

(19)



SUOMI - FINLAND

(FI)

PATENTTI- JA REKISTERIHALLITUS
PATENT- OCH REGISTERSTYRELSEN
FINNISH PATENT AND REGISTRATION OFFICE

(10) **FI 834345 A7**

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

(21) Patentihakemus - Patentansökan - Patent application **834345**

(51) Kansainvälinen patenttiluokitus - Internationell patentklassifikation -
International patent classification
C07K 7/06
C07C 103/52 (2006.01)

(22) Tekemispäivä - Ingivningsdag - Filing date **28.11.1983**

(23) Saapumispäivä - Ankomstdag - Reception date **28.11.1983**

(41) Tullut julkiseksi - Blivit offentlig - Available to the public **04.06.1984**

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

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

03.12.1982 CH 7047/82-3 01.07.1983 CH 3635/83-7

(71) Hakija - Sökande - Applicant

1 • CIBA-GEIGY AG, TOWN UNKNOWN, SVEITSI, (CH)

(72) Keksijä - Uppfinnare - Inventor

1 • Riniker, Bernhard, Switzerland, SVEITSI, (CH)

2 • B, TOWN UNKNOWN, SVEITSI, (CH)

3 • Fuhrer, Walter, Switzerland, SVEITSI, (CH)

(74) Asiamies - Ombud - Agent

Oy Jalo Ant-Wuorinen Ab, Iso Roobertinkatu 4 - 6 A, 00120 Helsinki

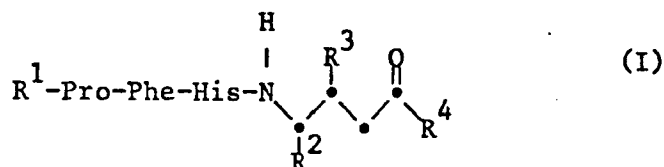
(54) Keksinnön nimitys - Uppfinningens benämning - Title of the invention

Substituoidut tetrapeptidit.

Substituerade tetrapeptider.

Substituoidut tetrapeptidit - Substituerade tetrapeptider

Keksintö koskee substituoituja, kaavan (I) mukaisia tetrapeptidejä



joissa R^1 tarkoittaa vetyä tai asyyliä, R^2 alkyyliä tai
 5 aralkyyliä, R^3 tarkoittaa vapaata tai funktionaalisesti muunnettua hydroksia, R^4 vapaata tai substituoitua aminoa tai vapaata tai eetteröityä hydroksia, ja -Pro-, -Phe- sekä -His- tarkoittavat aminohappojen proliinin, fenyylialaniinin tai histidiinin tai näiden (D)-isomeerien bivalenttisia tähteitä,
 10 keksintö koskee myös tällaisten, suolaa muodostavia ryhmiä sisältävien yhdisteiden suoloja, menetelmää tällaisten yhdisteiden valmistamiseksi, farmaseuttisia valmisteita, jotka sisältävät näitä yhdisteitä, niiden käyttöä valmistettaessa farmaseuttisia valmisteita tai niiden käyttöä farmakologisesti aktiivisina yhdisteinä ja uusia välituotteita valmistettaessa kaavan (I) mukaisia yhdisteitä.

Asyyli tähteenä R^1 sisältää ensi sijassa enintään 80 C-atomia ja on pääasiassa alifaattinen, aromaattinen, aromaattis-alifaattinen, heterosyklinen tai heterosyklis-alifaattinen asyyli.
 20 Erityisesti asyyli tähteenä R^1 on luonnossa esiintyvän (L)-aminohapon, kuten histidiinin, tai sen (D)-isomeerin asyyli-tähde, kahdesta luonnossa esiintyvästä (L)-aminohaposta tai niiden (D)-isomeerista muodostuneen dipeptidin asyyli-tähde, 3-6 luonnossa esiintyvästä aminohaposta muodostuneen ja korkeintaan 60 C-atomia sisältävän oligopeptidin asyyli-tähde, jolloin vapaat, funktionaaliset ryhmät näissä aminohappotähteissä ovat mahdollisesti suojatussa muodossa, tai
 25 R^1 on jokin muu alifaattinen, aromaattinen tai aromaattis-

alifaattinen, enintään 18 C-atomia sisältävä asyyli­tähde. Mieluimmin R^1 tarkoittaa dipeptyyli­tähdettä H-Arg-Arg-, H-Pro-His- tai H-Ile-His-, joissa kulloinkin molemmat aminohapot, toisistaan riippumatta, voivat sisältää (D)- tai (L)-konfiguraation, ensi sijassa kuitenkin niillä on (L)-konfiguraatio. Oligopeptiditähde R^1 sisältää karboksyyli­päässä mieluimmin histidyyli­tähteen, joka puolestaan voi olla sitoutuneena propyyli- tai isoleusyyli­tähteeseen. Muu aminohapposekvenssi on pääasiallisesti mielivaltainen. Esimerkkeinä oligopeptiditähdeestä R^1 voidaan mainita sekä tähde H-Asp-Arg-Val-Tyr-Ile (tai Pro)-His- tai tämän osat, joille on tunnusomaista, että aminopäästä puuttuu 1-3 aminohappoa.

Alkyyli tähteenä R^2 sisältää erityisesti 1-18 C-atomia ja on ensi sijassa alempialkyyli, jolloin etuliite "alempi" tässä ja jäljempänä seuraavassa tarkoittaa tähdettä, jossa on 1- enintään 7, pääasiassa 1- enintään 4 C-atomia. Mieluimmin alkyyli­tähde R^2 tarkoittaa haarautunutta alempialkyyliä, ennen kaikkea 2-metyyli-propyyliä. Alkyyli tähteenä R^2 sisältää ennen kaikkea enintään 18-C-atomia ja tarkoittaa erityisesti substituoimatonta tai fenyyli­tähteessä substituoitua fenyyli-alempialkyyliä, ensi sijassa bentsyyliä. Aryylisubstituentteina voidaan mainita erityisesti alempialkyyli, vapaa tai funktionaalisesti muunnettu hydroksi ja vapaa tai esteröity karboksi. Aryyli­tähteessä voi olla yksi tai useampi, esim. kaksi tai kolme ja yleensä enintään viisi, samanlaista tai erilaista substituenttia.

Funktionaalisesti muunnettu hydroksi aryyli­substituenttina on esteröity tai eetteröity hydroksi. Esteröity hydroksi on orgaanisella tai epäorgaanisella hapolla esteröity hydroksi, esim. asyylioksi, sulfonyylioksi tai halogeeni. Asyylioksi on erityisesti alempialifaattinen asyylioksi, 3-6, ennen kaikkea 5 tai 6 rengasjäsentä ja enintään 12 C-atomia sisältävä sykloalifaattinen asyylioksi, enintään 12 C-atomia sisältävä, monosyklinen aroyylioksi tai aromaattis-alifaattinen, enintään 12

C-atomia sisältävä asyylioksi. Eetteröity hydroksi aryyli-
 substituenttina on erityisesti muodoltaan alifaattisella, aro-
 maattisella tai aromaattis-alifaattisella, enintään 12 C-ato-
 mia sisältävällä alkoholilla eetteröity hydroksi, ensi sijas-
 5 sa alempialkoksi.

Esteröity karboksi aryyli-
 substituenttina on ensi sijassa muo-
 doltaan alifaattisella, aromaattisella tai aromaattis-alifaat-
 tisella, enintään 12 C-atomia sisältävällä alkoholilla este-
 röity karboksi, ensi sijassa alempialkoksikarbonyyli.

10 Funktionaalisesti muunnettu hydroksi tähteenä R^3 on erityi-
 sestä orgaanisella karboksyylihapolla esteröity hydroksi,
 tämän lisäksi myös eetteröity hydroksi. Esteröivinä tai eet-
 teröivinä tähteinä kysymykseen tulevat ensi sijassa eläinten
 tai ihmisten elimistössä poisloikkaistavissa olevat tähteet,
 15 jotka poisloikkaisun jälkeen kyseessä olevissa konsentraati-
 oissa tuottavat farmakologisesti vaarattomia loikkaistutuottei-
 ta. Esteröity hydroksi tähteenä R^3 on erityisesti enintään
 18 C-atomia sisältävä asyylioksi ja ensi sijassa alempiali-
 faattinen asyylioksi, 3-6, ensi sijassa 5 tai 6 rengasjäsentä
 20 ja enintään 12 C-atomia sisältävä sykloalifaattinen asyyliok-
 si tai monosyklinen aroyylioksi tai aromaattis-alifaattinen
 asyylioksi, jotka kulloinkin sisältävät enintään 12 C-atomia.

Eetteröity hydroksi tähteenä R^3 on erityisesti muodoltaan ali-
 faattisella, aromaattisella tai aromaattis-alifaattisella,
 25 enintään 12 C-atomia sisältävällä alkoholilla eetteröity hyd-
 roksi.

Substituoitu amino tähteenä R^4 on esim. alempialkyyllillä ja/
 tai aryylialempialkyyllillä mono- tai disubstituoitu amino tai
 luonnossa esiintyvän aminohapon tai sen (D)-isomeerin amidises-
 30 ti sitoutunut tähde tai 2-6 aminohappoa ja korkeintaan 60 C-
 atomia sisältävän peptidin amidisesti sitoutunut tähde, joka
 peptidi rakentuu luonnossa esiintyvistä aminohapoista ja/tai

niiden (D)-isomeereista, jolloin vapaa, funktionaaliset ryhmät näissä aminohappo- tai peptiditähteissä ovat mahdollisesti suojatussa muodossa, ja tähde R^4 on ennen kaikkea 2-6, mieluimmin 2 tai 3 aminohappoa sisältävän peptidin tähde, jonka N-päätteissä päässä on seuraava aminohapposekvenssi -Val-Tyr-Lys-, -Ile-His-Lys-, -Ile-His-Ser-, -Val-Tyr-Ser- tai -Ala-Sta-.

Eetteröity hydroksi tähteenä R^4 on muodoltaan alifaattisella, aromaattisella tai aromaattis-alifaattisella, enintään 12 C-atomia sisältävällä alkoholilla eetteröity hydroksi, ensi sijassa alempialkoksi tai erityisesti hydroksikarboksyylihapon tähde, joka happo puolestaan mahdollisesti on amidoitu aminohapolla tai dipeptidillä.

Kaavan (I) mukaisissa yhdisteissä voi $C-R^2$:ssa ja $C-R^3$:ssa, toisistaan riippumatta, olla (R)- tai (S)-konfiguraatio, mieluimmin kuitenkin (S,S)-konfiguraatio.

Edellä esitetyssä, ja jäljempänä seuraavassa käytetyillä yleisillä sanonnoilla on tämän selityksen puitteissa mieluimmin seuraavat merkitykset:

Alempialkyyli on ennen kaikkea metyyli, etyyli, n-propyyli, isopropyyli, n-butyli tai osobutyli, lisäksi esim. myös sek.-butyyli tai tert.-butyyli, myös n-pentyyli, neopentyyli, n-heksyyli tai n-heptyyli.

Halogeeni on erityisesti kloori tai bromi, lisäksi myös fluori tai jodi.

Luonnossa esiintyviä aminohappoja ovat ensi sijassa kaikki 20 aminohappoa, jotka yleensä esiintyvät proteiineissa, nimittäin glysiini (H-Gly-OH), alaniini (H-Ala-OH), proliini (H-Pro-OH), seriini (H-Ser-OH), kysteiini (H-Cys-H), tyrosiini (H-Tyr-H), asparagiini (H-Asn-OH), glutamiini (H-Gln-OH), asparagiinihappo (H-Asp-OH), glutamiinihappo (H-Glu-OH), arginiini (H-Arg-OH), histidiini (H-His-OH) ja kaikki 8 aminohappoa, jotka ovat

ihmiselle välttämättömät, nimittäin valiini (H-Val-OH), leu-
 siini (H-Leu-OH), isoleusiini (H-Ile-OH), lyysiini (H-Lys-OH),
 fenyylialaniini (H-Phe-OH), tryptofaani (H-Trp-OH), metionii-
 ni (H-Met-OH) ja treoniini (H-Thr-OH). Muista luonnossa esiin-
 5 tyvistä aminohapoista mainittakoon tässä esim. hydroksiprolii-
 ni, sarkosiini (H-Sar-OH), β -aminokarboksyylihapot, esim. β -
 alaniini (H- β -Ala-OH), γ -aminokarboksyylihapot, esim. γ -amino-
 voihamppu, α , γ -diaminokarboksyylihapot, esim. ornitiini ja
 ennen kaikkea 4-amino-3-hydroksi-6-metyyli-heptaanikarboksyy-
 10 lihappu (statiini, tässä lyhennetty "H-Sta-OH"). Ellei toisin
 mainita, tarkoitetaan mainituilla lyhenteillä aminohappoja
 niiden luonnollisessa konfiguraatiossa.

Hydroksikarboksyylihamppu on ensi sijassa monohydroksimonokar-
 boksyylihamppu, erityisesti α -hydroksi-monokarboksyylihamppu,
 15 esim. glukolihamppu tai maitohamppu (lyhennys:H-Lac-OH).

Aromaattisia tähteitä ovat ensi sijassa mahdollisesti substi-
 tuoidut fenyylihähteet. Aromaattisten hähteiden substituent-
 teja ovat erityisesti alempialkyyli, vapaa tai funktionaali-
 sestä muunnettu hydroksi ja/tai vapaa tai esteröity karboksi.

20 Alifaattiset hähteet ovat ensi sijassa asyklisiä, tyydytetty-
 jä tai yhden tai kaksi kaksoissidosta sisältäviä, tyydyttämät-
 tömiä substituomattomia tai substituoituja hiilivetyhähteitä,
 joilla ei ole syklisiä substituentteja, joissa vapaan valens-
 sin tulee lähteä C-atomista, joka ei ole substituoitu oksolla,
 25 ja tällaisia hähteitä ovat ensi sijassa substituomattomat tai
 substituoidut alkyylihähteet, esim. alempialkyylihähteet. Täl-
 laisten alifaattisten hähteiden edullisia substituentteja ovat
 vapaa tai funktionaalisesti muunnettu hydroksi tai merkappu,
 vapaa tai esteröity karboksi ja/tai vapaa tai substituoitu
 30 amino.

Heterosykliset hähteet ovat ensi sijassa mono- tai bisyklisiä,
 etupäässä 3-7 rengasjäsentä suljettua rengasta kohden sisältä-

viä, heteroatomeina ensi sijassa happi, rikki ja/tai typpi ja ne voivat sisältää enintään neljä heteroatomia. Tähteen R^1 ollessa kysymyksessä etupäässä 5-6, ennen kaikkea 5 rengasjäsentä sisältyy monosykliseen, heterosykliseen renkaaseen, joka heteroatomeina voi sisältää ainoastaan yhden tai kaksi typpiatomia ja voi olla bentsoanelloitu.

Kaavan (I) mukaiset yhdisteet voivat olla puhtaina, optisesti aktiivisina isomeereina tai isomeeriseoksina. Suolaa muodostavia ryhmiä kaavan (I) mukaisessa yhdisteessä ovat joko happamet ryhmät, kuten ensi sijassa karboksyyli-ryhmät tai näiden lisäksi myös sulfonihapporyhmät, tai emäksiset ryhmät, kuten ensi sijassa sellaiset, jotka sisältävät emäksisiä typpi-atomeita, esim. aminoryhmät. Suolaa muodostavia ryhmiä sisältävien, kaavan (I) mukaisten yhdisteiden suoloja ovat erityisesti farmaseuttisesti käyttökelpoiset, myrkyttömät suolat, kuten happamien, kaavan (I) mukaisten yhdisteiden suolat emästen kanssa, erityisesti sopivat alkalimetalli-, kuten natrium- tai kalium-, tai maa-alkalimetallisuolat, esim. magnesium- tai kalsiumsuolat, myös sinkkisuolat tai ammoniumsuolat, mukaan lukien suolat orgaanisten amiinien, kuten mahdollisesti hydroksilla substituoitujen mono-, di- tai tri-alkyyliamiinien, esim. dietyyliamiinin, di-(2-hydroksietyyli)-amiinin, trietyyliamiinin, N,N-dimetyyli-N-(2-hydroksietyyli)-amiinin, tri-(2-hydroksi-etyyli)-amiinin tai N-metyyli-D-glukamiinin kanssa, tai emäksisten, kaavan (I) mukaisten yhdisteiden suolat happojen kanssa, kuten suolat epäorgaanisten happojen, esim. suolahapon, rikkihapon tai fosforihapon kanssa, tai suolat orgaanisten karboksyyli-, sulfoni- tai sulfohappojen, esim. etikkahapon, propionihapon, glykoli- hapon, meripihkahapon, maleiinihapon, hydroksimaleiinihapon, metyyli- maleiinihapon, fumaarihapon, omenahapon, viinihapon, sitruunahapon, bentsoehapon, kanelihapon, mantelihapon, salisyylihapon, 4-amino-salisyylihapon, 2-fenoksibentsoehapon, 2-asetoksibentsoehapon, embonihapon, nikotiinihapon tai isonikotiinihapon, myös aminohappojen, kuten esim. edellä mainittujen, sekä metaanisulfonihapon,

etaanisulfonihapon, 2-hydroksietaanisulfonihapon, etaani-1,2-disulfonihapon, bentseenisulfonihapon, 4-metyyli-bentseenisulfonihapon tai naftaliini-2-sulfonihapon kanssa, tai muiden, happamien, orgaanisten yhdisteiden kuten askorbiinihapon kanssa. Kaavan (I) mukaiset yhdisteet, jotka sisältävät happamia ja emäksisiä ryhmiä, voivat muodostaa myös sisäisiä suoloja.

Eristämiseen tai puhdistamiseen voidaan käyttää myös farmaseuttisesti sopimattomia suoloja. Terapeuttiseen käyttöön soveltuvat ainoastaan farmaseuttisesti käyttökelpoiset, myrkyttömät suolat, jotka lisäksi ovat edullisia.

Tämän keksinnön mukaisilla yhdisteillä on entsyymiä estäviä vaikutuksia; erityisesti ne estävät luonnollisen reniinientsyymin vaikutuksen. Reniiniä joutuu vereen munuaisista, jossa se vaikuttaa veriglykoproteiinin (angiotensinogeenin) lohkeamiseen dekaeptidisen angiotensiini I:n muodostuessa; angiotensiini I lohkeaa sen jälkeen keuhkoissa, munuaisissa ja muissa elimissä oktaeptidiseksi angiotensiini II:ksi. Tämä viimeksi mainittu kohottaa verenpainetta vapauttamalla natriumia pidättävää aldosteroni-hormonia lisämunuaisista, tähän hormoniin sitoutuu ylimääräisen nestetilavuuden kohoaminen. Tämä kohoaminen johtuu angiotensiini II:n itsensä aikaansaamasta vaikutuksesta tai siitä lohkeamistuotteena muodostuneen heptaeptidisen angiotensiini III:n vaikutuksesta. Reniinin entsyymaattisen aktiviteetin estyminen vaikuttaa estävästi angiotensiini I:n muodostumiseen. Tämän seurauksena muodostuu vähemmän angiotensiini II ja tämän aktiivisen peptidihormonin pienentynyt konsentraatio viime kädessä määrää reniiniä estävän aineen farmakologisen vaikutuksen.

Reniiniä estävän aineen vaikutus todetaan muun muassa in vitro-menetelmillä, jolloin mitataan angiotensiini I muodostumisen väheneminen erilaisissa systeemeissä (ihmisen plasmassa, puhdistetussa ihmisen plasmassa yhdessä synteettisen tai luonnollisen reniinisubstraatin kanssa). Muun muassa käytetään

- seuraavaa testiä: Ihmisen munuaisista saatua reniini-uutetta (0,5 m GU (milli-Goldblatt-yksikköä)/ml) inkuboidaan tunti 37°C:ssa, pH-arvossa 7,2 l-molaarisessa vesipitoisessa 2-N-(Tris-hydroksimetyyli-metyyli)-amino-etaanisulfonihappo-
- 5 puskuriliuoksessa, joka sisältää 23 µg/ml synteettistä tetradeka-peptidi-substraattia (H-Asp-Arg-Val-Tyr-Ile-His-Pro-Phe-His-Leu-Leu-Val-Tyr-Ser-OH). Muodostuneen angiotensiini I:n määrä mitataan radioimmunokokeella (RIA). Estävät aineet lisätään inkubointiseokseen erilaisissa konsentraatioissa. Jokaisen estävän aineen sitä konsentraatiota, joka vähentää angiotensiini I:n muodostumista 50 %:lla, merkitään IC₅₀-arvona. Tämän keksinnön mukaisilla yhdisteillä on in-vivo-systeemissä estovaikutukset minimaaliannosten ollessa noin 10⁻⁷ - 10⁻¹⁰ moolia/l.
- 15 Suolaköyhillä eläimillä vaikuttavat reniiniä estävät aineet verenpainetta alentavasti. Koska ihmisen reniini eroaa muiden lajien reniinistä, annetaan estävien aineiden kokeissa ihmisen reniiniä kädellisille apinoille (Marmosets, Callithrix jacchus). Muun muassa käytetään seuraavaa testiä:
- 20 Testattavat yhdisteet annetaan normotensiivisille, tajuissaan oleville marmoseteille, jotka ovat kumpaakin sukupuolta ja painavat noin 300 g. Verenpaine ja sydämen sykinnän tiheys mitataan katetrilla reisivaltimosta. Testattavat yhdisteet injektoidaan uloimpaan häntälaskimoon. Reniinin endogeeninen vapautuminen aikaansaadaan injektoimalla suonensisäisesti furosemidia (5 mg/kg). 30 minuutin kuluttua furosemidi-injektiosta, annetaan testattavat yhdisteet joko yhdellä injektiolla tai jatkuvalla infuusiolla ja niiden vaikutus verenpaineeseen ja sydämen sykinnän tiheyteen mitataan. Keksinnön mukaiset yh-
- 30 disteet ovat tehokkaita in vivo-systeemissä annoksina, jotka ovat noin 0,1 - 1,0 mg/kg i.v.

Tämän keksinnön mukaisia yhdisteitä voidaan käyttää verenpainetta alentavina (antihypertensiivisinä) aineina, myös hoidet-

taessa sydämen toiminnan vajavuutta (sydäninsuffiensiä) sekä kohonneen verenpaineen syiden diagnostiikassa tai kohonneessa aldosteroni-erityksessä.

5 Kaavan (I) mukaiset yhdisteet, jotka eivät ole farmaseuttisesti käyttökelpoisia ja joissa funktionaaliset ryhmät, kuten karboksyyli- amino-, hydroksi- tai merkaptoryhmät ovat suojatussa muodossa, ovat ensi sijassa välituotteita valmistettaessa kaavan (I) mukaisia, farmaseuttisesti käyttökelpoisia yhdisteitä ja nämä välituotteet kuuluvat myös tämän keksinnön
10 piiriin.

Kaavan (I) mukaiset yhdisteet, joissa funktionaaliset ryhmät, erityisesti karboksyyli- ja aminoryhmät, mieluummin kaikki karboksyyli- ja aminoryhmät, ovat suojatut farmaseuttisesti käyttökelpoisilla suojaryhmillä esim. karboksyyli- ja aminoryhmät alem-
15 pialkyyli-, esim. metyyliesterinä ja aminoryhmät tert.-butyylioksidikarbonyyli- tai bentsyylioksidikarbonyyliaminona, omaavat pidennetyn vaikutusajan vastaaviin, suojaamattomiin yhdisteisiin verrattuna ja ovat siten farmaseuttisesti käyttökelpoisia ja kuuluvat tämän keksinnön piiriin.

20 Suojaryhmiä, niiden liittämistä ja poislohkaisua on kuvattu esimerkiksi julkaisuissa "Protective Groups in Organic Chemistry", Plenum Press, Lontoo, New York 1973 ja "Methoden der organischen Chemie", Houben-Weyl, 4. painos, nide 15/1, Georg-Thieme-Verlag, Stuttgart 1974. Tunnusomaista suojaryh-
25 mille on, että ne ovat helposti, t.s. ilman ei-toivottuja sivureaktioita, esim. solvolyyttisesti, pelkistäen, fotolyyttisesti tai myös fysiologisissa olosuhteissa poislohkastavissa olevia.

Karboksyyli- ja aminoryhmät ovat tavallisesti suojatut esteröidyssä muo-
30 dossa, jolloin tällaiset esteriryhmittymät ovat helposti lie- vissä olosuhteissa poislohkastavia. Tällaiset suojatut kar-

boksyyliryhmät sisältävät esteröivinä ryhminä ensi sijassa 1-asemassa haarautuneita tai 1- tai 2-asemassa sopivasti substituoituja alempialkyyliiryhmiä. Edullisia, esteröidyssä muodossa olevia karboksyyliryhmiä ovat mm. tert.-alempialkoksikarbonyyli, esim. tert.-butyylioksidikarbonyyli, aryyli-
 5 metoksidikarbonyyli, joka sisältää yhden tai kaksi aryyli-
 jollain nämä tarkoittavat mahdollisesti esim. alempialkyyli-
 lä, kuten tert.-alempialkyyli-
 10 esim. kloorilla ja/tai nitrolla mono- tai polysubstituoituja
 fenyylitähkeitä, kuten mahdollisesti esim. jo edellä mainittu,
 substituoitu bentsyylioksidikarbonyyli, esim. 4-metoksibentsyy-
 lioksidikarbonyyli tai 4-nitrobentsyylioksidikarbonyyli tai mah-
 15 dollisesti jo edellä mainittu substituoitu difenyylimetoksi-
 karbonyyli, esim. difenyylimetoksidikarbonyyli tai di-(4-metok-
 sifenyli)-metoksidikarbonyyli, 1-alempialkoksiaalempialkoksikar-
 bonyyli, kuten metoksimetoksidikarbonyyli, 1-metoksietoksidikarbo-
 nyyli tai 1-etoksimetoksidikarbonyyli, 1-alempialkyyli-
 20 etoxyetoksidikarbonyyli, aroyylimetoksidikarbonyyli, jossa
 aroyyli-ryhmä tarkoittaa mahdollisesti esim. halogeenilla, ku-
 ten bromilla substituotua bentsoyylia, esim. fenasyylioksi-
 karbonyyli, 2-halogeeniaalempialkoksikarbonyyli, esim. 2,2,2-
 trikloorietoksidikarbonyyli, 2-bromietoksidikarbonyyli tai 2-jodi-
 25 etoksidikarbonyyli, tai 2-(trisubstituoitu silyyli)-etoksidikarbo-
 nyyli, jossa substituentit tarkoittavat, toisistaan riippumat-
 ta, jokainen mahdollisesti substituotua, esim. alempialkyy-
 lillä, alempialkoksilla, aryyli-
 30 faattista tai aromaattista hiilivetytähdettä, kuten vastaavaa,
 mahdollisesti substituotua alempialkyyliä, fenyyliaalempial-
 kyyliä, sykloalkyyliä, tai fenyylia, esim. 2-triaalempialkyyli-
 silyylietoksidikarbonyyli, kuten 2-trimetyylisilyylietoksidikarbo-
 nyyli tai 2-(di-n-butyyli-metyyli-silyyli)-etoksidikarbonyyli
 35 tai 2-triaryylisilyylietoksidikarbonyyli, kuten 2-trifenyyli-
 silyylietoksidikarbonyyli.

5

10

15

20

25

30

alkoksikarbonyyli, esim. tert.-butyylioksikarbonyyli, aryyli-
 metoksikarbonyyli, joka sisältää yhden tai kaksi aryyli-
 dettä, jotka tarkoittavat mieluummin mahdollisesti esim. alem-
 pialkyyllillä, erityisesti tert.-alempialkyyllillä, kuten tert.-
 5 butyyllillä, alempialkoksilla, kuten metoksilla, hydroksilla,
 halogeenilla, esim. kloorilla ja/tai nitrolla mono- tai poly-
 substituotua fenyyliä, kuten mahdollisesti substituotua
 bentsyylioksikarbonyyliä, esim. 4-nitrobentsyylioksikarbonyy-
 li tai substituoitu difenyylietoksikarbonyyli, esim. bents-
 10 hydryylioksikarbonyyli tai d-(4-metoksifenyyli)-metoksikarbo-
 nyli, aroyylietoksikarbonyyli, jossa aroyyliryhmä tarkoittaa
 mieluummin mahdollisesti esim. halogeenilla, kuten bromilla
 substituotua bentsoyylia, esim. fenasyylioksikarbonyyli, 2-
 halogeeni-alempialkoksikarbonyyli, esim. 2,2,2-trikloorietok-
 15 sikarbonyyli, 2-bromietoksikarbonyyli tai 2-jodietoksikarbo-
 nyli tai 2-(trisubstituoitu silyyli)-etoksikarbonyyli, jossa
 substituentit, toisistaan riippumatta, tarkoittavat jokainen
 mahdollisesti substituotua, esim. alempialkyyllillä, alempi-
 alkoksilla, aryyllillä, halogeenilla tai nitrolla substituoi-
 20 tua alifaattista, aralifaattista, sykloalifaattista tai aro-
 maattista hiilivetytähdettä, joka sisältää esim. enintään 15
 C-atomia, kuten vastaavaa, mahdollisesti substituotua alempi-
 alkyylia, fenyylialempialkyylia, sykloalkyyliä tai fenyyliä,
 esim. 2-trialempialkyyli-silyylietoksikarbonyyli, kuten 2-tri-
 25 metyyli-silyylietoksikarbonyyli tai 2-(di-n-butyli-metyyli-
 silyyli)-etoksikarbonyyli tai 2-triaryyli-silyylietoksikarbo-
 nyli, kuten 2-trifenyyli-silyylietoksikarbonyyli.

Edelleen aminosuojaryhminä kysymykseen tulevia asyyli-
 tähteitä ovat myös orgaanisten fosfori-, fosfoni- tai fosfiinihappojen
 30 vastaavat tähteet, kuten dialempialkyyli-fosforyyli, esim.
 dimetyyli-fosforyyli, dietyyli-fosforyyli, di-n-propyyli-fosfo-
 ryyli, disykloalkyyli-fosforyyli, esim. disykloheksyyli-fosfo-
 ryyli, mahdollisesti substituoitu difenyyli-fosforyyli, esim.
 difenyyli-fosforyyli, mahdollisesti, esim. nitrolla substituoitu

di-(fenyylialempialkyyli)-fosforyyli, esim. dibentsyylifos-
 foryyli tai di-(4-nitrobentsyyli)-fosforyyli, mahdollisesti
 substituoitu fenyylioksifenyyli-fosfonyyli, esim fenyylioksi-
 fenyyli-fosfonyyli, dialempialkyylifosfinyyli, esim. dietyyli-
 5 fosfinyyli tai mahdollisesti substituoitu difenyylifosfinyyli,
 esim. difenyylifosfinyyli.

Aryylimetyyliaminoryhmässä, joka tarkoittaa mono-, di- tai
 erityisesti triaryylimetyyliaminoa, ovat aryyliähteet eri-
 tyisesti mahdollisesti substituoituja fenyyliähteitä. Tällai-
 10 sia ryhmiä ovat esimerkiksi bentsyyli-, difenyyylimetyyli- ja
 erityisesti trityyliamino.

Eetteröity merkaptoryhmä, tällaisella tähteellä suojatussa
 aminoryhmässä, on ensi sijassa aryyli- tai aryylialempial-
 kyyli- tai, jossa aryyli on erityisesti mahdollisesti esim.
 15 alempialkyyllillä, kuten metyyllillä tai tert.-butyyllillä, alem-
 pialkoksilla, kuten metoksilla, halogeenilla, kuten kloorilla
 ja/tai nitrolla substituoitu fenyyli. Vastaava aminosuojaryh-
 mä on esim. 4-nitrofenyyli- tai -tio.

Aminosuojaryhmässä käyttökelpoisessa 2-asyyli-alempialk-1-en-
 20 1-yyliähteessä asyyli on esim. alempialkaanikarboksyyliahapon,
 mahdollisesti, esim. alempialkyyllillä kuten metyyllillä tai
 tert.-butyyllillä, alempialkoksilla, kuten metoksilla, halogee-
 nilla, kuten kloorilla ja/tai nitrolla substituoidun bentsoe-
 hapon tai erityisesti hiilihappopuoliesterin, kuten hiilihap-
 25 po-alempialkyyli- tai -puoliesterin vastaava tähde. Vastaavia suoja-
 ryhmiä ovat ensi sijassa 1-alempialkanoyyli-prop-1-en-2-yyli,
 esim. 1-asetyyli-prop-1-en-2-yyli tai 1-alempialkoksi-karbo-
 nyyli-prop-1-en-2-yyli, esim. 1-etoksikarbonyyli-prop-1-en-
 2-yyli.

30 Aminoryhmä voi olla suojattu myös protonoidussa muodossa; vas-
 taavina anioneina kysymykseen tulevat ensi sijassa vahvojen,

epäorgaanisten happojen, kuten halogeenivetyhappojen anionit, esim. kloori- tai bromianioni, tai orgaanisten sulfonihappojen, kuten p-tolueeni-sulfonihapon anionit.

Edullisia aminosuojaryhmiä ovat hiilihappopuoliestereiden asyyliähteet, erityisesti tert.-butyylioksikarbonyyli, mahdollisesti esim. edellä esitetyllä tavalla substituoitu bent-syylioksikarbonyyli, esim. 4-nitro-bentsyylioksikarbonyyli tai difenyyliometoksikarbonyyli tai 2-halogeeni-alempialkoksikarbonyyli, kuten 2,2,2-trikloorietoksikarbonyyli, myös trietyyli tai formyylit.

Hydroksisuojaryhmiä ovat esim. asyyliähteet, kuten mahdollisesti esim. halogeenilla substituoitu alempialkanoyyli, kuten 2,2-diklooriasetyyli tai hiilihappopuoliestereiden asyyliähteet, erityisesti tert.-butyylioksikarbonyyli, mahdollisesti substituoitu bent-syylioksikarbonyyli, esim. 4-nitro-bentsyylioksikarbonyyli tai difenyyliometoksikarbonyyli tai 2-halogeeni-alempialkoksikarbonyyli, kuten 2,2,2-trikloorietoksikarbonyyli, myös trietyyli tai formyylit tai orgaaniset silyyli- tai stannyyliähteet, myös helposti poislokaistavissa olevat eetteröivät ryhmät, kuten tert.-alempialkyylit, esim. tert.-butyyli, 2-oksa- tai 2-tia-alifaattiset tai -sykloalifaattiset hiilivetyähteet, ensi sijassa 1-alempialkoksialempialkyylit tai 1-alempialkyylitio-alempialkyylit, esim. metoksimetyyli, 1-metoksietyyli, 1-etoksietyyli, 1-metyylitio-metyyli, 1-metyylitio-etyyli tai 1-etyylitio-etyyli tai 2-oksa- tai 2-tia-sykloal-kyylit, joissa on 5-6 rengasatomia, esim. tetrahydrofuryyli tai 2-tetrahydropyranyyli tai vastaavat tia-analogit, sekä mahdollisesti substituoitu 1-fenyylialempialkyylit, kuten mahdollisesti substituoitu bent-syyli tai difenyyliometyyli, jolloin fenyyliähteen substituentteina kysymykseen tulevat esim. halogeenit, kuten kloori, alempialkoksit, kuten metoksi ja/tai nitro.

Merkaptoryhmä, kuten esim. kysteiniinissä, voidaan suojata erityisesti S-alkyloimalla mahdollisesti substituoiduilla alkyyli-
litähteillä, muodostamalla tioasetaaali, S-asyloimalla tai muo-
dostamalla asymmetriset disulfidi-ryhmittymät. Edullisia mer-
5 kaptosuojaryhmiä ovat esim. mahdollisesti fenyyli- tai bentsoy-
li- tai metoksy-alkyyliryhmä, kuten 4-metoksybentsoyyliryhmä, mahdollisesti fenyyli- tai bentsoy-
li-alkyyliryhmä, kuten 4,4'-dimetoksydifenyyli-alkyyliryhmä, trifenyyli-alkyyliryhmä, trimetyylisilyyli-, bent-
10 soyli-, bentsoyylisilyyli-, tetrahydropyranyyli-, asyyliminokarbonyyli-,
bentsoyylisilyyli-, bentsoyylisilyyli- tai aminokarbonyyli-, kuten
etyyliminokarbonyyli.

Amidiryhmien suojaaminen on vain harvoin tarpeen. Edullisia
amidisuojaryhmiä ovat esim. 4-, 2,4-di- tai 2,4,6-trimetoksi-
15 bentsoyyliryhmä tai mahdollisesti fenyyli- tai bentsoy-
li-alkyyliryhmä, kuten 4,4'-dimetoksydifenyyli-alkyyliryhmä, jolloin nämä ryhmät sitoutuvat typpi-
atomiin.

Keksintö koskee erityisesti kaavan (I) mukaisia yhdisteitä,
20 joissa R^1 tarkoittaa vetyä, alifaattista, aromaattista tai
aromaattis-alifaattista, enintään 18 C-atomia sisältävää asyy-
li- tai bentsoyyliryhmää, heterosyklistä tai heterosyklis-alifaattista asyy-
li- tai bentsoyyliryhmää, jossa kulloinkin on viisi tai kuusi rengasjäsentä ja
yksi tai kaksi typpi-atomia mahdollisesti bentsoanelloitu hete-
25 rosyklisessä renkaassa ja yhteensä korkeintaan 18 C-atomia,
tai enemmän kuin 18 ja korkeintaan 60 C-atomia sisältävän,
korkeintaan 6 luonnossa esiintyvää aminohaposta ja/tai nii-
den (D)-isomeerista muodostuneen oligopeptidin asyyli- tai bentsoyyliryhmää,
jolloin näissä aminohapoissa esiintyvät vapaat, funktionaali-
30 set ryhmät ovat mahdollisesti suojatussa muodossa. R^2 tarkoi-
taa alkyyliä tai aralkyyliä, jossa kulloinkin on korkeintaan 18
C-atomia, R^3 tarkoittaa vapaata tai esteröityä, enintään 18 C-
atomia sisältävää hydroksia ja R^4 vapaata tai enintään 18 C-
atomia sisältävää aralkyyliä tai alkyyliryhmää.

substituoitua aminoa, luonnossa esiintyvän aminohapon tai sen (D)-isomeerin tai luonnossa esiintyvistä aminohapoista ja/tai niiden (D)-isomeereistä rakentuneen, 2-6 aminohappoa sisältävän peptidin N-päätteistä tähdettä, jolloin näissä aminohapoissa esiintyvät vapaat, funktionaaliset ryhmät ovat mahdollisesti suojatussa muodossa, tai vapaata tai eetteröityä, korkeintaan 12 C-atomia sisältävää hydroksia, ja tällaisten suolaa muodostavia ryhmiä sisältävien yhdisteiden suoloja.

Ensi sijassa keksintö koskee kaavan (I) mukaisia yhdisteitä, joissa R^1 tarkoittaa vetyä, luonnossa esiintyvän aminohapon tai sen (D)-isomeerin tähdettä, tai korkeintaan kuudessa luonnossa esiintyvistä aminohaposta ja/tai niiden (D)-isomeerista rakentuneen peptidin tähdettä, jolloin näissä tähteissä esiintyvät vapaat, funktionaaliset ryhmät ovat mahdollisesti suojatussa muodossa, R^2 tarkoittaa alempialkyyliä tai fenyyli-alempialkyyliä, R^3 vapaata hydroksia ja R^4 tarkoittaa vapaata aminoa tai mahdollisesti fenyyllillä substituoidulla alempialkyyllillä substituoitua aminoa, luonnossa esiintyvän aminohapon tai sen (D)-isomeerin tai luonnossa esiintyvistä aminohapoista ja/tai niiden (D)-isomeereista rakentuneen, 2-6 aminohappoa sisältävän peptidin N-päätteistä tähdettä, jolloin tällaisissa aminohapoissa esiintyvät vapaat, funktionaaliset ryhmät ovat mahdollisesti suojatussa muodossa, vapaata hydroksia tai alempialkoksia, ja tällaisten, suolaa muodostavia ryhmiä sisältävien yhdisteiden suoloja.

Aivan erityisesti keksintö koskee edellä mainittuja, kaavan (I) mukaisia yhdisteitä, joissa amino ja/tai karboksi ovat joko sellaisenaan tai mahdollisesti substituoituna bentsyyli-oksikarbonyyliaminona tai C_1 - C_{18} -alkanolyyliaminona, vastaa-
vasti 1-18 C-atomia sisältävänä alkoksikarbonyylinä, ja tällaisten, suolaa muodostavia ryhmiä sisältävien yhdisteiden suoloja.

Ennen kaikkea keksintö koskee kaavan (I) mukaisia yhdisteitä, joissa R^1 tarkoittaa vetyä, luonnossa esiintyvän aminohapon asyyliähdettä, luonnossa esiintyvistä aminohapoista rakentuneen dipeptidin asyyliähdettä tai alempialkanoyyliä, R^2 tarkoittaa haarautunutta alempialkyyliä, R^3 vapaata hydroksia ja R^4 tarkoittaa vapaata tai alempialkyyllillä tai bentsyyllillä substituotua aminoa tai luonnossa esiintyvän aminohapon tai tällaisista aminohapoista rakentuneen di- tai tripeptidin N-päätteistä tähdettä, ja tällaisten, suolaa muodostavia ryhmiä sisältävien yhdisteiden suoloja.

Edullisia ovat kaavan (I) mukaiset yhdisteet, joissa R^1 tarkoittaa luonnossa esiintyvistä aminohapoista rakentuneen dipeptidin asyyliähdettä, R^2 tarkoittaa 2-metyyli-propyyliä, R^3 vapaata hydroksia ja R^4 luonnossa esiintyvistä aminohapoista rakentuneen di- tai tripeptidin N-päätteistä tähdettä ja näiden yhdisteiden farmaseuttisesti käyttökelpoiset suolat lukuunottamatta yhdisteitä H-Pro-His-Pro-Phe-His-Sta-Leu-Phe-NH₂, N-isovaleryyli-Pro-His-Pro-Phe-His-Sta-Leu-Phe-NH₂ ja N-tert.butyylioksisikarbonyyli-Pro-His-Pro-Phe-His-Sta-Leu-Phe-NH₂.

Erityisen edullisia ovat edellä mainitut, kaavan (I) mukaiset yhdisteet, joissa tähteissä R^1 ja R^4 esiintyvät aminohappotähteet johdetaan jokaisesta 20 edellä mainitusta aminohaposta niiden luonnollisessa konfiguraatiossa, jotka yleensä esiintyvät proteiineissa.

Aivan erityisen edullisia ovat kaavan (I) mukaiset yhdisteet, joissa R^1 tarkoittaa tähdettä H-Pro-His- tai H-Ile-His-, R^2 tarkoittaa 2-metyyli-propyyliä, R^3 vapaata hydroksia ja R^4 tarkoittaa tähdettä -Val-Tyr-Lys-OH, -Ile-His-Lys-OH, -Ile-His-Ser-OH, -Val-Tyr-Ser-OH, -Val-, -Tyr-OH, -Ile-His-OH, -Val-Tyr-NH₂, -Ile-His-NH₂ tai -Ala-Sta-OH, ja näiden yhdisteiden farmaseuttisesti hyväksyttävät suolat.

Ensi sijassa keksintö koskee edellä mainittuja, kaavan (I) mukaisia yhdisteitä, joissa kaavassa (I) käytetyt lyhenteet -Pro-, -Phe- ja -His- tarkoittavat vastaavien (L)-aminohappojen tähteitä, ja tällaisten, suolaa muodostavia ryhmiä sisältävien yhdisteiden suoloja.

Edullisia ovat myös seuraavat, kaavan (I) mukaiset yhdisteet, ja tällaisten, ainakin yhden suolaa muodostavan ryhmän sisältävien yhdisteiden suolat, joissa yhdisteissä

a) R^1 tarkoittaa tähdettä H-Ile-His-, R^2 tarkoittaa 2-metyyli-propyyliä, R^3 vapaata hydroksia ja R^4 tarkoittaa tähdettä -Val-Tyr-Lys-OH, -Ile-His-Lys-OH, -Ile-His-Ser-OH, -Val-Tyr-Ser-OH, -Val-Tyr-OH, -Ile-His-OH, -Val-Tyr-NH₂, -Ile-His-NH₂ tai -Ala-Sta-OH

b) R^1 tarkoittaa korkeintaan kuudesta luonnossa esiintyvistä aminohaposta ja/tai niiden (D)-isomeerista rakentuneen peptidin tähdettä, jolloin näissä tähteissä esiintyvät vapaat funktionaaliset ryhmät ovat mahdollisesti suojatussa muodossa, R^2 tarkoittaa alempialkyyliä tai fenyylialempialkyyliä, R^3 vapaata hydroksia ja R^4 tarkoittaa vapaata aminoa tai aminoa, joka on substituoitu mahdollisesti fenyyllillä substituoidulla alempialkyyllillä, luonnossa esiintyvän aminohapon tai sen (D)-isomeerin tai luonnossa esiintyvistä aminohapoista ja/tai niiden (D)-isomeereista rakentuneen, 2-6 aminohappoa sisältävän peptidin N-päänteistä tähdettä, jolloin tällaisissa aminohapoissa esiintyvät vapaat, funktionaaliset ryhmät ovat mahdollisesti suojatussa muodossa, vapaata hydroksia tai alempialkoksia, ja tällaisten suolaa muodostavia ryhmiä sisältävien yhdisteiden suoloja, lukuunottamatta yhdisteitä H-Pro-His-Pro-Phe-His-Sta-Leu-Phe-NH₂, N-isovaleryyli-Pro-His-Pro-Phe-His-Sta-Leu-Phe-NH₂ ja N-tert.-butyylioksikarbonyyli-Pro-His-Pro-Phe-His-Sta-Leu-Phe-NH₂

c) R^1 tarkoittaa luonnossa esiintyvistä aminohapoista rakentuneen dipeptidin asyyliähdettä tai alempialkanoyyliä, R^2 tarkoittaa haarautunutta alempialkyyliä, R^3 vapaata hydroksia ja R^4 vapaata tai alempialkyylillä tai bentsyyllillä substituoitua aminoa tai luonnossa esiintyvän aminohapon tai tällaisista aminohapoista rakentuneen di- tai tripeptidin N-päätteistä tähdettä, lukuunottamatta yhdisteitä H-Pro-His-Pro-Phe-His-Sta-Leu-Phe-NH₂, N-isovaleryyli-Pro-His-Pro-Phe-His-Sta-Leu-Phe-NH₂ ja N-tert.-butyylioksikarbonyyli-Pro-His-Pro-Phe-His-Sta-Leu-Phe-NH₂

d) R^1 tarkoittaa kahdesta, luonnossa esiintyvistä (L)-aminohaposta tai niiden (D)-isomeereista muodostuneen dipeptidin asyyliähdettä, 3-6 luonnossa esiintyvistä aminohaposta rakentuneen ja korkeintaan 60 C-atomia sisältävän oligopeptidin asyyliähdettä; jolloin vapaat funktionaaliset ryhmät näissä aminohappotähteissä ovat mahdollisesti suojatussa muodossa, tai jotain muuta alifaattista, aromaattista tai aromaattis-alifaattista, enintään 18 C-atomia sisältävää asyyliähdettä, joka on eri kuin N-substituoimaton tai N-substituoitu (L)- tai (D)-histidiinin tai sarkosiinin asyyliähdde. R^2 tarkoittaa alkyyliä tai aralkyyliä, R^3 vapaata tai funktionaalisesti muunnettua hydroksia, R^4 tarkoittaa vapaata tai substituoitua aminoa tai vapaata tai eetteröityä hydroksia, ja Pro-, -Phe- sekä -His- ovat aminohappojen proliinin, fenyylialaniinin sekä vastaavasti histidiinin tai niiden (D)-isomeerien bivalenttisia tähteitä, lukuunottamatta yhdisteitä (H, Boc tai N-isovaleryyli)-Pro-His-Pro-Phe-His-Sta-Leu-Phe-NH₂ ja (H, Boc, N-asetyyli tai N-fenoksisasetyyli)-Pro-Phe-His-Sta-Leu-Phe-NH₂

e) R^1 tarkoittaa kahdesta luonnossa esiintyvistä (L)-aminohaposta tai niiden (D)-isomeereista muodostuneen dipeptidin asyyliähdettä, 3-6 luonnossa esiintyvistä aminohaposta muodostuneen ja korkeintaan 60 C-atomia sisältävän oligopeptidin asyyliähdettä, jolloin vapaat, funktionaaliset ryhmät näissä aminohappotähteissä ovat mahdollisesti suojatussa muodossa, tai

jotain muuta, alifaattista, aromaattista tai aromaattis-alifaattista, enintään 18 C-atomia sisältävää asyyliähdettä, joka on eri kuin N-substituoimattoman tai N-substituidun (L)-tai (D)-histidiinin tai sarkosiinin asyyliähdde, R^2 tarkoittaa alkyyliä tai aralkyyliä, joka kulloinkin sisältää korkeintaan 18 C-atomia, R^3 tarkoittaa vapaata tai esteröityä, enintään 18 C-atomia sisältävää hydroksia, ja R^4 tarkoittaa vapaata tai enintään 18 C-atomia sisältävällä aryylialempialkyyllillä tai alempialkyyllillä substituoitua aminoa, luonnossa esiintyvän aminohapon tai sen (D)-isomeerin tai luonnossa esiintyvistä aminohapoista ja/tai niiden (D)-isomeereistä rakentuneen, 2-6 aminohappoa sisältävän peptidin N-pääteistä tähdettä, jolloin tällaisissa aminohapoissa esiintyvät vapaat, funktionaaliset ryhmät ovat mahdollisesti suojatussa muodossa, tai vapaata tai eetteröityä, korkeintaan 12 C-atomia sisältävää hydroksia, lukuunottamatta yhdisteitä (H, Boc tai N-isovaleryyli)-Pro-His-Pro-Phe-His-Sta-Leu-Phe-NH₂ ja (H, Boc, N-asetyyli tai N-fenoksiasetyyli)-Pro-Phe-His-Sta-Leu-Phe-NH₂ sekä kaavan (I) mukaiset yhdisteet edellä mainituista ryhmistä ja tällaisten, suolaa muodostavia ryhmiä sisältävien yhdisteiden suolat, jotka yhdisteet sisältävät ainakin kaksi aminohappoa, jotka eivät ole α -aminohappoja, erityisesti kaksi statiinimolekyyliä, esim. sellaiset yhdisteet, jotka sisältävät sekvenssin -Sta-Ala-Sta, Sta-Gly-Sta-, -Sta-Ile-Sta-, Sta-Sta- tai -Sta-Sar-Sta-, tai yhdisteet, jotka sisältävät β -alaniinin, esim. sekvenssin -Sta- β -Ala-His tai γ -amino-voihapon, sekä kaavan (I) mukaiset yhdisteet, jotka sisältävät ainakin hydroksikarboksyylihapon, esim. L-maitohapon tai glykolihapon aminohapon sijasta, esim. tähteessä R^4 liittyneenä γ -aminohappoon, sekä kaavan (I) mukaiset yhdisteet, joissa R^1 tarkoittaa tähdettä H-Arg-Arg-, jonka N-pääteinen aminohappo on mahdollisesti suojatussa muodossa, esim. yhdisteet, joissa R^1 tarkoittaa tähdettä Z-Arg-Arg-.

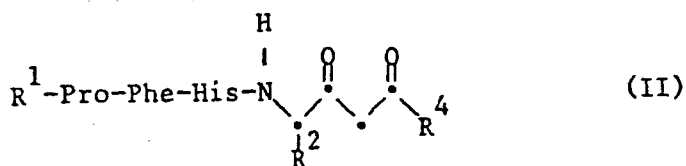
Aivan ensi sijassa keksintö koskee esimerkeissä mainittuja, kaavan (I) mukaisia yhdisteitä, ennen kaikkea Z-Arg-Arg-Pro-

Phe-His-Sta-Ile-His-Lys(Boc)-OCH₃ ja niiden farmaseuttisesti käyttökelpoisia suoloja.

Keksinnön mukaiset, kaavan (I) mukaiset yhdisteet ja sellaisen yhdisteiden, jotka sisältävät ainakin yhden suolaa muodostavan ryhmän, suolat saadaan sinänsä tunnetulla tavalla esim. siten, että

a) kaavan (I) mukaisen yhdisteen amidisidos valmistetaan saat-
tamalla vastaava osayhdiste, joka sisältää vapaan karboksyyli-
ryhmän, tai tämän reaktiokykyinen happojohdannainen reagoimaan
10 täydentävän osayhdisteen kanssa, joka sisältää vapaan amino-
ryhmän, tai tämän yhdisteen reaktiokykyisen, aktivoituneen amino-
ryhmän sisältävän johdannaisen kanssa, jolloin reaktiokomponen-
teissa esiintyvät vapaat, funktionaaliset ryhmät, lukuunotta-
matta edellä mainittuun reaktioon osallistuvia ryhmiä, ovat
15 mahdollisesti suojatussa muodossa, ja tarvittaessa lohkaistaan
suojarahmit pois tai

b) kaavan (I) mukaisten yhdisteiden valmistamiseksi, joissa R^3 tarkoittaa vapaata hydroksia, pelkistetään ketoryhmä hydroksiryhmäksi kaavan (II) mukaisessa yhdisteessä



20 jossa substituentit tarkoittavat samaa kuin edellä, sillä edellytyksellä, että yhdisteessä esiintyvät vapaat, funktionaaliset ryhmät, lukuunottamatta reaktioon osallistuvaa ketoryhmää, ovat mahdollisesti suojatussa muodossa, saattamalla yhdiste reagoimaan paikkaselektiivisen pelkistysaineen kanssa, ja,
25 tarvittaessa, esiintyvät suojaryhmät lohkaistaan pois tai

c) kaavan (III) mukaisen yhdisteen C=C-kaksoissidokseen



5

d) kaavan (IV) mukaisessa yhdisteessä



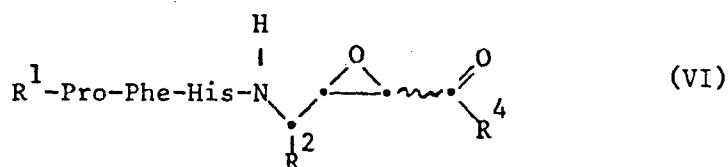
10

e) kaavan (I) mukaisen yhdisteen valmistamiseksi, jossa R^4 tarkoittaa vapaata tai substituoitua aminoa, syanoryhmä kaavan (V) mukaisessa yhdisteessä



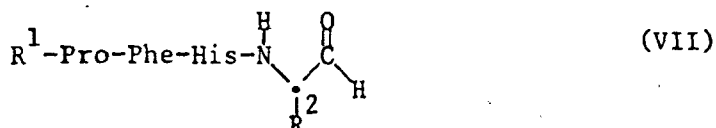
jossa substituentit tarkoittavat samaa kuin edellä, muutetaan mahdollisesti N-substituoiduksi amidiryhmäksi, tai

f) kaavan (I) mukaisen yhdisteen valmistamiseksi, jossa R^3 tarkoittaa vapaata hydroksia, kaavan (VI) mukainen epoksidi



5 jossa substituentit tarkoittavat samaa kuin edellä sillä edellytyksellä, että yhdisteessä esiintyvät vapaat funktionaaliset ryhmät, lukuunottamatta reaktioon osallistuvaa epoksiryhmää, ovat mahdollisesti suositussa muodossa, pelkistetään alueselektiivisellä pelkistysaineella vastaavaksi alkoholiksi, ja,
10 tarvittaessa, esiintyvät suojaryhmät lohkaistaan pois, tai

g) kaavan (VII) mukainen yhdiste



jossa substituentit tarkoittavat samaa kuin edellä, sillä edellytyksellä, että yhdisteessä esiintyvät vapaat, funktionaaliset ryhmät lukuunottamatta reaktioon osallistuvaa aldehydiryhmää, ovat mahdollisesti suojatussa muodossa, saatetaan
15 sinkillä aktivoinnin jälkeen (Reformatsky-reaktio) reagoimaan kaavan (VIII) mukaisen yhdisteen kanssa

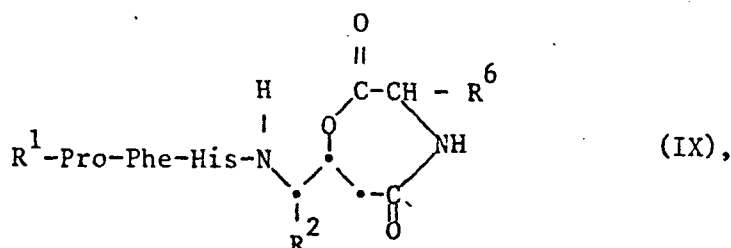


jossa R^5 tarkoittaa halogeenia, jonka atomipaino on 35 - 127, ja R^4 tarkoittaa samaa kuin edellä, sillä edellytyksellä, että kaavan (VIII) mukaisessa yhdisteessä esiintyvät vapaat, funktionaaliset ryhmät, lukuunottamatta reaktioon osallistuvaa ryhmää, ovat mahdollisesti suojatussa muodossa, ja, tarvittaessa, esiintyvät suojaryhmät lohkaistaan pois tai

h) kaavan (I) mukaisessa yhdisteessä, jossa substituentit tarkoittavat samaa kuin edellä, sillä edellytyksellä, että kaavan (I) mukaisessa yhdisteessä esiintyy ainakin yksi vapaa amino-, hydroksi-, merkapto- tai karboksiryhmä ja muut funktionaaliset ryhmät ovat mahdollisesti suojatussa muodossa, ainakin yksi vapaa amino-, hydroksi- tai merkaptoryhmä asyloidaan liitettävän tähteen sisältävällä karboksyylihapolla tai sen reaktiokykyisellä johdannaisella tai ainakin yksi vapaa karboksiryhmä tai sen reaktiokykyinen johdannainen esteröidään, ja, tarvittaessa, esiintyvät suojaryhmät lohkaistaan pois tai

i) kaavan (I) mukaisessa yhdisteessä, jossa substituentit tarkoittavat samaa kuin edellä, sillä edellytyksellä, että kaavan (I) mukaisessa yhdisteessä esiintyy ainakin yksi vapaa amino-, hydroksi- tai merkaptoryhmä ja muut funktionaaliset ryhmät ovat mahdollisesti suojatussa muodossa, ainakin yksi vapaa aminoryhmä alkyloidaan tai vapaa hydroksi- tai merkaptoryhmä eetteröidään, ja, tarvittaessa, esiintyvät suojaryhmät lohkaistaan pois tai

j) kaavan (I) mukaisen yhdisteen valmistamiseksi, jossa R^4 tarkoittaa mahdollisesti vastaavasti substituoidun aminohapon N-päätteistä tähdettä, avataan kaavan (IX) mukainen laktoni



jossa R^1 ja R^2 tarkoittavat samaa kuin edellä ja R^6 tarkoittaa luonnossa esiintyvän, kaavan (X) mukaisen aminohapon tai sen (D)-isomeerin vastaavaa tähdettä



5 joka karboksyyli- tai aminoryhmän välityksellä tähteessä R^6 voi olla amidisesti sitoutunut toiseen luonnossa esiintyvään aminohappoon tai luonnossa esiintyvistä aminohapoista tai niiden (D)-isomeereista rakentuneeseen, 2-5 aminohappoa sisältävään peptidiin, jolloin vapaat, funktionaaliset ryhmät näissä aminohappotähteissä ovat mahdollisesti muunnetussa muodossa, tai

- 10 k) yhdisteen valmistamiseksi, joka sisältää ainakin yhden vapaan funktionaalisen ryhmän kaavan (I) mukaisessa yhdisteessä, jossa substituentit tarkoittavat samaa kuin edellä, sillä edellytyksellä, että kaavan (I) mukaisessa yhdisteessä ainakin
- 15 yksi funktionaalinen ryhmä on suojattu helposti poislohkaistavissa olevalla suojaryhmällä, esiintyvät suojaryhmät lohkaistaan pois, mahdollisesti vaiheittain, ja haluttaessa, sen jälkeen kun joku edellä mainituista menetelmistä a) - k) tai jokin muu mielivaltainen menetelmä on suoritettu kaavan (I) mukaisen
- 20 yhdisteen valmistamiseksi, saatu kaavan (I) mukainen yhdiste, joka sisältää ainakin yhden suolaa muodostavan ryhmän, muutetaan suolakseen tai saatu suola vapaaksi yhdisteeksi tai toiseksi suolaksi ja/tai mahdollisesti saatu stereoisomeeriseos erotetaan ja/tai saatu kaavan (I) mukainen yhdiste epimeroidaan.
- 25 Suojaryhmän poislohkaisu menetelmämuunnosten a-d) ja f-i) lopussa on välttämätöntä haluttaessa tuote, joka ei sisällä kyseessä olevia suojaryhmiä.

Keksintö koskee myös minkä tahansa edellä mainitun menetelmän mukaisesti saatavia yhdisteitä ja niiden suoloja.

Menetelmä a) (amidisidoksen valmistaminen)

Kaavan (I) mukaisen yhdisteen osayhdisteen reaktiokykyisiä karboksyylihapojohdannaisia, jotka sisältävät vapaan karboksyyli-ryhmän, ovat ensi sijassa aktivoituneet esterit tai reaktiokykyiset anhydrit, myös reaktiokykyiset, sykliset amidit; tällöin voidaan reaktiokykyiset hapojohdannaiset valmistaa myös *in situ*.

Hapojen aktivoituja estereitä ovat erityisesti esteröivän tähteen liitoshiiliatomissa tyydyttämättömät esterit, esim. vinyyli-esteri-tyyppiset, kuten varsinaiset vinyyliesterit (jotka voidaan saada esim. saattamalla vastaava esteri reagoimaan vinyyliasetaatin kanssa; aktivoituneen vinyyliesterin menetelmä), karbamoyylinvinyyliesterit (jotka voidaan saada esim. käsittelemällä vastaava happo iso-oksatsoliniumreagenssilla; 1,2-oksatsolinium- tai Woodward-menetelmä), tai 1-alempi-alkoksivinyyliesterit (jotka voidaan saada esim. käsittelemällä vastaavaa happoa alempi-alkoksiasetyleenillä; etoksiasetyleenin menetelmä) tai amidino-tyyppiset esterit, kuten N,N'-disubstituoidut amidinoesterit (jotka voidaan saada esim. käsittelemällä vastaava happo sopivalla N,N'-disubstituoidulla karbodiimidilla, esim. N,N'-disykloheksyylikarbodiimidilla; karbodiimidi-menetelmä) tai N,N-disubstituoidut amidinoesterit (jotka voidaan saada esim. käsittelemällä vastaava happo N,N-disubstituoidulla syaaniamidilla; Syaaniamidi-menetelmä), sopivat aryyliesterit, erityisesti elektroneja puoleensa vetävillä substituenteilla sopivasti substituoidut fenyyliesterit (jotka voidaan saada esim. käsittelemällä vastaava happo sopivasti substituoidulla fenolilla, esim. 4-nitrofenolilla, 4-metyylisulfonyyli-fenolilla, 2,4,5-trikloorifenolilla, 2,3,4,5,6-pentakloori-fenolilla tai 4-fenyylidiatsofenolilla kondensaatioaineen, kuten N,N'-disykloheksyylikarbodiimidin läsnäollessa; aktivoituneen aryyliesterin menetelmä) syaanimetyyliesterit (jotka voidaan saada esim. käsittelemällä

- vastaava happo klooriasetonitriilillä emäksen läsnäollessa; syaanimetyyliesteri-menetelmä) tioesterit, erityisesti mahdollisesti esim. nitrolla substituoidut fenyyli-tioesterit (jotka voidaan saada esim. käsittelemällä vastaava happo mahdollisesti esim. nitrolla substituoidulla tiofenolilla, mm. anhydridi- tai karbodi-imidi-menetelmän avulla; aktivoidun tio-
 5 liesterin menetelmä) tai amino- tai amidoesterit (jotka voidaan saada esim. käsittelemällä vastaava happo N-hydroksiamino- tai N-hydroksiamino-yhdisteellä, esim. N-hydroksimeripihka-
 10 happoimidillä, N-hydroksipiperidiinillä, N-hydroksiftaaliimidillä, N-hydroksi-5-norborneeni-2,3-dikarboksyylihappoimidillä tai 1-hydroksibentstriatsolilla, esim. anhydridi- tai karbodi-imidi-menetelmän mukaisesti; aktivoidun N-hydroksies-
 terin menetelmä).
- 15 Happojen anhydridit voivat olla näiden happojen symmetrisiä tai mieluummin seka-anhydridejä, joita ovat esim. anhydridit epäorgaanisten happojen kanssa, kuten happohalogenidit, erityisesti happokloridit (jotka voidaan saada esim. käsittelemäl-
 20 lä vastaava happo tionyylikloridilla, fosforipentakloridilla tai oksalyylikloridilla; happokloridimeretelmä), atsidit (jotka voidaan saada esim. vastaavasta happoesteristä vastaavan hydratsidin kautta sen jälkeen, kun viimeksi mainittu käsitellään typpihapokkeella; atsidimenetelmä) anhydridit hiilihappopuoli-
 johdannaisten, kuten vastaavien estereiden, esim. hiilihappo-
 25 alempialkyyli- tai puoli-estereiden kanssa (jotka voidaan saada esim. käsittelemällä vastaava happo halogeeni-, kuten kloorimuurahais-
 happoalempialkyyliesterillä tai 1-alempialkoksikarbonyyli-2-alempialkoksi-1,2-dihydro-kinoliinilla, esim. 1-alempialkoksi-
 karbonyyli-2-etoksi-1,2-dihydrokinoliinilla; seka-0-alkyyli-
 30 hiilihappoanhydridien menetelmä) tai anhydridit dihalogenoitujen, erityisesti dikloorattujen fosforihappojen kanssa (jotka voidaan saada esim. käsittelemällä vastaava happo fosfori-
 oksikloridilla; fosforioksikloridimenetelmä) anhydridit muiden fosforihappojohdannaisten kanssa (esim. sellaiset, jotka voi-

daan saada fenyyli-N-fenyyli-fosforiamidokloridaatilla) tai anhydridit fosforihapokejohdannaisten kanssa, tai anhydridit orgaanisten happojen kanssa, kuten seka-anhydridit orgaanisten karboksyylihappojen kanssa (jotka voidaan saada esim. kä-

5 srittelemällä vastaava happo mahdollisesti substituoidulla alempialkaani- tai fenyylialkaanikarboksyylihappohalogenidilla, esim. fenyylietikkahappo-, pivaliinihappo- tai trifluori-

etikkahappokloridilla; seka-karboksyylihappo-anhydridien menetelmä) tai anhydridit orgaanisten sulfonihappojen kanssa (jot-

10 ka voidaan saada esim. käsrittelemällä vastaavan hapon suolaa, kuten alkalimetallisuolaa sopivalla, orgaanisella sulfonihappohalogenidilla, kuten alempialkaani- tai aryyli-, esim. metaani- tai p-tolueenisulfonihappokloridilla; sekä-sulfonihappoanhydridien menetelmä) sekä symmetriset anhydridit (jotka

15 voidaan saada esim. kondensoimalla vastaava happo karbodi-imidin tai 1-dietyyliaminopropiinin läsnäollessa; symmetristen anhydridien menetelmä).

Sopivia syklisiä amideja ovat erityisesti aromaattisluontoiset, viisijäseniset diatsasykleenin sisältävät amidit, kuten

20 amidit imidatsolien kanssa, esim. imidatsoli (joka voidaan saada esim. käsrittelemällä vastaava happo N,N'-karbonyylidiimidatsolilla; imidatsolidi-menetelmä) tai pyratsolit, esim. 3,5-dimetyylipyratsoli (jotka voidaan saada esim. happohydratsiinin kautta käsrittelemällä asetyyliasetonilla; pyratsolidi-

25 menetelmä).

Täydentävä osayhdiste, joka sisältää vapaan aminoryhmän, on ammoniakki tai primäärinen tai sekundäärinen amiini.

Reaktioon osallistuva aminoryhmä kaavan (I) mukaisen yhdisteen täydentävässä osayhdisteessä on mieluummin vapaassa muodossa,

30 erityisesti kun sen kanssa reagoiva karboksiryhmä on reaktio-
kykyisessä muodossa, voi se olla myös itse derivoituneena, t.s. se voi olla aktivoitu reaktiolla esim. fosfiitin, kuten

dietyylikloorifosfiitin, 1,2-fenyleeni-kloorifosfiitin, etyyli-dikloori-fosfiitin, etyleeni-kloori-fosfiitin tai tetra-etyyli-pyrofosfiitin kanssa. Tällaisen täydentävän osayhdisteen reaktiokykyinen muoto on esim. myös karbamiinihappohalogenidi tai isosyanaatti, jolloin reaktioon osallistuva aminoryhmä on sitoutunut halogeenikarbonyyliin, esim. kloorikarbonyyliin, tai on isosyanaattiryhmänä, jolloin viimeksi mainitussa tapauksessa saadaan ainoastaan kaavan (I) mukaiset yhdisteet, joilla reaktiossa amidiryhmän muodostavassa typpiatomissa on vetyatomi.

Jos vapaan aminoryhmän sisältävä täydentävä osayhdiste on ammoniakki tai alempialkyyllillä tai aryyllialempialkyyllillä monotai disubstituoitu amiini, niin tällöin tarkoittaa vastaava karbamidi myös reaktiokykyistä muotoa. Esimerkiksi kuumentamalla ekvimolaariset määrät tällaista karbamidia ja vapaan karboksyyliiryhmän sisältävää komponenttia saadaan vastaavat kaavan (I) mukaiset yhdisteet hyvällä saannolla.

Jos täydentävä osayhdiste on dimetyyliamiini, tällöin tarkoittaa esim. dimetyyliformamidi myös reaktiokykyistä muotoa.

Mahdollisesti esiintyvien funktionaalisten ryhmien suojaryhmiä ovat esim. edellä mainitut suojaryhmät.

Reaktio voidaan suorittaa sinänsä tunnetulla tavalla, jolloin reaktio-olosuhteet riippuvat ensi sijassa siitä, onko ja miten reaktioon osallistuva karboksyylihappo on aktivoitu, tavallisesti reaktio suoritetaan sopivan liuottimen tai laimennusaineen tai näiden seoksen läsnäollessa ja, tarvittaessa, kondensaatioaineen läsnäollessa, joka esim. kun reaktioon osallistuva karboksyyliiryhmä on anhydridinä, voi olla myös happoa sitova aine, reaktio suoritetaan jäähdyttäen tai kuumentuen, esim. lämpötilassa noin -30°C - $+200^{\circ}\text{C}$, suljetussa reaktioastiassa ja/tai inerttikaasu-, esim. typpi-atmosfäärissä.

Tavallisia kondensaatioaineita ovat esim. karbodi-imidit, esimerkiksi N,N'-dietyyli-, N,N'-dipropyyli-, N,N'-disykloheksyyli- tai N-etyyli-N'-(3-dimetyyliaminopropyyli)-karbodi-imidi, sopivat karbonyyliyhdisteet, esimerkiksi karbonyylidi-imidat-
 5 soli tai 1,2-oksatsoliumyhdisteet, esim. 2-etyyli-5-fenyyli-1,2-oksatsolium-3'-sulfonaatti ja 2-tert.-butyyli-5-metyyli-iso-oksatsolium-perkloraatti, tai sopiva asyyliaminoyhdiste, esim. 2-etoksi-1-etoksikarbonyyli-1,2-dihydrokinoliini. Taval-
 10 lisiä happoa sitovia kondensaatioaineita ovat esim. alkalime-
 tallikarbonaatit tai -vetykarbonaatit, esim. natrium- tai ka-
 liumkarbonaatti tai -vetykarbonaatti (tavallisesti yhdessä sul-
 faatin kanssa), tai orgaaniset emäkset, kuten tavalliset stee-
 risesti estyneet trialempialkyyliamiinit, esim. N,N-di-isopro-
 pyyli-N-etyyli-amiini.

15 Kuten mainittiin voidaan reaktiokykyiset happojohdannaiset muo-
 dostaa myös in situ. Niinpä voidaan esim. N,N'-disubstituoitu
 amidinoesteri muodostaa in situ siten, että vapaan karboksyyli-
 ryhmän sisältävän osayhdisteen ja vapaan aminoryhmän sisältä-
 vän, täydentävän osayhdisteen seos sopivan N,N'-disubstituoi-
 20 dun karbodi-imidin, esim. N,N'-disykloheksyylikarbodi-imidin
 läsnäollessa saatetaan reagoimaan. Edelleen voidaan tällaisten
 happojen amino- tai amidoesteri muodostaa asyloivan aminokom-
 ponentin läsnäollessa siten, että vastaavan happo- ja amino-
 lähtöaineiden seos saatetaan reagoimaan N,N'-disubstituoidun
 25 karbodi-imidin, esim. N,N'-disykloheksyylikarbodi-imidin ja
 N-hydroksiamiinin tai N-hydroksiamidin, esim. N-hydroksimeri-
 pihkahappoimidin läsnäollessa, mahdollisesti sopivan emäksen,
 esim. 4-dimetyyliaminopyridiinin läsnäollessa.

Mentelmän a) suorittamiseksi tarvittavat lähtöaineet ovat tun-
 30 nettuja tai niitä voidaan valmistaa sinänsä tunnetun menetel-
 män mukaisesti esim. esiintyvistä aminohapoista analogisesti
 edellä esitetyn menetelmän kanssa.

Menetelmä b) (ketoryhmän pelkistys):

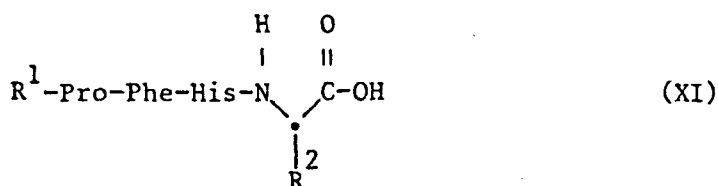
Voidaan käyttää sellaisia alueelektiivisiä pelkistysaineita, jotka reaktio-olosuhteissa pelkistävät eristetyn ketoryhmän riittävän paljon nopeammin kuin amidiryhmät.

- 5 Ensi sijassa mainittavia ovat sopivat boorihydrit, kuten alkalimetalliboorihydrit, erityisesti natriumboorihydrit, litiumboorihydrit tai natriumsyaaniboorihydrit tai sopivat aluminiumhydrit, kuten steerisesti estyneet alkalimetallialempialkoksialuminiumhydrit, esim. litium-tris-tert.-butoksi-aluminiumhydrit.

- 15 Pelkistys voidaan suorittaa myös vedyllä sopivan raskasmetallikatalysaattorin, esim. Raney-nikkelin, platina- tai palladiumkatalysaattorin läsnäollessa, tai Meerwein-Ponndorf-Verley-menetelmän mukaan aluminiumalkanolaattien, mieluummin aluminium-2-propanolaatin tai -etanolaatin avulla.

- 20 Pelkistys voidaan suorittaa käyttäen mieluummin stökiometrisiä määriä tai kun ei-toivottujen, esim. liuottimen kanssa tapahtuvien sivureaktioiden kannalta on tarpeen käyttäen tarkoin laskettua pelkistysaineen ylimäärää inertissä liuottimessa, lämpötilassa, joka on -80°C - $+180^{\circ}\text{C}$, mieluummin -20°C - $+100^{\circ}\text{C}$, tarvittaessa, suojakaasussa, esim. argonissa.

Kaavan (II) mukaiset lähtöaineketonit saadaan sinänsä tunnettujen menetelmien mukaisesti esim. esterin, esim. etyyliesterin Claisen-kondensaatiolla, kaavan (XI) mukainen happo



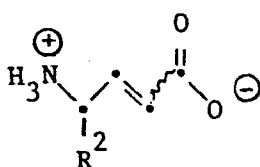
- 25 jossa substituentit tarkoittavat samaa kuin edellä sillä edellytyksellä, että yhdisteessä esiintyvät vapaat, funktionaaliset

- ryhmät, lukuunottamatta reaktioon osallistuvaa esteriryhmää, ovat mahdollisesti suojatussa muodossa, saatetaan reagoimaan etikkahappoesterin kanssa, saatu esteri amidoidaan kaavan R^4 -H mukaisella amiinilla, jonka jälkeen suojaryhmät lohkaistaan pois.

Vaihtoehtoisesti voidaan vastaava, Claisen-kondensaatiolla saatu γ -amino- β -okso-karboksyylihappo menetelmässä a) esitetyllä tavalla liittää peptidiketjuun.

Menetelmä c) (additio olefiiniin):

- 10 Kaavan R^3 -H mukaisessa yhdisteessä tähteen R^3 merkitys riippuu kulloinkin kysymyksessä olevasta yhdisteestä, joka on esim. vesi, alkoholi, karboksyylihappo tai halogeenivetyhappo. Reaktio suoritetaan mieluummin happamen tai emäksisen katalyytin läsnäollessa.
- 15 Kaavan (III) mukainen lähtöaineolefiini saadaan sinänsä tunnetun menetelmän mukaan esim. liittämällä kaavan (XII) mukainen α , β -tyydyttämätön aminohappo



(XII)

jossa R^2 tarkoittaa samaa kuin edellä, peptidiketjuun menetelmässä a) esitetyllä tavalla.

- 20 Kaavan (XII) mukainen aminohappo saadaan esim. mahdollisesti suojatussa muodossa olevasta α -aminoaldehydistä ja malonihappojohdannaisesta, esim. malodinitriilistä tai malonihappodietyyliesteristä Knoevenagel-Doebner-menetelmän mukaisesti.

Menetelmä d) (nukleofiilinen substituutio):

Poistoryhmä X on erityisesti vahvalla, epäorgaanisella tai orgaanisella hapolla esteröity hydroksi, kuten mineraalihapolla, esim. halogeenivetyhapolla, kuten kloorivety-, bromivety- tai jodivetyhapolla, myös rikkihapolla tai halogeenirikkihapolla, esim. fluoririkkihapolla tai vahvalla, orgaanisella sulfonihapolla, kuten mahdollisesti esim. halogeenilla, kuten fluorilla substituoidulla alempialkaanisulfonihapolla tai aromaattisella sulfonihapolla, esim. mahdollisesti alempialkyyllillä, kuten metyyllillä, halogeenilla, kuten bromilla ja/tai nitrolla substituoidulla bentseenisulfonihapolla, esim. metaanisulfoni-, trifluorimetaanisulfoni- tai p-tolueenisulfonihapolla esteröity hydroksi tai typpivetyhapolla esteröity hydroksi.

Substituentin R^3 nukleofiiliseen muotoon saattava reagenssi on riippuen aina tähteen R^3 merkityksestä esim. vesi, alkoholi tai karboksyylihapon suola.

Mieluimmin reaktio-olosuhteet valitaan niin, että reaktio tapahtuu etupäässä toisen asteen nukleofiilisenä substituutiona. Esim. kaavan (IV) mukainen yhdiste, jossa X tarkoittaa suuremman polaroitavuuden omaavaa poistoryhmää, esim. jodia, voidaan saattaa reagoimaan dipolaarisessa, aproottisessa liuottimessa, esim. asetonissa, asetonitriilissä, nitrometaanissa tai dime-tyyliformamidissa karboksyylihapon cesiumsuolan kanssa.

Menetelmä e) (syanyryhmän muuttaminen amidirymäksi):

Muuttaminen voi tapahtua osittaisella hydrolyysillä Graf-Ritter-reaktion mukaisesti tai karboksyylihappoesteri-imidi-suolan kautta. Kaavan (V) mukaisen yhdisteen hydrolyysiolosuhteet on valittava siten, että reaktio voidaan pysäyttää amidivaiheeseen, jolloin ei muodostu vapaata karboksyylihappoa. Tähän tarkoitukseen sopii parhaiten hydrolyysi hapoilla,

jolloin riippuen aina kaavan (V) mukaisessa yhdisteessä esiintyvistä substituentteista voidaan valita 80 % rikkihappo (samalla kuumentaen), polyfosforihappo (110-150°C:ssa), bromivety/jääetikka (huoneen lämpötila), muurahaishappo (ilman
 5 liuotinta) kloorivetykaasu eetteripitoisessa liuoksessa, johon on lisätty vettä tai vesipitoista suolahappoa, tai boorihalogenideja/1 ekvivalenttia vettä.

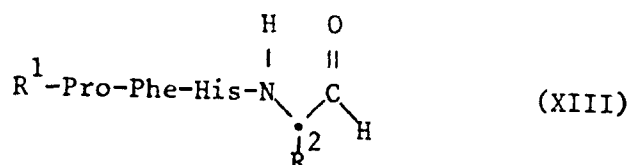
Joissakin tapauksissa onnistuu myös alkalinen hydrolyysi, erityisesti Radziszewski'in menetelmän mukaisesti vetyperoksidilla alkalisen aineen läsnäollessa ympäröivässä lämpötilassa.
 10

Graf-Ritter-reaktion avulla onnistutaan valmistamaan N-substituoituja amideja kaavan (V) mukaisista nitriileistä. Tällöin saatetaan nitriili vahvan hapon, mieluummin 85-90 % rikkihapon tai myös polyfosforihapon, muurahaishapon, booritrifluoridin
 15 tai muiden Lewis-happojen, ei kuitenkaan aluminiumkloridin läsnäollessa reagoimaan yhdisteiden kanssa, jotka voivat muodostaa happamassa väliaineessa karbenium-ioneja, siis esim. olefiinien, kuten propyleenin tai alkoholien, kuten bentsyyli-alkoholin kanssa.

20 Vastaavasti Graf-Ritter-reaktion erästä muunnosta voidaan katalysoida myös elohopea(II)-nitraatilla ja lopussa suoritetaan pelkistys natriumboorihydridillä.

Karboksyylihappoesteri-imidit saadaan esim. liittämällä happokatalysoidusta alkoholeja nitriiliin. Esteri-imideistä saadaan amideja Pinner-lohkaisu-menetelmällä, jossa esteri-imidi-
 25 suolatermisesti hajotetaan lämpötilassa, joka on yli 80°C.

Kaavan (V) mukaiset nitriilit voidaan valmistaa esimerkiksi Kolbe-synteesillä vastaavista, primäärisistä halogenideista syanidi-ioneilla, nukleofiilisen substituution mukaisesti.
 30 Vaihtoehtoisesti kaavan (XIII) mukainen yhdiste



jossa substituentit tarkoittavat samaa kuin edellä sillä edellytyksellä, että yhdisteessä esiintyvät vapaat, funktionaaliset ryhmät, lukuunottamatta reaktioon osallistuvaa aldehydyrhmää, ovat mahdollisesti suojatussa muodossa, voidaan saat-
 5 taa reagoimaan mieluummin ylimäärän kanssa asetonitriiliä edullisesti kun läsnä on katalyyttinen määrä vahvaa emästä.

Menetelmä f) (epoksidin pelkistys)

Voidaan käyttää sellaisia alueselektiivisiä pelkistysaineita, jotka reaktio-olosuhteissa pelkistävät epoksiryhmän riittävän
 10 paljon nopeammin kuin amidiryhmät ja epoksidi voidaan avata siten, että riittävä ja mahdollisimman suuri osa reaktiotuotteesta, joka sisältää juuri muodostuneen hydroksyyli-ryhmän kaavaa (I) vastaavassa asemassa, saatetaan reagoimaan esim. litiumboorihydridin tai natriumsyaaniboorihydridin/booritri-
 15 fluoridi-eteraatin kanssa.

Viimeksi mainitulla reagenssilla voidaan reaktio suorittaa esim. niin, että 1 mooliin kaavan (VI) mukaista yhdistettä ja ylimäärään, esim. 1,4 - 3 moolista natriumsyaaniboorihydridiä tetrahydrofuraanissa, korotetussa lämpötilassa, esim. palautus-
 20 lämpötilassa, lisätään liuos, jossa on booritrifluoridi-eteraattia $\text{BF}_3 \cdot \text{O}(\text{C}_2\text{H}_5)_2$ tetrahydrofuraanissa, lisäys suoritetaan niin, että reaktioliuoksen pH pidetään bromikresolivihreä-indikaattorin värinvaihtumiskohdan lähellä.

Kaavan (VI) mukainen epoksidi voidaan valmistaa sinänsä tunnetulla tavalla, esim. epoksoimalla kaavan (XII) mukainen, tyydyttämätön aminohappo ja liittämällä saatu aminohappo peptidiketjuun menetelmän a) mukaisesti.

Menetelmä g) (Reformatsky-reaktio):

Reaktio voidaan suorittaa esim. niin, että ensin kaavan (VIII) mukainen yhdiste, esim. sellainen, jossa R^5 tarkoittaa bromia, aktivoidaan alkoholissa mieluummin stökiömetrisellä määrällä sinkkiä, korotetussalämpötilassa, esim. metanolin kiehumis-
 5 pisteessä ja mahdollisesti sen jälkeen kun on lisätty tetrahydrofuraania liukoisuuden korottamiseksi lämpötilassa, joka on -30°C - $+60^{\circ}\text{C}$, mieluummin 0°C - $+20^{\circ}\text{C}$, saatetaan reagoimaan kaavan (VII) mukaisen aldehydin kanssa.

10 Kaavan (VII) mukaiset lähtöaineet saadaan sinänsä tunnettujen menetelmien mukaisesti, esim. pelkistämällä vastaava happokloridi, esim. litium-tri-tert.-butoksi-aluminiumhydridillä tai Rosenmund'in mukaan. Voidaan myöskin ensiesim. lähtemällä vas-
 15 taavasta aminohaposta, valmistaa pääteasemassa oleva aminoaldehydi ja sen jälkeen tämä menetelmässä a) esitetyllä menetelmällä liitetään peptidiketjuun.

Kaavan (VIII) mukaiset lähtöaineet ovat myös sinänsä tunnettujen menetelmien mukaan saatavissa, esim. amidoimalla vastaava α -halogeeni-etikkahappo, kuten menetelmässä a) on esitetty.

20 Menetelmä h) (asylointi):

Asylointiaineena käytetyn karboksyylihapon reaktiokykyinen johdannainen on esim. jokin menetelmässä a) mainituista.

Esteröitävän karboksyyliyryhmän reaktiokykyinen johdannainen kaavan (I) mukaisessa yhdisteessä on esim. jokin menetelmässä
 25 a) mainituista tai reaktiokykyinen suola, esim. cesiumsuola.

Karboksyyliyryhmän esteröimiseksi kaavan (I) mukaisessa yhdisteessä voidaan joko vapaa happo tai mieluummin jokin menetelmässä a) mainituista reaktiokykyisistä karboksyylihappojohdannaisista saattaa reagoimaan alkoholin kanssa tai vapaa happo

tai reaktiokykyinen karboksyylihapposuola saatetaan reagoimaan esteröintiaineen esim. alkoholin reaktiokykyisen johdannaisen kanssa. Esimerkiksi voidaan karboksyylihapon cesiumsuola saattaa reagoimaan halogenidin kanssa.

- 5 Sopivia aineita kaavan (I) mukaisen yhdisteen karboksyyli-ryhmän esteröimiseksi ovat esimerkiksi vastaavat diatsoyhdisteet, kuten mahdollisesti substituoidut diatsoalempialkaanit, esim. diatsometaani, diatsoetaani, diatso-n-butaani tai difenyyli-diatso-metaani. Näitä reagensseja käytetään sopivan, inertin
- 10 liuottimen, kuten alifaattisen, sykloalifaattisen tai aromaattisen hiilivedyn, kuten heksaanin, sykloheksaanin, bentseenin tai tolueenin, halogenoidun, alifaattisen hiilivedyn, esim. metyleenikloridin tai eetterin, kuten dialempialkyylietterin, esim. dietyylietterin tai syklisen eetterin, esim. tetrahydrofuraanin tai dioksaanin tai liuotinseoksen läsnäollessa, ja
- 15 riippuen aina diatsoreagensista reaktio tapahtuu jäähdyttäen, huoneen lämpötilassa tai lievästi kuumentaen, myös tarvittaessa suljetussa astiassa ja/tai inerttikaasun, esim. typpi-atmosfäärissä.
- 20 Muita sopivia aineita kaavan (I) mukaisen yhdisteen karboksyyli-ryhmän esteröimiseksi ovat vastaavien alkoholien esterit, ensi sijassa esterit vahvojen, epäorgaanisten tai orgaanisten happojen, kuten mineraalihappojen, esim. halogeenivetyhappojen, kuten kloorivety-, bromivety- tai jodivetyhapon, myös rikki-
- 25 hapon, tai halogeeni-rikkihapon, esim. fluoririkkihapon kanssa tai esterit vahvojen orgaanisten sulfonihappojen, kuten mahdollisesti esim. halogeenilla, kuten fluorilla substituoidujen alempialkaanisulfonihappojen tai aromaattisten sulfonihappojen, kuten esim. mahdollisesti alempialkyyllillä, kuten
- 30 metyyllillä, halogeenilla, kuten bromilla ja/tai nitrolla substituoidujen bentseenisulfonihappojen, esim. metaanisulfony-, trifluorimetaanisulfony- tai p-tolueenisulfonihapon kanssa. Tällaisia estereitä ovat mm. alempialkyylihalogenidit, dialempialkyyli-sulfaattit, kuten dimetyylisulfaatti, myös fluorisul-

fonihappoesterit, kuten -alempialkyyliesterit, esim. fluori-sulfonihappometyyliesteri tai mahdollisesti halogeeni-substituoitunut metaanisulfonihappo-alempialkyyliesterit, esim. tri-fluorimetaanisulfonihappometyyliesteri. Näitä käytetään ta-
 5 valliseseen tapaan inertin liuottimen, kuten mahdollisesti ha-logenoidun, kuten klooratun, alifaattisen, sykloalifaattisen tai aromaattisen hiilivedyn, esim. metyleenikloridin, eette-rin, kuten dioksaanin tai tetrahydrofuraanin tai seoksen läs-näollessa. Tällöin käytetään mieluummin sopivia kondensaatio-
 10 aineita, kuten alkalimetallikarbonaatteja tai -vetykarbonaat-teja, esim. natrium- tai kaliumkarbonaattia tai -vetykarbonaat-tia (tavallisesti yhdessä sulfaatin kanssa), tai orgaanisia emäksiä, kuten tavalliseen tapaan estyneitä trialempialkyyli-amiineja, esim. N,N-di-isopropyyli-N-etyyliamiinia (mieluum-
 15 min yhdessä halogeenisulfonihappo-alempialkyyliestereiden tai mahdollisesti halogeenisubstituoitujen metaanisulfonihap-poalempialkyyliestereiden kanssa), jolloin työskennellään jäädyttäen, huoneen lämpötilassa tai kuumentaen, esim. lämpö-tilassa, joka on noin -20°C - $+50^{\circ}\text{C}$, ja tarvittaessa suljetus-
 20 sa astiassa ja/tai inerttikaasu-, esim. typpi-atmosfäärissä.

Edelleen kaavan (I) mukaisen yhdisteen karboksyyli-ryhmän es-teröimiseen sopivia aineita ovat vastaavat trisubstituoitunut oksoniumsuolat (niin sanotut Meerwein-suolat) tai disubstitu-oidut karbenium- tai haloniumsuolat, joissa substituentit
 25 ovat esteröiviä tähteitä, esimerkiksi trialempialkyylioksoni-umsuolat, sekä dialempialkoksikarbenium- tai dialempialkyyli-haloniumsuolat, erityisesti vastaavat suolat kompleksisten, fluoria sisältävien happojen kanssa, kuten vastaavat tetra-fluoriboraatit, heksafluorifosfaatit, heksafluoriantimonaatit
 30 tai heksaklooriantimonaatit. Tällaisia reagensseja ovat esim. trimetyylioksonium- tai trietyylioksonium-heksafluoriantimo-naatti, -heksaklooriantimonaatti, -heksafluorifosfaatti tai -tetrafluoriboraatti, dimetoksikarbeniumheksafluorifosfaatti tai dimetyylibromoniumheksafluoriantimonaatti. Näitä esteröin-
 35 tiaineita käytetään mieluummin inertissä liuottimessa, kuten

- eetterissä tai halogenoidussa hiilivedyissä, esim. dietyyli-eetterissä, tetrahydrofuraanissa tai metyleenikloridissa tai näiden seoksessa, tarvittaessa emäksen, kuten orgaanisen emäksen, esim. mieluummin steerisesti estyneen trialempi-
- 5 alkyyliamiinin, esim. N,N-di-isopropyyli-N-etyyli-amiinin läsnäollessa, ja reaktio suoritetaan jäähdyttäen, huoneen lämpötilassa tai lievästi kuumentaen, esim. noin -20°C - $+50^{\circ}\text{C}$:ssa, tarvittaessa suljetussa astiassa ja/tai inerttikaasu-, esim. typpi-atmosfäärissä.
- 10 Vapaan karboksyylin esteröiminen toivotulla, vapaalla alkoholilla suoritetaan sopivan kondensaatioaineen läsnäollessa. Tavallisia kondensaatioaineita ovat esim. karbodi-imidit, esimerkiksi N,N'-dietyyli-, N,N'-dipropyyli-, N,N'-disykloheksyyli- tai N-etyyli-N'-3(-dimetyyliaminopropyyli-karbodi-imidi,
- 15 sopivat karbonyyliyhdisteet, esimerkiksi karbonyylidiimidatsoli tai 1,2-oksatsoliumyhdisteet, esim. 2-etyyli-5-fenyyli-1,2-oksatsolium-3'-sulfonaatti ja 2-tert.-butyyli-5-metyyli-iso-oksatsolium-perkloraatti tai sopiva asyyliaminyhdiste, esim. 2-etoksi-1-etoksi-karbonyyli-1,2-dihydrokino-
- 20 liini. Kondensaatioreaktio suoritetaan mieluummin vedettömässä reaktioväliaineessa, mieluummin liuottimen tai laimennusaineen, esim. metyleenikloridin, dimetyyliformamidin, asetonitriilin tai tetrahydrofuraanin läsnäollessa ja tarvittaessa jäähdyttäen tai kuumentaen ja/tai inerttikaasu-atmosfäärissä.
- 25 Kaavan (I) mukaisen yhdisteen amino-, hydroksi- tai merkaptoryhmän asyloimiseksi käsitellään kaavan (I) mukainen lähtöaine orgaanisen karboksyylihapon toivotun asyyli-tähteen liittäväällä asylointiaineella. Tällöin käytetään vastaavaa karboksyylihappoa tai sen reaktiokykyistä johdannaista, erityisesti anhydridiä,
- 30 mukaanlukien tällaisen hapon seka-anhydridin tai sisäisen anhydridin. Seka-anhydridejä ovat esim. anhydridit halogeenivetyhappojen kanssa, t.s. vastaavat happohalogenidit, erityisesti -kloridit, myös anhydridit syaanivetyhapon kanssa tai sitten anhydridit sopivien hiilihappopuolijohdannaisten, kuten

vastaavien -puoliestereiden kanssa (kuten esim. halogeeni-muurahaishappo-alempialkyylin, kuten kloori-muurahaishappo-etyyliesterin tai -isobutyliesterin kanssa muodostuneet sekaanhydrit) tai anhydritit mahdollisesti substituotujen, esim. halogeenin, kuten kloorin, sisältävien alempialkaanikar-boksylihapojen kanssa (kuten pivaliinihappokloridin tai trikloorietikkahappokloridin kanssa muodostuneet sekaanhydrit). Sisäisiä anhydridejä ovat esim. orgaanisten karboksylihapojen anhydritit t.s. keteenit, kuten keteeni tai dike-teeni, tai karbamiini- tai tiokarbamiinihapojen anhydritit, t.s. isosyanaatit tai isotiosyanaatit. Muita orgaanisten karboksylihapojen reaktiokykyisiä, asylointiaineina käyttökelpoisia johdannaisia ovat aktivoituneet esterit, kuten sopivasti substituoitu alempialkyyli-, esim. syaanimetyyliesteri tai mahdollisesti sopivasti substituoitu fenyyli-, esim. penta-kloorifenyyli- tai 4-nitrofenyyliesteri. Esteröinti voidaan suorittaa tarvittaessa sopivien kondensaatioaineiden läsnäollessa, käytettäessä vapaita karboksylihappoja, esim. karbodiimidihdisteiden, kuten disykloheksyylikarbodiimidin tai karbonyyliyhdisteiden, kuten diimidatsolylikarbonyylin läsnäollessa, ja käytettäessä reaktiokykyisiä happojohdannaisia, esim. emäksisten aineiden, kuten trialempialkyyliamiinien, esim. trietyyliamiinin tai heterosyklisten emästen, esim. pyridiinin läsnäollessa. Asylointireaktio voidaan suorittaa liuottimen tai liuotinseoksen läsnäollessa tai ilman liuotinta, jäähdyttäen, huoneen lämpötilassa tai kuumentuen, ja tarvittaessa suljetussa astiassa ja/tai inerttikaasu-, esim. typpi-atmosfäärissä. Sopivia liuottimia ovat esim. mahdollisesti substituoidut, erityisesti mahdollisesti klooratut, alifaattiset, sykloalifaattiset tai aromaattiset hiilivedyt, kuten bentseeni tai tolueni, jolloin sopivia esteröintireagensseja, kuten etikkahappoanhydridiä, voidaan käyttää myös laimennusaineena.

Menetelmä i) (alkylointi tai eetteröinti):

Kaavan (I) mukaisen yhdisteen vapaan hydroksi- tai merkapto-

- ryhmän eetteröimiseen sopivia aineita ovat esim. vastaavat diatsoyhdisteet, kuten mahdollisesti substituoidut diatsoalempialkaanit, esim. diatsometaanit, diatsoetaani, diatso-n-butaani tai difenyyliatso-metaani. Näitä reagensseja käytetään sopivan, inertin liuottimen, kuten alifaattisen, sykloalifaattisen tai aromaattisen hiilivedyn, kuten heksaanin, sykloheksaanin, bentseenin tai toluleenin, halogenoidun alifaattisen hiilivedyn, esim. metyleenikloridin tai eetterin, kuten dialempialkyylietterin, esim. dietyylietterin tai syklisen eetterin, esim. tetrahydrofuraanin tai dioksaanin tai liuotinseoksen läsnäollessa, ja riippuen aina diatsoreagensista reaktio suoritetaan jäähdyttäen, huoneen lämpötilassa tai lievästi kuumentaen, myös tarvittaessa suljetussa astiassa ja/tai inerttikaasu-, esim. typpi-atmosfäärissä.
15. Muita sopivia aineita ovat vastaavien alkoholien esterit, ensi sijassa vahvojen epäorgaanisten tai orgaanisten happojen, kuten mineraalihappojen, esim. halogeenivetyhappojen, kuten kloorivety-, bromibety- tai jodivetyhapon, myös rikkihapon, tai halogeenirikkihapon, esim. fluoririkkihapon tai vahvojen, orgaanisten sulfonihappojen, kuten mahdollisesti esim. halogeenilla, kuten fluorilla substituoitujen alempialkaanisulfonihappojen tai aromaattisten sulfonihappojen, kuten esim. mahdollisesti alempialkyyllillä, kuten metyyllillä, halogeenilla, kuten bromilla ja/tai nitrolla substituoitujen bentseenisulfonihappojen, esim. metaanisulfoni-, trifluorimetaanisulfoni- tai p-tolueenisulfonihapon esterit. Tällaisia estereitä ovat mm. alempialkyylihalogenidit, dialempialkyyli-sulfaattit, kuten dimetyylisulfaatti, myös fluorisulfonihappo-esterit, kuten -alempialkyyli-esterit, esim. fluorisulfonihappometyyli-esteri tai mahdollisesti halogeenisubstituoidut metaanisulfonihappoalempialkyyli-esterit, esim. trifluorimetaanisulfonihappometyyli-esteri. Näitä käytetään tavallisesti inertin liuottimen, kuten mahdollisesti halogenoidun, alifaattisen, sykloalifaattisen tai aromaattisen hiilivedyn, esim. metyleenikloridin, eetterin, kuten dioksaanin tai tetrahydrofuraanin tai näiden

seoksen läsnäollessa. Tällöin käytetään mieluummin sopivia kondensaatioaineita, kuten alkalimetallikarbonaatteja tai -vetykarbonaatteja, esim. natrium- tai kaliumkarbonaattia tai -vetykarbonaattia (tavallisesti yhdessä sulfaatin kanssa), tai
 5 orgaanisia emäksiä, kuten tavalliseen tapaan steerisesti estyneitä trialempialkyyliamiineja, esim. N,N-di-isopropyyli-N-etyyli-amiinia (mieluummin yhdessä halogeenisulfonihappo-alempialkyyliestereiden tai mahdollisesti halogeenisubstituoitujen metaanisulfonihappoalempialkyyliestereiden kanssa), jolloin
 10 työskennellään jäähdyttäen, huoneenlämpötilassa tai kuumentuen, esim. lämpötilassa, joka on noin -20°C - noin 50°C , ja, tarvittaessa, suljetussa astiassa ja/tai inerttikaasu-, esim. typpiatmosfäärissä.

Faasinsiirto-katalysaattorilla (katso esim. Dehmlow, Angewandte
 15 Chemie 86, 187 (1974)) voidaan edellä esitettyä eetteröinti-reaktiota huomattavasti kiihdyttää. Faasinsiirto-katalysaattoreina voidaan käyttää kvaternäärisiä fosfoniumsuoloja ja erityisesti kvaternäärisiä ammoniumsuoloja, kuten mahdollisesti substituoituja tetra-alkyyliammoniumhalogenideja, esim. tetra-
 20 butyyliammoniumkloridia, -bromidia tai -jodidia tai myös bent-syylietrietyyliammoniumkloridia katalyyttisissä määrissä tai aina ekvimolaarisissa määrissä. Organisine faaseina voidaan käyttää mitä tahansa veden kanssa sekoittumatonta liuotinta, esimerkiksi jotain mahdollisesti halogenoitua, kuten kloorat-
 25 tua, alempialifaattista, sykloalifaattista tai aromaattista hiilivetyä, kuten tri- tai tetrakloorietyyleeniä, tetrakloorietaania, hiilitetrakloridia, klooribentseeniä, tolueeniä tai ksyleeniä. Kondensaatioaineiksi sopivia alkalimetallikarbonaatteja tai -vetykarbonaatteja, esim. kalium- tai natrium-
 30 karbonaattia tai -vetykarbonaattia, alkalimetallifostaatteja, esim. kaliumfosfaattia ja alkalimetallihydroksideja, esim. natriumhydroksidia voidaan lisätä titrimetrisesti reaktioseoksen emäsherkkiin yhdisteisiin siten, että pH-arvo eetteröinnin aikana pysyy välillä noin 7 - 8,5.

Muita aineita ovat vastaavat, trisubstituoidut oksoniumsuolat (niin sanotut Meerwein-suolat) tai disubstituoidut karbenium- tai haloniumsuolat, joissa substituentit ovat esteröiviä ryhmiä, esimerkiksi trialempialkyylioksoniumsuolat, sekä dialempialkoksikarbenium- tai dialempialkyylihaloniumsuolat, erityisesti vastaavat suolat kompleksisten, fluoria sisältävien happojen kanssa, kuten vastaavat tetrafluoriboraatit, heksafluoriboraatit, heksafluoriantimonaatit tai heksaklooriantimonaatit. Tällaisia reagensseja ovat esim. trimetyylioksonium- tai trietyylioksonium-heksafluoriantimonaatti, -heksaklooriantimonaatti, -heksafluorifosfaatti tai -tetrafluoriboraatti, dimetoksikarbeniumheksafluorifosfaatti tai dimetyyllibromonium-heksafluoriantimonaatti. Näitä eetteröintiaineita käytetään mieluummin inertissä liuottimessa, kuten eetterissä tai halogenoidussa hiilivedyissä, esim. dietyylieetterissä, tetrahydrofuraanissa tai metyleenikloridissa tai näiden seoksessa, tarvittaessa emäksen, kuten orgaanisen emäksen, esim. mieluummin steerisestiestyneen trialempialkyyliamiinin, esim. N,N-di-isopropyyli-N-etyyliamiinin läsnäollessa, ja reaktio suoritetaan jäähdyttämällä huoneen lämpötilassa tai lievästi kuumentaen, esim. noin -20°C - 50°C :ssa, tarvittaessa suljetussa astiassa ja/tai inerttikaasu-, esim. typpi-atmosfäärissä.

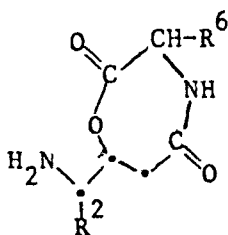
Muita sopivia eetteröintiaineita ovat vielä vastaavat 1-substituoidut 3-aryylitriatseeniyhdisteet, joissa substituentti tarkoittaa eetteröivää ryhmää ja aryyli mieluummin mahdollisesti substituotua fenyyliä, esim. alempialkyylifenyyliä, kuten 4-metyyllifenyyliä. Tällaisia triatseeniyhdisteitä ovat 3-aryyli-1-alempialkyyliatriatseenit, esim. 3-(4-metyyllifenyyli)-1-metyyllitriatseeni, 3-(4-metyyllifenyyli)-1-etyyllitriatseeni tai 3-(4-metyyllifenyyli)-1-isopropyyliatriatseeni. Näitä reagensseja käytetään tavallisesti inerttien liuottimien, kuten mahdollisesti halogenoitujen hiilivetyjen tai eettereiden, esim. bentseenin tai liuotinseosten läsnäollessa, ja reaktio suoritetaan jäähdyttämällä huoneen lämpötilassa ja mieluummin

korotetussa lämpötilassa, esim. noin 20°C - 100°C :ssa, tarvittaessa, suljetussa astiassa ja/tai inerttikaasu-, esim. typpi-atmosfäärissä.

Menetelmä j) (laktonin avaaminen):

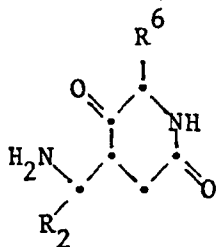
- 5 Kaavan (IX) mukaisen laktonin renkaan avaaminen suoritetaan lieväällä happamalla tai alkalisella käsittelyllä, esim. alkalimetallisyanidilla, kuten natriumsyanidilla tai alkalimetallivetysulfiitilla, esim. natriumvetysulfiitilla.

- 10 Kaavan (IX) mukaiset lähtöaineet voidaan saada sinänsä tunnetuilla menetelmillä, esim. liittämällä vastaava osayhdiste, esim. kaavan (XIV) mukainen



(XIV)

- peptidiketjuun menetelmässä a) esitetyllä tavalla. Kaavan (XIV) mukainen yhdiste voidaan taas saada esim. syklisoimalla vastaava hydroksikarboksyylihappo, mieluummin voimakkaasti laimennetussa liuoksessa, tai lähtemällä vastaavasta, kaavan (XV) mukaisesta ketonista



(XV)

- jossa aminoryhmä ja mahdollisesti muut funktionaaliset ryhmät ovat suojatussa muodossa, hapettamalla peroksihapolla Baeyer-Villiger'n mukaan, erityisesti hapettamalla Caro'n hapolla, (peroksomonorikkihappo H_2SO_5), Ruzicka'n mukaan.
- 20

Menetelmä k) (suojaryhmien poislohkaisu):

Mahdollisesti esiintyvien funktionaalisten ryhmien suojaryh-
mät ovat esim. edellä mainittuja suojaryhmiä.

- Nämä esim. suojatut karboksyyli-, amino-, hydroksi- ja/tai
5 merkaptoryhmät vapautetaan mahdollisesti vaiheittain tai samanaikaisesti sinänsä tunnetulla tavalla solvolyysillä (myös entsyymaattisesti), erityisesti hydrolyysillä, alkoholyysillä tai asidolyysillä tai pelkistäen, erityisesti hyd-
rauksella tai kemiallisilla pelkistyksillä.
- 10 Niinpä voidaan tert.-alempialkoksikarbonyyli tai 2-asemassa orgaanisella silyyliryhmällä tai 1-asemassa alempialkoksilla tai alempialkyylitiolla substituoitu alempialkoksikarbonyyli tai mahdollisesti substituoitu difenyyli-
15 metoksikarbonyyli muuttaa vapaaksi karboksyyliksi esim. käsittelemällä sopi-
valla hapolla, kuten muurahaishapolla tai trifluorietikkahapolla, mahdollisesti samalla lisätään nukleofiilista yhdis-
tettä, kuten fenolia tai anisolia. Mahdollisesti substituoitu
20 bentsyylioksikarbonyyli voidaan vapauttaa esim. hydraamalla t.s. käsittelemällä vedyllä metallisen hydrauskatalysointori-
nin, kuten palladiumkatalysointorin läsnäollessa. Edelleen
voidaan sopivasti substituoitu bentsyylioksikarbonyyli, ku-
25 ten 4-nitrobentsyylioksikarbonyyli muuttaa vapaaksi karbok-
syyliksi myös kemiallisella pelkistyksellä, esim. käsittele-
mällä alkalimetalli-, esim. natriumditioniitilla tai käsitte-
25 lemällä pelkistävällä metallilla, esim. sinkillä tai metalli-
suolalla kuten kromi-II-suolalla, esim. kromi-II-kloridilla tavallisesti vetyäluovuttavan aineen läsnäollessa, joka yh-
dessä metallin kanssa aikaansaa syntyvän vedyn, tällaisia
ovat happo, ensi sijassa sopiva karboksyylihappo, kuten mah-
30 dollisesti, esim. hydroksilla substituoitu alempialkaanikar-
boksyylihappo, esim. etikkahappo, muurahaishappo, glykoli-
happo, difenyyli-
glykohappo, maitohappo, mantelihappo, 4-
kloorimantelihappo tai viinihappo tai alkoholi tai tioli,

jolloin mieluummin lisätään vettä. Käsittelemällä pelkistä-
vällä metallilla tai metallisuolalla, kuten edellä esitet-
tiin, voidaan myös 2-halogeeni-alempialkoksikarbonyyli (mah-
dollisesti sen jälkeen kun 2-bromi-alempialkoksikarbonyyli-
5 ryhmä on muutettu vastaavaksi 2-jodi-alempialkoksikarbonyy-
liryhmäksi) tai aroyylimetoksikarbonyyli muuttaa vapaaksi
karboksyyliksi, jolloin aroyylimetoksikarbonyyli voidaan myös
lohkaista pois käsittelemällä nukleofiilisella, mieluummin
suolaa muodostavalla reagenssilla, kuten natriumtiofenolaa-
10 tilla tai natriumjodidilla. Substituoitu 2-silyylietoksikar-
bonyyli voidaan myös muuttaa vapaaksi karboksyyliksi käsitte-
lemällä fluorivetyhapon fluoridi-anioneja vapauttavalla suo-
lalla, kuten alkalimetallifluoridilla, esim. natrium- tai ka-
liumfluoridilla makrosyklisen polyeetterin ("kruunueetterin")
15 läsnäollessa tai käsittelemällä orgaanisen, kvaternäärisen
emäksen fluoridilla, kuten tetra-alempialkyyliammoniumfluori-
dilla tai trialempialkyyli-aryyliammoniumfluoridilla, esim.
tetraetyyliammoniumfluoridilla tai tetrabutyyliammoniumfluo-
ridilla aproottisen, polaarisen liuottimen, kuten dimetyyli-
20 sulfoksidin tai N,N-dimetyyliasetamidin läsnäollessa. Orgaa-
nisella silyyliryhmällä, kuten trialempialkyylisilyylillä,
esim. trimetyylisilyylillä esteröity karboksyyli voidaan va-
pauttaa tavalliseen tapaan solvolyyttisesti, esim. käsitte-
lemällä vedellä, alkoholilla tai hapolla tai näiden lisäksi
25 käsittelemällä fluoridilla, kuten edellä on esitetty. Este-
röity karboksyyli-ryhmä voidaan lohkaista pois myös entsymaat-
tisesti esim. esteröity arginiini tai lyysiini, kuten lyysiini-
metyyliesteri trypsiinillä.

Suojattu aminoryhmä vapautetaan sinänsä tunnetulla tavalla
30 ja riippuen suojaryhmistä eri tavoin, mieluummin solvolyy-
sillä tai pelkistäen. 2-halogeeniaalempialkoksikarbonyyliamino
(mahdollisesti sen jälkeen kun 2-bromi-alempialkoksikarbonyy-
liaminoryhmä on muutettu 2-jodi-alempialkoksikarbonyyliamino-
ryhmäksi), aroyylimetoksikarbonyyliamino tai 4-nitrobentsyy-
35 lioksikarbonyyliamino voidaan lohkaista pois esim. käsittele-

mällä sopivalla, kemiallisella pelkistysaineella, kuten sinkillä sopivan karboksyylihapon, kuten vesipitoisen etikkahapon läsnäollessa. Aroyylimetoksikarbonyyliamino voidaan lohkaista pois myös käsittelemällä nukleofiillisella, mieluim-

5 min suolaa muodostavalla reagenssilla, kuten natriumtiofeno-

laatilla, ja 4-nitro-bentsyylioksikarbonyyliamino myös kä-

sittelemällä alkalimetalli-. esim. natriumditioniitilla. Mahdollisesti substituoitu difenyyylimetoksikarbonyyliamino, tert.-alempialkoksikarbonyyliamino tai 2-trisubstituoitu si-

10 lyylietoksikarbonyyliamino voidaan vapauttaa käsittelemällä sopivalla hapolla, esim. muurahais- tai trifluorietikkahapol-

la, mahdollisesti substituoitu bentsyylioksikarbonyyliamino voidaan vapauttaa esim. hydraamalla, t.s. käsittelemällä ve-

dyllä sopivan hydrauskatalysaattorin, kuten palladiumkata-

15 lysaattorin läsnäollessa, mahdollisesti substituoitu triaryy-

limetyyliamino tai formyyliaamino voidaan vapauttaa esim. kä-

sittelemällä hapolla, kuten mineraalihakolla, esim. kloori-

vetyhapolla tai orgaanisella hapolla, esim. muurahais-, etikka-

20 tai trifluorietikkahapolla, mahdollisesti veden läsnäol-

lessa, ja orgaanisella silyyliryhmällä suojattu aminoryhmä voidaan vapauttaa esim. hydrolyysillä tai alkoholyyysillä. 2-

halogeeniasetyylillä, esim. 2-klooriasetyylillä suojattu ami-

noryhmä voidaan vapauttaa käsittelemällä tiokarbamidilla emäk-

25 sen läsnäollessa tai käsittelemällä tiokarbamidin tiolaatti-

suolalla, kuten alkalimetallitiolaatilla ja suorittamalla lo-

puksi muodostuneen kondensaatiotuotteen solvolyyysi, kuten al-

koholyysi tai hydrolyysi. 2-substituoidulla silyylietoksikar-

bonyylillä suojattu aminoryhmä voidaan muuttaa vapaaksi amino-

ryhmäksi myös käsittelemällä fluorivetyhapon fluoridi-anione-

30 ja luovuttavalla suolalla, kuten edellä vastaavalla tavalla suojatun karboksyyli-

ryhmän vapauttamisen yhteydessä on esi-

tetty. Lisäksi voidaan suoraan heteroatomiin, kuten typpiato-

miin sitoutunut silyyli, kuten trimetyylisilyyli, lohkaista pois fluoridilla.

Atsidoryhmän muodossa suojattu amino muutetaan vapaaksi aminoksi esim. pelkistäen, esimerkiksi hydraamalla katalyyttisesti vedyllä hydrauskatalysoittorin, kuten platinaoksidin, palladiumin tai Raney-nikkelin läsnäollessa tai myös käsittelemällä sinkillä hapon, kuten etikkahapon läsnäollessa.

5 Katalyyttinen hydraus suoritetaan mieluummin inertissä liuottimessa, kuten halogenoidussa hiilivedyissä, esim. metyleenikloridissa tai myös vedessä tai veden ja orgaanisen liuottimen, kuten alkoholin tai dioksaanin seoksessa, noin 20°C -

10 25°C :ssa, tai myös jäähdyttäen tai kuumentaen.

Sopivalla asyyli-ryhmällä, orgaanisella silyyli-ryhmällä tai mahdollisesti substituoidulla 1-fenyylialempialkyyli-ryhmällä suojattu hydroksi- tai merkaptoryhmä vapautetaan analogisesti vastaavalla tavalla suojatun aminoryhmän kanssa. 2,2-diklooriasetyyli-ryhmällä suojattu hydroksi- tai merkaptoryhmä vapautetaan

15 esim. emäksisellä hydrolyysillä, tert.-alempialkyyli-ryhmällä tai 2-oksa- tai 2-tia-alifaattisella tai -sykloalifaattisella hiilivetytähdeellä eetteröity hydroksi- tai merkaptoryhmä vapautetaan asidolyysillä, esim. käsittelemällä mineraalihan-

20 polla tai vahvalla karboksyylihapolla, esim. trifluorietikkahapolla. Kaksi hydroksiryhmää, jotka yhdessä on suojattu mieluummin substituoidulla metyleeniryhmällä, kuten alempialkylideenillä, esim. isopropylideenillä, sykloalkylideenillä, esim. sykloheksylideenillä tai bentsylideenillä, voidaan va-

25 pauttaa happamalla solvolyyysillä, erityisesti mineraalihapon tai vahvan, orgaanisen hapon läsnäollessa.

Kun edellä esitettyssä ei muuten ole mainittu, suoritetaan menetelmät a) - k) inertissä liuottimessa tai liuotinseoksessa, lämpötilassa, joka on noin -20°C - $+120^{\circ}\text{C}$, ja tarvittaessa,

30 suojakaasu- tai kaasufaasissa.

Edellä esitettyjen menetelmien a) - k) suorittamiseksi tarvittavat lähtöaineet ovat tunnettuja tai niitä voidaan valmistaa sinänsä tunnetulla tavalla, esim. tässä selityksessä esitetyn mukaisesti tai analogisesti.

Kaavan (I) mukaisten yhdisteiden, jotka sisältävät suolaa muodostavia ryhmiä, suolat valmistetaan sinänsä tunnetulla tavalla. Niinpä voidaan kaavan (I) mukaisten, happamia ryhmiä sisältävien yhdisteiden suolat saada esim. käsittelemällä metalliyhdisteillä, kuten sopivien orgaanisten karboksyylihapponen alkalimetallisuoloilla, esim. α -etyylikapronihapon natriumsuolalla, tai käsittelemällä epäorgaanisilla alkali- tai maa-alkalimetallisuoloilla, esim. natriumvetykarbonaatilla tai ammoniakilla tai sopivalla, orgaanisella aminilla, jolloin käytetään suolaa muodostavaa ainetta mieluiten stökiometrisissä määrissä tai ainoastaan sen pientä ylimäärää. Kaavan (I) mukaisten yhdisteiden, jotka sisältävät ainakin yhden emäksisen ryhmän, esim. vapaan aminoryhmän, happoadditiosuolat saadaan tavalliseen tapaan, esim. käsittelemällä hapolla tai sopivalla anioninvaihtoreagenssilla. Kaavan (I) mukaisten yhdisteiden, jotka sisältävät esim. vapaan karboksyyli-ryhmän ja vapaan aminoryhmän, sisäiset suolat voidaan muodostaa esim. neutraloimalla suolat, kuten happoadditiosuolat isoelektriseen pisteeseen, esim. heikoilla emäksillä, tai käsittelemällä nestemäisillä ioninvaihtajilla.

Suolat voidaan tavalliseen tapaan muuttaa vapaiksi yhdisteiksi, metalli- ja ammoniumsuolat esim. käsittelemällä sopivilla hapoilla, ja happoadditiosuolat esim. käsittelemällä sopivalla emäksisellä aineella.

25 Stereoisomeeriseokset, erityisesti diastereomeeriseokset voidaan erottaa yksittäisiin isomeereihin sinänsä tunnetulla tavalla, esim. jakokiteyttämällä, kromatografisesti jne.

Rasemaatit voidaan lohkaista sinänsä tunnetulla tavalla, sen jälkeen kun optiset antipodit on muutettu diastereomeereiksi, 30 esimerkiksi saattamalla reagoimaan optisesti aktiivisten happonen tai emästen kanssa.

Yksittäisessä asymmetriakeskuksessa voidaan konfiguraatiota muuttaa halutulla tavalla. Esimerkiksi voidaan konfiguraatio hydroksyyliiryhmän sisältävässä C-atomissa epimeroida toisen asteen nukleofiilisella substituutiolla muuttamalla
5 hydroksyyliiryhmä hyväksi poistoryhmäksi.

Keksintö koskee myös niitä menetelmän suoritusmuotoja, joissa lähdetään missä tahansa vaiheessa välituotteena saadusta yhdisteestä ja suoritetaan puuttuvat menetelmävaiheet tai menetelmä keskeytetään missä tahansa vaiheessa tai keksinnön mukaisella menetelmällä saatava yhdiste muodostetaan menetelmä-olosuhteissa ja työskentelyä jatketaan in situ.
10

Uudet lähtöaineet ja/tai välituotteet sekä menetelmät niiden valmistamiseksi ovat myös tämän keksinnön kohteena. Mieluimmin valitaan sellaiset lähtöaineet ja reaktio-olosuhteet,
15 että saadaan tässä selityksessä erityisen edullisiksi mainittuja yhdisteitä.

Tämän keksinnön mukaisia farmakologisesti käyttökelpoisia yhdisteitä voidaan käyttää esim. valmistettaessa farmaseuttisia valmisteita, jotka sisältävät tehokkaan määrän aktiiv-
20 ainetta yhdessä tai seoksessa huomattavan määrän kanssa epäorgaanisia tai orgaanisia, kiinteitä tai nestemäisiä, farmaseuttisesti käyttökelpoisia kantaja-aineita.

Keksinnön mukaisina farmaseuttisina valmisteina voidaan käyttää sellaisia, jotka ovat sopivia enteraaliseen, kuten nasaaliseen, rektaaliseen tai oraaliseen annostukseen, sekä mie-
25 luimmin sellaisia, jotka ovat sopivia parenteraaliseen, kuten lihaksensisäiseen tai suonensisäiseen annostukseen lämminverisille, ja jotka valmisteet sisältävät tehokkaan annoksen pelkkää farmakologista aktiiviyainetta tai tehokkaan annoksen farmakologista aktiiviyainetta yhdessä huomattavan mää-
30 rän kanssa farmaseuttisesti käyttökelpoista kantaja-ainetta.

Aktiiviaineen annostus riippuu lämminveri-lajista, kehon painosta, iästä ja yksilöllisestä olotilasta, sekä hoidettavan sairaudesta sekä annostustavasta.

5 Lämminverisille, esim. ihmisille, joiden paino on noin 70 kg, annettava annos on noin 3 mg - noin 3 g, mieluummin noin 10 mg - noin 1 g, esim. noin 300 mg lämminveristä ja päivää kohti, mieluummin jaettuna 1-3 yksittäisannokseen, jotka voivat olla yhtä suuret. Tavallisesti saavat lapset puolet täysikasvuisen annoksesta.

10 Uudet farmaseuttiset valmisteet sisältävät noin 1 % - noin 95 %, mieluummin noin 20 % - noin 90 % aktiiviatonetta. Keksinnön mukaiset farmaseuttiset valmisteet voivat olla yksikköannosmuodossa, kuten ampulleina, pienpulloina, suppositorioina, rakeina, tabletteina tai kapsseleina.

15 Tämän keksinnön mukaiset farmaseuttiset valmisteet valmistetaan sinänsä tunnetulla tavalla, esim. tavanomaisilla liuottamis-, lyofilisointi-, sekoitus-, granulointi- tai rakeistamismenetelmillä.

Mieluummin käytetään aktiiviaineen liuoksia, tämän lisäksi
 20 myös suspensioita, ja aivan erityisesti isotonisia, vesipitoisia liuoksia tai suspensioita, jolloin nämä voidaan valmistaa ennen käyttöä esim. lyofilisoiduista valmisteista, jotka sisältävät pelkkää aktiiviatonetta tai aktiiviatonetta yhdessä kantaja-aineen, esim. manniitin kanssa. Farmaseuttiset valmisteet voivat olla steriloituja ja/tai ne voivat sisäl-
 25 sältää apuaineita, esim. säilöntä-, stabilointi-, kostutus- ja/tai emulgointiaineita, liukoisuutta edistäviä aineita, suoloja osmoottisen paineen säätämiseksi ja/tai puskureita ja ne valmistetaan sinänsä tunnetulla tavalla esim. tavanomaisilla liuottamis- tai lyofilisointimenetelmillä. Mainitut
 30 liuokset tai suspensiot voivat sisältää viskositeettia kohot-

tavia aineita, kuten natrium-karboksimetyyliselluloosaa, karboksimetyyliselluloosaa, dekstraania, polyvinyylipyrrolidonia tai liivatetta.

- 5 Öljysuspensiot sisältävät öljymäisinä komponentteina injektioon sopivia synteettisiä tai puolisynteettisiä kasviöljyjä. Tällaisina voidaan mainita erityisesti nestemäiset rasvahappoesterit, jotka sisältävät happokomponentteina pitkäketjuisen, 8-22, erityisesti 12-22 hiiliatomia sisältävän rasvahapon, kuten lauriinihapon, tridekyylihapon, myristiinihapon, pentadekyylihapon, palmitiinihapon, margariinihapon, 10 steariinihapon, arakiinihapon, behenahapon tai vastaavia tyydyttämättömiä happoja, kuten esim. öljyhapon, elaidiinihapon, erukahapon, brasidiinihapon tai linolihapon. Alkoholi- 15 komponentti sisältää korkeintaan 6 hiiliatomia ja on yksitai useampiarvoinen, esim. yksi-, kaksi- tai kolmearvoinen alkoholi, esim. metanoli, etanoli, propanoli, butanoli tai pentanoli tai näiden isomeeri, ennen muuta kuitenkin glykoli tai glyseriini. Rasvahappoestereinä voidaan täten mainita esimerkiksi: etyylioleaatti, isopropyylimyristaatti, isopropyylipalmitaatti, "Labrafil M 2735" (polyoksietyleeniglyse- 20 riinitrioleaatti; valmistaja: Gattefossé, Pariisi), "Miglyol 812" (tyydytettyjen rasvahappojen, joiden ketjun pituus $C_8 - C_{12}$, triglyseridi; valmistaja: Chemische Werke Witten/Ruhr, Saksa), mutta erityisesti kuitenkin kasviöljyt, kuten puu- 25 öljy, manteliöljy, oliiviöljy, risiiniöljy, seesamiöljy, soijapapuöljy, ennen muuta maapähkinäöljy.

Injektiovalmisteiden valmistus tapahtuu tavalliseen tapaan antimikrobisissa olosuhteissa, kuten myös ampullien tai pienpullojen täyttö sekä säiliön sulkeminen.

- 30 Farmaseuttiset valmisteet oraaliseen käyttöön voidaan saada siten, että aktiivaine yhdistetään kiinteisiin kantaja-aineisiin, saatu seos mahdollisesti granuloidaan ja seos tai granulaaatti, haluttaessa tai tarvittaessa, sopivien apuaineiden

lisäyksen jälkeen, valmistetaan tableteiksi tai raeytimiksi. Tällöin voidaan lisätä myös keinotekoisia kantajia, jotka voivat jakaa aktiiviaiaineen annoksittain tai hajottaa aktiiviaiaineen.

- 5 Sopivia kantaja-aineita ovat erityisesti täyteaineet, kuten sokerit, esim. laktoosi, sakkaroosi, manniitti tai sorbiitti, selluloosavalmisteet ja/tai kalsiumfosfaatit, esim. trikalsiumfosfaatti tai kalsiumvetyfosfaatti, myös sideaineet, kuten tärkkelysliisteri, jossa käytetään esim. maissi-, veh-
- 10 nä-, riisi- tai perunatärkkelystä, liivate, tragantti, metyyli-
- 15 selluloosa, hydroksipropyli-metyyliselluloosa, natriumkarboksime-
- 20 tyyliselluloosa ja/tai polyvinyylipyrrolidoni ja/tai, haluttaessa, hajotusaineet, kuten edellä mainitut tärkkelyk-
- 25 set, myös karboksimeyylitärkkelys, ristiinkytetty polyvi-
- 30 nyylipyrrolidoni, agar, algiinihappo tai sen suola, kuten natriumalginaatti. Apuaineita ovat ensi sijassa juoksevuutta säätelevät aineet ja voiteluaineet, esim. piihappo, talkki, steariinihappo tai sen suolat, kuten magnesium- tai kalsium-
- 35 stearaatti ja/tai polyetyleeniglykoli. Raeytimet varustetaan sopivilla, mahdollisesti mahanesteitä kestäväillä päällysteil-
- 40 lä, jolloin käytetään mm. konsentroituja sokeriliuoksia, jotka sisältävät mahdollisesti arabikumia, talkkia, polyvinyyli-
- 45 pyrrolidonia, polyetyleeniglykolia ja/tai titaanidioksidia, lakkaliuoksia sopivissa, orgaanisissa liuottimissa tai liu-
- 50 otinseoksissa, tai mahanestettä kestävien päällysteiden valmistamiseksi käytetään sopivien selluloosavalmisteiden, kuten asetyyliselluloosaftalaatin tai hydroksipropyylimetyylisellu-
- 55 loosaftalaatin liuoksia. Tabletteihin tai raepäällysteisiin voidaan lisätä väriaineita tai pigmenttejä, esim. erilaisten
- 60 aktiiviaiaineannosten indentifioimiseksi tai tunnistamiseksi.

Seuraavat esimerkit kuvaavat keksintöä. Lämpötilat on annettu Celsius-asteina.

R_f -arvot, ellei toisnmainita, on saatu piihappogeeliohutkerroslevyillä seuraavissa liuotinsysteemeissä:

- A: n-BuOH-AcOH-H₂O (67:10:23)
 B: etyyliasetaatti-pyridiini-AcOH-H₂O (62:21:6:11)
 5 C: n-BuOH-pyridiini-AcOH-H₂O (38:24:8:30)
 D: pyridiini-n-BuOH-n-amyylialkoholi-metyylietyyliketoni-AcOH-muurahaishappo-H₂O (25:20:15:10:3:3:25)
 E: CHCl₃-MeOH-H₂O-AcOH (70:40:10:0,5)
 F: CHCl₃-MeOH-H₂O-AcOH (90:10:1:0,5)
 10 G: CHCl₃-MeOH-H₂O-AcOH (75:27:5:0,5)
 H: etyyliasetaatti-AcOH-H₂O-MeOH (67:10:23:12)
 I: CHCl₃-MeOH-AcOH-H₂O (80:20:3:3)
 K: n-BuOH-pyridiini-muurahaishappo-H₂O (42:24:4:20)
 L: CHCl₃-MeOH-AcOH-H₂O (70:30:5:5)
 15 M: n-butanoli-pyridiini-AcOH-H₂O (42:24:4:30)
 N: n-butanoli-pyridiini-muurahaishappo-H₂O (44:24:2:20)
 O: CHCl₃-MeOH-H₂O-AcOH (55:47:13:0,5)

Esimerkiksi seuraavassa " R_f (A)" tarkoittaa, että R_f -arvo on saatu systeemissä A. Liuottimien paljoussuhteet toisiinsa verrattuna on annettu tilavuussuhteissa.

Lyhennykset:

- | | | |
|----|--------------|--|
| | Ac | asetyyli |
| | Boc | tert.-butyylioksidikarbonyyli |
| | Bu | butyyli |
| 25 | DCCI | disykloheksyyli-karbodi-imidi |
| | DCH | disykloheksyyli-karbamidi |
| | DMF | dimetyyliformamidi |
| | Et | etyyli |
| | HOBt | 1-hydroksi-bentsotriatsoli |
| 30 | HONB | N-hydroksi-5-norborneeni-2,3-dikarboksyylimididi |
| | H-Sta(Me)-OH | 0-metyyli-statiini = (4S)-amino-(3S)-metoksi-6-metyyli-heptaanikarboksyylimididi |

H-Sta(Ac)-OH	0-asetyyli-statiini = (3S)-asetoksi-(4S)- amino-6-metyyli-heptaanikarboksylihappo
Lac	-O-CH(CH ₃)-CO- (maitohapon H-Lac-OH bivalenttinen tähde), ellei toisin mainita L-kon- figuraatio
Me	metyyli
sul.p.	sulamispiste
Su	sukkinimidyyli
TFA	trifluorietikkahappo
10 vol	tilavuus (osat)
Z	bentsyylioksidikarbonyyli
Ø	läpimitta

Esimerkki 1:

- 540 mg H-Pro-His-Pro-Phe-His-Sta-Val-Tyr-Lys-OMe x 4 TFA
 15 liuotetaan 9 ml:aan vettä (pH = 1,85) ja pH-arvo säädetään
 0,3 N NH₃:lla arvoon 5,0. Lisätään 55 µl 0,5 % trypsiinin
 vesiliuosta ja hämmennetään huoneen lämpötilassa, jolloin pH
 pidetään arvossa 5,0, pH-staatin avulla lisäämällä 0,3 N NH₃:a.
 Kun emäslisäys on päättynyt (noin 1 tunti), lisätään 0,5 ml
 20 jäädetikkaa, kuumennetaan 2 minuutin kuluessa 95^o:een ja lyofi-
 lisoidaan. Asetaatiksi muuttamista varten tuote liuotetaan
 0,05 N AcOH:iin ja suodatetaan hitaasti pylvään läpi (Ø = 1
 cm, pituus = 12 cm), joka sisältää heikosti emäksisen ionin-
 vaihtajan (esim. Merck Nr.II) asetaattimuodossa, eluaatti
 25 haihdutetaan ja lyofilisoidaan uudestaan. Saadaan H-Pro-His-
 Pro-Phe-His-Sta-Val-Tyr-Lys-OH x AcOH amorfisena, hyvin vesi-
 liukoisena jauheena; R_f (K) = 0,20.

Lähtöaine H-Pro-His-Pro-Phe-His-Sta-Val-Tyr-Lys-OMe x 4 TFA
 saadaan seuraavalla tavalla:

- 30 Vaihe 1.1: 14,5 g Z-Lys(Boc)-OMe:a (A.Costopanagiotis
 et al., J.Org.Chem. 33, 1261 (1968)) liuotetaan 145 ml:aan
 95 % MeOH ja lisätään 1,45 g Pd-hiiltä (10 % Pd), jonka jäl-
 keen hydrataan CO₂-absorptiossa, kunnes liuos on kyllästetty.

Katalysaattori suodatetaan pois, suodos haihdutetaan öljyksi, lisätään 30 ml DMF:a ja haihdutetaan uudestaan. Tämä liuos, joka sisältää H-Lys(Boc)-OMe:a, käytetään suoraan seuraavassa reaktiossa.

- 5 Vaihe 1.2: 13,8 g Z-Val-Tyr-OH:a (R. Schwyzer et al.,
 Helv. Chim. acta 41, 1273 (1958)) ja 5,1 g HOBt x H₂O liuo-
 tetaan 100 ml:aan DMF:a ja tähän lisätään edellä saatu H-
 Lys-(Boc)-OMe-liuos pienessä määrässä DMF:ää. Jäähdytetään
 0° :een, lisätään 7,6 g DCCI:a ja hämmennetään 6 tuntia 0°:
 10 ssa ja 10 tuntia huoneen lämpötilassa. Erottunut DCH suoda-
 tetaan pois ja suodos haihdutetaan kuiviin. Puhdistetaan
 hiertämällä di-isopropyylieetterin kanssa ja saostamalla uu-
 desta trifluorietanoli-etikkaesteri-petrolieetteri-seok-
 sesta, jolloin saadaan Z-Val-Tyr-Lys(Boc)-OMe; R_f (F) = 0,39.

- 15 Vaihe 1.3: 8 g Z-Val-Tyr-Lys (Boc)-OMe:a suspendoidaan
 160 ml:aan 95 % MeOH ja lisätään 800 mg Pd-hiiltä, jonka
 jälkeen hydrataan CO₂-absorptiolla, jolloin aine liukenee.
 Kun H₂-absorptio päättyy, seos suodatetaan ja suodos haihdu-
 tetaan kuiviin ja kiteytetään uudestaan MeOH-H₂O-seoksesta
 20 neulasina, jolloin saadaan H-Val-Tyr-Lys(Boc)-OMe; sul.p.
 165-166°; R_f (G) = 0,54; R_f (I) = 0,29.

- Vaihe 1.4: 1 g Z-Sta-OH (valmistus: katso vaihe 1.12),
 1,49 g H-Val-Tyr-Lys(Boc)-OMe ja 650 mg HOBt x H₂O liuote-
 taan 15 ml:aan DMF, 704 mg DCCI:a lisätään ja seosta hämmen-
 25 netään 20 tuntia huoneen lämpötilassa. Kiteytynyt DCH suoda-
 tetaan 0°:ssa, suodos haihdutetaan kunnes se on koostumuk-
 seltaan öljymäinen, lisätään 30 ml di-isopropyylieetteriä,
 jonka jälkeen kondensaatiotuote saostuu jauheena, ja 10 mi-
 nuutin hämmäntämisen jälkeen suodatetaan 0°:ssa. Puhdiste-
 30 taan Craig-jakaantumisella systeemissä heksaani-isopropano-
 li-0,1 N etikkahappo (10:10:3) suorittaen 900 vaihetta, K-
 arvo (jakaantumisvakio) = 0,29, saadaan Z-Sta-Val-Tyr-Lys
 (Boc)-OMe; R_f (F) = 0,31.

Vaihe 1.5: 850 mg Z-Sta-Val-Tyr-Lys(Boc)-OMe:a liuotetaan 17 ml:aan 95 % MeOH ja hydrataan 85 mg:lla Pd-hiiltä CO₂-absorptiolla, kunnes liuos on kyllästetty (noin 1 tunti). Katalysaattori suodatetaan pois, suodos haihdutetaan kuiviin ja kuivataan suurtyhjössä 40^o:ssa, saadaan H-Sta-Val-Tyr-Lys(Boc)-OMe amorfisena jauheena; R_f (E) = 0,58; R_f (H) = 0,50. Saatu tuote saatetaan vaiheessa 1.10 reagoimaan edelleen.

Vaihe 1.6: 7 g Z-Pro-Phe-His-OMe (H. DeWald et al., J. Med. Pharm.Chem. 7, 50 (1964)) suspendoidaan 200 ml:aan 95 % MeOH, 0,7 g Pd-hiiltä lisätään ja hydrataan CO₂-absorptiolla, kunnes liuos on kyllästetty. Katalysaattori suodatetaan pois, suodos haihdutetaan kuiviin, amorfinen, vaahtomainen jäännös jauhetaan ja kuivataan suurtyhjössä 40^o:ssa, saadaan H-Pro-Phe-His-OMe; R_f (E) = 0,21.

Vaihe 1.7: 1,25 g Boc-Pro-OSu:a (G.W. Anderson et al., J. Amer. Chem. Soc. 86, 1839 (1964)) ja 0,68 g H-His-OH:a suspendoidaan 4 ml:aan H₂O ja 2 ml:aan dioksaania. Voimakkaasti hämmentäen lisätään 2 N NaOH pH-staatin avulla niin, että pH-arvoksi tulee 9,0. 45 minuutin kuluttua pysähtyy NaOH-lisäys. Hämmennetään nyt kirkasta liuosta vielä 10 minuutin ajan, sen jälkeen pH säädetään 4 N HCl arvoon 5,0 ja seos haihdutetaan noin 5 ml:aan. Lisätään 20 ml vettä, jonka jälkeen konsentroidaan vielä kerran 5 ml:aan ja sen jälkeen puhdistetaan kromatografisesti absorboivan hartsin Diaion HP-20 sisältävässä pylväässä (Ø = 1,6 cm; pituus = 20 cm). Pääosa tästä tuotteesta eluoidaan 20 % isopropanolilla H₂O:ssa. Ohutkerroskontrollin jälkeen puhtaat fraktiot yhdistetään, jonka jälkeen haihdutetaan kuiviin ja lisätään vettä ja lyofilisoidaan, saadaan Boc-Pro-His-OH amorfisena jauheena; R_f (E) = 0,45; R_f (A) = 0,21.

Vaihe 1.8: 6,59 g Boc-Pro-His-OH:a, 7 g H-Pro-Phe-His-OMe:a (vaiheesta 1.6) ja 5,65 g HONB:a liuotetaan 35 ml:aan

DMF:ään. Jäähdytetään 0^o:een, jonka jälkeen lisätään 4,82 g DCCI:a ja hämmennetään 6 tuntia jäähauteessa ja yön yli huoneen lämpötilassa. Hämmennetään vielä 30 minuuttia 0^o:ssa, jonka jälkeen DCH suodatetaan pois, suodos haihdutetaan kuiviin ja lisäämällä 200 ml di-isopropyylieetteriä, saostuu tahmea massa ja se kuivataan. Liuotetaan sen jälkeen 188 ml:aan MeOH:a, 6 ml:aan jääetikkaa ja 6 ml:aan vettä, kuumennetaan 1 tunnin kuluessa 60^o:een, haihdutetaan 40 ml:aan ja saostetaan taas öljynä 400 ml:lla di-isopropyylieetteriä.

10 Seisotetaan 1 tunti 0^o:ssa, jonka jälkeen ylimääräinen liuos dekantoidaan pois ja jäännös kuivataan, saadaan Boc-Pro-His-Pro-Phe-His-OMe; R_f (A) = 0,17; R_f (E) = 0,51.

Vaihe 1.9: 17,2 g raakaa Boc-Pro-His-Pro-Phe-His-OMe:a liuotetaan 54 ml:aan MeOH, lisätään 650 ml 0,1 n NaOH, annetaan seistä 15 minuuttia 25^o:ssa, neutraloidaan lisäämällä 650 ml 0,1 N HCl ja haihdutetaan kuiviin. Jäännös liuotetaan 120 ml:aan vettä, pH säädetään nyt arvoon 6,8 ja tälle liuokselle suoritetaan systeemissä n-butanoli-H₂O Craig-jakaantumisen suorittaen 500 vaihetta; (K = 2,8). Ohutkerrosanalytiikan mukaan puhtaat fraktiot yhdistetään, haihdutetaan kuiviin, liuotetaan veteen ja lyofilisoidaan, jonka jälkeen saadaan Boc-Pro-His-Pro-Phe-His-OH amorfisessa muodossa;

20 R_f (A) = 0,15; R_f (C) = 0,42; R_f (E) = 0,25.

Vaihe 1.10: 840 mg Boc-Pro-His-Pro-Phe-His-OH:a, 600 mg H-Sta-Val-Tyr-Lys(Boc)-OMe:a (vaiheesta 1.5) ja 250 mg HONB:a liuotetaan 6 ml:aan DMF:a, jäähdytetään 0^o:een ja lisätään 290 mg DCCI:a. Hämmennetään 6 tuntia 0^o:ssa ja 24 tuntia 25^o:ssa, suodatetaan DCH pois ja suodos haihdutetaan kuiviin. Jäännös liuotetaan 18,8 ml:aan MeOH:a, 0,6 ml:aan jääetikkaa ja 0,6 ml:aan vettä, kuumennetaan 1 tunnissa 60^o:een, haihdutetaan noin 3 ml:aan ja peptidi saostetaan öljymäisenä tuotteena 20 ml:lla di-isopropyylieetteriä. Tuote puhdistetaan Craig-jakaantumisella systeemissä MeOH-0,1 N AcOH-etyleenikloridi-kloroformi (10:3:8:4) suorittaen 750

25

30

vaihetta; $K = 0,75$. Kromatografisesti puhtaat ainefraktiot eristetään haihduttamalla voimakkaasti ja lyofilisoimalla, saadaan Boc-Pro-His-Pro-Phe-His-Sta-Val-Tyr-Lys(Boc)-OMe amorfisena jauheena; R_f (B) = 0,38; R_f (I) = 0,46; R_f (C) = 0,64.

Vaihe 1.11: 470 mg Boc-Pro-His-Pro-Phe-His-Sta-Val-Tyr-Lys(Boc)-OMe:a liuotetaan 25^o:ssa 2,3 ml:aan 95 % TFA ja seoksen annetaan seistä 30 minuutin ajan. Muodostunut H-Pro-His-Pro-Phe-His-Sta-Val-Tyr-Lys-OMe saostetaan 0^o:ssa jauhomaisessa muodossa trifluoriasetaattina lisäämällä 20 ml di-isopropyylieetteriä, suodatetaan ja kuivataan; R_f (C) = 0,36; R_f (D) E 0,24.

Vaihe 1.12: Vaiheessa 1.4 käytetty Z-Sta-OH saadaan seuraavalla tavalla:

6,0 g (3S,4S)-N-Z-statiinietyyliesteriä liuotetaan 220 ml:aan dioksaania ja 220 ml:aan vettä. Samean liuoksen pH säädetään 0^o:ssa 1 N NaOH:lla arvoon 11,90. Seosta hämmennetään 30 minuuttia 0^o:ssa, jolloin pH nousee arvoon 12,14. Kirkkaan reaktioliuoksen pH säädetään 0^o:ssa 1 N HCl:llä arvoon 6,5, dioksaani haihdutetaan tyhjöissä ja jäännös ravistellaan eetteriin ja kyllästettyyn natriumvetykarbonaattiliuokseen. Vesifaasin pH säädetään 10 % sitruunahapolla arvoon 2,5 ja se uutetaan eetterillä. Orgaaninen faasi pestään suolaliuoksella ja kuivataan. Kiteyttämällä jäännös eetteri/petrolietteristä (1:1) saadaan (3S,4S)-N-Z-statiini (Z-Sta-OH, (4S)-bentsyylioksikarbonyyliamino-(3S)-hydroksi-metyyli-heptaanikarboksyylihappo, valkeita kiteitä; sul.p. 116-117^o, $(\alpha)_D^{20} = -33^{\circ}$ ($\text{CH}_3=\text{H}$, $c=1,23$)).

Vastaavalla tavalla lähtemällä (3R,4S)-N-Z-statiinietyyli-esteristä saadaan 3R,4S,N-Z-statiini (valkeita kiteitä, sul.p. 135-136^o, $(\alpha)_D^{20} = -21^{\circ}$ (CH_3OH , $c = 1,13$)).

Vaihe 1.13: Vaiheessa 1.12 käytetty lähtöaine saadaan seuraavalla tavalla:

Liuokseen, jossa on 33 ml (0,233 moolia) di-isopropyyliaminiä 75 ml:ssa tetrahydrofuraania, lisätään tipoittain argon-atmosfäärissä -20° :ssa 136,9 ml (0,233 moolia) butyyllilitiumin 1,7 molaarista liuosta heksaanissa. 15 minuutin kuluttua jäähdytetään -76° :een, lisätään tipoittain 22,78 ml (0,233 moolia) etyyliasettaattia ja hämmennetään 15 minuuttia. 20 minuutin kuluessa lisätään tipoittain edeltä käsin -76° :een jäähdytetty liuos, jossa on 34,1 g (0,137 moolia) N-Z-leu-sinaalia ((2S)-bentsyylioksikarbonyyliamino-4-metyylipenta-naali; Ito et al., Chem. Pharm. Bull. 23, 3081 (1975)) 100 ml:ssa tetrahydrofuraania. Reaktioseosta hämmennetään 15 minuutin ajan -76° :ssa, jonka jälkeen 30 minuutin kuluessa lisätään 118 ml 2 N HCl. Tämän suspension pH säädetään 0° :ssa 2 N HCl arvoon 2,5, annetaan lämmitä huoneen lämpötilaan, jonka jälkeen uutetaan eetterillä, orgaaninen faasi pestään suolaliuoksella (kyllästetty natriumkloridiliuos) ja kuivataan. Raakatuote erotetaan keskipaine-kromatografian avulla (Mitteldruckchromatographie) (LiChroprep Si 60, 25-40 μ m, etyyliasettaatti-heksaani (1:5)). Eluoitaessa saadaan ensin (3S,4S)-N-Z-statiinietyyliesteri (vahamaiset kiteet, sul.p. $51-54^{\circ}$; $[\alpha]_D^{20} = -26^{\circ}$ (CH_3OH , $c = 0,69$)) ja tämän jälkeen saadaan polaarisempi (3R,4S)-N-Z-statiinietyyliesteri (valkoiset kiteet, sul.p. $103-104^{\circ}$, $[\alpha]_D^{20} = -17^{\circ}$ (CH_3OH , $c = 1,00$)).

Esimerkki 2:

370 mg H-Pro-His-Pro-Phe-His-Sta-Ile-His-Lys-OMe x 5 TFA:ta liuotetaan 8 ml:aan vettä. pH arvo nostetaan 0,3 N NH_3 :lla arvoon 5,0, jonka jälkeen lisätään 40 μ l trypsiinin 1 % vesiliuosta ja pH-staatin avulla lisäämällä 0,3 N NH_3 pidetään pH-arvo vakiona. Emäslisäys on ohi noin 40 minuutin kuluttua. Lisätään 1 ml jäätikkää, kuumennetaan 2 minuuttia kiehuvaan vesihauteeseen, haihdutetaan noin 3 ml:aan ja lyofilisoidaan. Jäännös liuotetaan 3 ml:aan 0,05 N AcOH, tuote muutetaan asetaatiksi suodattamalla hitaasti pylvään läpi

($\emptyset$ = 1 cm, pituus = 10 cm), joka sisältää heikosti emäksisen ioninvaihtajan (Merck Nr.II) asetaattimuodossa, ja eluaatti taas lyofilisoidaan, jonka jälkeen saadaan H-Pro-His-Pro-Phe-His-Sta-Ile-His-Lys-OH x AcOH amorfisena, valkoisena jauheena; R_f (D) = 0,12; R_f (K) = 0,14.

Lähtöaine H-Pro-His-Pro-Phe-His-Sta-Ile-His-Lys-OMe x 5 TFA saadaan seuraavalla tavalla:

Vaihe 2.1: 1,6 g Z-His-Lys(Boc)-OMe:a (S. Guttman et.al., Helv. Chim. Acta 52, 1789 (1969)) liuotetaan 33 ml:aan MeOH:a, tähän lisätään 3 ml 1 N HCl:a ja 160 mg Pd-hiiltä (10 % Pd) ja seos hydrataan CO_2 -absorptiolla, kunnes liuos on kyllästetty. Katalysaattori suodatetaan pois, jonka jälkeen haihdutetaan, öljymäinen jäännös liuotetaan 20 ml:aan DMF:a ja haihdutetaan uudestaan noin 10 ml:aan, saadaan H-His-Lys(Boc)-OMe liuoksen muodossa; jota käytetään heti edelleen vaiheessa 2.2.

Vaihe 2.2: 1,32 g Z-Ile-OSu:a (G.W. Anderson et al., J.Amer.Chem.Soc. 86, 1839 (1964)) liuotetaan liuokseen, jossa on edellä saatu H-His-Lys(Boc)-OMe noin 10 ml:ssa DMF:a, ja 0,41 ml NEt_3 :a lisätään. Seoksen annetaan seistä 8 tuntia huoneen lämpötilassa, lisätään 15 ml di-isopropyylieetteriä, homogenoidaan ja suodatetaan. Suodatusjäännös liuotetaan 15 ml:aan metanolia ja 0° :ssa lisätään 23 ml:aan vesipitoista NaHCO_3 -liuosta. Saostunut sakka suodatetaan, pestään vedellä, kuivataan ja saostetaan uudestaan MeOH-etikkaesteripetrolieetteri-seoksesta, jonka jälkeen saadaan Z-Ile-His-Lys(Boc)-OMe amorfisena jauheena; R_f (B) = 0,65; R_f (I) = 0,48.

Vaihe 2.3: 8 g Z-Ile-His-Lys(Boc)-OMe:a suspendoidaan seokseen, jossa on 80 ml MeOH:a, 8 ml vettä ja 80 ml tri-fluorietanolia, ja seos hydrataan 800 mg:lla Pd-hiiltä (10 % Pd) CO_2 -absorptiolla, kunnes liuos on kyllästetty, jolloin alussa liukenematon aine liukenee. Katalysaattori suodatetaan pois, suodos haihdutetaan kuiviin ja hartsimainen jäännös kiteytetään asetonitriilistä, saadaan H-Ile-His-Lys(Boc)-

OMe neulasten muodossa, sul.p. 129-130^o; R_f (I) = 0,12;
 R_f (B) = 0,14.

Vaihe 2.4: 900 mg Z-Sta-Oh:a (valmistus: katso vaihe
 1.12), 1,24 g H-Ile-His-Lys(Boc)-OMe:a ja 560 mg HOBt x H₂O
 5 liuotetaan 13 ml:aan DMF:a. Lisätään 600 mg DCCI:a, jonka
 jälkeen seoksen annetaan seistä 20 tuntia huoneen lämpöti-
 lassa, sen jälkeen kiteytynyt DCH suodatetaan pois ja suodos
 haihdutetaan kuiviin. Tahmea jäännös hierretään 30 ml:n
 kanssa di-isopropyylieetteriä 0^o:ssa, liuotin dekantoidaan
 10 ja jäännös kuivataan. Puhdistetaan Craig-jakaantumisella
 systeemissä metanoli-puskuri-etyleenikloridi-kloroformi
 (10:3:8:4; puskuri = 14,3 ml jääetikkaa ja 9,6 g ammonium-
 asetaattia 1000 ml:ssa H₂O) suorittaen 700 vaihetta. Ohut-
 kerroskromatografisesti puhtaat fraktiot (K = 0,5) yhdiste-
 15 tään, haihdutetaan voimakkaasti ja lyofilisoidaan. Etikka-
 hapon poistamiseksi saostetaan uudestaan 5 % metanolipi-
 toisesta NaHCO₃-liuoksesta, saadaan Z-Sta-Ile-His-Lys(Boc)-
 OMe amorfisena jauheena; R_f (B) = 0,8; R_f (I) = 0,56.

Vaihe 2.5: 1 g Z-Sta-Ile-His-Lys(Boc)-OMe liuotetaan
 20 10 ml:aan 95 % MeOH ja hydrataan 100 mg:lla Pd-hiiltä (10
 % Pd) CO₂-absorptiolla, kunnes liuos on kyllästetty. Kata-
 lyysoittori suodatetaan pois, jonka jälkeen suodos haihdute-
 taan kuiviin ja saadaan H-Sta-Ile-His-Lys(Boc)-OMe amorfii-
 sena jauheena, jota suoraan käytetään jatkotyöskentelyssä;
 25 R_f (B) = 0,32; R_f (I) = 0,17.

Vaihe 2.6: 480 mg Boc-Pro-His-Pro-Phe-His-OH:a (valmis-
 tus: katso esimerkki 1, vaihe 1.9), 340 mg H-Sta-Ile-His-
 Lys(Boc)-OMe:a ja 150 mg HONB liuotetaan 3,5 ml:aan DMF sa-
 malla kuumentaen. Jäähdytetään 0^o:een, jonka jälkeen lisä-
 30 tään 170 mg DCCI:a, hämmennetään 5 tuntia 0^o:ssa ja anne-
 taan seistä 20 tuntia huoneen lämpötilassa. Kondensaatio-
 tuote saostetaan lisäämällä 35 ml di-isopropyylieetteriä
 ja suodatetaan. Puhdistetaan Craig-jakaantumisella suorit-

taen 1000 vaihetta samassa liuotinsysteemissä kuin vaiheessa 2.4 on esitetty ($K = 0,6$), saadaan Boc-Pro-His-Phe-His-Sta-Ile-His-Lys(Boc)-OMe; R_f (A) = 0,22; R_f (B) = 0,21; R_f (E) = 0,54.

- 5 Vaihe 2.7: 330 mg Boc-Pro-His-Pro-Phe-His-Sta-Ile-His-Lys(Boc)-OMe:a liuotetaan 1,7 ml:aan 95 % trifluorietikkahappoa ja seoksen annetaan seistä 30 minuuttia 25^o:ssa. Sen jälkeen lisätään 14 ml di-isopropyylieetteriä, hämmennetään 30 minuuttia 0^o:ssa, suodatetaan ja kuivataan suurtyhjössä
- 10 KOH:n päällä, saadaan H-Pro-His-Pro-Phe-His-Sta-Ile-His-Lys-OMe x 5 TFA; R_f (D) = 0,17; R_f (K) = 0,20.

Esimerkki 3:

Analogisesti tässä selityksessä esitettyjen menetelmien kanssa saadaan:

H-Pro-His-Pro-Phe-His-Sta-NH₂,

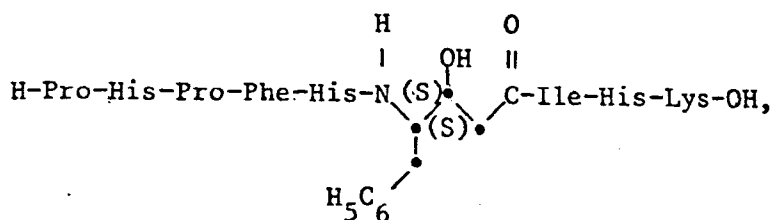
H-Pro-His-Pro-Phe-His-Sta-NH-CH₂-CH(CH₃)-CH₂-CH₃,

H-Pro-His-Pro-Phe-His-Sta-OH,

H-Pro-His-Pro-Phe-His-(3R, 4S)-Sta-Val-Tyr-Lys-OH,

H-Pro-His-Pro-Phe-His-Sta(Me)-Ile-His-Lys-OH,

H-Pro-His-Pro-Phe-His-Sta(Ac)-Ile-His-Lys-OH,



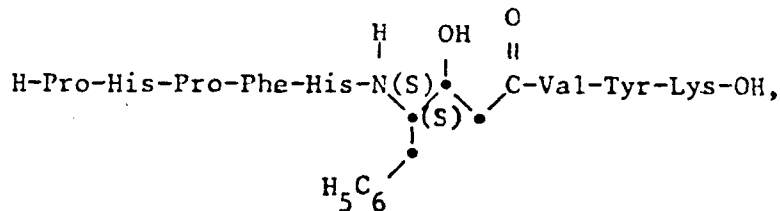
H-Pro-Phe-His-Sta-Ile-His-Lys-OH,

H-Pro-His-Pro-Phe-His-Sta-OC₂H₅,

H-Pro-His-Pro-Phe-His-(3R, 4S)-Sta-Ile-His-Lys-OH,

H-Pro-His-Pro-Phe-His-Sta(Me)-Val-Tyr-Lys-OH,

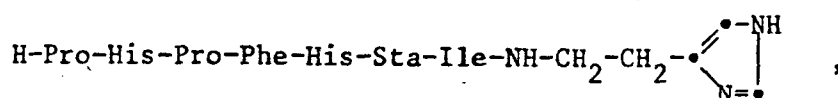
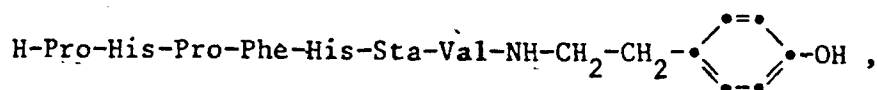
H-Pro-His-Pro-Phe-His-Sta(Ac)-Val-Tyr-Lys-OH,



H-Pro-His-Pro-Phe-His-Sta-Val-Tyr-NH₂,

H-Pro-His-Pro-Phe-His-Sta-Ile-His-NH₂,

H-Pro-His-Pro-Phe-His-Sta-Ile-D-His-NH₂,



H-Pro-His-Pro-Phe-His-Sta-Phe-Val-Tyr-Lys-OH,

H-His-Pro-Phe-His-Sta-Ile-His-Lys-OH,

H-D-His-Pro-Phe-His-Sta-Ile-His-Lys-OH,

H-Arg-Arg-Pro-Phe-His-Sta-Ile-His-Lys-OH und

H-Arg-D-Arg-Pro-Phe-His-Sta-Ile-His-Lys-OH.

Esimerkki 4:

595 mg Z-Arg-Arg-Pro-Phe-His-OH:a (trihydrokloridina, sisältäen 24 paino-% NaCl), 250 mg H-Sta-Ile-His-Lys(Boc)-OMe:a (vaihe 2.5) ja 74 mg HOBt x H₂O liuotetaan tai suspendoidaan 2,5 ml:aan DMF:a, jäädytetään 0^o:een ja lisätään 110 mg DCCI:a. Hämmennetään 10 tuntia 0^o:ssa, annetaan seistä vielä 1 päivä huoneen lämpötilassa ja suodatetaan NaCl ja DCH pois. Suodos haihdutetaan öljyksi ja tästä saostetaan kondensaatiotuote lisäämällä 50 ml di-isopropyylieetteriä ja tuote kuivataan. Se kuumennetaan 8 ml:ssa metanoli-jää-etikka-H₂O-seosta (94:3:3) yhden tunnin kuluessa 60^o:een, saostetaan 0^o:ssa lisäämällä 80 ml di-isopropyylieetteriä, suodatetaan ja kuivataan. Jäännös liuotetaan 20 ml:aan 0,1 N etikkahappoa, suodatetaan pieni määrä liukenematonta ainetta pois ja suodoksen annetaan hitaasti valua läpi pyl-

väästä ($\varnothing = 1,2$ cm; pituus = 15 cm), joka sisältää heikosti emäksisen ioninvaihtajan (esim. Merck Nr. II) asetaattimuodossa. Eluaatti haihdutetaan 10-15 ml:aan ja lyofilisoidaan. Tuotteen puhdistamiseksi suoritetaan Craig-jakaantumisen systeemissä n-butanoli-jääetikka- H_2O (4:1:5) suorittaen 400 vaihetta; K-arvo noin 0,5. Kromatografisesti puhtaat fraktiot yhdistetään, haihdutetaan öljyksi, liuotetaan veteen ja lyofilisoidaan, jolloin saadaan Z-Arg-Arg-Pro-Phe-His-Sta-Ile-His-Lys(Boc)-OMe amorfisena jauheena (asetattimuoto); R_f (M) = 0,55; R_f (N) = 0,35; R_f (O) = 0,5; R_f (L) = 0,2.

Lähtöaine Z-Arg-Arg-Pro-Phe-His-OH saadaan seuraavalla tavalla:

Vaihe 4.1: 486 mg Z-Arg-OH:a suspendoidaan 5 ml:aan DMF:a ja lisäämällä 315 μ l HCl:n 5 N liuosta dioksaanissa, saadaan yhdiste liukenemaan. Lisätään 500 mg H-Pro-Phe-His-OMe:a (vaihe 1.6) ja 185 mg HOBt x H_2O kiinteässä muodossa, jolloin muodostuu kirkas liuos. Jäähdytetään 0° :een, jonka jälkeen lisätään 325 mg DCCI:a ja koko seoksen annetaan seistä 10 tuntia jäähauteessa ja yhden päivän huoneen lämpötilassa. Saostunut DCH suodatetaan pois, suodos haihdutetaan 2-3 ml:aan ja tästä saostetaan raakatuote lisäämällä di-isopropyylieetteriä. Se liuotetaan 14 ml:aan metanoli-jääetikka- H_2O -seosta (94:3:3), kuumennetaan 1 tunti 60° :ssa, taas konsentroidaan 2-3 ml:aan ja saostetaan di-isopropyylieetterillä. Liuotetaan 10 ml:aan vettä, pH säädetään 2 N HCl:llä arvoon 3,0 ja seos puhdistetaan suorittamalla Craig-jakaantumisen systeemissä n-butanoli- H_2O . Haihduttamalla puhtaat fraktiot ja lyofilisoimalla saadaan Z-Arg-Pro-Phe-His-OMe dihydrokloridin muodossa; R_f (E) = 0,45; R_f (C) = 0,55.

Vaihe 4.2: 2,5 g Z-Arg-Pro-Phe-His-OMe:a liuotetaan 25 ml:aan 95 % metanolia ja lisätään 250 mg Pd-hiiltä, jonka jälkeen seosta hydrataan CO_2 -absorptiolla, kunnes se on kylästetty. Katalysaattori suodatetaan pois, ja suodos haihdu-

tetaan kuiviin, jolloin saadaan H-Arg-Pro-Phe-His-OMe amorfisen jauheen muodossa; R_f (E) = 0,05; R_f (C) = 0,3.

Vaihe 4.3: 1,27 g Z-Arg-OH_a liuotetaan, samalla lievästi kuumentaen, 20 ml:aan DMF:a ja 240 µl:aan HCl:n 5 N liuosta dioksaanissa. Lisätään 1,9 g H-Arg-Pro-Phe-His-OMe:a (dihydrokloridina) ja 0,45 g HOBt x H₂O, jonka jälkeen jäädytetään 0^o:een ja 0,85 g DCCI:a lisätään kiinteässä muodossa. Sen jälkeen kun tämä on liuennut, annetaan seoksen seistä 8 tuntia jäähauteessa ja yhden päivän huoneen lämpötilassa ja saostunut DCH suodatetaan pois. Suodos haihdutetaan noin 5 ml:aan ja tästä saostetaan peptidi lisäämällä 50 ml di-isopropyylieetteriä ja tuote kuivataan. Se liuotetaan 45 ml:aan metanoli-jääetikka-H₂O-seosta (94:3:3), kuumennetaan 1 tunti 60^o:ssa, haihdutetaan taas noin 5 ml:aan ja saostetaan di-isopropyylieetterillä sekä kuivataan. Raakatuote puhdistetaan kromatografoimalla 120 g:lla piihappogeeliä (60 Merck, 230-400 mesh), eluointi suoritetaan kloroformi-metanoli-H₂O-jääetikka-seoksella (140:80:20:1). Puhtaat fraktiot yhdistetään, haihdutetaan aivan kuiviin, liuotetaan veteen ja lyofilisoidaan, jolloin saadaan Z-Arg-Arg-Pro-Phe-His-OMe dihydrokloridi-monoasetatin muodossa; R_f (C) = 0,4; R_f (E) = 0,3.

Vaihe 4.4: 1,3 g Z-Arg-Arg-Pro-Phe-His-OMe liuotetaan 26 ml:aan vettä, lisätään 6,5 ml 1 N NaOH:a, tämän jälkeen seoksen annetaan seistä 5 minuutin ajan 25^o:ssa ja sen jälkeen säädetään pH arvoon 2,5 2 N HCl:llä ja lyofilisoidaan. Kuiva jäännös liuotetaan 30 ml:aan vettä ja lyofilisoidaan vielä kerran, jonka jälkeen se painaa 1,6 g ja sisältää 0,38 g NaCl. Saatua Z-Arg-Arg-Pro-Phe-His-OH on trihydrokloridina ja sitä käytetään tässä muodossa kondensaatioon H-Sta-Ile-His-Lys(Boc)-OMe kanssa (vaihe 2.5); R_f (C) = 0,3.

Esimerkki 5:

100 mg Z-Arg-Arg-Pro-Phe-His-Sta-Ile-His-Lys(Boc)-OMe:a (esimerkki 4) liuotetaan 500 µl:aan 95 % TFA, seoksen anne-

taan seistä 25 minuuttia ja se saostetaan lisäämällä 5 ml di-isopropyylieetteriä. Sakka suodatetaan, kuivataan, liuotetaan 2 ml:aan vettä ja muutetaan asetaattimuotoon suodattamalla hitaasti pylvään läpi ($\emptyset = 1$ cm; pituus = 8 cm), joka sisältää heikosti emäksisen ioninvaihtajan asetaattimuodossa. Eluaatti haihdutetaan ja lyofilisoidaan, jolloin saadaan Z-Arg-Arg-Pro-Phe-His-Sta-Ile-His-Lys-OMe; R_f (D) = 0,35; R_f (M) = 0,3; R_f (N) = 0,3.

Esimerkki 6:

10 145 mg Z-Arg-Arg-Pro-Phe-His-Sta-Ile-His-Lys(Boc)-OMe:a (esimerkki 4) liuotetaan 2,5 ml:aan 95 % MeOH:a ja lisätään 15 mg Pd-hiiltä, jonka jälkeen hydrataan johtamalla seoksen läpi vetyä ja hämmentämällä seosta magneettisauvalla, kunnes lähtöaineena käytetty tuote on täysin hävinnyt (ohutkerros-

15 kontrollin mukaan). Suodatetaan, suodos haihdutetaan kuiviin, liuotetaan 3 ml:aan vettä ja lyofilisoidaan, jolloin saadaan H-Arg-Arg-Pro-Phe-His-Sta-Ile-His-Lys(Boc)-OMe; R_f (D) = 0,32; R_f (M) = 0,25; R_f (N) = 0,3.

Esimerkki 7:

20 200 mg H-Arg-Arg-Pro-Phe-His-Sta-Ile-His-Lys(Boc)-OMe:a (esimerkki 6) liuotetaan 1 ml:aan 95 % TFA:ta, seoksen annetaan seistä 25 minuutin ajan, jonka jälkeen saostetaan lisäämällä 10 ml di-isopropyylieetteriä. Sakka suodatetaan, kuivataan, liuotetaan 4 ml:aan vettä ja tuotteen muuttamiseksi asetaatiksi se suodatetaan hitaasti pylvään läpi

25 ($\emptyset = 1$ cm; pituus = 12 cm), joka sisältää heikosti emäksisen ioninvaihtajan asetaattimuodossa. Eluaatti konsentroidaan pieneen tilavuuteen ja lyofilisoidaan, jolloin saadaan H-Arg-Arg-Pro-Phe-His-Sta-Ile-His-Lys-OMe; R_f (D) = 0,15; R_f (M) = 0,12; R_f (N) = 0,09.

30

Esimerkki 8:

80 mg H-Arg-Arg-Pro-Phe-His-Sta-Ile-His-Lys-OMe:a (esimerkki 7) liuotetaan 1,5 ml:aan vettä, pH säädetään arvoon 5,5

lisäämällä 0,1 NH₃:a. Lisätään 8 µl 1 % vesipitoista tryptsiiniliuosta ja pH-arvo pidetään 5,5:ssä lisäämällä 0,1 NH₃:a, pH-staatin avulla. Noin 20 minuutin kuluttua emäslisäys päättyy, jonka jälkeen lisätään 350 µl jääetikkaa
 5 ja kuumennetaan 2 minuutin ajan kiehuvaan vesihauteeseen. Liuos haihdutetaan kuiviin, jäännös liuotetaan 2 ml:aan 0,05 N AcOH ja inaktiivisen entsyymin erottamiseksi seos pumpataan pylvään läpi (Ø = 1,2 cm; pituus = 25 cm), joka sisältää Biogel P-10:tä (polyakryyliamidigeeli, erottamis-
 10 raja molekyylipainossa 20 000, valmistaja: Bio-Rad, Richmond, Kalifornia, USA). UV-detektiolla mitatut fraktiot, joilla on mainitulle peptidille sopiva molekyylipaino, konsentroidaan pieneen tilavuuteen ja lyofilisoidaan, jolloin saadaan H-Arg-Arg-Pro-Phe-His-Sta-Ile-His-Lys-OH; R_f (D) = 0,12;
 15 R_f (M) = 0,07; R_f (N) = 0,05.

Esimerkki 9:

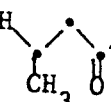
Analogisesti tässä selityksessä esitettyjen menetelmien kanssa, saadaan:

H-Pro-Phe-His-Sta-Ala-Sta-OH,
 H-Pro-Phe-His-Sta-Ala-Sta-OMe,
 H-Pro-Phe-His-Sta-Ala-Sta-NH₂,
 Z-Pro-Phe-His-Sta-Ala-Sta-OH,
 Z-Pro-Phe-His-Sta-Ala-Sta-OMe,
 Z-Pro-Phe-His-Sta-Ala-Sta-NH₂,
 Boc-Pro-Phe-His-Sta-Ala-Sta-OH,
 Boc-Pro-Phe-His-Sta-Ala-Sta-OMe,
 Boc-Pro-Phe-His-Sta-Ala-Sta-NH₂,
 H-Pro-Phe-His-Sta-Ile-Sta-OH,
 H-Pro-Phe-His-Sta-Ile-Sta-OMe,
 H-Pro-Phe-His-Sta-Ile-Sta-NH₂,
 Z-Pro-Phe-His-Sta-Ile-Sta-OH,
 Z-Pro-Phe-His-Sta-Ile-Sta-OMe,
 Z-Pro-Phe-His-Sta-Ile-Sta-NH₂,
 Boc-Pro-Phe-His-Sta-Ile-Sta-OH,
 Boc-Pro-Phe-His-Sta-Ile-Sta-OMe,
 Boc-Pro-Phe-His-Sta-Ile-Sta-NH₂,

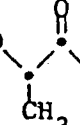
(Boc, Z oder H)-Pro-Phe-His-Sta-Gly-Sta-(OH, OMe oder NH_2),

(Boc, Z oder H)-Pro-Phe-His-Sta-Sar-Sta-(OH, OMe oder NH_2),

(Boc, Z oder H)-Pro-Phe-His-Sta- β -Ala-His-(OH, OMe oder NH_2),

(Boc, Z oder H)-Pro-Phe-His-Sta-NH  His-(OH, OMe oder NH_2),

(Boc, Z oder H)-Pro-Phe-His-Sta-O  Sta-His-(OH, OMe oder NH_2),

(Boc, Z oder H)-Pro-Phe-His-Sta-O  Sta-His-(OH, OMe oder NH_2),

(Boc, Z oder H)-Pro-Phe-His-Sta-Sta-His-(OH, OMe oder NH_2),

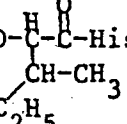
H-Arg-Arg-Pro-Phe-His-Sta-O-CH  His-Lys-OH,

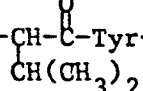
Z-Arg-Arg-Pro-Phe-His-Sta-O-CH  His-Lys(Boc)-OMe,

Z-Arg-Arg-Pro-Phe-His-Sta-O-CH  His-Lys-OMe,

H-Arg-Arg-Pro-Phe-His-Sta-O-CH  His-Lys(Boc)-OMe,

H-Arg-Arg-Pro-Phe-His-Sta-O-CH  His-Lys-OMe,

H-Pro-His-Pro-Phe-His-Sta-O-CH  His-Lys-OH und

H-Pro-His-Pro-Phe-His-Sta-O-CH  Tyr-Lys-OH.

Esimerkki 10: Liivateliuos

Steriilisuodatettu vesipitoinen liuos, jossa on H-Arg-Arg-Pro-Phe-His-Sta-Ile-His-Lys-OH:a, sekoitetaan aseptisissä olosuhteissa, samalla kuumentaen, steriiliin liivateliuokseen, joka sisältää fenolia säilöntäaineena niin, että 1,0 ml:lla liuosta on seuraava koostumus:

	H-Arg-Arg-Pro-Phe-His-Sta-Ile-His-Lys-OH	3,0 mg
	liivatetta	150,0 mg
	fenolia	4,7 mg
10	tislattua vettä	1,0 ml:aan

Seoksella täytetään aseptisissä olosuhteissa pienpullot 1,0 ml:aan asti.

Esimerkki 11: Steriilit kuiva-aineet injektioon

Liuotetaan 5 mg H-Arg-Arg-Pro-Phe-His-Sta-Ile-His-Lys-OH:a 1 ml:aan vesipitoista liuosta, joka sisältää 20 mg manniitia. Liuos steriilisuodatetaan ja aseptisissä olosuhteissa täytetään 2 ml:n ampulleihin, syväjäädtytetään ja lyofilisoidaan. Ennen käyttöä lyofilisaatti liuotetaan 1 ml:aan tislattua vettä tai 1 ml:aan fysiologista suolaliuosta. Liuos käytetään lihaksensisäisesti tai suonensisäisesti. Tällä koostumuksella voidaan täyttää myös kaksoiskammioruiskupullit.

Esimerkki 12: Nenäspray

Seokseen, jossa on 3,5 ml "Miglyol 812" ja 0,08 g bentsyylialkoholia, suspendoidaan 500 mg hienoksi jauhettua (<5,0 μ) H-Arg-Arg-Pro-Phe-His-Sta-Ile-His-Lys-OH:a. Tällä suspensiollla täytetään annostusventtiilillä varustettu säiliö. Tämän jälkeen säiliö täytetään paineen alaisena venttiilin kautta 5,0 mg:lla "Freon 12". Ravistelemalla liuotetaan "Freon" Miglyol-bentsyylialkoholiseokseen. Tämä spraysäiliö sisältää noin 100 yksikköannosta, jotka voidaan annostaa yksitellen.

Esimerkki 13:

Liuosta, jossa on 214 mg Z-Pro-Phe-His-OH:a, 152 mg H-Sta-Ala-Sta-OMe:a ja 56 mg HOBt x H₂O 6 ml:ssa DMF:a, hämmennetään jäähauteessa ja siihen lisätään 97 mg DCCI:a. Seosta
 5 hämmennetään 1 tunti 0^o:ssa ja 16 tuntia 25^o:ssa, muodostunut disykloheksyylikarbamidi suodatetaan pois ja suodos haihdutetaan suurtyhjössä. Jäännös liuotetaan 10 ml:aan metanoli-jääetikka-vesi-seosta (94:3:3) ja hämmennetään 60 minuuttia
 10 60^o:ssa. Liuotin poistetaan tämän jälkeen pyöröhaihduttimesa, jäännös hierretään pienen määrän kanssa etikkaesteriä 0^o:ssa, saatu suspensio suodatetaan ja suodoksesta poistetaan liuotin. Liuotetaan uudestaan etikkaesteriin, jonka jälkeen uutetaan kyllästetyllä natriumbikarbonaattiliuoksella ja keittosuolaliuoksella, orgaaninen faasi kuivataan
 15 ja haihdutetaan. Tämä jäännös kromatografoidaan 80 mg:lla piihappogeeliä (raekoko 0,04 - 0,063 mm) käyttäen ajoliuoksena kloroformi-metanoli-seosta (9:1) (fraktiot á noin 20 ml). Fraktiot 16-23 yhdistetään, liuotin poistetaan, jäännös liuotetaan pieneen määrään metanolia, suodatetaan ja suodos
 20 haihdutetaan uudestaan. Jäännös kuivataan suurtyhjössä, jonka jälkeen saadaan Z-Pro-Phe-His-Sta-Ala-Sta-OMe (vrt. esimerkki 9) kellertävänä jauheena; R_f (G) = 0,72; R_f (CHCl₃-MeOH (9:1)) = 0,26.

Lähtöaine H-Sta-Ala-Sta-OMe saadaan seuraavalla tavalla:

25 Vaihe 13.1: 371 mg Z-Sta-OH:a (vrt. vaihe 1.12), 240 mg H-Ala-OC(CH₃)₃:a ja 184 mg HOBt x H₂O liuotetaan 10 ml:aan DMF:a. Jäähdytetään liuos 0^o:een, jonka jälkeen 133 mg N-metyylimorfoliinia ja 321 mg DCCI:a lisätään. Hämmennetään 1 tunti 0^o:ssa ja 14 tuntia 25^o:ssa, tämän jälkeen muodostunut DCH suodatetaan pois ja suodos haihdutetaan kuiviin.
 30 Jäännös liuotetaan etikkaesteriin ja liuos uutetaan kyllästetyllä natriumvetykarbonaattiliuoksella. Orgaaniset faasit kuivataan, haihdutetaan ja jäännös pikakromatografoidaan

(flashchromatographiert) 80 g:lla piihappogeelia (raekoko 0,04 - 0,063 mm) (ajoliuos: metyleenikloridi-dietyylieetteri-seos (4:1), fraktiot $\bar{a}$ noin 25 ml). Fraktiot 24-40 yhdistetään, haihdutetaan, jäännös liuotetaan pieneen määrään metyleenikloridia, suodatetaan ja haihdutetaan uudestaan. Jäännös kuivataan suurtyhjössä, jonka jälkeen saadaan Z-Sta-Ala-OC(CH₃)₃ vaalean kellertävänä öljynä: R_f (metyleenikloridi-dietyylieetteri (4:1)) = 0,10.

Vaihe 13.2: 470 mg Z-Sta-Ala-OC(CH₃)₃ (vaiheesta 13.1) liuotetaan 10 ml:aan trifluorietikkahappoa ja liuosta hämmennetään 10 minuuttia 25^o:ssa. Tämän jälkeen liuotin poistetaan pyöröhaihduttimessa ja jäännös pikakromatografoidaan 200 g:lla piihappogeeliä (ajoliuos ensin: kloroformi-metanoli-kons.vesipitoinen ammoniakkiliuos (40:10:1), tämän jälkeen kloroformi-metanoli-kons.vesipitoinen ammoniakkiliuos (5:3:1)). Tuotetta sisältävät fraktiot yhdistetään ja haihdutetaan, jäännös liuotetaan kloroformiin ja kloroformiliuos uutetaan laimealla suolahapolla ja kyllästetyllä keittosuolaliuoksella, kuivataan ja haihdutetaan. Jäännös kuivataan suurtyhjössä, jonka jälkeen saadaan Z-Sta-Ala-OH värittömänä vaahtona; R_f (G) = 0,43.

Vaihe 13.3: 250 mg Z-Sta-OH:a (vrt. 1.12) liuotetaan 4 ml:aan 90 % metanolia. Liuokseen lisätään 1 ml 20 % vesipitoista cesiumkarbonaattiliuosta ja tämän jälkeen liuotin poistetaan pyöröhaihduttimessa. Jäännös liuotetaan kaksi kertaa 2,5 ml:aan DMF ja DMF haihdutetaan joka kerta pois pyöröhaihduttimessa. Jäännös kuivataan suurtyhjössä, sen jälkeen liuotetaan 2,5 ml:aan DMF ja liuokseen lisätään 55 μ l metyylijo-didia. Hämmennetään 18 tuntia 25^o:ssa, jonka jälkeen liuotin poistetaan ja jäännös liuotetaan etikkaesteriin. Orgaaninen faasi uutetaan kaksi kertaa keittosuolaliuoksella, jonka jälkeen se kuivataan natriumsulfaatilla ja haihdutetaan. Jäännös pikakromatografoidaan 55 g:lla piihappogeeliä (ajoliuos: kloroformi-metanoli-seos (95:5)). Tuotetta sisältävät fraktiot

yhdistetään ja haihdutetaan, jolloin saadaan Z-Sta-OMe keltävänä öljynä; R_f (kloroformi-metanoli-seos (95:5)) = 0,49.

Vaihe 13.4: 818 mg Z-Sta-OMe:a liuotetaan 40 ml:aan metanolia ja seos hydrataan 190 mg:n palladium-hiilellä-katalysaattoria läsnäollessa (10 % Pd) huoneen lämpötilassa ja normaalipaineessa, kunnes liuos on kyllästetty. Hydrauksen kuluessa pH pidetään vakiona arvossa 5 lisäämällä jatkuvasti 0,5 N HCl. Hydrauksen jälkeen katalysaattori suodatetaan pois ja suodos haihdutetaan. Saadaan H-Sta-OMe x HCl värittömänä vahtona; R_f (G) = 0,21. Tämä raakatuote käytetään suoraan seuraavassa vaiheessa 13.5.

Vaihe 13.5: Vaiheen 13.1 mukaisesti lähtemällä 150 mg:sta H-Sta-OMe x HCl (vaiheesta 13.4); 253 mg:sta Z-Sta-Ala-OH:a (vaiheesta 13.2), 102 mg:sta HOBt x H₂O, 67 mg:sta N-metyylimorfoliinia ja 178 mg:sta DCCI:a, saadaan Z-Sta-Ala-Sta-OMe; R_f (kloroformi-metanoli-seos (9:1)) = 0,37.

Vaihe 13.6: 259 mg Z-Sta-Ala-Sta-OMe:a (vaiheesta 13.5) liuotetaan 10 ml:aan 90 % metanolia ja seos hydrataan 30 mg:n palladium-hiili-katalysaattoria läsnäollessa (10 % Pd), 25^o:ssa, normaalipaineessa ja CO₂-absorptiolla (CO₂ Z-suojaryhmän poislohkaisusta) kunnes liuos on kyllästetty. Katalysaattori suodatetaan pois, suodos haihdutetaan ja jäännös kuivataan suurtyhjössä. Saadaan H-Sta-Ala-Sta-OMe värittömänä vahtona; R_f (kloroformi-metanoli-ammoniakki-seos (40:10:1)) = 0,41; R_f (C) = 0,29.

Lähtöaine Z-Pro-Phe-His-OH saadaan seuraavalla tavalla:

Vaihe 13.7: 1,92 g Z-Pro-Phe-His-OMe:a (H. Derwald et al., J. Med. Chem. 7, 50 (1964)) liuotetaan 50 ml:aan metanolia, lisätään 35 ml vettä ja 5,0 ml 1-normaalista natronlipoää.

Liuosta hämmennetään 45 minuuttia 25^o:ssa ja sen jälkeen neutraloidaan 5 ml:lla 1-normaalista suolahappoa. Liuotin poistetaan ja jäännös pikakromatografoidaan 10 g:lla pihappogeeliä (ajoliuos: kloroformi-metanoli-kons.ammoniakkiliuos (5:3:1); fraktiot $\bar{a}$ noin 15 ml). Fraktiot 6-13 yhdistetään, haihdutetaan ja jäännös liuotetaan 70 ml:aan vettä. Neutraloidaan lisäämällä laimeaa suolahappoa niin, että pH-arvoksi tulee 5,0, jonka jälkeen uutetaan kaksi kertaa n-butanolilla ja yhdistetyt butanolifaasit pestään vedellä ja haihdutetaan. Jäännös kuivataan suurtyhjössä, jonka jälkeen saadaan Z-Pro-Phe-His-OH värittömänä jauheena; R_f (I) = 0,23.

Esimerkki 14:

125 mg Z-Pro-Phe-His-Sta-Ala-Sta-OMe:a (esimerkistä 13) liuotetaan 10 ml:aan 90 % metanolia, hydrataan 30 mg:n palladiumhiili-katalysaattoria läsnäollessa (10 % Pd) 25^o:ssa, normaalipaineessa ja CO₂-absorptiolla (CO₂ Z-suojaryhmän poistohkeamisesta), kunnes seos on kyllästetty. Sen jälkeen katalysaattori suodatetaan pois, suodos haihdutetaan ja jäännös kuivataan suurtyhjössä. Saadaan H-Pro-Phe-His-Sta-Ala-Sta-OMe (vrt. esimerkki 9) värittömänä vaahtona; R_f (G) = 0,12.

Esimerkki 15

40 mg H-Pro-Phe-His-Sta-Ala-Sta-OMe liuotetaan 10 ml:aan kylästettyä, metanolipitoista ammoniakkiliuosta. Liuoksen annetaan seistä 48 tuntia huoneen lämpötilassa, sen jälkeen liuotin poistetaan pyöröhaihduttimessa ja jäännös kromatografoidaan pihappogeelillä systeemissä kloroformi-metanoli-kons.vesipitoinen ammoniakkiliuos (40:10:1). Pääfraktiot yhdistetään ja haihdutetaan. Jäännös kuivataan suurtyhjössä, jonka jälkeen saadaan H-Pro-His-Sta-Ala-Sta NH₂ (vrt. esimerkki 9) värittömänä jauheena; R_f (kloroformi-metanoli-kons.ammoniakkiliuos (40:10:1)) = 0,27.

Esimerkki 16:

677 mg Z-Arg-Arg-Pro-Phe-His-OH x 3HCl (katso vaihe 4.4)
 (sisältää 24 paino-% NaCl), 272 mg H-Sta-Sar-His-Lys(Boc)-
 OMe, 85 mg HOBt x H₂O ja 48 µl N-metyylimorfoliinia liuote-
 5 taan 6 ml:aan DMF:a. Seos jäädytetään 0°:een, ja siihen li-
 sätään 124 mg DCCI:a, hämmennetään joitakin minuutteja ja
 annetaan sen jälkeen seistä yön yli 0°:ssa ja 30 tuntia huo-
 neen lämpötilassa. Erottunut DCH suodatetaan pois, suodos
 haihdutetaan kuiviin, jäännös kuumennetaan 12 ml:ssa meta-
 10 noli-jäätikka-H₂O-seosta (94:3:3) yhden tunnin kuluessa
 60°:een, liuos konsentroidaan noin 3 ml:aan ja raakatuote
 saostetaan lisäämällä 30 ml di-isopropyylieetteriä. Muute-
 taan asetaattimuotoon liuottamalla 5 ml:aan 0,05 N etikka-
 happoa, pieni määrä liukenematonta ainetta suodatetaan pois
 15 ja suodos suodatetaan hitaasti pylvään läpi, joka sisältää
 heikosti emäksisen anionivaihtajan (Merck Nr.II; pituus =
 11 cm; Ø = 1,2 cm). Eluaatti lyofilisoidaan n-butanoli-jää-
 etikka-H₂O -seos (4:1:5) suorittamalla 510 vaihetta (K =
 0,4). Kromatografisesti yhtenäiset fraktiot yhdistetään,
 20 konsentroidaan pieneen tilavuuteen ja lyofilisoidaan. Näin
 saadaan Z-Arg-Arg-Pro-Phe-His-Sta-Sar-His-Lys(Boc)-OMe ase-
 taattimuodossa amorfisena, hyvin vesiliukoisena jauheena;
 R_f (D) = 0,31; R_f (M) = 0,44; R_f (O) = 0,32.

Lähtöaineena käytetty H-Sta-Sar-His-Lys(Boc)-OMe saadaan
 25 seuraavalla tavalla:

Vaihe 16.1: 500 mg Z-His-Lys(Boc)-OMe:a liuotetaan 10 ml:
 aan MeOH:a ja 0,94 ml:aan 1 N HCl:a. Lisätään 50 mg Pd-hiiltä
 (10 % Pd), jonka jälkeen hydrataan CO₂-absorptiolla, kunnes
 liuos on kyllästetty, sen jälkeen katalysaattori suodatetaan
 30 pois ja suodos konsentroidaan noin 2 ml:aan. Lisätään 10 ml
 DMF:a ja haihdutetaan taas 5 ml:aan. Tämä liuos sisältää 401
 HCl x H-His-Lys(Boc)-OMe. Liuokseen lisätään 252 mg Z-Sar-
 OH:a, 53 µl N-metyylimorfoliinia, 144 mg HOBt x H₂O ja 252 mg

DCCI:a, kaikkien komponenttien liuottamiseksi seosta hämmennetään hetken aikaa, jonka jälkeen sen annetaan seistä 20 tuntia huoneen lämpötilassa. Saostunut DCH suodatetaan 0^o:ssa, suodos haihdutetaan suurtyhjössä hunajaksi, kuumentetaan 11 ml:ssa metanoli-jääetikka-H₂O-seosta (94:3:3) tunnin kuluessa 60^o:een ja taas haihdutetaan 5 ml:aan. Saostetaan lisäämällä 50 ml di-isopropyylieetteriä, annetaan seistä 1 tunti jäähauteessa ja dekantoidaan yllä oleva emäliuos. Raakatuote puhdistetaan kromatografisesti 25 g:lla piihappogeeliä (Merck Nr. 60, 230-400 mesh) eluointi suoritetaan kloroformi-metanoli-H₂O-jääetikka-seoksella (180:20:2:1). Puhtaat fraktiot liuotetaan etikkaesteriin etikkahapon poistamiseksi, pestään peräkkäin 5 % vesipitoisella natriumvetykarbonaattiliuoksella ja vedellä ja haihduttamalla etikkaesterifaasi saadaan tästä Z-Sar-His-Lys(Boc)-OMe amorfisena jauheena; R_f (I) = 0,45; R_f (G) = 0,6.

Vaihe 16.2: 390 mg Z-Sar-His-Lys(Boc)-OMe liuotetaan 10 ml:aan 95 % MeOH ja lisätään 40 mg Pd-hiiltä, jonka jälkeen hydrataan CO₂-absorptiolla, kunnes liuos on kyllästetty. Katalysaattori suodatetaan pois ja suodos haihdutetaan kuiviin ja amorfinen jäännös kuivataan suurtyhjössä 40^o:ssa vakiopainoon, jolloin saadaan H-Sar-His-Lys(Boc)-OMe; R_f (G) = 0,1; R_f (E) = 0,25.

Vaihe 16.3: 254 mg Z-Sta-OH:a (katso vaihe 1.12), 297 mg H-Sar-His-Lys(Boc)-OMe:a, 97 mg HOBt x H₂O ja 196 mg DCCI:a liuotetaan tässä järjestyksessä 3 ml:aan DMF:a ja seoksen annetaan seistä 20 tuntia huoneen lämpötilassa. Saostunut DCH suodatetaan pois, suodos haihdutetaan kuiviin, kuumentetaan 7 ml:ssa metanoli-jääetikka-H₂O-seosta (94:3:3) tunnin kuluessa 60^o:een ja tämä liuos taas haihdutetaan kuiviin. Öljymäinen jäännös puhdistetaan kromatografisesti 75 mg:lla piihappogeeliä (Merck Nr. 60, 230-400 mesh) eluointi suoritetaan CHCl₃-MeOH-seoksella (9:1). Puhtaat fraktiot liuote-

taan etikkaesteriin, pestään NaHCO_3 -liuoksella ja vedellä ja orgaaninen faasi haihdutetaan. Faasi sisältää Z-Sta-Sar-His-Lys(Boc)-OMe amorfisessa muodossa (hunaja); R_f (F) = 0,15; R_f (I) = 0,5.

- 5 Vaihe 16.4: 380 mg Z-Sta-Sar-His-Lys(Boc)-OMe:a liuotetaan 10 ml:aan 95 % MeOH:a, sen jälkeen kun 100 mg Pd-hiiltä (10 % Pd) on lisätty, hydrataan CO_2 -absorptiolla, kunnes liuos on kyllästetty, se suodatetaan ja haihdutetaan kuiviin. Kuivataan suurtyhjössä, jonka jälkeen saadaan H-Sta-Sar-His-Lys(Boc)-OMe amorfisena jauheena; R_f (G) = 0,18; R_f (E) = 0,53.

Esimerkki 17:

- 100 mg Z-Arg-Arg-Pro-Phe-His-Sta-Sar-His-Lys(Boc)-OMe:a (katso esimerkki 16) liuotetaan 2 ml:aan 95 % MeOH:a, jonka jälkeen kun 10 mg Pd-hiiltä (10 % Pd) on lisätty, hydrataan johtamalla vetyä liuoksen läpi, kunnes lähtöaine on täysin kadonnut (ohutkerros-kontrolli). Katalysaattori suodatetaan pois, suodos haihdutetaan kuiviin, jäännös liuotetaan 2 ml:aan vettä ja lyofilisoidaan, jolloin saadaan H-Arg-Arg-Pro-Phe-His-Sta-Sar-His-Lys(Boc)-OMe; R_f (D) = 0,15; R_f (M) = 0,25; R_f (O) = 0,22.

Esimerkki 18:

- 77 mg H-Arg-Arg-Pro-Phe-His-Sta-Sar-His-Lys(Boc)-OMe:a (esimerkistä 17) liuotetaan 0,4 ml:aan 95 % TFA ja seoksen annetaan seistä 25 minuuttia. Lisäämällä 5 ml di-isopropyylieetteriä ja suodattamalla sakka pois, saadaan H-Arg-Arg-Pro-Phe-His-Sta-Sar-His-Lys-OMe amorfisena, hygroskoopisena jauheena; R_f (D) = 0,04; R_f (M) = 0,04; R_f (O) = 0,05.

- 30 Asetaatin valmistamiseksi saatu yhdiste suodatetaan tavalliseen tapaan pylvään läpi, joka sisältää heikosti emäksisen ioninvaihtajan asetaattimuodossa.

Esimerkki 19:

110 mg H-Arg-Arg-Pro-Phe-His-Sta-Sar-His-Lys-OMe:a (trifluoriasetaattina; katso esimerkki 18) liuotetaan 1 ml:aan H₂O ja pH säädetään 0,5 N NH₃ arvoon 5,0. Lisätään 20 µl 1 %
 5 vesipitoista trypsiiniliuosta, jonka jälkeen pH pidetään pH-staatin avulla arvossa 5,0, samalla hämmentäen huoneen lämpötilassa, ja 0,1 N NH₃:lla lisäämällä. Noin 10 - 15 minuutin kuluttua emäslisäys päättyy. Liuos hapotetaan 200 µl:lla jääetikkaa, kuumennetaan 2 minuuttia kiehuvaassa vesi-
 10 hauteessa ja lyofilisoidaan. Asetaatiksi muuttamista varten jäännös liuotetaan veteen ja suodatetaan hitaasti 0,05 N etikkahappoon tasapainotetun pylvään läpi (Ø = 0,7 cm; pituus = 8 cm) ja jossa pylväässä on heikosti emäksinen ioninvaihtaja (esim. Merck Nr.II). Eluaatti konsentroidaan pieneen
 15 tilavuuteen ja lyofilisoidaan, jolloin saadaan H-Arg-Arg-Pro-Phe-His-Sta-Sar-His-Lys-OH (asetaatina) amorfisena, hyvin vesiliukoisena jauheena; R_f (D) = 0,03; R_f (M) = 0,03; R_f (O) = 0,03.

Esimerkki 20:

20 721 mg Z-Arg-Arg-Pro-Phe-His-OH x 3 HCl:a (katso vaihe 4.4) (sisältää 24 paino-% NaCl), 176 mg H-Sta-β-Ala-His-NH₂:a, 91 mg HOBt x H₂O ja 50 µl N-metyylimorfoliinia, liuotetaan 5 ml:aan DMF:a. Jäähdytetään 0^o:een, jonka jälkeen lisätään 132 mg DCCI:a ja sen jälkeen hämmentetään 6 tuntia 0^o:ssa ja
 25 seoksen annetaan seistä yön yli huoneen lämpötilassa. Kiteytynyt DCH suodatetaan pois, suodos haihdutetaan kuiviin ja jäännös kuumennetaan 14 ml:ssa metanoli-jääetikka-H₂O-seosta (94:3:3) yhden tunnin kuluessa 60^o:een. Liuos konsentroidaan 3 ml:aan ja raakatuote saostetaan lisäämällä 30 ml di-isopropyylieetteriä. Asetaatiksi muuttamista varten tuote liuote-
 30 taan 5 ml:aan 0,05 N etikkahappoa, suodatetaan pieni määrä liukenematonta ainetta pois ja liuos suodatetaan hitaasti 0,05 N etikkahappoon tasapainotetun pylvään läpi (Ø = 1,2 cm; pituus = 10 cm), joka sisältää heikosti emäksisen ioninvaihtajan asetaattimuodossa (Merck II). Eluaatti haihdutetaan
 35

noin 3 ml:aan ja lyofilisoidaan. Puhdistaminen tapahtuu Craig-jakaantumisen avulla suorittaen 750 vaihetta systeemissä n-pentanolijääetikka-H₂O (4:1:5); K = 0,13. Kromatografisesti puhtaat fraktiot yhdistetään, haihdutetaan kuiviin ja jäännös liuotetaan 3 ml:aan H₂O ja lyofilisoidaan. Saadaan Z-Arg-Arg-Pro-Phe-His-Sta-β-Ala-His-NH₂ (asetaattimuoto) amorfisena, vesiliukoisena jauheena; R_f (D) = 0,17; R_f (M) = 0,30; R_f (O) = 0,25.

Lähtöaineena käytetty H-Sta-β-Ala-His-NH₂ saadaan seuraavalla tavalla:

Vaihe 20.1: 6,0 g β-alaniinia liuotetaan 33,7 ml:aan 2 N NaOH:a ja jäähdytetään + 5^o:een. Lisätään tipoittein tässä lämpötilassa samanaikaisesti 22,5 ml kloorimuurahaishappobentsyyliesterin 50 % liuosta tolueenissa ja 16,8 ml 4 H NaOH:a. Emulsiota hämmennetään 3 tuntia jäähauteessa. Orgaaninen faasi erotetaan, jonka jälkeen vesipitoinen faasi uutetaan vielä kerran eetterillä, ja lopuksi jäähauteella jäähdyttäen säädetään pH 44 mm:lla 2 N HCl:a arvoon 1. Sakka suodatetaan ja kuivataan suurtyhjössä 50^o:ssa, jonka jälkeen saadaan Z-β-Ala-OH valkoisena jauheena; R_f (CH₂Cl₂-MeOH-kons. vesipitoinen ammoniakki-liuos (5:3:1)) = 0,37.

Vaihe 20.2: Liuos, jossa on 12,3 g Z-β-Ala-OH ja 16,0 g H-His-OCH₃ x 2 HCl 300 ml:ssa DMF, jäähdytetään 0^o:een ja siihen lisätään ensin liuos, jossa on 22,75 g fosforihappodifenyyliesteriatsidia 110 ml:ssa DMF ja sen jälkeen liuos, jossa on 30,7 ml trietyyliamiinia 110 ml:ssa DMF:a. Näin saatua suspensiota hämmennetään 2 päivää huoneen lämpötilassa, jonka jälkeen haihdutetaan suurtyhjössä öljymäiseksi suspensioksi. Tämä jäännös liuotetaan etikkaesteriin, pestään natriumvetykarbonaatilla ja suolaliuoksella, kuivataan ja haihdutetaan. Raakatuote erotetaan pikakromatografoimalla (1,6 g piihappogeeliä (Typ 60, Merck), 40-63 μm, 0,4 bar, fraktiot á 400 ml, ajoliuos: CH₂Cl₂-MeOH(13:2)). Haihduttamalla vas-

taavat fraktiot saadaan Z- β -Ala-His-OCH₃ vaalean kellertävänä vaahtona; R_f (L) = 0,69.

Vaihe 20.3: Seosta, jossa on 9,5 g Z- β -Ala-His-OCH₃:a 95 ml:ssa 7-normaalista metanolipitoista ammoniakkiliuosta, 5 hämmennetään yön yli huoneen lämpötilassa. Suspensio laimennetaan 30 ml:lla metanolia ja sitä hämmennetään edelleen 2,5 tunnin ajan huoneen lämpötilassa. Kiteet suodatetaan ja kuivataan 30^o:ssa suurtyhjössä. Emäliuos haihdutetaan ja jäännös liuotetaan 80 ml:aan isopropanolia. Lisätään 200 ml 10 eetteriä ja seoksen annetaan vielä kiteytyä, hämmentämällä sitä yön yli huoneen lämpötilassa. Suodatetut kiteet myös kuivataan. Molemmista kiteytyksistä saatavat kiteet muodostavat Z- β -Ala-His-NH₂:a (vaalean beige, sul.p. 181-182^o); R_f (C) = 0,57.

15 Vaihe 20.4: Seosta, jossa on 8,19 g Z- β -Ala-His-NH₂ 200 ml:ssa metanoli-vesi-seosta (95:5), hydrataan 0,82 g:lla palladium-hiilikatalysaattori (5 % Pd), huoneen lämpötilassa normaalipaineessa 15 tunnin ajan. Katalysaattori suodatetaan pois, jonka jälkeen liuotin haihdutetaan ja tuote 20 kuivataan, saadaan H- β -Ala-His-NH₂ värittömänä jauheena; R_f (L) = 0,01.

Vaihe 20.5: 370 mg Z-Sta-OH:a, 225 mg H- β -Ala-His-NH₂:a, 153 mg HOBt x H₂O ja 247 mg DCCI:a suspendoidaan 4,5 ml:aan DMF ja seosta hämmennetään huoneen lämpötilassa. Noin 10 25 minuutin kuluttua ovat kaikki aineet liuenneet ja seos on kirkas ja noin 20 minuutin kuluttua alkaa DCH kiteytyä. Seoksen annetaan seistä yön yli, jonka jälkeen sitä hämmennetään 30 minuutin ajan 0^o:ssa, DCH suodatetaan pois ja suodos haihdutetaan öljyksi. Tämä kuumennetaan 14 ml:ssa metanoli-jääetikka-H₂O-seosta (94:3:3) yhden tunnin kuluessa 60^o:een, liuos 30 haihdutetaan 3 ml:aan ja raakatuote saostetaan 30 ml:lla diisopropyylieetteriä ja kuivataan. Etikkahapon poistamiseksi

tuote liuotetaan n-butanoliin, pestään peräkkäin 5 % NaHCO_3 -liuoksella ja vedellä ja butanolifaasi haihdutetaan taas kuiviin. Puhdistetaan kromatografisesti 30 g:lla piihappogeeliä (Merck Nr. 60, 230-400 mesh), eluointi suoritetaan

5 kloroformi-metanoli-seoksella (75:25), saadaan Z-Sta- β -Ala-His- NH_2 ; R_f (G) = 0,28.

Vaihe 20.7: Seosta, jossa on 240 mg Z-Sta- β -Ala-His NH_2 :a 10 ml:ssa 95 % metanolia, hydrataan 50 mg:lla Pd-hiiltä (10 % Pd) CO_2 -absorptiolla, kunnes liuos on kyllästetty.

10 Katalysaattori suodatetaan pois, suodos haihdutetaan kuiviin ja kiinteä, amorfinen jäännös jauhetaan ja kuivataan suurtyhjössä, jonka jälkeen saadaan H-Sta- β -Ala-His- NH_2 : R_f (E) = 0,11; R_f (M) = 0,26.

Esimerkki 21:

15 98 mg Z-Arg-Arg-Pro-Phe-His-Sta- β -Ala-His- NH_2 (esimerkistä 20) liuotetaan 2 ml:aan 95 % MeOH ja hydrataan 20 mg:lla Pd-hiiltä (10 % Pd), sekoittamalla magneetilla ja johtamalla seokseen vetyä, kunnes lähtöaine on hävinnyt. Sen jälkeen katalysaattori suodatetaan pois, suodos haihdutetaan kuiviin

20 ja lasimainen jäännös liuotetaan 2 ml:aan vettä ja lyofilisoidaan, saadaan H-Arg-Arg-Pro-Phe-His-Sta- β -Ala-His- NH_2 amorfisena jauheena; R_f (D) = 0,05; R_f (M) = 0,06; R_f (O) = 0,06.

Esimerkki 22:

25 333 mg Z-Arg-Arg-Pro-Phe-His-OH x 3 HCl:a (katso vaihe 4.4; sisältää 24 paino-% NaCl), 106 mg H-Sta-Lac-His- NH_2 x 2 HCl:a, 36 mg HOBt x H_2O ja 64 l N-metyyli-morfoliinia liuotetaan 1 ml:aan DMF:a. 0° :ssa lisätään 86 mg DCCI:a, hämmennetään seosta 10 minuutin ajan ja annetaan sen jälkeen seistä

30 tä 15 tuntia 0° :ssa ja kaksi päivää huoneen lämpötilassa. Liukenemattomat aineosat (NaCl ja DCH) suodatetaan pois ja pestään DMF-liuoksella, suodos haihdutetaan öljyksi, kuumenetaan 10 ml:ssa metanoli-jääetikka- H_2O -seosta (94:3:3)

yhden tunnin kuluessa 60° :een ja haihdutetaan uudestaan.
 Jäännös hierretään 40 ml:n kanssa di-isopropyylieetteriä,
 dekantoidaan ja kuivataan, jonka jälkeen saadaan raakatuo-
 te, joka liuotetaan 4 ml:aan 0,05 N etikkahappoa ja muute-
 5 taan asetaattimuotoon suodattamalla hitaasti pylvään läpi
 ($\emptyset = 1$ cm; pituus 10 cm), joka sisältää heikosti emäksisen
 ioninvaihtajan (asetattimuoto; Merck II). Eluaatti konsen-
 troidaan noin 3 ml:aan ja lyofilisoidaan ja jäännös puhdis-
 tetaan Craig-jakaantumisen avulla suorittamalla 920 vaihet-
 10 ta systeemissä n-butanoli-jääetikka- H_2O (4:1:5) ($K = 0,14$).
 Puhtaat fraktiot yhdistetään, haihdutetaan kuiviin, jäännös
 liuotetaan 2 ml:aan vettä ja lyofilisoidaan. Näin saatu Z-
 Arg-Arg-Pro-Phe-His-Sta-Lac-His- NH_2 -asetatti on amorfinen
 ja hyvin vesiliukoinen; R_f (D) = 0,23; R_f (M) = 0,36; R_f
 15 (O) = 0,29.

Lähtöaineena käytetty H-Sta-Lac-His- NH_2 saadaan seuraavalla tavalla:

Vaihe 22.1: Liuokseen, jossa on 138 mg (3S,4S)-N-Boc-sta-
 tiinia (valmistus: vrt. esim. D.H.Rich et al., J.Org.Chem 43,
 20 3624 (1978)), 90 mg L-maitohappobentsyyliesteriä ja 62 mg 4-
 dimetyyliaminopyridiiniä liuotettuna 9 ml:aan absoluuttista
 metyleenikloridia (suodatettu alumiinumoksidin läpi, jonka
 aktiivisuusaste I), lisätään 25° :ssa liuos, jossa on 124 mg
 DCCI:a 3 ml:ssa absoluuttista metyleenikloridia. Saadusta
 25 liuoksesta saostuu muutaman minuutin kuluttua DCH. Kahden
 tunnin kuluttua suodatetaan ja suodos haihdutetaan pieneen
 tilavuuteen. Jäljelle jäävä liuos pikakromatografoidaan 90
 g:lla piihappogeeliä (raekoko 0,04-0,063 mm) noin 0,3 baarin
 paineessa (ajoliuos: CH_2Cl_2 -dietyylieetteri (4:1); fraktiot
 30 ä noin 20 ml). Fraktiot 6 ja 7 yhdistetään ja liuotin pois-
 tetaan pyöröhaihduttimessa. Saadaan Boc-Sta-Lac- $OCH_2-C_6H_5$
 kellertävänä öljynä, joka käytetään suoraan vaiheessa 22.2;
 R_f (CH_2Cl_2 -dietyylieetteri (4:1)) = 0,44.

Vaihe 22.2: Liuosta, jossa on 79 mg Boc-Sta-Lac-OCH₂-C₆H₅:a 10 ml:ssa absoluuttista dioksaania, hydrataan 20 mg:n palladium-hiili-katalysaattoria läsnäollessa (10 % Pd) 25^o:ssa 4 tunnin ajan. Katalysaattori suodatetaan pois, suodos
 5 haihdutetaan ja jäännös kuivataan suurtyhjössä. Saadaan Boc-Sta-Lac-OH värittömänä öljynä, joka käytetään suoraan vaiheessa 22.3; R_f (G) = 0,60.

Vaihe 22.3: 63 mg Boc-Sta-Lac-OH, 28 mg H-His-NH₂ ja 28 mg HOBt x H₂O liuotetaan 2 ml:aan DMF:a. Liuos jäädytetään
 10 jäähauteessa ja siihen lisätään 49 mg DCCI:a. Sitä hämmennetään 4 tuntia 0^o:ssa ja 16 tuntia 25^o:ssa, jolloin DCH saostuu. Suspensio suodatetaan, suodos haihdutetaan suurtyhjössä ja jäännös liuotetaan 3 ml:aan metanoli-jääetikka-vesiseosta (94:3:3) ja hämmennetään 1 tunti 60^o:ssa. Suspensio
 15 haihdutetaan uudestaan, jäännös lietetään pieneen määrään metanoli-etikkaesteri-seosta (1:1), suodatetaan ja suodos haihdutetaan kuiviin. Jäännös pikakromatografoidaan 35 g:lla piihappogeeliä noin 0,3 baarin paineessa (ajoliuos: metyleenikloridimetanoli-kons.vesipitoinen ammoniakkiliuos (80:10:1),
 20 fraktiot $\bar{a}$ noin 10 ml). Fraktiot 24-35 yhdistetään, liuotin poistetaan, jäännös liuotetaan pieneen määrään metanolia, liuos suodatetaan ja suodos haihdutetaan uudestaan. Jäännös kuivataan suurtyhjössä, jonka jälkeen saadaan Boc-Sta-Lac-His-NH₂ värittömänä jauheena, joka käytetään suoraan vaiheessa 22.4; R_f (CH₂Cl₂-MeOH-kons.vesipitoinen ammoniakkiliuos
 25 (40:10:1)) = 0,62.

Vaihe 22.4: 118 mg Boc-Sta-Lac-His-NH₂:a liuotetaan 1,18 ml:aan metanolia, lisätään 2,36 ml 5 N HCl dioksaanissa ja seoksen annetaan seistä 2 minuutin ajan. Öljy saostetaan li-
 30 säämällä 30 ml di-isopropyylieetteri-petrolieetteri-seosta (1:1), annetaan seistä 20 minuuttia 0^o:ssa, dekantoidaan yllä oleva emäliuos ja kuivataan öljy suurtyhjössä. Jäännös liuotetaan 4 ml:aan vettä ja lyofilisoidaan, jolloin saadaan

H-Sta-Lac-His-NH₂ (hydrokloridina) amorfisen, hygroskooppi-
sen jauheen muodossa; R_f (B) = 0,05; R_f (M) = 0,38; R_f (O)
= 0,26.

Esimerkki 23:

- 5 30 mg Z-Arg-Arg-Pro-Phe-His-Sta-Lac-His-NH₂ (katso esimerkki
22) liuotetaan 1 ml:aan 95 % metanolia ja siihen lisätään
10 mg Pd-hiiltä (10 % Pd), jonka jälkeen seos hydrataan häm-
mentämällä sitä ja johtamalla siihen vetyä. Kun reaktio on
tapahtunut (ohutkerros-kontrollit), katalysaattori suodate-
10 taan pois, suodos haihdutetaan kuiviin, jäännös liuotetaan
0,6 ml:aan vettä ja lyofilisoidaan, jonka jälkeen saadaan
H-Arg-Arg-Pro-Phe-His-Sta-Lac-His-NH₂ asetaattimuodossa,
vesiliukoisena jauheena; R_f (D) = 0,07; R_f (M) = 0,09; R_f
(O) = 0,09.

15 Esimerkki 24:

Tässä selityksessä esitetyllä tavalla saadaan:

Z-Arg-Arg-Pro-Phe-His-Sta(Ac)-Ile-His-Lys(Boc)-OCH₃,

H-Pro-His-Pro-Phe-His-Sta-Phe-Ile-His-Lys-OH; R_f (M) = 0,14
ja R_f (N) = 0,14,

- 20 H-Arg-D-Arg-Pro-Phe-His-Sta-Ile-His-Lys-OH (vrt. esimerkki 3);
 R_f (M) = 0,06, R_f (N) = 0,08 ja R_f (D) = 0,12,

H-Pro-His-Pro-Phe-D-His-Sta-Phe-Ile-His-Lys-OH; R_f (M) =
0,15, R_f (K) = 0,23 ja R_f (D) = 0,17,

- 25 H-Pro-His-Pro-Phe-His-(3R,4S)-Sta-Ile-His-Lys-OH; R_f (M) =
0,125, R_f (K) = 0,14 ja R_f (D) = 0,125,

H-Pro-His-Pro-Phe-D-His-Sta-Ile-His-Lys-OH; R_f (M) = 0,10,
 R_f (K) = 0,21 ja R_f (D) = 0,125,

Z-Ile-His-Pro-Phe-His-Sta-Ile-His-Lys(Boc)-OMe; R_f (B) = 0,30 ja R_f (E) = 0,71,

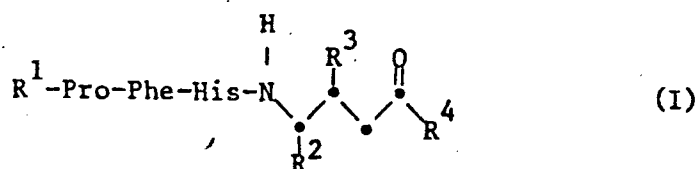
H-Ile-His-Pro-Phe-His-Sta-Ile-His-Lys-OH; R_f (M) = 0,21,
 R_f (N) = 0,14 ja R_f (D) = 0,20,

5 Z-Arg-His-Pro-Phe-His-Sta-Ile-His-Lys(Boc)-OMe; R_f (B) = 0,58, R_f (M) = 0,52 ja R_f (E) = 0,19,

H-Arg-His-Pro-Phe-His-Sta-Ile-His-Lys-OH; R_f (M) = 0,04,
 R_f (N) = 0,13 ja R_f (D) = 0,08.

Patenttivaatimukset

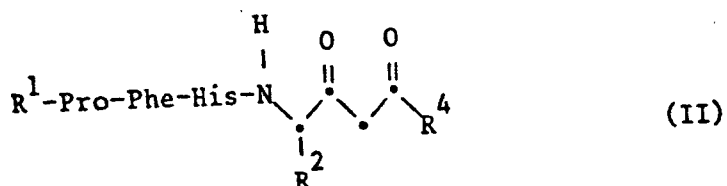
1. Menetelmä kaavan (I) mukaisen yhdisteen valmistamiseksi



jossa R^1 tarkoittaa vetyä tai asyyliä, R^2 tarkoittaa alkyyliä tai aralkyyliä, R^3 vapaata tai funktionaalisesti muunnettua hydroksia, R^4 tarkoittaa vapaata tai substituoitua aminoa tai vapaata tai eetteröityä hydroksia ja -Pro-, -Phe- sekä -His- tarkoittavat aminohappojen proliinin, fenyylialaniinin sekä histidiinin tai näiden (D)-isomeerien bivalenttisia tähteitä, ja tällaisen, ainakin yhden suolaa muodostavan ryhmän sisältävän yhdisteen suolaa, t u n n e t t u siitä, että

a) kaavan (I) mukaisen yhdisteen amidisidos valmistetaan saatamalla vastaava, vapaan karboksyyli ryhmän sisältävä osayhdiste tai sen reaktiokykyinen happojohdannainen reagoimaan täydentävän, vapaan aminoryhmän sisältävän osayhdisteen tai tämän reaktiokykyisen, aktivoidun aminoryhmän sisältävän johdannaisen kanssa, jolloin reaktiokomponenteissa esiintyvät, vapaat funktionaaliset ryhmät, lukuunottamatta edellä mainittuun reaktioon osallistuvia ryhmiä, ovat mahdollisesti suojatussa muodossa, ja tarvittaessa esiintyvät suojaryhmät lohkaistaan pois, tai

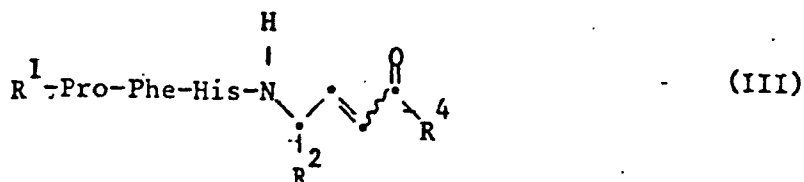
b) kaavan (I) mukaisen yhdisteen valmistamiseksi, jossa R^3 tarkoittaa vapaata hydroksia, ketoryhmä kaavan (II) mukaisessa yhdisteessä



jossa substituentit tarkoittavat samaa kuin edellä, sillä edellytyksellä, että yhdisteessä esiintyvät vapaat, funktionaaliset ryhmät, lukuunottamatta reaktioon osallistuvaa ketoryhmää, ovat mahdollisesti suojatussa muodossa, pelkistetään hydroksiryhmäksi saattamalla yhdiste reagoimaan alue-

5 selektiivisen pelkistysaineen kanssa, ja tarvittaessa esiintyvät suojaryhmät lohkaistaan pois, tai

c) kaavan (III) mukaisen yhdisteen C=C-kaksoissidokseen



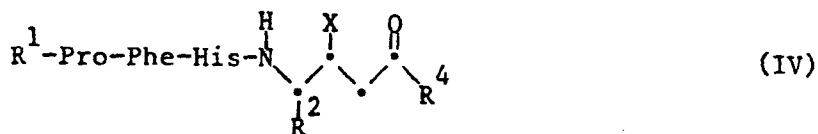
jossa kaavassa substituentit tarkoittavat samaa kuin edellä

10 sillä edellytyksellä, että yhdisteessä esiintyvät vapaat funktionaaliset ryhmät, lukuunottamatta reaktioon osallistuvaa kaksoissidosta, ovat mahdollisesti suojatussa muodossa, liitetään alueselektiivisesti kaavan $\text{R}^3\text{-H}$ mukainen yhdiste,

jossa R^3 tarkoittaa samaa kuin edellä, ja tarvittaessa esiin-

15 tyvät suojaryhmät lohkaistaan pois, tai

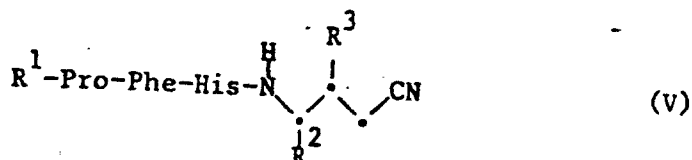
d) kaavan (IV) mukaisessa yhdisteessä



jossa X tarkoittaa hyvää poistoryhmää ja muut substituentit tarkoittavat samaa kuin edellä sillä edellytyksellä, että yhdisteessä esiintyvät vapaat, funktionaaliset ryhmät, lukuunottamatta reaktioon osallistuvaa ryhmää, ovat mahdollisesti suojatussa muodossa, substituentti X vaihdetaan substituentin R^3 nukleofiiliseen muotoon saattavalla reagenssilla substituenttiin R^3 , ja tarvittaessa esiintyvät suojaryhmät lohkaistaan pois, tai

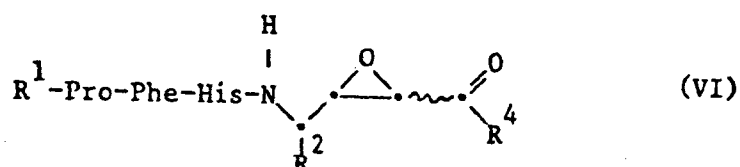
20

e) kaavan (I) mukaisen yhdisteen valmistamiseksi, jossa R^4 tarkoittaa vapaata tai substituoitua aminoa, syanoryhmä kaavan (V) mukaisessa yhdisteessä



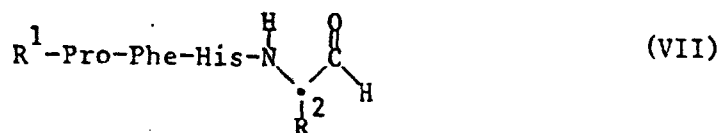
5 jossa substituentit tarkoittavat samaa kuin edellä, muutetaan mahdollisesti N-substituoiduksi amidiryhmäksi, tai

f) kaavan (I) mukaisen yhdisteen valmistamiseksi, jossa R^3 tarkoittaa vapaata hydroksia, kaavan (VI) mukainen epoksidi



10 jossa substituentit tarkoittavat samaa kuin edellä, sillä edellytyksellä, että yhdisteessä esiintyvät vapaat, funktionaaliset ryhmät, lukuunottamatta reaktioon osallistuvaa epoksiryhmää, ovat mahdollisesti suojatussa muodossa, pelkistetään alueselektiivisellä pelkistysaineella vastaavaksi alkoholiksi, ja tarvittaessa esiintyvät suojaryhmät lohkaistaan pois, tai

15 g) kaavan (VII) mukainen yhdiste



20 jossa substituentit tarkoittavat samaa kuin edellä, sillä edellytyksellä, että yhdisteessä esiintyvät vapaat, funktionaaliset ryhmät, lukuunottamatta reaktioon osallistuvaa aldehydiryhmää, ovat mahdollisesti suojatussa muodossa, saatetaan sinkillä aktivoinnin jälkeen (Reformatsky-reaktio) reagoimaan kaavan (VIII) mukaisen yhdisteen kanssa

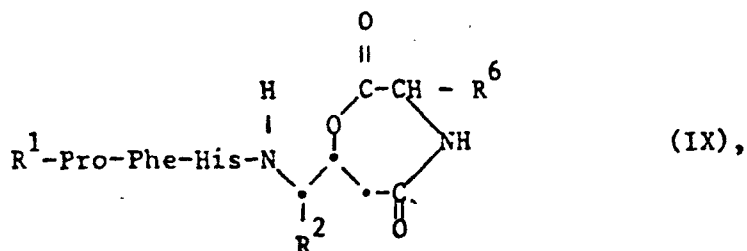


jossa R^5 tarkoittaa halogeenia, jonka atomipaino on 35-127 ja R^4 tarkoittaa samaa kuin edellä sillä edellytyksellä, että kaavan (VIII) mukaisessa yhdisteessä esiintyvät, vapaat funktionaaliset ryhmät lukuunottamatta reaktioon osallistuvaa ryhmää, ovat mahdollisesti suojatussa muodossa, ja tarvittaessa esiintyvät suojaryhmät lohkaistaan pois, tai

h) kaavan (I) mukaisessa yhdisteessä, jossa substituentit tarkoittavat samaa kuin edellä sillä edellytyksellä, että kaavan (I) mukaisessa yhdisteessä esiintyy ainakin yksi vapaa amino-, hydroksi-, merkaptoto- tai karboksiryhmä ja muut funktionaaliset ryhmät ovat mahdollisesti suojatussa muodossa, ainakin yksi vapaa amino-, hydroksi- tai merkaptoryhmä asyloidaan liitettävän tähteen sisältävällä karboksyylihapolilla tai sen reaktiokykyisellä johdannaisella tai ainakin yksi vapaa karboksiryhmä tai sen reaktiokykyinen johdannainen esteröidään, ja tarvittaessa esiintyvät suojaryhmät lohkaistaan pois, tai

i) kaavan (I) mukaisessa yhdisteessä, jossa substituentit tarkoittavat samaa kuin edellä sillä edellytyksellä, että kaavan (I) mukaisessa yhdisteessä esiintyy ainakin yksi vapaa amino-, hydroksi- tai merkaptoryhmä ja muut funktionaaliset ryhmät ovat mahdollisesti suojatussa muodossa, ainakin yksi vapaa aminoryhmä alkyloidaan tai yksi vapaa hydroksi- tai merkaptoryhmä eetteröidään, ja tarvittaessa esiintyvät suojaryhmät lohkaistaan pois, tai

j) kaavan (I) mukaisen yhdisteen valmistamiseksi, jossa R^4 tarkoittaa mahdollisesti vastaavasti substituoidun aminohapon N-päätteistä tähdettä, avataan kaavan (IX) mukainen laktoni



jossa R^1 ja R^2 tarkoittavat samaa kuin edellä ja R^6 tarkoittaa luonnossa esiintyvän, kaavan (X) mukaisen aminohapon tai sen (D)-isomeerin vastaavaa tähdettä



joka karboksyyli- tai aminoryhmän välityksellä tähteessä R^6 voi olla amidisesti sitoutunut toiseen luonnossa esiintyvään aminohappoon tai luonnossa esiintyvistä aminohapoista tai niiden (D)-isomeereistä rakentuneeseen, 2-5 aminohappoa sisältävään peptidiin, jolloin vapaat, funktionaaliset ryhmät näissä aminohapoissa ovat mahdollisesti muunnetussa muodossa, tai

k) yhdisteen valmistamiseksi, joka sisältää ainakin yhden vapaan funktionaalisen ryhmän kaavan (I) mukaisessa yhdisteessä, jossa substituentit tarkoittavat samaa kuin edellä sillä edellytyksellä, että kaavan (I) mukaisessa yhdisteessä ainakin yksi funktionaalinen ryhmä on suojattu helposti poislohkauttavissa olevalla suojaryhmällä, esiintyvät suojaryhmät lohkaistaan pois mahdollisesti vaiheittain, ja, haluttaessa, sen jälkeen kun joku edellä esitetyistä menetelmistä tai jokin muu mielivaltainen menetelmä on suoritettu kaavan (I) mukaisen yhdisteen valmistamiseksi, saatu, kaavan (I) mukainen, ainakin yhden suolaa muodostavan ryhmän sisältävä yhdiste muutetaan suolakseen tai saatu suola muutetaan vapaaksi yhdisteeksi tai toiseksi suolaksi ja/tai mahdollisesti saadut stereoisomeeriseokset erotetaan ja/tai saatu, kaavan (I) mukainen yhdiste epimeroidaan.

2. Patenttivaatimuksen 1 mukainen menetelmä, t u n n e t t u
 siitä, että lähtöaineet valitaan siten, että valmistetaan
 kaavan (I) mukainen yhdiste, jossa R^1 tarkoittaa luonnossa
 esiintyvistä aminohapoista rakentuneen dipeptidin asyyli-
 5 dettä, R^2 tarkoittaa 2-metyyli-propyyliä, R^3 vapaata hydrok-
 sia ja R^4 tarkoittaa luonnossa esiintyvistä aminohapoista ra-
 kentuneen di- tai tripeptidin N-päätteistä tähdettä, tai täl-
 laisen yhdisteen, joka sisältää ainakin yhden suolaa muodos-
 tavan ryhmän, farmaseuttisesti käyttökelpoinen suola, lukuun-
 10 ottamatta yhdisteitä H-Pro-His-Pro-Phe-His-Sta-Leu-Phe-NH₂,
 N-isovaleryyli-Pro-His-Pro-Phe-His-Sta-Leu-Phe-NH₂ ja N-tert.
 butyylioksikarbonyyli-Pro-His-Pro-Phe-His-Sta-Leu-Phe-NH₂.

3. Patenttivaatimuksen 1 mukainen menetelmä, t u n n e t t u
 siitä, että lähtöaineet valitaan siten, että valmistetaan
 15 kaavan (I) mukainen yhdiste, jossa R^1 tarkoittaa tähdettä
 H-Pro-His-, R^2 2-metyyli-propyyliä, R^3 vapaata hydroksia ja
 R^4 tähdettä -Val-Tyr-Lys-OH, -Ile-His-Lys-OH, -Ile-His-Ser-
 OH, -Val-Tyr-Ser-OH, -Val-Tyr-OH, -Ile-His-OH, -Val-Tyr-NH₂,
 -Ile, His-NH₂ tai -Ala-Sta-OH tai tällaisen yhdisteen, joka
 20 sisältää ainakin yhden suolaa muodostavan ryhmän, farmaseut-
 tisesti käyttökelpoinen suola.

4. Patenttivaatimuksen 1 mukainen menetelmä, t u n n e t t u
 siitä, että lähtöaineet valitaan siten, että valmistetaan
 kaavan (I) mukainen yhdiste, jossa R^1 tarkoittaa tähdettä
 25 H-Ile-His-, R^2 2-metyyli-propyyliä, R^3 vapaata hydroksia
 ja R^4 tarkoittaa tähdettä -Val-Tyr-Lys-OH, -Ile-His-Lys-OH,
 -Ile-His-Ser-OH, -Val-Tyr-Ser-OH, -Val-Tyr-OH, -Ile-His-OH,
 -Val-Tyr-NH₂, Ile-His-NH₂ tai -Ala-Sta-OH tai tällaisen yh-
 disteen, joka sisältää ainakin yhden suolaa muodostavan ryh-
 30 män, farmaseuttisesti käyttökelpoinen suola.

5. Jonkin patenttivaatimuksista 1-4 mukainen menetelmä,
 t u n n e t t u siitä, että lähtöaineet valitaan siten, että

valmistetaan kaavan (I) mukainen yhdiste, joka sisältää ainakin kaksi aminohappoa, jotka ovat eri kuin α -aminohappoja, tai tällaisen, ainakin yhden suolaa muodostavan ryhmän sisältävän yhdisteen suola.

5 6. Patenttivaatimuksen 5 mukainen menetelmä, t u n n e t t u siitä, että lähtöaineet valitaan siten, että valmistetaan kaavan (I) mukainen yhdiste, joka sisältää sekvenssi -Sta-Ala-Sta- tai tällaisen, ainakin yhden suolaa muodostavan ryhmän sisältävän yhdisteen suola.

10 7. Patenttivaatimuksen 1 mukainen menetelmä, t u n n e t t u siitä, että lähtöaineet valitaan siten, että valmistetaan kaavan (I) mukainen yhdiste, joka sisältää aminohapon sijasta ainakin yhden hydroksikarboksyylihapon, tai tällaisen ainakin yhden suolaa muodostavan ryhmän sisältävän yhdisteen
15 suola.

8. Jonkin patenttivaatimuksista 1,2 tai 5-7 mukainen menetelmä, t u n n e t t u siitä, että lähtöaineet valitaan siten, että valmistetaan kaavan (I) mukainen yhdiste, jossa R^1 tarkoittaa tähdettä H-Arg-Arg-, tai tällaisen ainakin yhden suolaa muodostavan ryhmän sisältävän yhdisteen suola.
20

9. Jonkin patenttivaatimuksista 1-8 mukainen menetelmä, t u n n e t t u siitä, että lähtöaineet valitaan siten, että valmistetaan kaavan (I) mukainen yhdiste, jossa vapaat aminoryhmät ovat suojatussa muodossa, tai tällaisen, ainakin yhden
25 suolaa muodostavan ryhmän sisältävän yhdisteen suola.

10. Jonkin patenttivaatimuksista 1-9 mukainen menetelmä, t u n n e t t u siitä, että lähtöaineet valitaan siten, että valmistetaan kaavan (I) mukainen yhdiste, jossa vapaat karboksyyli-ryhmät ovat suojatussa muodossa, tai tällaisen, ainakin
30 yhden suolaa muodostavan ryhmän sisältävän yhdisteen suola.

11. Patenttivaatimuksen i mukainen menetelmä, t u n n e t t u siitä, että lähtöaineet valitaan siten, että valmistetaan Z-Arg-Arg-Pro-Phe-His-Sta-Ile-His-Lys(Boc)-OMe tai sen farmaseuttisesti hyväksyttävä suola.

Viitejulkaisuja - Anförda publikationer

Julkisia suomalaisia patenttihakemuksia: - Offentliga finska patentansökningar:

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

FI _____

CH _____

DE _____

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. H 45665, H 77 028, H 81783, H 104 041
H 104 964 (COC 103/52)

WO

Muita julkaisuja: - Andra publikationer:

Anja Laitas

Allekirjoitus