

(19) Országkód:

HU



MAGYAR
KÖZTÁRSASÁG
ORSZÁGOS
TALÁLMÁNYI
HIVATAL

SZABADALMI LEÍRÁS

(11) Lajstromszám:

199879 B

(51) Int CP⁵

C 07 K 7/06

A 61 K 37/02

(22) Bejelentés napja: 1989.03.10. (21) (1180/89)

(30) Bejelentés elsőbbsége: JP 1988.03.11. (57985/88)

(40) Közzététel napja: 1989.09.28.

(45) Megadás meghirdetésének dátuma
a Szabadalmi Közlönyben: 1990.03.28.

(72) Feltalálók:

Tschiya Yutaka, Ushiku-shi, Ibaraki,
Sasaki Atsushi, Tsukuba-shi, Ibaraki,
Yoshino Hiroshi, Abiko-shi, Chiba,
Karibe Norio, Tsukuba-shi, Ibaraki,
Sugimoto Hachiro, Ushiku-shi, Ibaraki,
Kubota Atsuhiko, Tsukuba-shi, Ibaraki,
Kosasa Michiko, Tsukuba-shi, Ibaraki,
Araki Shin, Tsukuba-shi, Ibaraki,
Ikeda Masuhiro, Tsukuba-shi, Ibaraki,
Yamanishi Yoshiharu, Ryugasaki-shi, Ibaraki,
Machia Ryoichi, Kashiwa-shi, Chiba,
Yamatsu Kiyomi, Kamakura-shi, Kanagawa, JP

(73) Szabadalmas:

Eisai Co., Ltd., Tokió, JP

(54) Eljárás hexapeptidok és ezeket hatóanyagként tartalmazó gyógyszerkészítmények előállítására

(57) KIVONAT

A találmány szerint előállított új hexapeptidok
(1) általános képletében

A jelentése D-Lys, L- vagy D-arg, amely az alfa-nitrogénatomon benzilcsoporttal vagy 1-4 szénatomos alkilcsoporttal szubsztituálva lehet, valamint (c) általános képletű omega-amino-alkanoil-csoport, ahol

R⁵ és R⁶ jelentése hidrogénatom és

m értéke 1-5,

továbbá (d) általános képletű omega-quanidino-alkanoil-csoport, ahol

n értéke 1-5,

B jelentése L-Arg vagy L-Lys,

C jelentése L-Pro,

D jelentése L-Trp,

E jelentése L-fenil-glicin vagy L-terc-leucin,

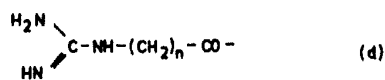
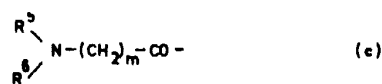
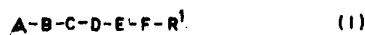
F jelentése L-Leu,

R¹ jelentése -OR² általános képletű csoport,

A leírás terjedelme: 10 oldal, 2 ábra

ahol R⁹ jelentése hidrogénatom vagy 1-4 szénatomos alkilcsoport.

Az új vegyületek metamfetamin antagonistaként és analgetikumként alkalmazhatók.



HU 199879 B

A találmány tárgya eljárás új hexapeptidek és ezeket hatóanyagként tartalmazó gyógyszerkészítmények előállítására.

Az ingerületátvivők közé tartozó dopamin receptorait blokkoló Major trankvillánsokat hosszú ideje alkalmazzák a schizofrénia, és újabban a cerebrovaszkuláris betegségek következményeinek, a fejsérülések vagy agykori elmebetegség által kiváltott zavarok kezelésére.

Az ismert Major trankvillánsok hátránya, hogy mellékhatásként extrapiramidális betegséget okoznak.

1973-ban (A) képletű neurotenzint találtak, amely egy természetes neuropeptid és a központi idegrendszerre a Major trankvillánsokkal azonos hatást fejt ki (J. Biol. Chem. 24, 6824-6861 /1973/).

Bár a neurotenzin a Major trankvillánsokkal azonos központi idegrendszer-nyugtató hatással rendelkezik, például patkányoknál csökkenti a dopamin idegrendszert indirekt aktiváló metafetaminnal kiváltott fokozott spontán mozgást, vagyis metafetamin antagonistá hatással rendelkezik, nem blokkolja a dopamin idegrendszert és csak gyenge hatást fejt ki a nigrostriális dopamin idegrendszerre, ami közeli rokonságban van az extrapiramidális betegségekkel. Ezek alapján feltételezhető, hogy a neurotenzin olyan antipszichotikus szer, amelynek extrapiramidális mellékhatása gyengébb (Trends in Pharmacological Science, 201 /1985/).

Emellett, a neurotenzin erős analgetikus hatással rendelkezik, amit nem gátol a naloxon. Ezért feltételezhető, hogy nem narkotizáló analgetikumként alkalmazható. A neurotenzin hátránya azonban, hogy in vivo körülmények között nem stabil, és ezért a szokásos adagolási módok, így intravénás, intramuszkuláris vagy szubkután injekció vagy orális adagolás esetén hatását nem képes kifejteni.

Azt találtuk, hogy a neurotenzin C-terminális fragmensének kémiai módosításával olyan származékot kapunk, amely intravénás, intramuszkuláris vagy szubkután injekció vagy orális adagolás esetén is kifejti a központi idegrendszerre gyakorolt nyugtató hatást.

A találmány tárgya tehát eljárás új (I) általános képletű hexapeptidek előállítására, a képletben

A jelentése L- vagy D-Arg, amely az alfa-nitrogénatomon benzilcsoporttal vagy 1-4 szénatomos alkilcsoporttal szubsztituálva lehet, D-Lys, valamint (c) általános képletű omega-amino-alkanoil-csoport, ahol R⁵ és R⁶ jelentése hidrogénatom és m értéke 1-5, továbbá (d) általános képletű omega-guanidino-alkanoil-csoport, ahol

n értéke 1-5,
B jelentése L-Arg vagy L-Lys,
C jelentése L-Pro,
D jelentése L-Trp,
E jelentése L-fenil-glicin vagy L-terc-leucin,
F jelentése L-Leu,
R¹ jelentése -OR² általános képletű csoport, ahol

R⁹ jelentése hidrogénatom vagy 1-4 szénatomos alkilcsoport.

A találmány tárgya továbbá eljárás gyógyszerkészítmények előállítására, amelyek hatóanyagként (I) általános képletű hexapeptidet, valamint gyógyszerészeti célra alkalmas vivőanyagot és/vagy egyéb gyógyszerészeti segédanyagot tartalmaznak. Az előállított készítmény felhasználható metamfetamin antagonistá szerként, antipszichotikus szerként, az agyi szervi elváltozásai, cerebrovaszkuláris betegségekkel és elmebajjal összefüggő viselkedési zavarok kezelésére és javítására, valamint fájdalomcsillapító szerként.

Az (I) általános képletű polipeptidek előállítása során a találmány értelmében úgy járunk el, hogy a hexapeptid védőcsoportjait eltávolítjuk és a kapott (I) általános képletű vegyület észterét kívánt esetben hidrolizáljuk.

A leírásban az alábbi rövidítéseket alkalmazzuk:

Arg = arginin
Leu = leucin
Lys = lizin
Trp = triptofán
OEt = etoxicsoport
OMe = metoxicsoport
(Me)Arg = metil-arginin
(Me)₂Arg = dimetil-arginin
OBu = n-butoxicsoport
Pro = prolin
Tos = tozilcsoport
Bzl = benzilcsoport
But = terc-butilcsoport
Ile = terc-leucin
Z benzil-oxi-karbonil-csoport
Boc = terc-butoxi-karbonil-csoport
Mtr = r-metoxi-2,3,6-trimetil-benzol-szulfonil-csoport
DCC = diciklohexil-karbodiimid
URK = vékonyrétegekromatográfia
Gb = omega-guanidino-butánsav
Pgl = fenil-glicin
Gh = omega-guanidino-hexánsav
GABA = gamma-amino-butánsav
Ah = omega-amino-hexánsav
Bz = benzoil.

Az (I) általános képlet értelmezésében szereplő alkilcsoport 1-4 szénatomos egyenes vagy elágazó szénláncú alkilcsoport. Példaként említhető a metil-, propil-, etil-, izopropil-, butil-, izobutil-, szek-butil-, terc-butil-csoport.

Az A értelmezésében említett omega-amino-alkanoil-csoport (c) általános képletében és omega-guanidino-alkanoil-csoport (d) általános képletében m előnyös értéke 1-5 és n előnyös értéke 1-5. Példaként említhető az omega-amino-pentanoil-csoport és omega-amino-hexanoil-csoport, amelyekben m értéke 4 és 5, míg az utóbbiakra példaként említhető az omega-guanidino-pentanoil-csoport, amelyben n értéke 4.

Az (I) általános képletű hexapeptidekre példaként megnevezhetők a következő vegyületek:

Gb-Arg-Pro-Trp-Pgl-Leu-OEt
Ah-Arg-Pro-Trp-Pgl-Leu-OEt

GABA-Arg-Pro-Trp-Pgl-Leu-Oet
 Ah-Arg-Pro-Trp-Pgl-Leu-OMe
 Gh-Arg-Pro-Trp-Pgl-Leu-OMe
 Gp-Arg-Pro-Trp-Pgl-Leu-OEt
 H-D-Arg-Arg-Pro-Trp-Pgl-Leu-OMe
 Ah-Arg-Pro-Trp-Ile-Leu-OMe
 H-D-Lys-Arg-Pro-Trp-Pgl-Leu-OEt
 H-D-Arg-Lys-Pro-Trp-Pgl-Leu-OMe
 H-D-Lys-Arg-Pro-Trp-Ile-Leu-OMe
 H-D-Lys-Arg-Pro-Trp-Ile-Leu-OH
 H-D-Lys-Arg-Pro-Trp-Ile-Leu-OEt
 H-D-Lys-Arg-Pro-Trp-Ile-Leu-OEt
 H-D-Lys-Lys-Pro-Trp-Ile-Leu-OMe
 H-(Me)Arg-Arg-Pro-Trp-Tle-Leu-Ome
 H-(Me)Arg-Arg-Pro-Trp-Tle-Leu-OH
 (Me)₂Arg-Arg-Pro-Trp-Tle-Leu-OH
 H-(Me)Arg-Lys-Pro-Trp-Tle-Leu-OH
 (Me)₂Arg-Lys-Pro-Trp-Tle-Leu-OH
 H-(Me)Arg-Lys-Pro-Trp-Tle-Leu-OEt
 H-D-Arg-Lys-Pro-Trp-Tle-Leu-OEt
 H-(Me)Arg-Lys-Pro-Trp-Tle-Leu-OMe
 H-(Me)Arg-Lys-Pro-Trp-Tle-Leu-OnPr
 Bz-D-Arg-Lys-Pro-Trp-Tle-Leu-OEt
 H-(Me)Arg-Lys-Pro-Trp-Tle-Leu-OBn
 Bz-D-Arg-Lys-Pro-Trp-Tle-Leu-OH
 Gb-Arg-Pro-Trp-Pgl-Leu-OH
 Ah-Arg-Pro-Trp-Pgl-Leu-OH
 H-D-Arg-Lys-Pro-Trp-Tle-Leu-OH
 H-D-Lys-Lys-Pro-Trp-Tle-Leu-OH.

Az (I) általános képletű hexapeptidek előállítása során a találmány értelmében önmagában ismert módon járunk el. A védett peptid szintézise megvalósítható a szokásos folyadékfázisú vagy szilárd fázisú módszerrel. Az aminosavak oldalláncbeli funkció csoportjait előnyösen védőcsoporttal védjük és az utolsó lépésben valamennyi védőcsoportot eltávolítjuk. Az aminosavak oldalláncbeli funkció csoportjainak védésére bármely ismert védőcsoport felhasználható, példaként említendő a tozilcsoport (Tos), a nitrocsoporthoz (NO₂), a benzilcsoport (Bzl), a terc-butil-csoport (Bu^t), a benzil-oxi-karbonil-csoport (Z), a terc-butoxi-karbonil-csoport (Boc) és a 4-metoxi-2,3,6-trimetil-benzol-szulfonil-csoport (Mtr).

Az aminosav alfa-aminocsoportjának védésére bármely ismert védőcsoport felhasználható. Az alfa-amino-védőcsoportját előnyösen a függő funkció csoport védőcsoporttal kombináljuk és így szelektív eliminálást teszünk lehetővé. Így például, az alfa-amino-csoportot terc-butoxi-karbonil-csoporttal védjük, míg a függő funkció csoportot benzilcsoporttal vagy benzil-oxi-karbonil-csoporttal védjük, vagy az alfa-amino-csoportot benzil-oxi-karbonil-csoporttal, és a függő funkció csoportot terc-butyl-csoporttal vagy terc-butoxi-karbonil-csoporttal védjük. Ha az N-terminális aminosav dialkilezett aminocsoportot tartalmaz, védőcsoport alkalmazására nincs szükség. A racemizálás elkerülése érdekében előnyösen úgy járunk el, hogy a védett polipeptid szintézisét a lépcsőzetes módszerrel az aminosavaknak a C-terminálisból kiindulva egymás után történő megkötésével, vagy Pro pozí-

ciójú vagy bármely más tetszőleges pozíciójú fragmens konedenzációval végezzük.

Az (I) általános képletű hexapeptidek akár szilárd fázisú, akár folyadékfázisú módszerrel előállíthatók az A reakcióvázlatban ábrázolt reakciósorozat többszöri megismétlésével, amelynek során védett polipeptidet kapunk, a védőcsoportokat lehasítjuk és a kapott peptidet tisztítjuk, a képletekben

X¹ és X² jelentése hidrogénatom vagy alkil-csoport,

Y¹ és Y² jelentése függő funkció csoport,

R' és R'' jelentése védőcsoport vagy peptid maradék.

A peptid szintézist a folyadékfázisú módszer alapján ismertetjük.

(1) A peptidlánc kialakítása

A peptidlánc kialakítása megvalósítható bármely ismert kondenzációs módszerrel. Általában úgy járunk el, hogy a (II) általános képlet savkomponens karbonilcsoportját a szokásos módon, így az azid-módszerrel, a diciklohexil-karbodiimid (DCC) módszerrel, vegyes anhidrid módszerrel vagy aktív észter módszerrel aktiváljuk, és az aktivált savkomponenst a (III) általános képletű amin-komponenssel reagáltatjuk. A reakciókörülmények (így oldószer vagy hőmérséklet) a karboxilcsoport aktiválására alkalmazott módszertől függenek. A kondenzáláshoz legelőnyösebben alkalmazható vegyes anhidrid-módszert ismertetjük közelebbről. Ennek során a (II) általános képletű savkomponenst először aprotikus oldószerben, így dimetil-formamidban, tetrahidrofuranban vagy etil-acetátban oldjuk, majd mintegy -20 °C hőmérsékletre hűtjük. Ekvimoláris mennyiségben N-metil-morfolin és klór-hangyasav-etilésztert adunk hozzá. 5 perc elteltével ekvimoláris mennyiségben hozzáadjuk a (III) általános képletű amin-komponenst. A kapott reakcióelegyet 2-5 órán keresztül -15 és 0 °C közötti hőmérsékletre keverjük, majd a szokásos módon kezelve (IV) általános képletű védett peptidet kapunk.

(2) Az alfa-amino-védőcsoport eltávolítása

A védőcsoport eltávolítása bármely szokásos módon megvalósítható. Előnyösen alkalmazható a katalitikus redukció, a savas lehasítás, a lúgos lehasítás vagy a hidrazinos lehasítás. A megfelelő módszert az adott alfa-amino-védőcsoporttól függően választjuk ki. A lehasításra példaként említendő a benzil-oxi-karbonil-csoport katalitikus redukciója és a terc-butoxi-karbonil-csoport trifluor-ecetsavas eltávolítása. Ez utóbbi módszert részletesen ismertetjük.

1 g R'' helyén Boc csoportot tartalmazó (IV) általános képletű alfa-N-butoxi-karbonil-peptidhez 0,5 ml anizolt és 5 ml trifluor-ecetsavat adunk jeges hűtés közben, a reakcióelegyet 60 percen keresztül keverjük, majd éterrel kezelve az (V) általános képletű peptid difluor-ecetsavas sóját kapjuk. A sót megfelelő oldószerben oldjuk, aminnal, így trietil-aminnal semlegesítjük és a következő lépéshez felhasználjuk.

(3) Valamennyi védőcsoport eltávolítása

A peptidláncot a fenti kondenzálás és alfa-amino-védőcsoport eltávolítás megismétlésével meghosszabbítjuk. A kapott nyerstermékről valamennyi védőcsoportot eltávolítjuk, amely bármely szokásos módon, így katalitikus redukcióval, folyékony ammóniával vagy alkálifémmel, illetve savval vagy bázissal vagy hidrazinnal megvalósítható. A megfelelő módszert a védőcsoport típusától függően választjuk meg. Példaként a védőcsoportok hidrogén-fluoriddal történő lehasítását mutatjuk be.

1 g védett polipeptidet hermetikusan zárt HF reaktorban 0,5 ml anizol jelenlétében -15 és 0°C közötti hőmérsékleten mintegy 30 ml hidrogén-fluoridban oldunk. Az elegyet 60 percen keresztül keverjük, majd a hidrogén-fluoridot ledesztilláljuk és a maradékot étterrel mossuk, vízben oldjuk és Amberlite IRA-93 (ecetsavas forma) gyantával kezeljük, majd fagyaszttva szárítjuk. Így védőcsoporttól mentes nyers peptidet kapunk.

(4) A nyers peptid tisztítása

A nyers peptid tisztítása bármely szokásos módon, így ioncserés kromatográfiával, géliszűréssel, megoszlásos kromatográfiával, ellenáramú megoszlással és nagynyomású folyadék kromatográfiával megvalósítható. Példaként a nagynyomású folyadék kromatográfiás módszert ismertetjük. 100 mg nyers peptidet Nucleosil 5C18 ioncserélővel töltött 20 x 250 mm méretű oszlopra viszünk és 0,015 tömeg% sósavval (H₂O/CH₃CN) eluáljuk. A megfelelő frakciókat 210 nm-en végzett UV detektálással választjuk ki, majd a kívánt tiszta peptidet fagyaszttva szárítással izoláljuk.

A kívánt termék a tisztítási módszertől és a peptid kémiai szerkezetétől függően savaddíciós só, így acetát vagy hidroklorid só formájában is izolálható.

Az új hatóanyagok biológiai hatását az alábbi példával mutatjuk be.

Metamfetamin antagonisták hatás vizsgálata

A példában a metamfetaminnal indukált fokozott spontán mozgás gátlását vizsgáljuk.

120–200 g testtömegű Wistar típusú hím patkányoknak és 18–25 g testtömegű ddY típusú hím egereknek orálisan vagy szubkután vizsgált hatóanyagot és kontrollként fiziológiai sóoldatot adagolunk. 30 perc vagy 2 óra elteltével intraperitoneálisan metamfetamin-hidrokloridot (Philopon, Dainippon Pharmaceutical Co., Ltd., Japán) adagolunk. 1 óra elteltével a spontán mozgás mértékét MK-ANIMEX (Muromachi Kikai) berendezés segítségével mérjük.

Az új hatóanyagokkal elérhető gátlás mértékét a fiziológiai sóoldattal kezelt patkányok vagy egerek spontán mozgásához viszonyítva az 1. táblázatban adjuk meg.

1. táblázat

5	Hatóanyag példaszám	Metamfetamin antagonisták	
		Dózis (mg/kg s.c.)	Gátlás (%)
10	1.	0,4	20,6
	2.	2,0	72,3
	3.	0,5	57,8
	4.	0,1	27,9
	5.	0,4	37,3
	6.	0,5	50,5
	7.	0,5	77,0
15	neurotenzin	20,0	—

A táblázat eredményeiből látható, hogy az (I) általános képletű vegyületekkel kiváltott hatás összehasonlítható az intraventrikulárisan adagolt neurotenzinnel kiváltott hatással, vagyis az új hatóanyagok hatása nagyon nagy.

Az új hatóanyagok tehát erős metamfetamin antagonisták hatással rendelkeznek intravénás vagy szubkután injekció vagy orális adagolás esetén is. A hatóanyagok tehát sokkal előnyösebben, mint a neurotenzin vagy ennek származékai, mivel azok az in vivo körülmények között mutatott alacsony stabilitás miatt csak nehézkesen adagolhatók.

Emellett, az (I) általános képletű hexapeptidnek nem okoznak katelepszíát, ami állatkísérletekben az extrapiramidális betegség jellemző szimptomája, amely utóbbi a szokásos antipszichotikus szerek, vagyis dopamin idegrendszer blokkolók klinikai adagolásának mellékhatása. Az új hatóanyagok ilyen hatást nem váltanak ki még akkor sem, ha a metamfetamin antagonisták hatásához szükséges dózis 200-szorosát adagoljuk. Ez a kép is az új polipeptidok klinikai fontosságát igazolja.

Az új hexapeptid tehát metamfetamin antagonistaként és analgetikumként alkalmazható az agy szeri elváltozásaival szizofréniával, valamint aggkori elmebetegséggel összefüggő viselkedési zavarok kezelésére és/vagy javítására. Az új vegyületekkel kezelhető agyi szeri elváltozások közé tartozik az elmebaj, az agyi erek károsodásának következménye, fejsérülés hatására bekövetkező károsodás és más aggkori betegségek.

Az új hatóanyagokat gyógyszerkészítmény formájában orálisan vagy parenterálisan adagoljuk.

Az új hatóanyagokat tartalmazó gyógyszerkészítmények a szokásos módon előállíthatók, amelynek során a hatóanyagot gyógyszerészeti célra alkalmas vivőanyaggal és/vagy egyéb gyógyszerészeti segédanyaggal keverjük. A segédanyagok típusát az adagolási forma határozza meg, példaként említhetők a töltőanyagok, kötőanyagok, nedvesítőszer, szétesést befolyásoló anyagok, felületaktív anyagok, hígítószer és csúsztatószer.

A találmány szerint előállított készítmény készítményi formája lehet tabletta, pirula, por, oldat, szuszpenzió, emulzió, granulátum, kapszula, szuppozitrium, injekció (oldat vagy szuszpen-

zió), kenőcs és inhalációs készítmény, ezen belül előnyösen szuppozitórium, injekció és inhalációs készítmény.

Tabletta előállítása esetén segédanyag lehet töltőanyag, így laktóz, szaccharóz, nátrium-klorid, glükóz oldat, karbamid, keményítő, kalcium-karbonát, kaolin, kristályos cellulóz, és szalicilsav, kötőanyag, így víz, etanol, propanol, szirup, glikóz, keményítődoldat, zselatinoldat, karboxi-metil-cellulóz, sellak, metil-cellulóz, kálium-foszfát és poli(vinil-pirrolidon), szétesést befolyásoló szer, így száraz keményítő, nátrium alginát, agar, laminária, nátrium-hidrogén-karbonát, kalcium-karbonát, Tween, nátrium-lauril-szulfát, sztearinsav-monoglicerid, keményítő és laktóz, szétesést gátló szerek, így szaccharóz, sztearin, kakaóvaj és hidrogénezett olaj, felszívódást gyorsító szer, így kvaterner ammóniumbázis, nátrium-lauril-szulfát, citromsav, maleinsav, fumar-sav és malonsav, nedvesítőszer, így glicerín és keményítő, adszorbens, így keményítő, laktóz, kaolin, bentonit és koloid szilikagél, valamint csúsztatószer, így tisztított talkum, sztearát, bórsav, makrogol és szilárd polietilén-glikol.

Pirula előállítása esetén a segédanyag lehet töltőanyag, így glükóz, laktóz, keményítő, kakaóvaj, keményített növényi olaj, kaolin és talkum, kötőanyag, így porított akácia, tragakant por, zselatin és etanol, valamint szétesést elősegítő szer, így laminária és agar.

A tabletta kívánt esetben a szokásos módon drasztírozható. A tabletta lehet tehát cukorral bevont tabletta, zselatinnal bevont tabletta, gyomor- és bélszakaszban való felszívódást biztosító bevonattal ellátott tabletta, filmbevonatú tabletta, kettős rétegű vagy többszörös rétegű tabletta.

Szuppozitórium előállítása esetén segédanyag lehet például polietilén-glikol, kakaóvaj, hosszú szénláncú alkohol, hosszú szénláncú alkohol-észter, zselatin és félszintetikus glicerid.

Az új hatóanyagok alkalmazhatók injekcióként is oldat, emulzió vagy szuszpenzió formájában.

Előnyösen sterilizált és a vérrel izotóniás oldatot, emulziót vagy szuszpenziót alkalmazunk. Oldat, emulzió vagy szuszpenzió előállítása esetén oldószerként alkalmazható például víz, etil-alkohol, propilén-glikol, etoxilezett izosztearil-alkohol, polihidroxilezett izosztearil-alkohol, polioxietilezett sorbitol és sorbitán észter.

A találmány szerint előállított készítmények izotonizáló szerként tartalmazhatnak különböző sókat, glükózt vagy glicerint. További segédanyagként alkalmazhatók továbbá oldásközvetítők, pufferok, zsírtalanítószer, tartósítószer, színezőanyagok, konzerválószer, édesítőszer és más adalékanyagok.

A hatóanyagok adagolásának módja a kiszérés formájához igazodik. Így például, a tabletta, pirula, oldat, szuszpenzió, emulzió, granulátum vagy kapszula adagolható orálisan, míg az injekció adagolható a szokásos kiegészítő oldatokkal (így glükóz vagy aminosav oldattal) együtt intravénásan vagy intramuszkulárisan, szubkután, intrakután vagy intraperitoneálisan. A szuppozitó-

rium adagolható intrarektálisan, míg az inhalációs készítmény intranazálisan.

Az új hatóanyagok dózisa a kezelt betegség fajtájától, mértékétől, a kezelt beteg korától, nemétől, testtömegétől, érzékenységétől, valamint a kezelés módjától, időpontjától, intervallumától, és a készítmény kiszereleti formájától függ. Intravénás, intramuszkuláris vagy szubkután injekció esetén a dózis 2,5–1000 mikrogramm/nap egy főre számolva, míg orális adagolás esetén a dózis 5–200 mg/nap, amely több részre elosztva adagolható.

A találmány szerinti eljárást közelebből az alábbi példákkal világítjuk meg anélkül, hogy az oltalmi kör a példákra korlátozódna.

1. példa

Gb-Arg-Pro-Trp-Pgl-Leu-OEt előállítása

1) Boc-Pgl-Leu-OEt előállítása

8,6 g Boc-Pgl-OH-t 100 ml tetrahydrofuránban oldunk, majd -20°C hőmérsékletre hűtjük. Hozzáadunk 3,75 ml N-metil-morfolint és 3,25 ml klór-hangyasav-etilésztert. 5 perc elteltével a kapott elegyhez 6,67 g HCl-H-Leu-OEt és 3,75 ml N-metil-morfolin 50 ml dimetil-formamidban felvett oldatát adjuk. A reakcióelegyet 2 órán keresztül -50°C hőmérsékleten keverjük, majd a csapadékot szűrjük. A szűrletet bepároljuk és a maradékot etil-acetátban oldjuk. Az oldatot vízes nátrium-hidrogén-karbonát oldattal, majd vízzel mossuk, és szárazra pároljuk. Így 9,7 g Boc-Pgl-Leu-OEt-t kapunk kristályos formában.

Vékonyrétegekromatográfia: $R_f = 0,41$ (metanol/kloroform 1:30) $[\alpha]_D = +62,2^{\circ}$ ($c = 0,55$, diklór-metán).

Elemanalízis a $\text{C}_{21}\text{H}_{32}\text{N}_2\text{O}_5$ összegképlet alapján:

számított: C: 64,26, H: 8,22, N: 7,14%,
talált: C: 64,13, H: 8,22, N: 7,22%.

2) Z-Trp-Pgl-Leu-OEt előállítása

1,15 g Z-Trp-OH-t 10 ml tetrahydrofuránban oldunk, majd -20°C hőmérsékletre hűtjük. Hozzáadunk 0,37 ml N-metil-morfolint és 0,32 ml klór-hangyasav-etilésztert. 5 perc elteltével 1,32 g CF_3COOH -H-Pgl-Leu-OEt (előállítás Boc-Pgl-Leu-OEt-t trifluor-ecetsavval kezelünk anizol jelenlétében) és 0,37 ml N-metil-morfolin 5 ml tetrahydrofuránban felvett oldatát adjuk hozzá. A reakcióelegyet 2 órán keresztül -5°C hőmérsékleten kevertetjük, majd a csapadékot szűrjük. A szűrletet bepároljuk és a maradékot etil-acetátban oldjuk. Az oldatot vízes nátrium-hidrogén-karbonát oldattal, majd vízzel mossuk, és szárazra pároljuk. Így 1,80 g Z-Trp-Pgl-Leu-OEt-t kapunk üveges anyag formájában.

VRK, $R_f = 0,61$ (metanol/kloroform 1:8)

$[\alpha]_D = +24,4^{\circ}$ ($c = 0,75$, diklór-metán).

Elemanalízis a $\text{C}_{35}\text{H}_{40}\text{N}_4\text{O}_6$ összegképlet alapján:

számított: C: 68,61, H: 6,58, N: 9,14%,
talált: C: 68,45, H: 6,46, N: 9,08%.

3) Boc-Arg(Tos)-Pro-OBzl előállítása

4,28 g Boc-Arg(Tos)-OH-t 50 ml tetrahydrofuránban oldunk, majd -20°C hőmérsékletre hűtjük. Hozzáadunk 1,1 ml N-metil-morfolint és

0,95 ml klór-hangyasav-etilésztert, majd 5 perc elteltével 2,42 g HCl-H-Pro-OBzl és 1,1 ml N-metil-morfolin 10 ml dimetil-formamidban felvett oldatát. A reakcióelegyet 2 órán keresztül -5°C hőmérsékleten keverjük, majd a csapadékot szűrjük. A szűrletet bepároljuk és a maradékot etil-acetátban oldjuk. Az oldatot vizes nátrium-hidrogén-karbonát oldattal, majd vízzel mossuk és szárazra pároljuk. A maradékot etil-acetát = etil-éter eleggyel kristályosítjuk. Így 3,75 g Boc-Arg(Tos)-Pro-OBzl-t kapunk por alakban.

VRK: $R_f = 0,38$ (metanol/kloroform 1:12)

$[\alpha]_D = -28,7^{\circ}$ ($c = 1,2$, diklór-metán).

Elemanalízis a $\text{C}_{30}\text{H}_{41}\text{N}_5\text{O}_7\text{S} \times 0,5\text{H}_2\text{O}$ összegképlet alapján:

számított: C: 57,68, H: 6,78, N: 11,21%,

talált: C: 57,41, H: 6,58, N: 11,85%.

4) Tos-Gb-Arg(Tos)-Pro-OBzl előállítása

3,07 g N^B-Tos-gamma-guanidino-butánsavat 500 ml tetrahidrofuranban oldunk, majd -20°C hőmérsékletre hűtjük. Hozzáadunk 1,13 ml N-metil-morfolint és 0,98 ml klór-hangyasav-etilésztert, majd 5 perc elteltével CF_3COOH -H-Arg(Tos)-Pro-OBzl (előállítás: Boc-Arg(Tos)-Pro-OBzl-t trifluor-ecetsavval kezelünk anizol jelenlétében) és 1,13 ml N-metil-morfolin 20 ml tetrahidrofuranban felvett oldatát. A reakcióelegyet 2 órán keresztül -5°C hőmérsékleten keverjük, majd a csapadékot szűrjük. A szűrletet bepároljuk és a maradékot etil-acetátban oldjuk. Az oldatot vizes nátrium-hidrogén-karbonát oldattal, majd vízzel mossuk és szárazra pároljuk. A maradékot szilikagélén kromatográfiásan tisztítjuk. Így 5,2 g Tos-Gbn-Arg(Tos)-Pro-OBzl-t kapunk VRK, $R_f = 0,56$ (metanol/kloroform 1:3).

$[\alpha]_D = -31,6^{\circ}$ ($c = 1,5$, metanol = /diklór-metán (1:1)).

Elemanalízis a $\text{C}_{37}\text{H}_{48}\text{N}_8\text{O}_8\text{S}_2 \times \text{CH}_3\text{OH} \times \text{H}_2\text{O}$ összegképlet alapján:

számított: C: 54,11, H: 6,41, N: 13,29%,

talált: C: 54,23, H: 6,18, N: 12,98%.

5) Tos-Gb-Arg(Tos)-Pro-Trp-Pgl-Leu-OEt előállítása

400 mg Tos-Gb-Arg(Tos)-Pro-OH-t (előállítás: Tos-Gb-Arg(Tos)-Pro-OBzl 10 tömeg% Pd/C jelenlétében H_2 gázzal végzett katalitikus redukciójával) 10 ml tetrahidrofuran/dimetil-formamid 10:1 elegyben oldunk és 5°C hőmérsékletre hűtjük. Hozzáadunk 97,8 mg N-hidroxiszukcinimidet és 117 mg diciklohexil-karbodimidet. A reakcióelegyet 3 órán keresztül 5°C hőmérsékleten keverjük, majd a csapadékot szűrjük. A szűrletet szárazra pároljuk és a maradékot szilikagélén oszlopkromatográfiásan tisztítjuk. Így 380 mg Tos-Gb-Arg(Tos)-Pro-Trp-Pgl-Leu-OEt-t kapunk.

VRK, $R_f = 0,46$ (metanol/kloroform 1:6).

$[\alpha]_D = -43,9^{\circ}$ ($c = 0,40$, diklór-metán).

Elemanalízis a $\text{C}_{57}\text{H}_{74}\text{N}_{12}\text{O}_{11}\text{S}_2 \times 2\text{H}_2\text{O}$ összegképlet alapján:

számított: C: 56,89, H: 6,53, N: 13,97%,

talált: C: 56,97, H: 6,32, N: 13,97%.

6) Gb-Arg-Pro-Trp-Pgl-Leu-OEt előállítása

370 mg Tos-Gb-Arg(Tos)-Pro-Trp-Pgl-Leu-

OEt-t 1 ml anizol jelenlétében -10°C hőmérsékleten egy hermetikusan zárt HF reaktorban 10 ml hidrogén-fluoridban oldunk. Az oldatot 1 órán keresztül kevertetjük, majd a hidrogén-fluoridot ledesztilláljuk, a maradékot éterrel mossuk és vízben oldjuk. Az oldatot Amberlite IRA-93 gyantával (ecetsav forma) kezeljük, majd fagyasztva szárítjuk. A kapott nyersterméket karboxi-metil-cellulóz ioncserélővel töltött $1,3 \times 10$ mm méretű oszlopon víz/0,4 mol/liter ammónium-acetát oldat elegyével a gradiens módszer szerint eluálva tisztítjuk. Fagyasztva szárítással 230 mg Gb-Arg-Pro-Trp-Pgl-Leu-OEt-t kapunk ecetsavas só formájában.

VRK, $R_f = 0,37$ (butanol/ecetsav/víz 4:1:5).

$[\alpha]_D = -47,8^{\circ}$ ($c = 0,8$, 1% ecetsav, v/v).

Tömegspektrum analízis (FAB): 859 $/(M+H)^{+}/$.

Aminosav analízis: Pro 1,01(1), Leu 1,01(1), Trp 0,85(1), Arg 1,13 (1).

2. példa

Ah-Arg-Pro-Trp-Pgl-Leu-OEt előállítása

1) Boc-Ah-Arg(Tos)-Pro-OBzl előállítása

1,16 g N-Boc-omega-amino-kapronsavat 20 ml tetrahidrofuranban oldunk, majd -20°C hőmérsékletre hűtjük. Hozzáadunk 0,55 ml N-metil-morfolint és 0,48 ml klór-hangyasav-etilésztert, majd 3,12 g CF_3COOH -H-Arg(Tos)-Pro-OBzl és 0,55 ml N-metil-morfolin 10 ml tetrahidrofuranban felvett oldatát. A reakcióelegyet 2 órán keresztül -5°C hőmérsékleten keverjük, majd a csapadékot szűrjük. A szűrletet szárazra pároljuk és a maradékot etil-acetátban oldjuk. Az oldatot vizes nátrium-hidrogén-karbonát oldattal, majd vízzel mossuk és szárazra pároljuk. Így 3,6 g Boc-Ah-Arg(Tos)Pro-OBzl-t kapunk üvegszerű anyag formájában.

VRK, $R_f = 0,49$ (metanol/kloroform 1:8).

$[\alpha]_D = -44,1^{\circ}$ ($c = 0,77$, diklór-metán).

Elemanalízis a $\text{C}_{36}\text{H}_{52}\text{N}_6\text{O}_8\text{S} \times 0,3\text{H}_2\text{O}$ összegképlet alapján:

számított: C: 58,88, H: 7,22, N: 11,44%,

talált: C: 58,90, H: 7,08, N: 11,59%.

2) Boc-Ah-Arg(Tos)-Pro-Trp-Pgl-Leu-OEt előállítása

534 mg Boc-Ah-Arg(Tos)-Pro-OH-t (előállítás: Boc-Ah-Arg(Tos)-Pro-OBzl 10 tömeg% Pd/C jelenlétében végrehajtott katalitikus redukciójával) 10 ml tetrahidrofuran/dimetil-formamid 10:1 elegyben oldunk, majd 5°C hőmérsékletre hűtjük. A reakcióelegyet egy éjszakán keresztül 5°C hőmérsékleten keverjük, majd hozzáadunk 400 mg H-Trp-Pgl-Leu-OEt 4 ml tetrahidrofuranban felvett oldatát. A reakcióelegyet további éjszakán keresztül 5°C hőmérsékleten keverjük, majd a csapadékot szűrjük. A szűrletet bepároljuk és a maradékot etil-acetátban oldjuk. Az oldatot vizes nátrium-hidrogén-karbonát oldattal, majd vízzel mossuk és szárazra pároljuk. A maradékot szilikagélén oszlopkromatográfiásan tisztítjuk. Így 520 mg Boc-Ah-Arg(Tos)-Pro-Trp-Pgl-Leu-OEt-t kapunk.

VRK, $R_f = 0,45$ (metanol/kloroform 1:6).

$[\alpha]_D = -37,3^{\circ}$ ($c = 0,22$, diklór-metán)

Elemanalízis a $C_{56}H_{78}N_{10}O_{11}S \times 1,5H_2O$ összegképlet alapján:

számított: C: 59,72, H: 7,25, N: 12,44%,

talált: C: 59,77, H: 7,00, N: 12,53%.

3) Ah-Arg-Pro-Trp-Pgl-Leu-OEt előállítás

500 mg Boc-Ah-Arg(Tos)-Pro-Trp-Pgl-Leu-OEt-t 1 ml anizol jelenlétében $-10^\circ C$ hőmérsékleten egy hermetikusan zárt HF reaktorban 100 ml hidrogén-fluoridban oldunk. Az oldatot 1 órán keresztül keverjük, majd a hidrogén-fluoridot ledesztilláljuk. A maradékot éterral mossuk, és vízben oldjuk. Az oldatot Amberlite IRA-93 (ecetsavas forma) gyantával kezeljük, majd fagyaszta szárítjuk. A kapott nyersteget karboxi-metil-cellulóz ioncserélővel töltött $1,5 \times 15$ mm méretű oszlopon víz/0,4 mol/liter ammónium-acetát oldat elegyével a gradiens módszer szerint eluálva tisztítjuk. Fagyaszta szárítással 304 mg Ah-Arg-Pro-Trp-Pgl-Leu-OEt-t kapunk ecetsavas só formájában.

VRK, $R_f = 0,55$ (butanol/ecetsav/víz 4:1:1).

$[\alpha]_D = -45,3^\circ$ ($c = 0,8$, 1% ecetsav).

Tömegspektrum analízis (FAB): 845 $/(M+H)^+$.

Aminosav analízis: Pro 0,96(1), Leu 1,10(1), Trp 0,88(1), Arg 1,06(1).

3. példa

Bz-D-Arg-Lys-Pro-Trp-Tle-Leu-OEt előállítás

1) Z-Tle-Leu-OEt előállítás

10,8 g Z-Tle-OH-t 120 ml tetrahydrofuranban oldunk, majd $-20^\circ C$ hőmérsékletre hűtjük. Hozzáadunk 4,46 ml N-metil-morfolint és 3,86 ml klór-hangyasav-etilésztert, majd 10 perc elteltével 7,93 g HCl-H-Leu-OEt 500 ml dimetil-formamidban felvett oldatát. A reakcióelegyet 2 órán keresztül $-5^\circ C$ hőmérsékleten keverjük, majd a csapadékot szűrjük. A szűrletet bepároljuk és a maradékot etil-acetátban oldjuk. Az oldatot vizes nátrium-karbonát oldattal, majd vízzel mossuk és szárazra pároljuk. Így 14,0 g Z-Tle-Leu-OEt-t kapunk olaj formájában.

VRK, $R_f = 0,68$ (metanol/diklór-metán 1:100).

$[\alpha]_D = -8,2^\circ$ ($c = 1,8$, diklór-metán).

Elemanalízis a $C_{22}H_{34}N_2O_5 \times 0,3H_2O$ összegképlet alapján:

számított: C: 64,15, H: 8,47, N: 6,80%,

talált: C: 64,32, H: 8,44, N: 6,90%.

2) Z-Trp-Tle-Leu-OEt előállítás

13,9 g Z-Trp-OH-t 200 ml tetrahydrofuranban oldunk, majd $-20^\circ C$ hőmérsékletre hűtjük. Hozzáadunk 4,5 ml N-metil-morfolint és 3,91 ml klór-hangyasav-etilésztert, majd 5 perc elteltével 12,6 g HCl-H-Tle-Leu-OEt (előállítás: Z-Tle-Leu-OEt Pd/C jelenlétében végzett katalitikus redukciójával) és 4,5 ml N-metil-morfolin 50 ml tetrahydrofuranban felvett oldatát. A reakcióelegyet 2 órán keresztül $-5^\circ C$ hőmérsékleten keverjük, majd a csapadékot szűrjük. A szűrletet bepároljuk és a maradékot etil-acetátban oldjuk. Az oldatot vizes nátrium-karbonát-oldattal, majd vízzel mossuk és szárazra pároljuk. A maradékot szilikagélen oszlop-

kromatográfiásan tisztítjuk. Így 21,3 g Z-Trp-Tle-Leu-OEt-t kapunk amorf anyag formájában.

VRK, $R_f = 0,44$ (metanol/diklór-metán 1:40).

$[\alpha]_D = -23,6^\circ$ ($c = 1$, DMF).

Elemanalízis a $C_{33}H_{44}N_4O_6$ összegképlet alapján:

számított: C: 66,87, H: 7,48, N: 9,45%,

talált: C: 66,74, H: 7,54, N: 9,52%.

3) Boc-Lys(Z)-Pro-OMe előállítás

3,0 g Boc-Lys(Z)-OH-t 30 ml tetrahydrofuranban oldunk, majd $-20^\circ C$ hőmérsékletre hűtjük. Hozzáadunk 0,87 ml N-metil-morfolint és 0,75 ml klór-hangyasav-etilésztert, majd 5 perc elteltével 1,3 g HCl-H-Pro-OMe és 0,87 ml N-metil-morfolin 15 ml tetrahydrofuran/dimetil-formamid 1:1 elegyben felvett oldatát. A reakcióelegyet 2 órán keresztül $-5^\circ C$ hőmérsékleten keverjük, majd a csapadékot szűrjük. A szűrletet bepároljuk és a maradékot etil-acetátban oldjuk. Az oldatot vizes nátrium-karbonát oldattal, majd vízzel mossuk és szárazra pároljuk. A maradékot szilikagélen oszlop-kromatográfiásan tisztítjuk. Így 3,5 g Boc-Lys(Z)-Pro-OMe-t kapunk.

VRK, $R_f = 0,39$ (metanol/diklór-metán 1:40).

$[\alpha]_D = -38,7^\circ$ ($c = 1,7$, diklór-metán).

Elemanalízis a $C_{25}H_{37}N_3O_7 \times 0,3H_2O$ összegképlet alapján:

számított: C: 59,98, H: 7,65, N: 8,39%,

talált: C: 59,85, H: 7,39, N: 8,31%.

4) Boc-D-Arg(Tos)-Lys(Z)-Pro-OMe előállítás

4,24 g Boc-D-Arg(Tos)-OH-t 50 ml tetrahydrofuranban oldunk, majd $-20^\circ C$ hőmérsékletre hűtjük. Hozzáadunk 1,09 ml N-metil-morfolint és 0,94 ml klór-hangyasav-etilésztert, majd 5 perc elteltével 510 g CF_3COOH -H-Lys(Z)-Pro-OMe (előállítás: Boc-Lys(Z)-Pro-OMe-t anizol jelenlétében trifluor-ecetsavval kezelünk) 30 ml tetrahydrofuranban felvett oldatát. A reakcióelegyet 2 órán keresztül $-5^\circ C$ hőmérsékleten keverjük, majd a csapadékot szűrjük. A szűrletet bepároljuk és a maradékot etil-acetátban oldjuk. Az oldatot vizes nátrium-karbonát oldattal, majd vízzel mossuk és szárazra pároljuk. A maradékot szilikagélen oszlop-kromatográfiásan tisztítjuk. Így 5,95 g Boc-D-Arg(Tos)-Lys(Z)-Pro-OMe-t kapunk.

VRK, $R_f = 0,17$ (metanol/diklór-metán 1:40).

$[\alpha]_D = -24,2^\circ$ ($c = 1,3$, diklór-metán).

Elemanalízis a $C_{38}H_{55}N_7O_{10}S \times 1H_2O$ összegképlet alapján:

számított: C: 55,66, H: 7,01, N: 11,96%,

talált: C: 55,65, H: 6,77, N: 11,87%.

5) Boc-D-Arg(Tos)-Lys(Z)-Pro-OH előállítás

5,95 g Boc-D-Arg(Tos)-Lys(Z)-Pro-OMe-t 90 ml metanolban oldunk és hozzáadunk 30 ml 1n nátrium-hidroxidot. A reakcióelegyet 2 órán keresztül szobahőmérsékleten keverjük, majd $5^\circ C$ hőmérsékletre hűtjük és 30 ml 1n sósavval elegyítjük. A reakcióelegyből a metanolt kidesztilláljuk, a maradékot 1n sósavval megsavanyfítjuk, és etil-acetáttal elegyítjük. Az etil-acetátos fázist

vízzel mossuk és szárazra pároljuk. Így 5,34 g Boc-D-Arg(Tos)-Lys(Z)-Pro-OH-t kapunk.

VRK, $R_f = 0,36$ (metanol/diklór-metán 1:10).

Elemanalízis a $C_{37}H_{53}N_7O_{10}S \times 1,5H_2O$ összegképlet alapján:

számított: C: 54,53, H: 6,93, N: 12,03%,

talált: C: 54,80, H: 6,78, N: 12,01%.

6) Boc-D-Arg(Tos)-Lys(Z)-Pro-Trp-Tle-Leu-OEt előállítás

2,76 g Boc-D-Arg(Tos)-Lys(Z)-Pro-OH-t és 1,60 g H-Trp-Tle-Leu-OEt-t (előállítás: Z-Trp-Tle-Leu-OEt Pd/C jelenlétében végzett katalitikus redukciójával) 20 dimetil-formamidban oldunk és 5 °C hőmérsékletre hűtjük. Hozzáadunk 0,57 g N-hidroxi-benzotriazolt és 0,76 g diciklohexil-karbodiimidet. A reakcióelegyet 3 órán keresztül 5 °C hőmérsékleten keverjük, majd a csapadékot szűrjük. A szűrletet bepároljuk és a maradékot etil-acetátban oldjuk. Az oldatot vizes nátrium-karbonát oldattal, majd vízzel mossuk és szárazra pároljuk. Így 4,1 g Boc-D-Arg(Tos)-Lys(Z)-Pro-Trp-Tle-Leu-OEt-t kapunk.

VRK, $R_f = 0,61$ (metanol/diklór-metán 1:15).

$[\alpha]_D = -45,2^\circ$ ($c = 0,45$, diklór-metán).

Elemanalízis a $C_{62}H_{89}N_{11}O_{13}S \times 1,5H_2O$ összegképlet alapján:

számított: C: 59,31, H: 7,39, N: 12,27%,

talált: C: 59,35, H: 7,28, N: 12,59%.

7) Bz-D-Arg(Tos)-Lys(Z)-Pro-Trp-Tle-Leu-OEt előállítás

1,2 g HCl-H-D-Arg(Tos)-Lys(Z)-Pro-Trp-Tle-Leu-OEt-t (előállítás: Boc-D-Arg(Tos)-Lys(Z)-Pro-Trp-Tle-Leu-OEt-t anizol jelenlétében trifluor-ecetsavval kezelünk és 10 tömeg% HCl/etil-acetát oldattal hidrokloriddá alakítjuk) 20 ml tetrahidrofuranban oldjuk. Hozzáadunk 0,25 ml N-metil-morfolint és 0,174 g benzoil-kloridot. A reakcióelegyet 5 órán keresztül szobahőmérsékleten keverjük, majd bepároljuk és a maradékot etil-acetátban oldjuk. Az oldatot vizes nátrium-karbonát oldattal, majd vízzel mossuk és bepároljuk. A maradékot szilikagélen oszlopkromatográfián tisztítjuk. Így 0,90 g Bz-D-Arg(Tos)-Lys(Z)-Pro-Trp-Tle-Leu-OEt-t kapunk.

VRK, $R_f = 0,49$ (metanol/diklór-metán 1:15).

$[\alpha]_D = -39,3^\circ$ ($c = 0,19$, diklór-metán).

Elemanalízis a $C_{64}H_{85}N_{11}O_{12}S \times 4,5H_2O$ összegképlet alapján:

számított: C: 58,52, H: 7,21, N: 11,73%,

talált: C: 58,36, H: 6,68, N: 12,15%.

8) Bz-D-Arg-Lys-Pro-Trp-Tle-Leu-OEt előállítás

0,90 g Bz-D-Arg(Tos)-Lys(Z)-Pro-Trp-Tle-Leu-OEt-t 0,5 ml anizol jelenlétében -10 °C hőmérsékleten egy hermetikusan zárt HF reaktorban 30 ml hidrogén-fluoridban oldunk. Az oldatot 1 órán keresztül keverjük, majd a hidrogén-fluoridot ledesztilláljuk. A maradékot éterrel mossuk és vízben oldjuk. Az oldatot Amberlite IRA-93C gyantával (ecetsavas forma) kezeljük, majd fagyaszttva szárítjuk. A kapott nyerstérmet nagynyomású folyadék kromatográfián (Nucleosil 5V18, 2,95 x 25 cm) 0,015 tömeg% sósavval (víz/CH₃CN 26:24) eluálva tisztítjuk.

Fagyaszttva szárítással 91 mg Bz-D-Arg-Lys-Pro-Trp-Tle-Leu-OEt-t kapunk hidroklorid só formájában.

VRK, $R_f = 0,42$ (butanol/ecetsav/víz 4:1:5).

$[\alpha]_D = -83,2^\circ$ ($c = 0,75$, 1% ecetsav).

Tömegspektrum analízis (FAB): 944 $/(M + H^+)$.

Aminosav analízis: Pro 0,90(1), Leu 0,94(1), Lys 1,08(1), Trp 0,93(1), Arg 1,16(1).

4. példa

Bz-D-Arg-Lys-Pro-Trp-Tle-Leu-OH előállítás

30 mg Bz-D-Arg-Lys-Pro-Trp-Tle-Leu-OEt-t 1 ml vízben oldunk és hozzáadunk 0,24 ml 1 n nátrium-hidroxidot. A kapott elegyet 2 órán keresztül szobahőmérsékleten keverjük, majd 0,24 ml 1 n sósavval semlegesítjük. Az elegyet nagynyomású folyadékkromatográfián (Chemcosorb. 5-ODS-H, 2,0 x 25 cm) 0,015 tömeg% sósavval (víz/CH₃CN 70:30) eluálva tisztítjuk. Fagyaszttva szárítással 12 mg Bn-D-Arg-Lys-Pro-Trp-Tle-Leu-OH-t kapunk hidroklorid só formájában.

VRK, $R_f = 0,36$ (n-butanol/ecetsav/víz 4:1:5).

$[\alpha]_D = -76,8^\circ$ ($c = 0,6$, 1% ecetsav).

Tömegspektrum analízis (FAB): 916 $/(M + H^+)$.

Aminosav analízis: Pro 1,03(1), Leu 0,89(1), Lys 1,05(1), Trp 0,93(1), Arg 1,10(1).

5. példa

H-D-Lys-Arg-Pro-Trp-Tle-Leu-OH előállítás

1) Z-Tle-Leu-OBu^t előállítás

3,25 g Z-Tle-OH-t 30 ml tetrahidrofuranban oldunk, majd -20 °C hőmérsékletre hűtjük. Hozzáadunk 1,34 ml N-metil-morfolint és 1,16 ml klór-hangyasav-etilésztert, majd 5 perc elteltével 2,28 g H-Leu-OBu^t 10 ml tetrahidrofuranban felvett oldatát. A reakcióelegyet 2 órán keresztül 5 °C hőmérsékleten keverjük, majd a csapadékot szűrjük. A szűrletet bepároljuk és a maradékot etil-acetátban oldjuk. Az oldatot vizes nátrium-hidrogén-karbonát oldattal, majd vízzel mossuk és szárazra pároljuk. Így 5,3 g Z-Tle-Leu-OBu^t-t kapunk.

VRK, $R_f = 0,54$ (metanol/kloroform 1:20).

$[\alpha]_D = -11,6^\circ$ ($c = 2,9$, diklór-metán).

Elemanalízis a $C_{24}H_{38}N_2O_5 \times 0,3H_2O$ összegképlet alapján:

számított: C: 65,52, H: 8,84, N: 6,37%,

talált: C: 65,31, H: 8,69, N: 6,22%.

2) Z-Trp-Tle-Leu-OBu^t előállítás

2,78 g Z-Trp-OH-t 30 ml tetrahidrofuranban oldunk, majd -20 °C hőmérsékletre hűtjük. Hozzáadunk 0,91 ml N-metil-morfolint és 0,785 ml klór-hangyasav-etilésztert, majd 5 perc elteltével 2,48 g H-Tle-Leu-OBu^t (előállítás: Z-Tle-Leu-OBu^t 10 tömeg% Pd/c jelenlétében végzett katalitikus redukciójával) 10 ml tetrahidrofuranban felvett oldatát. A reakcióelegyet 2 órán keresztül -5 °C hőmérsékleten keverjük, majd a csapadékot szűrjük. A szűrletet bepároljuk és a maradékot etil-acetátban oldjuk. Az oldatot vi-

zes nátrium-hidrogén-karbonát oldattal, majd vízzel mossuk és szárazra pároljuk. Így 4,45 g Z-Trp-Tle-Leu-OBu^t-t kapunk.

VRK, $R_f = 0,30$ (metanol/kloroform 1:10).

$[\alpha]_D = -42,0^\circ$ ($c = 0,76$, metanol).

Elemanalízis a $C_{35}H_{48}N_4O_6 \times 0,5H_2O$ összegképlet alapján:

számított: C: 66,75, H: 7,84, N: 8,90%,

talált: C: 66,99, H: 7,65, N: 8,87%.

3) Z-Pro-Trp-Tle-Leu-OBu^t előállítás

418 mg Z-Pro-OH-t 10 ml tetrahydrofuranban oldunk, majd $-20^\circ C$ hőmérsékletre hűtjük. Hozzáadunk 0,784 ml N-metil-morfolint és 0,160 ml klór-hangyasav-etilésztert, majd 5 perc elteltével 770 mg H-Trp-Tle-Leu-OBu^t (előállítás: Z-Trp-Tle-Leu-OBu^t Pd/C jelenlétében végzett katalitikus redukciójával) 5 ml tetrahydrofuranban felvett oldatát. A reakcióelegyet 2 órán keresztül $-5^\circ C$ hőmérsékleten keverjük, majd a csapadékot szűrjük. A szűrletet bepároljuk és a maradékot etil-acetátban oldjuk. Az oldatot vízes nátrium-hidrogén-karbonát oldattal, majd vízzel mossuk és szárazra pároljuk. Így 1,1 g Z-Pro-Trp-Tle-Leu-OBu^t-t kapunk por alakban.

VRK, $R_f = 0,69$ (metanol/kloroform 1:6).

$[\alpha]_D = -88,7^\circ$ ($c = 0,63$, diklór-metán).

Elemanalízis a $C_{40}H_{55}N_5O_7 \times 0,3H_2O$ összegképlet alapján:

számított: C: 66,42, H: 7,75, N: 9,68%,

talált: C: 66,36, H: 7,61, N: 9,65%.

4) Z-Arg(Tos)-Pro-Trp-Tle-Leu-OBu^t előállítás

3,6 g H-Pro-Trp-Tle-Leu-OBu^t-t (előállítás: Z-Pro-Trp-Tle-Leu-OBu^t Pd/C jelenlétében végzett katalitikus redukciójával) és 2,85 g Z-Arg(Tos)-OH-t 50 ml tetrahydrofuranban oldunk és $5^\circ C$ hőmérsékletre hűtjük. Hozzáadunk 1,25 g N-hidroxi-benzotriazolot és 1,4 g diciklohexil-karbodiimidet. A reakcióelegyet egy éjszaka $5^\circ C$ hőmérsékleten keverjük, majd a csapadékot szűrjük. A szűrletet bepároljuk és a maradékot etil-acetátban oldjuk. Az oldatot vízes nátrium-karbonát oldattal, majd vízzel mossuk és szárazra pároljuk. A maradékot szilikagélen oszlopkromatográfián tisztítjuk. Így 3,46 g Z-Arg(Tos)-Pro-Trp-Tle-Leu-OBu^t-t kapunk.

VRK, $R_f = 0,25$ (metanol/kloroform 1:8).

$[\alpha]_D = -41,9^\circ$ ($c = 0,67$, diklór-metán).

Elemanalízis a $C_{53}H_{73}N_9O_{10}S \times 1,5H_2O$ összegképlet alapján:

számított: C: 60,32, H: 7,26, N: 11,95%,

talált: C: 60,57, H: 7,12, N: 12,08%.

5) Boc-D-Lys(Cl-Z)-Arg(Tos)-Pro-Trp-Tle-Leu-OBu^t előállítás

1,63 g Boc-D-Lys(Cl-Z)-OH-TBA-t víz és etil-acetát elegyében oldunk 3,4 ml 1n H_2SO_4 jelenlétében. Az etil-acetátos fázist vízzel mossuk és szárazra pároljuk. A kapott olajat 30 ml tetrahydrofuranban oldjuk, majd $-20^\circ C$ hőmérsékletre hűtjük. Hozzáadunk 0,368 ml N-metil-morfolint és 0,319 ml klór-hangyasav-etilésztert, majd 5 perc elteltével 2,99 g H-Arg(Tos)-Pro-Trp-Tle-Leu-OBu^t (előállítás: Z-Arg(Tos)-Pro-Trp-Tle-Leu-OBu^t Pd/C jelenlétében végzett katalitikus redukciójával) 10 ml tetrahydro-

furánban felvett oldatát. A reakcióelegyet 2 órán keresztül $-5^\circ C$ hőmérsékleten keverjük, majd a csapadékot szűrjük. A szűrletet szárazra párolva 3,7 g Boc-D-Lys(Cl-Z)-Arg(Tos)-Trp-Tle-Leu-OBu^t-t kapunk.

VRK, $R_f = 0,61$ (metanol/kloroform 1:8)

$[\alpha]_D = 51,4^\circ$ ($c = 0,18$, diklór-metán).

Elemanalízis a $C_{64}H_{92}N_{11}O_{13}S \times 1H_2O$ összegképlet alapján:

számított: C: 58,72, H: 7,24, N: 11,77%,

talált: C: 58,48, H: 7,09, N: 11,52%.

6) H-D-Lys-Arg-Pro-Trp-Tle-Leu-OH előállítás

3,0 g Boc-D-Lys(Cl-Z)-Arg(Tos)-Pro-Trp-Tle-Leu-OBu^t-t 1,5 ml anizol jelenlétében $-10^\circ C$ hőmérsékleten egy hermetikusan zárt HF reaktorban 100 ml hidrogén-fluoridban oldunk. Az oldatot 1 órán keresztül keverjük, majd a hidrogén-fluoridot ledesztilláljuk. A maradékot éterrel mossuk és vízben oldjuk. Az oldatot Amberlite IRA-93 gyantával (ecetsavas forma) kezeljük, majd fagyaszitva szárítjuk. A kapott nyersteget ioncsereőlével (CM-Toyopearl, 2,5 x 24,5 cm méretű oszlopon víz/1,4 mmól/liter ammónium-acetát oldat elegyével a gradiens módszer szerint eluálva) tisztítjuk. Így 760 mg H-D-Lys-Arg-Pro-Trp-Tle-Leu-OH-t kapunk ecetsavas só formájában.

VRK, $R_f = 0,43$ (butanol/ecetsav/víz 4:1:1)

$[\alpha]_D = -79,2^\circ$ ($c = 1,1\%$ ecetsav)

Tömegspektrum analízis (FAB): 840 $/(M+H)^+$

Aminosav analízis: Pro 1,05(1), Leu 0,95(1), Lys 1,02(1), Trp 0,93(1), Arg 1,05(1).

6. példa

H-(Me)Arg-Lys-Pro-Trp-Tle-Leu-OEt előállítás

1) Z-Pro-Trp-Tle-Leu-OEt előállítás

1,11 g Z-Pro-OH-t 15 ml tetrahydrofuranban oldunk, majd $-20^\circ C$ hőmérsékletre hűtjük. Hozzáadunk 0,49 ml N-metil-morfolint és 0,43 ml klór-hangyasav-etilésztert, majd 5 perc elteltével 0,21 g H-Trp-Tle-Leu-OEt (előállítás: Z-Trp-Tle-Leu-OEt Pd/c jelenlétében végzett katalitikus redukciójával) 10 ml tetrahydrofuranban felvett oldatát. A reakcióelegyet 2 órán keresztül $-5^\circ C$ hőmérsékleten keverjük, majd a csapadékot szűrjük. A szűrletet bepároljuk és a maradékot etil-acetátban oldjuk. Az oldatot vízes nátrium-karbonát oldattal, majd vízzel mossuk és szárazra pároljuk. A maradékot szilikagélen oszlopkromatográfián tisztítjuk. Így 30,9 g Z-Pro-Trp-Tle-Leu-OEt-t kapunk amorf anyag formájában.

VRK, $R_f = 0,36$ (metanol/kloroform 1:20)

$[\alpha]_D = 41,1^\circ$ ($c = 1$, DMF)

Elemanalízis a $C_{38}H_{51}N_5O_7$ összegképlet alapján:

számított: C: 66,16, H: 7,45, N: 10,15%,

talált: C: 65,89, H: 7,46, N: 10,05%.

2) Z-Lys(Boc)-Pro-Trp-Tle-Leu-OEt előállítás

1,66 g Z-Lys(Boc)-OH-t 30 ml tetrahydrofuranban oldunk, majd $-20^\circ C$ hőmérsékletre hűt-

jük. Hozzáadunk 0,48 ml N-metil-morfolint és 0,42 ml klór-hangyasav-etilésztert, majd 5 perc elteltével 2,42 g H-Pro-Trp-Tle-Leu-OEt (előállítás: Z-Pro-Trp-Tle-Leu-OEt Pd/C jelenlétében végzett katalitikus redukciójával) 20 ml tetrahydrofuranban felvett oldatát. A reakcióelegyet 2 órán keresztül -5°C hőmérsékleten keverjük, majd a csapadékot szűrjük. A szűrletet bepároljuk és a maradékot etil-acetátban oldjuk. Az oldatot vizes nátrium-karbonát oldattal, majd vízzel mossuk és szárazra pároljuk. A maradékot szilikagélen oszlopkromatográfián tisztítjuk. Így 3,03 g Z-Lys(Boc)-Pro-Trp-Tle-Leu-OEt-t kapunk amorf anyag formájában.

VRK, $R_f = 0,50$ (metanol/diklór-metán 1:10).

$[\alpha]_D = -39,3^{\circ}$ ($c = 1$, DMF).

Elemanalízis a $\text{C}_{49}\text{H}_{72}\text{N}_7\text{O}_{10} \times 0,3\text{H}_2\text{O}$ összszerkeplet alapján:

számított: C: 63,66, H: 7,91, N: 10,60%,

talált: C: 63,55, H: 7,83, N: 10,55%.

3) Boc-(Me)Arg(Mtr)-Lys(Boc)-Pro-Trp-Tle-Leu-OEt előállítása

1,79 g Boc-(Me)Arg(Mtr)-OH-t (előállítása: H-Arg(Mtr)-OH-ból P.Quitt és munkatársai (Helvetica Chimica Acta, 32, 327/1963/) szerint) 300 ml tetrahydrofuranban oldjuk, majd -20°C hőmérsékletre hűtjük. Hozzáadunk 0,39 ml N-metil-morfolint és 0,34 ml klór-hangyasav-etilésztert, majd 5 perc elteltével 2,54 g H-Lys(Boc)-Pro-Trp-Tle-Leu-OEt Pd/C (előállítás: Z-Lys(Boc)-Pro-Trp-Tle-Leu-OEt Pd/C jelenlétében végzett katalitikus redukciójával) 20 ml tetrahydrofuranban felvett oldatát. A reakcióelegyet 2 órán keresztül -5°C hőmérsékleten keverjük, majd a csapadékot szűrjük. A szűrletet bepároljuk és a maradékot etil-acetátban oldjuk. Az oldatot vizes nátrium-karbonát oldattal, majd vízzel mossuk és szárazra pároljuk. A maradékot szilikagélen oszlopkromatográfián tisztítjuk. Így 2,73 g Boc-(Me)Arg(Mtr)-Lys(Boc)-Pro-Trp-Tle-Leu-OEt-t kapunk.

VRK, $R = 0,34$.

$[\alpha]_D = -33,6^{\circ}$ ($C = 1$, DMF)

Elemanalízis a $\text{C}_{63}\text{H}_{102}\text{N}_{11}\text{O}_{14}\text{S} \times 0,3\text{H}_2\text{O}$ összszerkeplet alapján:

számított: C: 59,35, H: 8,11, N: 12,08%,

talált: C: 59,18, H: 7,96, N: 11,96%.

4) H-(Me)Arg-Lys-Pro-Trp-Tle-Leu OEt előállítása

1,2 g Boc(Me)Arg(Mtr)-Lys(Boc)-Pro-Trp-Tle-Leu-OEt-t és 1,2 ml anizolt 24 ml trifluor-ecetsavban oldunk. Az oldatot 4 órán keresztül 30°C hőmérsékleten keverjük, majd a trifluor-ecetsavat ledesztilláljuk. A maradékot éterral mossuk és szűrjük. A nyers peptidet nagynyomású folyadékkromatográfián (Nukleosil 5C18, $2,0 \times 25$ cm) 0,015 tömeg%-os sósavval (víz/ CH_3CN 84:16) eluálva tisztítjuk, majd fagyaszta szárítjuk. Így 350 mg H-(Me)Arg-Lys-Pro-Trp-Tle-Leu-OEt-t kapunk hidroklorid formájában.

VRK, $R_f = 0,71^{\circ}$ ($c = 0,8$, 1% ecetsav)

Tömegspektrum analízis (FAB) = 854 $/(M + H)^{+}/$

Aminosav analízis: Pro 1,07(1), Leu 0,9(1), Trp 0,96(1).

7. példa

H-(Me)Arg-Lys-Pro-Trp-Tle-Leu-OH előállítás

2,97 g H(Me)Arg-Lys-Pro-Trp-Tle-Leu-OEt-t 20 ml víz és 10 ml metanol elegyében oldunk, majd hozzáadunk 9,25 ml 2 n nátrium-hidroxidot. Az elegyet 2 órán keresztül keverjük, majd 1 n sósavval semlegesítjük és bepároljuk. A maradékot nagynyomású folyadékkromatográfián (Chemcosorb 5-ODS-H, $2,0 \times 25$ cm) 0,015 tömeg% sósavval (víz/ CH_3CN 90:10) eluálva tisztítjuk. Így 2,4 g H-(Me)Arg-Lys-Pro-Trp-Tle-Leu-OH-t kapunk hidroklorid formájában.

VRK, $R_f = 0,39$ (butanol/ecetsav/víz 4:1:1)

$[\alpha]_D = -74,5^{\circ}$ ($c = 0,9$, 1% ecetsav)

Tömegspektrum analízis (FAB): 826 $/(M + H)^{+}/$

Aminosav analízis: Pro 1,13(1), Leu 0,96(1), Trp 0,91(1).

SZABADALMI IGÉNYPONTOK

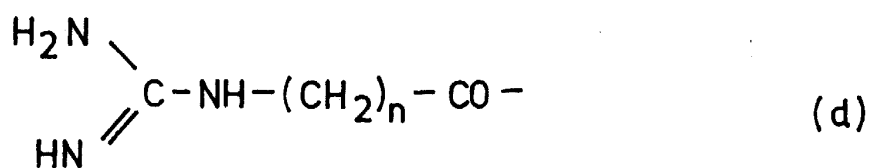
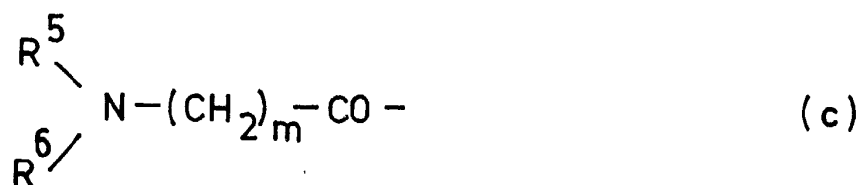
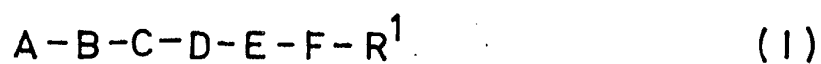
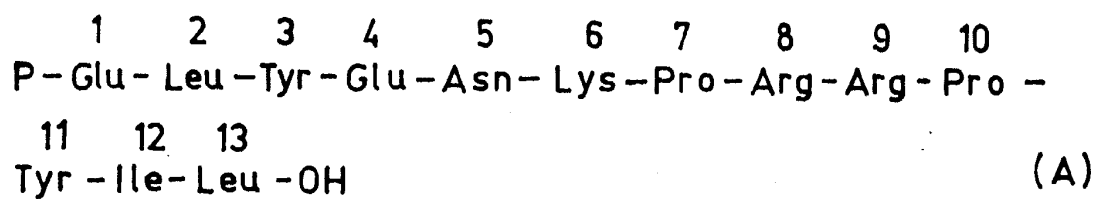
1. Eljárás (I) általános képletű hexapeptidek előállítására, a képletben

A jelentése L- vagy D-Arg, amely az alfa-nitrogénatomon benzilcsoporttal vagy 1-4 szénatomos alkilcsoporttal szubsztituálva lehet, D-lys, valamint (c) általános képletű omega-amino-alkanoil-csoport, ahol R^5 és R^6 jelentése hidrogénatom és m értéke 1-5, továbbá (d) általános képletű omega-quanidino-alkanoil-csoport, ahol

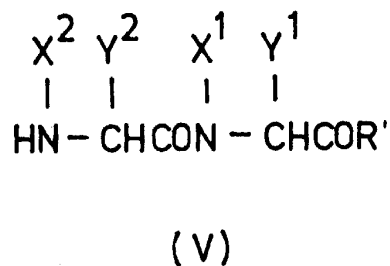
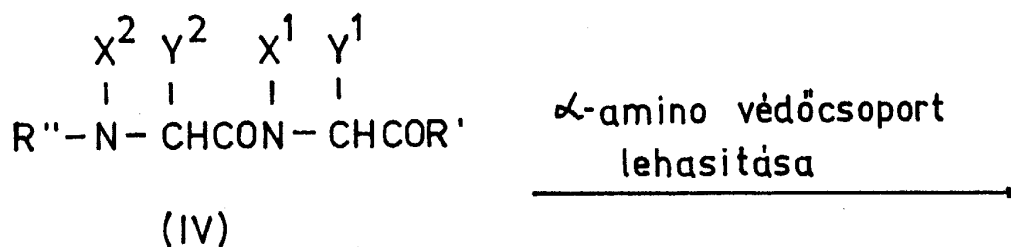
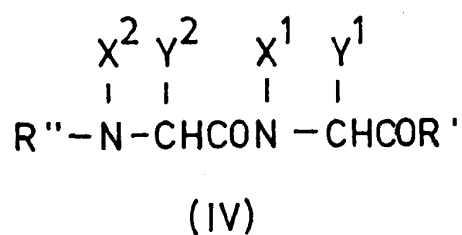
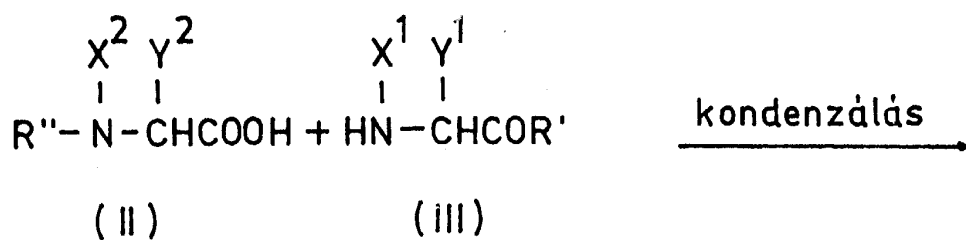
n értéke 1-5,
B jelentése L-Arg vagy L-Lys,
C jelentése L-Pro,
D jelentése L-Trp,
E jelentése L-fenil-glicin vagy L-terc-leucin,
F jelentése L-Leu,
 R^1 jelentése -OR⁹ általános képletű csoport, ahol

R^9 jelentése hidrogénatom vagy 1-4 szénatomos alkilcsoport, azzal jellemezve, hogy az ismert védőcsoportokkal védett (I) általános képletű hexapeptid, a képletben A, B, C, D, E, F és R^1 jelentése a tárgyi körben megadott, védőcsoportjait eltávolítjuk és kívánt esetben a kapott (I) általános képletű észtert hidrolizáljuk.

2. Eljárás gyógyszerkészítmények előállítására, azzal jellemezve, hogy valamely 1. igénypont szerint előállított (I) általános képletű hexapeptidet, a képletben A, B, C, D, E, F és R^1 jelentése az 1. igénypontban megadott, gyógyszerészeti célra alkalmas vivőanyaggal és/vagy egyéb gyógyszerészeti segédanyaggal keverünk össze és gyógyszerkészítménnyé alakítjuk.



A reakcióvázlat



Kiadja: Országos Találmányi Hivatal, Budapest
Felelős kiadó: Himer Zoltán osztályvezető

UNITAS-KÓDEX