra 26.4.1969

Søknaden utlagt og utlegningsskrift utgitt 24.7.1972

Prioritet begjært fra: 25.10.-67 og 19.3.1968
Frankrike, nr. PV 125842, PV 144421

Rhône-Poulenc S.A.,
22 Avenue Montaigne, Paris 8^e, Frankrike.

Oppfinner: Georges Jolles, 1 Allée des Pins,
Sceaux (Hauts-de-Seine), Frankrike.

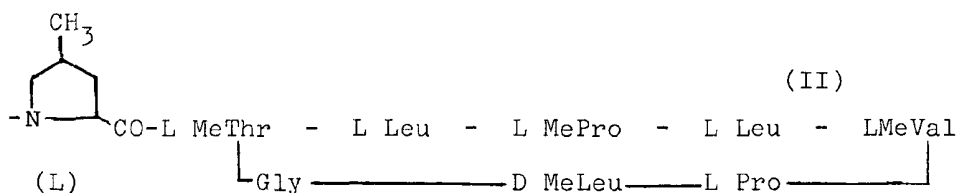
Fullmektig: Bryns Patentkontor A/S

Analogifremgangsmåte til fremstilling av
nye, terapeutisk virksomme cyklopeptider.

Oppfinnelsen vedrører en analogifremgangsmåte til
fremstilling av nye, terapeutisk virksomme cyklopeptider med den
generelle formel

R' - cyklopeptid A (I)

der - cyklopeptid A betyr en nonapeptidrest med formelen



125142

2

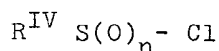
hvor

L MePro betegner: L 4-transmetylpropin
 L MeThr betegner: L N-metyltreonin
 L MeVal betegner: L N-metylvalin
 D MeLeu betegner: D N-metylleucin
 L Pro betegner: L prolin
 Gly betegner: glykokoll
 L Leu betegner: L leucin
 L Thr betegner: L treonin

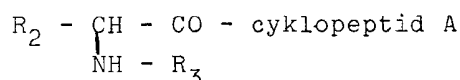
R' betegner en alkanoyl-, alkenoyl-, alkadienoyl-, alkyloksykarbonyl-, aralkanoyl-, aroyl-, arylsulfenyl-, arylsulfonyl-, cykloalkylkarbonyl-, heterocyklylkarbonyl- eller heterocyklylalkanoylgruppe eller en rest av en lineær peptidgruppe som gjennom en karbonylgruppe er forbundet med nitrogenatomet i L-4-transmetylprolinet i sidekjeden hos cyklopeptid A; idet alkylidelene i alkanoylgruppene er rettlinjede eller forgrenede kjeder inneholdende 1-17 karbonatomer, eventuelt substituert med en eller flere halogenatomer, aminogrupper eller metyltiogrupper; idet alkenylidelene i alkenoylgruppene inneholder 10 karbonatomer; idet alkadienylidelene i alkadienoylgruppene inneholder 5 karbonatomer; idet alkylidelene i heterocyklylalkanoylgruppene er rettlinjede eller forgrenede kjeder, inneholdende 2-10 karbonatomer; idet alkylidelene i alkyloksykarbonylgruppene inneholder 9-11 karbonatomer og eventuelt er substituert med en dietylaminogruppe; idet alkylidelene i aralkanoylgruppene inneholder 1 eller 2 karbonatomer og eventuelt er substituert med en aminogruppe; idet de aromatiske delene i aralkanoyl-, aroyl-, arylsulfenyl-, eller arylsulfonylgruppene utgjøres av en benzen- eller naftalenkjerne som eventuelt er substituert med en metyl-, hydroksyl-, dimetylamino-, acetylamino-, nitro-, benzoyl- eller dietylaminogruppe; idet de heterocykliske deler i heterocyklylkarbonyl- eller heterocyklylalkanoylgruppene utgjør 5- eller 6-leddede enkjernede heterocykler inneholdende nitrogen eller en fentiazinylgruppe, som kan være substituert med en eller flere metyl- eller nitrogrupper; idet cykloalkyldelen i cykloalkylkarbonylgruppene utgjør en cykloheksylgruppe substituert med en aminogruppe; idet restene av de lineære peptidgruppene inneholder 2-3 aminosyrer av serie L; og idet de aminogrupper som utgjør substituenten på alkyl- eller cykloalkyldelene i de ovenfor definerte grupper, samt aminogruppen hos de lineære peptidgruppene eventuelt kan være substituert med en eller flere rettlinjede eller forgrenede alkylgrupper,

inneholdende 1-14 karbonatomer, alkanoylgrupper inneholdende 2-18 karbonatomer, tert.-butyloksykarbonyl-, benzyl- eller benzyloksykarbonylgrupper; i form av baser, addisjonssalter med syrer og kvaternære ammoniumsalter, idet fremgangsmåten er karakterisert ved at

- a) man kondenserer H-cyklopeptid A med en syre med den generelle formel $R'OH$, hvor R' betegner en alkanoyl-, alkenoyl-, alkadienoyl-, aralkanoyl-, aroyl-, cykloalkylkarbonyl-, hetrocyklylkarbonyl- eller heterocyklylalkanoylgruppe eller en rest av en lineær peptidgruppe, idet disse forskjellige grupper har ovennevnte definisjoner, og idet nærværende aminogrupper er substituert som angitt ovenfor, eller med et aktivert derivat av denne syre som et azid, en aktivert ester eller syreanhydrid eller et syreklorid, eller
- b) når R' betegner en alkyloksykarbonylgruppe som eventuelt er substituert på ovennevnte måte, omsetter man et alkylklorformiat som eventuelt er substituert på ovennevnte måte, med H-cyklopeptid A, eller
- c) når R' betegner en arylsulfenyl- eller arylsulfonylgruppe, omsetter man en forbindelse med den generelle formel



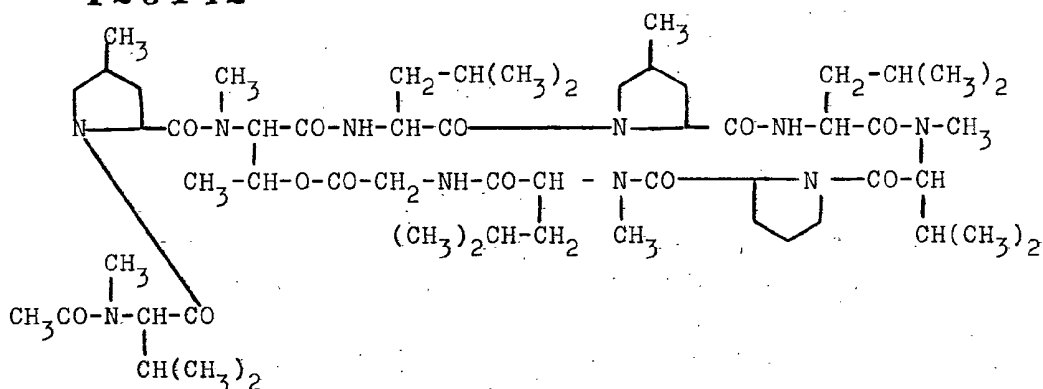
hvor R^{IV} er en benzen- eller naftalenkjerne som eventuelt er substituert som nevnt ovenfor, og n er 0 eller 2, med H-cyklopeptid A, hvoretter man eventuelt omdanner en således dannet forbindelse med formel



hvor -cyklopeptid A har ovennevnte betydning, og R_2 og R_3 som kan være like eller forskjellige, betegner et hydrogenatom eller en alkylgruppe, inneholdende 1-5 karbonatomer, til en annen forbindelse av formel (I) ved omsetning med en syre med den generelle formel $R'OH$, hvor R' betegner en alkanoylgruppe, inneholdende 2-18 karbonatomer eller en lineær peptidrest, inneholdende 1-2 aminosyrer, hvis aminogrupper kan være substituert på ovennevnte måte, eller med et aktivert derivat av denne syre som et azid, en aktivert ester, et syreanhydrid eller et syreklorid, hvoretter man ved sur hydrolyse eller katalytisk hydrering eventuelt frigjør de aminogrupper som er substituerte med tert. butyloksykarbonyl-, benzyl- eller benzyloksykarbonylgrupper og omdanner den dannede base til et salt eller omvendt.

Selve cyklopeptidet A (hvor R' er erstattet av et hydrogenatom) kan fåes ved forsiktig hydrolyse av antibiotikumet 11072 R.P. hvis fremstilling er omtalt i det norske patent nr. 116.283. Man har deretter bestemt at dette antibiotikum har den sannsynlige struktur:

125142

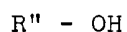


Antibiotikumet 11 072 R.P. kan hydrolyseres til cyklo-peptid A ved hjelp av en uorganisk eller organisk syre i oppløsning i et organisk oppløsningsmiddel. Fortrinnsvis anvender man vannfritt metanolisk hydrogenklorid. Reaksjonen utføres ved en temperatur nær 20°C og den er fullstendig etter ca. to timer.

Som kondensasjonsmetoder finnes det grunn til å nevne eksempelvis de metoder som anvender et karbodiimid som dicykloheksylkarbodiimid, metoden med azid, metoden med aktiverte estere, metoden med blandet anhydrid og metoden med syreklorider.

Ved disse metoder er de funksjonelle frie grupper som ikke bør delta i reaksjonen, med fordel beskyttet av grupper som senere kan elimineres uten innvirkning på resten av molekylet. Vanligvis anvender man rester som kan elimineres ved hydrolyse eller ved reduksjon. Aminogruppene beskyttes fortrinnsvis ved hjelp av alkoksykarbonylgrupper som tertiobutylloksykarbonyl, aralkoksykarbonyler som benzyloksykarbonyl eller aralkyl, som benzyl.

Spesielt hvis man anvender en syre med den generelle formel

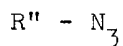


(IV)

hvor R'' har samme definisjon som R' , men ikke kan betegne et alkoksykarbonyl-, arylsulfenyl- eller arylsulfonylradikal, utføres reaksjonen i et organisk oppløsningsmiddel som etylacetat, dimetylformamid, acetonitril eller metylenklorid ved en temperatur mellom 0 og 30°C i nærvær av et karbodiimid som dicykloheksylkarbodiimid.

Hvis man anvender et azid med den generelle formel

125142

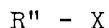


(V)

hvor R'' har den ovenfor angitte betydning, utføres reaksjonen i et organisk oppløsningsmiddel som etylacetat, eventuelt i nærvær av en organisk base som trietylamin og ved en temperatur mellom -15 og $+25^{\circ}\text{C}$.

Azidene med den generelle formel V fremstilles vanligvis ved omsetning av et alkalimetallnitrit med tilsvarende hydrazid i surt miljø.

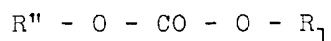
Hvis man anvender en aktivert ester med den generelle formel:



(VI)

hvor R'' har den ovenfor angitte betydning, og X betegner en rest av fenol eller av N -hydroksylert nitrogenheterocykel, som aktiverer den karbonylgruppe hvortil den er bundet som N -hydroksysuccinimid, p -nitrofenol, 2,4,5-triklorfenol eller 1-hydrokso-piperidin, utføres reaksjonen i et organisk oppløsningsmiddel som etylacetat eller dimetylformamid i nærvær av et karbodiimid som dicykloheksylkarbodiimid ved en temperatur mellom -15 og $+25^{\circ}\text{C}$ i nærvær av eventuelt en organisk base som trietylamin. De aktiverte estere fremstilles vanligvis in situ i henhold til vanlige metoder.

Hvis man anvender et syreanhydrid med den generelle formel:



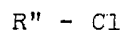
(VII)

hvor R'' har den ovenfor angitte betydning og R_1 betegner et alkylradikal inneholdende 1 - 5 karbonatomer, utføres reaksjonen i et organisk oppløsningsmiddel som metylenklorid ved en temperatur mellom -15 og $+20^{\circ}\text{C}$, eventuelt i nærvær av en organisk base som trietylamin.

Blandanhydrider med den generelle formel VII fremstilles vanligvis in situ ved omsetning av et alkylklorformiat som etyl eller isobutylklorformiat med en syre med den generelle formel IV i et organisk oppløsningsmiddel som metylenklorid i nærvær av en organisk base som trietylamin og ved en temperatur nær -10°C .

Hvis man anvender et syreklorid med den generelle formel:

125142

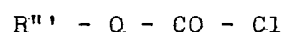


(VIII)

hvor

R'' har den ovenfor angitte betydning, utføres reaksjonen i et organisk oppløsningsmiddel som metylenklorid, eventuelt i nærvær av en organisk base som trietylamin, og ved en temperatur mellom -15 og $+25^{\circ}C$.

Når R' betegner et ovenfor definert, eventuelt substituert, alkoksykarbonylradikal, omsetter man cyklopeptidet A med et klorformiat med den generelle formel:

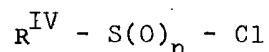


(IX)

hvor

R''' betegner et alkylradikal, inneholdende 1 - 15 karbonatomer, eventuelt substituert med et dialkylradikal, hvor hver alkyl-del inneholder 1 - 5 karbonatomer i et organisk oppløsningsmiddel som metylenklorid, i nærvær av en organisk base som trietylamin og ved en temperatur mellom -15 og $+30^{\circ}C$.

Hvis R' betegner et ovenfor definert arylsulfenyl-, arylsulfinyl- eller arylsulfonyl-radikal, omsetter man cyklopeptidet A med en forbindelse med den generelle formel:



hvor

R^{IV} er en benzen- eller naftalenring, som eventuelt er substituert med et eller flere alkylradikaler, amino- dialkylamino-, alkanoylamino- eller nitrogrupper, og n betegner 0 eller 2 i et organisk oppløsningsmiddel som etylacetat eller metylenklorid i nærvær av en organisk base som trietylamin - og ved en temperatur mellom -15 og $+20^{\circ}C$.

125142

Når i de ovenfor omtalte fremgangsmåter radikalene R'' , R''' og R^{IV} i forbindelsene IV, V, VI, VII, VIII, IX eller X inneholder beskyttende grupper, eliminerer man deretter disse beskyttende grupper ved anvendelse av vanlige metoder som katalytisk hydrogenering eller sur hydrolyse.

De nye produkter med den generelle formel I kan eventuelt renses ved hjelp av fysikalske metoder (som kromatografi) eller kjemiske metoder (som dannelsen av salter oppløselige i vann, filtrering og lyofilisering av de dannede oppløsninger, deretter spaltning av de dannede produkter).

De nye produkter kan i henhold til oppfinnelsen omannes til addisjonssalter med syrer eller til kvaternære ammoniumsalter avhengig av beskaffenheten av substituenten $-R'$.

Addisjonssaltene kan fåes ved omsetning av de nye forbindelser med syrer i et egnet oppløsningsmiddel. Vanligvis oppløseliggjør man basen i vann ved tilsetning av den teoretiske mengde syre og lyofiliserer den dannede oppløsning.

De kvaternære ammoniumsalter kan fåes ved omsetning av de nye forbindelser med estere, eventuelt i et organisk oppløsningsmiddel ved normal temperatur eller hurtigere ved lett oppvarmning.

De nye produkter, likesom også deres addisjonssalter og deres kvaternære ammoniumsalter, har interessante egenskaper for terapeutisk bruk. De er antibiotiske midler som har en kraftig anti-tuberkulosevirkning og dessuten en god virkning mot gram-positive og gramnegative organismer.

De har gitt gode resultater ved anti-tuberkuloseaktivitetsforsøk in vitro og in vivo. De har inhibert økningen av virulente tuberkelbasiller (humane stammer som $H_{37}Rv.$, stammer fra kvegbusker og forskjellige resistente mutanter av disse).

Aktiviteten in vitro ble bestemt ved hjelp av fortynningsmetoden i Dubos' medium. Ved disse betingelser er den minimale inhiberende konsentrasjon mellom 0,005 og 1 $\mu g/ml$.

Av spesiell interesse er forbindelsene med den generelle formel I, hvori R' betegner et alkanoyl- eller alkenoylradikal som eventuelt er substituert med en aminogruppe eller et alkyltioradikal eller et lineært paptidradikal, idet aminogruppene kan være substituert som ovenfor angitt.

125142

Aktiviteten in vivo bestemmes på mus som er infisert eksperimentelt og underkastet behandling i tre uker fra og med dagen for infeksjonen. Ikke-behandlede mus dør etter en periode på 20-30 døgn. Ved disse betingelser kan de minimale, virksomme doser fastslås; de er mellom 50 og 300 mg/kg per os.

Av spesiell interesse er forbindelsene med den generelle formel I, hvor R' betegner et alkanoylradikal som er substituert med en aminogruppe eller en lineær peptidgruppe, idet aminogruppene kan være substituert som angitt ovenfor.

For medisinsk bruk anvender man de nye forbindelsene enten i form av baser eller i form av addisjonssalter eller kvaternære ammoniumsalter som er farmasøytisk godtagbare, dvs. ikke-toksiske ved anvendelsesdosene.

Som eksempel på farmasøytisk godtagbare addisjonssalter kan nevnes salter av uorganiske syrer (som klorhydrater, sulfater, nitrater, fosfater) eller av organiske syrer (som acetater, propionater, succinater, benzoater, fumarater, maleater, tartrater, metansulfonater, benzensulfonater, teofyllinacetater, salicylater, fenolftalinater, metylenbis- β -oksy-naftoater eller substitusjonsderivater av disse syrer.

Som eksempel på farmasøytisk godtagbare, kvaternære ammoniumsalter kan nevnes derivater av uorganiske eller organiske estere, som klor-, brom- eller jod-metylater, -etylater, allylater eller benzylater, metyl- eller etylsulfater, metansulfonater, benzensulfonater eller substitusjonsderivater av disse forbindelser.

Følgende eksempler viser hvorledes oppfinnelsen kan utføres i praksis.

Rf-verdiene for produktene bestemmes ved hjelp av tynnsjiktskromatografi på silikagel.

Eksempel 1. (fremstilling av cyklopeptid A).

150 g av antibiotisk peptid, som er oppnådd som omtalt i det norske patent nr. 116.283, oppløses i 1320 ml 4,5 N klorhydrogensur metanol. Man omrører i 2 timer ved 20°C og konsenterer deretter til tørrhet under redusert trykk (25 mm Hg). Residuet ekstraheres to ganger med 250 ml metanol hver gang. Disse metanolekstrakter gir ved fordampning et amorft residuum som oppløses i en blanding av kloroform--metanol (95:5 volumdeler). Den dannede oppløsning helles gjennom en kolonne med en diameter på 11 cm og inneholdende 2 kg silikagel. Elueringen utføres ved hjelp av samme oppløsningsmiddel.

125142

Man samler opp fraksjoner på 640 ml. Fraksjonene 10 - 16 muliggjør å oppnå 123,3 g cyklopeptid A, som er kromatografisk ren i et utbytte på 95,5 %.

Rf = 0,55 (silikagel; 1,2-dikloretan-metanol, 65 - 35 volumdeler)

$$[\alpha]_D^{22} = -62^\circ \quad (c = 0,5, \text{ metanol}).$$

Eksempel 2.

Man oppløser 3,35 g cyklopeptid A i 70 ml etylacetat. Man tilsetter 1,13 g N α -acetyl-N- ϵ -bensyloksykarbonyl-L-lysin. Man avkjøler i et isbad og tilsetter 0,8 g dicykloheksylkarbodiimid. Man omrører i to timer under ytre avkjøling ved hjelp av isbad og deretter natten over ved 20°C. Man tilsetter fem dråper iseddik og filtrerer deretter fra dannet uoppløselig materiale. Man vasker utfellingen med etylacetat, forener de organiske faser og konsentrerer deretter til tørrhet under redusert trykk (25 mm Hg). Man oppløser residuet med 10 ml etylacetat og vasker den dannede oppløsning suksessivt med en 2 %-ig oppløsning av natriumbikarbonat og deretter med N klorhydrogen-syre og endelig med destillert vann. Den organiske fase tørkes over vannfritt natriumsulfat og filtreres deretter. Filtratet konsentreres til tørrhet under nedsatt trykk (25 mm Hg).

Det urene residu (3,14 g) plasseres i en kolonne med en diameter på 3 cm inneholdende 75 g silikagel. Man eluerer suksessivt med bensen, blandingene bensen-etylacetat 9 : 1 (volumdeler) og 5 : 5 (volumdeler), etylacetat og blandingene etylacetat-metanol 95 : 5 (volumdeler), 90 : 10 (volumdeler) og 75 : 25 (volumdeler). Fraksjonene eluert med etylacetat og med blandingene etylacetat-metanol 95 : 5 og 90 : 10 forenes og konsentreres til tørrhet under redusert trykk (25 mm Hg).

Man får således 2,13 g (N α -acetyl-N- ϵ -bensyloksykarbonyl-L-lysyl)-cyklopeptid A med et utbytte på 48,5 %.

$$N \% = 12,43 \quad (\text{teoretisk } 12,20)$$

$$[\alpha]_D^{20} = -67,6^\circ \quad (c = 0,5, \text{ metanol})$$

Rf = 0,73 (silikagel, 1,2-dikloretan-metanol, 8 : 2 volumdeler).

Ved å arbeide på samme måte, idet det går ut fra egnede utgangsmaterialer, fremstiller man:

(N-bensyl-N-metyl-L-valyl)-cyklopeptid A

$$C \% = 64,13 \quad (\text{teoretisk } 64,30) \quad H \% = 8,53 \quad (\text{teoretisk } 8,67)$$

$$Rf = 0,67 \quad (\text{silikagel, 1,2-dikloretan-metanol, 8 : 2 volumdeler})$$

125142

deler),

klorhydratet av (N-bensyl-N-metyl-D-valyl)-cyklopeptid A

N % = 11,50 (teoretisk 11,69) Cl % = 2,95 (teoretisk 2,96)

Rf = 0,87 (silikagel, 1,2-dikloretan-metanol, 65 : 35 volum-deler),

metansulfonatet av (N-bensyl-N-metyl-DL-valyl)-cyklopeptid A

N % = 10,59 (teoretisk 11,13) S % = 2,65 (teoretisk 2,55)

Rf = 0,74 (silikagel, 1,2-dikloretan-metanol, 80 : 20 volum-deler),

(N-bensyloksykarbonyl-L-valyl)-cyklopeptid A

N % = 11,93 (teoretisk 11,76)

$[\alpha]_D^{20} = -73,2^\circ$ (c = 0,5, metanol)

Rf = 0,85 (silikagel, 1,2-dikloretan-metanol, 65 : 35 volum-deler),

(N-bensyloksykarbonylglykyl)-cyklopeptid A

N % = 11,87 (teoretisk 12,18)

Rf = 0,40 (silikagel, 1,2-dikloretan-metanol, 88 : 12 volum-deler),

metansulfonatet av (N-bensylsarkosyl)-cyklopeptid A

N % = 10,81 (teoretisk 11,52) S % = 2,89 (teoretisk 2,64)

Rf = 0,77 (silikagel, 1,2-dikloretan-metanol, 65 : 35 volum-deler),

(N-dekanoyl-L-valyl)-cyklopeptid A

N % = 11,60 (teoretisk 11,56)

Rf = 0,83 (silikagel, 1,2-dikloretan-metanol, 8 : 2 volum-deler),

(undecene-10-oyl)-cyklopeptid A

C % = 64,33 (teoretisk 64,08) N % = 10,95 (teoretisk 11,21)

Rf = 0,58 (silikagel, 1,2-dikloretan-metanol, 8 : 2 volum-deler),

(1-metyl-4-nitro-2-pyrrolylkarbonyl)-cyklopeptid A

N % = 13,81 (teoretisk 13,87)

Rf = 0,84 (silikagel, 1,2-dikloretan-metanol, 8 : 2 volum-deler),

klorhydratet av (N-bensyl-N-metyl-L-metionyl)-cyklopeptid A

N % = 11,62 (teoretisk 11,39) S % = 3,12 (teoretisk 2,61)

Rf = 0,65 (silikagel, n-butanol-eddiksyre-vann, 4 : 1 : 5 volumdeler),

(N-bensyloksykarbonyl-L-fenylglykyl)-cyklopeptid A

N % = 11,11 (teoretisk 11,42)

R_f = 0,85 (silikagel; 1,2-dikloretan-metanol, 65 : 35 volumdeler),

klorhydratet av (N-heksyl-N-metyl-L-valyl)-cyklopeptid A

C % (for basen) = 63,45 (teoretisk 63,40),

H % (for basen) = 9,12 (teoretisk 9,24)

N % (for basen) = 12,03 (teoretisk 12,12),

R_f = 0,53 (silikagel, 1,2-dikloretan-metanol, 8 : 2 volumdeler),

klorhydratet av (N-bensyl-N-metyl-L-alanyl)-cyklopeptid A

N % = 12,20 (teoretisk 11,98) Cl % = 3,3 (teoretisk 3,03)

R_f = 0,85 (silikagel, 1,2-dikloretan-metanol, 65 : 35 volumdeler),

(N-bensyl-N-metyl-L-fenylalanyl)-cyklopeptid A

N % = 11,50 (teoretisk 11,58).

R_f = 0,77 (silikagel, 1,2-dikloretan-metanol, 8 : 2 volumdeler),

palmitoyl-cyklopeptid A

C % = 64,45 (teoretisk 65,24) H % = 9,41 (teoretisk 9,51)

N % = 10,30 (teoretisk 10,53)

R_f = 0,77 (silikagel, 1,2-dikloretan-metanol, 8 : 2 volumdeler),

undekanoyl-cyklopeptid A

C % = 64,78 (teoretisk 64,0), H % = 9,28 (teoretisk 9,21)

N % = 10,9 (teoretisk 11,18)

R_f = 0,52 (silikagel, 1,2-dikloretan-metanol, 8 : 2 volumdeler),

dodekanoyl-cyklopeptid A

N % = 11,1 (teoretisk 11,05)

R_f = 0,78 (silikagel, 1,2-dikloretan-metanol, 8 : 2 volumdeler),

[L(+)-6-metyl-oktanoyl]-cyklopeptid A

C % = 63,63 (teoretisk 63,41) H % = 8,50 (teoretisk 9,03)

N % = 11,12 (teoretisk 11,47),

R_f = 0,77 (silikagel, 1,2-dikloretan-metanol, 8 : 2 volumdeler),

bensoyl-cyklopeptid A

N % = 11,88 (teoretisk 11,86)

R_f = 0,85 (silikagel, 1,2-dikloretan-metanol, 65 : 35 volumdeler),

125142

isonikotinoyl-cyklopeptid A

N % = 13,14 (teoretisk 13,17)

Rf = 0,83 (silikagel, 1,2-dikloretan-metanol, 65 : 35 volumdeler),

salicyloyl-cyklopeptid A

N % = 11,97 (teoretisk 11,68)

Rf = 0,80 (silikagel, 1,2-dikloretan-metanol, 65 : 35 volumdeler),

dekanoyl-cyklopeptid A

C % = 63,98 (teoretisk 63,69) H % 9,41 (teoretisk 9,15)

Rf = 0,70 (silikagel, 1,2-dikloretan-metanol, 65 : 35 volumdeler),

klorhydratet av (N-heksyl-L-valyl)-cyklopeptid A

N % (for basen) = 12,25 (teoretisk 12,27)

Rf = 0,37 (silikagel, 1,2-dikloretan-metanol, 8 : 2 volumdeler),

(N-bensyl-N-metyl-L-leucyl)-cyklopeptid A

N % = 11,99 (teoretisk 11,91)

Rf = 0,72 (silikagel, 1,2-dikloretan-metanol, 8 : 2 volumdeler),

(p-4-metoksybensyloksykarbonylamino-cykloheksylkarbonyl)-cyklopeptid A

N % = 10,8 (teoretisk 11,22)

Rf = 0,76 (silikagel, 1,2-dikloretan-metanol, 8 : 2 volumdeler),

[10-metyl-3-fentiazinyl]-acetyl]-cyklopeptid A

N % = 11,3 (teoretisk 11,56) S % = 2,53 (teoretisk 2,64)

Rf = 0,56 (silikagel, 1,2-dikloretan-metanol, 8 : 2 volumdeler),

[2-(3-bensoyl-fenyl)-propionyl]-cyklopeptid A

N % = 10,45 (teoretisk 10,55)

Rf = 0,57 (silikagel, 1,2-dikloretan-metanol, 8 : 2 volumdeler),

(N,N-diheptylglykyl)-cyklopeptid A

N % = 11,43 (teoretisk 11,56)

Rf = 0,74 (silikagel, 1,2-dikloretan-metanol, 8 : 2 volumdeler),

Eksempel 3.

Man oppløser 0,21 g N-tertiobutyloksykarbonyl-L-valin i 25 ml metylenklorid tilsatt 0,14 ml trietylamin. Man avkjøler til

125142

-7°C og tilsetter 0,1 ml etylklorformiat og omrører deretter i 35 minutter ved -5°C. Man tilsetter deretter oppløsningen av 0,96 g cyklopeptid A i 10 ml metylenklorid tilsatt med 0,14 ml trietylamin. Man omrører i 18 timer under ytre avkjøling ved hjelp av et isbad. Man konsentrerer til tørrhet under redusert trykk (25 mm Hg). Man får 0,97 g urent (N-tertiobutylloksykarbonyl-L-valyl)-cyklopeptid A med et utbytte på 84 %. Produktet oppløses i etylacetat og oppløsningen filtreres og vaskes deretter med vann. Man konsentrerer til tørrhet under redusert trykk (25 mm Hg). Man får således 0,73 g ren (N-tertiobutylloksykarbonyl-L-valyl)-cyklopeptid A i et utbytte på 63 %.

N % = 11,7 (teoretisk 12,1)

Rf = 0,70 (silikagel, 1,2-diklorethan-metanol, 8 : 2 volum-deler).

Eksempel 4.

Man oppløser 2,5 g L(+) 6-metyl-oktanoyl-N- γ -bensyloksykarbonyl-L- α , γ -diaminobutyryl-L-treonyl-N- γ -bensyloksykarbonyl-L- α , γ -diaminobutyrylhydrazid (fremstilt i henhold til den metode som er omtalt av K. Vogler m fl., Helv. 48, 1161 (1965)) i 75 ml iseddik og 7,08 ml 1-normal klorhydrogensyre. Man avkjøler til 2°C. Man setter deretter til den isavkjølte oppløsning 0,232 g natriumnitritt i 2,5 ml vann. Man omrører i 15 min. ved 0°C. Man heller oppløsningen i en dekanteringsbeholder avkjølt til 0°C og tilsetter deretter 200 ml av en 5 %ig isavkjølt oppløsning av natriumbikarbonat. Man fradekanterer den organiske fase som vaskes fem ganger suksessivt med 60 ml 5 %ig isavkjølt bikarbonatoppløsning. Vaskevannet ekstraheres på nytt med 100 ml isavkjølt etylacetat. De organiske ekstrakter vaskes selv med en isavkjølt 5 %ig natriumbikarbonatoppløsning. Alle organiske faser forenes og tørkes deretter over vannfritt natriumsulfat ved en temperatur mellom 0 og 2°C. Man filtrerer hurtig og setter den så oppnådde oppløsning av L(+)-6-metyl-oktanoyl-N- γ -bensyloksykarbonyl-L- α , γ -diaminobutyryl-L-treonyl-N-bensyloksykarbonyl-L- α , γ -diaminobutyrylazid til en iskald oppløsning av 3,23 g cyklopeptid A i 100 ml etylacetat, tilsatt 0,47 ml trietylamin. Man omrører i 18 timer ved en temperatur mellom 0 og 2°C og i 48 timer ved 20°C.

Den dannede oppløsning konsentreres til tørrhet under redusert trykk (25 mm Hg). Man oppløser residuet i 100 ml vann. Man maler til pulverisering av residuet. Man filtrerer deretter og tørker under redusert trykk (0,3 mm Hg) i nærvær av fosforsyreanhydrid. Man oppløser det dannede produkt i 20 ml aceton, filtrerer fra en liten

125142

mengde uoppløst materiale og konsentrerer til tørrhet under redusert trykk (20 mm Hg).

Man får således 4,44 g (L(+)-6-metyloktanoyl-N- γ -bensyloksykarbonyl-L- α , γ -diaminobutyryl-L-treonyl-N- γ -bensyloksykarbonyl-L- α , γ -diaminobutyryl)-cyklopeptid A i et utbytte på 79 %.

N % = 11,54 (teoretisk 11,75)

R_f = 0,92 (silikagel, 1,2-dikloretan-metanol, 1 : 1 volum-deler).

Ved å arbeide på samme måte og gående ut fra egnede utgangsmaterialer fremstiller man:

(N- α -palmitoyl-N- ϵ -bensyloksykarbonyl-L-lysyl)-cyklopeptid A

N % = 10,51 (teoretisk 10,56) C % = 64,65 (teoretisk 65,03)

H % = 8,89 (teoretisk 9,05)

R_f = 0,75 (silikagel, 1,2-dikloretan-metanol, 8 : 2 volum-deler),

(N- α -pelargonyl-N- ϵ -bensyloksykarbonyl-L-lysyl)-cyklopeptid A

N % = 11,08 (teoretisk 11,32) C % = 63,18 (teoretisk 63,55)

H % = 8,41 (teoretisk 8,66)

R_f = 0,59 (silikagel, 1,2-dikloretan-metanol, 8 : 2 volum-deler),

(N- α -palmitoyl-N- γ -bensyloksykarbonyl-L- α , γ -diaminobutyryl)-cyklopeptid A

N % = 10,59 (teoretisk 10,76) C % 65,02 (teoretisk 64,63)

H % = 8,82 (teoretisk 8,95)

R_f = 0,68 (silikagel, 1,2-dikloretan-metanol, 8 : 2 volum-deler),

(N- α -L(+)-6-metyloktanoyl-N- γ -bensyloksykarbonyl-L- α , γ -diaminobutyryl)-cyklopeptid A

N % = 11,13 (teoretisk 11,56) C % = 63,00 (teoretisk 63,08)

H % = 8,51 (teoretisk 8,55)

R_f = 0,55 (silikagel, 1,2-dikloretan-metanol. 8 : 2 volum-deler).

Eksempel 5.

Ved å arbeide som angitt i eksempel 4 og gå ut fra følgende forbindelser:

L(+)-6-metyloktanoyl-N- γ -bensyloksykarbonyl-L- α , γ -diaminobutyryl-L-treonyl-N- γ -bensyloksykarbonyl-L- α , γ -diaminobutyrylhydrazid
iseddik

2,5 g

75 ml

l-normal klorhydrogensyre 7,08 ml
 natriumnitritt: 232 mg i oppløsning i 2,5 ml
 vann

(N-metyl-L-valyl)-cyklopeptid A: 3,6 g i oppløsning
 i 100 ml etylacetat tilsatt 0,94 ml trietylamin

får man 5,23 g (L(+)-6-metyloktanoyl-N- γ -bensyloksykarbonyl-L- α , γ -diaminobutyryl-L-treonyl-N- γ -bensyloksykarbonyl-L- α , γ -diaminobutyryl-N-metyl-L-valyl)-cyklopeptid A i et utbytte på 87,5 %. Dette produkt renses ved kromatografi på silikagel. Man anvender 50 g silikagel for 5 g produkt og eluerer produktet med etylacetat og etylacetat-metanol 9 : 1 (volumdeler). Denne rensing muliggjør å oppnå 2,81 g kromatografisk ren (L(+)-6-metyloktanoyl-N- γ -bensyloksykarbonyl-L- α , γ -diaminobutyryl-L-treonyl-N- γ -bensyloksykarbonyl-L- α , γ -diaminobutyryl-N-metyl-L-valyl)-cyklopeptid A med et utbytte på 47 %.

N % = 11,79 (teoretisk 11,79)

R_f = 0,31 (silikagel, 1,2-dikloretan-metanol, 8 : 2 volumdeler).

På samme måte fremstilles følgende produkter:

(N-stearoyl-L-valyl)-cyklopeptid A

N % = 10,46 (teoretisk 10,58)

R_f = 0,45 (silikagel, 1,2-dikloretan-metanol, 8 : 2 volumdeler)

(N-stearoyl-N-metyl-L-valyl)-cyklopeptid A

N % = 10,02 (teoretisk 10,4)

R_f = 0,78 (silikagel, 1,2-dikloretan-metanol, 8 : 2 volumdeler).

Eksempel 6.

Man oppløser 1,43 g heptansyre i 5 ml dimetylformamid og tilsetter deretter 0,173 g N-hydroksysuccinimid. Man avkjøler til -10°C og tilsetter 0,31 g dicykloheksylkarbodiimid. Man omrører i 1 time ved -10°C, deretter to timer ved 0°C og i 18 timer ved 20°C. Man eliminerer dannet dicykloheksylkarbamid ved filtrering og tilsetter deretter til filtratet oppløsningen av 1,44 g cyklopeptid A i 75 ml dimetylformamid tilsatt 0,21 ml trietylamin. Man omrører i 18 timer ved 20°C. Man konsentrerer reaksjonsmediet til tørrhet under redusert trykk (25 mm Hg). Man oppløser det dannede residu i 50 ml etylacetat og vasker suksessivt med en 5 %ig vannoppløsning av natriumbikarbonat, l-normal klorhydrogensyre og vann. Man tørker den organiske fase over vannfritt natriumsulfat. Man filtrerer og konsentrerer deretter

125142

filtratet til tørrhet under redusert trykk (25 mm Hg). Man kromatograferer residuet gjennom 20 ganger sin vekt av silikagel under elue-ring med blandingen kloroform-metanol, idet man suksessivt øker innholdet av metanol. Heptanoylcyklopeptid A elueres med en blanding av kloroform-metanol 8 : 2 (volumdeler). Tilsvarende fraksjoner konsentreres til tørrhet under nedsatt trykk (25 mm Hg).

Man får således 0,92 g heptanoyl-cyklopeptid A med et utbytte på 37 %.

N % = 11,2 (teoretisk 11,77) C % = 62,6 (teoretisk 62,83)

H % = 8,9 (teoretisk 8,94)

Rf = 0,82 (silikagel, 1,2-dikloretan-metanol, 65 : 35 volumdeler),

Ved å arbeide på samme måte men gående ut fra egnede utgangsmaterialer fremstilles følgende produkter:

stearoyl-cyklopeptid A

C % = 65,80 (teoretisk 65,70) H % = 9,6 (teoretisk 9,62)

Rf = 0,82 (silikagel, 1,2-dikloretan-metanol, 65 : 35 volumdeler),

n-butyryl-cyklopeptid A

C % = 60,9 (teoretisk 61,9) H % = 8,7 (teoretisk 8,72)

Rf = 0,55 (silikagel, 1,2-dikloretan-metanol, 65 : 35 volumdeler),

sorboyl-cyklopeptid A

N % = 11,99 (teoretisk 11,97)

Rf = 0,75 (silikagel, 1,2-dikloretan-metanol, 65 : 35 volumdeler),

klorhydratet av (11-pyrrolidinoundecanoyl)-cyklopeptid A

N % = 10,9 (teoretisk 11,35) Cl % = 2,65 (teoretisk 2,87)

Rf = 0,60 (silikagel, 1,2-dikloretan-metanol, 65 : 35 volumdeler),

klorhydratet av (2-pyrrolidinoheksanoyl)-cyklopeptid A

N % = 11,81 (teoretisk 12,05)

Rf = 0,70 (silikagel, 1,2-dikloretan-metanol, 65 : 35 volumdeler).

Eksempel 7.

Man oppløser 2,875 g cyklopeptid A i 10,5 ml dimetylformamid og deretter tilsetter man 1,28 g N-tertiobutyloksykarbonyl-L-metionat av 2,4,5-triklorfenyl. Man avkjøler oppløsningen til 0°C, tilsetter deretter langsomt 0,42 ml trietylamin og omrører deretter i

125142

18 timer ved 0°C. Man heller denne oppløsning i blandingen av 45 g is og 15 ml cykloheksan tilsatt 0,2 ml eddiksyre. Man får en hvit olje som man avdekanterer og som man oppløser i 6 ml etylacetat. Ved tilsetning av 100 ml petroleumseter får man et hvitt, fast residu som man fra-filtrerer og tørker. Man får 2,85 g (N-tertiobutylloksykarbonyl-L-metionyl)-cyklopeptid A. 1,2 g av dette produkt oppløses i 2,73 ml klorhydrogensur dioksan (1,8 N) og holdes i 5 timer ved 20°C. Man konsentrerer til tørrhet under redusert trykk (25 mm Hg), oppløser det dannede produkt med etylacetat og kromatograferer det deretter gjennom 15 g silikagel i en kolonne med en diameter på 1,2 cm. Fraksjonene, eluert med blandingen etylacetat-metanol (90 : 10 volumdeler), forenes. Man fordamper oppløsningsmidlet under redusert trykk (25 mm Hg), oppløser residuet med 50 ml vann og lyofiliserer den dannede oppløsning. Man får således 0,52 g klorhydrat av (L-metionyl)-cyklopeptid A.

S % = 2,92 (teoretisk 2,84)

Rf = 0,47 (silikagel, 1,2-dikloretan-metanol, 8 : 2 volumdeler),

Ved å arbeide på samme måte men gående ut fra egnede utgangsmaterialer får man:

klorhydratet av (6-pyrrolidinoheksanoyl)-cyklopeptid A

N % = 12,05 (teoretisk 12,05)

Rf = 0,52 (silikagel, 1,2-dikloretan-metanol, 65 : 35 volumdeler).

Eksempel 8.

Man oppløser 2 g cyklopeptid A i 40 ml metylenklorid og tilsetter deretter 0,28 ml trietylamin. Man avkjøler til en temperatur mellom -5 og -10°C og tilsetter deretter i løpet av 10 minutter samtidig følgende to oppløsninger:

- a) 0,56 ml trietylamin oppløst i 15 ml metylenklorid
- b) 0,684 g klorhydrat av 11-dietylamino-undecylklorformiat i 15 ml metylenklorid:

Man omrører i 2 timer ved 0°C og deretter i 18 timer ved 20°C. Man vasker deretter reaksjonsmediet ved hjelp av en 5 %ig oppløsning av natriumbikarbonat og deretter med en mettet oppløsning av natriumklorid. Man tørker over natriumsulfat, filtrerer og konsentrerer til tørrhet under redusert trykk (25 mm Hg). Det dannede residu kromatograferes gjennom 25 g silikagel i en kolonne med en diameter på 1,2 cm. Fraksjonene, eluert med blandingene etylacetat-metanol 98 : 2 og 95 : 5 (volumdeler), forenes og konsentreres til tørrhet under redu-

125142

sert trykk (25 mm Hg). Man oppløser residuet i 40 ml vann og tilsetter deretter dråpevis 1-N klorhydrogensyre til pH 3. Man frafiltrerer en liten mengde uoppløselig materiale og lyofiliserer filtratet. Man får således 1,24 g klorhydrat av (11-dietylamino-undecyloksykARBONYL)-cyklopeptid A med et utbytte på 50 %.

N % = 10,87 (teoretisk 11,07)

Rf = 0,64 (silikagel, 1,2-dikloreTan-metanol, 65 : 35 volum-deler).

På samme måte fremstiller man:

decyloksykARBONYL-cyklopeptid A

C % = 63,50 (teoretisk 63,08) H % = 9,10 (teoretisk 9,08)

N % = 11,95 (teoretisk 11,03)

Rf = 0,85 (silikagel, 1,2-dikloreTan-metanol, 8 : 2 volum-deler).

Eksempel 9.

Man blander 2,98 g cyklopeptid A, 0,569 g o-nitrofenyl-sulfenylklorid og 0,42 ml trietylamin i 40 ml etylacetat ved 20°C. Man omrører i 18 timer under ytre avkjøling med et isbad og konsentrerer deretter til tørrhet under redusert trykk (25 mm Hg). Man får 3,45 g av et urent produkt som kromatograferes gjennom 30 g silikagel i en kolonne med en diameter på 2 cm. Fraksjonene eluert med etylacetat konsentreres til tørrhet under redusert trykk (25 mm Hg). Man får således 1 g (o-nitrofenylsulfenyl)-cyklopeptid A.

N % = 12,1 (teoretisk 12,6)

S % 2,85 (teoretisk 2,88)

Rf = 0,79 (silikagel, 1,2-dikloreTan-metanol, 8 : 2 volum-deler).

På samme måte, idet det gÅes ut fra egnede utgangsmaterialer, fremstiller man:

(1-dimetylamino-5-naftalensulfonyl)-cyklopeptid A

N % = 11,66 (teoretisk 11,75) S % = 2,69 (teoretisk 2,69)

Rf = 0,70 (silikagel, 1,2-dikloreTan-metanol, 8 : 2 volum-deler),

p-toluensulfonyl-cyklopeptid A

N % = 11,10 (teoretisk 11,33) S % 2,56 (teoretisk 2,88)

Rf = 0,74 (silikagel, 1,2-dikloreTan-metanol, 8 : 2 volum-deler),

p-acetylaminobensensulfonyl-cyklopeptid A

N % = 11,71 (teoretisk 12,12) S % 2,93 (teoretisk 2,77)

Rf = 0,82 (silikagel, 1,2-dikloretan-metanol, 8 : 2 volum-deler).

Eksempel 10.

Man oppløser 863 mg (N- α -acetyl-N- ϵ -bensyloksykarbonyl-L-lysyl)-cyklopeptid A i 25 ml metanol. Man tilsetter 863 mg palladium på kull (inneholdende 3 % aktivt metall). Man hydrerer under kraftig omrøring i 2 timer ved 20°C og under et trykk på 760 mm Hg. Man filtrerer den dannede oppløsning og vasker utfellingen med 10 ml 0,5-N klorhydrogensyre. Man forener filtratet og vaskevannet. Man konsentrerer til tørrhet under nedsatt trykk (25 mm Hg) i en rotasjonsfordamper. Man oppløser residuet i 5 ml aceton og utfeller produktet ved tilsetning av 50 ml isavkjølt eter. Etter avkjøling i tre timer ved +4°C frafiltrerer man utfellingen som vaskes med eter og deretter tørkes i 18 timer under redusert trykk (0,3 mm Hg) i nærvær av fosforsyre-anhydrid. Man får således 0,46 g (N- α -acetyl-L-lysyl)-cyklopeptid A i et utbytte på 57,6 %.

N % = 13,0 (teoretisk 13,23)

$[\alpha]_D^{20} = -77,2^\circ$ (c = 0,5, metanol)

Rf = 0,56 (silikagel, 1,2-dikloretan-metanol, 1 : 1 volum-deler).

På samme måte, idet det går ut fra egnede utgangsmaterialer, fremstilles følgende produkter:

metansulfonatet av L-valyl-cyklopeptid A

N % = 11,83 (teoretisk 12,14)

Rf = 0,55 (silikagel, 1,2-dikloretan-metanol, 65 : 35 volum-deler),

klorhydratet av (L(+)-6-metyloktanoyl-L- α , γ -diaminobutyryl-L-treonyl-L- α , γ -diaminobutyryl)-cyklopeptid A

Cl % = 5,08 (teoretisk 4,81)

Rf = 0,14 (silikagel, 1,2-dikloretan-metanol, 1 : 1 volum-deler),

klorhydratet av (L(+)-6-metyloktanoyl-L- α , γ -diaminobutyryl-L-treonyl-L- α , γ -diaminobutyryl-N-metyl-L-valyl)-cyklopeptid A

N % = 13,37 (teoretisk 13,25) Cl % = 4,47 (teoretisk 4,47)

Rf = 0,05 (silikagel, 1,2-dikloretan-metanol, 1 : 1 volum-deler),

(N- α -palmitoyl-L-lysyl)-cyklopeptid A

N % = 10,9 (teoretisk 11,3)

125142

Rf = 0,14 (silikagel, 1,2-diklorethan-metanol, 8 : 2 volum-
deler),

klorhydratet av (N- α -pelargonyl-L-lysyl)-cyklopeptid A

N % = 12,20 (teoretisk 12,19) Cl % = 2,95 (teoretisk 2,81)

Rf = 0,08 (silikagel, 1,2-diklorethan-metanol, 8 : 2 volum-
deler),

klorhydratet av (N- α -L(+)-6-metyloktanoyl-L- α , γ -diaminobutyryl)-
cyklopeptid A

N % = 12,27 (teoretisk 12,48)

Rf = 0,40 (silikagel, 1,2-diklorethan-metanol, 8 : 2 volum-
deler),

(N-metyl-p-dimetylaminofenyl-DL-alanyl)-cyklopeptid A

N % = 13,05 (teoretisk 13,25)

Rf = 0,5 (silikagel, 1,2-diklorethan-metanol, 8 : 2 volum-
deler).

Eksempel 11.

Man oppløser 0,5 g (p-metoksybensyloksykarbonyl-4-amino-
cykloheksylkarbonyl)-cyklopeptid A i 10 ml dioksan. Man tilsetter
0,25 ml 4-N vannfri, klorhydrogensur dioksan og omrører den dannede
oppløsning i 18 timer. Man eliminerer oppløsningsmidlet under nedsatt
trykk (30 mm Hg) ved 35°C og oppløser residuet med 20 ml etylacetat.
Man vasker den dannede oppløsning med 20 ml vann og dekanterer fra den
organiske fase som man fordamper til tørrhet under redusert trykk
(30 mm Hg) ved 35°C. Residuet oppløses i 10 ml dioksan og behandles i
4 timer med 0,84 ml 4-N vannfri, klorhydrogensur dioksan. Man elimi-
nerer oppløsningsmidlet under redusert trykk (30 mm Hg) ved 35°C og
oppløser residuet i 20 ml etylacetat. Man vasker oppløsningen med 20
ml vann og fra-dekanterer vannfasen som man forener med den under
første behandling dannede vannfase. Man konsentrerer til tørrhet
under redusert trykk (0,3 mm Hg) ved 35°C. Man oppløser residuet med
10 ml vann, frafiltrerer en liten mengde uoppløselig materiale og for-
damper til tørrhet under redusert trykk, som ovenfor. Residuet opp-
løses i 10 ml vann og lyofiliseres. Man får således 0,355 g (4-amino-
cykloheksylkarbonyl)-cyklopeptid A i et utbytte på 78 %.

N % = 12,75 (teoretisk 12,51)

Rf = 0,43 (silikagel, 1,2-diklorethan-metanol, 8 : 2 volum-
deler).

Eksempel 12.

Man oppløser 10 g cyklopeptid A i 200 ml metylenklorid og

125142

tilsetter 1,4 ml trietylamin. Man avkjøler den således dannede oppløsning til -5°C og tilsetter deretter, i løpet av 10 min., den isavkjølte oppløsning av 1,81 g trikloracetylklorid i 20 ml metylenklorid. Man omrører reaksjonsblandingen i 2 timer ved -5°C og deretter i 18 timer ved værelsetemperatur. Man eliminerer oppløsningsmidlet ved destillering under redusert trykk (30 mm Hg) ved 50°C og oppløser residuet i 100 ml etylacetat. Man eliminerer uoppløselig materiale ved filtrering og vasker filtratet suksessivt med to ganger 75 ml av en 5%-ig isavkjølt oppløsning av natriumbikarbonat med to ganger 75 ml 1-n klorhydrogensyre og deretter med 30 ml av en mettet oppløsning av natriumklorid. Man tørker den organiske fase over natriumsulfat, filtrerer og konsentrerer filtratet til tørrhet under redusert trykk (30 mm Hg) ved 50°C . Man får således 7,23 g urent produkt som man oppløser i 20 ml etylacetat og som man satser gjennom en kolonne med en diameter på 2 cm og inneholdende 125 g silikagel. Elueringen utføres ved hjelp av etylacetat. Produktet samles opp i fraksjoner mellom 150 og 450 ml eluat etter eliminering av oppløsningsmidlet under redusert trykk (30 mm Hg) ved 50°C . Etter tørking ved 30°C under nedsatt trykk (0,1 mm Hg) får man 6 g trikloracetyl-cyklopeptid A i et utbytte på 53%.

N % = 10,9 (teoretisk 11,13)

Rf = 0,8 (silikagel, 1,2-diklorethan-metanol, 65 : 35 volumdeler).

Eksempel 13.

Man oppløser 65 g N-lauryl-N-metyl-D-valin i 800 ml metylenklorid og tilsetter 51 ml trietylamin. Etter å ha avkjølt reaksjonsmediet i et isbad tilsetter man 182 g cyklopeptid A og deretter 42,5 g dicykloheksylkarbodiimid. Man omrører i 18 timer ved 2°C og deretter 48 timer ved en temperatur nær 20°C . Man tilsetter deretter 5 ml iseddik, hvorefter man filtrerer fra den dannede utfelling. Man konsentrerer til tørrhet under nedsatt trykk (25 mm Hg) og oppløser residuet i 500 ml etylacetat. Den dannede suspensjon helles i et isbad i 30 min., hvorefter man filtrerer fra uoppløselig materiale. Filtratet konsentreres til tørrhet under nedsatt trykk (25 mm Hg).

Det således dannede urene produkt renses ved kromatografi. For dette formål heller man oppløsningen av det urene produkt i 500 ml etylacetat gjennom en kolonne med en diameter på 10 cm inneholdende 2 kg kiseldioksyd. Elueringen utføres ved hjelp av

125142

blandinger etylacetat/metanol med økende innhold av metanol. Man oppsamler fraksjoner på 300 ml. De fraksjoner som elueres med blandingene etylacetat/metanol (98:2 volumdeler), forenes og konsentreres deretter til tørrhet under nedsatt trykk (25 mm Hg). Det dannede produkt oppløses i 900 ml vann. Man surgjør til pH 1 ved tilsetning av 1-n klorhydrogensyre, hvorefter man omrører i 2 timer til fullstendig oppløsning. Man konsentrerer til tørrhet under nedsatt trykk (0,3 mm Hg) for å avdrive overskudd av klorhydrogen-syre, hvorefter man oppløser residuet i 500 ml vann og konsentrerer til tørrhet under nedsatt trykk (0,3 mm Hg). Man oppløser residuet i 900 ml vann og lyofiliserer.

Man får således 74 g klorhydrat av N-lauryl-N-metyl-D-valyl-cyklopeptid A.

C % = 62,7 (teoretisk 63,06)

H % = 9,25 (teoretisk 9,25)

Cl% = 2,6 (teoretisk 2,77)

Rf = 0,51 (silikagel 1,2-dikloretan-metanol, 8:2 volumdeler).

Eksempel 14.

Man arbeider som i eksempel 13, men anvender 1,75 g N-undecyl-N-metyl-D-valin i 110 ml metylenklorid, 1,52 ml trietylamin, 5,4 g cyklopeptid A og 1,12 g dicykloheksylkarbodiimid. Etter kromatografering gjennom en kolonne inneholdende 120 g kiseldioksyd får man 1,83 g N-undecyl-N-metyl-D-valylcyklopeptid A.

C% = 64,0 (teoretisk 64,68)

H% = 9,09 (teoretisk 9,54)

N% = 11,1 (teoretisk 11,43)

Rf = 0,63 (silikagel: 1,2-dikloretan-metanol, 8:2 volumdeler).

Eksempel 15.

Man arbeider som i eksempel 13, men anvender 4,8 g N-myristyl-N-metyl-D-valin i 27 ml metylenklorid, 2,4 ml trietylamin, 10,3 g cyklopeptid A og 2,09 g dicykloheksylkarbodiimid. Etter rensing av de urene produkter ved kromatografi gjennom en kolonne inneholdende 100 g kiseldioksyd og deretter omdannelse til klorhydrat får man 2 g klorhydrat av N-myristyl-N-metyl-D-valyl-cyklopeptid A.

N% = 10,5 (teoretisk 10,73)

Cl% = 2,56 (teoretisk 2,71)

Rf = 0,68 (silikagel: 1,2-dikloretan-metanol, 8:2 volumdeler).

Eksempel 16.

Man arbeider som i eksempel 13, men anvender 1,4 g N-tricedyl-N-metyl-D-valin i 80 ml etylacetat, 1,12 ml trietylamin, 4 g cyklopeptid A og 0,9 g dicykloheksylkarbodiimid. Etter rensning av det urene produkt ved kromatografi gjennom en kolonne inneholdende 50 g kiseldioksyd og deretter omdannelse til klorhydrat får man 0,48 g klorhydrat av N-tridecyl-N-metyl-D-valyl-cyklopeptid A.

N% = 10,32 (teoretisk 10,85)

Cl% = 2,77 (teoretisk 2,82)

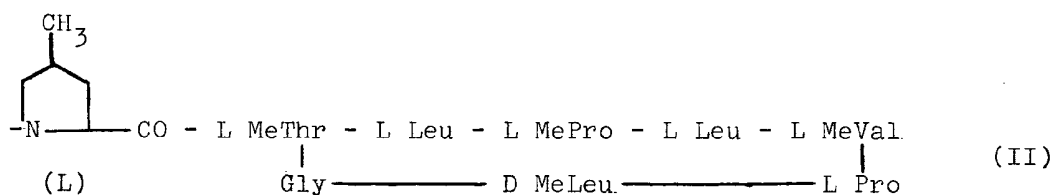
Rf = 0,75 (silikagel: 1,2-dikloretan-metanol, 8:2 volumdeler).

P a t e n t k r a v :

Analogifremgangsmåte for fremstilling av nye, terapeutisk virksomme cyklopeptider med den generelle formel

R' - cyklopeptid A (I)

der - cyklopeptid A betegner en nonapeptidrest med formel



og R' betegner en alkanoyl-, alkenoyl-, alkadienoyl-, alkyloksykarbonyl-, aralkanoyl-, aroyl-, arylsulfenyl-, arylsulfonyl-, cykloalkylkarbonyl-, heterocyklylkarbonyl- eller heterocyklylalkanoylgruppe eller en rest av en lineær peptidgruppe som gjennom en karbonylgruppe er forbundet ved nitrogenatomet i L-4-transmetylprolinet i sidekjeden i cyklopeptid A, idet alkylidelene i alkanoylgruppene er rettlinjede eller forgrenede kjeder inneholdende 1-17 karbonatomer, eventuelt substituert med et eller flere halogenatomer, aminogrupper eller metyltiogrupper, idet alkenylidelene i alkenoylgruppene inneholder 10 karbonatomer, idet alkadienylidelene i alkadienoylgruppene inneholder 5 karbonatomer, idet alkylidelene i heterocyklylalkanoylgruppene er rettlinjede eller forgrenede kjeder inneholdende 2-10 karbonatomer, idet alkylidelene i alkyloksykarbonylgruppene inneholder 9-11 karbonatomer og eventuelt er substituert med en dietylaminogruppe, idet alkylidelene i aralkanoylgruppene inneholder 1 eller 2 karbonatomer og eventuelt er substituert med en aminogruppe, idet de aromatiske delene i aralkanoyl-, aroyl-,

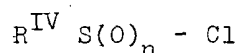
125142

arylsulfenyl- eller arylsulfonylgruppene utgjøres av en benzen- eller naftalenkjerne, som eventuelt er substituert med en metyl-, hydroksyl-, dimetylamino-, acetylamino-, nitro-, benzoyl- eller dietylaminogruppe, idet de heterocykliske delene i heterocyklyl-karbonyl- eller heterocyklylalkanoylgruppene utgjør 5- eller 6-leddete enkjernede heterocykler inneholdende nitrogen eller en fentiazinylgruppe som kan være substituert med en eller flere metyl- eller nitrogrupper, idet cykloalkyldelen i cykloalkylkarbonylgruppene utgjør en cykloheksylgruppe substituert med en aminogruppe, idet restene av de lineære peptidgruppene inneholder 2-3 aminosyrer av serie L, og idet de aminogruupper som utgjør substituenten på alkyl- eller cykloalkyldelene i de ovenfor definerte grupper, samt aminogruuppene hos de lineære peptidgrupper eventuelt kan være substituert med en eller flere, rettlinjede eller forgrenede alkylgrupper, inneholdende 1 - 14 karbonatomer, alkanoylgrupper inneholdende 2 - 18 karbonatomer, tert.butyloksykarbonyl-, benzyl- eller benzyloksykarbonylgrupper, i form av baser, addisjonssalter med syrer og kvaternære ammoniumsalter, k a r a k t e r i s e r t ved at man

a) kondenserer H-cyklopeptid A med en syre med den generelle formel $R'OH$, hvor R' betegner en alkanoyl-, alkenoyl-, alkadienoyl-, aralkanoyl-, aroyl-, cykloalkylkarbonyl-, heterocyklylkarbonyl- eller heterocyklylalkanoylgruppe eller en rest av en lineær peptidgruppe, idet disse forskjellige grupper kan ha ovennevnte definisjoner, og idet nærværende aminogruupper er substituert som angitt ovenfor, eller med et aktivert derivat av denne syre som et azid, en aktivert ester, et syreanhydrid eller et syreklorid, eller

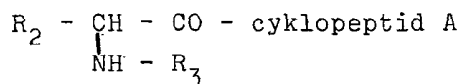
b) når R' betegner en alkyloksykarbonylgruppe som eventuelt er substituert på ovennevnte måte, omsetter man et alkylklorformiat som eventuelt er substituert på ovennevnte måte med H-cyklopeptid A, eller

c) når R' betegner en arylsulfenyl- eller arylsulfonylgruppe, omsetter en forbindelse med den generelle formel



hvor R^{IV} er en benzen- eller naftalenkjerne, som eventuelt er substituert som angitt ovenfor, og n er 0 eller 2, med H-cyklopeptid A,

hvoretter man eventuelt omdanner en således dannet forbindelse med formel



hvor -cyklopeptid A har ovennevnte betydning, og R_2 og R_3 som kan være like eller forskjellige, betegner et hydrogenatom eller en alkylgruppe, inneholdende 1 - 5 karbonatomer, til en annen forbindelse av formel (I) ved omsetning med en syre med den generelle formel $R'\text{OH}$, der R' betegner en alkanoylgruppe, inneholdende 2 - 18 karbonatomer eller en lineær peptidrest, inneholdende 1 - 2 aminosyrer, hvis aminogrupper kan være substituert på ovennevnte måte, eller med et aktivert derivat av denne syre som et azid, en aktivert ester, et syreanhydrid eller et syreklorid, hvorefter man gjennom sur hydrolyse eller katalytisk hydrering eventuelt frigjør de aminogrupper som er substituerte med tert.butyloksykarbonyl-, benzyl- eller benzyloksykarbonylgrupper og omdanner den dannede base til et salt eller omvendt.

Anførte publikasjoner:

Norsk patent nr. 116.283