

POPIS VYNÁLEZU K PATENTU

235072
(11) (B2)



ÚŘAD PRO VYNÁLEZY
A OBJEVY

(22) Přihlášeno 28 09 78

(21) [PV 6285-78]

(32) (31) (33) Právo přednosti od 03 10 77
[838 516] Spojené státy americké

(40) Zveřejněno 31 08 84

(45) Vydáno 15 02 87

(51) Int. Cl.³
C 07 C 103/52

(72)

Autor vynálezu

SMITHWICK EDWARD LEE, Jr., INDIANAPOLIS, INDIANA,
FREDERICKSON ROBERT CURTIS ARTHUR, INDIANAPOLIS, INDIANA,
SHUMAN ROBERT THEODORE, GREENWOOD, INDIANA (Sp. st. a.)

(73)

Majitel patentu

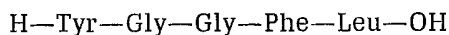
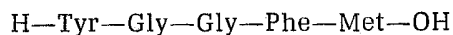
ELI LILLY AND COMPANY, INDIANAPOLIS, INDIANA (Sp. st. a.)

(54) Způsob výroby nových derivátů L-tyrosyl-D-alanyl-glycyl-L-fenylalanylamidu

1

Vynález se týká způsobu výroby nové skupiny sloučenin vykazujících při parenterálním podání analgetickou účinnost.

V poslední době byly z mozku nebo mozkomíšního moku savců extrahovány endogenní látky s vlastnostmi morfinového typu. Tyto látky, pojmenované jako enkefalin, identifikovali Hughes a spol. [Nature, 258, 577 (1975)] jako pentapeptidy s následujícími řetězci:



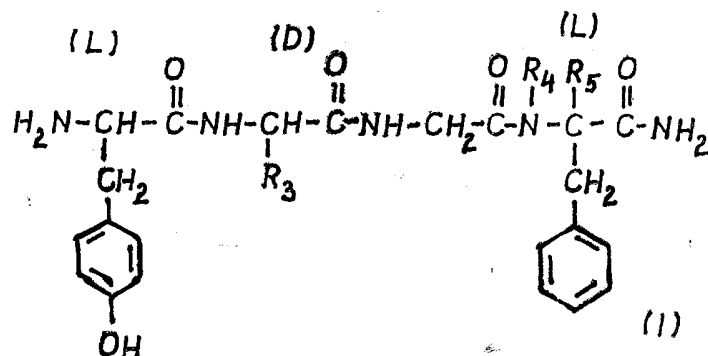
Tyto látky se nazývají methionin-enkefalin resp. leucin-enkefalin.

2

I když bylo prokázáno, že tyto sloučeniny při intracerebroventrikulární aplikaci myším vykazují analgetickou účinnost [viz Buscher a spol., Nature, 261, 423 (1976)], při parenterálním podání nemají prakticky vůbec žádnou analgetickou účinnost.

Nyní byl nalezen způsob výroby nové skupiny sloučenin, které při systemické aplikaci vykazují významnou a prokazatelnou analgetickou účinnost.

V souhlase s tím se vynález týká způsobu výroby derivátů L-tyrosyl-D-alanyl-glycyl-L-fenylalanylamidu



ve kterém

L a D, tam, kde je to vhodné, definují chiralitu,

R_3 představuje alkylovou skupinu s 1 až 4 atomy uhlíku,

R_4 představuje atom vodíku nebo primární alkylovou skupinu s 1 až 3 atomy uhlíku a

R_5 znamená atom vodíku nebo primární alkylovou skupinu s 1 až 3 atomy uhlíku, s tím, že jeden ze symbolů R_4 a R_5 znamená vždy primární alkylovou skupinu s 1 až 3 atomy uhlíku a druhý atom vodíku, a jejich farmaceuticky upotřebitelných netoxických adičních solí s kyselinami, vyznačující se tím, že se ze sloučeniny odpovídající obecného vzorci I, v němž jsou aminoskupina nebo/a hydroxyskupina v L-tyrosylovém zbytku vhodným způsobem chráněny, odštěpí chránicí skupiny působením kyselého prostředí.

Farmaceuticky upotřebitelné netoxické adiční soli s kyselinami zahrnují adiční soli s organickými a anorganickými kyselinami, jako například soli odvozené od kyseliny chlorovodíkové, sírové, sulfonové, vinné, fumarové, bromovodíkové, glykolové, citrónové, maleinové, fosforečné, jantarové, octové, dusičné, benzoové, askorbové, p-toluen-sulfonové, benzensulfonové, naftalensulfonové a propionové.

Výhodnými adičními solemi s kyselinami jsou soli odvozené od kyseliny chlorovodíkové, kyseliny octové nebo kyseliny jantarové. Všechny shora zmíněné soli se připravují běžnými metodami.

Jak je z definice různých substituentů obsažených v obecném vzorci I zřejmé, jsou sloučeniny definované touto strukturou primárními amidickými deriváty konkrétně definovaných tetrapeptidů. Základním aspektem sloučenin obecného vzorce I je jejich stereokonfigurace. Pro zjednodušení se zbytky aminokyselin modifikovaných tetrapeptidů obecného vzorce I číslují postupně počínaje od zbytku na terminální aminové funkci.

Chiralita zbytků aminokyseliny, postupuje-li se od polohy 1 do polohy 3, je L, D a žádná. Zbytkem v poloze 3 je totiž glycinový zbytek, v jehož případě chiralita neexistuje. Pokud jde o polohu 4 (C-terminální poloha), kterou se označuje primární amidický zbytek, je chiralita této polohy definována jako chiralita odpovídající příslušnému žádanému zbytku L-aminokyseliny.

Primárními alkylovými skupinami s 1 až 3 atomy uhlíku ve významu symbolů R_4 a R_5 jsou methylové, ethylové a n-propylové skupiny.

Alkylovou skupinou s 1 až 4 atomy uhlíku ve významu symbolu R_3 se míní skupina methylová, ethylová, n-propylová, isopropylová, n-butylová, isobutylová a sek.butylová.

V následující části je blíže diskutován charakter jednotlivých zbytků v každé z poloh modifikovaných tetrapeptidů obecného vzorce I.

(A) Poloha 1

Tato poloha představuje amino-terminální část peptidu. Zbytkem v této poloze je zbytek odvozený od L-tyrosinu.

(B) Poloha 2

Zbytkem aminokyseliny přítomným v poloze 2 peptidu obecného vzorce I musí být D-stereoisomer odvozený od libovolného z řady zbytků aminokyselin. Sem náleží zbytky odvozené od D-alaninu (Ala) (R_3 znamená methylovou skupinu), D- α -aminomáselné kyseliny (Abu) (R_3 znamená ethylovou skupinu), D-norvalinu (Nva) (R_3 znamená n-propylovou skupinu), D-valinu (Val) (R_3 znamená isopropylovou skupinu), D-norleucinu (Nle) (R_3 znamená n-butylovou skupinu), D-leucinu (Leu) (R_3 znamená isobutylovou skupinu) a D-isoleucinu (Ile) (R_3 znamená sek.butylovou skupinu). S výhodou je tímto zbytkem zbytek odvozený od D-alaninu.

(C) Poloha 3

Zbytkem aminokyseliny přítomným v této poloze je zbytek odvozený od glycinu (Gly).

(D) Poloha 4

Zbytkem přítomným v této C-terminální poloze je zbytek odvozený od L-fenylalaninu (Phe).

Zmíněný zbytek může být buď nesubstituovaný, nebo substituovaný na aminovém dusíku (symbol R_4). V případě, že tento zbytek je substituován na dusíku, jedná se o substituci methylovou, ethylovou nebo n-propylovou skupinou. V případě, že zmíněný zbytek není na aminovém dusíku substituovaný, musí být substituovaný na α -uhlíku (symbol R_5). V těchto případech znamená R_5 methylovou, ethylovou nebo n-propylovou skupinu. Jediným omezením je, že jeden ze symbolů R_4 a R_5 představuje primární alkylovou skupinu s 1 až 3 atomy uhlíku a druhý znamená atom vodíku.

Nejvýhodnější primární alkylovou skupinou s 1 až 3 atomy uhlíku je skupina methylová. Velmi výhodnými sloučeninami jsou tedy ty, v nichž R_4 nebo R_5 znamená methylovou skupinu, a nejvýhodněji pak ty, v nichž R_4 znamená methylovou skupinu.

V předchozím i následujícím textu se používají následující zkratky, z nichž většina je známá a v daném oboru běžně používaná:

Abu	=	α -aminomáselná kyselina
Ala	=	alanin
Cys	=	cystein
Gly	=	glycin
Hse	=	homoserin
Ile	=	isoleucin
Leu	=	leucin
Met	=	methionin
Nle	=	norleucin
Nva	=	norvalin
Phe	=	fenylalanin
Phe—NH ₂	=	amid fenylalaninu
Phe—A	=	primární alkoholický derivát fenylalaninu
Phe—CN	=	nitrilový derivát fenylalaninu
Ser	=	serin
Tyr	=	tyrosin
Val	=	valin
Ac	=	acetyl
Me	=	methyl
Et	=	ethyl
Ip	=	isopropyl
Pr	=	n-propyl
Bu	=	n-butyl
i-Bu	=	isobutyl
t-Bu	=	terc.butyl
s-Bu	=	sek.butyl
BOC	=	terc.butyloxykarbonyl
Bzl	=	benzyl

Sloučeniny obecného vzorce I se připravují běžnými metodami syntézy peptidů. Během syntézy určitých sloučenin obecného vzorce I může dojít k parciální racemizaci, pokud však k takovéto racemizaci dojde, není její rozsah takový, aby nějak vážněji ovlivnil analgetickou účinnost sloučenin obecného vzorce I.

Způsoby přípravy sloučenin obecného vzorce I spočívají v kondenzaci aminokyselin nebo peptidických fragmentů reakcí karboxylové funkce jedné komponenty s aminovou funkcí komponenty druhé za vzniku amidové vazby. K účinnému průběhu kondenzace je žádoucí nejprve inaktivovat všechny reaktivní funkce, které se přímo nezúčastňují reakce, použitím vhodných chránicích skupin, a za druhé pak příslušně aktivovat karboxylovou skupinu podílející se na kondenzaci. Všechna tato opatření vyžadují pečlivý výběr sledu reakcí a reakčních podmínek, jakož i použití specifických chránicích skupin, aby se získal žádaný peptidický produkt. Každá z aminokyselin, která se používá k výrobě sloučenin obecného vzorce I, a která obsahuje vhodně zvolené chránicí skupiny nebo/a aktivované funkční skupiny, se připravuje technikami dobře známými v chemii peptidů.

V každém bodu totální syntézy sloučenin obecného vzorce I se používají vybrané kombinace chránicích skupin. Byla zjištěno, že tyto konkrétní kombinace vedou k nejhladšímu průběhu žádané syntézy. Při syntéze sloučenin obecného vzorce I je možno po-

užít i jiné kombinace, i když snad s menším úspěchem. Tak je možno při syntéze sloučenin obecného vzorce I používat jako chránicí skupiny aminových funkcí například skupinu benzyloxykarbonylovou (CBz), terc.butyloxykarbonylovou (BOC), terc.amyloxykarbonylovou (AOC), p-methoxybenzyloxykarbonylovou (MBOC), adamantyloxykarbonylovou (AdOC) a isobornyloxykarbonylovou. Dále se jako chránicí skupina hydroxylové funkce tyrosolového zbytku obecně používá skupina benzylová (Bzl), i když je možno dobře použít i jiné chránicí skupiny, jako skupinu p-nitrobenzylovou (PNB) nebo p-methoxybenzylovou (PMB).

Chránicími skupinami karboxylových funkcí, používanými při výrobě sloučenin obecného vzorce I, mohou být všechny typické esterotvorné skupiny, jako například methylová, ethylová, benzylová, p-nitrobenzylová, p-methoxybenzylová nebo 2,2,2-trichlorethylová skupina.

Kondenzace vhodně chráněné N-blokované aminokyseliny nebo peptidického fragmentu s vhodně chráněnou aminokyselinou nebo peptidickým fragmentem s blokovanou karboxylovou skupinou při přípravě sloučenin obecného vzorce I zahrnuje aktivaci volné karboxylové funkce aminokyseliny nebo peptidického fragmentu co do kondenzační reakce. Tuto aktivaci je možno uskutečnit libovolnou z několika známých technik. Jedna z těchto aktivačních technik spočívá v konverzi karboxylové funkce na smíšený anhydrid. Volná karboxylová funkce se aktivuje reakcí s jinou kyselinou, obvykle s derivátem kyseliny uhličitě, jako s chloridem této kyseliny. Jako příklady chloridů kyselin používaných k přípravě smíšených anhydridů lze uvést chlormravenčan ethylnatý, chlormravenčan fenylnatý, chlormravenčan sek.butylnatý, chlormravenčan isobutylnatý a pivaloylchlorid. S výhodou se používá chlormravenčan isobutylnatý.

Další metoda aktivace karboxylové funkce pro účely provedení kondenzační reakce spočívá v konverzi této karboxylové funkce na seskupení aktivovaného esteru. Mezi tyto aktivované estery náležejí například 2,4,5-trichlorfenylester, pentachlorfenylester a p-nitrofenylester. Další kondenzační metodou, kterou je možno použít, je dobře známá azidová kondenzační metoda.

Výhodná kondenzační metoda pro přípravu sloučenin obecného vzorce I spočívá v použití N,N'-dicyklohexylkarbodiimidu k aktivaci volné karboxylové funkce, čímž se umožní průběh kondenzace. Při této aktivační a kondenzační metodě se používá ekvimolární množství N,N'-dicyklohexylkarbodiimidu vzhledem k aminokyselině nebo peptidickému fragmentu a kondenzace se provádí v přítomnosti ekvimolárního množství 1-hydroxybenzotriazolu. Přítomnost 1-hydroxybenzotriazolu potlačuje nežádoucí

vedlejší reakce včetně možnosti racemizace.

V určitých bodech syntézy sloučenin obecného vzorce I je nutno provést štěpení vybraných chránících skupin. Pro odborníky nebude obtížné vybrat z reprezentativních chránících skupin ty skupiny, které umožňují selektivní štěpení, tzn. odštěpení jedné nebo několika, ne však všech chránících skupin přítomných na aminokyselině nebo peptidickém fragmentu. Tyto techniky jsou v chemii peptidů dobře známé. Bližší diskuse technik použitelných pro selektivní štěpení je uvedena například v práci, kterou publikovali Schröder a Lübke v *The Peptides*, sv. I, Academic Press New York, (1965) a zejména v tabulce na stranách 72 až 75 této publikace.

Štěpení chránících skupin karboxylové funkce lze uskutečnit alkalickým zmýdlením. K deesterifikaci chráněné karboxylové funkce se obecně používají relativně silně alkalické podmínky, jichž se obvykle dosahuje použitím hydroxidů alkalických kovů, jako hydroxidu sodného, hydroxidu draselného a hydroxidu lithného.

Reakční podmínky, při nichž zmýdlení probíhá, jsou v daném oboru dobře známé. Chránící skupiny karboxylové funkce lze rovněž odstraňovat katalytickou hydrogenolýzou, například hydrogenolýzou v přítomnosti paládía na uhlí jako katalyzátoru. V těch případech, kdy chránící skupinou karboxylové funkce je skupina p-nitrobenzyllová nebo 2,2,2-trichlorethyllová, je možno odštěpení chránící skupiny uskutečnit rovněž redukcí v přítomnosti zinku a kyseliny chlorovodíkové.

Chránící skupiny aminových funkcí se odštěpují tak, že se na chráněnou aminokyselinu nebo peptid působí kyselinou, jako kyselinou mravenčí, kyselinou trifluoroctovou, kyselinou p-toluensulfonovou, kyselinou benzensulfonovou, nebo kyselinou naphthalensulfonovou, za vzniku příslušné adiční soli s kyselinou.

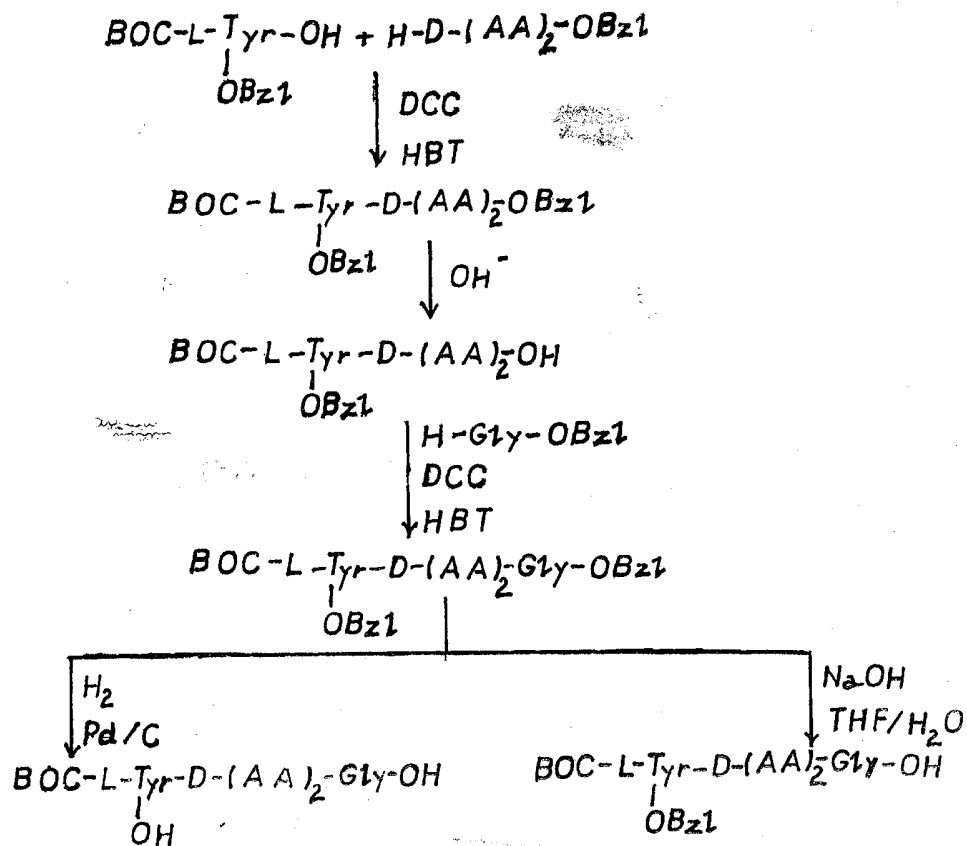
Odštěpení chránící skupiny aminové funkce lze rovněž uskutečnit tak, že se na chráněnou aminokyselinu nebo peptid působí směsí kyseliny bromovodíkové nebo chlorovodíkové a kyseliny octové, za vzniku příslušné adiční soli s kyselinou bromovodíkovou nebo chlorovodíkovou. Konkrétně používaný postup nebo činidlo závisí na chemických nebo fyzikálních vlastnostech materiálů podrobovaných specifickým reakcím

k odštěpování chránících skupin. Bylo zjištěno, že v těch případech, kdy symbol R_4 má jiný význam než atom vodíku a mají se odštěpovat chránící skupiny z peptidu obsahujícího alespoň tři zbytky aminokyselin, je nanejvýš výhodné odstraňovat chránící skupiny z takového peptidu působením kyseliny trifluoroctové nebo kyseliny mravenčí, vedoucím k vzniku odpovídající adiční soli s kyselinou. Sůl lze pak přeměnit na farmaceuticky upotřebitelnější formu působením vhodného iontoměniče, jako například iontoměniče diethylaminoethyl — Sephadex A25 a Amberlyst A27.

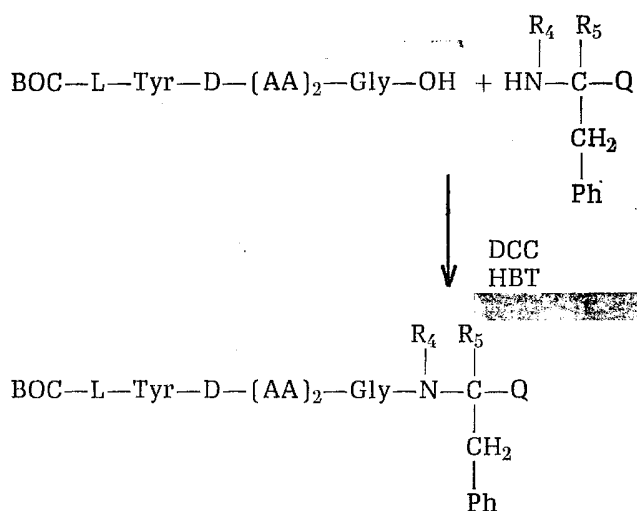
Chránící skupinu hydroxylové funkce, přítomnou na tyrosylovém zbytku, je možno na peptidu ponechat během celé jeho přípravy, protože tato skupina se odštěpí v průběhu finálního reakčního stupně v souvislosti s odštěpováním chránící skupiny aminové funkce. V závislosti na podmínkách používaných k odštěpování chránící skupiny karboxylové funkce může ovšem dojít k odštěpení chránící skupiny hydroxylové funkce již v dřívějším reakčním stupni. Pokud se chránící skupina karboxylové funkce odštěpuje alkalickým zmýdlením, zůstává chránící skupina hydroxylové funkce zachována, používá-li se však k odštěpování chránící skupiny karboxylové funkce katalytická hydrogenolýza, dochází rovněž k odštěpení chránící skupiny hydroxylové funkce. Posledně zmíněný případ však nepředstavuje žádný vážný problém, protože přípravu sloučenin obecného vzorce I je možno uskutečnit i v přítomnosti tyrosylového zbytku obsahujícího volnou hydroxylovou skupinu.

Výhodná specifická metoda přípravy sloučenin obecného vzorce I spočívá v kondenzaci separátně připraveného N-terminálního tripeptidu se separátně připraveným C-terminálním fenylalanylamidem a v následujícím odštěpení všech zbývajících chránících skupin. Alternativně může být separátně připravená C-terminální fenylalanylová sloučenina, která se podrobuje reakci s N-terminálním tripeptidem, strukturně upravena tak, že obsahuje skupinu představující prekursor amidického zbytku. Obecný postup ilustrující přípravu tetrapeptidu obecného vzorce I je možno znázornit následujícím reakčním schématem, v němž symbol AA představuje zbytek aminokyseliny a k němu připojené číslo označuje polohu aminokyseliny v řetězci výsledného peptidu.

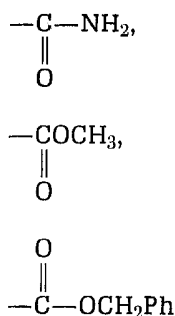
A. Příprava tripeptidického fragmentu:



B. Kondenzace tripeptidu a terminálního fenylalanylového zbytku:



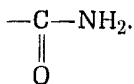
Ve shora uvedených reakčních schématech znamená DCC N,N'-dicyklohexylkarbodiimid, HBT představuje 1-hydroxybenzotriazol, Ph znamená fenylovou skupinu a Q představuje skupinu



a jiné podobné skupiny.

Pokud Q představuje benzylesterové seskupení nebo jiné esterové seskupení obsahující skupinu snadno odštěpitelnou hydrogenolýzou, je možno takovéto seskupení převést na volnou karboxylovou skupinu hydrogenolýzou v přítomnosti paládía na uhlí. Volnou kyselinu je možno převést na amid působením amoniaku v přítomnosti N,N'-dicyklohexylkarbodiimidu a 1-hydroxybenzotriazolu.

Při přípravě sloučenin obecného vzorce I výše popsaným sledem reakcí je nanejvýš výhodné používat jako C-terminální reakční složku sloučeninu obsahující již přímo skupinu



Po přípravě žádaného modifikovaného tetrapeptidu obsahujícího C-terminální skupinu je možno chránicí skupinu na dusíku tyrosylového zbytku (pokud je přítomna) odštěpit hydrogenolyticky a terc.butyloxykarboxylovou chránicí skupinu na dusíku působením trifluoroctové kyseliny.

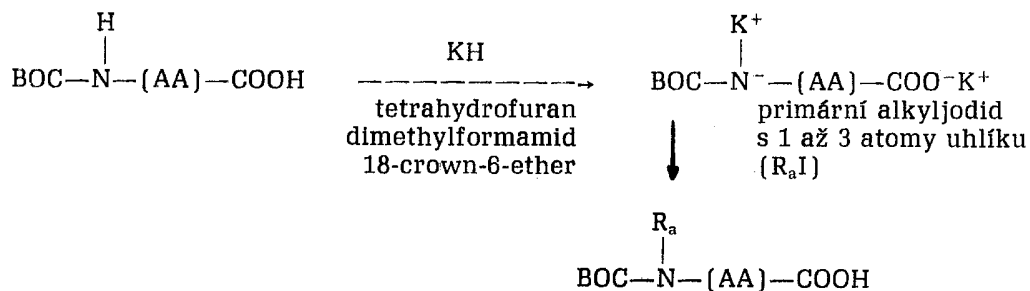
Shora uvedený postup představuje pouze jeden sled reakcí vedoucí k přípravě sloučenin obecného vzorce I. Je pochopitelně

možno použít i jiné reakční postupy. Další použitelná metoda spočívá v postupném napojování jednotlivých aminokyselin nebo jejich derivátů obsažených v peptidickém řetězci, počínaje od karboxamidového terminálního zbytku. Při tomto postupu je možno používat různé reakční techniky, včetně technik popsaných výše, jakož i libovolné jiné vhodné sledy reakcí.

Další způsob přípravy sloučenin obecného vzorce I představuje syntéza v pevné fázi. Při tomto postupu se C-terminální zbytek naváže na vhodný polymerní nosič a peptid se prodlužuje vždy o jeden zbytek tak dlouho, až vznikne žádaný výsledný peptid, dosud navázaný na polymerní nosič. Výsledný peptid se pak z nosiče odstraní za použití vhodného činidla štěpícího chránicí skupiny. Tak například C-terminální zbytek, chráněný na α -aminoskupině terc.butyloxykarboxylovou skupinou, se za použití aktivace N,N'-dicyklohexylkarbodiimidem nakondenzuje na benzhydrolaminový polymer.

Chránicí terc.butyloxykarboxylová skupina na dusíku se odstraní reakcí zbytku, navázaného na polymer, s trifluoroctovou kyselinou v methylenchloridu. Výsledná sůl se neutralizuje vhodným terciárním aminem a postup se opakuje pro napojení každé následující aminokyseliny. Po skončení přípravy žádané peptidické sekvence se chráněný peptid z polymerního nosiče odštěpí působením fluorovodíku při teplotě 0 °C. Produkt lze pak vyčistit chromatografií. Konkrétní podmínky syntézy, jako například reakční doby, reakční teploty, časy potřebné pro vymývání, činidla, chránicí skupiny apod., jsou v oboru syntézy peptidů v pevné fázi dobře známé.

V určitých sloučeninách obecného vzorce I znamená R_4 primární alkylovou skupinu s 1 až 3 atomy uhlíku. V takovýchto případech se při syntéze používají příslušné N-substituované aminokyseliny. Následujícím postupem je možno, za použití aminokyseliny chráněné na dusíku jako výchozí látky, připravit libovolnou z N-monosubstituovaných aminokyselin:



Jak vyplývá z výše uvedeného schématu, působí se nejprve na N^α -chráněnou aminokyselinu kaliumhydridem v přítomnosti vhodného crown-etheru za vzniku dianiontu. Na takto získaný meziprodukt se pak působí příslušným alkyljodidem za vzniku žádané N-substituované aminokyseliny.

Odborníkům v syntéze peptidů je zřejmé, že za silně alkalických podmínek, jaké se používají při shora popsané alkylationi, může dojít k racemizaci na α -uhlíku. Rozsah racemizace se může měnit v závislosti na příslušné aminosloučenině. Racemizaci je možno omezit na minimum použitím nadbytku alkylačního činidla a prací při co nejkratší reakční době. Nicméně však i v případě, že racemizace proběhla v rozsáhlé míře, je možno produkt vyčistit překrystalováním, jako sůl s vhodným chirálním aminem, například s d(+)- α -fenylethylaminem.

Výslednou aminokyselinu, v níž R_4 znamená primární alkylovou skupinu s 1 až 3 atomy uhlíku, je možno libovolným z výše popsaných postupů převést na odpovídající amid.

V určitých sloučeninách obecného vzorce I znamená R_5 primární alkylovou skupinu s 1 až 3 atomy uhlíku. V takovýchto případech se k výrobě těchto sloučenin používá příslušná aminokyselina substituovaná na α -uhlíku nebo její odpovídající ester či amid. Příslušný fenylalanin substituovaný na α -uhlíku je možno připravit postupem, který popsal Stein a spol. v Journal of the American Chemical Society, sv. 77, 700 až 703 (1955). Štěpení racemické směsi se provádí postupem, který popsali Turk a spol., J. Org. Chem., sv. 40 č. 7, 953–955 (1975). Výsledný α -substituovaný fenylalanin je možno převést na odpovídající amid podle metod popsaných výše. Tuto přeměnu je možno uskutečnit buď před, nebo až po přípravě tetrapeptidového řetězce, výhodně však před přípravou tetrapeptidu.

Sloučeniny obecného vzorce I jsou cenými farmaceutickými činidly. Zmíněné látky vykazují analgetickou účinnost a jsou zvláště užitečné při parenterální aplikaci savcům, včetně lidí.

Sloučeniny obecného vzorce I je možno aplikovat jako takové nebo je lze upravovat na farmaceutické preparáty v jednotlivých dávkovacích formách pro parenterální aplikaci. K přípravě těchto preparátů je možno používat organické nebo anorganické pevné, nebo/a kapalné nosné materiály, které jsou farmaceuticky upotřebitelné. Vhodné nosiče jsou v daném oboru dobře známé. Popisované prostředky mohou být ve formě tablet, granulátů, kapslí, suspenzí, roztoků apod.

Při podání v účinném množství působí sloučeniny obecného vzorce I analgeticky. Dávkování účinných látek se může obecně pohybovat zhruba od 0,1 do 100 mg na kilogram tělesné hmotnosti příjemce. Výhod-

né dávkování se pohybuje zhruba od 1,0 do 20 mg/kg tělesné hmotnosti.

Následující příklady provedení ilustrují přípravu a účinnost sloučenin obecného vzorce I, v žádném směru však rozsah vynálezu neomezuji.

Příklad 1

Příprava L-tyrosyl-D-alanyl-glycyl- N^α -methyl-L-fenylalanylamid-acetátu

A. Benzyl-D-alaninát-p-toluensulfonát

K směsi 100 ml benzylalkoholu a 200 ml benzenu, obsahující 55,1 g (0,29 mol) monohydrátu p-toluensulfonové kyseliny, se přidá 25 g (0,281 mol) D-alaninu. Směs se uvede k varu pod zpětným chladičem a azeotropicky se z ní odstraňuje voda za použití Dean-Starkovy jímky. Směs se zahřívá 15 hodin, pak se ochladí na teplotu místnosti a zředí se etherem. Vyloučená sraženina se odfiltruje a po překrystalování ze směsi methanolu a etheru poskytne 55,3 g (56 %) shora uvedené sloučeniny o bodu tání 112 až 115 °C.

Analýza: pro $C_{17}H_{21}NO_5S$ (351,42)

vypočteno:

C: 58,10 %, H: 6,02 %, N: 3,99 %;

nalezeno:

C: 58,19 %, H: 6,06 %, N: 3,82 %.

B. Benzyl- N^α -terc.butyloxykarbonyl-O-benzyl-L-tyrosyl-D-alaninát

K 200 ml suchého N,N-dimethylformamidu se přidá 35,1 g (0,1 mol) produktu připraveného v odstavci A. Směs se za míchání ochladí na 0 °C a přidá se k ní 11,2 g (0,1 mol) diazabicyklooctanu. Výsledná směs se 10 minut míchá při teplotě 0 °C, načež se k ní přidá nejprve 37,1 g (0,1 mol) N^α -terc.-butyloxykarbonyl-O-benzyl-L-tyrosinu a potom 13,5 g (0,1 mol) 1-hydroxybenzotriazolu a 20,6 g (0,1 mol) N,N'-dicyklohexylkarbodiimidu. Reakční směs se 3 hodiny míchá při teplotě 0 °C a pak 24 hodiny při teplotě místnosti, ochladí se na 0 °C, vzniklá suspenze se zfiltruje a filtrát se zahustí ve vakuu. Zbytek se znovu rozpustí v ethylacetátu a roztok se postupně promyje 1 N kyselým uhličitánem sodným, vodou, 0,75 N studeným roztokem kyseliny citrónové a vodou. Organická vrstva se vysuší síranem hořečnatým, zfiltruje se a zahustí se ve vakuu. Odparek se rozpustí v horkém ethanolu a roztok se ochladí, přičemž produkt vykristaluje. Po jednom překrystalování z ethanolu se získá 41,5 g (80 %) čisté sloučeniny uvedené v názvu, o bodu tání 121 až 123 °C.

Analýza: pro $C_{30}H_{30}N_2O_6$ (520,63)
 vypočteno: C: 69,21 %, H: 6,97 %, N: 5,38 %;
 nalezeno: C: 68,99 %, H: 6,75 %, N: 5,17 %.

C. N^o-terc.butyloxykarbonyl-O-benzyl-L-tyrosyl-D-alanin

K směsi 200 ml tetrahydrofuranu a 20 ml vody se přidá 31,2 g (0,06 mol) produktu připraveného v odstavci B, výsledný roztok se ochladí na 0 °C a pozvolna se k němu přidá 13,2 ml (1,1 ekvivalentu) 5 N hydroxidu sodného. Směs se za míchání nechá pomalu ohřát na teplotu místnosti a po 5 hodinách se rozštěpe mezi vodu a ether. Vodná vrstva se oddělí a ochladí, její pH se přidávkem kyseliny citrónové nastaví na hodnotu 2 a směs se extrahuje ethylacetátem. Ethylacetátový extrakt se promyje vodou, vysuší se síranem hořečnatým a po zfiltrování se zředí etherem. Odfiltrováním vyloučené sraženiny se získá 17,7 g (67 %) sloučeniny uvedené v názvu, tající při 160 až 162 °C.

Analýza: pro $C_{24}H_{30}N_2O_6$ (442,51)

vypočteno: C: 65,14 %, H: 6,83 %, N: 6,63 %;
 nalezeno: C: 64,73 %, H: 6,70 %, N: 6,20 %.

D. Benzyl-N^o-terc.butyloxykarbonyl-O-benzyl-L-tyrosyl-D-alanyl-glycinát

K 70 ml suchého dimethylformamidu se přidá 6,74 g (0,02 mol) soli benzyl-glycinátu s kyselinou p-toluensulfonovou. Směs se ochladí na 0 °C, přidá se k ní 2,24 g (0,020 mol) diazabicyklooktanu, výsledná směs se několik minut míchá, načež se k ní přidá nejprve 8,84 g (0,020 mol) produktu připraveného v odstavci C a potom 2,7 g (0,020 mol) 1-hydroxybenzotriazolu a 4,12 g (0,020 mol) N,N'-dicyklohexylkarbodiimidu. Reakční směs se 2 hodiny míchá při teplotě 0 °C a pak 24 hodiny při teplotě místnosti. Výsledná suspenze se ochladí na 0 °C, zfiltruje se a filtrát se zahustí ve vakuu. Zbytek se rozpustí v ethylacetátu, roztok se postupně promyje 1 N kyselým uhličitánem sodným, vodou, studenou 0,75 N kyselinou citrónovou a vodou, organická fáze se vysuší síranem hořečnatým a zahustí se ve vakuu. Krystalizací odparku z ethanolu se získá 10,8 g (92 %) čisté sloučeniny uvedené v názvu, tající při 145 až 147 °C.

Analýza: pro $C_{33}H_{39}N_3O_7$ (589,69)
 vypočteno: C: 67,22 %, H: 6,67 %, N: 7,13 %;
 nalezeno: C: 67,32 %, H: 6,83 %, N: 6,91 %.

E. N^o-terc.butyloxykarbonyl-O-benzyl-L-tyrosyl-D-alanyl-glycin

K směsi tetrahydrofuranu a vody v poměru 9 : 1 (150 ml) se přidá 15,95 g (27 mmol) produktu připraveného v odstavci D, směs se za míchání ochladí na 0 °C a přikape se k ní 30 ml 1 N hydroxidu sodného. Po skončení přikapávání se směs 2 hodiny míchá, pak se dvakrát extrahuje etherem, oddělená vodná fáze se přidáním 30 ml 1 N kyseliny chlorovodíkové okyslí na pH 2,5, vykrystalovaná sloučenina uvedená v názvu se odfiltruje a překrystaluje se jednou ze směsi methanolu a vody a dvakrát z ethylacetátu. Získá se 11,43 g (85 % teorie) žádaného produktu o bodu tání 104 až 107 °C a optické rotaci $[\alpha]_D^{25} = +31,4^\circ$ ($c = 0,5$ v methanolu).

Analýza: pro $C_{26}H_{33}N_3O_7$ (499,54)

vypočteno: C: 62,51 %, H: 6,66 %, N: 8,41 %;
 nalezeno: C: 62,31 %, H: 6,83 %, N: 8,12 %.

F. Sůl N^o-terc.butyloxykarbonyl-N^o-methyl-L-fenylalaninu s d-(+)- α -methylbenzylaminem

K 75 ml tetrahydrofuranu se přidá 13,26 g (0,05 mol) N^o-terc.butyloxykarbonyl-L-fenylalaninu a výsledná směs se v dusíkové atmosféře při teplotě 0 °C přikape během 30 minut k suspenzi 0,15 mol natriumhydridu a 0,5 g 18-crown-6-etheru, míchané mechanickým míchadlem. Reakční směs se ještě další 1 hodinu míchá při teplotě 0 °C, pak se k ní během 15 minut přikape roztok 6,23 ml (0,1 mol) methyljodidu v 15 ml tetrahydrofuranu, směs se nechá 2 hodiny reagovat, načež se k ní přikape nejprve směs 10 ml kyseliny octové a 10 ml tetrahydrofuranu, a potom 20 ml ethanolu. Výsledná směs se vylije na 400 g ledu, pH vodné fáze se přidávkem 2 N hydroxidu sodného zvýší na hodnotu 12 až 13, vodná směs se dvakrát extrahuje etherem, pak se přidávkem pevné kyseliny citrónové okyslí na pH 3,0 a extrahuje se třikrát 200 ml etheru. Etherické extrakty se spojí, extrahují se vodou, vysuší se síranem hořečnatým a zahustí se ve vakuu. Zbytek se rozpustí v ethylacetátu, roztok se postupně promyje 1 N kyselým uhličitánem sodným, vodou, studenou 0,75 N kyselinou citrónovou a vodou, organická fáze se vysuší síranem hořečnatým a zahustí se ve vakuu. Krystalizací odparku z ethanolu se získá 10,8 g (92 %) čisté sloučeniny uvedené v názvu, tající při 145 až 147 °C.

tým a odpaří se ve vakuu na sirupovitý zbytek. Tento sirupovitý zbytek se rozpustí v 50 ml etheru, přidá se 6,44 ml (0,05 mol) d-(+)- α -methylbenzylaminu a po zředění výsledného roztoku 350 ml hexanu se stěny nádoby poškrábou skleněnou tyčinkou. Odfiltrováním vyloučeného produktu se získá 15,83 g (70 % teorie) sloučeniny uvedené v názvu, která po překrystalování z ethylacetátu poskytne 13,70 g (68 % teorie) žádaného produktu o bodu tání 136 až 139 °C a optické rotaci $[\alpha]_D^{25} = -28,2^\circ$ ($c = 1$ v ethanolu).

Analýza: pro $C_{23}H_{32}N_2O_4$ (400,50)

vypočteno:

C: 68,97 %, H: 8,05 %, N: 6,99 %;

nalezeno:

C: 68,75 %, H: 7,81 %, N: 6,74 %.

G. N^α -terc.butyloxykarbonyl- N^α -methyl-L-fenylalanylamid

4,0 g (0,01 mol) N^α -terc.butyloxykarbonyl- N^α -methyl-L-fenylalaninu [připraveného okyselením odpovídající soli s d-(+)- α -methylbenzylaminem a extrakcí etherem] se rozpustí ve 20 ml N,N-dimethylformamidu, směs se ochladí na -15°C a přidá se k ní nejprve 1,56 ml (0,012 mol) isobutylchlorformiátu a pak 1,32 ml (0,012 mol) N-methylmorpholinu. Reakční směs se 10 minut míchá při teplotě -15°C a pak se do ní po dobu 1,5 hodiny uvádí bezvodý plynný amoniak. Výsledná směs se 1 hodinu míchá při teplotě -15°C , načež se vylije do nádoby obsahující 200 ml ledu. Vodná vrstva se extrahuje ethylacetátem, organická vrstva se oddělí a postupně se promyje 1,5 N kyselinou citrónovou, vodou, 1 N kyselým uhličitánem sodným a znovu vodou. Ethylacetátový roztok se vysuší síranem hořečnatým a odpaří se ve vakuu na sirupovitý zbytek, který po krystalizaci ze směsi etheru a petroletheru poskytne 2,12 g (76 % teorie) sloučeniny uvedené v názvu, o bodu tání 91 až 92 °C a optické rotaci $[\alpha]_D^{25} = -111,2^\circ$ ($c = 0,5$ v chloroformu).

Analýza: pro $C_{15}H_{22}N_2O_3$ (278,33)

vypočteno:

C: 64,73 %, H: 7,97 %, N: 10,06 %;

nalezeno:

C: 64,95 %, H: 7,81 %, N: 9,79 %.

H. N^α -terc.butyloxykarbonyl-O-benzyl-L-tyrosyl-D-alanyl-glycyl- N^α -methyl-L-fenylalanylamid

K 20 ml čerstvě připravené ledové kyseliny octové obsahující bezvodý chlorovodík (1 N) a 2 ml anisolu se přidá 1,95 g (0,007

mol) N^α -terc.butyloxykarbonyl- N^α -methyl-L-fenylalanylamidu, směs se 30 minut míchá při teplotě místnosti, načež se vylije do etheru. Odfiltrováním a vysušením vyloučené sraženiny se získá 1,5 g příslušného hydrochloridu, který se rozpustí ve 30 ml N,N-dimethylformamidu. Roztok se ochladí na 0°C , přidá se k němu 1,4 ml (0,007 mol) dicyklohexylaminu, směs se několik minut míchá, načež se k ní přidá 3,5 gramu (0,007 mol) N^α -terc.butyloxykarbonyl-O-benzyl-L-tyrosyl-D-alanyl-glycinu, 950 miligramů (0,007 mol) 1-hydroxybenzotriazolu a 1,44 g (0,007 mol) N,N'-dicyklohexylkarbodiimidu. Reakční směs se míchá nejprve 2 hodiny při teplotě 0°C , pak 24 hodiny při teplotě 4°C , načež se ochladí na 0°C a zfiltruje se. Filtrát se zahustí ve vakuu na olejovitý zbytek, který se znovu rozpustí v ethylacetátu. Ethylacetátový roztok se postupně extrahuje 1 N kyselým uhličitánem sodným, vodou, studenou 0,75 N kyselinou citrónovou a vodou, organická fáze se vysuší síranem hořečnatým a zahustí se ve vakuu na olejovitý zbytek, který se chromatografuje na sloupci silikagelu (40 cm $\times$ 3 cm, silikagel Grace and Davison Grade 62) nasýpaném v chloroformu. Sloupec se vymývá chloroformem obsahujícím stoupající podíl methanolu (až do 10 procent methanolu). Produkt se izoluje z odebraných frakcí, které jej obsahují podle chromatografie na tenké vrstvě. Získá se 3,55 g (77 % teorie) sloučeniny uvedené v názvu, o optické rotaci $[\alpha]_D^{25} = -9,2^\circ$ ($c = 0,5$ v methanolu).

Analýza: pro $C_{36}H_{45}N_5O_7$ (659,8)

vypočteno:

C: 65,54 %, H: 6,57 %, N: 10,61 %;

nalezeno:

C: 65,46 %, H: 6,58 %, N: 10,36 %.

I. N^α -terc.butyloxykarbonyl-L-tyrosyl-D-alanyl-glycyl- N^α -methyl-L-fenylalanylamid

3,2 g (0,0485 mol) produktu připraveného v odstavci H se rozpustí v 60 ml ethanolu a do roztoku se přidá 1,5 g 5% paládia na uhlí ve formě vodné suspenze. Do směsi se pomocí uváděčky plynu uvádí nejprve cca 5 minut dusík a pak 6 hodin vodík. Výsledná směs se propláchně dusíkem, paládiový katalyzátor se odfiltruje a filtrát se zahustí ve vakuu na sirupovitý odparek. Sirupovitý odparek se rozpustí v chloroformu a nanese se na sloupec silikagelu (40 cm $\times$ 3 cm, silikagel Grace and Davison Grade 62). Produkt se vymývá chloroformem se stoupajícím obsahem methanolu (až do 10 % methanolu) a frakce se sledují chromatografií na tenké vrstvě. Z příslušných frakcí se získá 2,0 g (74 %

teorie) žádaného produktu o optické rotaci $[\alpha]_D^{25} = -9,9^\circ$ ($c = 0,5$ v methanolu).

Analýza aminokyselin:

nalezeno:

Gly 1,01, Ala 0,99, Tyr 0,99, NH_3 1,14.

J. Sůl L-tyrosyl-D-alanyl-glycyl- N^α -methyl-L-fenylalanylamidu s kyselinou octovou

1,6 g (0,00281 mol) produktu připraveného v odstavci I se rozpustí v 10 ml tri-fluorooctové kyseliny obsahující 0,5 ml anisolu. Výsledná směs se 30 minut míchá při teplotě 0°C , pak se vylíje do etheru a vyloučená sraženina se odfiltruje a vysuší. Získá se 1,1 g pevného produktu, který se rozpustí v příslušném množství vodného tlumivého roztoku (1 % pyridinu a 0,05 % kyseliny octové) na roztok o objemu 15 ml, který se nanese na sloupec (2,5 cm $\times$ 99 cm) iontoměniče diethylaminoethyl-Sephadex A-25 (acetátová forma), který byl ekvilibrován se stejným tlumivým roztokem. Eluát se kontroluje spektroskopicky při 280 nm. Příslušné frakce se spojí a lyofilizují. Opakovanou lyofilizací z 10% kyseliny octové a následující lyofilizací ze směsi vody a acetonitrilu (75 : 25) se získá 0,84 g sloučeniny uvedené v názvu, o optické rotaci $[\alpha]_D^{25} = +27,8^\circ$ ($c = 1$ v 1 N kyselině chlorovodíkové).

Analýza aminokyselin:

nalezeno:

Tyr 0,98, Ala 1,03, Gly 1,00, NH_3 1,05.

Příklad 2

Příprava soli L-tyrosyl-D-alanyl-glycyl-L- α -methylfenylalanylamidu s kyselinou octovou

A. Tosylát benzylesteru L- α -methylfenylalaninu

Do 100 ml benzenu se vnese 3,0 g (0,0168 mol) L- α -methylfenylalaninu a k vzniklé suspenzi se přidá 3,5 g (1,1 ekvivalentu) hydrátu p-toluensulfonové kyseliny a 10 ml benzylalkoholu.

Směs se 4 dny vaří pod zpětným chladičem opatřeným Dean-Starkovým odlučovačem vody, pak se ochladí na teplotu místnosti a přidáním etheru se z ní vysráží žádaná sůl s kyselinou p-toluensulfonovou. Odfiltrováním a vysušením sraženiny se získá 7,0 g (94 %) sloučeniny uvedené v názvu, o bodu tání 129 až 131°C a optické rotaci $[\alpha]_D^{25} = -10,7^\circ$ ($c = 0,5$ v methanolu).

Analýza: pro $\text{C}_{24}\text{H}_{27}\text{NO}_5\text{S}$ (441,5)

vypočteno:

N: 3,17 %;

nalezeno:

N: 2,87 %.

B. Benzylester N^α -terc.butyloxykarbonyl-O-benzyl-L-tyrosyl-D-alanyl-glycyl-L- α -methylfenylalaninu

Do 80 ml N,N-dimethylformamidu se vnese 5,74 g (0,013 mol) produktu připraveného v odstavci A. Směs se 5 minut chladí na 0°C , načež se k ní přidá 6,5 g (13 mmol) N^α -terc.butyloxykarbonyl-O-benzyl-L-tyrosyl-D-alanyl-glycinu (připraveného jako v příkladu 1), 1,8 g (13 mmol) 1-hydroxybenzotriazolu a 2,7 g (13 mmol) N,N'-dicyklohexylkarbodiimidu.

Výsledná směs se 2 hodiny míchá při teplotě 0°C , pak 24 hodiny při teplotě místnosti, ochladí se na 0°C a vyloučená sraženina se odfiltruje. Filtrát se odpaří ve vakuu, zbytek se rozpustí v ethylacetátu a ethylacetátový roztok se postupně extrahuje 1N kyselým uhlíčitánem sodným, vodou, 0,75N kyselinou citrónovou a znovu vodou. Organická fáze se vysuší síranem hořečnatým a odpaří se ve vakuu na olejovitý odparek, který po krystalizaci z etheru a překrystalování ze směsi ethylacetátu a etheru poskytne 7,0 g (72 %) sloučeniny uvedené v názvu, o optické rotaci $[\alpha]_D^{25} = +7,9^\circ$ ($c = 0,5$ v methanolu).

Analýza: pro $\text{C}_{43}\text{H}_{50}\text{N}_4\text{O}_8$ (750,86)

vypočteno:

C: 68,78 %, H: 6,71 %, N: 7,46 %;

nalezeno:

C: 68,75 %, H: 6,46 %, N: 7,21 %.

C. Sůl N^α -terc.butyloxykarbonyl-L-tyrosyl-D-alanyl-glycyl-L- α -methylfenylalaninu s dicyklohexylaminem

Do 50 ml ethanolu se vnese 4,0 g (0,0053 mol) produktu připraveného v odstavci A a pak se přidá 2,0 g 5% paládia na uhlí v N,N-dimethylformamidu. Do směsi se pomocí uváděčky plynu uvádí nejprve 5 minut dusík a pak 4 hodiny vodík. Výsledná směs se propláchne dusíkem, paládiový katalyzátor se odfiltruje a filtrát se zahustí ve vakuu na sirupovitý odparek. Tento sirupovitý odparek se nanese na sloupec silikagelu (10 cm $\times$ 2 cm, silikagel Grace and Davison Grade 62). Sloupec se vymývá chloroformem se stoupajícím podílem methanolu (až do konečného poměru chloroform — methanol

9,5 : 0,5). Hlavní frakce se spojí, rozpouštědlo se odpaří, olejovitý odparek se rozpustí v ethylacetátu a k roztoku se přidá 1 mililitr dicyklohexylaminu. Odfiltrováním a vysušením vyloučené sraženiny se získá 2,6 g (65 %) sloučeniny uvedené v názvu, o bodu tání 142 až 146 °C a optické rotaci $[\alpha]_D^{25} = +46,3^\circ$ ($c = 0,5$ v methanolu).

D. N^α-terc.butyloxykarbonyl-L-tyrosyl-D-alanyl-glycyl-L-α-methylfenylalanylamid

2,0 g produktu připraveného v odstavci C (0,0027 mol) se neutralizuje směsí ethylacetátu a 0,75N kyseliny citrónové. Organická vrstva se oddělí, extrahuje se vodou, vysuší se síranem hořečnatým a odpaří se ve vakuu na olejovitý odparek o hmotnosti 1,5 gramu. Výsledná volná kyselina se rozpustí ve 30 ml N,N-dimethylformamidu, roztok se v tlakové reakční nádobě ochladí na 0 stupňů Celsia, přidá se k němu 560 mg (0,0027 mol) N,N'-dicyklohexylkarbodlimidu a směs se míchá nejprve 4 hodiny při teplotě 0 °C a pak 3 hodiny při teplotě místnosti. Reakční nádoba se ochladí na -78 °C, vnese se do ní 30 ml bezvodého amoniaku, nádoba se znovu uzavře a směs se 48 hodin míchá při teplotě místnosti.

Reakční směs se ochladí na -78 °C reakční nádoba se otevře, amoniak se nechá odpařit při teplotě místnosti a rozpouštědlo se odpaří ve vakuu. Zbytek se rozpustí v ethylacetátu, ethylacetátový roztok se extrahuje nejprve 0,75N kyselinou citrónovou a pak vodou, vysuší se síranem hořečnatým a rozpouštědlo se odpaří ve vakuu. Odparek se rozpustí v chloroformu a nanese se na sloupec silikagelu (3 cm × 45 cm, silikagel Grace and Davison Grade 62). Sloupec se vymývá chloroformem se stoupajícím podílem methanolu (až do výsledného poměru chloroform — methanol 9 : 1). Odpovídající frakce (podle analýzy chromatografií na tenké vrstvě) se spojí a rozpouštědlo se odpaří, čímž se získá 1,1 g (72 %) sloučeniny uvedené v názvu, o optické rotaci $[\alpha]_D^{25} = -26^\circ$ ($c = 0,4$ v methanolu).

Analýza aminokyselin:

nalezeno:

Gly 0,99, Ala 1,00, Tyr 0,99, NH₃ 1,12.

E. Sůl L-tyrosyl-D-alanyl-glycyl-L-α-methylfenylalanylamidu s kyselinou octovou

K směsi (20 ml) 1N plynného chlorovodíku v ledové kyselině octové, obsahující 0,3 mililitru anisolu, se přidá 900 mg (0,0016 mol) produktu připraveného v odstavci D. Reakční směs se 30 minut míchá při teplotě místnosti, pak se vylíje do etheru, vyloučená sraženina se odfiltruje a vysuší se. Získá se 720 mg pevného produktu, který se rozpustí v příslušném množství vodného tlu-

mivého roztoku (1 % pyridinu a 0,05 % kyseliny octové) na roztok o objemu 5 ml a výsledný roztok se nanese na sloupec (2,5 centimetru × 99 cm) iontoměniče diethylaminoethyl-Sephadex A-25 (acetátová forma), předem ekvilibrovaného s tímž pufrem. Eluát se sleduje spektroskopicky při 280 nm, příslušné frakce se spojí a lyofilizují. Opakovanou lyofilizací z 10% kyseliny octové a následující lyofilizací ze směsi vody a acetonitrilu (75 : 25) se získá 400 miligramů sloučeniny uvedené v názvu, o optické rotaci $[\alpha]_D^{25} = +23,9^\circ$ ($c = 0,5$ v 1N kyselině chlorovodíkové).

Analýza: pro C₂₆H₃₃N₅O₇ (529,60)

vypočteno:

C: 58,97 %, H: 6,66 %, N: 13,22 %, O: 21,15 proc.;

nalezeno:

C: 59,02 %, H: 6,36 %, N: 12,99 %, O: 21,41 proc.

Analýza aminokyselin:

nalezeno:

Tyr 0,96, Ala 1,01, Gly 1,00, NH₃ 1,03.

Příklad 3

Příprava soli L-tyrosyl-D-alanyl-glycyl-N^α-n-propyl-L-fenylalanylamidu s kyselinou octovou

A. N^α-terc.butyloxykarbonyl-N^α-n-propyl-L-fenylalanin

Do 70 ml tetrahydrofuranu se vnese 10,6 gramu (0,04 mol) N^α-terc.butyloxykarbonyl-L-fenylalaninu.

Směs se pod dusíkem při teplotě 0 °C přidá během 30 minut k mechanicky míchané suspenzi 0,12 mol kaliumhydridu ve 220 mililitrech tetrahydrofuranu a 0,5 g 18-crown-6-etheru, výsledná směs se dalších 10 minut míchá při teplotě 0 °C, načež se k ní během 20 minut přikape roztok 23,3 ml (0,24 mol) 1-jódpropanu ve 40 ml tetrahydrofuranu. Směs se nechá 2,5 hodiny reagovat při teplotě 0 °C, pak se k ní přidá dalších 11,5 ml (0,12 mol) 1-jódpropanu, reakční směs se další 2 hodiny míchá při teplotě 0 °C, přidá se k ní 10 ml ledové kyseliny octové a po desetiminutovém míchání se výsledná směs vylíje na drcený led. Přídatkem 2N hydroxidu sodného se pH vodné fáze zvýší na hodnotu 8,0, vodná směs se dvakrát extrahuje etherem, pak se přidáním studené 2N kyseliny chlorovodíkové okyselí na pH 2,5 a extrahuje se ethylacetátem. Ethylacetátové extrakty se jednou promyjí vodou, vysuší se síranem hořečnatým a odpaří se ve vakuu. Sirupovitý odparek se rozpustí ve 200 ml etheru a k roztoku se při-

dá 8 ml (0,04 mol) dicyklohexylaminu. Vyloučená sraženina se odfiltruje a filtrát se jednou extrahuje 1,5N kyselinou citrónovou a vodou. Etherická vrstva se vysuší síranem hořečnatým a odpaří se ve vakuu na olejovitý zbytek, který se chromatografuje na sloupci silikagelu (40 cm × 3 cm, silikagel Grace and Davison Grade 62) v chloroformu. Eluce produktu se provádí chloroformem se stoupajícím podílem methanolu (až do 5 % methanolu). Složení frakcí se sleduje chromatografií na tenké vrstvě. Příslušné frakce se spojí a odpaří se, čímž se získá 3,6 g (31 % teorie) sloučeniny uvedené v názvu, o optické rotaci $[\alpha]_D^{25} = -153,3^\circ$ ($c = 1$ v methanolu).

NMR:

$\delta(-CO_2H) = 10,47$;

$\delta(Me_3C-) = 1,50$.

Analýza: pro $C_{17}H_{25}NO_4$ (307,4)

vypočteno:

C: 66,43 %, H: 8,20 %, N: 4,56 %;

nalezeno:

C: 66,16 %, H: 7,99 %, N: 4,45 %.

B. N' -terc.butyloxykarbonyl- N' -n-propyl-L-fenylalanylamid

N' -terc.butyloxykarbonyl- N' -n-propyl-L-fenylalanin (připravený v odstavci A) se rozpustí v N,N-dimethylformamidu, směs se ochladí na $-15^\circ C$ a přidá se k ní nejprve 1 ekvivalent isobutyl-chloroformiátu a pak 1 ekvivalent N-methylmorfolinu. Výsledná směs se 10 minut míchá při teplotě $-15^\circ C$, načež se do ní po dobu 30 minut uvádí bezvodý plynný amoniak. Reakční směs se 1 hodinu míchá při teplotě $-15^\circ C$ a pak se vylije do nádoby obsahující 200 ml ledu. Vodný roztok se extrahuje ethylacetátem, organická vrstva se oddělí a postupně se promyje 1,5N kyselinou citrónovou, vodou, 1N kyselým uhličitánem sodným a znovu vodou. Ethylacetátový roztok se vysuší síranem hořečnatým a odpaří se ve vakuu, čímž se získá sloučenina uvedená v názvu.

C. N' -terc.butyloxykarbonyl-L-tyrosyl-D-alanyl-glycyl- N' -n-propyl-L-fenylalanylamid

Do 20 ml čerstvě připravené ledové kyseliny octové, obsahující bezvodý chlorovodík (1N) a 2 ml anisolu, se vnese 1 ekvivalent N' -terc.butyloxykarbonyl- N' -n-propyl-L-fenylalanylamidu. Výsledná směs se 30 minut míchá při teplotě místnosti, pak se vylije do etheru, vyloučená sraženina se odfiltruje a vysuší se. Získaný hydrochlorid se rozpustí ve 30 ml N,N-dimethylformamidu, roztok se ochladí na $0^\circ C$ a přidá se k němu 1 ekvivalent dicyklohexylaminu. Směs se několik minut míchá, načež se k ní přidá 1

ekvivalent N' -terc.butyloxykarbonyl-O-benzyl-L-tyrosyl-D-alanyl-glycinu (připraveného postupem podle příkladu 1E), 1 ekvivalent 1hydroxybenzotriazolu a 1 ekvivalent N,N'-dicyklohexylkarbodiimidu.

Reakční směs se míchá nejprve 2 hodiny při teplotě $0^\circ C$, pak 24 hodiny při teplotě $4^\circ C$, načež se ochladí na $0^\circ C$ a zfiltruje se. Filtrát se zahustí ve vakuu na olejovitý odparek, který se rozpustí v ethylacetátu. Ethylacetátový roztok se postupně extrahuje 1N kyselým uhličitánem sodným, vodou, studenou 0,75 N kyselinou citrónovou a znovu vodou, organická fáze se vysuší síranem hořečnatým a zahustí se ve vakuu na olejovitý zbytek. Tento olejovitý zbytek se chromatografuje na sloupci silikagelu (40 cm × 3 cm, silikagel Grace and Davison Grade 62) v chloroformu.

Produkt se ze sloupce vymývá chloroformem obsahujícím stoupající množství methanolu (až do 10 % methanolu). Složení odebíraných frakcí se sleduje chromatografií na tenké vrstvě. Příslušné frakce se spojí a izoluje se z nich N' -terc.butyloxykarbonyl-O-benzyl-L-tyrosyl-D-alanyl-glycyl- N' -n-propyl-L-fenylalanylamid.

Produkt z výše uvedeného odstavce se rozpustí v 60 ml ethanolu a do směsi se přidá 1,5 g 5% paládia na uhlí ve formě vodné suspenze. Do reakční směsi se za pomoci uváděčky plynu uvádí nejprve cca 5 minut dusík a pak 6 hodin vodík. Výsledná směs se propláchne dusíkem, paládiový katalyzátor se odfiltruje a filtrát se zahustí ve vakuu. Sirupovitý odparek se rozpustí v chloroformu a vnese se na sloupec silikagelu (40 cm × 3 cm, silikagel Grace and Davison Grade 62).

Produkt se ze sloupce vymývá chloroformem se stoupajícím podílem methanolu (až do 10 % methanolu) a složení frakcí se sleduje chromatografií na tenké vrstvě. Odpovídající frakce se spojí a izoluje se z nich sloučenina uvedená v názvu, o optické rotaci $[\alpha]_D^{25} = -34,8^\circ$ ($c = 0,5$ v methanolu).

Analýza: pro $C_{31}H_{42}N_5O_7$ (597,7)

vypočteno:

C: 62,29 %, H: 7,25 %, N: 11,72 %;

nalezeno:

C: 62,13 %, H: 7,24 %, N: 11,70 %.

D. Sůl L-tyrosyl-D-alanyl-glycyl- N' -n-propyl-L-fenylalanylamidu s kyselinou octovou

800 mg (1,34 mmol) produktu připraveného v odstavci C se rozpustí v 10 ml kyseliny trifluoroctové obsahující 0,5 ml anisolu. Reakční směs se 30 minut míchá při teplotě $0^\circ C$ a pak se lyofilizuje. Pevný zbytek se rozpustí v příslušném množství vodného

tlumivého roztoku (1 % pyridinu a 0,05 % kyseliny octové) na roztok o objemu 10 ml, který se nanese na sloupec (2,5 cm × 99 centimetrů) iontoměniče diethylaminoethyl-Sephadex A-25 (acetátová forma), ekvilibrovaného se stejným tlumivým roztokem. Eluát se sleduje spektroskopicky při 280 nm. Příslušné frakce se spojí a lyofilizují.

Opakovanou lyofilizací z 1M kyseliny octové se získá 655 mg sloučeniny uvedené v názvu, o optické rotaci $[\alpha]_D^{25} = -11,0^\circ$ ($c = 0,5$ v 1N kyselině chlorovodíkové).

Analýza: pro $C_{28}H_{39}N_5O_7$ (557,6)

vypočteno:

C: 60,31 %, H: 7,05 %, N: 12,56 %;

nalezeno:

C: 60,23 %, H: 6,98 %, N: 12,49 %.

Analýza aminokyselin:

nalezeno: Tyr 0,99, Ala 1,00, Gly 1,01, NH_3 0,96.

Příklad 4

Příprava soli L-tyrosyl-D-alanyl-glycyl- N^α -ethyl-L-fenylalanyl-amidu s kyselinou octovou

A. N^α -butyloxykarbonyl- N^α -ethyl-L-fenylalanin

Do 70 ml tetrahydrofuranu se vnese 10,6 gramu (0,04 mol) N^α -butyloxykarbonyl-L-fenylalaninu a směs se v dusíkové atmosféře při teplotě $0^\circ C$ přikape během 30 minut k mechanicky míchané suspenzi 0,12 mol kaliumhydridu ve 220 ml tetrahydrofuranu a 0,5 g 18-crown-6-etheru. Výsledná směs se dalších 10 minut míchá při teplotě $0^\circ C$, pak se k ní během 20 minut přikape roztok 19,4 ml (0,24 mol) ethyljodidu ve 40 ml tetrahydrofuranu, směs se nechá 4 hodiny reagovat při teplotě $0^\circ C$, načež se k ní ve dvou stejných dávkách přidá dalších 19,4 mililitrů (0,24 mol) ethyljodidu. Reakční směs se ještě 2 hodiny míchá při teplotě $0^\circ C$ stupňů Celsia, pak se k ní přidá 10 ml ledové kyseliny octové, výsledná směs se 10 minut míchá a pak se vylije na 400 ml drčeného ledu. Přidáním 2N hydroxidu sodného se pH vodné fáze zvýší na hodnotu 8,0, vodná směs se dvakrát extrahuje etherem, pak se přidá studené 2N kyseliny chlorovodíkové okyselí na pH 2,5 a extrahuje se ethylacetátem. Extrakt se promyje vodou, vysuší se síranem hořečnatým a odpaří se ve vakuu. Strupovitý odparek se rozpustí ve 200 ml etheru a k roztoku se přidá 8 ml (0,04 mol) dicyklohexylaminu.

Sraženina se odfiltruje a filtrát se extrahuje 1,5 N kyselinou citrónovou a vodou. Etherická vrstva se vysuší síranem hořeč-

natým a odpaří se ve vakuu, čímž se získá 4,6 g (39 % teorie) sloučeniny uvedené v názvu.

NMR:

δ (fenyl) = 7,2,

δ (Me_3COC-) = 1,4.

$\begin{array}{c} || \\ O \end{array}$

B. N^α -terc.butyloxykarbonyl- N^α -ethyl-L-fenylalanyl-amid

4,3 g (0,0146 mol) N^α -terc.butyloxykarbonyl- N^α -ethyl-L-fenylalaninu (přípraveného v odstavci A) se rozpustí v 60 ml N,N -dimethylformamidu, směs se ochladí na $0^\circ C$ a přidá se k ní 3,0 g (0,0146 mol) N,N' -dicyklohexylkarbodiimidu. Reakční směs se míchá ještě 2 hodiny při teplotě $0^\circ C$ a pak 72 hodiny při teplotě místnosti, načež se ochladí na $0^\circ C$ a zfiltruje se. Filtrát se zahustí ve vakuu na olejovitý odparek, který se rozpustí v ethylacetátu. Roztok se extrahuje 1N kyselinou uhličitou sodným, vodou, studenou 1,5N kyselinou citrónovou a znovu vodou, organická fáze se vysuší síranem hořečnatým a zahustí se. Získá se 3,93 g (91 % teorie) sloučeniny uvedené v názvu, o optické rotaci $[\alpha]_D^{25} = -101,51^\circ$ ($c = 1$ v methanolu).

Analýza: pro $C_{16}H_{24}N_2O_3$ (292,4)

vypočteno:

C: 65,73 %, H: 8,27 %, N: 9,58 %;

nalezeno:

C: 66,03 %, H: 8,13 %, N: 9,85 %.

C. Sůl N^α -ethyl-L-fenylalanyl-amidu s kyselinou chlorovodíkovou

3,5 g (11,95 mmol) N^α -terc.butyloxykarbonyl- N^α -ethyl-L-fenylalanyl-amidu (přípraveného postupem podle odstavce B) se rozpustí ve 40 ml čerstvě připravené ledové kyseliny octové obsahující bezvodý chlorovodík (1N), 1,5 ml anisolu a 1,5 ml triethylsilanu. Výsledná směs se 30 minut míchá při teplotě místnosti, pak se vylije do etheru, vyloučená sraženina se odfiltruje a vysuší se. Získá se 2,6 g (96 % teorie) sloučeniny uvedené v názvu, o bodu tání 276 až $277^\circ C$.

Analýza: pro $C_{11}H_{16}N_2OCl$ (227,7)

vypočteno:

C: 58,02 %, H: 7,08 %, N: 12,30 %;

nalezeno:

C: 57,97 %, H: 7,26 %, N: 12,54 %.

D. N^α -terc.butyloxykarbonyl-L-tyrosyl-D-alanyl-glycyl- N^α -ethyl-L-fenylalanyl-amid

Do 50 ml N,N-dimethylformamidu se vne-
se 1,14 g (0,005 mol) soli N^ε-ethyl-L-fenyl-
alanylamiidu s kyselinou chlorovodíkovou
(připravené v odstavci C). Směs se ochla-
dí na 0 °C a přidá se k ní 2,95 g (0,005 mol)
soli N^ε-terc.butyloxykarbonyl-L-tyrosyl-D-
-alanyl-glycinu s dicyklohexylaminem. Vý-
sledná směs se 5 minut míchá při teplotě
0 °C, načež se k ní přidá 675 mg (0,005 mol)
1-hydroxybenzotriazolu a 1,03 g (0,005 mol)
N,N'-dicyklohexylkarbodiimidu.

Reakční směs se míchá nejprve 6,5 ho-
diny při teplotě 0 °C a pak 20 hodin při tep-
lotě místnosti, načež se ochladí na 0 °C a
zfiltruje se. Filtrát se zahustí ve vakuu na
olejovitý odparek, který se znovu rozpustí
v ethylacetátu. Roztok se extrahuje 1N ky-
selým uhličitánem sodným, vodou, studenou
1,5N kyselinou citrónovou a znovu vodou,
organická fáze se vysuší síranem hořeč-
natým a zahustí se ve vakuu. Olejovitý zby-
tek se chromatografuje na sloupci silikage-
lu (40 cm × 3 cm, silikagel Grace and Da-
vison Grade 62) v chloroformu. Produkt se
ze sloupce vymývá chloroformem se stou-
pajícím podílem methanolu (až do 15 %
methanolu) a složení frakcí se sleduje chro-
matografií na tenké vrstvě. Z příslušných
frakcí se izoluje 1,13 g (39 % teorie) slou-
čeniny uvedené v názvu, o optické rotaci
[α]_D²⁵ = -21,0° (c = 0,5 v methanolu).

Analýza: pro C₃₀H₄₁N₅O₇ (583,7)

vypočteno:

C: 61,73 %, H: 7,08 %, N: 12,00 %;

nalezeno:

C: 60,35 %, H: 7,26 %, N: 11,25 %.

E. Sůl L-tyrosyl-D-alanyl-glycyl-N^ε-ethyl-
-L-fenylalanylamiidu s kyselinou octovou

1 g (1,71 mmol) produktu připraveného v
odstavci D se rozpustí ve 20 ml trifluoroc-
tové kyseliny obsahující 3 ml anisolu a 3
mililitry triethylsilanu. Směs se 30 minut
míchá při teplotě 0 °C, načež se vylíje do
etheru. Vyloučená sraženina se odfiltruje a
vysuší. Takto se získá 660 mg pevného pro-
duktu, který se rozpustí v příslušném množ-
ství vodného tlumivého roztoku (1 % pyri-
dinu a 0,05 % kyseliny octové) na roztok o
objemu 10 ml a tento roztok se nanese na
sloupec (2,5 cm × 90 cm) iontoměniče di-
ethylaminoethyl-Sephadex A-25 (acetátová
forma), který byl ekvilibrován se stejným
tlumivým roztokem. Eluát se sleduje spek-
troskopicky při 280 nm. Příslušné frakce
se spojí a lyofilizují, pevný produkt se roz-
pustí v 10 ml 0,2M kyseliny octové a roztok
se chromatografuje na sloupci (2,5 cm ×
× 99 cm) iontoměniče G-10 Sephadex, kte-
rý byl ekvilibrován s tímto rozpouštědlem.
Eluát se sleduje spektroskopicky při 280

nm. Spojením a lyofilizací příslušných frak-
cí se získá 448 mg (48 % teorie) slouče-
niny uvedené v názvu, o optické rotaci
[α]_D²⁵ = -10,6° (c = 0,5 v 1N kyselině
chlorovodíkové).

Analýza: pro C₂₇H₃₇N₅O₇ (543,6)

vypočteno:

C: 59,65 %, H: 6,86 %, N: 12,88 %;

nalezeno:

C: 59,41 %, H: 7,26 %, N: 13,18 %.

Analýza aminokyselin:

nalezeno:

Tyr 1,03, Ala 0,99, Gly 0,97, NH₃ 0,98.

Sloučeniny obecného vzorce I jsou užiteč-
né jako analgetika. Analgetickou účinnost
sloučenin obecného vzorce I dokládá test na
myších na horké desce. Při tomto testu se
myš umísťuje do vzpřímeného válce z akry-
lové pryskyřice, na jehož dnu je horká des-
ka udržovaná na teplotě 52 °C. Pokusné
myši se subkutánně aplikuje předem stano-
vené množství testované sloučeniny rozpuš-
tění nebo suspendované ve vhodném nosi-
či. Po aplikaci testované sloučeniny se ne-
chá uplynout určená doba a myš se pak
položí na horkou desku. Zaznamenávají se
doby latence (v sekundách) než myš začne
reagovat dvojím níže popsáním způsobem.
Jako první doba latence se měří časový in-
terval do doby, než si myš začne olizovat
zadní tlapku a jako druhá doba latence pak
časový interval do doby, než se myš snaží
z horké desky uniknout výskokem. Činidlo
vykazující analgetickou účinnost prodlužu-
je tyto doby latence v porovnání s interva-
ly naměřenými u kontrolní myši, již byl in-
jekčně aplikován pouze nosič. K tomuto
prodloužení však musí dojít v takovém roz-
mezí dávek, které ještě nezpůsobuje moto-
rickou inkoordinaci nebo neschopnost po-
hybu.

Výsledky dosažené při tomto testu jsou
uvedeny v následujících tabulkách v porov-
nání s výsledky dosaženými s kontrolními
zvířaty, jimž byl aplikován pouze roztok
chloridu sodného. V tabulce I jsou uvedeny
doby latence do olizování zadní tlapky (do-
ba latence I), v tabulce II pak doby laten-
ce do výskoku myši z horké desky (doba
latence II). Kritérium prokazatelného anal-
getického účinku je následující: doba la-
tence I a doba latence II u ošetřeného zví-
řete musí být stejná nebo vyšší než průměrná
doba latence u kontrolního zvířete plus dvě
standardní odchylky od průměru. Každý z
výsledků uvedených v tabulkách I
a II představuje průměrnou hodnotu plus
nebo minus standardní chybu.

Tabulka I

analgetická účinnost
(doba latence I v sekundách)

účinná látkab)	doba mezi aplikací a testem (min)	kontrola	0,3	1	dávka (mg/kg) ^{a)}	3	10	30
A	15	26,6 ± 1,7	—	—	33,2 ± 2,2 ³	114,4 ± 24,4 ²	—	—
	15	31,4 ± 3,1	—	33,3 ± 2,2	48,1 ± 7,6 ³	—	—	—
	15	33,4 ± 2,2	—	—	—	101,7 ± 15,9 ¹	—	—
	30	32,0 ± 2,7	—	—	—	71,2 ± 7,1 ¹	—	—
	60	28,2 ± 0,9	—	—	—	46,2 ± 6,3 ²	—	—
	90	28,2 ± 0,9	—	—	—	32,0 ± 3,5	—	—
	15	26,9 ± 3,1	29,4 ± 2,7	—	—	—	—	—
	15	25,0 ± 1,9	34,0 ± 1,5 ¹	—	—	—	—	—
	120	28,0 ± 1,7	—	—	—	30,2 ± 2,9	—	—
	15	29,2 ± 1,7	—	—	35,7 ± 2,3 ³	63,4 ± 12,6 ³	—	—
B	15	31,4 ± 1,7	—	34,8 ± 2,5	40,5 ± 2,7 ²	59,4 ± 10,0 ³	—	—
	30	29,8 ± 6,9	—	—	—	43,4 ± 6,1	—	—
	60	29,8 ± 6,9	31,9 ± 1,9 ³	—	—	—	—	—
	15	25,0 ± 1,9	—	—	—	37,0 ± 3,8	—	—
	60	30,0 ± 2,6	—	—	—	30,1 ± 3,9	—	—
	90	30,0 ± 2,6	—	—	—	29,6 ± 3,6	—	—
	120	23,7 ± 1,4	—	—	—	25,8 ± 1,6	—	—
	120	28,0 ± 1,7	32,9 ± 2,3 ³	32,4 ± 2,4 ³	—	—	—	—
	15	26,4 ± 1,8	—	—	35,2 ± 2,7 ²	58,1 ± 5,1 ¹	—	—
	15	26,1 ± 1,7	—	42,2 ± 3,9 ³	—	—	—	—
C	15	30,2 ± 2,7	32,0 ± 2,7	—	54,2 ± 7,2 ¹	240,0 ± 0 ¹	—	—
D	15	25,7 ± 1,1	—	—	—	—	—	—

Tabulka II

analgetická účinnost
(doba latence II v sekundách)

účinná látka ^{b)}	doba mezi aplikací a testem (min)	kontrola	0,3	1	3	10	30
A	15	48,4 ± 4,7	—	—	133,1 ± 14,8 ¹	222,2 ± 9,1 ¹	—
	15	62,1 ± 9,1	—	126,5 ± 5,7 ¹	140,4 ± 19,0 ¹	—	—
	15	80,2 ± 7,4	—	—	—	237,3 ± 2,7 ¹	—
	30	60,2 ± 6,1	—	—	—	189,2 ± 12,8 ¹	—
	60	80,5 ± 8,8	—	—	—	105,0 ± 14,2	—
	90	80,5 ± 8,8	—	—	—	110,2 ± 9,8 ³	—
	15	73,7 ± 6,9	126,2 ± 14,7 ²	—	—	—	—
	15	63,7 ± 9,1	107,0 ± 8,1 ¹	—	—	—	—
	120	69,8 ± 4,2	—	—	—	104,7 ± 7,0 ¹	—
	15	43,8 ± 5,5	—	—	152,4 ± 17,5 ¹	226,2 ± 7,7 ¹	—
B	15	62,9 ± 10,3	—	112,2 ± 21,2 ³	144,3 ± 13,2 ¹	—	—
	30	73,8 ± 14,6	—	—	—	218,3 ± 16,4 ¹	—
	60	73,8 ± 14,6	—	—	—	89,4 ± 16,7	—
	15	63,7 ± 9,1	130,7 ± 15,8 ¹	—	—	—	—
	60	59,2 ± 5,8	—	—	—	84,3 ± 13,2 ³	—
	90	59,2 ± 5,8	—	—	—	89,4 ± 7,5 ²	—
	120	79,4 ± 5,7	—	—	—	104,1 ± 5,8 ²	—
	120	69,8 ± 4,2	—	—	—	126,4 ± 11,7 ¹	—
	15	62,7 ± 7,5	118,9 ± 15,5 ²	120,6 ± 14,2 ¹	—	—	—
	15	75,6 ± 5,7	—	—	155,0 ± 17,9 ¹	237,6 ± 2,4 ¹	—
C	15	63,8 ± 7,7	121,2 ± 15,7 ²	185,1 ± 15,0 ¹	—	—	—
	15	79,1 ± 7,7	—	—	218,4 ± 16,2 ¹	240,0 ± 0 ¹	—

Poznámky k tabulkám I a II:

a) číslovky „1“, „2“ a „3“, psané jako indexy u některých hodnot v tabulce označují, že daný výsledek je statisticky významný pro $P < 0,001$, $P < 0,01$ resp. $P < 0,05$.

b) velká písmena označují následující sloučeniny:

A = sůl L-tyrosyl-D-alanyl-glycyl-N^α-methyl-L-fenylalanylamidu s kyselinou octovou

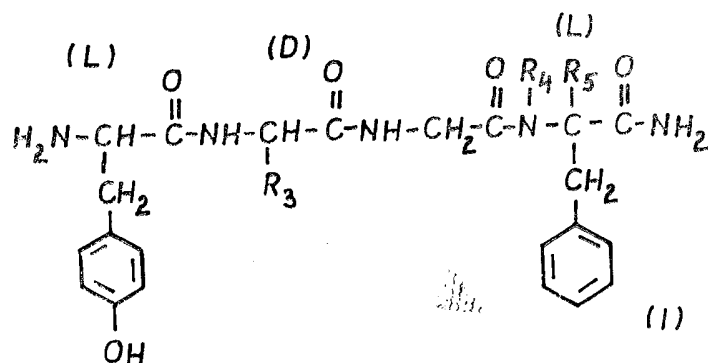
B = sůl L-tyrosyl-D-alanyl-glycyl-L- α -methylfenylalanylamidu s kyselinou octovou

C = sůl L-tyrosyl-D-alanyl-glycyl-N^α-n-propyl-L-fenylalanylamidu s kyselinou octovou

D = sůl L-tyrosyl-D-alanyl-glycyl-N^α-ethyl-L-fenylalanylamidu s kyselinou octovou.

PŘEDMĚT VYNÁLEZU

1. Způsob výroby nových derivátů L-tyrosyl-D-alanyl-glycyl-L-fenylalanylamidu obecného vzorce I



ve kterém

L a D, tam kde je to vhodné, definují chiralitu,

R₃ představuje alkylovou skupinu s 1 až 4 atomy uhlíku,

R₄ představuje atom vodíku nebo primární alkylovou skupinu s 1 až 3 atomy uhlíku a

R₅ znamená atom vodíku nebo primární alkylovou skupinu s 1 až 3 atomy uhlíku, s tím, že jeden ze symbolů R₄ a R₅ znamená vždy primární alkylovou skupinu s 1 až 3 atomy uhlíku a druhý atom vodíku, a jejich farmaceuticky upotřebitelných netoxických adičních solí s kyselinami, vyznačující se tím, že se ze sloučeniny odpovídající obecnému vzorci I, v němž jsou aminoskupina nebo/a hydroxyskupina v L-tyrosylovém zbytku vhodným způsobem chráněny, odštěpí chránicí skupiny působením kyselého prostředí vybraného ze skupiny zahrnující kyselinu trifluoroctovou, ledovou kyselinu octovou s plynným chlorovodíkem a kyselinu mravenčí.

2. Způsob podle bodu 1, vyznačující se tím, že se použijí výchozí látky, v nichž R₄ znamená primární alkylovou skupinu s 1 až 3 atomy uhlíku.

3. Způsob podle bodu 1, vyznačující se tím, že se použijí výchozí látky, v nichž R₅ znamená primární alkylovou skupinu s 1 až 3 atomy uhlíku.

4. Způsob podle bodu 1, k výrobě soli L-tyrosyl-D-alanyl-glycyl-N^α-methyl-L-fenylalanylamidu s kyselinou octovou, vyznačující se tím, že se N^α-terc.butyloxykarbonyl-L-tyrosyl-D-alanyl-glycyl-N^α-methyl-L-fenylalanylamid nechá reagovat s kyselinou trifluoroctovou a výsledný produkt se lyofilizuje z kyseliny octové.

5. Způsob podle bodu 1, k výrobě soli L-tyrosyl-D-alanyl-glycyl-L- α -methylfenylalanylamidu s kyselinou octovou, vyznačující se tím, že se N^α-terc.butyloxykarbonyl-L-tyrosyl-D-alanyl-glycyl-L- α -methylfenylalanylamid nechá reagovat s chlorovodíkem v ledové kyselině octové a výsledný produkt se lyofilizuje z kyseliny octové.

6. Způsob podle bodu 1, k výrobě soli L-tyrosyl-D-alanyl-glycyl-N^α-n-propyl-L-fenylalanylamidu s kyselinou octovou, vyznačující se tím, že se N^α-terc.butyloxykarbonyl-L-tyrosyl-D-alanyl-glycyl-N^α-n-propyl-L-fenylalanylamid nechá reagovat s chlorovodíkem v ledové kyselině octové a výsledný produkt se lyofilizuje z kyseliny octové.

7. Způsob podle bodu 1, k výrobě soli L-tyrosyl-D-alanyl-glycyl-N^α-ethyl-L-fenylalanylamidu s kyselinou octovou, vyznačující se tím, že se N^α-terc.butyloxykarbonyl-L-tyrosyl-D-alanyl-glycyl-N^α-ethyl-L-fenylalanylamid nechá reagovat s kyselinou trifluoroctovou a výsledný produkt se lyofilizuje z kyseliny octové.