



CONFÉDÉRATION SUISSE

OFFICE FÉDÉRAL DE LA PROPRIÉTÉ INTELLECTUELLE

 (51) Int. Cl.³: C 07 C 103/52
 A 61 K 31/16
Brevet d'invention délivré pour la Suisse et le Liechtenstein

Traité sur les brevets, du 22 décembre 1978, entre la Suisse et le Liechtenstein

(12) FASCICULE DU BREVET A5

(11)

646 415

(21) Numéro de la demande: 9271/80

(22) Date de dépôt: 16.12.1980

(30) Priorité(s): 17.12.1979 US 104349

(24) Brevet délivré le: 30.11.1984

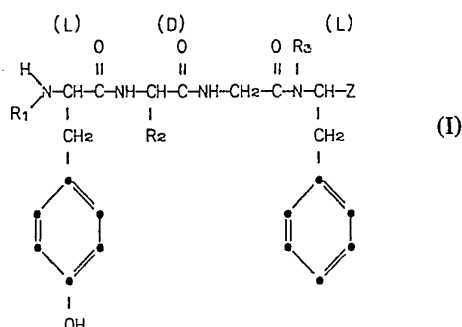
 (45) Fascicule du brevet
 publié le: 30.11.1984

 (73) Titulaire(s):
 Eli Lilly and Company, Indianapolis/IN (US)

 (72) Inventeur(s):
 Shuman, Robert Theodore, Greenwood/IN (US)

 (74) Mandataire:
 E. Blum & Co., Zürich
(54) Tétrapeptides homologues des enképhalines, leur préparation et composition pharmaceutique les contenant.

(57) On décrit des tétrapeptides de formule


 ment cyclopropylméthyle ou allyle; et Z est $\text{-CH}_2\text{OR}_4$,

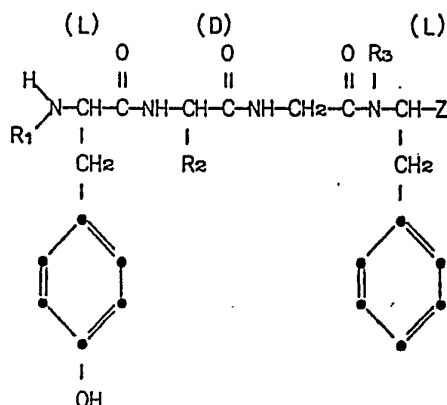
 -C(=O)NH_2 ou -C(=O)OR_5 , où R_4 est un atome d'hydrogène ou un groupement acétyle ou acétoxyméthyle et R_5 est un groupement alkyle en $\text{C}_1\text{-C}_3$. (L) et (D) indiquent l'asymétrie.

Ces composés présentent une activité analgésique. On décrit également la préparation des composés de formule I.

 et leurs sels d'addition d'acides non toxiques pharmaceutiquement acceptables, où R_1 est H ou un groupement alkyle primaire en $\text{C}_1\text{-C}_3$; R_2 est un groupement alkyle primaire ou secondaire en $\text{C}_1\text{-C}_4$, allyle, cyclopropylméthyle, hydroxyalkyle en $\text{C}_1\text{-C}_2$ ou $\text{-(CH}_2\text{)}_m\text{-U-CH}_3$ où U est -S- ou S-O et m vaut 1 ou 2; R_3 est un groupe-

REVENDICATIONS

1. Composé de formule:



et ses sels d'addition d'acides non-toxiques pharmaceutiquement acceptables, où

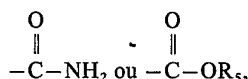
L et D définissent l'asymétrie;

R₁ est un atome d'hydrogène ou un groupement alkyle primaire en C₁-C₃;

R₂ est un groupement alkyle primaire ou secondaire en C₁-C₄, allyle, cyclopropylméthyle, hydroxyalkyle en C₁-C₂ ou $-(CH_2)_m-U-CH_3$ où U est $-S-$ ou $\geq S-O$ et m vaut 1 ou 2;

R₃ est un groupement cyclopropylméthyle ou allyle, et

Z est $-CH_2OR_4$,



où R₄ est un atome d'hydrogène ou un groupement acétyle ou acétoxy-méthyle et R₅ est un groupement alkyle en C₁-C₃.

2. Composé selon la revendication 1, caractérisé en ce que R₁ est un atome d'hydrogène.

3. Composé selon la revendication 1, caractérisé en ce que

Z est $-C(=O)-NH_2$.

4. Composé selon la revendication 1, caractérisé en ce que R₂ est un groupement alkyle primaire ou secondaire en C₁-C₄.

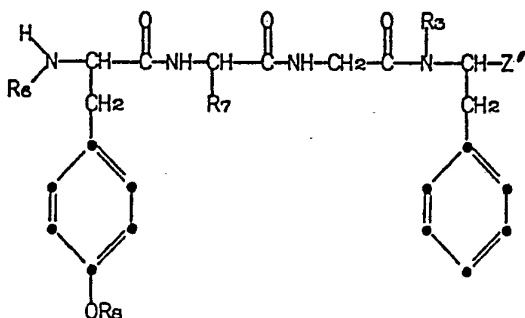
5. Composé selon la revendication 4, caractérisé en ce que R₂ est un groupement méthyle.

6. Composé selon la revendication 1, caractérisé en ce que R₁ est un groupement méthyle.

7. L-Tyrosyl-D-alanylglycyl-L-(N^α-allyl)phénylalanine-amide et ses sels d'addition d'acides non toxiques pharmaceutiquement acceptables, à titre de composés selon la revendication 1.

8. L-Tyrosyl-D-alanylglycyl-L-(N^α-cyclopropylméthyl)phénylalanine-amide et ses sels d'addition d'acides non toxiques pharmaceutiquement acceptables, à titre de composés selon la revendication 1.

9. Procédé de préparation d'un composé selon la revendication 1, caractérisé en ce qu'il consiste à faire réagir avec un agent de déblocage approprié un composé de formule:



2

dans laquelle R₃ est tel que défini dans la revendication 1; R₆ est un atome d'hydrogène ou un groupement alkyle primaire en C₁-C₃ ou un groupement protecteur du groupement amino; R₇ est R₂ tel que défini dans la revendication 1 ou un groupement protecteur du groupement hydroxy pour la partie hydroxyalkyle en C₁-C₂; R₈ est un atome d'hydrogène ou un groupement protecteur du groupement hydroxy; Z' est Z tel que défini dans la revendication 1 ou un pré-curseur de Z, y compris un support de résine, pourvu qu'au moins l'un des groupements R₆, R₇, R₈ ou Z' soit un groupement bloqué

10

ou protégé.

10. Procédé selon la revendication 9, caractérisé en ce que

l'agent de déblocage est l'acide trifluoroacétique.

11. Procédé selon la revendication 9, caractérisé en ce que Z' est un support de résine et l'agent de déblocage est l'acide fluorhydrique à environ 0°C.

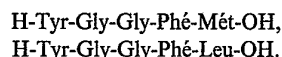
12. Composition pharmaceutique, caractérisée en ce qu'elle contient un excipient et, comme ingrédient actif, un composé selon la revendication 1.

20

Cette invention concerne une nouvelle catégorie de composés qui présentent une activité analgésique.

Récemment, des substances endogènes ayant des propriétés de type morphine ont été extraites du cerveau ou du liquide céphalo-rachidien des mammifères. Ces substances, appelées enképhalines, ont été identifiées par Hughes *et al.*, «Nature», 258, 577 (1975) comme étant des pentapeptides ayant les séquences suivantes:

30



Ces composés sont appelés respectivement méthionine-enképhaline et leucine-enképhaline.

Bien que les méthionine- et leucine-enképhalines se soient révélées présenter une activité analgésique chez les souris par administration dans les ventricles du cerveau [Buscher *et al.*, «Nature», 261, 423 (1976)], elles sont pratiquement exemptes de toute activité analgésique utile quand on les administre par voie parentérale.

Donc, depuis la découverte des enképhalines, des efforts importants ont été apportés à la préparation d'homologues des enképhalines avec l'espoir de trouver des composés ayant une activité améliorée et une utilité pratique en raison de leur disponibilité biologique par administration parentérale ou orale.

Dutta *et al.*, «Life Sciences», 21, pp. 559-562 (1977), décrivent certaines modifications de structure qui, suggèrent-ils, ont tendance à améliorer la puissance. Ils suggèrent que l'activité peut être améliorée par l'une quelconque ou toutes les modifications suivantes:

- a) substitution du reste Gly en position 2 par certains D- ou α-azaaminoacides;
- b) transformation du groupement carboxy terminal en ester méthylique ou amide;
- c) modification du reste Phe en position 4 par substitution α-aza, N-méthylation ou hydrogénation du noyau aromatique.

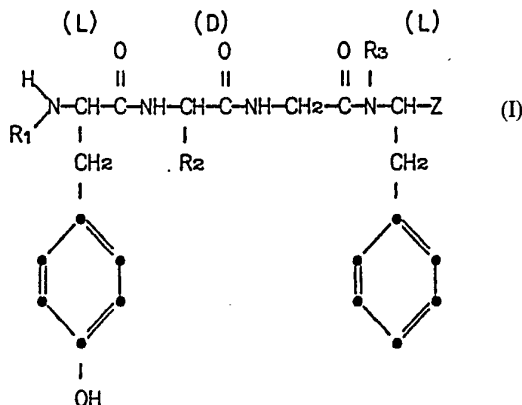
En outre, Roemer *et al.*, «Nature», 268, pp. 547-549 (1977), suggèrent la modification du groupement Mét⁵ en son groupement carbinol correspondant et oxydation du soufre du groupement Mét en sulfoxyde, comme étant des modifications utiles.

Une autre modification de structure importante est celle décrite dans le brevet belge N° 859026. Cette publication suggère l'amélioration de l'activité et la disponibilité biologique des homologues d'enképhaline par insertion d'un reste D-aminoacide en position 2, transformation du groupement carboxy terminal en amide et N-alkylation du reste aminoacide en position 5.

Une catégorie d'homologues d'enképhaline ayant un degré élevé d'activité analgésique a maintenant été découverte. Les composés de cette invention sont des tétrapeptides dont le reste L-phénylalanine

en position 4 du peptide est substitué sur son atome d'azote par un groupement cyclopropylméthyle ou allyle.

Cette invention concerne donc une catégorie de composés de formule:



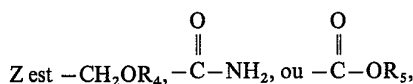
et leurs sels d'addition d'acides non toxiques pharmaceutiquement acceptables, où

L et D définissent l'asymétrie;

R₁ est un atome d'hydrogène ou un groupement alkyle primaire en C₁-C₃;

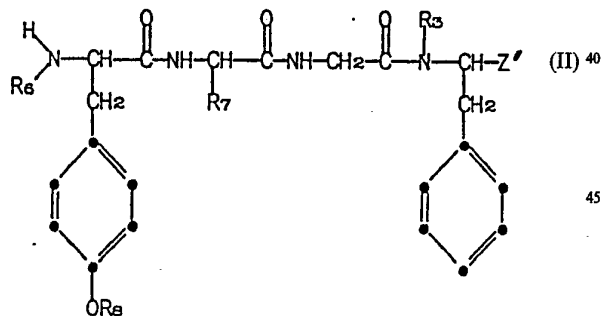
R₂ est un groupement alkyle primaire ou secondaire en C₁-C₄, allyle, cyclopropylméthyle, hydroxyalkyle en C₁-C₂ ou $-(\text{CH}_2)_m-\text{U}-\text{CH}_3$ dans lequel U est $-\text{S}-$ ou >S-O et m vaut 1 ou 2;

R₃ est un groupement cyclopropylméthyle ou allyle, et



où R₄ est un atome d'hydrogène ou un groupement acétyle ou acétoxy-méthyle et R₅ est un groupement alkyle en C₁-C₃.

On prépare les composés de formule I en faisant réagir avec un agent de déprotection approprié un composé de formule:



dans laquelle R₃ est tel que défini précédemment; R₆ est un atome d'hydrogène ou un groupement alkyle primaire en C₁-C₃ ou un groupement protecteur du groupement amino; R₇ est R₂ tel que défini précédemment ou un groupement protecteur du groupement hydroxy pour la partie hydroxyalkyle en C₁-C₂; R₈ est un atome d'hydrogène ou un groupement protecteur du groupement hydroxy; Z' est Z tel que défini précédemment ou un précurseur de Z, y compris un support de type résine, pourvu qu'au moins l'un des groupements R₆, R₇, R₈ ou Z' soit un groupement protégé.

Fait également partie du domaine de la présente invention une composition pharmaceutique comprenant un excipient et, comme ingrédient actif, un composé de formule I.

Les sels d'addition d'acides non toxiques pharmaceutiquement acceptables comprennent les sels d'addition d'acides organiques et minéraux, par exemple ceux préparés à partir des acides comme les acides chlorhydrique, sulfurique, sulfonique, tartrique, fumarique, bromhydrique, glycolique, citrique, maléique, phosphorique, succinique, acétique, nitrique, benzoïque, ascorbique, p-toluène-

sulfonique, benzènesulfonique, naphthalènesulfonique, propionique, etc. De préférence, les sels d'addition d'acides sont ceux préparés à partir de l'acide chlorhydrique, l'acide acétique ou l'acide succinique. Tous les sels précédents sont préparés par des procédés classiques.

Comme on le verra d'après la définition des divers substituants qui apparaissent dans la formule précédente, les composés de formule I sont des tétra-peptides dont la partie à C terminal est un alcool primaire ou son dérivé ester, un amide primaire ou un ester alkylique inférieur.

La configuration stéréochimique des composés de formule I est une de leurs caractéristiques essentielles. Pour des raisons de commodité, les restes aminoacide des tétra-peptides de formule I sont numérotés successivement en partant du résidu à la fonction aminoterminal. L'asymétrie des restes aminoacide, de la position 1 à la position 4, est L, D, aucune et L. Le reste en position 3 est un reste glycine et il n'y a donc aucune asymétrie en ce qui concerne ce reste.

Le groupement R₁ tel qu'utilisé ici est défini comme comprenant les groupements alkyle primaire en C₁-C₃. Par l'expression alkyle primaire en C₁-C₃, on désigne les groupements méthyle, éthyle et n-propyle.

Le groupement R₅ tel que défini ici est défini comme comprenant le groupement alkyle en C₁-C₃. Par l'expression alkyle en C₁-C₃, on désigne les groupements méthyle, éthyle, n-propyle et isopropyle.

Le groupement R₂ apparaissant dans la formule développée précédente est défini comme comprenant le groupement alkyle primaire ou secondaire en C₁-C₄. Par cette expression, on désigne les groupements méthyle, éthyle, n-propyle, isopropyle, n-butyle, isobutyle et s-butyle.

Le groupement R₂ est également défini comme un groupement hydroxyalkyle en C₁-C₂. Par cette expression, on désigne les groupements hydroxyméthyle, 1-hydroxyéthyle et 2-hydroxyéthyle.

Le groupement R₂ apparaissant dans la formule I est également défini comme pouvant être le groupement $-(\text{CH}_2)_m-\text{U}-\text{CH}_3$ où U est $-\text{S}-$ ou >S-O et m est 1 ou 2. Par cette expression, on désigne des groupements méthylthiométhyle, méthylthioéthyle, méthylsulfonyleméthyle et méthylsulfonyleéthyle.

En ce qui concerne les restes occupant les positions particulières des tétra-peptides de formule I, les considérations suivantes prévalent:

A) Position 1

Cette position représente la partie terminale à groupement amino du peptide. Le reste est celui qui résulte de la L-tyrosine. Le reste peut être non substitué sur l'azote, auquel cas R₁ est un atome d'hydrogène. En outre, le reste peut être substitué par un groupement alkyle primaire en C₁-C₃ donnant naissance aux substitutions N-méthyle, N-éthyle ou N-n-propyle. Pour les composés ayant des niveaux exceptionnellement élevés d'activité analgésique quand ils sont administrés par voie parentérale, le reste tyrosyle qui est présent en position 1 est de préférence non substitué sur l'azote. Pour les composés ayant des niveaux exceptionnellement élevés d'acidité analgésique quand ils sont administrés par voie orale, le reste tyrosyle qui est présent en position 1 est de préférence substitué sur l'azote. Au cas où le groupement tyrosyle est N-substitué, le substituant de l'azote est de préférence un groupement méthyle.

B) Position 2

Le reste amino-acide qui est présent en deuxième position des peptides de formule I doit être le stéréo-isomère D et est l'un quelconque de plusieurs restes aminoacide. Ceux-ci comprennent les restes dérivés de la D-alanine (Ala) (R₂ est un groupement méthyle), de l'acide D-α-aminobutyrique (Abu) (R₂ est un groupement éthyle), de la D-norvaline (Nva) (R₂ est un groupement n-propyle), de la D-valine (Val) (R₂ est un groupement isopropyle), de la D-norleucine (Nle) (R₂ est un groupement n-butyle), de la D-leucine (Leu) (R₂ est un groupement isobutyle), de la D-isoleucine (Ile) (R₂ est un groupement s-butyle), de la D-allylglycine [Gly(Al)] (R₂ est

un groupement allyle), de la D-cyclopropylméthylglycine [Gly(Cp)] (R_2 est un groupement cyclopropylméthyle), de la D-méthionine (Mét) (R_2 est un groupement 2-méthylthioéthyle), de la D-(S-méthyl)cystéine [Cys(Mé)] (R_2 est un groupement méthylthioéthyle), du sulfoxyde de la D-méthionine [Mét(O)] (R_2 est un groupement méthylsulfinyléthyle), du sulfoxyde de la D-(S-méthyl)-cystéine [Cys(Mé)(O)] (R_2 est un groupement méthylsulfinylméthyle), de la D-sérine (Sér) (R_2 est un groupement hydroxyméthyle), de la D-thréonine (Thr) (R_2 est un groupement 1-hydroxyéthyle), et de la D-homosérine (Hse) (R_2 est un groupement 2-hydroxyéthyle). De préférence, R_2 est un groupement alkyle primaire ou secondaire en C_1 - C_4 ou hydroxyalkyle en C_1 - C_2 . Des deux groupements, on préfère nettement le groupement alkyle primaire ou secondaire en C_1 - C_4 , et parmi ces derniers le reste dérivé de la D-alanine.

C) Position 3

Le reste aminoacide présent à cette position est celui dérivé de la glycine (Gly).

D) Position 4

Le reste aminoacide présent à cette position est celui dérivé de la L-phénylalanine (Phe). Le reste est substitué (par R_3) sur son azote du groupement amino par un groupement cyclopropylméthyle ou allyle.

Le reste présent en position C terminal des composés de formule I est un aminoacide dont la structure a été transformée en son

O
||
dérivé amide (Z est CNH_2), son dérivé alcool primaire ou ester
(Z est $-CH_2OR_4$), ou son ester alkylque en C_1 - C_3 (Z est

O
||
 $-C-OR_5$). De préférence, le reste est transformé en son amide primaire, son alcool ou son dérivé ester. Parmi ceux-ci, on préfère nettement l'amide primaire.

Dans cette description, on utilise les abréviations suivantes dont la plupart sont bien connues et couramment utilisées dans le domaine:

Abuacide α -aminobutyrique

Ala = alanine

Cys = cystéine

Cys(Me) = (S-méthyl)cystéine

Cys(Me)(O) = (S-méthyl)cystéinesulfoxyde

Gly = glycine

Gly(Al) = allylglycine

Gly(Cp) = cyclopropylméthylglycine

Hse = homosérine

Ile = isoleucine

Leu = leucine

Mét = méthionine

Mét(O) = méthioninesulfoxyde

Nle = norleucine

Nva = norvaline

Phé = phénylalanine

Sér = sérine

Thr = thréonine

Tyr = tyrosine

Val = valine

Ac = acétyle

AcOMe = acétoxyméthyle

Al = allyle

Cp = cyclopropylméthyle

Me = méthyle

Et = éthyle

Ip = isopropyle

Pr = n-propyle

Bu = n-butyle

i-Bu = isobutyle

t-Bu = t-butyle

s-Bu = sec.-butyle

Boc = t-butyloxycarbonyl

5 Bzl = benzyle

Cbz = benzyloxycarbonyl

DCC = N,N'-dicyclohexylcarbodiimide

HBT = 1-hydroxybenzotriazole

DMF = N,N-diméthylformamide

10 TFA = acide trifluoroacétique

THF = tétrahydrofuranne

DEAE = diéthylaminoéthyle

IBCF = chloroformiate d'isobutyle

NMM = N-méthylmorpholine

15 18-couronne-6 = 1,4,7,10,13,16-hexaoxacyclooctadécane

Des exemples de composés types de formule I comprennent les suivants dont l'un quelconque ou la totalité peuvent être sous la forme d'un sel d'addition d'acides non toxique pharmaceutiquement acceptable.

20 H-L-Tyr-D-Ala-Gly-L-(N-Cp)Phé-NH₂;

H-L-Tyr-D-Ala-Gly-L-(N-Al)Phé-NH₂;

H-L-Tyr-D-Abu-Gly-L-(N-Cp)Phé-NH₂;

H-L-Tyr-D-Abu-Gly-L-(N-Al)Phé-NH₂;

H-L-Tyr-D-Nva-Gly-L-(N-Cp)Phé-NH₂;

25 H-L-Tyr-D-Nva-Gly-L-(N-Al)Phé-NH₂;

H-L-Tyr-D-Val-Gly-L-(N-Cp)Phé-NH₂;

H-L-Tyr-D-Val-Gly-L-(N-Al)Phé-NH₂;

H-L-Tyr-D-Nle-Gly-L-(N-Cp)Phé-NH₂;

H-L-Tyr-D-Nle-Gly-L-(N-Al)Phé-NH₂;

30 H-L-Tyr-D-Leu-Gly-L-(N-Cp)Phé-NH₂;

H-L-Tyr-D-Leu-Gly-L-(N-Al)Phé-NH₂;

H-L-Tyr-D-Ile-Gly-L-(N-Al)Phé-NH₂;

H-L-Tyr-D-Ile-Gly-L-(N-Cp)Phé-NH₂;

H-L-Tyr-D-Thr-Gly-L-(N-Cp)Phé-NH₂;

35 H-L-Tyr-D-Thr-Gly-L-(N-Al)Phé-NH₂;

H-L-Tyr-D-Gly(Al)-Gly-L-(N-Cp)Phé-NH₂;

H-L-Tyr-D-Gly(Cp)-Gly-L-(N-Al)Phé-NH₂;

H-L-Tyr-D-Mét-Gly-L-(N-Al)Phé-NH₂;

H-L-Tyr-D-Cys(Me)-Gly-L-(N-Cp)Phé-NH₂;

40 H-L-Tyr-D-Mét(O)-Gly-L-(N-Cp)Phé-NH₂;

H-L-Tyr-D-Cys(Me)(O)-Gly-L-(N-Al)Phé-NH₂;

H-L-Tyr-D-Sér-G-Gly-L-(N-Al)Phé-NH₂;

H-L-Tyr-D-Sér-Gly-L-(N-Cp)Phé-NH₂;

(N-Me)-L-Tyr-D-Ala-Gly-L-(N-Al)Phé-NH₂;

45 (N-Me)-L-Tyr-D-Thr-Gly-L-(N-Al)Phé-NH₂;

H-L-Tyr-D-Hse-Gly-L-(N-Cp)Phé-NH₂;

(N-Me)-L-Tyr-D-Ala-Gly-L-(N-Cp)Phé-NH₂;

(N-Et)-L-Tyr-D-Abu-Gly-L-(N-Al)Phé-NH₂;

(N-Me)-L-Tyr-D-Val-Gly-L-(N-Cp)Phé-NH₂;

50 (N-Pr)-L-Tyr-D-Leu-Gly-L-(N-Al)Phé-NH₂;

(N-Me)-L-Tyr-D-Leu-Gly-L-(N-Al)Phé-NH₂;

(N-Me)-L-Tyr-D-Nva-Gly-L-(N-Cp)Phé-NH₂;

(N-Et)-L-Tyr-D-Ala-Gly-L-(N-Al)Phé-NH₂;

(N-Pr)-L-Tyr-D-Ala-Gly-L-(N-Al)Phé-NH₂;

55 (N-Et)-L-Tyr-D-Ala-Gly-L-(N-Cp)Phé-NH₂;

(N-Pr)-L-Tyr-D-Val-Gly-L-(N-Al)Phé-NH₂;

(N-Pr)-L-Tyr-D-Ala-Gly-L-(N-Cp)Phé-NH₂;

H-L-Tyr-D-Ala-Gly-L-(N-Cp)Phé-CH₂OH;

H-L-Tyr-D-Ala-Gly-L-(N-Al)Phé-CH₂OH;

60 H-L-Tyr-D-Abu-Gly-L-(N-Cp)Phé-CH₂OH;

H-L-Tyr-D-Abu-Gly-L-(N-Al)Phé-CH₂OH;

H-L-Tyr-D-Nva-Gly-L-(N-Cp)Phé-CH₂OH;

H-L-Tyr-D-Nva-Gly-L-(N-Al)Phé-CH₂OH;

H-L-Tyr-D-Val-Gly-L-(N-Cp)Phé-CH₂OH;

65 H-L-Tyr-D-Val-Gly-L-(N-Al)Phé-CH₂OH;

H-L-Tyr-D-Nle-Gly-L-(N-Cp)Phé-CH₂OH;

H-L-Tyr-D-Nle-Gly-L-(N-Al)Phé-CH₂OH;

H-L-Tyr-D-Leu-Gly-L-(N-Cp)Phé-CH₂OH;

H-L-Tyr-D-Leu-Gly-L-(N-Al)Phé-CH₂OH;
 H-L-Tyr-D-Ile-Gly-L-(N-Al)Phé-CH₂OH;
 H-L-Tyr-D-Ile-Gly-L-(N-Cp)Phé-CH₂OH;
 H-L-Tyr-D-Thr-Gly-L-(N-Cp)Phé-CH₂OH;
 H-L-Tyr-D-Thr-Gly-L-(N-Al)Phé-CH₂OH;
 H-L-Tyr-D-Gly(Al)-Gly-L-(N-Al)Phé-CH₂OH;
 H-L-Tyr-D-Gly(Cp)-Gly-L-(N-Cp)Phé-CH₂OH;
 H-L-Tyr-D-Mét-Gly-L-(N-Al)Phé-CH₂OH;
 H-L-Tyr-D-Cys(Me)-Gly-L-(N-Al)Phé-CH₂OH;
 H-L-Tyr-D-Mét(O)-Gly-L-(N-Cp)Phé-CH₂OH;
 H-L-Tyr-D-Cys(Me)(O)-Gly-L-(N-Al)Phé-CH₂OH;
 H-L-Tyr-D-Sér-Gly-L-(N-Cp)Phé-CH₂OH;
 H-L-Tyr-D-Sér-Gly-L-(N-Al)Phé-CH₂OH;
 H-L-Tyr-D-Hse-Gly-L-(N-Al)Phé-CH₂OH;
 (N-Me)-L-Tyr-D-Ala-Gly-L-(N-Cp)Phé-CH₂OH;
 (N-Me)-L-Tyr-D-Ala-Gly-L-(N-Al)Phé-CH₂OH;
 (N-Me)-L-Tyr-D-Thr-Gly-L-(N-Al)Phé-CH₂OH;
 (N-Et)-L-Tyr-D-Abu-Gly-L-(N-Cp)Phé-CH₂OH;
 (N-Me)-L-Tyr-D-Val-Gly-L-(N-Al)Phé-CH₂OH;
 (N-Pr)-L-Tyr-D-Leu-Gly-L-(N-Al)Phé-CH₂OH;
 (N-Me)-L-Tyr-D-Leu-Gly-L-(N-Al)Phé-CH₂OH;
 (N-Me)-L-Tyr-D-Nva-Gly-L-(N-Cp)Phé-CH₂OH;
 (N-Et)-L-Tyr-D-Ala-Gly-L-(N-Al)Phé-CH₂OH;
 (N-Et)-L-Tyr-D-Ala-Gly-L-(N-Cp)Phé-CH₂OH;
 (N-Pr)-L-Tyr-D-Ala-Gly-L-(N-Al)Phé-CH₂OH;
 (N-Pr)-L-Tyr-D-Ala-Gly-L-(N-Cp)Phé-CH₂OH;
 (N-Pr)-L-Tyr-D-Leu-Gly-L-(N-Al)Phé-CH₂OH;
 (N-Pr)-L-Tyr-D-Ala-Gly-L-(N-Al)Phé-CH₂OH;
 H-L-Tyr-D-Ala-Gly-L-(N-Al)Phé-CH₂OAc;
 H-L-Tyr-D-Ala-Gly-L-(N-Cp)Phé-CH₂OAcOMe;
 H-L-Tyr-D-Ala-Gly-L-(N-Al)Phé-CH₂OAcOMe;
 H-L-Tyr-D-Ala-Gly-L-(N-Cp)Phé-CH₂OAc;
 (N-Me)-L-Tyr-D-Ala-Gly-L-(N-Al)Phé-CH₂OAcOMe;
 (N-Me)-L-Tyr-D-Ala-Gly-L-(N-Cp)Phé-CH₂OAcOMe;
 (N-Me)-L-Tyr-D-Ala-Gly-L-(N-Al)Phé-CH₂OAc;
 (N-Me)-L-Tyr-D-Ala-Gly-L-(N-Cp)Phé-CH₂OAc;
 (N-Et)-L-Tyr-D-Ala-Gly-L-(N-Al)Phé-CH₂OAc;
 H-L-Tyr-D-Ala-Gly-L-(N-Al)Phé-OMe;
 H-L-Tyr-D-Ala-Gly-L-(N-Cp)Phé-OEt;
 H-L-Tyr-D-Abu-Gly-L-(N-Cp)Phé-OMe;
 H-L-Tyr-D-Abu-Gly-L-(N-Al)Phé-OMe;
 H-L-Tyr-D-Nva-Gly-L-(N-Cp)Phé-OPr;
 H-L-Tyr-D-Nva-Gly-L-(N-Al)Phé-OIp;
 H-L-Tyr-D-Val-Gly-L-(N-Cp)Phé-OMe;
 H-L-Tyr-D-Val-Gly-L-(N-Al)Phé-OEt;
 H-L-Tyr-D-Nle-Gly-L-(N-Cp)Phé-OEt;
 H-L-Tyr-D-Nle-Gly-L-(N-Al)Phé-OMe;
 H-L-Tyr-D-Leu-Gly-L-(N-Cp)Phé-OEt;
 H-L-Tyr-D-Leu-Gly-L-(N-Al)Phé-OPr;
 H-L-Tyr-D-Ile-Gly-L-(N-Cp)Phé-OMe;
 H-L-Tyr-D-Ile-Gly-L-(N-Al)Phé-OMe;
 H-L-Tyr-D-Ala-Gly-L-(N-Cp)Phé-OMe;
 H-L-Tyr-D-Ala-Gly-L-(N-Al)Phé-OEt;
 H-L-Tyr-D-Ala-Gly-L-(N-Al)Phé-OIp;
 H-L-Tyr-D-Ala-Gly-L-(N-Al)Phé-OPr;
 (N-Me)-L-Tyr-D-Ala-Gly-L-(N-Al)Phé-OMe;
 (N-Me)-L-Tyr-D-Ala-Gly-L-(N-Cp)Phé-OMe;
 (N-Me)-L-Tyr-D-Ala-Gly-L-(N-Al)Phé-OIp;
 (N-Et)-L-Tyr-D-Ala-Gly-L-(N-Cp)Phé-OMe;
 (N-Me)-L-Tyr-D-Ala-Gly-L-(N-Al)Phé-OPr;
 (N-Me)-L-Tyr-D-Ala-Gly-L-(N-Al)Phé-OEt;
 H-L-Tyr-D-Gly(Al)-Gly-L-(N-Cp)Phé-OEt;
 G-L-Tyr-D-Gly(Cp)-Gly-L-(N-Al)Phé-OPr;
 H-L-Tyr-D-Mét-Gly-L-(N-Cp)Phé-OMe;
 H-L-Tyr-D-Cys(Me)-Gly-L-(N-Al)Phé-OPr;
 H-L-Tyr-D-Mét(O)-Gly-L-(N-Al)Phé-OIp;
 H-L-Tyr-D-Cys(Me)(O)-Gly-L-(N-Cp)Phé-OMe;
 H-L-Tyr-D-Sér-Gly-L-(N-Al)Phé-OEt;

(N-Pr)-L-Tyr-D-Ala-Gly-L-(N-Al)Phé-OEt;
 H-L-Tyr-D-Thr-Gly-L-(N-Cp)Phé-OEt;
 H-L-Tyr-D-Thr-Gly-L-(N-Al)Phé-OMe;
 H-L-Tyr-D-Hse-Gly-L-(N-Al)Phé-OMe;
 5 (N-Me)-L-Tyr-D-Thr-Gly-L-(N-Al)Phé-OMe;
 (N-Et)-L-Tyr-D-Thr-Gly-L-(N-Al)Phé-OMe;
 (N-Et)-L-Tyr-D-Ala-Gly-L-(N-Al)Phé-OMe;
 (N-Et)-L-Tyr-D-Abu-Gly-L-(N-Cp)Phé-OEt;
 (N-Me)-L-Tyr-D-Val-Gly-L-(N-Al)Phé-OMe;
 10 (N-Pr)-L-Tyr-D-Leu-Gly-L-(N-Al)Phé-OMe;
 (N-Me)-L-Tyr-D-Nle-Gly-L-(N-Al)Phé-OEt;
 (N-Me)-L-Tyr-D-Ile-Gly-L-(N-Cp)Phé-OPr;
 (N-Me)-L-Tyr-D-Leu-Gly-L-(N-Al)Phé-OIp;
 (N-Me)-L-Tyr-D-Nva-Gly-L-(N-Cp)Phé-OIp;
 15 (N-Me)-L-Tyr-D-Mét-Gly-L-(N-Al)Phé-OPr;
 H-L-Tyr-D-Sér-Gly-L-(N-Cp)Phé-OMe;
 (N-Me)-L-Tyr-D-Mét-Gly-L-(N-Al)Phé-OMe;
 (N-Me)-L-Tyr-D-Val-Gly-L-(N-Cp)Phé-OMe;
 H-L-Tyr-D-Gly(Al)-Gly-L-(N-Al)Phé-OMe;
 20 (N-Me)-L-Tyr-D-Gly(Cp)-Gly-L-(N-Cp)Phé-OMe, etc.

On prépare les composés de formule I par des procédés de routine convenant à la synthèse des peptides. Il est possible que, pendant la synthèse de certains des composés de formule I, il se produise une racémisation partielle. Cependant, le degré de la racémisation, si elle se produit, n'est pas suffisant pour modifier de façon significative l'activité analgésique des composés de formule I.

Les composés de formule I peuvent être synthétisés par une synthèse des peptides en phase solide ou par une synthèse classique en solution. Dans le procédé en phase solide, la chaîne peptidique est construite séquentiellement en utilisant un support de résine, typiquement une résine de benzhydrylamine ou une résine de polystyrène chlorométhylé. Le produit est coupé de la résine par l'acide fluorhydrique à environ 0° C, puis purifié, généralement par chromatographie.

Quel que soit le procédé utilisé, la préparation des composés de formule I comprend de la copulation des aminoacides ou fragments peptidiques par réaction de la fonction carboxy de l'un avec la fonction amino d'un autre, pour former une liaison amide. Pour obtenir effectivement la copulation, il est désirable d'abord que toutes les fonctions réactives ne participant pas directement à la réaction soient inactivées par l'utilisation de groupements protecteurs appropriés et, deuxièmement, que la fonction carboxy qui est à copuler soit activée de façon appropriée pour permettre à la copulation de se faire. Tout cela implique un choix soigneux de la séquence de réaction et des conditions de réaction ainsi que l'utilisation de groupements protecteurs spécifiques pour que le produit peptidique désiré soit réalisé. Chacun des aminoacides que l'on utilise pour produire les composés de formule I et qui a les groupements protecteurs et/ou les fonctions d'activation particulièrement sélectionnées est préparé par des techniques bien connues dans le domaine.

Des combinaisons choisies des groupements protecteurs sont utilisées à chaque moment de la synthèse globale des composés de formule I. On a trouvé que ces combinaisons particulières ont la fonction la plus régulière. D'autres combinaisons fonctionneraient dans la synthèse des composés de formule I bien que, peut-être, avec un degré de succès moindre. Ainsi, par exemple, on peut utiliser les groupements benzyloxycarbonyl, t-butyloxycarbonyl, t-amylloxycarbonyl, p-méthoxybenzyloxycarbonyl, adamantyloxycarbonyl et isobornyloxycarbonyl comme groupements protecteurs du groupement amino dans la synthèse des composés de formule I. En outre, le groupement benzyle (Bzl) est généralement utilisé comme groupement protecteur du groupement hydroxy pour le reste tyrosyle, même si d'autres, comme les groupements p-nitrobenzyle (PNB), p-méthoxybenzyle (PMB), etc., peuvent également être utilisés.

Les groupements protecteurs du groupement carboxyle utilisés pour préparer les composés de formule I peuvent être l'un quelconque des groupements types formant des esters, par exemple les grou-

pements méthyle, éthyle, benzyle, p-nitrobenzyle, p-méthoxybenzyle, 2,2,2-trichloroéthyle, etc.

La copulation de l'acide ou fragment peptidique N-bloqué protégé de façon appropriée avec un acide ou fragment peptidique à groupement carboxy bloqué et protégé de façon appropriée dans la préparation des composés de formule I consiste à rendre la fonction carboxy libre de l'acide ou du fragment peptidique active vis-à-vis de la réaction de copulation. Cela peut être effectué en utilisant l'une quelconque de plusieurs techniques bien connues. Une telle technique d'activation comprend la transformation de la fonction carboxy en anhydride mixte. La fonction carboxy libre est activée par réaction avec un autre acide, typiquement un dérivé d'acide carbonique, comme un de ses chlorures d'acide. Des exemples des chlorures d'acide utilisés pour former les anhydrides mixtes sont le chloroformiate d'éthyle, le chloroformiate de phényle, le chloroformiate de s-butyle, le chloroformiate d'isobutyle, le chlorure de pivaloyl, etc. On utilise de préférence le chloroformiate d'isobutyle.

Un autre procédé d'activation de la fonction carboxy dans le but d'effectuer la réaction de copulation est la transformation en son dérivé ester actif. De tels esters actifs comprennent, par exemple, un ester 2,4,5-trichlorophénylique, un ester pentachlorophénylique, un ester p-nitrophénylique, etc. Un autre procédé de copulation disponible est le procédé de copulation bien connu par l'intermédiaire de l'azide.

Le procédé préféré de copulation pour la préparation des composés de formule I comprend l'utilisation du N,N'-dicyclohexylcarbodiimide (DCC) pour activer la fonction carboxy libre, en permettant ainsi à la copulation de se faire. Cette technique d'activation et de copulation est effectuée en utilisant une quantité équimolaire de DCC par rapport à l'acide ou au fragment peptidique et est effectuée en présence d'une quantité équimolaire de l'hydroxybenzotriazole (HBT). La présence de HBT supprime les réactions secondaires indésirables, y compris la possibilité de racémisation.

La coupure des groupements de blocage choisis est nécessaire à des moments particuliers de la séquence de synthèse utilisée dans la préparation des composés de formule I. Un chimiste connaissant la synthèse des peptides peut facilement choisir à partir des groupements protecteurs types les groupements qui sont compatibles, au sens que la coupure sélective du produit puisse être effectuée en permettant l'élimination d'un ou de plusieurs, mais non de la totalité des groupements protecteurs présents sur l'acide ou fragment peptidique. Ces techniques sont bien connues dans le domaine des peptides. On trouvera une discussion plus complète des techniques disponibles pour la coupure sélective, dans Schroder et Lubke, «The Peptides», vol. I, Academic Press, New York (1965), et en particulier dans le tableau des pp. 72-75.

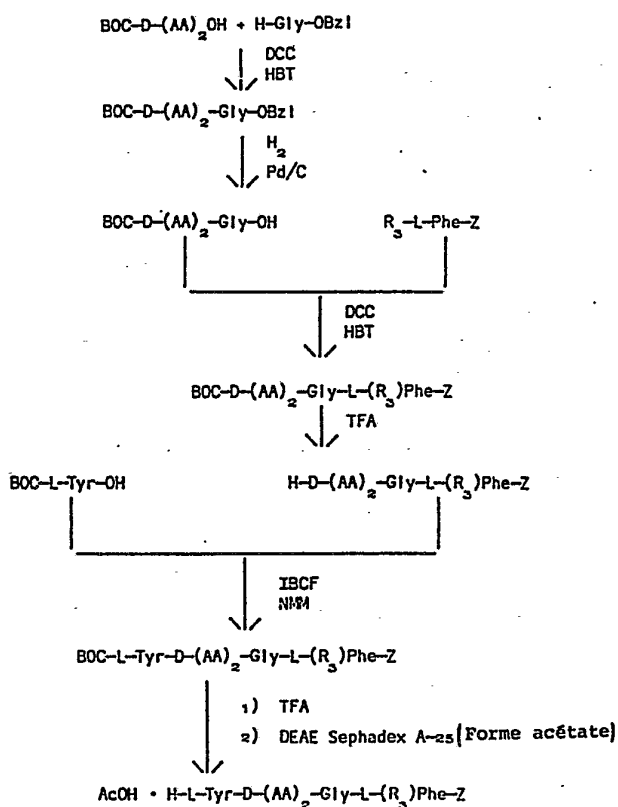
La coupure des groupements protecteurs du groupement carboxy peut être effectuée par saponification alcaline. Des conditions alcalines relativement fortes, utilisant typiquement un hydroxyde de métal alcalin, comme l'hydroxyde de sodium, l'hydroxyde de potassium, l'hydroxyde de lithium, etc., sont généralement utilisées pour désesterifier le groupement carboxy protégé. Les conditions de réaction dans lesquelles on effectue la saponification sont bien connues dans le domaine. Un grand nombre des groupements protecteurs du groupement carboxy peuvent également être enlevés par hydrogénolyse catalytique comprenant, par exemple, l'hydrogénolyse en présence d'un catalyseur comme le palladium sur charbon. En outre, dans le cas où le groupement protecteur est un groupement p-nitrobenzyle ou 2,2,2-trichloroéthyle, le déblocage peut être effectué par réduction en présence de zinc et d'acide chlorhydrique.

Un grand nombre des groupements protecteurs du groupement amino sont coupés par traitement de l'acide ou peptide protégés à l'aide d'un acide comme l'acide formique, l'acide trifluoroacétique (TFA), l'acide p-toluènesulfonique (TSA), l'acide benzènesulfonique (BSA), l'acide naphthalènesulfonique, etc., pour former le sel d'addition d'acide correspondant. La coupure des autres groupements, par exemple le groupement benzyloxycarbonyl, peut être effectuée

en traitant l'acide ou peptide bloqué par un mélange d'acide bromhydrique et d'acide acétique pour obtenir le bromhydrate correspondant. Le procédé ou le réactif particulier que l'on utilise dépendront des caractéristiques chimiques ou physiques des matériaux utilisés dans la réaction de déblocage particulière. Le sel d'addition d'acide résultant peut être transformé en une forme plus acceptable sur le plan pharmaceutique par traitement par une résine échangeuse d'ions appropriée, comme Sephadex DEAE A-25, Amberlyst A-27, etc.

Le groupement protecteur du groupement hydroxy peut être conservé sur le peptide pendant toute la séquence de sa préparation, et être enlevé pendant l'étape de synthèse finale avec la coupure du groupement protecteur du groupement amino. Cependant, selon les conditions utilisées pour l'enlèvement du groupement protecteur du groupement carboxy, il peut être enlevé plus tôt dans la séquence de préparation. Quand le groupement carboxy est coupé par saponification alcaline, le groupement protecteur du groupement hydroxy est conservé; cependant, quand on utilise l'hydrogénolyse catalytique pour enlever le groupement protecteur du groupement carboxy, le groupement protecteur du groupement hydroxy est également coupé. Ce dernier cas ne pose pas de problème sérieux, car la préparation des composés de formule I peut être effectuée en présence d'un reste ayant un groupement hydroxy libre, par exemple un reste tyrosyle.

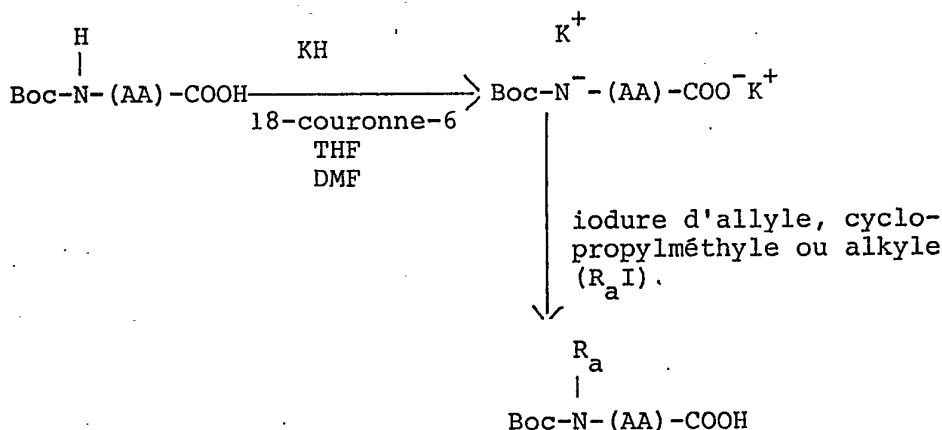
Un procédé particulier préféré de préparation des composés de formule I consiste à copuler un dipeptide préparé de façon séparée, représentant le second et le troisième reste aminoacide, avec un aminoacide à C terminal préparé de façon séparée, et à copuler le tripeptide résultant à la tyrosine à N terminal. L'acide amino à C terminal préparé de façon séparée peut avoir une structure telle qu'il contienne la partie amide, alcool, éther ou ester. Ou bien, il peut contenir un groupement qui représente un précurseur de la partie à C terminal désirée. La séquence générale, illustrant la préparation d'un tétrapeptide de formule I, peut être décrite comme ci-dessous. Dans la séquence, la lettre Z représente la partie à C terminal, qu'elle soit sous sa forme finale ou sous la forme d'un précurseur, le symbole AA représente un reste aminoacide et le chiffre utilisé en indice du symbole AA représente la position de l'acide amino dans la séquence peptidique produite finale.



Le schéma précédent ne représente qu'une séquence de préparation des composés de formule I, mais on peut utiliser d'autres séquences. Un autre procédé que l'on peut utiliser comprend l'addition successive par étapes d'acides aminés dans la construction de la chaîne peptidique, en partant de la partie aminoacide à C terminal. Des techniques de réaction comme celles décrites précé-

demment sont utilisées ici ainsi que dans toute autre séquence de préparation envisagée.

Dans les composés de formule I, un ou plusieurs des groupements R_1 et R_3 sont diversement des groupements alkyle, allyle ou cyclopropylméthyle. Dans ce cas, l'acide aminé N-substitué approprié est utilisé dans la séquence de préparation. Un procédé de préparation des acides aminés N-monosubstitués est le suivant, en utilisant un acide aminé N-protégé comme substance de départ:



Comme le montre le schéma précédent, l'acide aminé est d'abord traité par l'hydrure de potassium en présence d'un éther couronne approprié pour former le dianion. L'intermédiaire est ensuite traité par l'iodure d'allyle, de cyclopropylméthyle ou d'alkyle approprié pour obtenir l'acide aminé N-substitué désiré. Un autre procédé de préparation de l'acide aminé N-monosubstitué comprend le traitement de l'acide aminé non substitué sur l'azote sous la forme de son amide, avec environ 4 Eq de bicarbonate de sodium de l'halogénure d'allyle, de cyclopropylméthyle ou d'alkyle approprié dans l'éthanol à reflux.

L'homme de l'art verra que la racémisation sur l'atome de carbone α peut se produire dans des conditions fortement alcalines comme celles utilisées dans le mode opératoire d'alkylation précédent. Le degré de racémisation peut varier selon l'acide aminé particulier impliqué. On peut minimiser la racémisation en utilisant un excès d'agent d'alkylation et en maintenant la durée de réaction aussi courte que possible. Néanmoins, même au cas où il se produit une racémisation excessive, le produit peut être purifié par recristallisation sous la forme du sel de la $d(+)$ - α -phényléthylamine.

La partie à C terminal des peptides de formule I est transformée en son dérivé amide primaire, ester, alcool ou éther. La formation du dérivé amide est effectuée par activation du groupement carboxy de l'acide aminé avec le N,N'-dicyclohexylcarbodiimide (DCC) en présence de 1-hydroxybenzotriazole (HBT) pour former l'ester de HBT. On fait ensuite réagir l'ester avec l'ammoniac anhydre pour obtenir l'amide.

Les esters à C terminal sont obtenus à partir des acides correspondants par des techniques bien connues dans le domaine. La transformation en dérivé alcool primaire est effectuée en préparant l'ester méthylique de l'acide aminé ou peptide à C terminal. L'ester est ensuite réduit en utilisant le borohydrure de sodium et le chlorure de lithium pour obtenir le dérivé alcool primaire correspondant.

Les éthers peuvent être préparés par l'une quelconque de diverses méthodes bien connues. L'une d'entre elles consiste à traiter l'alcool correspondant dans un milieu aqueux d'hydroxyde de sodium à l'aide d'un bromure d'alkyle dont le groupement alkyle correspond à la partie alkyle recherchée du produit éther.

Les composés de formule I sont des agents pharmaceutiques intéressants. Ils présentent une activité analgésique et également une activité neuroleptique. Ils sont particulièrement utiles dans le soulagement de la douleur et l'amélioration des troubles émotionnels quand ils sont administrés par voie parentérale ou orale à des mammifères et à l'homme.

Les composés de formule I peuvent être administrés seuls ou en combinaison avec des supports pharmaceutiquement acceptables, dont la proportion est déterminée par la solubilité et la nature chimique du composé, la voie d'administration choisie et l'usage pharmaceutique classique.

Les compositions préférées sont celles convenant pour l'administration parentérale, c'est-à-dire intramusculaire, sous-cutanée ou intraveineuse. Elles comprennent les solutions ou suspensions injectables stériles, et les compositions injectables stériles à libération lente.

Les solutions injectables stériles particulièrement commodes sont préparées dans le sérum physiologique ou le dextrose isotonique. Les compositions injectables stériles peuvent être préparées et conservées telles quelles ou bien elles peuvent être préparées immédiatement avant l'utilisation par addition d'un milieu stérile, par exemple l'eau, à un poids connu d'un ingrédient stérile enfermé dans un véhicule, par exemple une fiole ou une ampoule, qui conserve la stérilité de l'ingrédient. Le poids connu de l'ingrédient stérile peut également contenir suffisamment de dextrose ou de chlorure de sodium stérile pour former une solution ou suspension isotonique après addition du milieu stérile.

Les compositions préférées sont également celles convenant pour l'administration par voie orale. Elles peuvent être préparées en unités distinctes comme des capsules, des comprimés, etc., chacun contenant une quantité prédéterminée de l'ingrédient actif. En outre, elles peuvent par exemple être préparées sous forme de poudres ou de granulés, sous la forme d'une solution ou d'une suspension dans un milieu aqueux ou non aqueux, ou sous la forme d'une émulsion.

Les comprimés peuvent être préparés par compression, généralement avec un ou plusieurs ingrédients auxiliaires. Les comprimés sont préparés en comprimant l'ingrédient actif sous forme fluide, comme une poudre ou un granulé, et généralement mélangés avec un ou plusieurs autres ingrédients, comme des liants, des lubrifiants, des diluants inertes, des agents tensio-actifs, des tampons, des aromatisants, des agents épaississants, des agents de conservation, des agents de mise en dispersion, etc.

Le médecin déterminera la dose particulière du composé de formule I qui convient le mieux. Les doses sélectionnées varieront selon le mode d'administration, le composé particulier administré, le patient que l'on traite et le type de traitement. En général cependant, la dose sera comprise entre environ 5 μg et environ 2 mg/kg de poids corporel du patient et, de préférence, d'environ 10 à environ 100 μg /kg de poids corporel, quand la dose est administrée par voie intramusculaire ou sous-cutanée, et entre environ 0,1 et environ

500 µg/kg de poids corporel, et de préférence d'environ 5 à environ 50 µg/kg de poids corporel, quand la dose est administrée par voie intraveineuse. Lorsque la dose est administrée par voie orale, elle sera généralement comprise entre environ 100 µg et environ 200 mg/kg de poids corporel et de préférence entre environ 500 µg et environ 100 mg/kg de poids corporel et mieux encore entre environ 5 et environ 20 mg/kg de poids corporel.

Les exemples suivants sont donnés pour illustrer la préparation et l'activité des composés de formule I et ne doivent en aucun cas être considérés comme limitant l'invention.

Exemple 1:

Préparation de l'acétate de L-tyrosyl-D-alanylglycyl-L-(N^α-allyl)-phénylalanine-amide

A. N^α-t-butyloxycarbonyl-N^α-allyl-L-phénylalanine

A 100 ml de THF, on ajoute 10,6 g (15 mmol) de N^α-t-butyloxycarbonyl-L-phénylalanine. On ajoute le mélange goutte à goutte en 1 h à une suspension agitée de façon mécanique de 0,12 mol d'hydru-
 re de potassium dans 250 ml de THF séché contenant 0,5 g d'éther
 18-couronne-6 à 0°C sous atmosphère d'azote. On agite le mélange
 pendant 10 min supplémentaires à 0°C, puis on ajoute goutte à
 goutte en 30 min une solution de 4 ml (44 mmol) d'iodure d'allyle
 dans 20 ml de THF. On maintient le mélange résultant pendant 4 h,
 après quoi on ajoute goutte à goutte un mélange de 4,6 ml d'acide
 acétique glacial dans 20 ml de THF. On agite le mélange pendant
 10 min, puis on le verse sur 400 ml de glace. On ajuste la phase
 aqueuse à pH 8,0 par addition d'hydroxyde de sodium 1N. Puis on
 extrait la phase aqueuse avec de l'éther et on l'acidifie à pH 2,0 avec
 HCl 1N froid. Puis on extrait le mélange aqueux avec de l'acétate
 d'éthyle. On extrait l'acétate d'éthyle avec de l'eau, on le sèche sur
 sulfate de magnésium et on l'évapore sous vide jusqu'à un sirop. On
 dissout le sirop dans 200 ml d'éther et on ajoute 8 ml (0,04 mol) de
 dicyclohexylamine (DCHA). On filtre le précipité résultant et on
 extrait le filtrat successivement avec de l'acide citrique 1N et de
 l'eau. On sèche la couche étherée sur sulfate de magnésium et on
 l'évapore sous vide pour obtenir 9 g (74%) du composé cité en titre
 sous la forme d'un sirop.

$$[\alpha]_D^{25} = -130,8^\circ \text{ (c = 0,5, MeOH)}.$$

RMN δ 1,25 (H₂C=); 1,45 (t-butyle); 7,25 (phényle); 10,5 (carboxy).

B. N^α-t-butyloxycarbonyl-N^α-allyl-L-phénylalanine-amide

On dissout le produit de la partie A (9 g, 29,5 mmol) dans 60 ml de DMF. On refroidit le mélange à 0°C et on ajoute au mélange
 4,49 g (29,5 mmol) du complexe HBT: ammoniac et 6,08 g
 (29,5 mmol) de DCC. On agite le mélange pendant 2 h à 0°C, puis
 pendant 72 h à la température ambiante. On refroidit ensuite le
 mélange à 0°C et on le filtre. On concentre le filtrat sous vide jusqu'à
 une huile et on dissout l'huile dans de l'acétate d'éthyle et on l'ex-
 trait successivement avec du bicarbonate de sodium 1N, de l'eau, de
 l'acide citrique 1,5N froid et de l'eau. On sèche la phase organique
 sur sulfate de magnésium et on la concentre sous vide jusqu'à une
 huile. On introduit l'huile dans une colonne de 3 × 40 cm de gel de
 silice Grace and Davison qualité 62, dans le chloroforme. On élue le
 produit avec un gradient de chloroforme contenant jusqu'à 5% de
 méthanol. On isole le produit selon le profil sur couche mince des
 fractions recueillies et l'on obtient 3,55 g (70%) du composé cité en
 titre.

$$[\alpha]_D^{25} = -114,7^\circ \text{ (c = 0,5, MeOH)}.$$

Analyse pour C₁₇H₂₄N₂O₃ (304,4):

Calculé: C 67,08 H 7,95 N 9,20%

Trouvé: C 67,34 H 7,66 N 8,98%

le concentre sous vide jusqu'à une huile (1,0 g).

On dissout 900 mg de l'huile précédente dans 15 ml d'acide tri-
 fluoroacétique contenant 1,5 ml d'anisole et 1,5 ml de triéthylsilane.

On agite le mélange à 0°C pendant 30 min et on le verse dans de
 l'éther, on recueille et on sèche le précipité résultant (700 mg). On
 dissout la substance dans suffisamment de solution tampon (1% de
 pyridine; 0,05% d'acide acétique) pour faire 10 ml de solution et on
 dépose la solution sur une colonne de 2,5 × 90 cm de Sephadex
 DEAE A-25 (forme acétate) préalablement équilibrée avec le même
 tampon. On contrôle l'éluat à 280 nm et l'on réunit les fractions ap-
 propriées qu'on lyophilise pour obtenir un solide blanc. On dissout
 le solide dans 10 ml d'acide acétique 0,2M et on applique la solution
 sur une colonne de 2,5 × 90 cm de Sephadex G-10. On élue la
 colonne avec de l'acide acétique 0,2M et on contrôle l'éluat à
 280 nm. On réunit les fractions appropriées qu'on lyophilise pour
 obtenir 463 mg (40%) du composé cité en titre sous la forme d'un
 solide blanc.

$$[\alpha]_D^{25} = -1,19^\circ \text{ (c = 0,5, 1N HCl)}.$$

Analyse pour C₂₈H₃₇N₅O₇ (555,6):

Calculé: C 60,53 H 6,71 N 12,60%

Trouvé: C 60,26 H 6,67 N 12,89%

Analyse des aminoacides: Tyr, 1,00; Ala, 0,99; Gly, 1,00; NH₃,
 0,98.

Exemple 2:

Préparation de l'acétate de L-tyrosyl-D-alanylglycyl-L-(N^α-cyclopropylméthyl)-phénylalanine-amide

A. N^α-cyclopropylméthyl-L-phénylalanine-amide

A 100 ml d'alcool éthylique anhydre, on ajoute 8 g (0,04 mol) du
 chlorhydrate de L-phénylalanine-amide. Au mélange, on ajoute
 ensuite 13,4 g (0,16 mol) de bicarbonate de sodium anhydre solide et
 6,44 g (0,048 mol) de bromométhylcyclopropane. On chauffe le
 mélange à reflux pendant 7 h, puis on l'évapore sous vide jusqu'à
 une huile. On dissout l'huile dans de l'acétate d'éthyle et on extrait
 avec de l'eau la solution d'acétate d'éthyle. On sèche la phase orga-
 nique sur sulfate de magnésium et on l'évapore sous vide jusqu'à une
 huile. On applique l'huile sur une colonne de 3 × 50 cm de gel de
 silice Grace and Davison qualité 62, dans du chloroforme. On élue
 le produit avec un gradient de chloroforme contenant jusqu'à 5% de
 méthanol. On isole le produit selon le profil en chromatographie sur
 couche mince des fractions recueillies et on obtient 3,41 g (39%) du
 composé cité en titre.

$$[\alpha]_D^{25} = -1,45^\circ \text{ (H-N-); 7,3 (phényle)}.$$

B. N^α-t-butyloxycarbonyl-D-alanylglycyl-L-(N^α-cyclopropylméthyl)-phénylalanine-amide

On dissout dans 25 ml de DMF le produit de la partie A (3,41 g,
 0,016 mmol). On refroidit le mélange à 0°C et on ajoute 4,23 g
 (0,016 mol) de N^α-t-butyloxycarbonyl-D-alanylglycine puis 2,16 g
 (0,016 mol) de HBT et 3,03 g (0,016 mol) de DCC. On agite le
 mélange à 0°C pendant 2 h, puis à la température ambiante pendant
 2 d. Puis on refroidit le mélange à 0°C, on enlève par filtration le
 précipité résultant et on évapore le filtrat sous vide. On dissout le
 résidu dans de l'acétate d'éthyle et on extrait l'acétate d'éthyle suc-
 cessivement avec du bicarbonate de sodium 1N, de l'eau, de l'acide
 citrique 1,5N et de l'eau. Puis on sèche la phase organique sur
 sulfate de magnésium et on l'évapore sous vide jusqu'à un solide. On
 applique le solide sur une colonne de 3 × 50 cm de gel de silice Grace
 and Davison qualité 62, dans le chloroforme. On élue le produit
 avec un gradient de chloroforme contenant jusqu'à 5% de méthanol.
 On isole le produit selon le profil en chromatographie sur couche
 mince des fractions recueillies et l'on obtient 2,51 g (35%) du
 composé cité en titre, p.f. 83-84°C.

Analyse pour C₂₃H₃₆N₄O₅ (448,6):

Calculé: C 61,59 H 8,09 N 12,49%

Trouvé: C 60,05 H 7,40 N 13,23%

C. N^α-t-butyloxycarbonyl-L-tyrosyl-D-alanylglycyl-L-(N^α-cyclopropylméthyl)-phénylalanine-amide

On dissout le produit de la partie B (2,4 g, 5,3 mmol) dans 20 ml d'acide trifluoroacétique contenant 5 ml d'anisole. On agite le mélange à 0°C pendant 30 min, après quoi on évapore le solvant sous vide sans chauffer. On ajoute de l'éther à l'huile résultante, on décante la liqueur surnageante et on sèche sous vide l'huile restante.

A 10 ml de DMF, on ajoute 1,4 g (5,3 mmol) de N^α-butyloxy-carbonyl-L-tyrosine. On refroidit le mélange à -15°C et on ajoute rapidement à la solution agitée 0,58 ml (5,3 mmol) de NMM et 0,69 ml (5,3 mmol) de chloroformate d'isobutyle. On agite la solution à -15°C, pendant que l'on prépare le produit suivant.

On dissout dans 10 ml de DMF le trifluoroacétate obtenu précédemment. On refroidit le mélange à -15°C et on ajoute en une fois 0,58 ml de NMM. On agite le mélange pour s'assurer d'une réaction complète et on l'ajoute à la solution précédente d'anhydride mixte. On agite le mélange résultant pendant 4 h, puis on le verse sur un mélange de glace pilée et de bicarbonate de sodium 1N. On extrait la solution aqueuse avec de l'acétate d'éthyle, puis on extrait l'acétate d'éthyle successivement avec de l'eau, de l'acide citrique 1,5N et de l'eau. On sèche l'acétate d'éthyle sur sulfate de magnésium et on le concentre sous vide jusqu'à une huile (2,7 g).

On applique l'huile sur quatre plaques préparatives de chromatographie sur couche mince. On élue les plaques avec un mélange 9:1 de chloroforme et de méthanol. On découpe le produit principal des plaques de CCM et on élue le produit du gel de silice, ce qui donne 2,0 g (62%) du composé cité en titre.

$$[\alpha]_D^{25} = -38,44^\circ (c = 0,5, \text{MeOH}).$$

Analyse pour C₃₂H₄₃N₅O₇ (609,7):

Calculé: C 63,04 H 7,11 N 11,49%

Trouvé: C 61,92 H 6,89 N 11,13%

Analyse des aminoacides: Tyr, 1,02; Ala, 0,99; Gly, 0,99; NH₃, 1,01.

D. Acétate du L-tyrosyl-D-alanylglycyl-L-(N^α-cyclopropylméthyl)-phénylalanine-amide

On dissout le produit de la partie C (1,7 g, 2,8 mmol) dans 15 ml d'acide trifluoroacétique contenant 3 ml d'anisole. On agite le mélange à 0°C pendant 30 min, puis on le lyophilise. On dissout le solide résultant dans suffisamment de tampon (1% de pyridine, 0,05% d'acide acétique) pour obtenir 10 ml et on dépose la solution

sur une colonne de 2,5 × 90 cm de Sephadex DEAE A-25 (forme acétate) qui a été équilibrée avec le même tampon. On contrôle l'éluat à 280 nm et on combine les fractions appropriées et on les lyophilise. On dissout le solide résultant dans 10 ml d'acide acétique 0,2M, et on applique la solution sur une colonne de 2,5 × 90 cm de Sephadex G-10 équilibrée dans le même solvant. On contrôle l'éluat à 280 nm et l'on combine les fractions appropriées avant de les lyophiliser pour obtenir 1,3 g (82%) du composé cité en titre.

$$[\alpha]_D^{25} = -20,2^\circ (c = 0,5, \text{MeOH}).$$

Analyse des aminoacides: Tyr, 1,00; Ala, 1,00; Gly, 0,99; NH₃, 1,02.

Analyse pour C₂₉H₃₉N₅O₇ (569,7):

Calculé: C 61,15 H 6,90 N 12,29%

Trouvé: C 61,38 H 6,66 N 12,06%

On démontre l'activité analgésique des composés de formule I dans l'essai de la plaque chaude sur les souris. Dans cet essai, on place une souris à l'intérieur d'un cylindre vertical en acrylique comportant, comme base, une plaque chauffante maintenue à 52°C. On administre à la souris, par voie orale ou par injection sous-cutanée, une quantité prédéterminée d'un composé d'essai dissous ou en suspension dans un support approprié, et, 15 min après l'administration du composé d'essai, on place la souris sur la surface de la plaque chauffante. On mesure la latence, exprimée en secondes, jusqu'à ce que la souris saute de la surface chaude. Un agent qui présente une activité analgésique produit une augmentation de ce temps de latence par rapport à celui de souris témoins qui ne reçoivent que le véhicule. Cela doit se produire dans un intervalle de doses qui ne produit aucune incoordination ou incapacité motrice. Le tableau donne les DE₅₀ obtenus dans cet essai.

Tableau
Activité analgésique,
essai de la plaque chauffante

Composé	DE ₅₀ (mg/kg) voie sous-cutanée
Exemple 1	0,01
Exemple 2	0,012