



MINISTERO DELLO SVILUPPO ECONOMICO  
DIREZIONE GENERALE PER LA TUTELA DELLA PROPRIETÀ INDUSTRIALE  
UFFICIO ITALIANO BREVETTI E MARCHI

# UIBM

<b>DOMANDA NUMERO</b>	<b>101982900000610</b>
<b>Data Deposito</b>	<b>23/11/1982</b>
<b>Data Pubblicazione</b>	<b>23/05/1984</b>

Titolo

**ANALOGHI RETRO-INVERTITI DEL PENTAPEPTIDE POTENZIANTE LA BRADICHININA BPP 5a**

Descrizione dell'invenzione avente per titolo:

"ANALOGHI RETRO-INVERTITI DEL PENTAPEPTIDE POTENZIANTE LA  
BRADICHININA BPP<sub>5a</sub>"

dell'ASSORENI

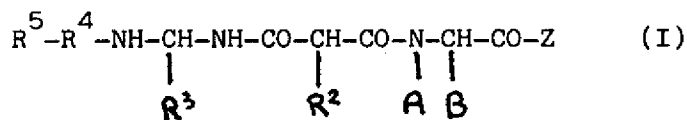
Inventori: Antonio Silvio VERDINI, Giuseppe Claudio VISCO-

MI. 23 NOV. 1982

24369A/82

RIASSUNTO

La presente invenzione si riferisce a nuovi peptidi e derivati peptidici retro-invertiti, analoghi del Penta-peptide Potenziente la Bradichinina (BPP<sub>5a</sub>), farmacologicamente attivi di formula generale (I):



utili come vasodilatatori nella cura dell'ipertensione.

DESCRIZIONE

In alcune frazioni a basso peso molecolare estratte dal veleno di serpente, Bothrops jararaca, furono isolati una serie di peptidi, che potenziavano l'attività della bradichinina (Bradykinin Potentiating Peptides) [ Ferreira, S.M.; Br. J. Pharmacol., 24, 163 (1965); Ferreira, S.M. et al., Biochemistry 9, 2583, (1970); Ondetti, M.A. et al., Biochemistry, 10, 4033, (1971) ] .

Successivi studi hanno dimostrato che questi peptidi possedevano anche un'attività inibitoria nei confronti

dell'enzima di conversione dell'angiotensina (EC 3.4.15.1)

[ Ferreira, S.M. et al., Nature (London), 225, 379, (1970)].

Il pentapeptide Glp-Lys-Trp-Ala-Pro (BPP<sub>5a</sub>) [Greene, L.J. et al., Advan. Exp. Biol., 8, 81, (1970); Stewart, J.M. et al., Biochem. Pharmacol., 20, 1557, (1971)] risultò

essere il più potente inibitore dell'enzima di conversione dell'angiotensina tra quelli estratti dal veleno di serpente, quando furono analizzati nelle stesse condizioni

[ Cheung, H.S. et al., Biochem. Biophys. Acta, 293, 451, (1973); Ondetti, M.A. et al., Chemistry and Biology of Peptides, ed, J. Meienhofer (Ann Arbor Science Publishers, Ann Arbor, 1972) pp. 525].

L'importanza di possedere tali inibitori è legata alla possibilità di ridurre o rimuovere l'ipertensione angiotensina dipendente causata dalla conversione dell'angiotensina I in angiotensina II da parte dell'enzima di conversione dell'angiotensina o chininasi II nei mammiferi.

E' noto che il sistema renina-angiotensina-aldosterone è stato recentemente riconosciuto come uno dei fattori d'importanza primaria nel determinare l'insorgere dell'ipertensione. L'azione dell'enzima renina su una pseudoglobulina del plasma sanguigno produce un peptide, l'angiotensina I, che è convertito nell'octapeptide

angiotensina II dall'enzima di conversione dell'angiotensina.

L'angiotensina II esercita una potente azione vasocostrittrice che produce aumento della pressione sanguigna.

L'enzima di conversione dell'angiotensina è anche responsabile dell'inattivazione della bradichinina, un nonapeptide con potente azione ipotensiva. Il risultato netto di questa duplice azione è un aumento della pressione sanguigna arteriosa.

Composti che inibiscono l'enzima di conversione dell'angiotensina possono essere utili agenti antiipertensivi per il trattamento dell'ipertensione renale, dell'ipertensione maligna e dell'ipertensione essenziale.

Tali inibitori, inoltre, potrebbero essere utilizzati come diagnostici.

Infatti, nel trattamento prolungato nel tempo dell'ipertensione, la determinazione del grado di coinvolgimento del sistema renina-angiotensina mediante l'uso di inibitori dell'enzima di conversione sarebbe di grande importanza nella scelta del trattamento terapeutico [Tiffet, C.P. et al., Ann. Int. Med., 90, 43, (1979)].

Nell'ambito di tali problematiche il BPP<sub>5a</sub> risulta essere potenzialmente efficace in terapia, perchè è in grado, ad esempio, di far regredire l'ipertensione reno-vascolare provocata sperimentalmente in ratti [Krieger, E.M. et

al., Lancet, 1, 269, (1971)] ; potenzia in vivo l'attività della bradichinina, iniettata direttamente nell'arterie coronariche [Bassenge, E. et al. Vasopeptides, Chemistry, Pharmacology and Pathofisiology, Ed. by Nathan Back and F. Sicuteri, (1972) pp. 251] ; e quando iniettato direttamente nel cervello, inibisce l'azione ipertensiva e tachicardica, mediata dal sistema nervoso centrale, dell'angiotensina I [Solomon, T.A. et al., J. Pharm. Sci., 63, 511, (1974); Vollmer, R.R. et al., Eur, J. Pharmacology, 45, 117, (1977)] .

L'attività inibitoria del BPP<sub>5a</sub> nei confronti dell'enzima di conversione dell'angiotensina è calcolata mediante la concentrazione dell'inibitore che riduce l'idrolisi enzimatica nei confronti di un substrato (angiotensina I o Hip- His-Leu) del 50% rispetto a quando l'inibitore è assente.

Da tali studi è dimostrato che il BPP<sub>5a</sub> dà luogo a una "inibizione mista", competitiva e non competitiva, in accordo con l'interpretazione che il pentapeptide possa riconoscere due siti recettoriali dell'enzima: in uno è impegnato il tripeptide C-terminale e nell'altro il dipeptide N-terminale [Cushman, D.W. et al., Experientia, 29 (8). 1032, (1973) e riferimenti citati] .

Studi di struttura-funzione con una serie di analoghi del BPP<sub>5a</sub> hanno evidenziato quanto segue:

- a) solo il tripeptide C-terminale si lega allo stesso sito attivo dell'enzima, dove si lega l'intero decapeptide angiotensina I;
- b) l'attività enzimatica è espressa solo quando il carbosside C-terminale è libero;
- c) l'enzima non idrolizza peptidi contenenti un residuo amminoacidico dicarbossilico in posizione 5, oppure un imminoacido, come ad esempio la prolina, in posizione 4;
- d) substrati contenenti un triptofano o una fenilalanina in posizione 3 si legano molto più strettamente all'enzima rispetto a substrati che hanno residui diversi nella stessa posizione;
- e) l'introduzione di amminoacidi con configurazione D in posizione 3 provoca la perdita dell'attività inibitoria.

La stabilità biologica in vivo è tra i requisiti essenziali per l'uso di inibitori peptidici come farmaci, di conseguenza l'estrema labilità del BPP<sub>5a</sub> all'enzima di conversione dell'angiotensina pregiudica la sua diretta utilizzazione in farmacologia. Sono infatti sufficienti 15 minuti di preincubazione con l'enzima per avere una completa perdita dell'attività inibitoria (Ondetti, M.A. et al., Annual Reports in Medicinal Chemistry, Chap 9, 82, (1978); Ondetti, M.A. et al., Drug Action and Design;

Mechanism Based Enzyme Inhibitors, ed. Kalman, by Elsevier North Holland Inc., pp. 271 (1979); Cushman, D.W. et al., Progress in Medicinal Chemistry, 17, Chap 2, 42, (1980) e riferimenti citati ] .

Tra i peptidi estratti dal veleno di serpente, Bothrops jararaca, solo in BPP<sub>9a</sub>, un nonapeptide di sequenza Glp-Trp-Pro-Arg-Pro-Gln-Ile-Pro-Pro, più stabile all'enzima di conversione, è stato frequentemente usato negli studi farmacologici e clinici [ Soffer, R.L. et al., Progress in Cardiovascular Diseases, Vol. XXI, No. 3, 167, (1978); Ondetti, M.A. et al., J. Med. Chemistry, 24, (4), 355, (1981); Rubin, B. et al. Progress in Cardiovascular Diseases, Vol. XXI, No. 3, 183, (1978) e riferimenti citati; Cushman, D.W. et al., Progress in Cardiovascular Disease, Vol. XXI, No. 3, 176, (1978); Hulthén, I. et al., Acta Med. Scand., 204, 499, (1978); Castañer, J., Drug of the Future, Vol. III, No. 1, 62, (1978); Martin L.C. et al., Biochem. J., 184, 713, (1979); Depierre, D. et al., Enzyme, 24, 362, (1979) ] .

Tra gli analoghi del BPP<sub>5a</sub> resistenti all'idrolisi enzimatica, solo quello con la  $\beta$ -omo-fenilalanina ha un'attività inibitoria che si avvicina in vitro a quella del BPP<sub>5a</sub> [ Das, M. et al., J; Biol. Chem., 250; 6762, (1975) ] ; questo analogo è però inattivo in vivo.

Per ottenere un'adeguata protezione di sequenze peptidiche

dall'azione proteolitica delle peptidasi, noi abbiamo trovato assai vantaggioso, e ciò è parte della presente invenzione applicare il metodo della retroinversione dei legami peptidici.

Abbiamo allora opportunamente invertito uno dei legami peptidici della sequenza del BPP<sub>5a</sub> dimostratosi più suscettibile all'idrolisi enzimatica (il legame - Phe-Ala) con l'intento di renderlo più resistente alla demolizione in vivo. Attraverso questa modifica viene conservata l'orientazione tridimensionale delle catene laterali del peptide, che, garantendo il "binding" al recettore, mantiene in parte o potenzia l'attività biologica dell'analogo. L'inversione di un singolo legame peptidico nella sequenza comporta la trasformazione dei due residui amminoacidici impegnati a formare il legame invertito, ed in particolare del residuo amminoacidico più vicino all'estremità amminica del peptide di riferimento in un residuo diamminico geminale e del residuo amminoacidico più vicino all'estremità carbossilica in un residuo di tipo malonilico e malonilico-2-sostituito [Goodman, M. et al., Acc. Chem. Res., 12, 1, (1979) e riferimenti citati]. Mentre l'incorporazione dei residui malonilici o malonilici-2-sostituiti nello scheletro peptidico non presenta problemi particolari, quella dei residui gem-diamminici richiede, in genere, particolari e delicate manipolazioni

di sintesi [Goodman, M. et al., Perspectives in Peptide Chemistry, ed. Eberle, A., Geiger, R., Wieland, T., Karger, Basel, pp. 283 (1980)].

Noi abbiamo recentemente messo a punto un metodo che rende possibile introdurre molto facilmente in uno scheletro peptidico un residuo gem-diamminico senza particolari e tediose manipolazioni chimiche, utilizzando il I,I-bis (trifluoroacetossi)iodobenzene. Questo nuovo reattivo era stato impiegato in precedenza per la conversione diretta in ammine di ammidi primarie di struttura semplice, in condizioni di reazioni estremamente blande, senza la necessità di isolare o catturare l'isocianato intermedio [Radhakrishna, A.S. et al., J. Org. Chem. 44, 1746, (1979)].

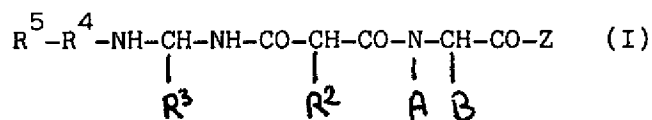
Il nostro metodo, descritto in domanda di brevetto copendente a nome della stessa richiedente, (Verdini, A.S.; Viscomi, G.C.; Brevetto Italiano nr. 25755) si applica agevolmente alla conversione diretta di ammidi amminoacidiche peptidiche primarie, protette all' $\text{NH}_2$  terminale, nei corrispondenti sali di acido trifluoroacetico di gem-diammino derivati N-monoacilati.

Abbiamo così potuto sintetizzare molto facilmente in fase omogenea analoghi parzialmente retro-invertiti dei penta ed esapeptidi C-terminali della Sostanza P e delle Enkefaline come descritto nelle domande di brevetto

copendenti a nome della stessa richiedente (Verdini, A.S.;  
Viscomi, G.C.; Brevetto Italiano nr. 25753; Squadrini, S.;  
Verdini, A.S.; Viscomi, G.C.; Brevetto Italiano nr.  
20926).

I peptidi retro-invertiti oggetto del presente brevetto  
sono compresi tra quelli rispondenti alla formula generale

(I):



dove  $\text{R}^5$  può essere un arilalchilenossicarbonile, alchilos-  
sicarbonile, oppure un gruppo acilico alifatico a catena  
ciclica satura o insatura, oppure a catena lineare o  
ramificata satura o insatura; oppure  $\text{R}^5$  rappresenta un  
residuo amminoacidico tra quelli comunemente presenti nei  
peptidi naturali;  $\text{R}^4$  rappresenta un residuo amminoacidico  
tra quelli comunemente presenti nei peptidi naturali;  $\text{R}^3$  e  
 $\text{R}^2$  possono essere uguali o diversi tra di loro e, presi  
singolarmente, rappresentano le catene laterali degli  
amminoacidi presenti nei peptidi naturali: A rappresenta  
un atomo d'idrogeno, un gruppo alchilico, arilico,  
idrossialchilenico o arilalchilenico; B rappresenta un  
atomo di idrogeno, un gruppo alchilico, arilico, arilal-  
chilenico, idrossialchilenico, guanidilalchilenico, ammi-  
noalchilenico, alchilossialchilenico, acilamminoalchileni-

co, imidazoilalchilenico, indolilalchilenico, mercaptoalchilenico, alchilmercaptoalchilenico, carbamoilalchilenico o alchilossicarbonilalchilenico.

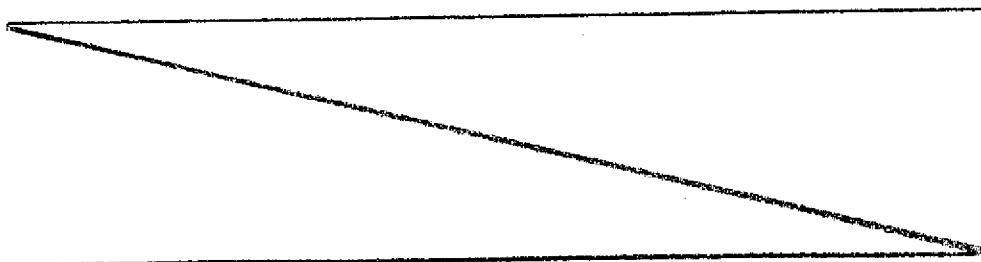
A e B presi assieme possono essere in residuo  $-(CH_2)_m$  chiuso ad anello sugli atomi di azoto e carbonio a cui sono uniti, con m uguale a 2,3 o 4.

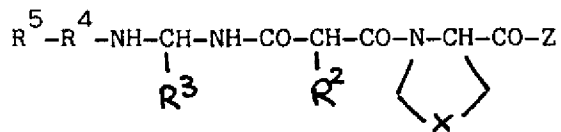
Un atomo di carbonio del ponte  $-(CH_2)_m$  può essere unito direttamente a un gruppo ossidrilico; oppure A e B, presi assieme, sono uniti tra loro da un ponte di atomi di carbonio contenenti un legame olefinico che completa l'anello a 5 o 6 atomi con l'azoto e il carbonio ai quali sono uniti; oppure A e B, presi assieme, sono uniti tra di loro da un ponte  $-CH_2-S-(CH_2)_q$  oppure  $-CH_2-O-(CH_2)_q$  che completa un anello di 5 o 6 atomi con l'azoto e il carbonio ai quali sono uniti, dove q è 1 o 2;

B può anche essere legato all'atomo di carbonio da legami non saturi;

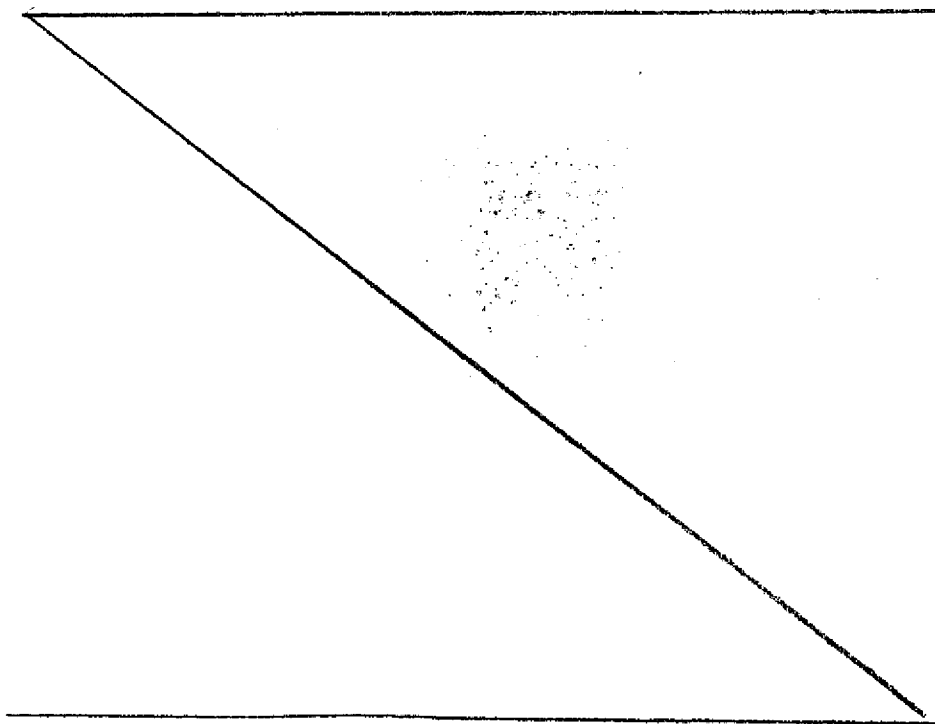
Z rappresenta un gruppo ossidrilico, alchilossidrilico ed amminico.

Una forma preferita è rappresentata da composti corrispondenti alla seguente formula generale:





dove  $R^5$  può essere un arilalchilenossicarbonile, alchilossicarbonile, oppure un gruppo acilico alifatico a catena ciclica satura o insatura, oppure a catena lineare o ramificata satura o insatura; oppure  $R^5$  rappresenta un residuo amminoacidico tra quelli comunemente presenti nei peptidi naturali;  $R^4$  rappresenta un residuo amminoacido tra quelli comunemente presenti nei peptidi naturali;  $R^3$  e  $R^2$  sono uguali o diversi tra di loro e, presi singolarmente, rappresentano le catene laterali degli amminoacidi comunemente presenti nei peptidi naturali;  $X$  può essere S, O oppure  $-(CH_2)_p-$  con  $p$  uguale a 0, 1 o 2;  $Z$  è un gruppo ossidrilico, alchilossidrilico o amminico.



Nelle descrizioni delle sintesi riportate successivamente  
si fa uso delle seguenti abbreviazioni:

Boc = tert-butilossicarbonile; Z = benzilossicarbonile;

Cbc = ciclobutilcarbonile; Cpc = ciclopentilcarbonile;

Chc = cicloesilcarbonile; EtO = estere etilico;

$O^t$ Bu = estere tert-butilico; DCC = N,N'dicicloesilcarbo-

dimide; DCU = dicicloesilurea; HOBT = N-idrossibenzotria-

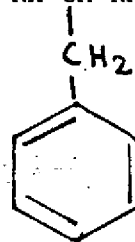
zolo; DMF = N,N-dimetilformammide; THF = tetraidrofurano;

NMM = N-metilmorfolina; MeOH = metanolo; EtOH = etanolo;

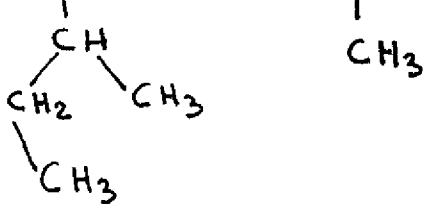
MeCN = acetonitrile; EtOAc = etilacetato;  $Et_2O$  = etere e-

tilico; TFA = acido trifluoroacetico; BTI = I,I bis

(trifluoroacetossi)iodobenzene; gPhe = -NH-CH-NH-



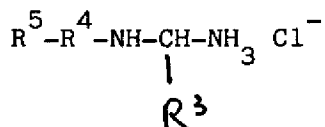
gIle = -NH-CH-NH-; mAla = -CO-CH-CO-; mGly = -CO-CH<sub>2</sub>-CO-



Ciascun amminoacido, anche se non espressamente specifica-

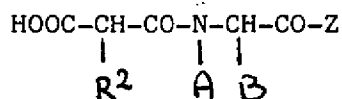
to, è di forma L.

Un derivato peptidico di formula generale (I) viene sintetizzato per condensazione indotta in genere da DCC + HOBt di un residuo gem-diamminico N-monoacilato di formula generale (II):



dove  $\text{R}^5$ ,  $\text{R}^4$  ed  $\text{R}^3$  hanno il significato visto in precedenza e dove le funzioni amminiche, ossidriliche, carbossiliche, carbossiammidiche, indoliche, imidazoliche, guanidiniche, mercaptaniche e sulfidriliche, se presenti in  $\text{R}^5$ ,  $\text{R}^4$  e  $\text{R}^3$ , sono opportunamente protette; con un frammento peptidico di formula generale (III):

---



dove  $\text{R}^2$ , A, B e Z hanno il significato visto in precedenza e dove le funzioni amminiche, ossidriliche, carbossiliche, carbossiammidiche, indoliche, imidazoliche, guanidiniche, mercaptaniche e sulfidriliche, se presenti in  $\text{R}^2$ , A, B e Z, sono opportunamente protette.

La sintesi del residuo gem-diamminico N-monoacilato di formula generale (II) e del frammento peptidico di formula

---

generale (III) è fatta utilizzando i metodi di condensazione nella sintesi dei peptidi descritti, ad esempio, in Bodanski, M. ed Ondetti, M.A., Peptide Synthesis Interscience, New York, 1966; Finn, F.M. e Hoffmann, K., the Proteins, Vol. 2, Neurath, A. ed Hile, R.L. Editori, Academic Press, New York, 1976; e the Peptides, vol.I, Gross, E. e Meienhofer. J. Editori, Academic Press, New York, 1979.

Dopo completamento delle reazioni i peptidi vengono ottenuti mediante procedimenti noti nell'isolamento dei peptidi quali, ad esempio, estrazioni, distribuzioni in controcorrente, precipitazioni, cristallizzazioni e cromatografie varie.

In un procedimento di separazione dei diastereoisomeri viene utilizzata preferibilmente la resina Lichroprep con una granulometria di 25-40  $\mu\text{m}$  della (Merck) come fase stazionaria per la cromatografia liquida preparativa ad alta pressione in fase inversa ed utilizzando come eluenti opportune miscele di  $\text{H}_2\text{O}:\text{MeCN}$ .

L'identità dei prodotti è stata dimostrata mediante analisi spettroscopica di risonanza magnetica nucleare.

La purezza dei prodotti è dimostrata mediante analisi cromatografica ed alta pressione in fase inversa (RP-HPLC) usando i seguenti sistemi eluenti:

$\text{H}_2\text{O}/\text{MeCN}$ , TFA 0.1 in soluzione acquosa/ $\text{MeCN}$ ; ed analisi

cromatografica su strato sottile in gel di silice usando i seguenti sistemi eluenti: n-Butanolo: Acido Acetico: Acqua (4:1:1); Cloroformio: Metanolo: Acido Acetico (85:10:5); n-Butanolo : Isopropanolo:  $\text{NH}_4\text{OH}$  1N in acqua: Etil Acetato (1:1:5:1), fase organica.

I punti di fusione non sono stati corretti.

L'inibizione dell'enzima di conversione dell'angiotensina da parte dei composti corrispondenti alla formula generale I è misurata, in vitro, con enzima isolato da polmoni di coniglio secondo il metodo di Cushman e Cheung [Biochem. Pharmacol., 20, 1637, (1971)] .

Nella Tabella I sono riportati i valori di  $I_{50}$  ( m/ml) ottenuti utilizzando gli analoghi [gPhe<sup>3</sup>, (S) mAla<sup>2</sup>] BPP<sub>5a</sub> e [gPhe<sup>3</sup>, (R) mAla<sup>2</sup>] BPP<sub>5a</sub>.

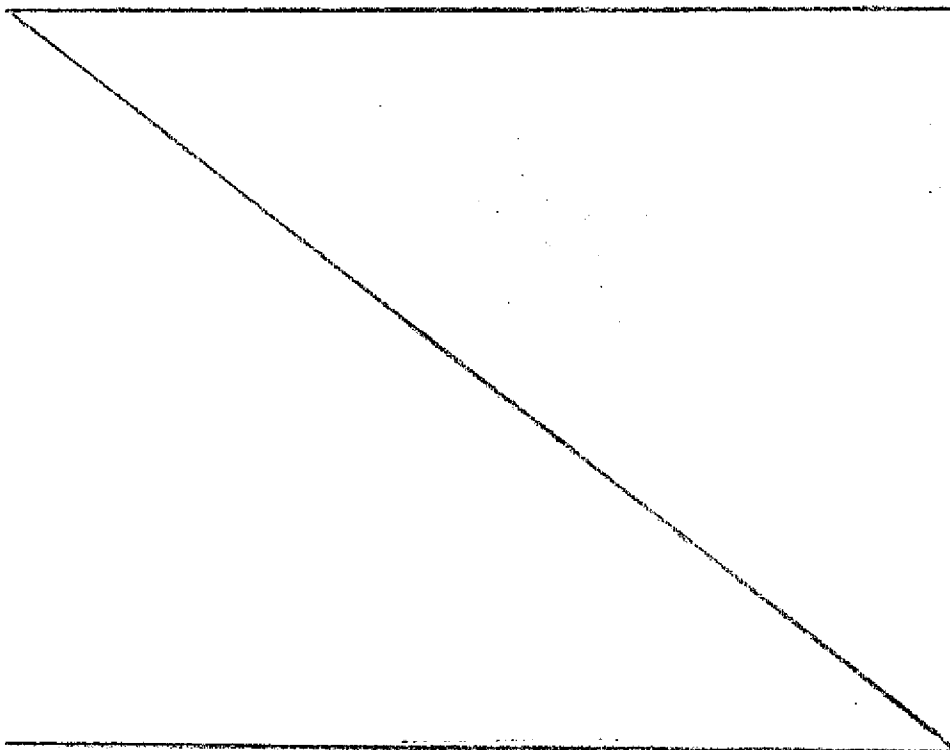


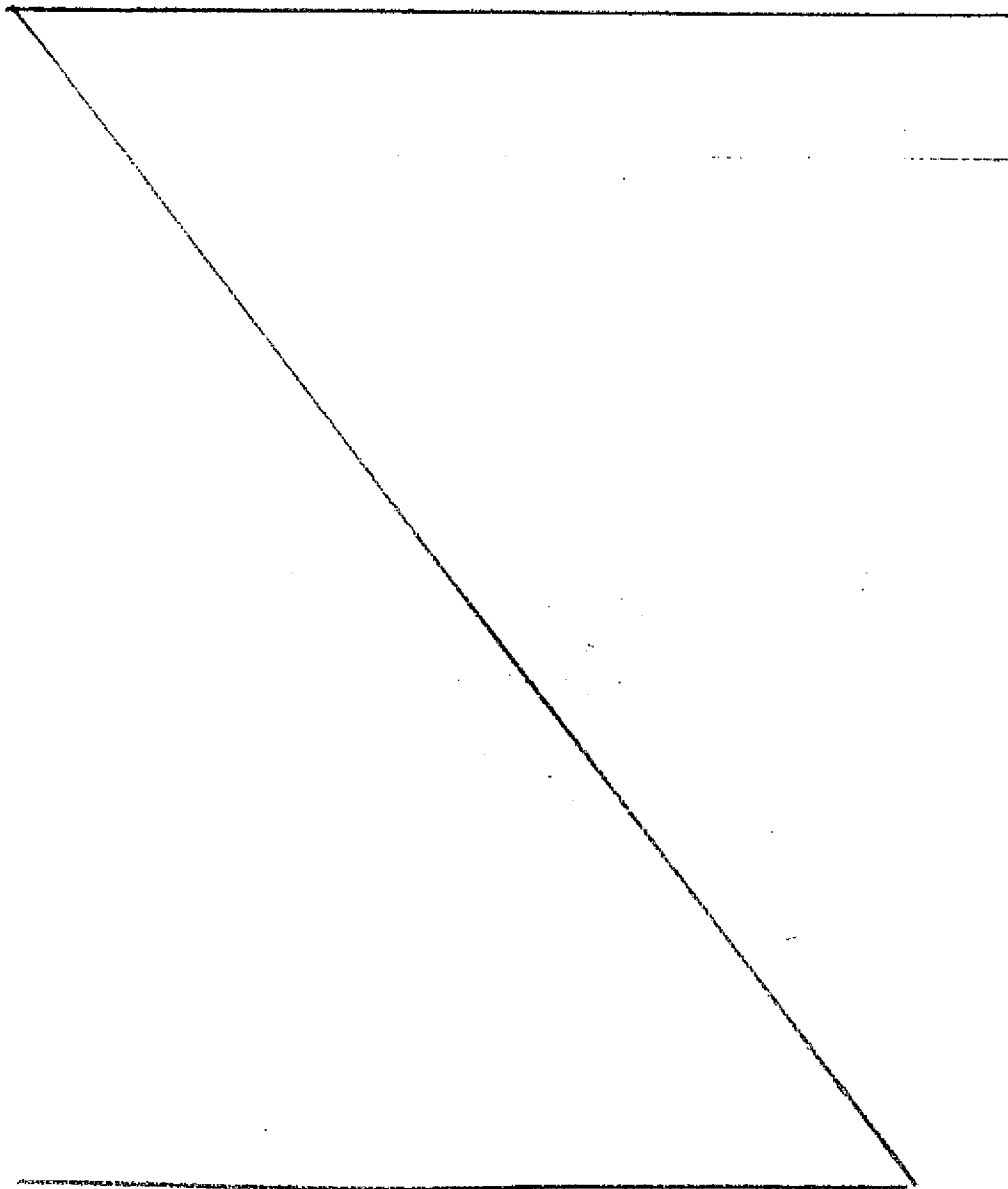
TABELLA 1

Peptidi	$I_{50}$ ( $\mu\text{m/ml}$ )
BPP <sub>5a</sub>	0.09
$[\text{gPhe}^3, (\text{R})\text{mAla}^2]$ BPP <sub>5a</sub>	280
$[\text{gPhe}, (\text{S})\text{mAla}^2]$ BPP <sub>5a</sub>	140

Esempi di peptidi ottenuti secondo la presente invenzione

sono i seguenti:

- 3) Il peptide Glp-Lys-gPhe-(S)mAla-Pro in cui tutti gli amminoacidi hanno configurazione L;
- 4) Il peptide Glp-Lys-gPhe-(R)mAla-Pro in cui tutti gli amminoacidi hanno configurazione L;
- 5) Il peptide Glp-Lys-gPhe-mGly-Pro in cui tutti gli amminoacidi hanno configurazione L;



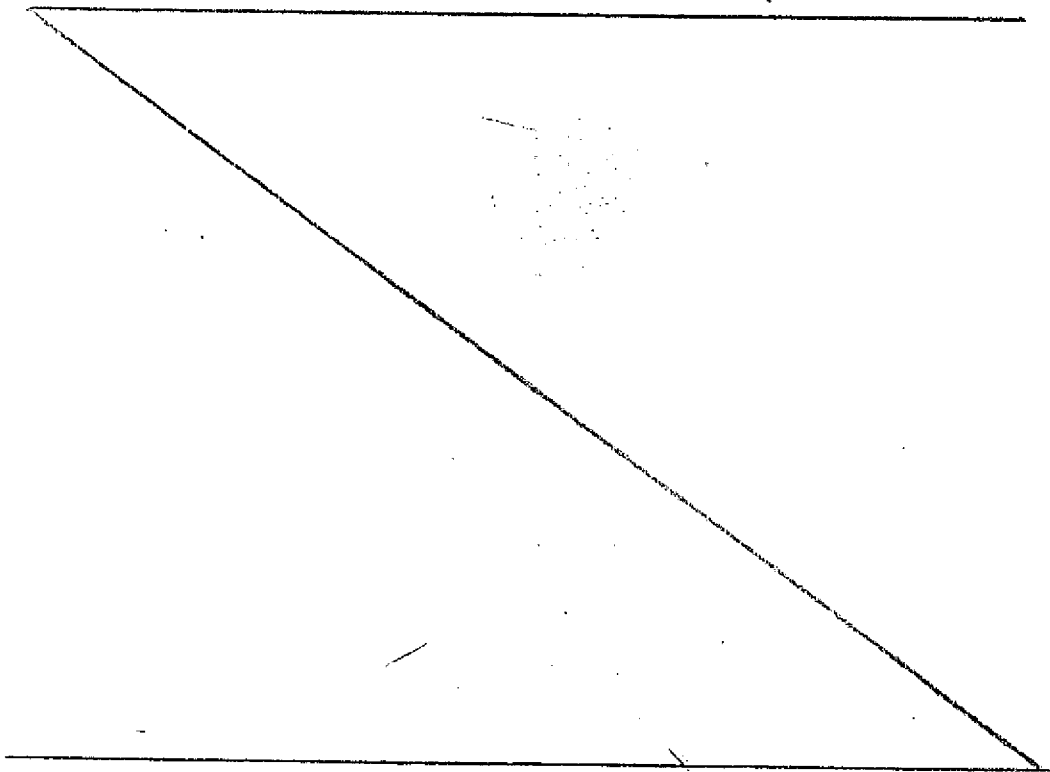
- 6) Il peptide Cbc-Lys-gPhe-(S)mAla-Pro in cui tutti gli amminoacidi hanno configurazione L;
- 7) Il peptide Cbc-Lys-gPhe-(R)mAla-Pro in cui tutti gli amminoacidi hanno configurazione L;
- 8) Il peptide Cbc-Lys-gPhe-mGly-Pro in cui tutti gli amminoacidi hanno configurazione L;
- 9) Il peptide Cpc-Lys-gPhe-(S)mAla-Pro in cui tutti gli amminoacidi hanno configurazione L;
- 10) Il peptide Cpc-Lys-gPhe-(R)mAla-Pro in cui tutti gli amminoacidi hanno configurazione L;
- 11) Il peptide Cpc-Lys-gPhe-mGly-Pro in cui tutti gli amminoacidi hanno configurazione L;
- 12) Il peptide Chc-Lys-gPhe-(S)mAla-Pro in cui tutti gli amminoacidi hanno configurazione L;
- 13) Il peptide Chc-Lys-gPhe-(R)mAla-Pro in cui tutti gli amminoacidi hanno configurazione L;
- 14) Il peptide Chc-Lys-gPhe-mGly-Pro in cui tutti gli amminoacidi hanno configurazione L;
- 15) Il peptide Glp-Nle-gPhe-(S)mAla-Pro in cui tutti gli amminoacidi hanno configurazione L;
- 16) Il peptide Glp-Nle-gPhe-(R)mAla-Pro in cui tutti gli amminoacidi hanno configurazione L;
- 17) Il peptide Glp-Nle-gPhe-mGly-Pro in cui tutti gli amminoacidi hanno configurazine L;
- 18) Il peptide Cbc-Nle-gPhe-(S)mAla-Pro in cui tutti gli

- amminoacidi hanno configurazione L;
- 19) Il peptide Cbc-Nle-gPhe-(R)mAla-Pro in cui tutti gli amminoacidi hanno configurazione L;
- 20) Il peptide Cbc-Nle-gPhe-mGly-Pro in cui tutti gli amminoacidi hanno configurazione L;
- 21) Il peptide Cpc-Nle-gPhe-(S)mAla-Pro in cui tutti gli amminoacidi hanno configurazione L;
- 22) Il peptide Cpc-Nle-gPhe-(R)mAla-Pro in cui tutti gli amminoacidi hanno configurazione L;
- 23) IL peptide Cpc-Nle-gPhe-mGly-Pro in cui tutti gli amminoacidi hanno configurazione L;
- 24) Il peptide Chc-Nle-gPhe-(S)mAla-Pro in cui tutti gli amminoacidi hanno configurazione L;
- 25) Il peptide Chc-Nle-gPhe-(R)mAla-Pro in cui tutti gli amminoacidi hanno configurazione L;
- 26) Il peptide Chc-Nle-gPhe-mGly-Pro in cui tutti gli amminoacidi hanno configurazione L;
- 27) Il peptide Glp-Gln-gPhe-(S)mAla-Pro in cui tutti gli amminoacidi hanno configurazione L;
- 28) Il peptide Glp-Gln-gPhe-(R)mAla-Pro in cui tutti gli amminoacidi hanno configurazione L;
- 29) Il peptide Glp-Gln-gPhe-mGly-Pro in cui tutti gli amminoacidi hanno configurazione L;
- 30) Il peptide Cbc-Gln-gPhe-(S)mAla-Pro in cui tutti gli amminoacidi hanno configurazione L;

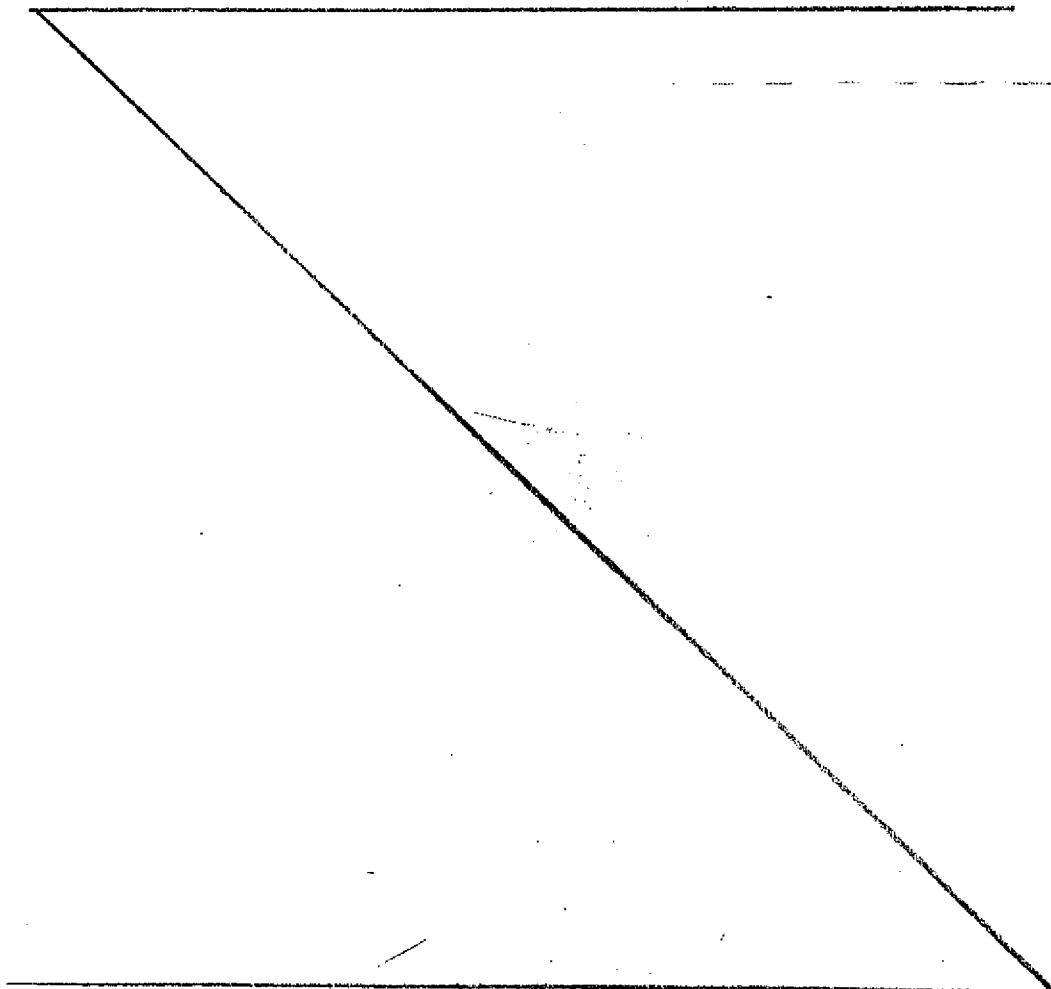
- 31) Il peptide Cbc-Gln-gPhe-(R)mAla-Pro in cui tutti gli amminoacidi hanno configurazione L;
- 32) Il peptide Cbc-Gln-gPhe-mGly-Pro in cui tutti gli amminoacidi hanno configurazione L;
- 33) Il peptide Cpc-Gln-gPhe-(S)mAla-Pro in cui tutti gli amminoacidi hanno configurazione L;
- 34) Il peptide Cpc-Gln-gPhe-(R)mAla-Pro in cui tutti gli amminoacidi hanno configurazione L;
- 35) Il peptide Cpc-Gln-gPhe-mGly-Pro in cui tutti gli amminoacidi hanno configurazione L;
- 36) Il peptide Chc-Gln-gPhe-(S)mAla-Pro in cui tutti gli amminoacidi hanno configurazione L;
- 37) Il peptide Chc-Gln-gPhe-(R)mAla-Pro in cui tutti gli amminoacidi hanno configurazione L;
- 38) Il peptide Chc-Gln-gPhe-mGly-Pro in cui tutti gli amminoacidi hanno configurazione L;
- 39) Il peptide Glp-Lys-gPhe-(S)mAla-Ala in cui tutti gli amminoacidi hanno configurazione L;
- 40) Il peptide Glp-Lys-gPhe-(R)mAla-Ala in cui tutti gli amminoacidi hanno configurazione L;
- 41) Il peptide Glp-Lys-gPhe-mGly-Ala in cui tutti gli amminoacidi hanno configurazione L;
- 42) Il peptide Cbc-Lys-gPhe-(S)mAla-Ala in cui tutti gli amminoacidi hanno configurazione L;
- 43) Il peptide Cbc-Lys-gPhe-(R)mAla-Ala in cui tutti gli

- amminoacidi hanno configurazione L;
- 44) Il peptide Cbc-Lys-gPhe-mGly-Ala in cui tutti gli amminoacidi hanno configurazione L;
- 45) Il peptide Cpc-Lys-gPhe-(S)mAla-Ala in cui tutti gli amminoacidi hanno configurazione L;
- 46) Il peptide Cpc-Lys-gPhe-(R)mAla-Ala in cui tutti gli amminoacidi hanno configurazione L;
- 47) Il peptide Cpc-Lys-gPhe-mGly-Ala in cui tutti gli amminoacidi hanno configurazione L;
- 48) Il peptide Chc-Lys-gPhe-(S)mAla-Ala in cui tutti gli amminoacidi hanno configurazione L;
- 49) Il peptide Chc-Lys-gPhe-(R)mAla-Ala in cui tutti gli amminoacidi hanno configurazione L;
- 50) Il peptide Chc-Lys-gPhe-mGly-Ala in cui tutti gli amminoacidi hanno configurazione L;
- 51) Il peptide Glp-Lys-gIle-(S)mAla-Pro in cui tutti gli amminoacidi hanno configurazione L;
- 52) Il peptide Glp-Lys-gIle-(R)mAla-Pro in cui tutti gli amminoacidi hanno configurazione L;
- 53) Il peptide Glp-Lys-gIle-mGly-pro in cui tutti gli amminoacidi hanno configurazione L;
- 54) Il peptide Cbc-Lys-gIle-(S)mAla-Pro in cui tutti gli amminoacidi hanno configurazione L;
- 55) Il peptide Cbc-Lys-gIle-(R)mAla-Pro in cui tutti gli amminoacidi hanno configurazione L;

- 56) Il peptide Cbc-Lys-gIle-mGly-Pro in cui tutti gli amminoacidi hanno configurazione L;
- 57) Il peptide Cpc-Lys-gIle-(S)mAla-Pro in tutti gli amminoacidi hanno configurazione L;
- 58) Il peptide Cpc-Lys-gIle-(R)mAla-Pro in cui tutti gli amminoacidi hanno configurazione L;
- 59) Il peptide Cpc-Lys-gIle-mGly-Pro in cui tutti gli amminoacidi hanno configurazione L;
- 60) Il peptide Chc-Lys-gIle-(S)mAla-Pro in cui tutti gli amminoacidi hanno configurazione L;
- 61) Il peptide Chc-Lys-gIle-(R)mAla-Pro in cui tutti gli amminoacidi hanno configurazione L;
- 62) Il peptide Chc-Lys-gIle-mGly-Pro in cui tutti gli amminoacidi hanno configurazione L;



- 63) Il peptide Pro-Lys-gPhe-(S)mAla-Pro in cui tutti gli amminoacidi hanno configurazione L;
- 64) Il peptide Pro-Lys-gPhe-(R)mAla-Pro in cui tutti gli amminoacidi hanno configurazione l;
- 65) Il peptide Pro-Lys-gPhe-mGly-Pro in cui tutti gli amminoacidi hanno configurazione L;
- 66) Il peptide Boc-Lys-gPhe-(S)mAla-Pro in cui tutti gli amminoacidi hanno configurazione L;
- 67) Il peptide Boc-Lys-gPhe-(R)mAla-Pro in cui tutti gli amminoacidi hanno configurazione L;
- 68) Il peptide Boc-Lys-gPhe-mGly-Pro in cui tutti gli amminoacidi hanno configurazione L;



L'oggetto della presente invenzione sarà più chiaro dopo la lettura del seguente esempio che ha soltanto funzione illustrativa e non deve essere considerato in nessun modo limitativo della invenzione stessa.

Esempio

Sintesi di Piroglutammil-lisil-gemfenilalanil-(S)malonil(2-metil)-prolina e piroglutammil-lisil-gemfenilalanil-(R)malonil(2-metil)-prolina.

- Sintesi di  $N^{\alpha}$ -tert-butilossicarbonil-fenilalaninamide. Boc PheNH<sub>2</sub>

1.0 equivalenti di BocPhe sono sciolti in THF anidro ed alla soluzione, raffreddata a -15°C e mantenuta in atmosfera d'azoto, sono aggiunti 1.0 equivalenti di NMM e 1.1 equivalenti di isobutilcloroformiato.

Dopo 2 minuti sono aggiunti 1.3 equivalenti di idrossido d'ammonio in soluzione acquosa al 28%.

Durante le aggiunte si controlla che la temperatura non superi -10°C.

Dopo 2 ore la reazione è sospesa evaporando i solventi a piccolo volume e precipitando il prodotto con un eccesso di acqua. Il precipitato è filtrato, lavato con H<sub>2</sub>O e quindi seccato su P<sub>2</sub>O<sub>5</sub>.

P.f. = 147 - 148°C

$[\alpha]_{25}^{589} = 0.54$  (C = 3.0 in DMF)

Analisi elementare per C<sub>14</sub>H<sub>20</sub>N<sub>2</sub>O<sub>3</sub>

Teorico C, 63.61; H, 7.63; N, 10.60

Trovato C, 63.50; H, 7.70; N, 10.61

L'analisi cromatografica (t.l.c. ed h.p.l.c.) non rivela presenza d'impurezze, mentre lo spettro  $^1\text{H}$  n.m.r. conferma la struttura della molecola.

- Sintesi di N -Benzilossicarbonil-lisil( $\epsilon$  tert-butilos-sicarbonile)fenilalanilammide. ZLys(Boc)-PheNH<sub>2</sub>

1.0 equivalenti di ZLys(Boc) sono sciolti in THF anidro ed alla soluzione, raffreddata a  $-15^\circ\text{C}$  e mantenuta in atmosfera d'azoto, sono aggiunti 1.0 equivalenti in NMM e 1.1 equivalenti di isobutilcloroformiato.

Dopo 2 minuti è aggiunta una soluzione ottenuta sciogliendo 1.0 equivalenti di HCl.PheNH<sub>2</sub> (ottenuti per rimozione del tert-butilossicarbonile da BocPheNH<sub>2</sub> con HCl 4.5 N in EtOAc) e 1.0 equivalenti di NMM in DMF. Durante l'aggiunta dell'isobutilcloroformiato e del PheNH<sub>2</sub> si controlla che la temperatura non superi  $-10^\circ\text{C}$ .

Controllata la scomparsa di PheNH<sub>2</sub>, la reazione è sospesa per evaporazione a secchezza della miscela solvente; il residuo, ripreso con EtOAc è lavato con bicarbonato di sodio al 5%, acqua, acido citrico al 5%, acqua.

La soluzione di EtOAc è seccata su solfato di magnesio ed il prodotto, ottenuto per evaporazione del solvente, è lavato con Et<sub>2</sub>O e seccato.

P.f. = 182 - 184°C

$$[\alpha]_{21}^{589} = -20.8^{\circ} \quad (C=1.0 \text{ DMF})$$

Analisi elementare per  $C_{28}H_{30}N_4O_6$

Teorico: C, 63.86; H, 7.27; N, 10.64

Trovato: C, 63.77; H, 7.0; N, 10.59

L'analisi cromatografica (t.l.c. ed h.p.l.c.) non rivela presenza di impurezze e lo spettro  $^1H$  n.m.r. conferma la struttura della molecola.

Sintesi di Piroglutammi-lisil( $\epsilon$  tert-butilossicarbo-  
nil) -fenilalaninammide Glp-Lys(Boc)-PheNH<sub>2</sub>

1.2 equivalenti di Glp sono sciolti in THF anidro e alla soluzione, raffreddata a  $-15^{\circ}C$  e mantenuta in atmosfera d'azoto, sono aggiunti 1.0 equivalenti di NMM ed 1.1 di NMM ed 1.1 equivalenti di isobutilcloroformiato. Dopo 2 minuti sono aggiunti 1.0 equivalenti di Lys(Boc)-PheNH<sub>2</sub>

sciolti in DMF e ottenuti per rimozione del benzilossi-carbonile da ZLys(Boc)-PheNH<sub>2</sub> mediante idrogenazione catalitica con Pd al 10% su carbone.

Durante l'aggiunta dell'isobutilcloroformiato e del Lys(Boc)-PheNH<sub>2</sub> si controlla che la temperatura non superi  $-10^{\circ}C$ .

Controllata la scomparsa di Lys(Boc)-PheNH<sub>2</sub>, la reazione è sospesa per evaporazione a secchezza della miscela solvente; il residuo solido è lavato con bicarbonato di sodio al

-----  
-----

5%, acqua, acido citrico al 5%, acqua; dopo essiccamento su  $P_2O_5$  il prodotto è ulteriormente lavato con  $Et_2O$  e seccato.

P.f. = 180 - 182°C

$[\alpha]_{24}^{589} = -19.68$  (C=0.56 in DMF: esafluoroisopropanolo 1:1 v/v)

Analisi elementare per  $C_{25}H_{37}N_5O_6$

Teorico C, 59.62; H, 7.41; N, 13.91

Trovato C, 59.59; H, 7.32; N, 13.85

Lo spettro  $^1H$  n.m.r. conferma la struttura della molecola, mentre l'analisi cromatografica (t.l.c. ed h.p.l.c.) indica che il prodotto è puro.

Sintesi dell'etilestere del (R,S)malonil(2-metil)-prolina-tertbutilestere.  $EtO(R,S)mAla-Pro-O^tBu$

1.2 equivalenti di  $EtO(R,S)mAla$  sono sciolti in  $CH_2Cl_2$  ed alla soluzione raffreddata a 0°C, vengono aggiunti 1.5 equivalenti di HOBt sciolti in DMF e 1.3 equivalenti di DCC sciolti in  $CH_2Cl_2$ . Dopo 20 minuti, alla miscela fredda sono aggiunti 1.0 equivalenti di  $Pro-O^tBu$ .

Il bagno di ghiaccio viene rimosso dopo circa 1 ora.

Dopo 20 ore, controllata la scomparsa della  $ProO^tBu$  di partenza, la miscela di reazione viene filtrata, la DCU sul filtro viene lavato con THF freddo; la soluzione risultante e il THF di lavaggio sono riuniti ed evaporate a secchezza; l'olio risultante è ripreso con EtOAc e

lavato con bicarbonato di sodio al 5%, acqua, acido citrico al 5%, acqua. La soluzione di EtOAc è seccata su solfato di magnesio; il solvente è poi evaporato, ottenendo il prodotto sotto forma di olio incolore.

$$[\alpha]_{21}^{589} = -17.62 \quad (C = 1.2 \text{ in DMF})$$

Analisi elementare per  $C_{15}H_{25}NO_5$

Teorico        C, 60.19; H, 8.42; N, 4.68

Trovato        C, 60.01; H, 8.36; N, 4.61

L'analisi cromatografica (t.l.c. ed h.p.l.c.) non rivela presenza di impurezze, mentre lo spettro  $^1H$  n.m.r. conferma la struttura della molecola.

Sintesi di (R,S)malonil(2-metil)-prolina-tert-butilestere.  
re. (R,S)mAla-Pro-O<sup>t</sup>Bu

1.0 equivalenti di EtO(R,S)mAla-Pro-O<sup>t</sup>Bu sono sciolti in MeOH ed alla soluzione sono aggiunti 3 equivalenti di NaOH 3M in soluzione acquosa. Verificata la scomparsa dell'estere di partenza, il MeOH viene diluito con acqua; il MeOH è evaporato e sulla soluzione risultante sono fatti lavaggi con EtOAc; poi la soluzione acquosa è acidificata a pH = 2 con acido solforico concentrato e il prodotto è estratto esaurientemente con EtOAc, quest'ultime frazioni organiche sono riunite, seccate su solfato di magnesio, filtrate ed evaporate a secchezza, ottenendo il prodotto voluto sotto forma di olio incolore.

$$[\alpha]_{21}^{589} = -53.16 \quad (C=1.5 \text{ in DMF})$$

Analisi elementare per  $C_{13}H_{21}NO_5$

Teorico C, 57.55; H, 7.80; N, 5.16

Trovato C, 57.42; H, 7.71; N, 5.09

L'analisi cromatografica (t.l.c. ed h.p.l.c.) non rivela presenza di impurezze, mentre lo spettro  $^1H$  n.m.r. conferma la struttura della molecola.

Sintesi del cloridrato di Piroglutamnil-lisil(N- $\epsilon$ -tert-butilossicarbonil)-gemdiammoniofenilalanina. Glp-Lys(Boc)-gPhe.HCl.

1.0 equivalenti di Glp-Lys(Boc)-PheNH<sub>2</sub> sono sospesi in una soluzione di MeCN-H<sub>2</sub>O (3:2 v/v) ed alla sospensione sono aggiunti, a temperatura ambiente e sotto rigorosa agitazione, 1,2 equivalenti di BTI sciolti in acetonitrile.

Nella miscela di reazione viene fatto gorgogliare un gas inerte per facilitare la rimozione della CO<sub>2</sub> sviluppatasi nel corso della reazione.

Verificata la scomparsa di Glp-Lys(Boc)-PheNH<sub>2</sub>, la reazione viene sospesa dopo 3 ore per evaporazione a secchezza e sono aggiunti 1.0 equivalenti di HCl sciolti in EtOAc; per aggiunta di Et<sub>2</sub>O si ottiene un precipitato bianco, che è filtrato, lavato con E<sub>2</sub>O e seccato.

P.f. = 190 - 193 °C (decomp.)

$[\alpha]_{21}^{589} = -25.41$  (C = 1.22 in DMF)

Analisi elementare per  $C_{24}H_{38}N_5O_5Cl$

Teorico C, 56.59; H, 7.48; N, 13.69

Trovato C, 56.13; H, 7.54; N, 13.58

L'analisi cromatografica (t.l.c. ed h.p.l.c.) ed  $^1\text{H}$  n.m.r. non rivelano presenza d'impurezze e confermano la struttura della molecola.

Sintesi di Piroglutammi-lisin ( $\text{N}^\xi$ -tert-butilossicarbonyl) -gemdiamminofenilalanil-(R,S) malonil(2-metil)-prolina -tert-butilestere. Glp-Lys(Boc)-gPhe-(R,S)mAla-Pro- $^t\text{O}$  Bu. Separazione dei due diastereoisomeri.

1.0 equivalenti di (R,S)mAla-Pro $^t\text{O}$  Bu sono sciolti in THF e alla soluzione, raffreddata a  $0^\circ\text{C}$ , sono aggiunti 1.2 equivalenti di HOBt sciolti in DMF e 1.1 equivalenti di DCC sciolti in THF. Dopo 20 minuti, alla miscela fredda sono aggiunti 1.0 equivalenti di Glp-Lys(Boc)-gPhe.HCl sciolti in DMF e 1.0 equivalenti di NMM.

Il bagno di ghiaccio è rimosso dopo un'ora e la miscela è lasciata reagire per una notte. Dopo filtrazione del precipitato di DCU, che viene lavato con THF freddo; la soluzione e il THF di lavaggio sono riuniti e concentrati a piccolo volume: per aggiunta di un largo eccesso di  $\text{H}_2\text{O}$  si ottiene un'aliquota del prodotto voluto sotto forma di precipitato bianco. La soluzione risultante è evaporata a secchezza, ripresa con EtOH e per aggiunta di etere di petrolio  $30 - 50^\circ\text{C}$  si ottiene la rimanente aliquota del prodotto voluto.

I due diastereoisomeri sono separati per cromatografia

liquida preparativa ad alta pressione in fase inversa con fase stazionaria costituita da 35 g di resina Lichroprep 25-40  $\mu\text{m}$  (Merck) ed utilizzando come eluente MeCN al 37.5% in acqua. I prodotti vengono poi recuperati per liofilizzazione, dopo evaporazione di MeCN.

-diastereoisomero Glp-Lys(Boc)-gPhe-(S)mAla-ProO<sup>t</sup>Bu.

P.f. = 173 - 175°C

$[\alpha]_{21}^{589} = 28.84$  (C = 1.12 in MeOH)

Analisi elementare per C<sub>37</sub>H<sub>56</sub>N<sub>6</sub>O<sub>9</sub>

Teorico C, 60.97; H, 7.76; N, 11.63

Trovato C, 60.70; H, 7.68; N, 11.53

-diastereoisomero Glp-Lys(Boc)-gPhe(R)mAla-Pro-O<sup>t</sup>Bu

P.f. = 130 -140°C

$[\alpha]_{21}^{589} = -39.63$  (C = 0.55 in MeOH)

Analisi elementare per C<sub>37</sub>H<sub>56</sub>N<sub>6</sub>O<sub>9</sub>

Teorico C, 60.97; H, 7.76; N, 11.63

Trovato C, 60.88; H, 7.70; N, 11.59

L'analisi cromatografica (t.l.c. ed h.p.l.c.) ed <sup>1</sup>H n.m.r. non rivelano presenza d'impurezze e confermano la struttura della molecola.

Sintesi di Prioglutammil-lisil(N<sup>ε</sup>-cloridrato)gemdiamminofenilalanil-(S)malonil(2-metil)prolina.Glp-Lys--gPhe-(S) mAla-Pro.

1.0 equivalenti di Glp-Lys(Boc)-gPhe-(S)mAla-ProO<sup>t</sup>Bu sono sciolti in una soluzione di HCl 4.5N in EtOAc.

Verificata la scomparsa del prodotto di partenza, il solvente di reazione è evaporato a secchezza, il residuo è ripreso in MeOH e precipitato con Et<sub>2</sub>O. Il prodotto voluto è isolato per cromatografia liquida preparativa ad alta pressione in fase inversa con fase stazionaria costituita da 35 g di Lichroprep 25 - 40 μm (Merck) ed utilizzando come eluente TFA 0.1% in acqua/MeCN 15%. Le frazioni contenenti il prodotto vengono raccolte, neutralizzate con trietilammina; poi il MeCN è evaporato e per liofilizzazione si ottiene il prodotto.

$$[\alpha]_{24}^{589} = -26.08 \quad (C = 0.85 \text{ in MeOH})$$

Analisi elementare per C<sub>28</sub>H<sub>41</sub>N<sub>6</sub>O<sub>7</sub>Cl

Teorico C, 55.21; H, 6.78; N, 13.80

Trovato C, 55.10; H, 6.58; N, 13.73

L'analisi cromatografica (t.l.c. ed h.p.l.c.) non rivela presenza di impurezze, mentre lo spettro <sup>1</sup>H n.m.r. conferma la struttura della molecola.

Sintesi di Piroglutamyl-lisil(N cloridrato)-gemdiammino-fenilalanil-(R)malonil(2-metil)-prolina.Glp--  
Lys-gPhe-(R)mAla-Pro.

1.0 equivalenti di Glp-Lys(Boc)-gPhe-(R)mAla-ProO<sup>t</sup>Bu sono sciolti in una soluzione di HCl 4.5N in EtOAc.

Verificata la scomparsa del prodotto di partenza, il solvente di reazione è evaporato a secchezza, il residuo è ripreso in MeOH e precipitato con Et<sub>2</sub>O. Il prodotto voluto



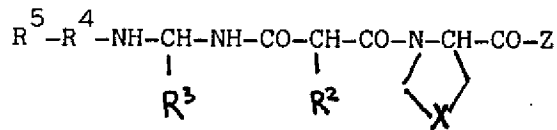
amminoacidico tra quelli comunemente presenti nei peptidi naturali;  $R^3$  e  $R^2$  possono essere uguali o diversi tra di loro e, presi singolarmente, rappresentano le catene laterali degli amminoacidi presenti nei peptidi naturali; A rappresenta un atomo d'idrogeno, un gruppo alchilico, arilico, idrossialchilenico o arilalchilenico; B rappresenta un atomo di idrogeno, un gruppo alchilico, arilico, arilalchilenico, idrossialchilenico, guanidilalchilenico, amminoalchilenico, alchilossialchilenico, acilamminoalchilenico, imidazoilalchilenico, indolilalchilenico, mercaptoalchilenico, alchilmercaptoalchilenico, carbamoilalchilenico, carbossialchilalchilenico, alchilcarbamoilalchilenico o alchilossicarbonilalchilenico.

A e B presi assieme possono essere in residuo  $-(CH_2)_m$  chiuso ad anello sugli atomi di azoto e carbonio a cui sono uniti, con m uguale a 2,3 o 4.

Un atomo di carbonio del ponte  $(-CH_2)_m$  può essere unito direttamente a un gruppo ossidrilico; oppure A e B, presi assieme, sono uniti tra di loro da un ponte di atomi di carbonio contenenti un legame olefinico che completa l'anello a 5 o 6 atomi con l'azoto e il carbonio ai quali sono uniti; oppure A e B, presi assieme, sono uniti tra di loro da un ponte  $-CH_2-S--(CH_2)_q$  oppure  $-CH_2-O-(CH_2)_q$  che completa anello di 5 o

6 atomi con l'azoto e il carbonio ai quali sono uniti, dove q è 1 o 2; B può anche essere legato all'atomo di carbonio da legami non saturi; Z rappresenta un gruppo ossidrilico, alchilossidrilico ed amminico.

- 2) Composti secondo la rivendicazione rispondenti alla seguente formula particolare:



dove  $R^5$  può essere un arilalchilenossicarbonile, alchilossicarbonile, oppure un gruppo acilico alifatico a catena ciclica satura o insatura, oppure a catena lineare o ramificata satura o insatura; oppure  $R^5$  rappresenta un residuo amminoacidico tra quelli comunemente presenti nei peptidi naturali;  $R^4$  rappresenta un residuo amminoacido tra quelli comunemente presenti nei peptidi naturali;  $R^3$  e  $R^2$  sono uguali o diversi tra di loro e, presi singolarmente, rappresentano le catene laterali degli amminoacidi comunemente presenti nei peptidi naturali; X può essere S, O oppure  $(CH_2)_p$  con p uguale a 0, 1 o 2; Z è un gruppo ossidrilico, alchilossidrilico o amminico.

- 3) Il peptide Glp-Lys-gPhe-(S)mAla-Pro in cui tutti gli amminoacidi hanno configurazione L;
- 4) Il peptide Glp-Lys-gPhe-(R)mAla-Pro in cui tutti gli amminoacidi hanno configurazione L;

- 5) Il peptide Glp-Lys-gPhe-mGly-Pro in cui tutti gli amminoacidi hanno configurazione L;
- 6) Il peptide Cbc-Lys-gPhe-(S)mAla-Pro in cui tutti gli amminoacidi hanno configurazione L;
- 7) Il peptide Cbc-Lys-gPhe-(R)mAla-Pro in cui tutti gli amminoacidi hanno configurazione L;
- 8) Il peptide Cbc-Lys-gPhe-mGly-Pro in cui tutti gli amminoacidi hanno configurazione L;
- 9) Il peptide Cpc-Lys-gPhe-(S)mAla-Pro in cui tutti gli amminoacidi hanno configurazione L;
- 10) Il peptide Cpc-Lys-gPhe-(R)mAla-Pro in cui tutti gli amminoacidi hanno configurazione L;
- 11) Il peptide Cpc-Lys-gPhe-mGly-Pro in cui tutti gli amminoacidi hanno configurazione L;
- 12) Il peptide Chc-Lys-gPhe-(S)mAla-Pro in cui tutti gli amminoacidi hanno configurazione L;
- 13) Il peptide Chc-Lys-gPhe-(R)mAla-Pro in cui tutti gli amminoacidi hanno configurazione L;
- 14) Il peptide Chc-Lys-gPhe-mGly-Pro in cui tutti gli amminoacidi hanno configurazione L;
- 15) Il peptide Glp-Nle-gPhe-(S)mAla-Pro in cui tutti gli amminoacidi hanno configurazione L;
- 16) Il peptide Glp-Nle-gPhe-(R)mAla-Pro in cui tutti gli amminoacidi hanno configurazione L;
- 17) Il peptide Glp-Nle-gPhe-mGly-Pro in cui tutti gli

- amminoacidi hanno configurazine L;
- 18) Il peptide Cbc-Nle-gPhe-(S)mAla-Pro in cui tutti gli amminoacidi hanno configurazione L;
- 19) Il peptide Cbc-Nle-gPhe-(R)mAla-Pro in cui tutti gli amminoacidi hanno configurazione L;
- 20) Il peptide Cbc-Nle-gPhe-mGly-Pro in cui tutti gli amminoacidi hanno configurazione L;
- 21) Il peptide Cpc-Nle-gPhe-(S)mAla-Pro in cui tutti gli amminoacidi hanno configurazione L;
- 22) Il peptide Cpc-Nle-gPhe-(R)mAla-Pro in cui tutti gli amminoacidi hanno configurazione L;
- 23) IL peptide Cpc-Nle-gPhe-mGly-Pro in cui tutti gli amminoacidi hanno configurazione L;
- 24) Il peptide Chc-Nle-gPhe-(S)mAla-Pro in cui tutti gli amminoacidi hanno configurazione L;
- 25) Il peptide Chc-Nle-gPhe-(R)mAla-Pro in cui tutti gli amminoacidi hanno configurazione L;
- 26) Il peptide Chc-Nle-gPhe-mGly-Pro in cui tutti gli amminoacidi hanno configurazione L;
- 27) Il peptide Glp-Gln-gPhe-(S)mAla-Pro in cui tutti gli amminoacidi hanno configurazione L;
- 28) Il peptide Glp-Gln-gPhe-(R)mAla-Pro in cui tutti gli amminoacidi hanno configurazione L;
- 29) Il peptide Glp-Gln-gPhe-mGly-Pro in cui tutti gli amminoacidi hanno configurazione L;

- 30) Il peptide Cbc-Gln-gPhe-(S)mAla-Pro in cui tutti gli amminoacidi hanno configurazione L;
- 31) Il peptide Cbc-Gln-gPhe-(R)mAla-Pro in cui tutti gli amminoacidi hanno configurazione L;
- 32) Il peptide Cbc-Gln-gPhe-mGly-Pro in cui tutti gli amminoacidi hanno configurazione L;
- 33) Il peptide Cpc-Gln-gPhe-(S)mAla-Pro in cui tutti gli amminoacidi hanno configurazione L;
- 34) Il peptide Cpc-Gln-gPhe-(R)mAla-Pro in cui tutti gli amminoacidi hanno configurazione L;
- 35) Il peptide Cpc-Gln-gPhe-mGly-Pro in cui tutti gli amminoacidi hanno configurazione L;
- 36) Il peptide Chc-Gln-gPhe-(S)mAla-Pro in cui tutti gli amminoacidi hanno configurazione L;
- 37) Il peptide Chc-Gln-gPhe-(R)mAla-Pro in cui tutti gli amminoacidi hanno configurazione L;
- 38) Il peptide Chc-Gln-gPhe-mGly-Pro in cui tutti gli amminoacidi hanno configurazione L;
- 39) Il peptide Glp-Lys-gPhe-(S)mAla-Ala in cui tutti gli amminoacidi hanno configurazione L;
- 40) Il peptide Glp-Lys-gPhe-(R)mAla-Ala in cui tutti gli amminoacidi hanno configurazione L;
- 41) Il peptide Glp-Lys-gPhe-mGly-Ala in cui tutti gli amminoacidi hanno configurazione L;
- 42) Il peptide Cbc-Lys-gPhe-(S)mAla-Ala in cui tutti gli

- amminoacidi hanno configurazione L;
- 43) Il peptide Cbc-Lys-gPhe-(R)mAla-Ala in cui tutti gli amminoacidi hanno configurazione L;
- 44) Il peptide Cbc-Lys-gPhe-mGly-Ala in cui tutti gli amminoacidi hanno configurazione L;
- 45) Il peptide Cpc-Lys-gPhe-(S)mAla-Ala in cui tutti gli amminoacidi hanno configurazione L;
- 46) Il peptide Cpc-Lys-gPhe-(R)mAla-Ala in cui tutti gli amminoacidi hanno configurazione L;
- 47) Il peptide Cpc-Lys-gPhe-mGly-Ala in cui tutti gli amminoacidi hanno configurazione L;
- 48) Il peptide Chc-Lys-gPhe-(S)mAla-Ala in cui tutti gli amminoacidi hanno configurazione L;
- 49) Il peptide Chc-Lys-gPhe-(R)mAla-Ala in cui tutti gli amminoacidi hanno configurazione L;
- 50) Il peptide Chc-Lys-gPhe-mGly-Ala in cui tutti gli amminoacidi hanno configurazione L;
- 51) Il peptide Glp-Lys-gIle-(S)mAla-Pro in cui tutti gli amminoacidi hanno configurazione L;
- 52) Il peptide Glp-Lys-gIle-(R)mAla-Pro in cui tutti gli amminoacidi hanno configurazione L;
- 53) Il peptide Glp-Lys-gIle-mGly-pro in cui tutti gli amminoacidi hanno configurazione L;
- 54) Il peptide Cbc-Lys-gIle-(S)mAla-Pro in cui tutti gli amminoacidi hanno configurazione L;

- 55) Il peptide Cbc-Lys-gIle-(R)mAla-Pro in cui tutti gli amminoacidi hanno configurazione L;
- 56) Il peptide Cbc-Lys-gIle-mGly-Pro in cui tutti gli amminoacidi hanno configurazione L;
- 57) Il peptide Cpc-Lys-gIle-(S)mAla-Pro in tutti gli amminoacidi hanno configurazione L;
- 58) Il peptide Cpc-Lys-gIle-(R)mAla-Pro in cui tutti gli amminoacidi hanno configurazione L;
- 59) Il peptide Cpc-Lys-gIle-mGly-Pro in cui tutti gli amminoacidi hanno configurazione L;
- 60) Il peptide Chc-Lys-gIle-(S)mAla-Pro in cui tutti gli amminoacidi hanno configurazione L;
- 61) Il peptide Chc-Lys-gIle-(R)mAla-Pro in cui tutti gli amminoacidi hanno configurazione L;
- 62) Il peptide Chc-Lys-gIle-mGly-Pro in cui tutti gli amminoacidi hanno configurazione L;
- 63) Il peptide Pro-Lys-gPhe-(S)mAla-Pro in cui tutti gli amminoacidi hanno configurazione L;
- 64) Il peptide Pro-Lys-gPhe-(R)mAla-Pro in cui tutti gli amminoacidi hanno configurazione l;
- 65) Il peptide Pro-Lys-gPhe-mGly-Pro in cui tutti gli amminoacidi hanno configurazione L;
- 66) Il peptide Boc-Lys-gPhe-(S)mAla-Pro in cui tutti gli amminoacidi hanno configurazione L;
- 67) Il peptide Boc-Lys-gPhe-(R)mAla-Pro in cui tutti gli

- amminoacidi hanno configurazione L;
- 68) Il peptide Boc-Lys-gPhe-mGly-Pro in cui tutti gli amminoacidi hanno configurazione L;
- 69) Un processo per produrre i peptidi corrispondenti alla formula generale (I) della rivendicazione 1 comporta la condensazione di un gem-diammino derivato di formula generale (II), dove  $R^5$ ,  $R^4$  e  $R^3$  hanno lo stesso significato loro attribuito in precedenza e dove le funzioni amminiche, ossidriliche, carbossiliche, carbossiammidiche, indoliche, imidazoliche, guanidiniche, mercaptaniche e sulfidriliche, se presenti in  $R^5$ ,  $R^4$  e  $R^3$ , sono opportunamente protette con un frammento peptidico di formula generale (III), nel quale  $R^2$ , A, B, e Z hanno lo stesso significato loro attribuito in precedenza e dove le funzioni amminiche, ossidriliche, carbossiliche, carbossiammidiche, indoliche, imidazoliche, guanidiniche, mercaptaniche e sulfidriliche, se presenti in  $R^2$ , A, B e Z, sono opportunamente protette.
- 70) Un processo per la separazione dei diastereoisomeri utilizzando la resina Lichroprep 25 - 40  $\mu\text{m}$  (Merck) come fase stazionaria per la cromatografia liquida preparativa ad alta pressione in fase inversa ed utilizzando come eluenti opportune miscele di  $\text{H}_2\text{O}$ : MeCN.

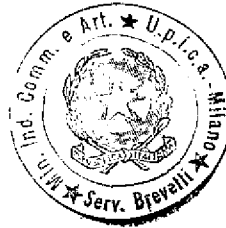
# Assoreni

42.

ASSORENI

*cc*

23 NOV. 1982



l'Ufficiale Rogante  
(Pietro Meschini)

*Pietro Meschini*