



SUOMI-FINLAND

(FI)

Patentti- ja rekisterihallitus
Patent- och registerstyrelsen

C (4) 1983 0001 0001 0001 0001 0001 0001 0001 0001 0001

(51) Kv.1k.5 - Int.cl.5

C 07K 5/08

(21) Patenttihakemus - Patentansökning	840259
(22) Hakemispäivä - Ansökningsdag	23.01.84
(24) Alkuperä - Löpnummer	23.01.84
(41) Tullut julkiseksi - Blivit offentlig	26.07.84
(44) Nähtävaksipanon ja kuul.julkaisun pvm. - Ansökan utlagd och utl.skriften publicerad	15.04.91
(32) (33) (31) Etuoikeus - Prioritet	
25.01.83 CH 398/83 P	

(71) Hakija - Sökande

1. Ciba-Geigy AG, Basel, Switzerland, (CH)

(72) Keksijä - Uppfinnare

1. Baschang, Gerhard, Bückenweg 7, Bettingen, Switzerland, (CH)
 2. Hartmann, Albert, Steingasse 21A, Grenzach, BRD, (DE)
 3. Wacker, Oskar, Löwenbergstrasse 60, Basel, Switzerland, (CH)

(74) Asiamies - Ombud: Oy Jalo Ant-Wuorinen Ab

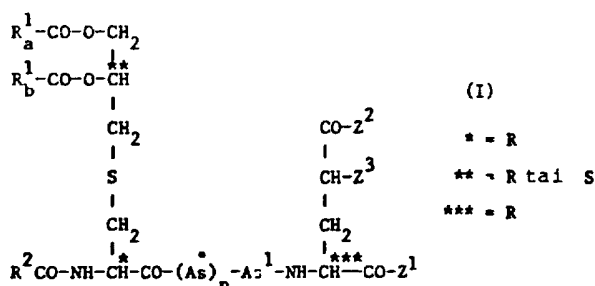
(54) Keksinnön nimitys - Uppfinningens benämning

Menetelmä farmakologisesti vaikuttavien
 N-/N-alkanoyyli-S-(2,3-dialkanoylioksi-propyyli)kysteinyyli/-peptidien valmistamiseksi
 Förfarande för framställning av farmakologiskt verkande
 N-/N-alkanoyl-S-(2,3-dialkanoyloxi-propyl)kysteinyli/-peptider

(56) Viitejulkaisut - Anförda publikationer

(57) Tiivistelmä - Sammandrag

Keksinnön kohteena ovat kaavan I



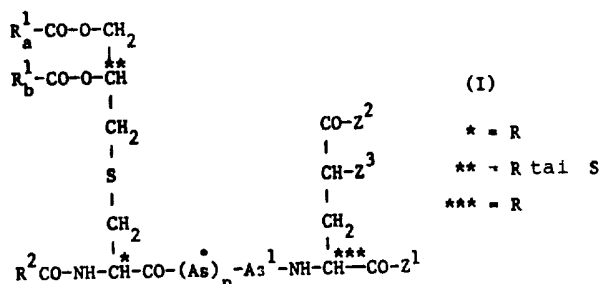
mukaiset lipopeptidit, jossa kaavassa R_a^1 ja R_b^1 merkitsevät toisistaan riippumatta alifaattista tai alifaattis-sykloalifaattista, mahdollisesti happifunktioilla substituotua, 7-21 C-atomia sisältävää hiilivetytähdettä, tai toinen tähteistä $R_a^1 - CO$ ja $R_b^1 - CO$ merkitsee vetyä ja toinen tähteistä $R_a^1 - CO$ ja $R_b^1 - CO$ merkitsee asyyliä, jolloin tähteillä R_a^1 tai vast. R_b^1 on yllä esitetty merkitys, R^2 merkitsee alifaattista tai alifaattis-sykloalifaattista, mahdollisesti happifunktioilla substituotua, 1-21 C-atomia sisältävää hiilivetytähdettä,

$n = 0$ tai 1 , As^0 merkitsee kaavan $-O-Kw-CO-$ tai $-NH-Kw-CO-$ mukaista tähdettä, jossa Kw merkitsee alifaattista, korkeintaan 12 C-atomia sisältävää hiilivetytähdettä, As^1 merkitsee D- tai L- α -aminohappoa, Z^1 ja Z^2 merkitsevät toisistaan riippumatta hydroksia tai D- tai L- α -amino-karboksyylihapon, amino-alempialkaanisulfonihapon tai korkeintaan 6 D- tai L- α -aminokarboksyylihappojen ja amino-alempialkaanisulfonihappojen ryhmästä valittua aminohappoa sisältävän peptidin N-terminaalista tähdettä, ja Z^3 merkitsee vetyä tai tähdettä $-CO-Z^4$, jossa Z^4 merkitsee hydroksia tai D- tai L- α -aminohapon, amino-alempialkaanisulfonihapon tai korkeintaan 6 D- tai L- α -amino-karboksyylihappojen ja amino-alempialkaanisulfonihappojen ryhmästä valittua aminohappoa sisältävän peptidin N-terminaalista tähdettä, ja sellaisten yhdisteiden amidit ja esterit, joissa on karboksyyliiryhmiä.

Uusilla lipopeptideillä on immuunistimuloiva vaikutus.

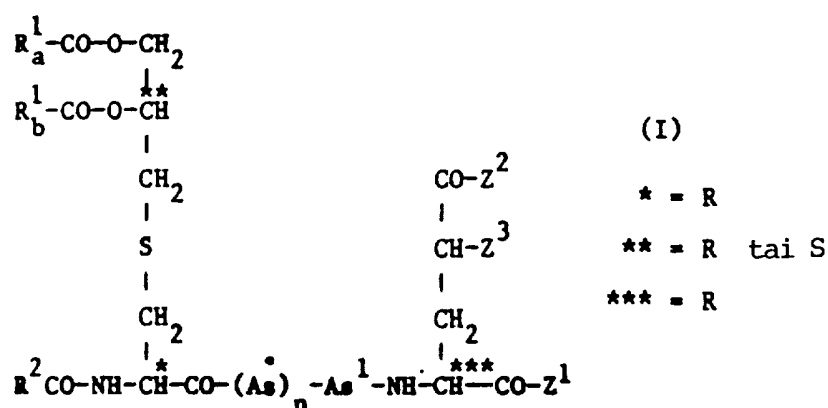
Uppfinningen avser lipopeptider med formeln I, där R_a^1 och R_b^1 betyder oberoende av varandra en alifatisk eller alifatisk-cykloalifatisk, eventuellt med syrefunktioner substituerad kolväterest med 7-21 C-atomer, eller den ena av resterna R_a^1-CO och R_b^1-CO betyder väte och den andra av resterna R_a^1-CO och R_b^1-CO en acylrest, varvid R_a^1 resp. R_b^1 har den ovannämnda betydelsen, R^2 betyder en alifatisk eller alifatisk-cykloalifatisk, eventuellt med syrefunktioner substituerad kolväterest med 1-21 C-atomer, $n = 0$ eller 1 , As^0 betyder en rest med formeln $-O-Kw-CO-$ eller $-NH-Kw-CO-$, i vilken Kw betyder en alifatisk kolväterest med högst 12 C-atomer, As^1 betyder en D- eller L- α -aminosyra, Z^1 och Z^2 betyder oberoende av varandra hydroxi eller den N-terminala resten av en D- eller L- α -amino-karboxylsyra, en amino-lågalkansulfonsyra eller en peptid med maximalt 6 aminosyror ur gruppen D- eller L- α -amino-karboxylsyror och amino-lågalkansulfonsyror, och Z^3 betyder väte eller $-CO-Z^4$, i vilken Z^4 betyder hydroxi eller den N-terminala resten av en D- eller L- α -aminosyra, en amino-lågalkansulfonsyra eller en peptid med maximalt 6 aminosyror ur gruppen D- eller L- α -amino-karboxylsyror och amino-lågalkansulfonsyror, samt amiderna och estrarna av sådana föreningar, vilka uppvisar karboxylgrupper.

De nya lipopeptiderna har immunstimulerande verkan.



Menetelmä farmakologisesti vaikuttavien N-[N-alkanoyyli-S-(2,3-dialkanoyylioksi-propyyli)kysteinyyli]-peptidien valmistamiseksi - Förfarande för framställning av farmakologiskt verkande N-[N-alkanoyl-S-(2,3-dialkanoyloxi-propyl)-kysteinyli]-peptider

Keksinnön kohteena on menetelmä farmaseuttisesti vaikuttavien N-[N-alkanoyyli-S-(2,3-dialkanoyylioksi-propyyli)-kysteinyyli]-peptidien valmistamiseksi, joilla on kaava I



jossa R_a^1 ja R_b^1 tarkoittavat kumpikin 7-21 C-atomia sisältävää alkyylitähdettä, R^2 tarkoittaa 7-21 C-atomia sisältävää alkyylitähdettä, $n = 0$ tai 1 , As° on kaavan $-\text{NH}-\text{Kw}-\text{CO}-$ mukainen tähde, jossa Kw tarkoittaa alkylideenitähdettä, jossa on korkeintaan 6 C-atomia, As^1 on L-alaniini-, L- α -aminovoihappo-, L-valiini-, N-metyyli-L-alaniini- tai L-seriinitähde, Z^1 on amino tai hydroksi, Z^2 on amino, hydroksi, L-alanyyli, L-lysyyl-L-lysiini, glysyyl-L-auriini, L-arginyyli tai L-lysyyl-L-alaniini ja Z^3 tarkoittaa vetyä tai karboksia, tai tällaisen yhdisteen, jossa on vähintään yksi karboksyyli-ryhmä, alempialkyyliesterin valmistamiseksi, jolloin merkeillä $\star$, $\star\star$ tai vastaavasti $\star\star\star$ merkityillä asymmetriakeskuksilla on esitetyt absoluuttiset konfiguraatiot, ja konfiguraatio ryhmän Z^3 sisältävässä asymmetrisessä C-atomissa voi olla R tai S, tai vastaavien diastereomeeriseosten tai tällaisten, vähintään yhden suolanmuodostavan ryhmän

sisältävien yhdisteiden suolojen valmistamiseksi.

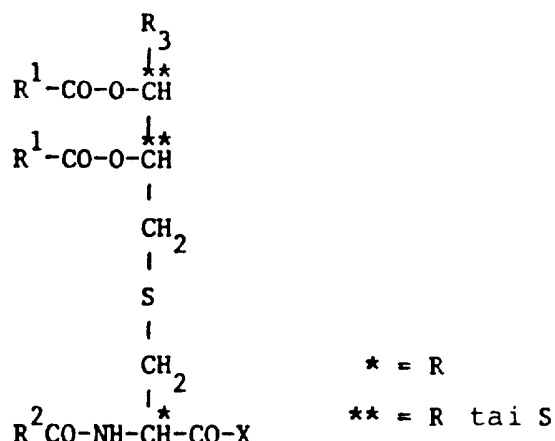
Seuraavassa käytetään yllämainituista yhdisteistä myös nimitystä "kaavan I mukaiset lipopeptidit". Tällöin tarkoitetaan, mikäli toisin ei asian yhteydestä ilmene, käsitteellä "kaavan I mukaiset lipopeptidit" myös niiden kaikkia yllä mainittuja johdannaisia, diastereomeeriseoksia ja suoloja.

Edullisia ovat etenkin yllä mainitut yhdisteet, joissa tähteillä R_a^1 ja R_b^1 on sama merkitys.

Kun α -aminohappojen yhteydessä ei ole annettu lähempää selitystä, tarkoitetaan L-konfiguraatiota. Käytetään seuraavia suluissa olevia lyhenteitä: glysiini (Gly), alaniini (Ala), N-metyyli-alaniini (MeAla), seriini (Ser), α -aminovoihappo (Abu), valiini (Val), lysiini (Lys), arginiini (Arg), glutamiinihappo (Glu), glutamiini (Gln) ja γ -karboksi-glutamiinihappo (Gla).

Kansainvälisesti tunnustettujen nimistösääntöjen mukaisesti tässä hakemuksessa aminohappojen lyhenteet, esim. yllä mainitut lyhenteet merkitsevät vapaata happoa ja mikäli toisin ei ole esitetty, L-konfiguraatiota. α -aminoryhmä on ajateltava lyhenteen vasemmalle puolelle, karboksiryhmä oikealle puolelle. H-atomien puuttuminen α -aminoryhmässä on merkitty aminohapon lyhenteestä vasemmalle olevalla yhdysviivalla, kahden H-atomien puuttuminen kahdella vasemmalle olevalla yhdysviivalla. HO-ryhmän puuttuminen karboksiryhmässä on merkitty oikealla olevalla yhdysviivalla. Aminohappojen sivuketjussa olevat substituentit asetetaan välittömästi aminohapposymbolin taakse sulkuihin. Siten merkitsee esim. palmitoyyli-Cys(2[R],3-dilauroyylioksi-propyyli)-Ala-D-Glu(OtBu)-NH₂ N-palmitoyyli-S-(2[r],3-dilauroyyli-oksi-propyyli)kysteinyyli-alanyyli-D-isoglutaminyyli-tert.-butyyliesteriä.

Eurooppalaisessa patenttijulkaisussa 0 000 330 on esitetty kaavan



mukaisia lipopeptidejä, joissa R_1 ja R_2 merkitsevät kulloinkin tyydytettyä tai tyydyttymätöntä, alifaattista tai seka-alifaattis-sykloalifaattista, mahdollisesti myös happifunktioilla substituoitua, 11-21 C-atomia sisältävää hiilivetytähdetä, R_3 merkitsee vetyä tai tähdetä $R_1-CO-O-CH_2-$, jossa tähteellä R_1 on sama merkitys, ja X merkitsee peptidisesti sidottua luonnollista alifaattista, vapaan, esteröidyn tai amidoidun karboksyyliyhdyntä sisältävää aminohappoa, tai aminohapposekvenssiä, jossa on 2-10 luonnollista alifaattista aminohappoa, joiden terminaalinen karboksyyliyhdyntä esiintyy vapaassa, esteröidyssä tai amidoidussa muodossa. Näillä yhdisteillä on immunopotensoivia ominaisuuksia eivätkä ne ole edes korkeissa konsentraatioissa lymfosytotoksisia. Tällöin peptidiketju X muodostuu mielivaltaisesti muodostetusta luonnollisten aminohappojen sekvenssistä, kun taas *Escherichia coli*-organismin ulomman soluseinämän lipoproteiineista hajaantumisella saaduissa luonnollisissa lipopeptideissä (vrt. esim. *Eur.J.Biochem.* 34, 284-296 (1973)) vain sekvenssi -Ser-Ser-Asn-Ala-Lys-OH on sidottu "glyserylikysteiniin"-osaan.

Mainitussa eurooppalaisessa patenttijulkaisussa peptidisekvenssin X muodostavat aminohapot ovat peptidien ja proteiinien luonnollisia, L-sarjaan kuuluvia tunnettuja klassisia osia. Kuten yllä olevasta kaavasta I nähdään, sisältää

sitä vastoin vastaava sekvenssi lipopeptideissä esillä olevan keksinnön mukaisesti luonteenomaisena tunnusmerkkinä D-aminohapon, nimittäin D-glutamiinihapon (D-Glu) tai D- γ -karboksi-glutamiinihapon (D-Gla) tai niiden estereitä tai amideja. Nyt on esillä olevan keksinnön mukaisesti todettu, että tällaisilla yhdisteillä on mainitun eurooppalaisen patenttijulkaisun yhdisteisiin verrattuna parempi farmakologinen vaikutus. Siten kaavan I mukaiset yhdisteet, niiden mainitut johdannaiset ja suolat stimuloivat jo 0,01 $\mu\text{g/ml}$:n annoksena hiiren B-lymfosyyttien in vitro tymidiini-liitäännällä määrättyä proliferaatiota 100-kertaisesti verrattuna ei-stimuloituihin kontrolli-lymfosyytteihin, kun taas mainitun eurooppalaisen patenttijulkaisun yhdisteissä näin on vasta 0,5 $\mu\text{g/ml}$:n annoksena ja stimuloinnin määrä on vain 20-... 50-kertainen kontrolleihin nähden. Uudet lipopeptidit ovat esillä olevan keksinnön mukaisesti aktiivisia jo konsentraatioina, joina tähän asti tunnetulla B-solumitogeeneilla (esim. purified prontein derivative = PPD tai Escherichia coli-organismista peräisin oleva lipoproteiini ja lipopolysakkaridi) ei ole vielä mitään vaikutusta.

Tämän lisäksi pystyvät nämä yhdisteet aktivoimaan rotan ja hiiren alveolaarimakrofagit in vitro, niin että nämä voivat tappaa aineella suoritettuna 24 tuntisen inkubaation jälkeen tuumorisoluja. Jos nämä yhdisteet annetaan liposomeihin (multilamellaarisiin rakkuloihin) liitettyinä alveolaarimakrofageihin yhdisteet pystyvät indusoimaan 0,2 $\mu\text{g}/0,2$ ml:lla viljelyä tumoritsidaalisia makrofageja, kun taas mainitun eurooppalaisen patenttijulkaisun yhdisteet pystyvät tähän vasta 10-kertaa suurempana annoksena.

Myös in vivo malleissa on uusille yhdisteille ominaista korkea biologinen aktiivisuus: NMRI-hiiret immunisoidaan 0. päivänä intraperitoneaalisella injeksiolla, joka sisältää 10 μg naudan seerumialbumiinia (BSA). 8, 18 ja 28 päivän kuluessa otetaan seerumikokeet ja tutkitaan ne niiden anti-BSA-vasta-ainepitoisuuden suhteen passiivisella hemagglutinaatio-

tekniikalla. Käytettynä annoksen BSA on vastaanottajaeläimille subimmunogeeninen, so. se ei pysty liuottamaan vasta-aineita tai se tuottaa vain vähän näitä. Tässä testissä pysyivät nyt keksinnön mukaiset yhdisteet kohottamaan merkittävästi vasta-ainetuotantoa BSA:ta vastaan annettaessa niitä intraperitoneaalisesti 0,1 mg/kg (annettuna immunisointipäivänä). Etenkin korostettava mainituksa patenttijulkaisussa esitettyihin lipopeptideihin verrattuna on uusien yhdisteiden hyvä vaikutus annettaessa niitä s.c., jolloin ne ovat jo 5 mg/kg:n annoksena tehokkaita.

Esillä olevan keksinnön mukaiset uudet lipopeptidit ovat vähän toksisia: Hiiri sietää myös 5-kertaisen intraperitoneaalisen 10 mg/kg/päivä-annoksen peräkkäisinä päivinä nähtävästi symptoomeitta ja subkutaanisesti annettaessa yhdisteet ovat 300 mg/kg:n annoksiin asti myrkyttömiä. Koska immuunistimulaation tarvittavat annokset ovat hyvin pieniä, on uusien yhdisteiden terapeuttinen laajuus hyvin suuri.

Esillä olevan keksinnön mukaisia uusia lipopeptidejä voidaan käyttää adjuvantteina sekoitettuna rokotteisiin rokotustuloksen parantamiseksi ja humoraalisten vasta-aineiden ja/tai soluimmunitietin välittämän infektiosuojan parantamiseksi bakteriaalisia, viraalisia tai parasiittitaudinaineuttajia vastaan.

Uusia lipopeptidejä voidaan käyttää immuunireaktioiden edistämiseksi ihmisessä ja eläimissä. Yhdisteet soveltuvat lisäksi erityisesti ruumiin oman puolustusmekanismin stimulointiin, esim. syövän, kroonisten ja akuuttien infektioiden tai selektiivisten (antigeenispesifisten) immunologisten puutoksien, sekä synnynnäisten, mutta myös saatujen yleisten (so. ei antigeenispesifisten) immunologisten puutostilojen yhteydessä, joita esiintyy iän mukana, vaikeiden primäärisairauksien aikana ja ennen kaikkea ionisoivilla säteillä tai immunosuppressiivisesti vaikuttavilla lääkkeillä suoritetun terapian jälkeen. Mainittuja yhdisteitä voidaan antaa myös yhdessä antibioottien, kemoterapeuttisten aineiden tai

muiden aineiden kanssa immunologisten haittojen välttämiseksi. Lopuksi soveltuvat esitetyt yhdisteet myös ihmisten ja eläinten infektiosairauksien yleiseen profylaksiaan.

Asyyliähteet $R^1_a\text{CO-}$, $R^1_b\text{CO-}$ ja $R^2\text{CO}$ johtuvat alkaanihapoista, joka sisältävät 8-22, mieluummin 8-16 C-atomia. Tällaisista mainittakoon esim. tyydyttyneet, etenkin suoran, so. haarautumattoman hiiliketjun sisältävät rasvahapot, kuten kapryylihappo, pelargonihappo, kapriinihappo, undekyylihappo, lauriinihappo, myristiinihappo, palmitiinihappo, margariinihappo, steariinihappo, arakiinihappo ja behenhappo.

Kaavassa I voivat ryhmät R^1_a , R^1_b ja R^2 olla keskenään identtisiä tai ne voivat olla toisistaan poikkeavia.

Etenkin pidetään parhaimpina kaavan I mukaisia yhdisteitä ja niiden johdannaisia, joissa R^1_a ja R^1_b ovat tähteestä R^2 poikkeavia, etenkin sellaisia, joissa $R^1_a\text{CO-}$, $R^1_b\text{CO-}$ ja $R^2\text{CO-}$ merkitsevät toisistaan riippumatta kapryloyyliä, kaprinoyyliä, lauroyyliä, myristoyyliä, palmitoyyliä tai stearoyyliä.

Kaavan I mukaisten yhdisteiden alempialkyyliesterit johtuvat 1-7 C-atomia sisältävistä alkanoleista, kuten metyyli-, etyyli-, n-propyyli-, isopropyylialkoholista tai butyylialkoholeista.

Kaikki tai vain muutamit peptidiketjun karboksyyli-ryhmät voivat esiintyä esteröidyssä muodossa. Mieluummin valmistetaan yhdisteitä, joissa kyseisen aminohapon kulloinkin α -karboksyyli-ryhmä on esteröity.

Alkylideenitähteellä Kw on mieluummin 2-6 C-atomia ja se on suora tai etenkin haarautunut, esim. metyleeni, di-, tri- tai tetrametyleeni ja etenkin etylideeni, propylideeni, 2,2-dimetyylietyylideeni, butylideeni, 3,3-dimetyylipropyylideeni, 2-metyylietyylideeni, 2-etyylietyylideeni, pentylideeni. Tähde -NH-Kw-CO on esimerkiksi α -aminohappojen tähde, kuten luonnollisten aminohappojen glysiini, alaniini, α -aminovoihappo, valiini, norvaliini, leusiini, isoleusiini, norleusiinitähde, mutta se käsittää myös vastaavat R-sarjan

yhdisteet, kuten esim. D-alaniinin.

Esillä olevan keksinnön mukaisesti valmistettaville lipopeptideille on tunnusomaista, että peptidisekvenssissä seuraa aminohappoa As^1 D-glutamiinihappo (D-Glu) tai γ -karboksi-D-glutamiinihappo (D-Gla) tai niiden amidit, kuten monoamidit glutamiini $[\text{Glu}(\text{NH}_2)]$, isoglutamiini $[\text{Glu}-\text{NH}_2]$, $\text{Gla}(\text{NH}_2)$ tai $\text{Gla}-\text{NH}_2$ tai diamidit, esim. $\text{Glu}(\text{NH}_2)-\text{NH}_2$.

Parhaimina pidettyjä peptidisekvenssejä kaavan I mukaisissa yhdisteissä ja niiden johdannaisissa ovat sellaiset, joissa $n = 0$, so. sellaiset, joissa yhdyksjäsien As^0 puuttuu glyseryyli-kysteiini-osan ja aminohapon As^1 välistä, ja näistä etenkin sekvenssit:

-Ala-D-Glu
 -Ala-D-Glu- NH_2
 -Ala-D-Glu(NH_2)
 -Ala-D-Glu(NH_2)- NH_2
 -Ala-D-Glu(Ala)-OH
 -Ala-D-Glu(Ala)- NH_2

ja vastaavat sekvenssit, joissa -Ser-, -Abu- tai -Val- ovat ensimmäisen alaniini-tähteen sijalla, edelleen vastaavat sekvenssit, joiden edessä on As^0 , joka voi olla esim. D- tai L-alaniinin tai glysiinin tähde, tai jokin yllä tähteen -NH-Kw-CO- yhteydessä mainituista tähteistä.

Erityisen mielenkiintoisia ovat lipopeptidit, joissa on R-konfiguraatio ** asymmetriakeskuksessa ja joissa on 8-16 C-atomia sisältävät tähteet $\text{R}^1_{\text{a}}\text{CO-}$ ja $\text{R}^1_{\text{b}}\text{CO-}$ ja 8-16 C-atomia sisältävät tähteet $\text{R}^2\text{-CO-}$ ja yllä mainitut, parhaimpina pidetyt peptidiketjut. Mieluiten asyyli-tähteet $\text{R}^1_{\text{a}}\text{CO-}$ ja $\text{R}^1_{\text{b}}\text{CO-}$ ovat tähteestä $\text{R}^2\text{-CO-}$ poikkeavia ja $\text{R}^1_{\text{a}}\text{CO-}$, $\text{R}^1_{\text{b}}\text{CO-}$ ja $\text{R}^2\text{-CO-}$ merkitsevät etenkin kapryyli-, kapriini-, lauriini-, myristiini-, palmitiini- tai steariinihapon tähdettä.

Hakemuksen mukaisia erityisen tärkeitä lipopeptidejä ovat
 palmitoyyli-Cys(2[R],3-dilauroyylioksi-propyyli)-Ala-D-Glu-

NH₂,
palmitoyyli-Cys(2[R],3-dipalmitoyylioksi-propyyli)-Ala-D-Gly(Ala)-NH₂,
palmitoyyli-Cys(2[R],3-dilaurooyylioksi-propyyli)-Ala-D-Glu(NH₂),
palmitoyyli-Cys(2[R],3-dilaurooyylioksi-propyyli)-Abu-F-Glu-NH₂,
palmitoyyli-Cys(2[R],3-dilaurooyylioksi-propyyli)-Afla-D-Glu(NH₂)-OmBu,
palmitoyyli-Cys(2[R],3-dilaurooyylioksi-propyyli)-Ala-D-Glu(OnBu)-NH₂,
palmitoyyli-Cys(2[R],3-dilaurooyylioksi-propyyli)-D-Ala-Ala-D-Glu-NH₂,
palmitoyyli-Cys(2[R],3-dilaurooyylioksi-propyyli)-Ser-D-Glu(OCH₃)-OCH₃,
palmitoyyli-Cys(2[R],3-dilaurooyylioksi-propyyli)-Ala-D-Gla-NH₂,
palmitoyyli-Cys(2[R],3-dilaurooyylioksi-propyyli)-Abu-D-Glu,
palmitoyyli-Cys(2[R],3-dilaurooyylioksi-propyyli)-Val-D-Glu-NH₂,
palmitoyyli-Cys(2[R],3-dilaurooyylioksi-propyyli)-Ala-D-Glu(Lys-Lys-OCH₃)-NH₂,
palmitoyyli-Cys(2[R],3-dilaurooyylioksi-propyyli)-Ala-D-Glu(Arg), sen mono- tai dimetyyliesteri ja sen monoamidi, ja vastaavat lipopeptidit, joissa palmitoyylin sijasta esiintyy kysteiinitähteen työssä laurooyli, kaprinoyyli, kapryloyyli tai myristoyyli, ja näitä ja yllä esitettyjä lipopeptidejä vastaavat yhdisteet, joissa diasyylioksi-propyyli-tähteessä esiintyy laurooyli-tähteiden sijasta pamitiini-, kapryyli-, kapriini- tai myristiinihapon tähteet, sekä kaikki näitä lipopeptidejä vastaavat yhdisteet, joissa konfiguraatio on diasyylioksi-propyyli-tähteen kiraalisessa asemassa S-konfiguraation sijasta R-konfiguraatio, ja vastaavat R- ja S-yhdisteiden diastereomeeriseokset, kuten esim.
laurooyli-Cys(2[R,S],3-didekanoyylioksi-propyyli)-Ala-D-Glu-

NH₂,

dekanoyyli-Cys(2[R,S],3-dilauroyylloksi-propyyli)-Afla-D-Glu-NH₂,

myristoyyli-Cys(2[R,S],3-dilauroyylloksi-propyyli)-Ala-D-Glu-NH₂,

palmitoyyli-Cys(2[R,S],3-didekanoyylloksi-propyyli)-Afla-D-Glu-NH₂,

palmitoyyli-Cys(2[R,S],3-didekanoyylloksi-propyyli)-Abu-D-Glu(OCH₃)-OCH₃,

sekä mahdollisesti niiden substituoimattomat amidit, sekä 1-7 C-atomia sisältävien alkanolien esterit. Keksinnön mukaisten lipopeptidien tämän tyyppisinä spesifisinä estereinä mainittakoon esim. yllä esitettyjen ja esimerkkeissä selitetyjen erityisten lipopeptidien metyyli-, etyyli- ja butyyliesterit.

Keksinnön kohteena ovat aivan ensisijaisesti esimerkeissä mainittujen kaavan I mukaisten yhdisteiden valmistus.

Esillä olevat uudet lipopeptidit ovat, riippuen niiden substituenttien laadusta, neutraaleja, happamia tai emäksisiä yhdisteitä. Mikäli esiintyy ylimääräisiä happamia ryhmiä, ne muodostavat suoloja emästen kanssa, kuten ammoniumsuoloja tai suoloja alkali- tai maa-alkalimetallien, esim. natriumin, kaliumin, kalsiumin tai magnesiumin kanssa; jos kuitenkin esiintyy ylimääräisiä emäksisiä ryhmiä, ne muodostavat happoadditiosuoloja.

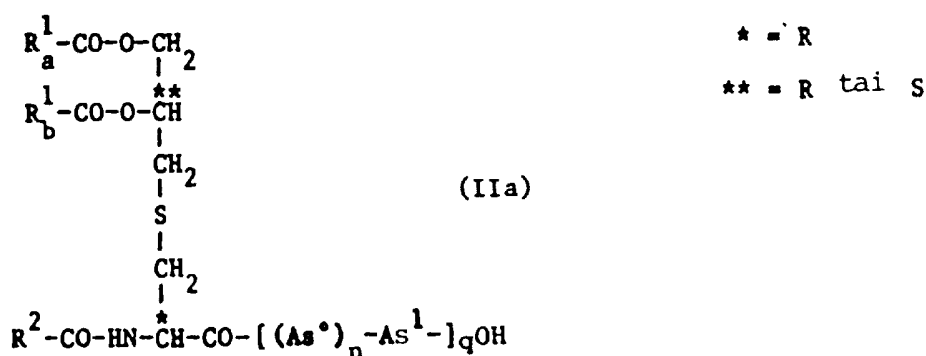
Happoadditiosuoloja ovat erityisesti farmaseuttisesti käyttökelpoiset, ei-toksiset happoadditiosuolat, kuten sellaiset, jotka on muodostettu epäorgaanisten happojen, esim. kloorivety-, bromivety-, typpi-, rikki- tai fosforihappojen, tai orgaanisten happojen, kuten orgaanisten karboksyylihappojen, esim. etikkahapon, propionihapon, glykolihapon, meripihkahapon, maleiinihapon, hydroksimaleiinihapon, metyyli-maleiinihapon, fumaarihapon, omenahapon, viinihapon, sitruunahapon, bentsoehapon, kanelihapon, mantelihapon, salisyylihapon, 4-amino-salisyylihapon, 4-fenoksi-bentsoehapon, 2-

asetoksi-bentsoehapon, embonihapon, nikotiinihapon tai isonikotiinihapon, tai orgaanisten sulfonihappojen, esim. metaanisulfonihapon, etaanisulfonihapon, 2-hydroksi-etaanisulfonihapon, etaani-1,2-disulfonihapon, bentseenisulfonihapon, p-tolueenisulfonihapon tai naftaliini-2-sulfonihapon kanssa, edelleen myös muut happoadditiosuolat, joita esim. voidaan käyttää välituotteina, esim. vapaiden yhdsiteiden puhdistamiseen tai valmistettaessa muita suoloja, sekä karakterisointiin, kuten esim. sellaiset, jotka on muodostettu pikriini-, flaviaani-, fosforwolframi-, fosforimolybdeenin-, klooriplatina-, Reinecke- tai perkloorihapon kanssa.

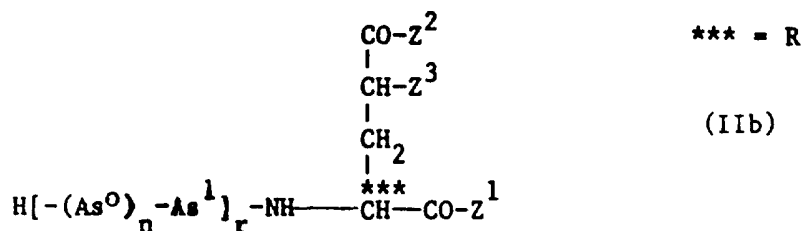
Uudet lipopeptidit voidaan valmistaa sinänsä tunnettujen menetelmien mukaisesti. Erään parhaimpana pidetyn menetelmän mukaisesti kaavan I mukaiset yhdisteet, niiden esterit, niiden diastereomeeriseokset ja niiden suolat valmistetaan siten, että

a) kaavan I mukainen yhdiste, jossa ainakin yksi tähteistä $R^1_a\text{CO-}$, $R^1_b\text{CO-}$ ja $R^2\text{-CO-}$ tarkoittaa vetyä ja muut substituentit tarkoittavat samaa kuin edellä, edellyttäen, että tässä lähtöaineessa esiintyvät vapaat funktionaaliset ryhmät, lukuunottamatta reaktioon osallistuvaa hydroksi- ja/tai aminoryhmää (-ryhmiä), esiintyvät tarvittaessa suojatussa muodossa, tai sen suola asyloidaan hapolla $R^1_a\text{COOH}$, $R^1_b\text{COOH}$ tai vastaavasti $R^2\text{-COOH}$ tai sen reaktiokykyisellä karboksyylihappojohdannaisella ja lohkaistaan esiintyvät, haluttuun kaavan I mukaiseen lopputuotteeseen kuulumattomat suojaryhmät, tai

b) kaavan IIa mukainen karboksyylihapo

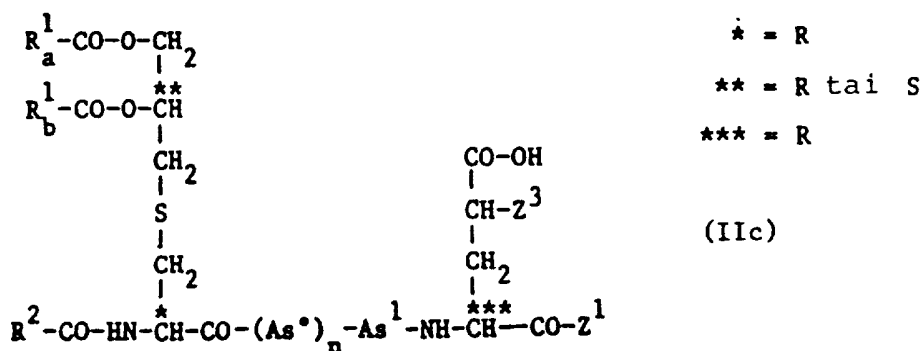


jossa kaavassa q on 0 tai 1 ja muut symbolit ja tähteet tarkoittavat samaa kuin edellä, jolloin, kun As^1 tarkoittaa L-seriinitähdettä, seriinitähteessä esiintyvä hydroksiryhmä on tarvittaessa suojattu helposti lohkaistavalla hydroksisuoja-ryhmällä, tai sen reaktiokykyinen karboksyylihapojohdannainen saatetaan reagoimaan kaavan IIb mukaisen amiinin kanssa



jossa kaavassa r on 1, kun kaavan IIa mukaisessa reaktio-partnerissa q on 0, ja jossa r on 0, kun q on 1, ja jossa muut symbolit tarkoittavat samaa kuin edellä, jolloin vapaat karboksyyli-ryhmät $-\text{COZ}^1$, $-\text{COZ}^2$ ja Z^3 ja ryhmässä Z^2 mahdollisesti esiintyvät vapaat amino- ja karboksiryhmät on suojattu helposti lohkaistavilla suojaryhmillä, ja lohkaistaan esiintyvät, haluttuun kaavan I mukaiseen lopputuotteeseen kuulumattomat suojaryhmät, tai

c) kaavan I mukaisen yhdisteen valmistamiseksi, jossa Z^2 :lla on edellämainitut merkitykset lukuunottamatta hydroksia, kaavan IIc mukainen karboksyylihapo



jossa symbolit ja tähteet tarkoittavat samaa kuin edellä, jolloin vapaat karboksyyli-ryhmät $-\text{COZ}^1$ ja Z^3 on suojattu helposti lohkaistavilla karboksyyli-suojaryhmillä, tai sen

reaktiokykyinen karboksyylijohtannainen saatetaan reagoimaan kaavan II d

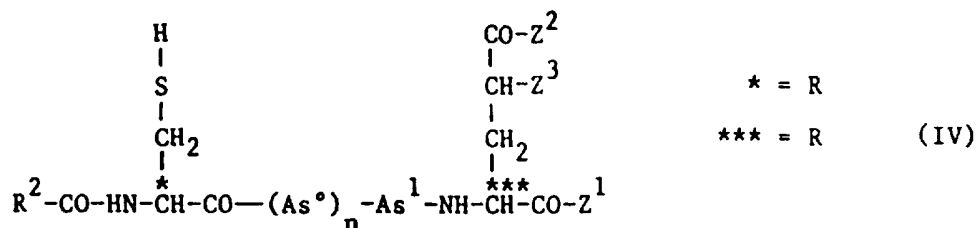


mukaisen yhdisteen kanssa, jossa kaavassa Z^2 :lla on edellämainitut merkitykset lukuunottamatta hydroksia, jolloin siinä esiintyvät vapaat karboksi- ja aminoryhmät, lukuunottamatta reaktioon osallistuvia aminoryhmiä on suojattu helposti lohkaistavilla suojaryhmillä, ja lohkaistaan esiintyvät, haluttuun kaavan I mukaiseen lopputuotteeseen kuulumattomat suojaryhmät, tai

d) kaavan III mukainen yhdiste



jossa R_a^1 ja R_b^1 tarkoittavat samaa kuin edellä ja Y on nukleofoginen ryhmä, saatetaan reagoimaan kaavan IV mukaisen yhdisteen kanssa



jossa substituentit tarkoittavat samaa kuin edellä, jolloin vapaat funktionaaliset ryhmät, lukuunottamatta reaktioon osallistuvia merkaptoryhmiä, on tarvittaessa suojattu helposti lohkaistavilla suojaryhmillä, tai kaavan IV mukaisen yhdisteen reaktiokykyisen johdannaisen kanssa ja lohkaistaan esiintyvät, haluttuun kaavan I mukaiseen lopputuotteeseen kuulumattomat suojaryhmät, ja, haluttaessa

jonkin menetelmävaihtoehtoista a) - d) suorittamisen jälkeen saadussa kaavan I mukaisessa yhdisteessä, jossa on ainakin yksi vapaa karboksyyli-ryhmä, vapaa(t) karboksyyli-ryhmä(t) esteröidään tai saatu kaavan I mukainen yhdiste, jossa on ainakin yksi suolanmuodostava ryhmä, muutetaan suolaksi tai saatu suola muutetaan vapaaksi yhdisteeksi, ja haluttaessa erotetaan saatu diastereomeeriseos.

Menetelmä a):

Menetelmän muunnelman a) mukaisissa lähtöaineissa esiintyviä suojaryhmiä ovat etenkin amino-, karboksi- tai hydroksiryhmien suojaamiseksi peptidien synteesistä tunnetut, jotka voidaan lohkaista esim. hydrolyysillä, pelkistyksellä, aminolyysillä tai hydratsinolyysillä.

Näin ovat esim. aminoryhmien suojaryhminä asyyli- tai aralkyyli-ryhmät, kuten formyyl-, trifluoriasetyyli-, ftaloyyli-, bentseennisulfonyyli-, p-tolueenisulfonyyli-, o-nitrofenyyli-sulfonyyli-, 2,4-dinitrofenyyli-sulfonyli-ryhmät, mahdollisesti substituoidut, kuten esim. alempialkoksiryhmillä, etenkin o- tai p-metoksiryhmillä substituoidut bentsyyli-, tai difenyyli- tai trifenyylimetyyli-ryhmät tai hiilihiapoista johtuvat ryhmät, kuten mahdollisesti aromaattisissa renkaissa esim. halogeeniatomeilla, kuten kloorilla tai bromilla, nitroryhmillä, alempialkyyli- tai alempialkoksiryhmillä tai väriä luovuttavilla ryhmillä, esim. atsoryhmillä substituoidut aryylimetyylioksidikarbonyyli-ryhmät, jois-

sa metyleeniryhmä voi olla jollakin toisella aryyliitähteellä ja/tai yhdellä tai mahdollisesti kahdella alemmalla alkyylitähteellä substituoitu, kuten bentsyyli-, bentshydryyli- tai 2-fenyyli-isopropyylioksikarbonyyliryhmät, esim.

- 5 karbobentsoksi, p-bromi- tai p-kloorikarbobentsoksi, p-nitrokarbobentsoksi tai p-metoksikarbobentsoksi, p-fenyyliatso-bentsyylioksikarbonyyli tai p-(p'-metoksi-fenyyliatso)-bentsyylioksokarbonyyli, 2-tolyyli-isopropyylioksikarbonyyli ja etenkin 2-(p-bifenyyli)-isopropyylioksikarbonyyli, sekä
- 10 alifaattiset oksikarbonyyliryhmät, kuten adamantyylioksikarbonyyli, syklopentyylioksikarbonyyli, trikloorietyylioksikarbonyyli, tert.-amyylioksikarbonyyli tai ennen kaikkea tert.-butyylioksikarbonyyli.

- Aminoryhmät voidaan suojata myös muodostamalla enamijoina, jotka saadaan saattamalla aminoryhmä reagoimaan 1,3-diketonien, esim. bentsoyyliaetonin, astyyliasetonin tai dimedonin kanssa.
- 15

- Karboksyyliiryhmät on suojattu esimerkiksi amidi- tai hydratsidimuodostuksen avulla tai esteröinnin avulla. Amidi- ja hydratsidiryhmät ovat mieluummin substituoituja, amidi-
- 20 ryhmä esim. 3,4-dimetoksibentsyyli- tai bis-(p-metoksifenyyli)-metyyliryhmällä, hydratsidiryhmä esim. bentsyylioksikarbonyyli-, triklooriasetyylioksikarbonyyliryhmällä, trifluoriasetyyliryhmällä, trityyliryhmällä, tert.-butyylioksikarbonyyliryhmällä tai 2-(p-bifenyyli)-isopropyylioksikarbonyyliryhmällä. Esteröintiin soveltuvat esim. alemmat mahdollisesti substituoidut alkanolit, kuten metanoli, etanoli, syaanimetyylialkoholi, bentsoyylimetyylialkoholi tai etenkin
- 25 tert.-butanoli, edelleen aralkanolit, kuten aryylialempi-alkanolit, esim. mahdollisesti alempialkyyli- tai alempialkoksiryhmillä tai halogeeniatomeilla substituoidut bentsyylialkoholit tai bentshydrolit, kuten bentshydroli, p-nitrobentsyylialkoholi, p-metoksibentsyylialkoholi, 2,4,6-trime-
- 30 tyylibentsyylialkoholi, mahdollisesti elektroneja puoleensa vetävillä substituenteilla substituoidut fenolit ja tiofenolit, kuten tiofenoli, tiokresoli, p-nitrotiofenoli, 2,4,5- ja 2,4,6-trikloorifenoli, p-syaanifenoli tai p-metaanisulfo-
- 35

nyylifenoli, edelleen esim. N-hydroksisukkinimidi, N-hydroksiftaali-imidi, N-hydroksipiperidiini, 8-hydroksikinoliini.

Hydroksiryhmät, esim. seriini- tai treoniinitähteissä esiintyvät ryhmät voi olla suojattu esim. esteröinnin tai
5 eetteröinnin avulla.

Esteröintiin sopivia asyyliitähteitä ovat ennen kaikkea hiilihaposta johtuvat tähteet, kuten bentsyylioksikarbonyyli tai etyylioksikarbonyyli. Eetteröintiin sopivia ryhmiä ovat esim. bentsyyli-, tetrahydropyranyyli- tai tert.-butyyli-
10 litähteet. Edelleen sopivia hydroksyyli-ryhmien suojaamiseksi ovat julkaisussa Chem.Ber. 100 (1967), 3838-3849 esitetyt 2,2,2-trifluori-1-tert.-butyylioksikarbonyyliamino- tai -1-bentsyylioksikarbonyyliaminoetyyli-ryhmät (Weygand).

Erityisiä karboksiryhmien suojaryhmiä, jotka voidaan
15 lohkaista neutraaleissa olosuhteissa, ovat saksalaisessa hakemusjulkaisussa 27 06 490 esitetty hydrokarbyyli-silyyli-etyyli-ryhmät, kuten esim. 2-(trimetyylisilyyli)-etyyli-ryhmä.

Merkaptoryhmä, kuten esim. kysteiinissä esiintyvä, voidaan suojata etenkin S-alkyloimalla mahdollisesti substituoiduilla alkyyli-
20 tähteillä, tioasetaalimuodostuksella, S-alkyloimalla tai valmistamalla asymmetrisiä disulfidi-ryhmittymiä. Parhaimpina pidettyjä merkaptosuojaryhmiä ovat esim. mahdollisesti fenyyli-
25 tähteessä, esim. metoksilla tai nitrola substituoitu bentsyyli, kuten 4-metoksibentsyyli, mahdollisesti fenyyliosassa, esim. metoksilla substituoitu difenyyli-
30 metyyli, kuten 4,4'-dimetoksidifenyyli-metyyli, trifenyyli-metyyli, trimetyylisilyyli, bentsyyli-tiometyyli, tetrahydropyranyyli, asyyliaminometyyli, bentsoyyli, bentsyylioksikarbonyyli tai aminokarbonyyli, kuten etyyliamino-
karbonyyli.

Menetelmän mukainen suojaryhmien lohkaistu tapahtuu si-
nänsä tunnetulla tavalla, esim. peptidikemian tavanomaisilla
menetelmillä. Siten voidaan yllä mainitut aminosuojaryhmät,
35 kuten asyyli-
suojaryhmät, lohkaista happamen hydrolyysin avulla, esim. trifluorietikkahapolla, kloorivedyllä tai bromivedyllä, sopivassa liuottimessa, kuten esterissä, esim. etik-

kaesterissä, tai klooratussa alifaattisessa hiilivedyissä, kuten kloroformissa, metyleenikloridissa tai etyleenikloridissa. Sulfenyyli-ryhmien ollessa kyseessä lohkaaisu voi tapahtua myös nukleofiilisten reagenssien, esim. sulfiittien tai tiosulfiittien vaikutuksessa. Aralkyyli-ryhmät poistetaan mieluummin katalyyttisen hydrolyysin avulla, esim. palladium-katalyysaattoreilla, kuten palladium/bariumsulfaattilla, palladium-mustalla tai myös rodium-katalyysaattorilla, jolloin käytetään kirjallisuudesta tunnettuja liuottimia, esim. syklistä eettereitä, kuten tetrahydrofuraania, mahdollisesti seoksessa muiden inerttien liuottimien, kuten esim. alempialifaattisen happoamidin, kuten dimetyyliformamidin kanssa.

Karboksyylisuoja-ryhmien lohkaaisu voidaan samoin suorittaa hydrolyyttisesti (esitettyissä neutraaleissa tai miedoissa happamissa olosuhteissa), esim. samoilla happamilla aineilla, jotka esitetään yllä aminosuoja-ryhmien poistamiseksi. Aralkyyli-esterit, kuten esim. bentsyyli-esteri voidaan lohkaista kuitenkin myös katalyyttisen hydrolyysin avulla, kuten aralkyyliamiinien yllä esitetyn lohkaistuksen yhteydessä. Yllä mainittu 2-(trimetyylisilyyli)-etyyli-ryhmä voidaan lohkaista neutraaleissa olosuhteissa, esim. fluorivetyhapon suolan, kuten etenkin kvaternäärisen typpiemäksen fluorivetyhapon suolan, esim. tetraetyyliammoniumfluoridin vaikutuksessa sopivassa liuottimessa.

Sopivalla asyyli-ryhmällä, orgaanisella silyyli-ryhmällä tai mahdollisesti substituoidulla 1-fenyyli-alempialkyyli- tai suojattu hydroksi- tai merkaptoryhmä vapautetaan vastaavasti suojatun aminoryhmän mukaisesti. 2,2-dikloori-asetyyli- tai suojattu hydroksi- tai vast. merkaptoryhmä vapautetaan esim. emäksisen hydrolyysin avulla, tert.-alempialkyyli- tai 2-oksa- tai 2-tia-alifaattisella tai -sykloalifaattisella hiilivetytähteellä eetteröity hydroksi- tai vast. merkaptoryhmä asidolyysin avulla, esim. käsittelemällä mineraaliliapolla tai vahvalla karboksyylihapolla, esim. trifluorietikkahapolla. Kaksi hydroksiryhmää, jotka on suojattu yhdessä mieluummin substituoidulla metyleeniryhmällä, kuten

alempialkylideenillä, esim. isopropylideenillä, sykloalkylideenillä, esim. sykloheksylideenillä tai bentsylideenillä, voidaan vapauttaa happamen solvolyyysin avulla, etenkin mineraalihapon tai vahvan orgaanisen hapon läsnäollessa.

- 5 Menetelmän muunnelman a) mukaisissa lähtöaineissa ovat esteröinnin avulla suojattuja karboksyyli-ryhmiä etenkin tert.-butyylioksikarbonyyli- tai bentsyylioksikarbonyyli-ryhmät.

- 10 Sivuketjujen, kuten lysiinin aminoryhmät on suojattu ensisijassa tert.-butyylioksikarbonyyliryhmällä (Boc). Hydroksiryhmät, esim. seriinissä tähteessä As¹ esiintyvät, suojataan ennen kaikkea tert.-butyylietteriryhmillä. Näiden ryhmien lohkaus tapahtuu tarkoituksenmukaisesti käsittelemällä mainituilla happamilla aineilla tunnetuissa olo-
- 15 suhteissa, esim. trifluorietikkahapolla, huoneen lämpötilassa, niin että yhdessä vaiheessa voidaan poistaa sekä karboksyyli-ryhmien, kuten aminoryhmien että mahdollisesti seriinin suojaryhmät.

- 20 Lähtömateriaalissa esiintyviä vapaita funktionaalisia ryhmiä, jotka esiintyvät mieluummin suojatussa muodossa, mikäli ne eivät osallistu reaktioon, ovat etenkin amino-, hydroksi- ja karboksiryhmät. Vapailla karboksyylihapoilla suoritettava esteröinti tapahtuu sopivan vettä poistavan aineen läsnäollessa. Reaktiokykyisiä karboksyylihapojohdannaisia ovat etenkin anhydritit, kuten esim. seka- tai sisäiset anhydritit, esim. halogeenivetyhappojen kanssa muodostetut, so. vastaavat happohalogenidit, etenkin kloridit, etenkin syaanivetyhapon kanssa muodostetut tai sitten sopi-
- 25 vien hiilihappopuolijohdannaisten, kuten vastaavien -puoli-estereiden kanssa muodostetut (kuten esim. halogeenimuura-
- 30 haishappo-alempialkyylin, kuten kloorimuuraishappo-etyyliesterin tai -isobutyyliesterin kanssa muodostetut seka-
- 35 anhydritit) tai mahdollisesti substituoitujen, esim. halogeenin, kuten kloorin sisältävien alempialkaanikarboksyyli-
- happojen kanssa muodostetut (kuten esim. pivaliinihappokloridin tai trikloorietikkahappokloridin kanssa muodostetut

seka-anhydridit). Sisäisiä anhydridejä ovat esim. orgaanisten karboksyylihappojen sisäiset anhydridit, so. keteenit, kuten keteeni tai diketeeni, tai karbamiini- tai tiokarbamiinihappojen anhydridit, so. isosyanaatit tai isotiosyanaatit. Muita reaktiokykyisiä, asylointiaineina käytettäviä orgaanisten karboksyylihappojen johdannaisia ovat aktivoidut esterit, kuten sopivasti substituoidut alempialkyyliesterit, esim. syaanimetyyliesteri, tai sopivasti substituoidut fenyyliesterit, esim. pentakloorifenyyli- tai 4-nitrofenyyliesterit. Esteröinti voidaan suorittaa tarvittaessa sopivien kondensointiaineiden läsnäollessa, käytettäessä vapaita karboksyylihappoja, esim. karbodi-imidiyhdisteiden, kuten di-sykloheksyylikarbodi-imidin, tai karbonyyliyhdisteiden, kuten di-imidatsolyylikarbonyylin läsnäollessa, ja käytettäessä reaktiokykyisiä happojohdannaisia, esim. emäksisten aineiden, kuten trialempialkyyliamiinien, esim. trietyyliamiinin, tai heterosyklisten emästen, esim. pyridiinin tai 4-dimetyyliaminopyridiinin läsnäollessa. Asylointireaktio voidaan suorittaa ilman liuotinta tai liuotinseosta tai liuottimen tai liuotinseoksen läsnäollessa, jäähdyttäen, huoneen lämpötilassa tai lämmittäen, ja tarvittaessa suljetussa astiassa ja/tai inertin kaasun, esim. typen atmosfäärissä. Sopivia liuottimia ovat esim. mahdollisesti substituoidut, etenkin mahdollisesti klooratut, alifaattiset, sykloalifaattiset tai aromaattiset hiilivedyt, kuten bentseeni tai tolueeni, jolloin sopivia esteröintireagensseja, kuten etikkahappoanhydridiä voidaan käyttää myös laimentimena.

Menetelmät b) ja c):

Menetelmämuunnelmien b) ja c) eräs parhaimpana pidetty suoritusmuoto on reaktiokykyisen happojohdannaisen reaktio kaavan IIb tai IIc mukaisen amiinin kanssa, jolloin hapon aktivointi voi tapahtua myös in situ.

Reaktiokykyinen happojohdannainen on esim. happoatsidi, -anhydridi, -imidatsolidi, -isoksatsolidi tai aktivoitu esteri, kuten syaanimetyyliesteri, karboksimeetyyliesteri, tiofenyyliesteri, p-nitrotiofenyyliesteri, tiokresyyliesteri, p-metaanisulfonyylifenyyliesteri, p-nitrofenyyliesteri, 2,4-dinitrofenyyliesteri, 2,4,5- tai 2,4,6-trikloorifenyyliesteri, pentakloorifenyyliesteri, N-hydroksi-sukkinimidin, N-hydroksi-ftaali-imidin, 8-hydroksikinoliinin, 2-hydroksi-1,2-dihydro-1-etoksikarbonyyli-kinoliinin tai N-hydroksiperidiinin kanssa muodostettu esteri tai sen on enoliesteri, joka on valmistettu N-etyyli-5-fenyyli-isoksatsolium-3-sulfonaatin kanssa (Woodward-reagenssi), tai se voidaan muodostaa saattamalla happo reagoimaan karbodi-imidin kanssa (mahdollisesti lisäämällä N-hydroksi-sukkinimidiä) tai substituomattoman tai esim. halogeenilla, metyyllillä tai metoksilla substituoidun 1-hydroksi-bentsotriatsolin, 3-hydroksi-4-okso-3,4-dihydrobentso[b]-1,2,3-triatsiinin ja N,N'-karbonyyli-imidatsolin kanssa, mahdollisesti in situ.

Kondensaation tavallisimpina menetelminä mainittakoon: Weygand-Wünschin menetelmä (karbodi-imidi N-hydroksisukkinimidin läsnäollessa), atsidimenetelmä, N-karboksianhydridien tai N-tiokarboksianhydridien menetelmä, aktivoitujen estereiden menetelmä ja anhydridimenetelmä. Etenkin voidaan tämä kondensatio suorittaa myös Merrifield-menetelmän mukaan.

Menetelmä d):

Nukleofuginen ryhmä Y on lähtöryhmä nukleofugisessa substituutiossa; esim. mieluummin esteröity hydroksiryhmä, jolloin hydroksiryhmä on esteröity etenkin vahvoilla epäorgaanisilla tai orgaanisilla hapoilla, esim. mineraali- tai

sulfonihapoilla. Nukleofuginen ryhmä Y on siten esim. kloridi, bromidi, jodidi, mono- tai dialkyyylisulfaatti tai tolu-eenisulfonaatti.

Kaavan IV mukaisessa yhdisteessä esiintyviä funktio-naalisia ryhmiä, jotka on mieluummin suojattu helposti loh-kaistavilla suojaryhmillä, ovat ennen kaikkea muut merkaptoryhmät, mutta myös hydroksi, amino- tai karboksyyli-ryhmät. Kaavan IV mukaisen yhdisteen reaktiokykyinen johdannainen on yhdiste, jossa reaktioon osallistuvan rikkiatomin nukleofii-lisyys on korotettu, esim. lohkaistemalla merkaptoryhmän pro-toni. Tällainen reaktiokykyinen johdannainen voidaan muodos-taa mahdollisesti myös in situ.

Reaktio voidaan suorittaa myös vastaavalla tavalla, kuten on esitetty eurooppalaisessa patenttijulkaisussa 0 000 330 tai julkaisussa K.H.Weismüller, W.Bessler ja G.Jung, Hoppe-Seyler's Z-Physiol.Chem. 364, 593-606 (1983).

Mikäli edellä ei ole toisin esitetty, suoritetaan me-netelmät a)-d) ja lisäreaktiot inertissä liuottimessa tai liuotinseoksessa n. - 20...n. +120°C:n lämpötiloissa, ja tarvittaessa suojakaasun atmosfäärissä.

Esillä olevan keksinnön mukaisten yllä esitettyjen me-netelmien lähtöaineet ovat tunnettuja, esim. eurooppalaises-ta patenttijulkaisusta 0 000 330 tai ne voidaan valmistaa sinänsä tunnetulla tavalla, esim. yllä esitettyjen menetel-mien mukaisesti.

Lähtöaineet, joissa kaavassa I tähde R²-CO merkitsee vetyä, voidaan valmistaa esim. saattamalla aminoryhmässä helposti lohkaistavalla suojaryhmällä suojattu glyseryyli-kysteiini, jonka karboksyyli-ryhmä esiintyy aktivoituneessa muo-dossa, reagoimaan halutun peptidin kanssa saman menetelmän mukaisesti kuin menetelmän muunnelman c) yhteydessä ja pois-tamalla tämän jälkeen aminosuojaryhmä. Vaihtoehtoisesti voi-daan menetellä myös niin, että ensin asyloidaan aminoryhmäs-sä helposti lohkaistavalla suojaryhmällä varustettu S-(2,3-

dihydroksipropyyloi)-kysteiini, kondensoidaan sitten peptidin kanssa ja lohkaistaan tämän jälkeen aminosuojaryhmä. Tämä lohkaaisu voi tapahtua edullisesti hieman happamassa tai neutraalissa väliaineessa.

Menetelmän a) lähtöaineet voidaan valmistaa samojen menetelmien mukaisesti kuin menetelmän c) yhteydessä, sillä erotuksella, että ainakin yksi aminohapoissa esiintyvistä funktionaalisista ryhmistä, so. amino-, karboksyyli- tai hydroksiryhmä esiintyy suojatussa muodossa.

Kaavan XII mukaiset peptidit tai niiden fragmentit voidaan valmistaa peptidikemian tunnettujen menetelmien mukaisesti, etenkin yllä menetelmän c) yhteydessä esitettyjen menetelmien mukaisesti. Niiden rakenneosat, etenkin myös D-glutamiinihappo tai D-γ-karboksiglutamiinihappo ja niiden amidit ovat tunnettuja yhdisteitä. Lähtöaineina käytetyt N-asyyli-glyseryyli-kysteiinit tai myös niiden glyseriinitähteessä asyloidut johdannaiset ovat luonnollisen L-kysteiinin (konfiguraatio R) johdannaisia. Diastereomeerien seokset voidaan erottaa haluttaessa sinänsä tunnetulla tavalla yksittäisiksi diastereomeereiksi.

Terminaaliset tai sivuketju-karboksyyli-ryhmät voidaan muuttaa, esim. esteröidä tai amidoida mielivaltaisessa vaiheessa näissä lähtöaineiden valmistusmenetelmissä halutulla tavalla sinänsä tunnettujen menetelmien mukaisesti.

Saadussa kaavan I mukaisessa yhdisteessä olevan vapaan karboksyyli-ryhmän esteröinti tapahtuu esim. sinänsä tunnettujen menetelmien mukaisesti. Esim. vapaa happo saatetaan reagoimaan kyseisen alkoholin reaktiokykyisen funktionaalisen johdannaisen, kuten alkyylihalogenidin, esim. alkyylibromidin tai -kloridin, tai dialkyylisulfaatin, kuten dimetyylisulfaatin kanssa, emäksen, kuten pyridiinin tai natriumbikarbonaatin läsnäollessa, tai saatetaan suoraan reagoimaan alkoholin kanssa lisäten sopivaa dehydratoivaa ainetta. Happo voidaan saattaa sinänsä tunnetulla tavalla reagoimaan

myös diatsoalkaanin, esim. diatsometaanin kanssa, mieluummin eetterissä ja $-5...+30^{\circ}\text{C}$:n lämpötiloissa, tai kyseisen O-alkyyli-N,N'-disykloheksyyli-isotiovirtsa-aineen kanssa, mieluummin aproottisessa aineessa ja $25-100^{\circ}\text{C}$:n lämpötiloissa. Voidaan kuitenkin myös hyvin edullisesti lähteä karboksyylihappojen metallisuoloista, etenkin alkalisuoloista, ja saat-
taa nämä reagoimaan valmistettavaa esterä vastaavan halo-
geenihillivedyn kanssa; käytetään esim. halogeenialkyyliä, kuten metyylibromidia tai etyylikloridia tai dialkyylisulfaattia, kuten dimetyylisulfaattia ja työskennellään mie-
luummin polaarissa liuottimesa, kuten esim. asetonissa, metyylietyyliketonissa tai dimetyyliformamidissa, mieluummin $25-100^{\circ}\text{C}$:n lämpötiloissa. Metallisuoloina käytetään mielui-
min natriumin tai kaliumin suoloja tai etenkin myös cesiumin suoloja. Mainittujen halogeenialkyylien sijasta voidaan käyttää edullisesti myös niiden tertiääriseen amiiniin liit-
tyviä liittymistuotteita, so. kvaternäärisiä tetra-alkyyli-
ammoniumsuoloja.

Lopuksi voidaan esterit valmistaa myös karboksyylihappojen funktionaalisista johdannaisista, esim. mahdollisesti niiden halogenideista saattamalla reagoimaan halutun alkoholin kanssa, tai muista estereistä uudelleenesteröinnin avulla.

Saadut lipopeptidit voidaan muuntaa sinänsä tunnetulla tavalla suoloikseen, esim. saattamalla saadut happamet yhdisteet reagoimaan alkali- tai maa-alkalihydroksidien kanssa tai saadut emäksiset yhdisteet happojen kanssa. Suolat voidaan saattaa farmaseuttiseen käyttöön sopivaan muotoon liuoksistaan esim. lyofilisoinnin avulla.

Johtuen uusien vapaassa muodossa ja suolojensa muodossa esiintyvien yhdisteiden välisestä läheisestä suhteesta voidaan edellä ja seuraavassa käyttää merkityksen- ja tarkoituksenmukaisesti mahdollisesti myös vastaavia suoloja.

Saadut isomeeriseokset voidaan erottaa aineosien fysi-

kaalis-kemiallisten erojen perusteella tunnetulla tavalla, esimerkiksi kromatografian ja/tai jakokiteytyksen avulla. Edullisesti tehokkaampi isomeereistä erotetaan.

Esitetyt menetelmät suoritetaan esim. sinänsä tunnettujen menetelmien avulla, ilman laimentimia ja/tai liuottimia tai mieluummin niiden läsnäollessa, tarvittaessa jäähdyttämällä tai lämmittämällä, korotetussa paineessa ja/tai inertin kaasun, esim. typen atmosfäärissä. Tällöin on käytettävä ottaen huomioon kaikki molekyyllisissä esiintyvät substituentit, tarvittaessa, etenkin helposti lohkaistavien O-asyylitähtien läsnäollessa, erityisen mietoja reaktio-olosuhteita, kuten lyhyitä reaktioaikoja, mietojen happamien aineiden käyttöä alhaisissa konsentraatioissa stökiometrisissä määpärsuhteissa, sopivien katalysaattoreiden, liuottimien, lämpötilan ja/tai paineolosuhteiden valintaa.

Keksinnön kohteena ovat myös menetelmän ne suoritusmuodot, joissa lähtöaine käytetään reaktiokykyisen johdannaisen tai suolan muodossa. Tällöin lähdetään mieluummin sellaisista lähtöaineista, jotka johtavat menetelmän mukaisesti yllä erittäin arvokkaiksi esitettyihin yhdisteisiin.

Kaavan I mukaisia yhdisteitä voidaan käyttää farmaseuttisina valmisteina, jotka sisältävät esitettyjä uusia lipopeptidejä, niiden seoksia tai farmaseuttisesti käyttökelpoisia suoloja. Nämä farmaseuttiset valmisteet on tarkoitettu käytettäväksi enteraalisesti, kuten oraalisesti tai rektaalisesti, ja etenkin parenteraalisesti tai

tooppisesti, esim. nasaalisesti tai vaginaalisesti lämmi-
verisille, jotka valmisteet sisältävät farmakologisen vai-
kuttavan aineen yksinään tai yhdessä farmaseuttisesti käyt-
tökelpoisten kantoaineiden kanssa. Vaikuttavan aineen annos-
5 tus riippuu lämmi-verisen lajista, iästä ja yksilöllisestä
tilasta, sekä antotavasta. Näin annetaan esim. immunopoten-
soivan vaikutuksen aikaansaamiseksi lämmi-verisissä, joiden
paino on pieni, esim. hiirissä, subkutaanisesti n. 1-30 mg/
kg:n annoksia ja intraperitoneaalisesti 0,03-3 mg/kg:n annok-
10 sia. Heikosti ilmenevän annos-vaikutus-suhteen johdosta on
painaville lämmi-verisille, esim. noin 70 kg painaville ih-
misille annostus 0,01 - n. 5 mg/kg/ihminen. Tämä annos anne-
taan riippuen käsiteltävästä sairaudesta joko vain kerran
sairauden keston aikana tai suunnilleen kaksi kertaa viikos-
15 sa noin 4 viikon aikavälillä, esim. subkutaanisesti.

Uusien farmaseuttisten valmisteiden oraaliset tai vast.
rektaaliset muodot sisältävät n. 1 - n. 95 %, mieluummin n.
10 - n. 95 %, etenkin n. 20 - n. 90 % vaikuttavaa ainetta:
ne voivat esiintyä esim. annosyksikkömuodossa, kuten rakeina,
20 tabletteina, kapseleina, suppositorioina tai ampulleina ja
ne voidaan valmistaa sinänsä tunnetulla tavalla, esim. tavan-
omaisten sekoitus-, granulointi-, rakeistus-, liuotus- tai
lyofilisointimenetelmien avulla.

Oraalisiin muotoihin sopivia kantoaineita ovat eten-
25 kin täyteaineet, kuten sokeri, esim. laktoosi, sakkaroosi,
manniitti tai sorbiitti, selluloosavalmisteet ja/tai kalsium-
fosfaatit, esim. trikalsiumfosfaatti tai kalsiumvetyfosfaat-
ti, edelleen sideaineet, kuten tärkkelysliisteri, jolloin
käytetään esim. maissi-, vehnä-, riisi- tai perunatärkkelys-
30 tä, gelatiini, tragantti, metyyli-selluloosa, hydroksipropyy-
li-metyyli-selluloosa, natriumkarboksime-tyyli-selluloosa ja/
tai polyvinyyli-pyrrolidoni, ja/tai haluttaessa hajotusaineet,
kuten yllä mainitut tärkkelykset, edelleen karboksime-tyyli-
tärkkelys, silloitettu polyvinyyli-pyrrolidoni, agar, algi-
35 nihappo tai sen suola, kuten natriumalginaatti. Apuaineita
ovat ensisijassa juoksevuudensäätö- ja voiteluaineet, esim.
piihappo, talkki, steariinihappo tai sen suolat, kuten mag-

nesium- tai kalsiumstearaatti, ja/tai polyeteeniglykoli. Rae-
ytimet varustetaan sopivilla, mahdollisesti mahanestettä kes-
tävillä päällysteillä, jolloin käytetään mm. konsentroituja
sokeriliuoksia, jotka sisältävät mahdollisesti arabikumia,
5 talkkia, polyvinyylipyrrolidonia, polyeteeniglykolia ja/tai
titaanidioksidia, sopivissa orgaanisissa liuottimissa tai
liuotinseoksissa olevia lakkaliuoksia tai mahanestettä kes-
tävien päällysteiden valmistamiseksi sopivien selluloosaval-
misteiden liuoksia, kuten mikrokiteistä selluloosaa (Avicel),
10 asetyyliselluloosaftalaattia tai hydroksipropyylimetyyli-
selluloosaftalaatti. Tabletteihin tai raepäällysteisiin voi-
daan lisätä väriaineita tai pigmenttejä, esim. erilaisten
vaikuttavan aineen annosten identifioimiseksi tai merkitse-
miseksi.

15 Muita oraalisesti käytettäviä farmaseuttisia valmistei-
ta ovat gelatiinista valmistetut pistokapselit sekä pehmeät
suljetut kapselit, jotka on valmistettu gelatiinista ja peh-
mentimestä, kuten glyseriinistä tai sorbitolista. Pistokap-
selit voivat sisältää vaikuttavan aineen granulaatin muodos-
20 sa, esim. sekoitettuna täyteaineiden, kuten laktoosin, side-
aineiden, kuten tärkkelysten ja/tai liukuaineiden, kuten tal-
kin tai magnesiumstearaatin ja mahdollisesti stabilisaatto-
reiden kanssa. Pehmeissä kapseleissa vaikuttava aine on liuo-
tettu tai suspendoitu mieluummin sopiviin nesteisiin, kuten
25 rasvaöljyihin, parafiiniöljyyn tai nestemäisiin polyeteeni-
glykoleihin, jolloin niihin voi olla lisätty myös stabili-
saattoreita.

Parenteraaliseen käyttöön sopivat ensisijassa vaikut-
tavan, vesiliukoisessa muodossa esiintyvän vaikuttavan aineen,
30 esim. vesiliukoisen suolan vesipitoiset liuokset, edelleen
vaikuttavan aineen suspensiot, kuten vastaavat öljyiset in-
jektiosuspensiot, jolloin käytetään sopivia lipofiilisiä liuot-
timia tai apuaineita, esim. rasvaöljyä, esim. seesamiöljyä
tai synteettisiä rasvahappoestereitä, esim. etyylioleaattia
35 tai triglyseridejä, tai vesipitoiset injektiosuspensiot, jot-
ka sisältävät viskositeettiä parantavia aineita, esim. nat-
rium-karboksimetyyliselluloosaa, sorbiittia ja/tai dekstra-

nia ja mahdollisesti myös stabilisaattoreita.

Parenteraaliseen käyttöön tarkoitetut farmaseuttiset valmisteet sisältävät mieluummin 0-1,75 %, etenkin 1-50 % aktiivista ainetta.

- 5 Tooppisesti käytettävinä valmisteina tulevat kysymykseen esim. voiteet, salvat, tahnat, vaahdot, tinktuurat ja liuokset, jotka sisältävät mieluummin n. 0,02 - n. 2 % vaikuttavaa ainetta.

- Voiteet ovat öljy-vesi-emulsioita, jotka sisältävät yli
10 50 % vettä. Öljyisenä perustana käytetään ensisijassa rasva-alkoholeja, esim. lauryyli-, setyyli- tai stearyylialkoholia, rasvahappoja, esim. palmitiini- tai steariinihappo, nestemäisiä...kiinteitä vahoja, esim. isopropyylimyristaattia, villavahaa tai mehiläisvahaa, ja/tai hiilivetyjä, esim. vase-
15 liinia (Petrolatum) tai parafiiniöljyä. Emulgaattoreina tulevat kysymykseen pinta-aktiiviset aineet, joilla on etupäässä hydrofiilisiä imonaisuuksia, kuten vastaavat ei-ioniset emulgaattorit, esim. polyalkoholien rasvahappoesterit tai niiden etyleenioksididit, kuten polyglyseriini-
20 rasvahappoesterit tai polyoksietyleenisorbitaani-rasvahappoesterit (Tweens), edelleen polyoksietyleenirasva-alkoholeet-
eetterit tai -rasvahappoesterit, tai vastaavat ioniset emulgaattorit, kuten rasva-alkoholisulfaattien alkalimetallisuolat, esim. natriumlauryylisulfaatti, natriumsetyyylisulfaatti tai natriumstearyylisulfaatti, jotka käytetään tavanomai-
25 sest rasva-alkoholien, esim. setyylialkoholin tai stearyylialkoholin läsnäollessa. Vesifaasin lisäaineita ovat mm. aineet, jotka estävät voiteiden kuivumisen, esim. polyalkoholit, kuten glyseriini, sorbiitti, propyleeniglykoli ja/tai
30 polyetyleeniglykolit, edelleen säilöntäaineet, hajusteet jne.

- Salvat ovat vesi-öljy-emulsioita, jotka sisältävä korkeintaan 70 %, mieluummin kuitenkin n. 20 - n. 50 % vettä tai vesipitoista faasia. Rasvafaasina tulevat kysymykseen ensisijassa hiilivedyt, esim. vaseliini, parafiiniöljy ja/
35 tai kovaparafiinit, jotka sisältävät vedensitomiskyvyn parantamiseksi mieluummin sopivia hydroksiyhdisteitä, kuten rasva-alkoholeja tai niiden estereitä, esim. setyylialkoho-

lia tai villavaha-alkoholeja, tai vast. villavahaa. Emulgaattoreita ovat vastaavat lipofiiliset aineet, kuten sorbitaani-rasvahappoesterit (Spans), esim. sorbitaani-oleaatti ja/tai sorbitaani-isostearaatti. Vesifaasin lisäaineita ovat
5 mm. kosteudenpysyttimet, kuten polyalkoholit, esim. glyseriini, propyleeniglykoli, sorbiitti ja/tai polyeteeniglykoli, sekä säilöntäaineet, hajusteet jne.

Rasvasalvat ovat edettömiä ja ne sisältävät perustana etenkin hiilivetyjä, esim. parafiinia, vaseliinia ja/tai nestemäisiä parafiineja, edelleen luonnollisia tai osittain syntetettisiä rasvoja, esim. kookosrasvatriglyseridiä, tai mieluummin kovetettuja öljyjä, esim. hydrattua maapähkinä- tai risiiniöljyä, edelleen glyseriinin rasvahappo-osittaisestereitä, esim. glyseriini-mono- tai -distearaattia, sekä esim.
15 salvojen yhteydessä mainittuja, veden sitomiskykyä parantavia rasva-alkoholeja, emulgaattoreita ja/tai lisäaineita.

Tahnat ovat voiteita ja salvoja, joissa on eritteitä absorboivia jauheaineosia, kuten metallioksideja, esim. titaanioksidia tai sinkkioksidia, edelleen talkkia ja/tai alumiinumsilikaatteja, joiden tehtävänä on sitoa esiintyvä kosteus tai eritteet.
20

Vaahdot annetaan painesäiliöistä ja ne ovat aerosolimuodossa esiintyviä nestemäisiä öljy-vesi-emulsioita, jollain ponneaineena käytetään halogenoituja hiilivetyjä, kuten kloorifluorialempialkaaneja, esim. dikloorifluorimetaania ja diklooritetrafluorietaanina. Öljyfaasina käytetään mm. hiilivetyjä, esim. parafiiniöljyä, rasva-alkoholeja, esim. setyylialkoholia, rasvahappoestereitä, esim. isopropyylimyristaattia, ja/tai vahoja. Emulgaattoreina käytetään mm. etupäässä hydrofiilisiä ominaisuuksia omaavien seoksia, kuten polyoksietyleni-sorbitaani-rasvahappoestereitä (Tweens), ja etupäässä lipofiilisiä ominaisuuksia omaavien seoksia, kuten sorbitaanirasvahappoestereitä (Spans). Tämän lisäksi tulevat tavanomaiset lisäaineet, kuten säilöntäaineet, jne.
30

Tinktuuroissa ja liuoksissa on useimmiten vesipitoisetanolin perusta, johon lisätään mm. polyalkoholeja, esim. glyseriiniä, glykoleja ja/tai polyeteeniglykolia, kosteuden-
35

pysyttiminä haihtumisen pienentämiseksi, ja takaisinrasvoit-
tavia aineita, kuten alempien polyetyleeniglykolin kanssa
muodostettuja rasvahappoestereitä, so. vesipitoisessa liuok-
sessa liukenevia, lipofiilisiä aineita etanolin ihosta pois-
5 tamien rasva-aineiden korvaamiseksi, ja tarvittaessa muita
apu- ja lisäaineita.

Tooppisesti käytettävien farmaseuttisten valmisteiden
valmistus tapahtuu sinänsä tunnetulla tavalla, esim. liuot-
tamalla tai suspendoimalla vaikuttava aine perustaan tai sen
10 osaan tarvittaessa. Käsiteltäessä vaikuttavaa ainetta liuok-
sena tämä liuotetaan yleensä ennen emulgointia jompaankum-
paan faasiin; käsiteltäessä sitä suspensiona se sekoitetaan
emulgoinnin jälkeen perustan osan kanssa ja lisätään sitten
valmisteen loppuosaan.

15 Erittäin edullista on farmaseuttisten valmisteiden
käyttö liposomimuodossa. Lipopeptidi lisätään liposomien muo-
dostuksessa. Liposomien valmistus ja vaikuttavan aineen si-
sälyttäminen voi tapahtua erilaisilla tavoilla ja sitä on
esitetty yleiskatsauksessa Kaye, St. B., Cancer Treatment
20 Reviews (1981), 8, 27-50. Muita menetelmiä liposomien val-
mistamiseksi, joita käytetään vaikuttavan aineen kantoainei-
na, on esitetty samoin julkaisuissa Barenholz et al., Bio-
chemistry, Vol. 16, No 12, 2806-2810 sekä saksalaisissa ha-
kemusjulkaisuissa (DOS) 28 19 655, 29 02 672, 25 32 317 ja
25 28 42 608, US-patenttijulkaisussa 4 053 585 ja eurooppalai-
sessa patenttihakemuksessa 36 676.

Liuotetaan esimerkiksi lipidikomponentti, esim. fos-
folipidi, esim. fosfatidihappo, lesitiini tai kefaliini ja
mahdollisesti neutraalit lipidit, esim. kolesteroli yhdessä
30 lipopeptidin kanssa orgaaniseen liuottimeen, esim. klorofo-
mi/metanoliin. Haihduttamisen jälkeen jää jäljelle homogee-
ninen kalvokerros. Tämä dispergoidaan vesipitoisessa faasis-
sa, esim. ravistamalla. Näin saadaan multilamellaarisia li-
posomeja. Käsiteltäessä tämän jälkeen ultraäänellä voi muo-
35 dostua riippuen ultraäänen kestosta unilamellaarisia liposo-
meja, jotka sisältävät vaikuttavan aineen. Liposomisuspen-
siota voidaan käyttää etenkin parenteraalisesti, esim. sub-

kutaanisesti tai intraperitoneaalisesti tai myös tooppisesti, esim. intranasaalisesti, etenkin käytettäessä uusia lipopeptidejä antiviraalisena aineena.

Uusia kaavan I mukaisia lipopeptidejä ja niiden mainittuja johdannaisia voidaan käyttää immuunistimuloivan vaikutuksen aikaansaamiseksi, tai profylaktisina tai terapeuttisina aineina infektiosairauksia vastaan tai antiviraalisina aineina ihmisissä tai eläimissä, jolloin uudet yhdisteet annetaan mieluummin yllä esitettyjen farmaseuttisten valmisteiden muodossa.

Kaavan I mukaisia yhdisteitä tai niiden johdannaisia voidaan myös yhdistää yhteen tai useampaan antibioottiin. Tällaisia yhdistelmiä on esitetty esim. kuten jo mainittiin, parantuneen antibioottisen vaikutuksen aikaansaamiseksi erilaisissa infektiotiloissa. Nämä yhdistelmät voivat sisältää antibiootteja ryhmästä β -laktaamit, aminoglykosidit, tetrasykliinit, makrolidit, linkomysiinit, polyeeni- tai polypeptidiantibiootit, antrasykliinit, kloori- tai tiamfenikolit, sykloseriinit, rifamysiinit tai fusidiinihappo. Tällaisia yhdistelmiä voidaan käyttää mieluummin farmaseuttisten valmisteiden muodossa, jotka sisältävät molemmat komponentit yhdessä farmaseuttisten kantomateriaalien kanssa, kuten sellaisten, joita on yllä erityisesti korostettu.

Kaavan I mukaisia yhdisteitä voidaan käyttää myös menetelmässä antibioottien antibioottisen vaikutuksen parantamiseksi, joissa annetaan antibiootti yhdessä kaavan I mukaisen lipopeptidin tai jonkin sen mainitun johdannaisen kanssa, jolloin tämä voi tapahtua erikseen tai simultaanisesti, esim. yllä mainittujen yhdistelmävalmisteiden muodossa. Tässä menetelmässä käytetään tehokas tai sub-tehokas annos antibioottia, riippuen viimeksi mainitun laadusta, esim. n. 50 - n. 500 mg yksittäisannosta kohden. Kaavan I mukaisia lipopeptidejä käytetään tässä menetelmässä yksittäisannoksina, jotka ovat n. 5 mg - puolet antibiootin määrästä. Tällöin

lipopeptidi voidaan antaa korkeintaan 24 tuntia ennen tai jälkeen, mieluummin kuitenkin suunnilleen samanaikaisesti antibioottin kanssa.

Tässä menetelmässä voidaan käyttää yksittäisiä anti-
 5 biootteja, kuten myös antibioottiseoksia. Parhaimpina pidet-
 tyjä antibiootteja mainittakoon β -laktaameista penisillii-
 nit, kefalosporiinit, peneemit, nokardisiinit, tienamyysi-
 nit ja klavulaanihakot. Penisilliini-antibiooteista mainit-
 10 takoon ensisijassa amoksisilliini, ampisilliini, karbeni-
 sillini, gloksasilliini, sykلاسilliini, digloksasilliini,
 mesillinami, metisilliini, penisilliini G, pensisilliini V,
 pivampisilliini, sulbenisilliini, atslosilliini, tikarsil-
 liini, metslosilliini, pivmesillinami tai 6-(4-endo-atsatri-
 syklo—(5.2.2.0^{2,6})undek-8-enyyli)-metyleeniaminopenisillaa-
 15 nihappo. Ryhmästä kefalosporiinit voidaan mainita esim. ke-
 faklori, kefatsafluri, kefatsoliini, kefadroksiili, kefosi-
 tiini, kefuroksiimi, kefasetriili, kefaleksiini, kefalogly-
 siini, kefaloridiini, kefalotiini, kefamandoli, kefanoni,
 kefapiriini, kefatritsiini, rafradiini, kefroksadiini (7 β -
 20 (D-2-amino-2-(1,4-sykloheksadienyyli)-asetamido)-3-metoksi-
 3-kefem-4-karboksyylihappo), kefsulodiini, kefotaksiimi, ke-
 fotiami, keftetsoli tai kefatsedoni. Nokardisiineistä mai-
 nittakoon esim. Nokardisiini A ja tienamyysiineistä ja kla-
 vulaanihakosta esim. tienamyysiini tai vast. klavulaanihakko.
 25 Aminoglykosideista mainittakoon etenkin streptomysiinit,
 esim. streptomysiini ja streptomysiini A, neomysiini, esim.
 neomysiini B, tobramysiinit, esim. tobramysiini tai dibeka-
 siini, kanamysiinit (esim. kanamysiini A:n, B:n ja C:n seok-
 set) sekä amikasiinit, gentamysiinit (esim. gentamysiini
 30 A:n, C₁:n, C₂:n tai C_{1a}:n seokset) tai sisomisiinit, kuten
 sisomysiini tai netilmisiini, edelleen lividomysiini, ribo-
 kamysiini tai paromomysiini. Tetrasykliineistä mainittakoon
 etenkin tetrasykliini, doksisykliini, klooritetrasykliini,
 oksitetrasykliini tai metasykliini. Makrolideinä mainitta-
 35 koon esim. maridomysiini, spiramysiini, kuten spiramysiini
 I, II ja III, erytromysiinit, esim. erytromysiini, oleaani-
 domysiinit, esim. oleaanidomysiini ja tetra-asetyylioleaa-

nidomysiini, ja linkomyseeneistä esim. linkomysiini ja klin-damysiini.

Polyeeni-antibiootteina mainittakoon etenkin amfoteri-siini B ja sen metyyliesterit tai nystatiini. Polypeptidi-
 5 antibiootteina voidaan mainita erityisesti esim. kolistrii-ni, gramisidiini S, polymyksiini B, virginamysiini, tyrotri-siini, viomysiini tai vankomysiini. Rifamysiineistä tulevat kysymykseen ensisijassa rifamysiini S, rifamysiini SV tai rifamysiini B tai niiden puolisynteettiset johdannaiset,
 10 etenkin rifampisiini.

Seuraavat esimerkit havainnollistavat yllä esitettyä keksintöä. Niiden tarkoituksena ei ole kuitenkaan rajoittaa keksinnön laajuutta millään tavoin. Lämpötilat on esitetty Celsius-asteina, R_f -arvot selvitetään piihappogeeli-ohut-
 15 kerroslevyillä (Merck, Darmstadt, Saksa). Liuottimien koos-tumus on esitetty tilavuusosina, mikäli toisin ei ole esitet-tä. Liuottimessa (liuotinseoksessa) olevan aineen konsentraa-tio, c, on optisessa kierrossa esitetty prosentteina (paino/tilavuus).

20 Lyhenteet:

Boc	tert.-butyylioksidikarbonyyli
Bz	bentsyyli
DMA	dimetyyliasetamidi
DMF	dimetyyliformamidi
25 EEDQ	2-etoksi-N-etoksidikarbonyyli-1,2-dihydro-kinoliini
Et	etyyli
Me	metyyli
nBu	n-butyli
Rotavap	kiertohaihdutin
30 RT	huoneen lämpötila
sp.	sulamispiste
Su	sukkinimidyyli
tBu	tert.-butyyli
Z	bentsyylioksidikarbonyyli

35 Esimerkki 1:

a) 4,1 g (3,89 mmoolia) palmitoyyli-Cys(2(R),3-dilau-royylioksi-propyyli)-Ala-D-Glu(OtBu)-NH₂:a liuotetaan seok-

seen, jossa on 18 ml trifluorietikkahappoa ja 42 ml metyleenikloridia. Pidetään 6 tuntia huoneen lämpötilassa, minkä jälkeen se haihdutetaan tyhjössä siirapiksi, hierretään eetterin kanssa ja saadaan väritön, kiteinen jäännös. Tämä uutetaan vielä kerran eetterillä ja kiteytetään kaksi kertaa uudelleen etanolista, minkä jälkeen saadaan palmitoyyli-Cys-(2(R),3-dilauroyylioksi—propyyli)-Ala-D-Glu-NH₂, $R_f = 0,23$ (CHCl₃:EtOH = 9:1), sp. 158-161°, $(\alpha)_D^{20} = -12^\circ$ (CHCl₃:MeOH = 1:1; c = 1,04).

10 Lähtömateriaali valmistetaan seuraavasti:

b) 5,4 g (6,67 mmoolia) palmitoyyli-Cys(2(R),3-dilauroyylioksi—propyyli), 2,2 g (7,1 mmoolia) Ala-D-Glu(OtBu)-NH₂:a x HCl ja 1,1 g (8,1 mmoolia) N-hydroksi-bentstriatsoolia liuotetaan seokseen, jossa on 120 ml absoluuttista dimetyyliformamidia ja 180 ml metyleenikloridia, lisätään 1,67 g (8,1 mmoolia) disykloheksyylikarbodi-imidiä ja saateetaan liuoksen pH arvoon n. 7 1 ml:lla trietyyliamiinia. Pidetään 16 tuntia huoneen lämpötilassa, minkä jälkeen se haihdutetaan tyhjössä kuivaksi. Jäännös uutetaan vedellä, uutteet heitetään pois, ja jäännös kiteytetään kaksi kertaa uudelleen metanolista. Saadaan värittömiä palmitoyyli-Cys(2(R),3-dilauroyylioksi—propyyli)-Ala-D-Glu(OtBu)-NH₂:n kiteitä, sp. 196-198°, $(\alpha)_D^{20} = -11^\circ$ (CHCl₃:MeOH = 1:1, c = 0,98), $R_f = 0,44$ (CHCl₃:EtOH = 9:1).

25 c) Lähtömateriaalina käytetty palmitoyyli-Cys(2(R),3-dilauroyylioksi-propyyli) saadaan vastaavasta bentshydryyliesteristä trifluorietikkahapon kanssa:

8 g bentshydryyliesteriä annetaan seistä 3 tuntia huoneen lämpötilassa seoksessa, jossa on 20 ml trifluorietikkahappoa ja 80 ml metyleenikloridia, haihdutetaan tyhjössä siirapiksi ja uutetaan tämä jäävedellä. Aine puhdistetaan kromatografialla 300 g:ssa piihappogeeliä, Merck, eluointiaineilla metyleenikloridi/etanoli = 95:5, metyleenikloridi/etanoli = 9:1, kloroformi/metanoli = 7:3.

35 Ennen aineen laittamista pylväälle saatetaan pH trietyyliamiinilla suunnilleen arvoon 5. Haihdutetaan ensin siirappimaiset puhtaan aineen fraktiot, joiden $R_f = 0,22$

(CHCl_3 :MeOH = 9:1), minkä jälkeen ne kiteytyvät lisättäessä metanolia, jolloin saadaan palmitoyyli-Cys(2(R),3-dilauroyylionioksi-propyyli); sp. 52-55 $^{\circ}$, $(\alpha)_D^{20} = -7^{\circ}$ (dioksaani; c = 0,65).

5 Esimerkki 2:

a) 300 mg palmitoyyli-Cys(2(R),3-dipalmitoyylioksi-propyyli)-Ala-D-glu-(Ala-OBz)-NH₂:a hydrataan 50 ml:ssa dimetyyliformamidi-tetrahydrofuraania (7:3) 200 mg:lla Pd-musta 50 tuntia 45 $^{\circ}$:ssa. Suodatetaan katalysaattorilta pois ja uutetaan 30 ml:lla lämmintä liuotinseosta. Liuokset haihdutetaan tyhjössä ja jäännös puhdistetaan 10 g:ssa piihappogeeliä, Merck, käyttämällä eluointiainena kloroformi-metanolia (9:1). Puhtaiden fraktioiden haihduttamisen jälkeen saadaan värittömiä palmitoyyli-Cys(2(R),3-dipalmitoyylioksi-propyyli)-Ala-D-Glu(Ala)-NH₂:n kiteitä, hajaantumisalue 224-229 $^{\circ}$, $(\alpha)_D^{20} = -12^{\circ}$ (CHCl_3 :MeOH = 1:1; c = 0,91), $R_f = 0,31$ (CHCl_3 :MeOH = 8:2).

Lähtömateriaalina käytetty bentsyyliesteri saadaan seuraavasti:

b) 0,6 g (0,659 mmoolia) palmitoyyli-Cys(2(R),3-dipalmitoyylioksi-propyyli):ä, 257,6 mg (0,659 mmoolia) Ala-D-Gly(Ala-OBz)-NH₂:a c HCl, 106,9 mg (0,79 mmoolia) N-hydroksi-bentstriatsolia ja 92 μ l trietyyliamiinia liuotetaan seokseen, jossa on 20 ml absoluuttista dimetyyliformamidia ja 50 ml metyleenikloridia ja lisätään tähän 164 mg (0,79 mmoolia) disykloheksyylikarbodi-imidiä. Pidetään 16 tuntia huoneen lämpötilassa, minkä jälkeen reaktioliuos haihdutetaan kuivaksi tyhjössä ja jäännös sekoitetaan 50 ml:aan metanolia 50 $^{\circ}$:ssa. Saadaan ensimmäinen kidefraktio, emäliuoksesta kiteytyy toinen fraktio. Molemmat fraktiot kiteytetään vielä uudelleen metanolista. Näin saadaan palmitoyyli-Cys(2(R),3-dipalmitoyylioksi-propyyli)-Ala-D-Glu(Ala-OBz)-NH₂:n värittömiä kiteitä; sp. 180-184 $^{\circ}$, $R_f = 0,61$ (CHCl_3 :EtOH = 9:1).

c) Tripeptidin kanssa tapahtuvaan liittäntään käytetty palmitoyyli-Cys(2(R),3-dipalmitoyylioksi-propyyli) saadaan esimerkin 1 c) mukaisesti vastaavasta bentsihydryyliesteristä värittömänä, kiteisenä aineena, sp. 71-75 $^{\circ}$, $R_f = 0,45$

(CHCl₃:MeOH) 9:1), $[\alpha]_D^{20} = -4^\circ$ (dioksaani; c = 0,89).

Esimerkki 3:

500 mg (0,34 mmoolia) palmitoyyli-Cys(2(R),3-dilaurooyylioksi-propyyli)-Ala-D-Glu{Lys(Boc)-Lys(Boc)-OMe}-NH₂:a liuotetaan seokseen, jossa on 5,3 ml 1,7 N suolahappoa absoluuttisessa etikkahappoetyyliesterissä ja 12 ml abs. metyleenikloridia. Pidetään tunnin ajan huoneen lämpötilassa, minkä jälkeen se haihdutetaan kuivaksi ja tämä tapahtuma toistetaan kolme kertaa kulloinkin 10 ml:lla metyyli-tert.-butyyliesteriä. Jäännös hierretään asetonilla, imetään sakka pois ja toistetaan tämä tapahtuma lämpimällä etikkahappoetyyliesterillä, johon lisätään ennen imemistä vielä sama tilavuusosa asetonia, minkä jälkeen saadaan palmitoyyli-Cys(2(R),3-dilaurooyylioksi-propyyli)-Ala-D-Glu{Lys-Lys-OMe}-NH₂ x 2 HCl värittömien kiteiden muodossa, jotka sisältävät 0,5 moolia kidevettä; sp. 250-260° (haj.), $[\alpha]_D^{20} = -18^\circ \pm 1^\circ$ (c = 0,849, CHCl₃:MeOH = 1:1), R_f = 0,22 (CHCl₃:MeOH:H₂O:etikkahappo = 75:25:2:2).

Lähtömateriaali valmistetaan seuraavasti:

Vaihe 3.1:

1 g (1,002 mmoolia) palmitoyyli-Cys(2(R),3-dilaurooy-

- lioksi-propyyli)-Ala-D-Glu-NH₂:a, 0,15 g N-hydroksi-bents-triatsolia, 0,15 g N-hydroksi-sukkinimidiä ja 0,5 g disykloheksyylikarbodi-imidiä sekoitetaan 3 tuntia huoneen lämpötilassa seoksessa, jossa on 5 ml dimetyyliformamidia, 20 ml
- 5 kloroformia ja 5 ml asetonitriiliä. Tämän jälkeen lisätään 0,55 g (1,05 mmoolia) Lys(Boc)-Lys(Boc)-OMe x HCl ja 0,3 ml trietyyliamiinia. Pidetään 40 tuntia huoneen lämpötilassa, minkä jälkeen se haihdutetaan tyhjössä, sekoitetaan jäännös 20 ml:aan vettä ja imetään pois. Tämä toistetaan metanolilla ja jäljelle jäävä sakka kiteytetään uudelleen MeOH:sta.
- 10 Näin saadaan palmitoyyli-Cys(2(R),3-dilauroyylioksi-propyyli)-Ala-D-Glu{Lys(Boc)-Lys(Boc)-OMe}-NH₂:n värittömiä kiteitä; sp. 180-182°, (α)_D²⁰ = -25° ± 1° (c = 1,395; CHCl₃), R_f = 0,69 (CHCl₃:MeOH = 9:1).
- 15 Esimerkki 4:
- 1 g (1,002 mmoolia) palmitoyyli-Cys(2(R),3-dilauroyylioksi-propyyli)-Ala-D-Glu-NH₂:a, 0,23 g N-hydroksi-sukkinimidiä, 0,07 g N-hydroksi-bents-triatsolia ja 0,52 g disykloheksyylikarbodi-imidiä liuotetaan 15 ml:aan abs. dimetyyli-
- 20 formamidia ja annetaan seistä 5 tuntia huoneen lämpötilassa. Tämän jälkeen lisätään liuos, jossa on 0,274 g glysyylitaauriinia ja 173 µl tetrametyyliguanidiinia 10 ml:ssa dimetyyli-formamidia. Pidetään 24 tuntia huoneen lämpötilassa, minkä jälkeen lisätään vielä 100 mg disykloheksyylikarbodi-imidiä,
- 25 100 mg N-hydroksi-sukkinimidiä, 50 mg glysyylitaauriinia ja 90 µl tetrametyyliguanidiinia. Pidetään vielä 24 tuntia huoneen lämpötilassa, minkä jälkeen se viimeistellään. Haihdutetaan tyhjössä, pestään jäännös 50 ml:lla heksaania, sitten 30 ml:lla asetonitriiliä, tämän jälkeen digeroidaan
- 30 3 kertaa kulloinkin 20 ml:lla kyllästettyä NaCl-liuosta, minkä jälkeen 40°:ssa jäännös, joka liuotetaan CHCl₃-MeOH-vesiseokseen (85:15:1) 40°:ssa ja kromatografoidaan piihappogee-
lin läpi. Eluoidaan CHCl₃-MeOH-H₂O:lla (70:30:3) ja haihdutetaan tyhjössä, minkä jälkeen saadaan palmitoyyli-Cys(2(R),3-
- 35 dilauroyylioksi-propyyli)-Ala-D-Glu(Gly-tauriininatriumsuola)-NH₂ x 0,82 H₂O; hajaantumispiste 250°, (α)_D²⁰ = -24° (c = 1,052; CHCl₃:MeOH = 1:1), R_f = 0,256 (CHCl₃:MeOH = 8:2).

Käytetty glysyylitaauriini saadaan tunnetulla tavalla hydrolysoimalla N-(Boc-Gly)-tauriini-natriumsuola trifluorietikkahapolla. N-(Boc-Gly)-tauriini-Na-suola saadaan puolestaan Boc-Gly-O-Su:sta ja tauriini-natriumsuolasta 90 %:ssa vesipitoisessa metanolissa.

Esimerkki 5:

521 mg (0,588 mmoolia) oktanoyyli-Cys(2(R,S),3-didekanoyylioksi-propyyli)-Ala-D-Glu(OtBu)-NH₂:a sekoitetaan huoneen lämpötilassa 6 tunnin kuluessa 5 ml:aan metyleenikloridia, joka sisältää 20 til.-% trifluorietikkahappoa. Tämän jälkeen liuotin tislataan pois kiertohaihduttimessa 40^o:n haudelämpötilassa, jäännös hierretään veden kanssa, imusuodatetaan, pestään neutraaliksi imusuodattimen päällä ja kuivataan 40^o:ssa/0,1 torrissa 4 tunnin kuluessa. Näin saatu raakatuote kiteytetään uudelleen etyyylimetyyliketonista, minkä jälkeen saadaan oktanoyyli-Cys(2(R,S),3-didekanoyylioksi-propyyli)-Ala-D-Glu-NH₂, sp. 170-171^o, (α)_D²⁰ = -13^o (c = 1,723; CHCl₃:metanoli = 1:1), R_f = 0,5 (CHCl₃:metanoli = 9:1).

Lähtömateriaali voidaan valmistaa seuraavasti:

Vaihe 5.1:

20 g:aan (0,16 moolia) L-kysteiiniä, joka on 150 ml:ssa pyridiiniä ja 120 ml:ssa metyleenikloridia, lisätään tiptaitain 20-25^o:ssa typpiatmosfäärissä 26,8 g (0,16 moolia) kappyylihappokloridia, joka on 30 ml:ssa metyleenikloridia, tämän jälkeen sekoitetaan 17 tuntia huoneen lämpötilassa. Reaktioseoksesta tislataan n. 40^o:ssa tyhjössä metyleenikloridi pois ja siihen lisätään 150 ml pyridiiniä, 150 ml DMA:ta ja 150 ml vettä, jolloin muodostuu homogeeninen liuos. Reaktioseoksen pH saatetaan nyt 30 %:sella NaOH:lla arvoon 9, sekoitetaan 2 tuntia huoneen lämpötilassa, saatetaan 2N suolahapolla pH-arvoon 5, uutetaan etikkahappoetyyliesterillä, kuivataan orgaaninen faasi natriumsulfaatin päällä ja haihdutetaan kiertohaihduttimessa 40-45^o:ssa, jolloin jäljelle jää oktanoyyli-Cys keltaisena viskoosina öljynä; R_f = 0,31 (kloroformi:metanoli = 7:3), (α)_D²⁰ = -16^o (c = 1,06; CHCl₃:MeOH = 1:1).

Vaihe 5.2:

40,4 g:aan (0,163 moolia) oktanoyyli-Cys:iä ja 52,8 g:aan (0,383 moolia) kaliumkarbonaattia, jotka ovat 375 ml:ssa etanolia, lisätään typpi-atmosfäärissä 13,9 g (0,189 moolia) glyseriiniglysidia. Heikossa typpivirrassa sekoitetaan 4 tuntia 75-80^o:ssa, jäädytetään huoneen lämpötilaan, suspensioon sekoitetaan 150 ml vettä, saatetaan 2N HCl:lla suunnitteen pH-arvoon 3 ja uutetaan etikkahappoetyyliesterillä. Orgaaninen faasi kuivataan natriumsulfaatin päällä, suodetaan ja suodos haihdutetaan, jolloin jäljelle jää oktanoyyli-Cys(2(R,S),3-dihydroksi-propyyli) keltaisena öljynä. $R_f = 0,23$ ($\text{CHCl}_3:\text{MeOH}:\text{H}_2\text{O} = 65:35:2$), $(\alpha)_D^{20} = -6^\circ$ ($c = 0,995$; $\text{CHCl}_3:\text{MeOH} = 1:1$).

Vaihe 5.3:

2,01 g:aan (6,32 mmoolia) oktanoyyli-Cys(2(R,S),3-dihydroksi-propyyli), joka on 40 ml:ssa dimetyyliasetamidia, lisätään 2,28 g (9,22 mmoolia) EEDQ:ta, 1,95 g (6,32 mmoolia) Ala-D-Glu(OtBu)-NH₂:a x HCl ja 0,77 ml (6,32 mmoolia) trietyyliamiinia, minkä jälkeen reaktioseoksen pH-arvo on 7. Sekoitetaan 16 tuntia 40-45^o:ssa, minkä jälkeen liuotin tislataan pois 40-45^o:ssa suurtyhjössä. Jäännös hierretään 3 kertaa dietyylietterillä ja 3 kertaa etikkahappoetyyliesterillä ja dekantoidaan kulloinkin nestemäinen faasi pois. Liukenematon jäännös kuivataan tunnin kuluessa 40^o:ssa ja 1 torrissa, liuotetaan 30 ml:aan THF-H₂O:ta (9:1) huoneen lämpötilassa ja saostetaan jälkeen 100 ml:lla H₂O:ta sekoittaen. Tämä sakka imetään pois ja kuivataan 40^o:ssa ja 1 torrissa, jolloin saadaan oktanoyyli-Cys(2(R,S),3-dihydroksi-propyyli)-Ala-D-Glu(OtBu)-NH₂; sp. 184-186^o, $R_f = 0,61$ (metyleenikloridi:metanoli = 8:2), $(\alpha)_D^{20} = -4^\circ$ ($c = 0,479$; $\text{CHCl}_3:\text{MeOH} = 1:1$).

Vaihe 5.4:

2,5 g (3,6 mmoolia) oktanoyyli-Cys(2(R,S),3-dihydroksi-propyyli)-Ala-D-Glu(OtBu)-NH₂:a, joka on seoksessa, jossa on 18,9 ml (0,23 moolia) pyridiiniä ja 18,9 ml hiilitetrakloridia, lämmitetään 55-60^o:seen ja siihen lisätään tässä lämpötilassa 37,8 g (0,31 mmoolia) 4-dimetyyliaminopyri-

diiniä ja 1,7 ml (8,1 mmoolia) kapriinihappokloridia. Reaktioseosta sekoitetaan 20 tuntia 55-60^o:ssa, jäädytetään, laimennetaan 200 ml:lla metyleenikloridia, ravistetaan 3 kertaa kulloinkin 50 ml:lla 2N HCl:a, sitten pestään H₂O:lla
 5 neutraaliksi, kuivataan orgaaninen faasi Na₂SO₄:n päällä ja haihdutetaan. Ruskea, hartsimainen jäännös puhdistetaan painekromatografialla piihappogeelin kautta (0,040-0,64 mm) käyttämällä ajoaineena CH₂Cl₂:metanolia = 96:4, minkä jälkeen saadaan oktanoyyli-Cys(2(R,S),3-didekanoyylioksi-propyyli)-Ala-D-Glu(OtBu)-NH₂, sp. 144-146^o, (α)_D²⁰ = -10^o (c = 1,017; CHCl₃:metanoli = 1:1), R_f = 0,64 (CHCl₃:metanoli = 9:1).

Esimerkki 6:

0,972 g (1,03 mmoolia) oktanoyyli-Cys(2(R,S),3-didekanoyylioksi-propyyli)-Ala-D-Glu(OtBu)-NH₂ muunnetaan esimerkin 1 a) mukaisesti oktanoyyli-Cys(2(R,S),3-didodekanoyylioksi-propyyli)-Ala-D-Glu-NH₂:ksi, sp. 162^o, (α)_D²⁰ = +12^o (c = 0,855; kloroformi:metanoli = 1:1), R_f = 0,2 (kloroformi:metanoli = 92:8).

20 Lähtömateriaali saadaan seuraavasti:

Vaihe 6:1:

1,1 g (1,90 mmoolia) oktanoyyli-Cys(2(R,S),3-dihydroksi-propyyli)-Ala-D-Glu(OtBu)-NH₂:a muunnetaan vaiheen 5.4 mukaisesti lauriinihappokloridilla oktanoyyli-Cys(2(R,S),3-didodekanoyylioksi-propyyli)-Ala-D-Glu(OtBu)-NH₂:ksi, sp. 140-141^o, (α)_D²⁰ = -9^o (c = 1,352; kloroformi:metanoli = 1:1), R_f = 0,37 (kloroformi:metanoli = 92:8).

Esimerkki 7:

900 mg (0,902 mmoolia) oktanoyyli-Cys(2(R,S),3-ditetradekanoyylioksi-propyyli)-Ala-D-Glu(OtBu)-NH₂ muunnetaan esimerkin 1 a) mukaisesti oktanoyyli-Cys(2 R,S ,3-ditetradekanoyylioksi-propyyli)-Ala-D-Glu-NH₂:ksi; sp. 166^o, (α)_D²⁰ = -11^o (c = 1,457; CHCl₃:metanoli = 1:1), R_f = 0,11 (CHCl₃:metanoli = 92:8).

35 Lähtömateriaali saadaan seuraavasti:

Vaihe 7.1:

1,1 g (1,90 mmoolia) oktanoyyli-Cys(2(R,S),3-dihydrok-

si-propyyli)-Ala-D-Glu(OtBu)-NH₂ saatetaan reagoimaan myristoyylikloridin (1,03 g, 4,18 mmoolia) kanssa vaiheen 5.4 mukaisesti oktanoyyli-Cys(2(R,S),3-ditetradekanoyyliokso-propyyli)-Ala-D-Glu(OtBu)-NH₂:ksi, sp. 140-141^o, $(\alpha)_D^{20} = -10^o$ (c = 0,648; CHCl₃:metanoli = 1:1), R_f = 0,5 (CHCl₃:metanoli = 92:8).

Esimerkki 8:

995,3 g (0,971 mmoolia) dekanoyyli-Cys(2(R,S),3-ditetradekanoyylioksi-propyyli)-Ala-D-Glu(OtBu)-NH₂ muunnetaan
 10 esimerkin 1 a) mukaisesti dekanoyyli-Cys(2(R,S),3-ditetradekanoyylioksi-propyyli)-Ala-D-Glu-NH₂:ksi, sp. 154-155^o, $(\alpha)_D^{20} = -12^o$ (c = 0,922; CHCl₃:metanoli = 1:1), R_f = 0,41 (CHCl₃:metanoli = 1:1).

Lähtötuote saadaan seuraavasti:

Vaihe 8.1:

20 g L-kysteiiniä (0,1652 moolia) saatetaan reagoimaan kapriinihappokloridin (28,2 g, 0,1487 moolia) kanssa vaiheen 5.1 mukaisesti dekanoyyli-Cys:iksi; sp. 57-58^o, R_f = 0,21 (CHCl₃:metanoli = 85:15), $(\alpha)_D^{20} = -15^o$ (c = 0,814; CHCl₃:
 20 MeOH = 1:1).

Vaihe 8.2:

6,1 g (22,2 mmoolia) dekanoyyli-Cys:ä muunnetaan vaiheen 5.2 mukaisesti dekanoyyli-Cys(2(R,S),3-dihydroksi-propyyli):ksi. Saadaan viskoosi, keltainen öljy, R_f = 0,25
 25 (CHCl₃:MeOH = 65:35), $(\alpha)_D^{20} = -4^o$ (c = 0,946; CHCl₃:MeOH = 1:1).

Vaihe 8.3:

2,62 g (7,49 mmoolia) dekanoyyli-Cys(2(R,S),3-dihydroksi-propyyli):ä saatetaan reagoimaan Ala-D-Glu(OtBu)-NH₂
 30 x HCl:n (2,31 g, 1,49 mmoolia) kanssa esimerkin 1 b) mukaisesti dekanoyyli-Cys(2(R,S),3-dihydroksi-propyyli)-Ala-D-Glu(OtBu)-NH₂:ksi, sp. 166-167^o, $(\alpha)_D^{20} = -27^o$ (c = 0,804; CHCl₃:metanoli = 1:1), R_f = 0,48 (CH₂Cl₂:metanoli = 85:15).

Vaihe 8.4:

35 907 mg (1,5 mmoolia) dekanoyyli-Cys(2(R,S),3-dihydroksi-propyyli)-Ala-D-Glu(OtBu)-NH₂:a saatetaan reagoimaan myristoyylikloridin (814 mg, 3,3 mmoolia) kanssa dekanoyyli-

Cys(2(R,S),3-ditetradekanoyylioksi-propyyli)-Ala-D-Glu(OtBu)-NH₂:ksi, sp. 138-139°, (α)_D²⁰ = -9° (c = 1,234; CHCl₃:metanoli = 1:1), R_f = 0,51 (CHCl₃:metanoli = 9:1).

Esimerkki 9:

5 987 mg dekanoyyli-Cys(2(R,S),3-didodekanoyylioksi-propyyli)-Ala-D-Glu(OtBu)-NH₂ muunnetaan esimerkin 1 a) mukaisesti dekanoyyli-Cys(2(R,S),3-didodekanoyylioksi-propyyli)-Ala-D-Glu-NH₂:ksi, sp. 180°, (α)_D²⁰ = -12° (c = 1,066; CHCl₃:metanoli = 1:1), R_f = 0,4 (CHCl₃:metanoli = 92:8).

10 Lähtömateriaali valmistetaan seuraavasti:

Vaihe 9.1:

604 mg (1 mmoolia) dekanoyyli-Cys(2(R,S),3-dihydroksi-propyyli)-Ala-D-Glu(OtBu)-NH₂ saatetaan reagoimaan lauriinihappokloridin (480 mg; 2,2 mmoolia) kanssa vaiheen 5.4 mukaisesti dekanoyyli-Cys(2(R,S),3-didodekanoyylioksi-propyyli)-Ala-D-Glu(OtBu)-NH₂:ksi, sp. 146-147°, (α)_D²⁰ = -8° (c = 1,246; CHCl₃:metanoli = 1:1), R_f = 0,62 (CHCl₃:metanoli = 9:1).

Esimerkki 10:

20 1,5 g (1,75 mmoolia) dekanoyyli-Cys(2(R,S),3-dioktanoyylioksi-propyyli)-Ala-D-Glu(OtBu)-NH₂ muunnetaan esimerkin 1 a) mukaisesti dekanoyyli-Cys(2 R,S ,3-dioktanoyylioksi-propyyli)-Ala-D-Glu-NH₂:ksi, sp. 154-155°, (α)_D²⁰ = -15° (c = 0,958; CHCl₃:metanoli = 1:1); R_f = 0,375 (CHCl₃:metanoli:H₂O = 80:20:1).

Lähtömateriaali valmistetaan seuraavasti:

Vaihe 10.1:

955,5 mg (1,58 mmoolia) dekanoyyli-Cys(2(R,S),3-dihydroksi-propyyli)-Ala-D-Glu(OtBu)-NH₂ saatetaan reagoimaan vaiheen 5.4 mukaisesti kapryylihappokloridin (565 mg, 3,475 mmoolia) kanssa dekanoyyli-Cys(2(R,S),3-dioktanoyylioksi-propyyli)-Ala-D-Glu(OtBu)-NH₂:ksi, sp. 165-167°, (α)_D²⁰ = -12° (c = 0,930; CHCl₃:metanoli = 1:1), R_f = 0,454 (tolueeni-etanoli = 85:15).

35 Esimerkki 11:

2,912 g (2,841 mmoolia) tetradekanoyyli-Cys(2(R,S),3-didodekanoyylioksi-propyyli)-Ala-D-Glu(OtBu)-NH₂ muunnetaan

esimerkin 1 a) mukaisesti tetradekanoyyli-Cys(2(R,S),3-didodekanoyylioksi-propyyli)-Ala-D-Glu-NH₂:ksi, sp. 160-162^o, $(\alpha)_D^{20} = -12^o$ (c = 1,333; CHCl₃:metanoli = 1:1), R_f = 0,39 (CHCl₃:MeOH:H₂O = 80:20:1).

5 Lähtömateriaali valmistetaan seuraavasti:

Vaihe 11.1:

20 g (0,1652 moolia) Cys:iä saatetaan reagoimaan myristoyylikloridin (36,6 g, 0,1487 moolia) kanssa vaiheen 5.1 mukaisesti tetradekanoyyli-Cys:ksi, sp. 63-65^o, R_f = 0,13

10 CH₂Cl₂:asetoni = 8:2).

Vaihe 11.2:

31,0 g (93,5 mmoolia) tetradekanoyyli-Cys:iä saatetaan vaiheen 5.2 mukaisesti reagoimaan glyseriiniglysidin (8,3 g, 108 mmoolia) kanssa tetradekanoyyli-Cys(2(R,S),3-dihydroksi-prolyyli):ksi (hartsia), R_f = 0,19 (CHCl₃:metanoli = 65:35), $(\alpha)_D^{20} = +3^o$ (c = 1,183; CHCl₃:MeOH = 1:1).

15

Vaihe 11.3:

3,0 g (7,39 mmoolia) tetradekanoyyli-Cys(2(R,S),3-dihydroksi-propyyli) saatetaan reagoimaan Ala-D-Glu(OtBu)-NH₂ x HCl:n (2,28 g, 7,39 moolia) kanssa vaiheen 5.3 mukaisesti tetradekanoyyli-Cys(2(R,S),3-dihydroksi-propyyli)-Ala-D-Glu(OtBu)-NH₂:ksi, sp. 161-162^o, R_f = 0,52 (tolueeni:etikkahappo:etyyliesteri:isopropanoli:2N etikkahappo = 10:35:35:20), $(\alpha)_D^{20} = -19^o$ (c = 1,112; CHCl₃:MeOH = 1:1).

20

Vaihe 11.4:

3,29 g (5,21 mmoolia) tetradekanoyyli-Cys(2(R,S),3-dihydroksi-propyyli)-Ala-D-Glu(OtBu)-NH₂ saatetaan reagoimaan lauriinihappokloridin (2,5 g, 11,4 mmoolia) kanssa vaiheen 5.4 mukaisesti tetradekanoyyli-Cys(2(R,S),3-didodekanoyylioksi-propyyli)-Ala-D-Glu(OtBu)-NH₂:ksi, sp. 129-131^o, $(\alpha)_D^{20} = -7^o$ (c = 1,194; CHCl₃:metanoli = 1:1), R_f = 0,55 (CHCl₃:metanoli = 9:1).

25

30

Esimerkki 12:

1,02 g (1,06 mmoolia) tetradekanoyyli-Cys(2(R,S),3-didekanoyylioksi-propyyli)-Ala-D-Glu(OtBu)-NH₂ muunnetaan esimerkin 1 a) mukaisesti tetradekanoyyli-Cys(2 R,S ,3-didekanoyylioksi-propyyli)-Ala-D-Glu-NH₂:ksi, sp. 166-167^o, $(\alpha)_D^{20} =$

35

-13° ($c = 1,13$; CHCl_3 :metanoli = 1:1), $R_f = 0,3$ (CHCl_3 :metanoli: $\text{H}_2\text{O} = 75:25:1$).

Lähtömateriaali valmistetaan seuraavasti:

Vaihe 12.1:

- 5 997,7 g (1,5 mmoolia) tetradekanoyyli-Cys(2(R,S),3-dihydroksi-propyyli)-Ala-D-Glu(OtBu)-NH₂ saatetaan reagoimaan vaiheen 5.4 mukaisesti kapriinihappokloridin (629 mg, 3,3 mmoolia) kanssa tetradekanoyyli-Cys(2(R,S),3-didekanoyylioksi-propyyli)-Ala-D-Glu(OtBu)-NH₂:ksi, sp. 132-133^o,
10 (α)_D²⁰ = -10^o ($c = 0,943$; CHCl_3 :metanoli = 1:1), $R_f = 0,64$ (CHCl_3 :metanoli = 9:1).

Esimerkki 13:

- 15 1,311 g (1,41 mmoolia) tetradekanoyyli-Cys(2(R,S),3-dioktanoyylioksi-propyyli)-Ala-D-Glu(OtBu)-NH₂ muunnetaan esimerkin 1 a) mukaisesti tetradekanoyyli-Cys(2(R,S),3-dioktanoyylioksi-propyyli)-Ala-D-Glu-NH₂:ksi, sp. 170^o, (α)_D²⁰ = -13^o ($c = 1,201$; CHCl_3 :metanoli = 1:1), $R_f = 0,43$ (CHCl_3 :metanoli: $\text{H}_2\text{O} = 80:20:0,5$).

Lähtömateriaali valmistetaan seuraavasti:

20 Vaihe 13.1:

- 998,2 mg (1,58 mmoolia) tetradekanoyyli-Cys(2(R,S),3-dihydroksi-propyyli)-Ala-D-Glu-NH₂ saatetaan reagoimaan kapriylihappokloridin (565 mg, 3,47 mmoolia) kanssa vaiheen 5.4 mukaisesti tetradekanoyyli-Cys(2(R,S),3-dioktanoyylioksi-propyyli)-Ala-D-Glu(OtBu)-NH₂:ksi, sp. 136-138^o, (α)_D²⁰ = -9^o
25 ($c = 0,990$; CHCl_3 :metanoli = 1:1), $R_f = 0,54$ (CHCl_3 :metanoli = 9:1).

Esimerkki 14:

- 30 565 mg (0,659 mmoolia) tetradekanoyyli-Cys(2(R,S),3-diheksanoyylioksi-propyyli)-Ala-D-Glu(OtBu)-NH₂ muunnetaan esimerkin 1 a) mukaisesti tetradekanoyyli-Cys(2(R,S),3-diheksanoyylioksi-propyyli)-Ala-D-Glu-NH₂:ksi, sp. 176-177^o,
 (α)_D²⁰ = -14^o ($c = 1,130$; CHCl_3 :metanoli = 1:1), $R_f = 0,31$ (CHCl_3 :metanoli = 8:2).

- 35 Lähtömateriaali valmistetaan seuraavasti:

Vaihe 14.1:

 1 g (1,58 mmoolia) tetradekanoyyli-Cys(2(R,S),3-dihyd-

roksi-propyyli)-Ala-D-Glu(OtBu)-NH₂ saatetaan reagoimaan vaiheen 5.4 mukaisesti kapronihappokloridin (466 mg, 3,48 mmoolia) kanssa tetradekanoyyli-Cys(2(R,S),3-diheksanoyyli-oksi-propyyli)-Ala-D-Glu(OtBu)-NH₂:ksi, sp. 144-145°, (α)_D²⁰ = -12° (c = 1,281; CHCl₃:metanoli = 1:1), R_f = 0,43 (CHCl₃:metanoli = 95:5).

Esimerkki 15:

Esimerkin 1 a) mukaisesti saippuoidaan palmitoyyli-Cys(2(R),3-dilauroyylioksi-propyyli)-Abu-D-Glu(OtBu)-NH₂ liuoksella, jossa on 3 til.osaa trifluorietikkahappoa 7 til.osassa metyleenikloridia, huoneen lämpötilassa 3 tunnin kuluessa. Vastaavan viimeistelyn jälkeen saadaan palmitoyyli-Cys(2(R),3-dilauroyylioksi-propyyli)-Abu-D-Glu-NH₂ värittömien kiteiden muodossa, sp. 176-179°, (α)_D²⁰ = -15° (c = 0,818, CHCl₃:MeOH = 1:1), R_f = 0,155 (CHCl₃:MeOH = 9:1).

Lähtöaine valmistetaan seuraavasti:

Vaihe 15.1:

Esimerkin 1 b) mukaisesti saadaan Abu-D-Glu(OtBu)-NH₂ x HCl:stä ja palmitoyyli-Cys(2(R),3-dilauroyylioksi-propyyli):stä EEDQ:lla palmitoyyli-Cys(2(R),3-dilauroyylioksi-propyyli)-Abu-D-Glu(OtBu)-NH₂ värittömien kiteiden muodossa, sp. 139-141°, (α)_D²⁰ = -14° (c = 0,865; CHCl₃:MeOH = 1:1), R_f = 0,7 (CHCl₃:MeOH = 9:1).

Esimerkki 16:

Esimerkin 1 a) mukaisesti saippuoidaan palmitoyyli-Cys(2(R),3-dilauroyylioksi-propyyli)-Val-D-Glu(OtBu)-NH₂ liuoksella, jossa on 3 tilavuusosaa trifluorietikkahappoa ja 7 tilavuusosaa metyleenikloridia, huoneen lämpötilassa 3 tunnin kuluessa. Vastaavan viimeistelyn jälkeen saadaan palmitoyyli-Cys(2(R),3-dilauroyylioksi-propyyli)-Val-D-Glu-NH₂ värittömien kiteiden muodossa, sp. 173-175°, (α)_D²⁰ = -16° (c = 0,985; CHCl₃:MeOH = 1:1), R_f = 0,25 (CHCl₃:MeOH = 9:1).

Lähtöaine valmistetaan seuraavasti:

Vaihe 16.1:

Esimerkin 1 b) mukaisesti saadaan Val-D-Glu(OtBu)-NH₂ x HCl:stä ja palmitoyyli-Cys(2(R),3-dilauroyylioksi-propyyli):stä EEDQ:lla palmitoyyli-Cys(2(R),3-dilauroyylioksi-pro-

pyyli)-Val-D-Glu(OtBu)-NH₂ värittömien kiteiden muodossa, sp. 142-144°, (α)_D²⁰ = -10° (c = 0,791; CHCl₃:MeOH = 1:1), R_f = 0,77 (CHCl₃:MeOH = 9:1).

Esimerkki 17:

- 5 Esimerkin 1 a) mukaisesti saadaan dodekanoyyli-Cys(2(R), 3-didekanoyylioksi-propyyli)-Ala-D-Glu(OtBu)-NH₂:sta trifluorietikkahapolla metyleenikloridissa dodekanoyyli-Cys(2(R), 3-didekanoyylioksi-propyyli)-Ala-D-Glu-NH₂ värittömien kiteiden muodossa, sp. 152-154°, (α)_D²⁰ = -16° (c = 1,185; CHCl₃:MeOH = 1:1), R_f = 0,35 (CHCl₃:MeOH = 85:15).

Lähtöaine valmistetaan seuraavasti:

Vaihe 17.1:

- Vaiheen 5.3 mukaisesti saadaan dodekanoyyli-Cys(2(R), 3-dihydroksi-propyyli):stä ja Ala-D-Glu(OtBu)-NH₂ x HCl:stä
15 dodekanoyyli-Cys(2(R), 3-dihydroksi-propyyli)-Ala-D-Glu(OtBu)-NH₂ värittömien kiteiden muodossa, sp. 177-179°, (α)_D²⁰ = -27° (c = 0,864; CHCl₃:MeOH = 1:1), R_f = 0,605 (CHCl₃:MeOH = 5:1).

Vaihe 17.2:

- Vaiheen 5.4 mukaisesti saadaan dodekanoyyli-Cys(2(R), 3-dihydroksi-propyyli)-Ala-D-Glu(OtBu)-NH₂:sta dekanoyylikloridilla pyridiinissä dodekanoyyli-Cys(2(R), 3-didekanoyylioksi-propyyli)-Ala-D-Glu(OtBu)-NH₂ värittömien kiteiden muodossa, sp. 129-132°, (α)_D²⁰ = -13° (c = 0,882; CHCl₃:MeOH = 1:1), R_f = 0,59 (CHCl₃:MeOH = 9:1).

25 Esimerkki 18:

- Esimerkin 1 a) mukaisesti saadaan dodekanoyyli-Cys(2(R), 3-didodekanoyylioksi-propyyli)-Ala-D-Glu(OtBu)-NH₂:sta trifluorietikkahapolla metyleenikloridissa dodekanoyyli-Cys(2(R), 3-didodekanoyylioksi-propyyli)-Ala-D-Glu-NH₂, sp. 149-150°,
30 (α)_D²⁰ = -15° (c = 1,1019; CHCl₃:metanoli = 1:1), R_f = 0,44 (CHCl₃:MeOH = 85:15).

Lähtöaine valmistetaan seuraavasti:

Vaihe 18.1:

- Vaiheen 5.4 mukaisesti saadaan dodekanoyyli-Cys(2(R), 3-dihydroksi-propyyli)-Ala-D-Glu(OtBu)-NH₂:sta dodekanoyylikloridilla pyridiinissä dodekanoyyli-Cys(2(R), 3-didodekanoyylioksi-propyyli)-Ala-D-Glu(OtBu)-NH₂ värittömien kiteiden

muodossa, sp. 125-128°, $(\alpha)_D^{20} = -12^\circ$ (c = 0,951; CHCl₃:MeOH = 1:1), $R_f = 0,425$ (CHCl₃:MeOH = 95:5).

Esimerkki 19:

Esimerkin 1 a) mukaisesti saadaan dodekanoyyli-Cys(2(R),
5 3-dioktanoyylioksi-propyyli)-Ala-D-Glu(OtBu)-NH₂:sta dodekanoyyli-Cys(2(R),3-dioktanoyylioksi-propyyli)-Ala-D-Glu-NH₂ värittömien kiteiden muodossa, sp. 156-158°, $(\alpha)_D^{20} = -17^\circ$ (c = 0,969; CHCl₃:MeOH = 1:1), $R_f = 0,355$ (CHCl₃:MeOH = 85:15).

10 Lähtöaine valmistetaan seuraavasti:

Vaihe 19.1:

Vaiheen 5.4 mukaisesti saadaan dodekanoyyli-Cys(2(R),
3-dihydroksi-propyyli)-Ala-D-Glu(OtBu)-NH₂:sta oktanoyyli-
15 kloridilla pyridiinissä dodekanoyyli-Cys(2(R),3-dioktanoyylioksi-propyyli)-Ala-Glu(OtBu)-NH₂ värittömien kiteiden muodossa, sp. 130-132°, $(\alpha)_D^{20} = -13^\circ$ (c = 0,874; CHCl₃:MeOH = 1:1), $R_f = 0,565$ (CHCl₃:MeOH = 95:5).

Esimerkki 20:

Palmitoyyli-Cys(2(R),3-dilauroyylisipropyyli) ja Ala-
20 D-Glu-(Arg-OMe)-NH₂ x HCl:stä saadaan esimerkin 1 b) mukaisesti palmitoyyli-Cys(2(R),3-dilauroyylisipropyyli)-Ala-D-Glu(Arg-OMe)-NH₂ x HCl; $(\alpha)_D^{20} = -8^\circ$ (c = 0,493; kloroformi:metanoli = 1:1), $R_f = 0,39$ (kloroformi:metanoli:vesi = 70:30:5), $R_f = 0,74$ (kloroformi:metanoli:vesi:etikkahappo =
25 55:47:13:5).

Lähtöaine saadaan seuraavasti:

Vaihe 20.1:

29,79 g (75 mmoolia) Boc-Ala-D-Glu-NH₂:a, 9,49 g (82,5 mmoolia) N-hydroksi-sukkinimidiä ja 19,59 g (75 mmoolia) Arg-
30 OMe x 2 HCl:a liuotetaan 300 ml:aan abs. dimetyyliformamidia, sitten siihen sekoitetaan kylmässä ensin 8,26 ml (75 mmoolia) N-metyyli-morfoliinia ja lopuksi 81,57 g (90 mmoolia) disykloheksyylikarbodi-imidiä. Sekoitetaan 22 tuntia huoneen lämpötilassa, minkä jälkeen keltainen suspensio laimennetaan
35 150 ml:lla etikkahappoetyyliesteriä, liukenematon sakka imeetään pois ja suodos haihdutetaan kuiviin. Jäännös suspensoidaan 300 ml:aan tislattua vettä kylmässä, disykloheksyy-

livirtsa-aine imetään pois ja suodos haihdutetaan kuiviin. Raakatuote puhdistetaan vastavirtajaolla (ala- ja yläfaasi kulloinkin 25 ml) järjestelmässä n-butanoli:vesi = 1:1, K-arvo (jakokerroin) = 0,40. 326 jakovaiheen astiassa 84-120 saatu materiaali kerätään, liuotin haihdutetaan 30^o:ssa tyhjössä ja jäännös puhdistetaan kiteyttämällä se kaksi kertaa isopropanolista ja etikkahappoetyyliesteri-dietyylieetteristä (1:2). Saadaan Boc-Ala-D-Glu(Arg-OMe)-NH₂ x HCl värittömien kiteiden muodossa, sp. 71^o, $(\alpha)_D^{20} = -18^{\circ}$ (c = 0,549; metanoli), $R_f = 0,28$ (etikkahappoetyyliesteri:n-butanoli:pyridiini:etikkahappo:vesi = 42:21:21:6:10), $R_f = 0,64$ (kloroformi:metanoli:vesi:etikkahappo = 55:47:13:5).

Vaihe 20.2:

Boc-Ala-D-Glu(Arg-OMe)-NH₂ x HCl:sta saadaan lohkaissamalla 5N HCl:lla etikkahappodietyyliesterissä Ala-D-Glu(Arg-OMe)-NH₂ x 2 HCl; $(\alpha)_D^{20} = -4^{\circ}$ (c = 0,407; metanoli), $R_f = 0,16$ (kloroformi:metanoli:vesi:etikkahappo = 55:47:13:5), $R_f = 0,03$ (etikkahappoetyyliesteri:n-butanoli;pyridiini:etikkahappo:vesi = 42:21:21:6:10).

Esimerkki 21:

Palmitoyyli-Cys(2(R),3-dilauroyylioksi-propyyli)-MeAla-D-Glu(OtBu)-NH₂:sta ja trifluorietikkahaposta metyleenikloridissa saadaan esimerkin 1 a) mukaisesti palmitoyyli-Cys(2(R),3-dilauroyylioksi-propyyli)-MeAla-D-Glu-NH₂; $(\alpha)_D^{20} = -12^{\circ}$ (c = 0,592; kloroformi:metanoli 1:1); $R_f = 0,67$ (kloroformi:metanoli:vesi = 70:30:5), $R_f = 0,36$ (kloroformi:isopropanoli:etikkahappo = 70:8:2).

Lähtömateriaali valmistetaan seuraavasti:

Vaihe 21.1:

Palmitoyyli-Cys(2(R),3-dilauroyylioksi-propyyli):sta ja Me-Ala-D-Glu(OtBu)-NH₂:sta saadaan esimerkin 1 b) mukaisesti palmitoyyli-(2(R),3-dilauroyylioksi-propyyli)-MeAla-D-Glu(OtBu)-NH₂; $R_f = 0,31$ (kloroformi:dimetoksietaani = 4:1), $R_f = 0,90$ (kloroformi:metanoli:vesi = 70:30:5).

Esimerkki 22:

Palmitoyyli-Cys(2(R),3-dilauroyylioksi-propyyli):sta ja Ser-D-Glu(OMe)-OMe:stä saadaan esimerkin 1 b) mukaisesti

palmitoyyli-Cys(2(R),3-dilauroyylioksi-propyyli)-Ser-D-Glu(OMe)-OMe; $(\alpha)_D^{20} = -12^\circ$ (c = 0,470; kloroformi), $R_f = 0,91$ (kloroformi:metanoli:vesi = 70:30:5), $R_f = 0,27$ (kloroformi:dimetoksietaani = 4:1).

5 Esimerkki 23:

Palmitoyyli-Cys(2(R,S),3-dilauroyylioksi-propyyli):stä ja Ala-D-Glu(NH₂)-OnBu x HCl:stä saadaan esimerkin 1 b) mukaisesti palmitoyyli-Cys(2(R,S),3-dilauroyylioksi-propyyli)-Ala-D-Glu(NH₂)-OnBu; sp. 156-159^o, $(\alpha)_D^{20} = -8^\circ$ (c = 0,631; kloroformi), $R_f = 0,82$ (n-butanoli:etikkahappo:vesi = 75:7,5:21), $R_f = 0,12$ (kloroformi:dimetoksietaani = 4:1).

Esimerkki 24:

Palmitoyyli-Cys(2(R),3-dilauroyylioksi-propyyli)-Ala-D-Gla{(OtBu)₂}-NH₂:a saatetaan reagoimaan trifluorietikkahapon kanssa metyleenikloridissa esimerkin 1 a) mukaisesti. Saatu jäännös liuotetaan pieneen määrään pyridiiniä, liuos laimennetaan suhteessa 1:10 kaksinkertaisesti tislattulla vedellä, suodatetaan Millipore-suodattimen (0,45 μ) läpi ja lyofilisoidaan, minkä jälkeen saadaan palmitoyyli-Cys(2(R),3-dilauroyylioksi-propyyli)-Ala-D-Gla-NH₂, sp. 172-174^o, $(\alpha)_D^{20} = -7^\circ$ (c = 0,64; pyridiini), $R_f = 0,26$ (kloroformi:metanoli:vesi = 70:30:5), $R_f = 0,40$ (n-butanoli:etikkahappo:vesi = 75:7,5:21). $R_f = 0,64$ (etikkahappoetyyliesteri:n-butanoli:pyridiini:etikkahappo:vesi = 42:21:21:6:10).

Saatu happo liuotetaan abs. pyridiiniin ja titrataan sulmien kosteus pois 2 ekvivalentilla 0,1 M metanolista natriummetylaattiliuosta. Laimennetaan suhteessa 1:10 kaksinkertaisesti tislattulla vedellä, suodatetaan Millipore-suodattimen (0,45 μ) kautta ja lyofilisoidaan, minkä jälkeen saadaan palmitoyyli-Cys(2(R),3-dilauroyylioksi-propyyli)-Ala-D-Gla-NH₂-dinatriumsuola.

Lähtömateriaali saadaan seuraavasti:

Vaihe 24.1:

Z-Ala:sta ja D,L-Gla{(OtBu)₂}-NH₂:sta saadaan EEDQ-menetelmän avulla Z-Ala-D,L-Gla{(OtBu)₂}-NH₂ värittömien neutlasten muodossa, sp. 119-120^o, $(\alpha)_D^{20} = -13^\circ$ (c = 0,891; metanoli), $R_f = 0,74$ (kloroformi:metanoli:vesi = 70:30:5),

$R_f = 0-68$ (n-butanoli:pyridiini:etikkahappo:vesi = 38:24:8:30).

Vaihe 24.2:

10,2 g (20 mmoolia) Z-Ala-D,L-Gla{(OtBu)₂}-NH₂:a 300
 5 ml:ssa metanolia hydrataan normaalipaineessa sen jälkeen,
 kun on lisätty 2 g Pd/C:a (10 %:sta). Katalysaattori suoda-
 tetaan pois, suodos haihdutetaan ja saatu diastereomeeri-
 seos kromatografoidaan "vapaana emäksenä" piihappogeelissä
 (60, Merck, 1:100; 15 ml fraktiot) järjestelmässä klorofor-
 10 mi:metanoli = 9:1. Fraktioihin 106-200 sisältyvät diastereo-
 meerit voidaan saada puhtaina kiteyttämällä varovasti dime-
 toksietaanista (19 ml). Annetaan seistä 3 tuntia -10⁰:ssa,
 minkä jälkeen kidemassa imetään pois ja pestään ensin kylmäl-
 lä dimetoksietaanilla, sitten petrolieetteri-dietyylieette-
 15 rillä (9:1). Fraktiot 60-105 sisältävät Ala-L-Gla{(OtBu)₂}-
 NH₂ värittömän öljyn muodossa, $(\alpha)_D^{20} = +1^{\circ}$ (c = 0,944;
 metanoli), $R_f = 0,52$ (kloroformi:metanoli:vesi = 70:30:5).
 Fraktioihin 106-200 sisältyvät diastereomeerit voidaan saa-
 da puhtaina kiteyttämällä varovasti dimetoksietaanista (19
 20 ml). Annetaan seistä 3 tuntia -10⁰:ssa, minkä jälkeen kide-
 massa imetään pois ja pestään ensin kylmällä dimetoksietaa-
 nilla, sitten petrolieetteri-dietyylieetterillä (9:1). Kui-
 vatuksen jälkeen saadaan Ala-D-Gla (OtBu)₂ -NH₂ värittömien
 neulasten muodossa, sp. 139-140⁰, $(\alpha)_D^{20} = +13^{\circ}$ (c = 0,931,
 25 metanoli), $R_f = 0,60$ (n-butanoli:pyridiini:etikkahappo:vesi
 = 38:24:8:30), $R_f = 0,38$ (kloroformi:metanoli:vesi = 70:30:5).

Vaihe 24.3:

1.08 g (2,5 mmoolia) palmitoyyli-Cys(2(R),3-dihydrok-
 si-propyyli), 1,13 ml (2,75 mmoolia) Ala-D-Gla{(OtBu)₂}-NH₂:a
 30 ja 0,80 g (3,25 mmoolia) EEDQ:ta liuotetaan seokseen, jossa
 on 4,5 ml dimetyyliformamidia ja 1,5 ml kloroformia ja anne-
 taan seistä 22 tuntia typpiatmosfäärissä huoneen lämpötilas-
 sa. Reaktioliuos haihdutetaan kuivaksi. Jäännös kromatogra-
 foidaan 60-kertaisessa määrässä piihappogeeliä (60, Merck,
 35 raekoko: 0,063-0,200 mm (70-230 mesh ASTM)) järjestelmässä
 kloroformi:metanoli = 95:5 (50 ml fraktiot). Tuotteen sisäl-
 tävät fraktio kerätään. Helposti haihtuvien osien haihdutta-

misen jälkeen jäljelle jää palmitoyyli-Cys(2(R),3-dihydrok-
 si-propyyli)-Ala-D-Gla{(OtBu)₂}-NH₂ värittömän öljyn muodos-
 sa, joka seistessä kylmässä kiteytyy sikeröinä, $(\alpha)_D^{20} = -30^\circ$
 (c = 1,004; kloroformi), $R_f = 0,42$ (kloroformi:metanoli =
 5 9:1), $R_f = 0,88$ (kloroformi:metanoli:vesi:etikkahappo =
 55:47:13:5).

Vaihe 24.4:

1,42 g (1,80 mmoolia) palmitoyyli-Cys(2(R),3-dihydrok-
 si-propyyli)-Ala-D-Gla{(OtBu)₂}-NH₂:a liuotetaan 12 ml:aan
 10 abs. pyridiiniä ja siihen sekoitetaan typpi-atmosfäärissä ja
 sulkemalla kosteus pois 1,28 ml (5,4 mmoolia) lauriinihap-
 pokloridia 3 ml:ssa kloroformia. Happokloridi lisätään ti-
 poittain siten, että lämpötila ei kohoa yli 20^o:en. Annetaan
 seistä 24 tuntia, minkä jälkeen reaktioluokseen lisätään
 15 3 ml metanolia ja haihdutetaan 30 minuutin kuluttua kuivak-
 si. Hartsimainen jäännös, joka muodostuu kahdesta pääkompo-
 nentista (mono- ja dilaurooyyli-yhdisteestä) alistetaan 200
 g:ssa pihappogeeliä (60, Merck, raekoko 0,040-0,063 mm (230-
 400 mesh ASTM)) ensin kloroformin ja sitten kloroformi-me-
 20 tanoliseosten (99:1 - 97:3) kanssa pikakromatografiaan (flash-
 chromatographie) (W.Clark Still et al., J.Org.Chem. 43, 2923
 (1978), 17 ml fraktiot, 0,4 baaria). Yhdistetyistä fraktiois-
 ta 17-190 saadaan palmitoyyli-Cys(2(R),3-dilaurooylioksi-
 propyyli)-Ala-D-Gla{(OtBu)₂}-NH₂ värittömänä öljynä, $(\alpha)_D^{20} =$
 25 -16° (c = 0,762; kloroformi), $R_f = 0,42$ (kloroformi:metano-
 li = 9:1), $R_f = 0,93$ (kloroformi:metanoli:vesi = 70:30:5),
 $R_f = 0,84$ (n-butanoli:etikkahappo:vesi = 75:7,5:21).

Yhdistetyistä fraktioista 215-262 saadaan palmitoyyli-
 Cys(2(R)-hydroksi-2-laurooylioksi-propyyli)-Ala-Gla{(OtBu)₂}-
 30 NH₂; $(\alpha)_D^{20} = -23^\circ$ (c = 0,864, kloroformi), $R_f = 0,32$ (kloro-
 formi:metanoli = 9:1), $R_f = 0,84$ (kloroformi:metanoli:vesi =
 70:30:5).

Esimerkki 25:

Palmitoyyli-Cys(2(R)-hydroksi-3-laurooylioksi-propyy-
 35 li)-Ala-D-Gla{(OtBu)₂}-NH₂:sta saadaan esimerkin 1 a) mukai-
 sesti trifluorietikkahapon kanssa metyleenikloridissa palmi-
 toyyli-Cys(2(R)-hydroksi-3-laurooylioksi-propyyli)-Ala-D-

Gla-NH₂; R_f = 0,30 (kloroformi:metanoli:vesi = 70:30:5), R_f = 0,42 (etikkahappoetyyliesteri:n-butanoli:pyridiini:etikkahappo:vesi = 42:21:21:6:10), $(\alpha)_D^{20} = -22^\circ$ (c = 0,318; dimetyylisulfoksidi).

5 Esimerkki 26:

Palmitoyyli-Cys(2(R),3-dilauroyylioksi-propyyli)-Abu-D-Glu(OtBu)-OtBu:sta saadaan esimerkin 1 a) mukaisesti palmitoyyli-Cys(2(R),3-dilauroyylioksi-propyyli)-Abu-D-Glu; sp. 93-94⁰ (hierretään sykloheksaani:etyylimetyyliketonin = 9:1 kanssa), $(\alpha)_D^{20} = -7,1^\circ$ (c = 0,577; DMF), $(\alpha)_D^{20} = -9,4^\circ$ (c = 0,448; CHCl₃:MeOH = 1:1), R_f = 0,54 (CHCl₃:MeOH:H₂O = 70:30:5), R_f = 0,86 (CH₂Cl₂:MeOH:H₂O = 5:5:1).

Lähtömateriaali valmistetaan seuraavasti:

Vaihe 26.1:

15 Palmitoyyli-Cys(2(R),3-dilauroyylioksi-propyyli):sta ja Abu-D-Glu(OtBu)-OtBu x HCl:stä saadaan esimerkin 1 b) mukaisesti lisättäessä 4-dimetyyliamino-pyridiiniä palmitoyyli-Cys(2(R),3-dilauroyylioksi-propyyli)-Abu-D-Glu(OtBu)-OtBu; sp. 44-45⁰ (CHCl₃:MeOH = 7:3:sta), $(\alpha)_D^{20} = -2,9^\circ$ (c = 0,381; DMF), $(\alpha)_D^{20} = -7,1^\circ$ (c = 0,325; CHCl₃:MeOH = 1:1), R_f = 0,46 (CH₂Cl₂:MeOH = 95:5), R_f = 0,10 (CHCl₃), R_f = 0,91 (etikkahappoetyyliesteri).

Esimerkki 27:

25 Palmitoyyli-Cys(2(R),3-dilauroyylioksi-propyyli)-D-Ala-Ala-D-Glu(OtBu)-NH₂:sta saadaan esimerkin 1 a) mukaisesti palmitoyyli-Cys(2(R),3-dilauroyylioksi-propyyli)-D-Ala-Ala-D-Glu-NH₂; sp. 173-174⁰ (asetonitriilistä), $(\alpha)_D^{20} = -6,4^\circ$ (c = 1,018; DMF), $(\alpha)_D^{20} = -6,8^\circ$ (c = 0,989; CHCl₃:MeOH = 1:1), R_f = 0,67 (CHCl₃:MeOH:H₂O = 70:30:5), R_f = 0,40 (CHCl₃:MeOH = 4:1).

Lähtömateriaali saadaan seuraavasti:

Vaihe 27.1:

35 Palmitoyyli-Cys(2(R),3-dihydroksi-propyyli):stä ja D-Ala-Ala-D-Glu(OtBu)-NH₂ x HCl:stä saadaan vaiheen 5.3 mukaisesti palmitoyyli-Cys(2(R),3-dihydroksi-propyyli)-D-Ala-Ala-D-Glu(OtBu)-NH₂; sp. 209-210⁰ (etikkahappoetyyliesteristä). $(\alpha)_D^{20} = +0,2^\circ$ (c = 0,655; DMF), $(\alpha)_D^{20} = -7,8^\circ$ (c = 0,934;

$\text{CHCl}_3:\text{MeOH} = 1:1$), $R_f = 0,77$ ($\text{CHCl}_3:\text{MeOH}:\text{H}_2\text{O} = 70:30:5$),
 $R_f = 0,82$ ($\text{CHCl}_3:\text{MeOH} = 7:3$).

Vaihe 27.2:

5 Palmitoyyli-Cys(2(R),3-dihydroksi-propyyli)-D-Ala-Ala-D-Glu(OtBu)-NH₂:sta saadaan vaiheen 5.4 mukaisesti palmitoyyli-Cys(2(R),3-dilauroyylioksi-propyyli)-D-Ala-Ala-D-Glu(OtBu)-NH₂; sp. 147-148° (asetonista), $(\alpha)_D^{20} = -5,3^\circ$ (c = 1,079; DMF), $(\alpha)_D^{20} = -7,8^\circ$ (c = 1,128; $\text{CHCl}_3:\text{MeOH} = 1:1$),
 10 $R_f = 0,42$ ($\text{CHCl}_3:\text{MeOH} = 9:1$), $R_f = 0,51$ (etikkahappoetyyli-esteri).

Esimerkki 28:

Palmitoyyli-Cys(2(R,S),3-dilauroyylioksi-propyyli):stä ja Abu-D-Gly(OMe)-OMe x HCl:stä saadaan esimerkin 1 b) mukaisesti lisättäessä N-metyyli-morfoliiniä palmitoyyli-Cys(2(R,S),3-dilauroyylioksi-propyyli)-Abu-D-Glu(OMe)-OMe;
 15 sp. 89-91° (asetonitriilistä), $(\alpha)_D^{20} = -1,8^\circ$ (c = 0,569; DMF), $(\alpha)_D^{20} = -9,5^\circ$ (c = 0,474; $\text{CHCl}_3:\text{MeOH} = 1:1$), $R_f = 0,34$ (CHCl_3 :etikkahappoetyyliesteri = 7:3), $R_f = 0,95$ ($\text{CHCl}_3:\text{MeOH} = 9:1$).

20 Esimerkki 29:

1,01 g:aan (0,001 moolia) palmitoyyli-Cys(2(R),3-dilauroyylioksi-propyyli)-Abu-D-Glu:a 30 ml:ssa absoluuttista metanolia lisätään sekoittaen ja jäällä jäähdyttäen eetterin diatsometaaniliuos, kunnes keltainen väri pysyy. Seos
 25 jätetään vielä 30 minuutiksi jäähauteeseen ja ylimääräinen diatsometaanii hajotetaan lisäämällä sitten muutamia pisaroita jääetikkaa. Haihdutetaan tyhjöissä, minkä jälkeen näin saatu raaka dimetyyliesteri kiteytetään uudelleen kaksi kertaa asetonitriilistä. Saadaan palmitoyyli-Cys(2(R),3-dilauroyylioksi-propyyli)-Abu-D-Glu(OMe)-OMe värittömien kiteiden muodossa; $R_f = 0,34$ (CHCl_3 :etikkahappoetyyliesteri = 7:3), $R_f = 0,95$ ($\text{CHCl}_3:\text{MeOH} = 9:1$).

Esimerkki 30:

35 Palmitoyyli-Cys(2(R,S),3-dilauroyylioksi-propyyli)-Ala-D-Glu(Lys(Boc)-D-Ala-OtBu)-OtBu:sta ja trifluorietikkahaposta metyleenikloridissa saadaan esimerkin 1 a) mukaisesti palmitoyyli-Cys(2(R,S),3-dilauroyylioksi-propyyli)-Ala-D-

Glu(Lys-D-Ala)-OH; $(\alpha)_D^{20} = -14^\circ$ ($c = 0,163$; dikloorimetaani: etanoli = 1:1), $R_f = 0,15$ (kloroformi:metanoli:vesi = 70:30:5), $R_f = 0,16$ (etikkahappoetyyliesteri:n-butanoli:pyridiini:etikkahappo:vesi = 42:21:21:6:10), $R_f = 0,58$ (kloroformi:metanoli:vesi:etikkahappo = 55:47:13:5).

Lähtömateriaali saadaan seuraavasti:

Vaihe 30.1:

Palmitoyyli-Cys(2(R,S),3-dilauroyylioksi-propyyli):stä ja Ala-D-Glu{Lys(Boc)-D-Ala-OtBu}-OtBu:sta saadaan esimerkin 1 b) mukaisesti palmitoyyli-Cys(2 R,S ,3-dilauroyylioksi-propyyli)-Ala-D-Glu{Lys(Boc)-D-Ala-OtBu}-OtBu; $(\alpha)_D^{20} = -14^\circ$ ($c = 1,9$; dikloorimetaani), $R_f = 0,94$ (kloroformi:metanoli:vesi = 70:30:5), $R_f = 0,28$ (kloroformi:dimetoksietaani = 4:1).

Esimerkki 31:

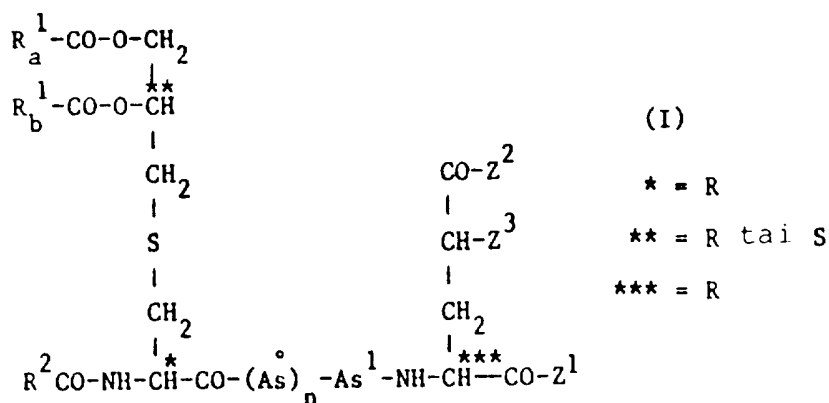
615 mg (1 mmooli) palmitoyyli-Cys-Ala-D-Glu(OtBu)-NH₂:a, 645 mg (1,1 moolia) 1-tosyyli-2,3-didodekanoyyli-D-Glyseriiniä ja 1,4 g kuivaa kaliumkarbonaattia kuumennetaan 30 ml:ssa absoluuttista asetonitriiliä typpi-atmosfäärissä 15 tunnin ajan 75⁰:seen. Seos haihdutetaan, otetaan metyleenikloridiin ja ravistetaan useita kertoja vedellä, jolloin saadaan orgaanisessa faasissa oleva reaktioseos, joka kuivataan Na₂SO₄:llä, suodatetaan ja haihdutetaan, minkä jälkeen se puhdistetaan pihappogeelin avulla CHCl₃-EtOH:lla (9:1) kromatografisesti, minkä jälkeen saadaan esimerkissä 1 b) esitetty palmitoyyli-Cys(2(R),3-dilauroyylioksi-propyyli)-Ala-D-Glu(OtBu)-NH₂. Lähtömateriaali, palmitoyyli-Cys-Ala-D-Glu(OtBu)-NH₂ saadaan tunnetulla tavalla palmitoyyli-Cys(trityyli)-Ala-D-Glu(OtBu)-NH₂:sta käsittelemällä elohopea(II)-kloridilla etikkahapossa (J.Am.Chem.Soc. 87, 4922 (1965); J.Org.Chem. 35, 4148 (1970)) ja lohkaisemalla tämän jälkeen elohopeamerkaptidi H₂S:llä. Yhdiste käytetään raakana edelleen reaktioon glyseriinitosylaatin kanssa.

1-tosyyli-2,3-didodekanoyyli-D-glyseriini saadaan tunnetulla tavalla 1,2-isopropylideeni-glyseriinistä ja tosyylikloridista pyridiinissä, minkä jälkeen saippuoidaan 80 %:sella etikkahapolla 1-tosyyli-D-glyseriiniksi, joka asy-

loidaan tunnetulla tavalla dodekaanihappokloridiksi. Yhdiste muodostaa siirapin, joka kiteytyy jäähauteessa, mutta sulaa kuitenkin nopeasti jälleen yli 0°:ssa.

Patenttivaatimukset:

1. Menetelmä farmakologisesti vaikuttavan N-[N-alkanoyyli-S-(2,3-dialkanoyylioksi-propyyli)kysteinyyli]-peptidin valmistamiseksi, jolla on kaava I

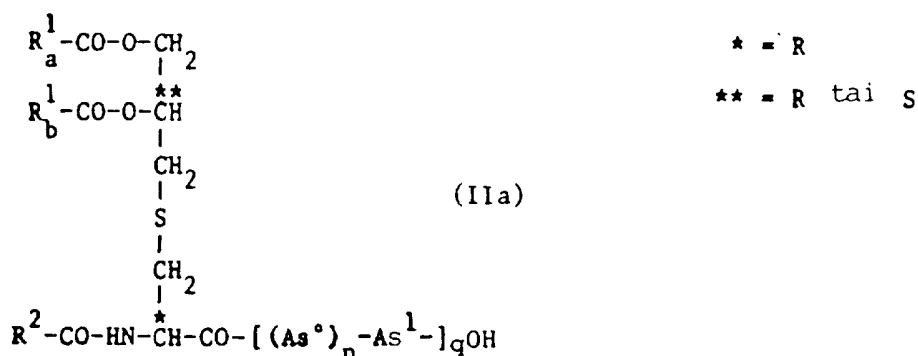


jossa R_a^1 ja R_b^1 tarkoittavat kumpikin 7-21 C-atomia sisältävää alkyylitähdettä, R^2 tarkoittaa 7-21 C-atomia sisältävää alkyylitähdettä, $n = 0$ tai 1, As° on kaavan $-\text{NH}-\text{Kw}-\text{CO}-$ mukainen tähde, jossa Kw tarkoittaa alkylideenitähdettä, jossa on korkeintaan 6 C-atomia, As^1 on L-alaniini-, L- α -amino-voihappo-, L-valiini-, N-metyyli-L-alaniini- tai L-seriini-tähde, Z^1 on amino tai hydroksi, Z^2 on amino, hydroksi, L-alanyyli, L-lysy yli-L-lysiini, glysy yli-tauriini, L-arginyyli tai L-lysy yli-D-alaniini ja Z^3 tarkoittaa vetyä tai karboksia, tai tällaisen yhdisteen, jossa on vähintään yksi karboksyyli-ryhmä, alempialkyyliesterin valmistamiseksi, jolloin merkeillä $\star$, $\star\star$ tai vastaavasti $\star\star\star$ merkityillä asymmetriakeskuksilla on esitetyt absoluuttiset konfiguraatiot, ja konfiguraatio ryhmän Z^3 sisältävässä asymmetrisessä C-atomis- sa voi olla R tai S, tai vastaavan diastereomeeriseoksen tai tällaisen, vähintään yhden suolanmuodostavan ryhmän sisältä-

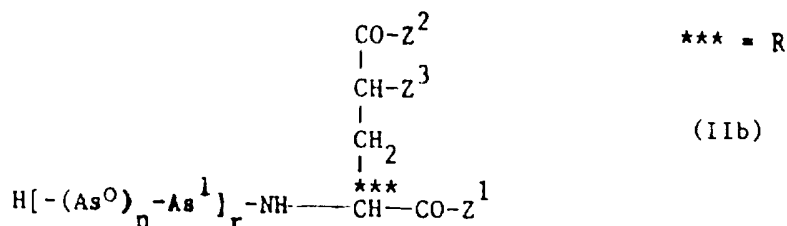
vän yhdisteen suolan valmistamiseksi, t u n n e t t u siitä, että

a) kaavan I mukainen yhdiste, jossa ainakin yksi tähteistä R^1_a -CO-, R^1_b -CO- ja R^2 -CO- tarkoittaa vetyä ja muut substituentit tarkoittavat samaa kuin edellä, edellyttäen, että tässä lähtöaineessa esiintyvät vapaat funktionaaliset ryhmät lukuunottamatta reaktioon osallistuvaa hydroksi- ja/ tai aminoryhmää (-ryhmiä) esiintyvät tarvittaessa suojatussa muodossa, tai sen suola asyloidaan hapolla R^1_a -COOH, R^1_b -COOH tai vastaavasti R^2 -COOH tai sen reaktiokykyisellä karboksyylihappojohdannaisella ja lohkaistaan esiintyvät, haluttuun kaavan I mukaiseen lopputuotteeseen kuulumattomat suojaryhmät, tai

b) kaavan IIa mukainen karboksyylihappo



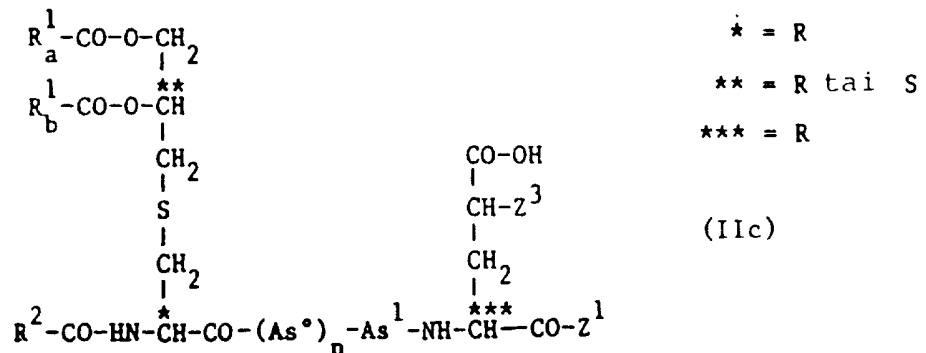
jossa kaavassa q on 0 tai 1 ja muut symbolit ja tähteet tarkoittavat samaa kuin edellä, jolloin, kun As^1 tarkoittaa L-seriinitähdettä, seriinitähteessä esiintyvä hydroksiryhmä on tarvittaessa suojattu helposti lohkaistavalla hydroksisuojar ryhmällä, tai sen reaktiokykyinen karboksyylihappojohdannainen saatetaan reagoimaan kaavan IIB mukaisen amiinin kanssa



jossa kaavassa r on 1, kun kaavan IIa mukaisessa reaktiopart-

nerissa q on 0, ja jossa r on 0, kun q on 1, ja jossa muut symbolit tarkoittavat samaa kuin edellä, jolloin vapaat karboksyylioryhmät $-\text{COZ}^1$, $-\text{COZ}^2$ ja Z^3 ja tähteessä Z^2 mahdollisesti esiintyvät vapaat amino- ja karboksyylioryhmät on suojattu helposti lohkaistavilla suojaryhmillä, ja lohkaistaan esiintyvät, haluttuun kaavan I mukaiseen lopputuotteeseen kuulumattomat suojaryhmät, tai

c) kaavan I mukaisen yhdisteen valmistamiseksi, jossa Z^2 :lla on edellämainitut merkitykset lukuunottamatta hydroksia, kaavan IIc mukainen karboksyylihappo



jossa symbolit ja tähteet tarkoittavat samaa kuin edellä, jolloin vapaat karboksyylioryhmät $-\text{COZ}^1$ ja Z^3 on suojattu helposti lohkaistavilla karboksyyliisuojarühmillä, tai sen reaktiokykyinen karboksyylijohtannainen saatetaan reagoimaan kaavan IIId

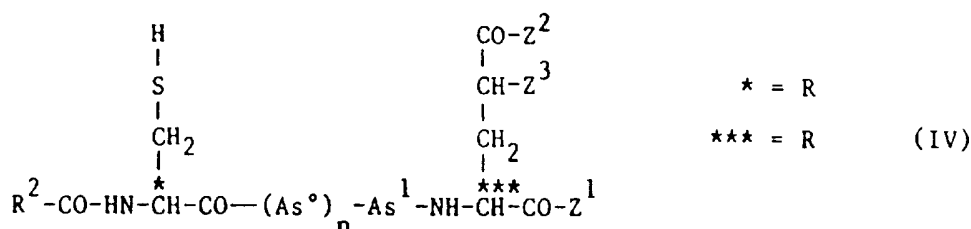


mukaisen yhdisteen kanssa, jossa kaavassa Z^2 :lla on edellämainitut merkitykset lukuunottamatta hydroksia, jolloin siinä esiintyvät vapaat amino- ja karboksyylioryhmät, lukuunottamatta reaktioon osallistuvia aminoryhmiä, on suojattu helposti lohkaistavilla suojaryhmillä, ja lohkaistaan esiintyvät, haluttuun kaavan I mukaiseen lopputuotteeseen kuulumattomat suojaryhmät, tai

d) kaavan III mukainen yhdiste



jossa R_a^1 ja R_b^1 tarkoittavat samaa kuin edellä ja Y on nukleofuginen ryhmä, saatetaan reagoimaan kaavan IV mukaisen yhdisteen kanssa



jossa substituentit tarkoittavat samaa kuin edellä, jolloin vapaat funktionaaliset ryhmät, lukuunottamatta reaktioon osallistuvia merkaptoryhmiä, on tarvittaessa suojattu helposti lohkaistavilla suojaryhmillä, tai kaavan IV mukaisen yhdisteen reaktiokykyisen johdannaisen kanssa ja lohkaistaan esiintyvät, haluttuun kaavan I mukaiseen lopputuotteeseen kuulumattomat suojaryhmät, ja, haluttaessa

jonkin menetelmävaihtoehtoista a) - d) suorittamisen jälkeen saadussa kaavan I mukaisessa yhdisteessä, jossa on ainakin yksi vapaa karboksyyli-ryhmä, vapaa(t) karboksyyli-ryhmä(t) esteröidään tai saatu kaavan I mukainen yhdiste, jossa on ainakin yksi suolanmuodostava ryhmä, muutetaan suolaksi tai saatu suola muutetaan vapaaksi yhdisteeksi, ja haluttaessa erotetaan saatu diastereomeeriseos.

2. Patenttivaatimuksen 1 mukainen menetelmä, t u n - n e t t u siitä, että lähtöaineet valitaan niin, että valmistetaan palmitoyyli-Cys(2[R],3-dilauroyylionioksi-propyyli)-Ala-D-Glu(Gly-tauriini)-NH₂:n farmaseuttisesti käyttökelpoisen suola.

3. Patenttivaatimuksen 2 mukainen menetelmä, t u n - n e t t u siitä, että lähtöaineet valitaan niin, että val-

mistetaan natriumsuola.

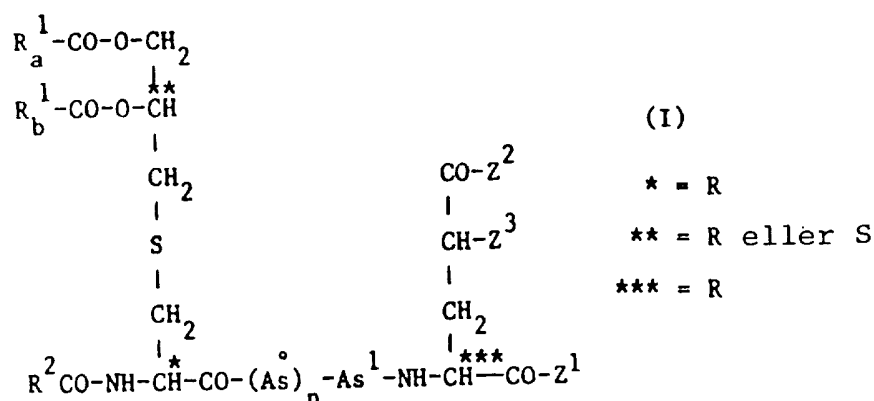
4. Jonkin patenttivaatimuksista 1-3 mukainen menetelmä, tunnetaan siitä, että palmitoyyli-Cys(2[R],3-dilauroylyloksi-propyyli)-Ala-D-Glu-NH₂ saatetaan reagoimaan glysyylitaauriinin kanssa.

5. Patenttivaatimuksen 1 mukainen menetelmä, tunnetaan siitä, että lähtöaineet valitaan niin, että valmistetaan palmitoyyli-Cys(2[R],3-dilauroylyloksi-propyyli)-Ala-D-Glu-NH₂.

6. Patenttivaatimuksen 1 tai 5 mukainen menetelmä, tunnetaan siitä, että palmitoyyli-Cys(2[R],3-dilauroylyloksi-propyyli) saatetaan reagoimaan Ala-D-Glu(OtBu)-NH₂:n kanssa palmitoyyli-Cys(2[R],3-dilauroylyloksi-propyyli)-Ala-D-Glu(OtBu)-NH₂:ksi ja saatu tuote muutetaan trifluorietikkahapon avulla palmitoyyli-Cys(2[R],3-dilauroylyloksi-propyyli)-Ala-D-Glu-NH₂:ksi.

Patentkrav:

1. Förfarande för framställning av farmakologiskt verkande N-[N-alkanoyl-S-(2,3-dialkanoyloxi-propyl)cysteinyl]-peptid med formeln I

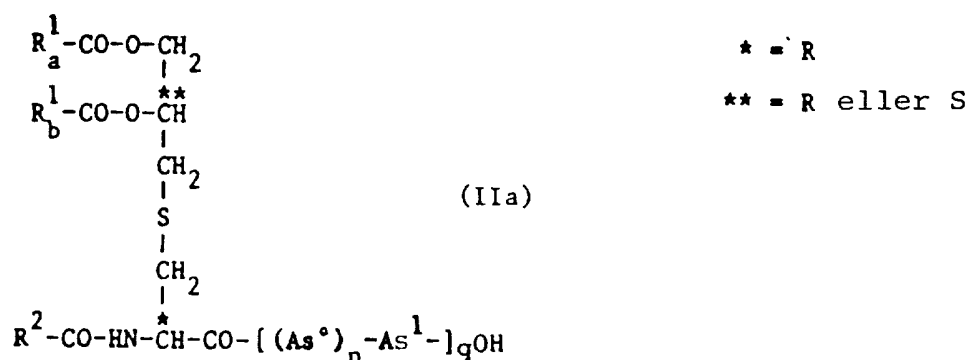


i vilken R¹_a och R¹_b var och en betecknar en alkylrest med 7-21 C-atomer, R² betecknar en alkylrest med 7-21 C-atomer, n = 0 eller 1, As^o är en rest med formeln -NH-Kw-CO-, i vil-

ken Kw betecknar en alkylidenrest med högst 6 C-atomer, As^1 är en L-alanin-, L- α -aminosmörtsyra-, L-valin-, N-metyl-L-alanin- eller L-serinrest, Z^1 är amino eller hydroxi Z^2 är amino, hydroxi, L-alanyl, L-lysyl-L-lysin, glysyl-aurin, L-arginyl eller L-lysyl-D-alanin och Z^3 betecknar väte eller karboxi, eller en lågalkylester av en sådan förening med minst en karboxylgrupp, varvid med tecken *, ** eller resp. *** betecknade asymmetriska center har de angivna absoluta konfigurationerna, och konfigurationen i den asymmetriska C-atomen, som innehåller gruppen Z^3 kan vara R eller S, eller en motsvarande diastereomerblandning eller ett salt av sådan förening med minst en saltbildande grupp, k ä n n e t e c k n a t därav, att

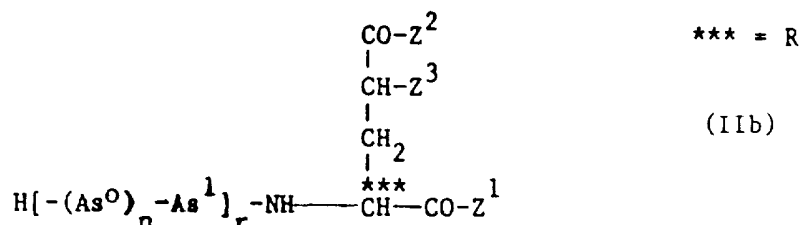
a) en förening med formeln I, i vilken åtminstone en av resterna R_a^1 -CO-, R_b^1 -CO- och R^2 -CO- betecknar väte och de andra substituenterna betecknar detsamma som ovan, förutsatt att i detta avgångsmaterial förekommande fria funktionella grupper med undantag av den i reaktionen deltagande hydroxi- och/eller aminogruppen (-grupper) förekommer vid behov i en skyddad form, eller ett salt därav acyleras med en syra R_a^1 -COOH, R_b^1 -COOH eller resp. R^2 -COOH eller med ett reaktionsdugligt karboxylsyra-derivat därav, och förekommande, till den önskade slutprodukten med formeln I icke hörande skyddsgrupper avspaltas, eller

b) en karboxylsyra med formeln IIa



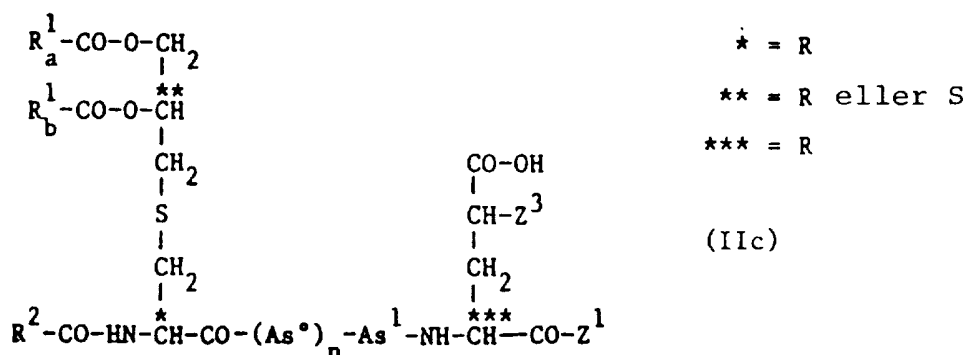
i vilken formel q är 0 eller 1 och de andra symbolerna och resterna betecknar detsamma som ovan, varvid, när As^1 be-

tecknar en L-serinrest, den i serinresten förekommande hydroxigruppen är vid behov skyddad med en lätt avspaltbar hydroxiskyddsgrupp, eller ett reaktionsdugligt karboxylsyderivat därav omsätts med en amin med formeln IIb



i vilken formel r är 1, när i reaktionspartnern med formeln IIa q är 0, och i vilken r är 0, när q är 1, och i vilken de andra symbolerna betecknar detsamma som ovan, varvid de fria karboxylgrupperna $-\text{COZ}^1$, $-\text{COZ}^2$ och Z^3 och i resten Z^2 eventuellt förekommande fria amino- och karboxylgrupper är skyddade med lätt avspaltbara skyddsgrupper, och förekommande, till den önskade slutprodukten med formeln I icke hörande skyddsgrupper avspaltas, eller

c) för framställning av en förening med formeln I, i vilken Z^2 har de ovannämnda beteckningarna med undantag av hydroxi, en karboxylsyra med formeln IIc



i vilken symbolerna och resterna betecknar detsamma som ovan, varvid de fria karboxylgrupperna $-\text{COZ}^1$ och Z^3 är skyddade med lätt avspaltbara karboxylskyddsgrupper eller ett reaktionsdugligt karboxylsyderivat därav omsätts med en förening med formeln IIId

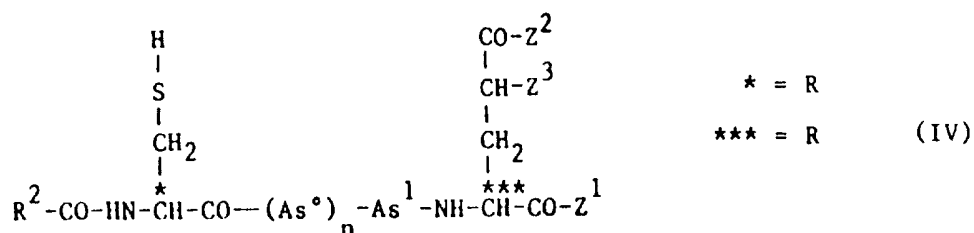


i vilken formel Z^2 har de ovan angivna beteckningarna med undantag av hydroxi, varvid däri förekommande fria amino- och karboxylgrupper, med undantag av de i reaktionen deltagande aminogrupperna, är skyddade med lätt avspaltbara skyddsgrupper, och förekommande, till den önskade slutprodukten icke hörande skyddsgrupper avspaltas, eller

d) en förening med formeln III



i vilken R_a^1 och R_b^1 betecknar detsamma som ovan och Y är en nukleofug grupp, omsätts med en förening med formeln IV



i vilken substituenterna betecknar detsamma som ovan, varvid de fria funktionella grupperna, med undantag av de i reaktionen deltagande merkaptogrupperna, är vid behov skyddade med lätt avspaltbara skyddsgrupper, eller ett reaktionsdugligt derivat av en förening med formeln IV, och förekommande, till den önskade slutprodukten med formeln I icke hörande skyddsgrupper avspaltas, och,

efter utföring av något av de förfarandalternativen

a) - d), om så önskas, förestras den fria karboxylgruppen (-grupperna) i den erhållna föreningen med formeln I med åtminstone en fri karboxylgrupp, eller omvandlas den erhållna föreningen med formeln I med åtminstone en saltbildande grupp till ett salt eller omvandlas ett erhållet salt till

en fri förening, och, om så önskas, uppdelas den erhållna diastereomerblandningen.

2. Förfarande enligt patentkravet 1, k ä n n e - t e c k n a t därav, att avgångsmaterial väljes så, att man framställer ett farmaceutiskt användbar salt av palmitoyl-Cys(2[R],3-dilauroyloxi-propyl)-Ala-D-Glu(Gly-aurin)-NH₂.

3. Förfarande enligt patentkravet 2, k ä n n e - t e c k n a t därav, att avgångsmaterial väljes så, att man framställer ett natriumsalt.

4. Förfarande enligt något av patentkraven 1-3, k ä n n e t e c k n a t därav, att palmitoyl-Cys(2[R],3-di-lauroyloxi-propyl)-Ala-D-Glu-NH₂ omsätts med glysytaurin.

5. Förfarande enligt patentkravet 1, k ä n n e - t e c k n a t därav, att avgångsmaterial väljes så, att man framställer palmitoyl-Cys(2[R],3-dilauroyloxi-propyl)-Ala-D-Glu-NH₂.

6. Förfarande enligt patentkravet 1 eller 5, k ä n n e t e c k n a t därav, att palmitoyl-Cys(2[R],3-dilauroyloxi-propyl) omsätts med Ala-D-Glu(OtBu)-NH₂ till palmitoyl-Cys(2[R],3-dilauroyloxi-propyl)-Ala-D-Glu(OtBu)-NH₂ och den erhållna produkten omvandlas med hjälp av trifluorättiksyra till palmitoyl-Cys(2[R],3-dilauroyloxipropyl)-Ala-D-Glu-NH₂.