



**Erfolgspatent für die Schweiz und Liechtenstein**  
Schweizerisch-liechtensteinischer Patentschutzvertrag vom 22. Dezember 1978

**⑫ PATENTSCHRIFT A5**

⑪

**644 352**

⑯1 Gesuchsnummer: 949/77

⑯3 Inhaber:  
The Wellcome Foundation Limited, London NW1  
(GB)

⑯2 Anmeldungsdatum: 26.01.1977

⑯2 Erfinder:  
Samuel Wilkinson, Beckenham/Kent (GB)

⑯4 Patent erteilt: 31.07.1984

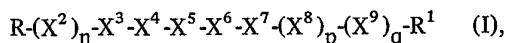
⑯4 Vertreter:  
Andrew Kerr, Arlesheim

⑯5 Patentschrift  
veröffentlicht: 31.07.1984

**⑯4 Verfahren zur Herstellung von Peptiden.**

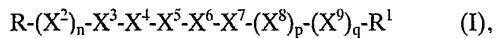
⑯5 Ein Peptid der Formel I wird durch Umsetzung zweier Verbindungen, die komplementär die gewünschte Peptidkette ergeben, hergestellt. Die Symbole in der Formel I haben die im Patentanspruch 1 angegebene Bedeutung.

Die Verbindungen der Formel I zeigen interessante physiologische Eigenschaften, insbesondere eine Aktivität als Morphinantagonisten.



## PATENTANSPRÜCHE

## 1. Verfahren zur Herstellung eines Peptids der Formel I



oder deren Salze, (C<sub>1</sub>- bis C<sub>4</sub>-)Alkylester, Amide, N-(C<sub>1</sub>- bis C<sub>5</sub>-)Alkylamide sowie die entsprechenden Säureadditionssalze, worin

n = 0 oder 1;

X<sup>2</sup> = L-Arginyl;

X<sup>3</sup> = D- oder L-Tyrosyl, D- oder L-N-Methyltyrosyl, D- oder L-3,4-Dihydroxyphenylalanyl, L-O<sup>4</sup>-Methyltyrosyl, L-O<sup>4</sup>-Acetyltyrosyl, L-Phenylalanyl, L-4-Chlorphenylalanyl oder L-β-Homotyrosyl;

X<sup>4</sup> = Glycyl, Sarcosyl, α-Methylalanyl, D- oder L-Alanyl, D- oder L-N-Methylalanyl, L-Asparaginyl, L-Isoleucyl, L-Prolyl, D-Leucyl oder D-Tryptophyl;

X<sup>5</sup> = Glycyl, Sarcosyl, D- oder L-Alanyl, D- oder L-Prolyl oder L-Asparaginyl;

X<sup>6</sup> = D- oder L-Phenylalanyl, L-Tyrosyl, L-O<sup>4</sup>-Methyltyrosyl, L-4-Chlorphenylalanyl, L-C-Phenylglycyl, L-Leucyl, L-Methionyl oder L-Histidyl;

X<sup>7</sup> = Glycyl, D- oder L-Leucyl, D- oder L-Methionyl, L-Alanyl, L-Isoleucyl, L-Norleucyl, L-Valyl, L-Methionylsulfoxid, L-Threonyl, L-Prolyl oder D-β-Homoleucyl;

X<sup>8</sup> = D- oder L-Threonyl, L-Lysyl, L-Phenylalanyl oder L-Tyrosyl;

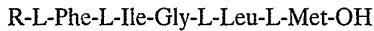
X<sup>9</sup> = Glycyl oder L-Lysyl;

R = Wasserstoff oder (C<sub>1</sub>- bis C<sub>4</sub>-)Alkyl;

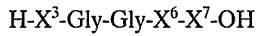
R<sup>1</sup> = die Hydroxygruppe der 1-Carboxylgruppe des C-terminalen Aminosäurerestes oder einen der folgenden, diese Carboxylgruppe ersetzenden Reste: eine Gruppe der Formel -CH<sub>2</sub>OR<sup>4</sup>, worin R<sup>4</sup> Wasserstoff oder Alkanoyl, worin der Alkylrest 1 bis 4 C-Atome aufweist, darstellt, oder die 5-Tetrazolylgruppe; und

p und q Null oder 1 bedeuten

ausgenommen Peptide der Formeln



oder



und deren Salze, Ester, Amide und N-Alkylamide sowie die entsprechenden Säureadditionssalze, worin R die oben angegebene Bedeutung hat, X<sup>7</sup> L-Leucyl oder L-Methionyl und entweder X<sup>3</sup> L-Tyrosyl und X<sup>6</sup> L-Phenylalanyl oder X<sup>3</sup> L-Tyrosyl und X<sup>6</sup> L-4-Chlorphenylalanyl bedeuten, dadurch gekennzeichnet, dass man eine Verbindung der Formel II



worin

R = die obengenannte Bedeutung hat; und

Y<sup>1</sup> = eine Teilsequenz ist, die mindestens einen Aminosäurerest enthält und mit der entsprechenden N-terminalen Teilsequenz in Formel I identisch ist, mit einer Verbindung der Formel III



worin R<sup>1</sup> die obengenannte Bedeutung hat und Y<sup>2</sup> dem übrigen Teil des zu bildenden Produktes entspricht, umsetzt, wobei man die Verbindungen der Formeln II und III gegebenenfalls aktiviert und/oder intermediär schützt und das erhaltene Produkt gegebenenfalls in die freie Base, ein Salz oder ein Säureadditionssalz überführt.

tionssalz überführt.

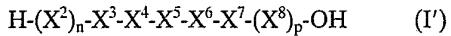
2. Verfahren nach Anspruch 1, dadurch gekennzeichnet, dass man einen (C<sub>1</sub>- bis C<sub>4</sub>-)Alkylester der Formel I mit Ammoniak oder einem Mono-(C<sub>1</sub>- bis C<sub>4</sub>-)Alkylamin in das entsprechende

5 Amid oder N-(C<sub>1</sub>- bis C<sub>4</sub>-)Alkylamid überführt.

3. Verfahren nach Anspruch 1, dadurch gekennzeichnet, dass man eine Verbindung der Formel I, worin R<sub>1</sub> den Hydroxylrest der 1-Carboxylgruppe des C-terminalen Aminosäurerestes bedeutet, zum entsprechenden (C<sub>1</sub>- bis C<sub>4</sub>-)Alkylester verestert.

10 4. Verfahren nach Anspruch 1, dadurch gekennzeichnet, dass man einen (C<sub>1</sub>- bis C<sub>4</sub>-)Alkylester zu einer entsprechenden Verbindung der Formel I, worin R<sub>1</sub> die Hydroxylgruppe der 1-Carboxylgruppe des C-terminalen Aminosäurerestes bedeutet, verseift.

15 5. Verfahren nach einem der Ansprüche 1 bis 4 zur Herstellung eines Peptids der Formel I'



20 oder deren Salze, (C<sub>1</sub>- bis C<sub>4</sub>-)Alkylester, Amide-N-(C<sub>1</sub>- bis C<sub>5</sub>-)Alkylamide sowie die entsprechenden Säureadditionssalze, worin

n = 0 oder 1;

X<sup>2</sup> = L-Arginyl;

X<sup>3</sup> = D- oder L-Tyrosyl, D- oder L-N-Methyltyrosyl, D- oder L-3,4-Dihydroxyphenylalanyl, L-O<sup>4</sup>-Methyltyrosyl, L-O<sup>4</sup>-Acetyltyrosyl oder L-Phenylalanyl;

X<sup>4</sup> = Glycyl, Sarcosyl, D- oder L-Alanyl, D- oder L-N-Methylalanyl, L-Isoleucyl, L-Prolyl oder D-Leucyl;

X<sup>5</sup> = Glycyl, Sarcosyl, D- oder L-Alanyl, D- oder L-Prolyl oder L-Asparaginyl;

X<sup>6</sup> = D- oder L-Phenylalanyl, L-Tyrosyl, L-O<sup>4</sup>-Methyltyrosyl, L-C-Phenylglycyl, L-Leucyl oder L-Methionyl;

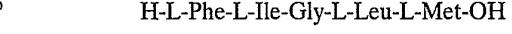
X<sup>7</sup> = Glycyl, D- oder L-Leucyl, D- oder L-Methionyl, L-Alanyl, L-Isoleucyl, L-Norleucyl, L-Valyl, L-Threonyl oder L-Prolyl;

X<sup>8</sup> = D- oder L-Threonyl; und

p = 0 oder 1

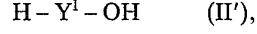
bedeuten,

40 mit der Massgabe, dass, wenn n und p beide Null bedeuten und X<sup>3</sup> L-Tyrosyl, X<sup>4</sup> Glycyl, X<sup>5</sup> Glycyl bzw. X<sup>6</sup> L-Phenylalanyl darstellen, dann X<sup>7</sup> nicht L-Methionyl oder L-Leucyl bedeutet, und ausgenommen die Verbindung der Formel

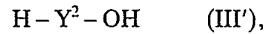


sowie dessen Salze, Ester, Amid und N-Alkylamid sowie die entsprechenden Säureadditionssalze, dadurch gekennzeichnet, dass man eine Verbindung der Formel II'

50

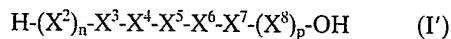


worin Y<sup>1</sup> eine Teilsequenz ist, die mindestens einen Aminosäurerest enthält und mit der entsprechenden N-terminalen Teilsequenz in Formel I' identisch ist, mit einer Verbindung der Formel III'



worin Y<sup>2</sup> dem übrigen Teil des zu bildenden Produktes entspricht, umsetzt, wobei man die Verbindungen der Formeln II' und III' gegebenenfalls aktiviert und/oder intermediär schützt und das erhaltene Produkt gegebenenfalls in die freie Base, ein Salz oder ein Säureadditionssalz überführt.

60 6. Verfahren nach einem der Ansprüche 1 bis 4 zur Herstellung eines Peptids der Formel I'



oder deren Salze, ( $C_1$ - bis  $C_4$ -)Alkylester, Amide, N-( $C_1$ - bis  $C_5$ -)Alkylamide sowie die entsprechenden Säureadditionssalze, worin

$n$  0 oder 1;

$X^2$  L-Arginyl;

$X^3$  L-Tyrosyl, L-N-Methyltyrosyl, L-3,4-Dihydroxyphenylalanyl, L-O<sup>4</sup>-Methyltyrosyl, L-O<sup>4</sup>-Acetyltyrosyl oder L-Phenylalanyl;

$X^4$  Glycyl, Sarcosyl, D- oder L-Alanyl, D- oder L-N-Methylalanyl, L-Isoleucyl, L-Prolyl oder D-Leucyl;

$X^5$  Glycyl, Sarcosyl, D- oder L-Alanyl, oder D- oder L-Prolyl;

$X^6$  L-Phenylalanyl, L-Tyrosyl, L-O<sup>4</sup>-Methyltyrosyl oder L-C-Phenylglycyl;

$X^7$  Glycyl, L-Leucyl, L-Methionyl, L-Alanyl, L-Isoleucyl, L-Norleucyl, L-Valyl oder L-Prolyl;

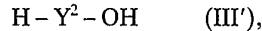
$X^8$  L-Threonyl; und

$p$  0 oder 1

bedeuten, mit der Massgabe, dass, wenn  $n$  und  $p$  beide Null bedeuten und  $X^3$  L-Tyrosyl,  $X^4$  Glycyl,  $X^5$  Glycyl bzw.  $X^6$  L-Phenylalanyl darstellen, dann  $X^7$  einen L-Methionyl oder L-Leucyl bedeutet, dadurch gekennzeichnet, dass man eine Verbindung der Formel II'

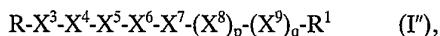


worin  $Y^1$  eine Teilsequenz ist, die mindestens einen Aminosäurerest enthält und mit der entsprechenden N-terminalen Teilsequenz in Formel I' identisch ist, mit einer Verbindung der Formel III'



worin  $Y^2$  dem übrigen Teil des zu bildenden Produktes entspricht, umsetzt, wobei man die Verbindungen der Formeln II' und III' gegebenenfalls aktiviert und/oder intermediär schützt und das erhaltene Produkt gegebenenfalls in die freie Base, ein Salz oder ein Säureadditionssalz überführt.

7. Verfahren nach einem der Ansprüche 1 bis 4 zur Herstellung eines Peptids der Formel I"



oder deren Salze, ( $C_1$ - bis  $C_4$ -)Alkylester, Amide, N-( $C_1$ - bis  $C_5$ -)Alkylamide sowie die entsprechenden Säureadditionssalze, worin

$R$ ,  $R^1$ ,  $p$  und  $q$  die im Anspruch 1 angegebenen Bedeutungen haben,

$X^3$  L-Tyrosyl, L-O<sup>4</sup>-Acetyltyrosyl oder N-Methyl-L-tyrosyl;

$X^4$  Glycyl, L-Alanyl, D-Alanyl oder  $\alpha$ -Methylalanyl;

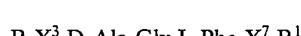
$X^5$  Glycyl, Sarcosyl oder L-Asparaginyl;

$X^6$  L-Phenylalanyl, L-Tyrosyl oder L-4-Chlorphenylalanyl;

$X^7$  L-Leucyl, D-Leucyl, L-Methionyl, D-Methionyl, L-Norleucyl, L-Threonyl oder D- $\beta$ -Homoleucyl; und

$X^8$  und  $X^9$  die im Anspruch 1 angegebenen Bedeutungen haben.

8. Verfahren nach einem der Ansprüche 1 bis 4 zur Herstellung eines Peptids der Formel



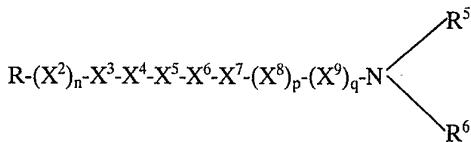
oder dessen Salze, ( $C_1$ - bis  $C_4$ -)Alkylester, Amide-N-( $C_1$ - bis  $C_5$ -)Alkylamide sowie die entsprechenden Säureadditionssalze, worin

$R$  und  $R^1$  die im Anspruch 1 angegebenen Bedeutungen haben,

$X^3$  L-Tyrosyl oder N-Methyl-L-tyrosyl und

$X^7$  D-Leucyl oder D-Methionyl bedeuten.

9. Verfahren nach Anspruch 1 zur Herstellung eines Peptids der Formel



oder dessen Säureadditionssalze, worin  $X^2$ ,  $X^3$ ,  $X^4$ ,  $X^5$ ,  $X^6$ ,  $X^7$ ,  $X^8$ ,  $X^9$ ,  $n$ ,  $p$ ,  $q$  und  $R$  die im Anspruch 1 angegebenen Bedeutungen haben und  $R^5$ ,  $R^6$  und das Stickstoffatom, an das sie gebunden sind, zusammen eine Amino- oder ( $C_1$ - bis  $C_4$ -)Alkylaminogruppe enthalten.

10. Verfahren nach Anspruch 1 oder 4 zur Herstellung eines Peptids der Formel I, worin  $R^1$  die Hydroxylgruppe der 1-Carboxylgruppe des C-terminalen Aminosäurerestes bedeutet.

11. Verfahren nach einem der Ansprüche 1 bis 4 zur Herstellung eines Peptids der Formel I, worin  $R$  Wasserstoff bedeutet.

12. Verfahren nach einem der Ansprüche 1 bis 4 zur Herstellung eines Peptids der Formel I, worin  $n$  Null bedeutet.

13. Verfahren nach einem der Ansprüche 1 bis 4 zur Herstellung eines Peptids der Formel I, worin  $p$  und  $q$  beide Null sind

14. Verfahren nach einem der Ansprüche 1 bis 4 zur Herstellung eines Peptids der Formel I, worin  $X^3$  L-Tyrosyl bedeutet.

15. Verfahren nach einem der Ansprüche 1 bis 4 zur Herstellung eines Peptids der Formel I, worin  $X^4$  den Rest einer

entsprechenden D-Aminosäure bedeutet.

16. Verfahren nach einem der Ansprüche 1 bis 4 zur Herstellung eines Peptids der Formel I, worin  $X^4$  D-Alanyl bedeutet.

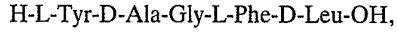
17. Verfahren nach einem der Ansprüche 1 bis 4 zur Herstellung eines Peptids der Formel I, worin  $X^5$  Glycyl bedeutet.

18. Verfahren nach einem der Ansprüche 1 bis 4 zur Herstellung eines Peptids der Formel I, worin  $X^6$  L-Phenylalanyl bedeutet.

19. Verfahren nach einem der Ansprüche 1 bis 4 zur Herstellung eines Peptids der Formel I, worin  $X^7$  den Rest einer entsprechenden D-Aminosäure bedeutet.

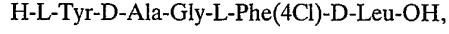
20. Verfahren nach einem der Ansprüche 1 bis 4 zur Herstellung eines Peptids der Formel I, worin  $X^7$  D-Leucyl oder D-Methionyl bedeutet.

21. Verfahren nach Anspruch 1 oder 4 zur Herstellung eines Peptids der Formel



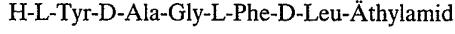
dessen Salze oder Säureadditionssalze.

22. Verfahren nach Anspruch 1 oder 4 zur Herstellung eines Peptids der Formel



dessen Salze oder dessen entsprechenden Säureadditionssalze.

23. Verfahren nach Anspruch 1 oder 2 zur Herstellung eines Peptids der Formel



oder dessen entsprechenden Säureadditionssalze.

24. Verfahren nach einem der Ansprüche 1 bis 4 zur Herstellung eines physiologisch oder pharmazeutisch verträglichen Salzes oder Säureadditionssalzes eines Peptids der Formel I.

25. Verfahren nach einem der Ansprüche 1 bis 4 zur Herstellung des Säureadditionssalzes eines Peptids der Formel I mit Salzsäure.

65 Die Erfindung betrifft ein Verfahren zur Herstellung von Peptiden und deren Derivaten; diese Verbindungen besitzen interessante physiologische Eigenschaften und können zu Arzneimittelzubereitungen konfektioniert und als solche in der

Human- und Veterinärmedizin verwendet werden.

Die Erfindung bezieht sich auf ein Verfahren zur Herstellung von Peptiden und deren Derivaten, welche eine Aktivität als Morphinantagonisten zeigen. Wie allgemein angenommen und im vorliegenden Fall auch angewendet, versteht man unter einem Morphinantagonisten eine Verbindung, deren biologische Aktivität diejenige des natürlichen Alkaloids nachahmt.

Die pharmakologischen Eigenschaften und therapeutischen Anwendungen von Morphin sind in der Literatur eingehend dokumentiert, wozu auf «The Pharmacological Basis of Therapeutics», herausgegeben von L. S. Goodman und A. Gilman, veröffentlicht von The MacMillan Company, New York, 3. Auflage (1965), insbesondere Kapitel 15, Seiten 247 bis 266, und «Martindale: The Extra Pharmacopoeia», herausgegeben von N. W. Blacow, veröffentlicht von The Pharmaceutical Press, London, 26. Auflage (1972), insbesondere Seiten 1100 bis 1106, hingewiesen wird. Es ist jedoch bekannt (vergleiche L. S. Goodman et al., l.c., Kapitel 16), dass wiederholte Verabreichung von Morphin beim Empfänger zu einer Erzeugung von Sucht nach der Droge und einer Gewöhnung an deren Wirkungen sowie deren Manifestation durch das Auftreten von Entzugsymptomen, wenn die Verabreichung unterbrochen wird, führt. Die Suche nach einer Verbindung, welche das Aktivitätsspektrum von Morphin besitzt, ohne jedoch dessen Nachteile zu haben, war das Ziel langjähriger Forschungsarbeit. Durch die Erfindung wird nun ein Verfahren zur Herstellung neuer Peptide und deren Derivate, d. h. ihrer Salze ( $C_1$ - bis  $C_4$ )-Alkylester, Amide, N-( $C_1$ - bis  $C_5$ )-Alkylamide sowie die entsprechenden Säureadditionsalze, welche sowohl in *in vitro* als auch in *in vivo* Versuchen eine Aktivität als Morphinantagonist zeigen, geschaffen.

Die Erfindung betrifft ein Verfahren zur Herstellung von Peptiden, wie es im Anspruch 1 beansprucht ist. Bevorzugte Ausführungsformen werden in den Ansprüchen 2 bis 25 genannt.

Die verwendeten Abkürzungen für Aminosäuren und deren Radikale entsprechen den üblicherweise in der einschlägigen Technik verwendeten und können beispielsweise der Veröffentlichung in Biochemistry, 11 (1972) 1726 entnommen werden. Im vorhergehenden und im folgenden beziehen sich alle Angaben auf die L-Configuration von chiralen Aminosäuren und deren Radikale, wenn nicht anderweitig angegeben.

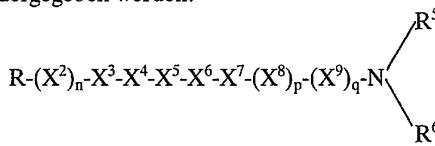
Die Disclaimers in den Patentansprüchen basieren auf den Veröffentlichungen in Helv. Chim. Acta, 47/2 (1964), Seiten 417/418 und in Nature, 258 (1975), Seiten 577/579.

Als Beispiel für die Radikale  $X^8$  und  $X^9$  ist zu nennen: L-Lysyl.

Falls R für ( $C_1$ - bis  $C_4$ )-Alkyl steht, so kommt für den Alkylrest insbesondere ein solcher mit 1 bis 2 Kohlenstoffatomen in Betracht.

Von den ( $C_1$ - bis  $C_4$ )-Alkylestern der Peptide der Formel I sind z. B. die Methyl-, Äthyl- und tert.-Butylester zu nennen.

Eine Unterklasse von Amiden und N-( $C_1$ - bis  $C_5$ )-Alkylamiden von den Peptiden der Formel I kann durch die nachstehende Formel wiedergegeben werden:



worin  $X^2$ ,  $X^3$ ,  $X^4$ ,  $X^5$ ,  $X^6$ ,  $X^7$ ,  $X^8$ ,  $X^9$ , n, p, q und R die bei Formel I angegebenen Bedeutungen haben und  $R^5$  und  $R^6$  zusammen mit dem Stickstoffatom, an das sie gebunden sind, eine Amino- oder N-( $C_1$ - bis  $C_4$ )-Alkylaminogruppe darstellen.

Bei den Säureadditionsalzen der Peptide der Formel I und von deren Derivaten ist als Sitz der Aktivität die Base anzusehen, so dass der Säureanteil von untergeordneter Bedeutung ist, obgleich für therapeutische Zwecke pharmakologisch und pharmazeutisch annehmbare Reste bevorzugt werden. Als Beispiele für geeignete Säuren sind zu nennen:

a) Mineralsäuren, z. B. Salzsäure, Bromwasserstoffsäure, Phosphorsäure, Methaphosphorsäure, Salpetersäure und Schwefelsäure;

b) organische Säuren, z. B. Weinsäure, Essigsäure, Zitronensäure, Äpfelsäure, Milchsäure, Fumarsäure, Benzoesäure, Glykolsäure, Glukonsäure, Gulonsäure, Bernsteinsäure und Arylsulfonsäuren, z. B. p-Toluolsulfonsäure.

Die pharmazeutisch und pharmakologisch annehmbaren Säureadditionsalze sowie solche Salze, die nicht in gleichem Masse annehmbar sind, wie beispielsweise die Salze der Fluorwasserstoff- und Perchlorsäure, sind für die Isolierung und Reinigung der Basen von Bedeutung, und außerdem können die nicht annehmbaren Salze zur Herstellung der annehmbaren Salze mit Hilfe bekannter Techniken verwendet werden. Solche Peptide und deren Derivate, die eine Mehrzahl freier Aminogruppen aufweisen, können in Form von Mono- oder Polysäureadditionsalzen oder als gemischte Salze einer Vielzahl von Säuren gewonnen werden.

In gleicher Weise ist bei den Salzen der Peptide, worin das

Peptid als Carboxylat anion zusammen mit einem Kation vorliegt, die Art des Kations von untergeordneter Bedeutung, obgleich das Kation für pharmazeutische Zwecke bevorzugt pharmakologisch und pharmazeutisch annehmbar ist. Als Beispiele für geeignete Kationen sind Natrium und Kalium zu nennen.

Die Eigenschaften der Peptide der Formel I und von deren Derivaten als Morphinantagonisten sollen im folgenden dargestellt werden, wobei darauf hingewiesen wird, dass diese Darstellung nur zur Erläuterung dient und keine Einschränkung darstellen soll.

#### A) *In vitro*:

1. Hemmung von neural evozierten Kontraktionen des isolierten Vas derferens von Mäusen, bei Untersuchungen nach der Methode von Hughes et al. [Brain Research 88 (1975) 296] unter Verwendung von Pulsationen bei 0,1 Hz, wobei die Hemmung durch den bekannten narkotischen Antagonisten Naxolon (1-N-Allyl-7,8-dihydro-14-hydroxy-normorphinon) aufgehoben wurde.

2. Reduktion von elektrisch induzierten Kontraktionen von isoliertem Meerschweinchendarm, wenn dieser für die Stimulation nach der Methode von Paton [Brit. J. Pharmacol., 12 (1957) 119 bis 127] präpariert wurde. [Jedes Darmsegment wurde mittels der Anode eingepfählt und aufgehängt, wobei mit einem Gewicht von 2 bis 3 g belastet wurde. Stimulierungsparameter: Frequenz 0,1 Hz; Dauer 0,4 ms; Spannung (supramaximal) 30 bis 40 V; die Kontraktionen wurden isotonisch übertragen].

#### B) *In vivo*:

1. Die Verbindungen zeigten analgetische Wirkung, z. B. waren sie wirksam bei der Reduktion von Phenylbenzochinon induzierten Kammerflimmern bei Mäusen, wenn diese entsprechend einer Modifikation der Methode von Hendershot et al. [J. Pharm. exp. Therap., 125 (1959) 237] untersucht wurden, wobei die Verbindungen mittels intracerebroventricularer Injektion verabreicht wurden. Diese Reduktion wurde durch Naxolon aufgehoben.

2. Die Verbindung zeigt antitussive Wirkung, z. B. bei Untersuchung von Meerschweinchen entsprechend der Methode von Boura et al. [Brit. J. Pharmacol., 39 (1970) 225].

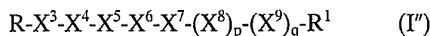
3. Die Verbindungen sind gegen Diarrhöe wirksam, so bewirken sie beispielsweise eine Reduktion der von Ricinusöl hervorgerufenen Diarrhöe bei Ratten.

Als Unterklassen der Peptide der Formel I und von deren Derivaten können die folgenden Verbindungen genannt werden, worin bedeuten:

- 65 1. n Null;
2. p und q beide Null;
3.  $X^3$  L-Tyrosyl;
4.  $X^4$  D-Alanin;

5.  $X^5$  Glycyl;  
 6.  $X^6$  L-Phenylalanyl;  
 7.  $X^7$  der Rest von D-Leucin oder D-Methionin.

Als weitere Unterklassen können solche Peptide und deren Derivate genannt werden, welche der Formel I"



entsprechen. In dieser Formel bedeuten:

- $R$ ,  $R^1$ ,  $p$  und  $q$  die bei Formel I angegebene Definition;  
 $X^3$  L-Tyrosyl, O<sup>4</sup>-Acetyl-L-tyrosyl oder N-Methyl-L-tyrosyl;  
 $X^4$  Glycyl, L-Alanyl,  $\alpha$ -Methyl-alanyl oder D-Alanyl;  
 $X^5$  Glycyl, Sarcosyl oder L-Asparaginyl;  
 $X^6$  L-Phenylalanyl, L-Tyrosyl oder L-4-Chlorphenylalanyl;  
 $X^7$  L-Leucyl, D-Leucyl, L-Methionyl, D-Methionyl-L-Norleu- 15  
 cyl, L-Threonyl oder D- $\beta$ -Homoleucyl;  
 $X^8$  L-Threonyl, D-Threonyl, L-Phenylalanyl, L-Tyrosyl oder L-Lysyl; und  
 $X^9$  Glycyl oder L-Lysyl.

Als weitere Unterklassen können solche Peptide und deren Derivate genannt werden, welche der Formel



worin

- $R$  und  $R^1$  die bei Formel I angegebene Bedeutung haben;  
 $X^3$  L-Tyrosyl oder N-Methyl-L-tyrosyl; und  
 $X^7$  D-Leucyl oder D-Methionyl bedeuten, entsprechen.

Die Peptide der Formel I und deren Derivate können nach für die Herstellung von Verbindungen mit analoger Struktur bekannten Methoden hergestellt werden. So können sie beispielsweise durch schrittweise Kupplung geeigneter Aminosäuren hergestellt werden, und zwar entweder, indem man die klassischen Methoden der Peptidsynthese oder Festphasenreaktionen anwendet, oder indem man zunächst Unter-Einheiten herstellt und diese anschliessend miteinander verkuppelt.

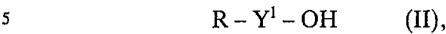
Derartige Reaktionen können durchgeführt werden, indem man beispielsweise die Carboxylgruppe der eintretenden Aminosäure aktiviert und die nicht an der Reaktion teilnehmenden Amino- und Carboxylgruppen schützt. Derartige Techniken sind in der Peptidchemie allgemein üblich. Einzelheiten über geeignete Aktivierungs- und Schutz- (Maskierungs-) Methoden sowie geeignete Reaktionsbedingungen sowohl für die Kupplungsreaktionen als auch für die Entfernung der Schutzgruppen unter möglichst weitgehender Zurückdrängung der Racemisierung, können in den nachfolgend aufgeführten Literaturstellen gefunden werden. Die Literaturzitate dienen selbstverständlich nur der Erläuterung.

- a) Veröffentlichte Britische Patentschriften Nrn. 1042487, 1048086 und 1281383.  
 b) Schröder und Lüebke, «The Peptides» (Academic Press) (1965).  
 c) Belleau und Malek, J. Am. Chem. Soc. 90 (1968) 165.  
 d) Tilak, Tetrahedron Letters (1970), 849.  
 e) Beyerman, Helv. Chim. Acta., 56 (1973) 1729.  
 f) Stewart und Young, «Solid Phase Peptide Synthesis» (W.H. Freeman and Co.) (1969).

In Abhängigkeit von den Reaktionsbedingungen werden die Peptide der Formel I und deren Derivate in Form der freien Basen oder der Säureadditionssalze, oder im Fall der Peptide selbst, der Salze gewonnen. Die Säureadditionssalze können in die freien Basen oder in die Salze anderer Säuren umgewandelt werden, während die Basen in Säureadditionssalze übergeführt werden können. Die jeweils zur Anwendung gelangenden Methoden sind allgemein bekannt. In gleicher Weise können die Peptide in ihre Salze und umgekehrt die Salze in die Peptide oder in andere Salze übergeführt werden, was ebenfalls nach bekannt-

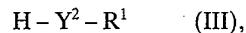
ten Methoden geschehen kann.

Die Peptide der Formel I und ihre Derivate werden erfundungsgemäss hergestellt, indem man eine Verbindung der Formel II



worin

- $R$  die obengenannte Bedeutung hat; und  
 $Y^1$  eine Teilsequenz ist, die mindestens einen Aminosäurerest enthält und mit der entsprechenden N-terminalen Teilsequenz in Formel I identisch ist,  
 mit einer Verbindung der Formel III



worin  $R^1$  die obengenannte Bedeutung hat und  $Y^2$  dem übrigen Teil des zu bildenden Produktes entspricht, umsetzt, wobei man die Verbindungen der Formeln II und III gegebenenfalls aktiviert und/oder intermediär schützt und das erhaltene Produkt 20 gegebenenfalls in die freie Base, ein Salz oder ein Säureadditionssalz überführt.

Zur Herstellung von Peptiden der Formel I und von deren Derivaten, worin  $X^7$  Methionyl (D oder L) bedeutet, entspricht die Verbindung der Formel II vorzugsweise dem N-terminalen

- 25 Fragment davon und hat entweder 1. die Methionylgruppe  $X^7$  in der C-terminalen Stellung (in diesem Fall ist bei der Verbindung der Formel III das Radikal  $(X^8)_p$  in der N-terminalen Stellung angeordnet) oder 2. das Radikal  $X^6$  in der C-terminalen Stellung (in diesem Fall hat die Verbindung der Formel III die Methionyl- 30 gruppe  $X^7$  in der N-terminalen Stellung); aufgrund der allgemeinen Zweckdienlichkeit ist die erstgenannte Möglichkeit bevorzugt.

Für einen Fachmann ist es selbstverständlich, dass die L-Arginyl-Reste nicht nur in der oben beschriebenen Weise in die

- 35 Peptidkette eingeführt werden können, sondern dass sie auch in situ in der bereits zusammengefügten Kette oder einer Untereinheit davon, durch Guanidierung eines L-Ornithyl-Restes unter Verwendung eines Reagens wie 1-Guanyl-3,5-dimethylpyrazol gebildet werden können.

- 40 Es ist außerdem zu erwähnen, dass auch andere in situ durchzuführende Umwandlungen bei den Peptiden der Formel I und ihren Derivaten möglich sind. So können beispielsweise die Amide und N-(C<sub>1</sub>- bis C<sub>5</sub>-Alkylamide durch Reaktion eines Peptid-(C<sub>1</sub>- bis C<sub>4</sub>-)Alkylesters, z. B. des Methylesters, mit

- 45 Ammoniak, einer heterocyclischen Base oder einem Mono-(C<sub>1</sub>- bis C<sub>5</sub>-)alkylamin hergestellt werden. Die Peptid(C<sub>1</sub>- bis C<sub>4</sub>-)alkylester können aus den Peptiden durch übliche Veresterrungsreaktionen erhalten werden; die (C<sub>1</sub> bis C<sub>4</sub>-)Alkylester können ihrerseits durch Verseifen in die Peptide übergeführt

- 50 werden. Vorhandene Hydroxysubstituenten können selbstverständlich in Alkoxy- oder Benzyloxygruppen unter Verwendung der entsprechenden Diazoalkane übergeführt werden; so erhält man beispielsweise mit Diazomethan eine Methoxygruppe. Vorhandene Benzyloxy- und Alkanoyloxy-substituenten können

- 55 unter Zurücklassung der Hydroxygruppen entfernt werden, was beispielsweise durch Hydrogenolyse in Methanol unter Verwendung eines Katalysators, z. B. 10% Palladium auf Holzkohle, bzw. durch alkalische Hydrolyse geschehen kann. Außerdem können vorhandene Hydroxygruppen nach Standardmethoden

- 60 in Alkanoyloxygruppen übergeführt werden. Diese Methoden sind in der Peptidchemie allgemein üblich und können in Analogie zu den in den genannten Literaturstellen erwähnten Methoden durchgeführt werden; dort finden sich auch detaillierte Angaben über anzuwendende Reaktionsbedingungen und geeignete Methoden zur Einführung und Entfernung von Schutzgruppen.

Aufgrund ihrer bereits erwähnten Wirksamkeit als Morphin-antagonisten, können die Peptide der Formel I und deren

Derivate zur Behandlung von Säugetieren sowohl in der Human- als auch in der Veterinärmedizin eingesetzt werden, sofern es sich um die Behandlung von Zuständen handelt, welche den Einsatz von Mitteln mit morphinähnlicher Wirkung angezeigt erscheinen lassen. Spezielle Anwendungsgebiete werden nachstehend in beispielhafter Weise erwähnt:

1. Linderung von Schmerzen (Analgesie), z. B. bei durch Spasmen der glatten Muskulatur verursachten Schmerzen wie bei Nieren- und Gallenkoliken; Schmerzen bei zum Tode führenden Krankheiten wie Krebs; post-operative Schmerzen und Geburts-schmerzen.

2. Ruhigstellung, z. B. bei der pre-anästhetischen Medikation; Beruhigung; Einschläfern, insbesondere, wenn die Schlaflosigkeit durch Schmerzen oder Husten verursacht wird, und Linde-rung von Angstzuständen im allgemeinen.

3. Unterdrückung von Husten.

4. Linderung von Atemnot, z. B. hervorgerufen durch akutes Versagen der linken Herzventrikel oder durch Lungenödem.

5. Verzögerung der Stuhltentleerung, z. B. nach einer Ileostomie oder Kolostomie, oder bei der Behandlung von Durchfall und Ruhr.

6. Herbeiführung von Euphorie und Behandlung von Depres-sionen, z. B. in Verbindung mit der Schmerzlinderung bei zum Tode führenden Krankheiten wie Krebs.

Bei all diesen Verwendungen hängt die benötigte Menge an Peptid oder Peptidderivat, im folgenden als aktive Komponente bezeichnet, von der Verabreichungsart und der Schwere des zu behandelnden Zustandes ab und steht letzten Endes im Ermes-sen des Arztes oder Tierarztes. Im allgemeinen liegt die Dosis jedoch im Bereich von 0,025 µg bis 40 mg, vorzugsweise von 0,025 µg bis 4,0 mg und insbesondere von 0,25 bis 400 µg pro kg Körpergewicht des behandelten Säugetierers, wobei alle Dosie-rungen mit Bezug auf die Peptidbase berechnet werden.

Die aktiven Komponenten können in jeder für den jeweils zu behandelnden Zustand geeigneten Weise verabreicht werden, z. B. oral, rektal, nasal, topisch (bukal), vaginal oder parenteral wie subkutan, intramuskulär oder intravenös. Die im Einzelfall bevorzugte Verabreichungsform hängt von dem zu behandelnden Zustand ab, so kann zur Linderung von Geburtsschmerzen beispielsweise eine Verabreichung direkt in die Wirbelsäule vorteilhaft sein.

Obgleich es möglich ist, die aktive Komponente als rohe Chemikalie zu verabreichen, so ist es doch vorzuziehen, sie in Form einer pharmazeutischen Zubereitung anzubieten.

Die Zubereitungen sowohl für den Gebrauch in der Human- als auch in der Veterinärmedizin enthalten eine aktive Kompo-nente zusammen mit einem oder mehreren annehmbaren Trä-gerstoffen, und gegebenenfalls zusammen mit anderen therapeu-tischen Ingredienzien. Unter annehmbar ist zu verstehen, dass der Trägerstoff mit den anderen Bestandteilen der Zubereitung verträglich sein muss und keine Schädigung des Empfängers hervorruft; dabei ist es erwünscht, dass die Formulierungen keine oxydierenden Mittel oder andere Substanzen, mit denen Peptide unverträglich sind, enthalten.

Die Zubereitungen können in eine für orale, rektale, nasale, topische (bukale), vaginale oder parenterale (einschliesslich subkutaner, intramuskulärer und intravenöser) Verabreichung geeignete Form gebracht werden, wobei im Einzelfall die Verab-reichungsform von der verwendeten aktiven Komponente und dem zu behandelnden Zustand abhängt. Die Zubereitungen werden zweckmässigerweise in Form von Einzeldosen angeboten und können nach in der Pharmazie bekannten Methoden herge-stellt werden. Sämtliche Methoden schliessen die Vereinigung der aktiven Komponente mit dem Trägerstoff, welcher aus einem oder mehreren Hilfsstoffen zusammengesetzt ist, ein. Im allge-meenen werden die Formulierungen hergestellt, indem man die aktive Komponente gleichmässig und innig mit einem flüssigen oder feinverteilten Träger oder beiden vermischt und dann,

sofern notwendig, das Produkt in die geeignete Form bringt.

Für die orale Verabreichung geeignete Formulierungen kön-nen in Form diskreter Einheiten wie Kapseln, Sachets oder Tabletten, welche eine bestimmte Menge der aktiven Kompo-nente enthalten; als Pulver oder Granulat; als Lösung oder Suspension in einer wässrigen oder nicht-wässrigen Flüssigkeit; oder als flüssige Öl-in-Wasser- oder Wasser-in-Öl-Emulsion angeboten werden. Ausserdem kann die aktive Komponente als Bolus, Latwerge oder Paste angeboten werden.

10 Tabletten können durch Zusammenpressen oder Formen gegebenenfalls mit einem oder mehreren Hilfsstoffen hergestellt werden. Gepresste Tabletten können hergestellt werden, indem man die aktive Komponente in freiflüssender Form, z. B. als Pulver oder Granulat, gegebenenfalls zusammen mit einem

15 Binder, Schmiermittel, inerten Verdünnungsmittel, oberflä-chenaktivem Mittel oder Dispergiermittel, vermischt und in einer geeigneten Maschine gepresst. Geformte Tabletten können durch Ausformen einer Mischung der pulverisierten und mit einem inerten flüssigen Verdünnungsmittel angefeuchteten

20 Komponente in einer geeigneten Maschine hergestellt werden.

Für die rektale Verabreichung geeignete Formulierungen können als Suppositorien mit den üblicherweise verwendeten Trägerstoffen wie Kakaobutter, angeboten werden, während geeignete Formulierungen für die nasale Verabreichung in Nas-entropfen, welche die aktive Komponente in einer wässrigen oder öligen Lösung enthalten, angeboten werden.

Für die topische Anwendung im Mund geeignete Formulierun-gen können in Form von Lutschtabletten, welche die aktive Komponente in einer wohlgeschmeckenden Grundlage, z. B. Saccharose und Gummi arabicum oder Tragakanth, enthalten und Pastillen, welche die aktive Komponente in einer inerten Grund-lage wie Gelatine und Glycerin oder Saccharose und Gummi arabicum enthalten, vorliegen.

Für die vaginale Verabreichung geeignete Zubereitungen kön-nen als Pessar, Crème, Paste oder Spray vorliegen und enthalten ausser der aktiven Komponente als geeignet bekannte Träger-stoffe.

Für die parenterale Verabreichung geeignete Zubereitungen enthalten zweckmässigerweise sterile wässrige Lösungen der aktiven Komponente und sind vorzugsweise isotonisch mit dem Blut des Empfängers eingestellt. Derartige Formulierungen wer-den zweckmässigerweise hergestellt, indem man die in fester Form vorliegende aktive Komponente in Wasser auflöst und die erhaltene Lösung sterilisiert und mit dem Blut des Empfängers 40 isotonisch einstellt. Diese Zubereitungen können in Einzel- oder Mehrfachdosenbehältern, z. B. in verschlossenen Ampullen oder Phiolen, angeboten werden.

Für die nasale Verabreichung geeignete Zubereitungen kön-nen auch in Form von Pulvern mit einem festen Trägerstoff 50 konfektioniert werden. Diese Zubereitungen enthalten ein grob-körniges Pulver mit einer Teilchengrösse von beispielsweise 20 bis 500 Mikron und werden in der Weise verabreicht, in der Schnupftabak genommen wird, d. h. durch rasches Inhalieren durch die Nasenwege aus einem dicht unter die Nase gehaltenen 55 Pulverbehälter.

Selbstverständlich können den Zubereitungen ausser den im vorhergehenden erwähnten Ingredienzien noch weitere Kompo-nente wie Verdünnungsmittel, Puffer, Geschmackstoffe, Bin-demittel, oberflächenaktive Mittel, Dickungsmittel, Schmiermit-tel, Konservierungsmittel einschliesslich Antioxydantien und 60 ähnliche Substanzen zugefügt werden.

Wenn die Zubereitungen für die Verwendung in der Human- oder Veterinärmedizin in Form von Einzeldosen angeboten werden, so enthalten diese Einzeldosen zweckmässigerweise die aktive Komponente in einer Menge von 0,125 µg bis 2 g, vorzugsweise von 1,25 µg bis 200 mg und insbesondere von 12,5 µg bis 20 mg; sämtliche Gewichte sind dabei mit Bezug auf die Peptidbase berechnet.

Die folgenden Beispiele dienen zur Erläuterung der Erfahrung, ohne sie jedoch einzuschränken. Alle Temperaturen sind in °C angegeben.

### Experimenteller Teil

Die folgenden Abkürzungen wurden durchgehend benutzt:

HOBT	1-Hydroxybenzotriazol
DCCI	Dicyclohexylcarbodiimid
DCU	Dicyclohexylharnstoff
NMM	N-Methylmorpholin
DMF	Dimethylformamid

Pr	Isopropanol
Pr <sub>2</sub> O	Diisopropyläther
pe	Petroläther
EtOAc	Äthylacetat

Z	Benzoyloxycarbonyl
Bu	tert.-Butyl
BOC	tert.-Butyloxycarbonyl
Bzl	Benzyl

Die Peptide wurden dünnenschichtchromatographisch an Merck-Silicagelplatten mit den folgenden Lösungsmittelsystemen untersucht:

1. Methyläthylketon;
2. n-Butanol:Essigsäure:Wasser (3:1:1);
3. Chloroform:Methanol:32%iger Essigsäure (12:9:4);
4. Chloroform:Methanol:0,880 Ammoniak (12:9:4);
5. Äthylacetat:n-Butanol:Essigsäure:Wasser (1:1:1:1);
6. Chloroform:Methanol (8:1).

Soweit nicht anderweitig angegeben, zeigten alle verwendeten Aminosäuren die L-Konfiguration. Die optischen Drehungen wurden mit einem automatischen Polarimeter «Bendix NPL» bestimmt. Die Aminosäuren in den Peptidhydrolysaten (die Hydrolyse wurde mit 6n. HCl während 24 h bei 110°C in verschlossenen evakuierten Röhren durchgeführt) wurde mit einem «Beckman-Spinco-Aminosäureanalysator» Modell 120C oder mit einem Rank-Chromostak-Aminosäureanalysator bestimmt.

Bei der Synthese der Peptide kamen die folgenden allgemeinen Methoden zur Anwendung:

- Die Kupplung wurde in DMF durchgeführt, wobei DCCI als Kupplungsvermittler diente;
- Aminosäureesterhydrochloride wurden durch Zugabe einer tertiären Base, entweder Triäthylamin oder N-Methylmorpholin, in die freien Ester umgewandelt;
- wenn die Fragmentkondensation ein Peptid, welches eine optisch aktive Aminosäure mit endständiger Carboxygruppe enthielt, z. B. BOC.Tyr.D-Ala.Gly.Phe.OH, einschloss, so wurde während der Kupplungsreaktion HOBT zugegeben;

d) die Kupplungsreaktionen liess man während 24 h in einem kalten Raum bei +4°C vor sich gehen;

e) nach der Kupplung wurde das erhaltene Produkt durch Waschen mit Säure und Base gereinigt, um nicht umgesetzte Reaktionspartner zu entfernen;

f) die alkalische Verseifung wurde in wässrigem Methanol unter Verwendung eines Autotitrators bei pH 11,5 bis 12,0 mit n-NaOH durchgeführt;

g) Benzyloxycarbonylschutzgruppen wurden durch Hydrogenolyse in Methanol/Essigsäure mit 10%igem Palladium auf Holzkohle entfernt;

h) die bei der Hydrogenolyse resultierenden Acetatsalze wurden durch Zugabe von methanolischem Chlorwasserstoff in die entsprechenden Hydrochloride umgewandelt;

i) vorhandene Benzylschutzgruppen wurden durch Hydrogenolyse in Methanol mit 10%igem Palladium auf Holzkohle entfernt;

j) vorhandene tert.-Butyl- und tert.-Butyloxycarbonylschutzgruppen wurden mit n-Salzsäure in Essigsäure in Gegenwart von Anisol als Spülmittel entfernt. Die Spaltungsreaktion liess man 60 bis 90 min vor sich gehen;

k) vorhandene OBu-Schutzgruppen an den alkoholischen Funktionen von Threonin und Serin wurden mit Trifluoressigsäure, welche 10 % Wasser enthielt, entfernt; die Spaltungsreaktion liess man 90 min vor sich gehen;

l) die als Endprodukt erhaltenen Peptide wurden in Form ihrer Hydrochloride isoliert und aus wässriger Lösung lyophilisiert.

### Herstellungsbeispiel 1 (Ausgangsverbindungen)

BOC.Tyr.Gly.Gly.Phe.OH

Dieses Produkt wurde entsprechend dem in Tabelle 1 dargestellten Schema hergestellt. In Tabelle 1 besitzen die verschiedenen Schutzgruppen die folgenden Identitäten:

Z: Benzoyloxycarbonyl

Me: Methyl

BOC: tert.-Butyloxycarbonyl

Alle Kupplungsreaktionen wurden in Dimethylformamid unter Verwendung von Dicyclohexylcarbodiimid durchgeführt, wobei die Reaktionsmischungen bei 4°C mindestens 24 h lang gerührt wurden. Die Peptidmethylester (1), (5) wurden in Lösung (Methanol/Wasser 3:1 v/v) unter Zugabe von wässriger 2n Natriumhydroxydlösung bei pH 11,5 (pH stat) verseift. Die Schutzgruppe Z wurde von dem geschützten Tripeptid (3) durch Hydrogenolyse in Methanol in Gegenwart von 10%igem Palladium auf Holzkohle als Katalysator abgespalten.

Die charakteristischen Daten sind in Tabelle 2 dargestellt, worin sich R<sub>f</sub> auf Dünnschichtchromatographie unter Verwendung von Merck-Silicagel-Platten und den angegebenen Lösungsmittelsystemen bezieht.

Tabelle 1

Tyr	Gly	Gly	Phe
	Z.Gly.OH	H.Gly.OMe	
	Z.Gly — (1) — Gly.OMe		
	Z.Gly — (2) — Gly.OH		H.Phe.OMe
	Z.Gly — (3) — Gly		Phe.OMe
BOC.Tyr.OH	H.Gly — (4) — Gly		Phe.OMe
BOC.Tyr	Gly — (5) — Gly		Phe.OMe
BOC.Tyr	Gly — (6) — Gly		Phe.OH

30

## Herstellungsbeispiel 2 (Ausgangsverbindungen)

BOC.Tyr.Gly.Gly.Phe.OH

Mit Hilfe der im vorangehenden Herstellungsbeispiel beschriebenen Methode wurde die Verbindung (4) hergestellt und mit einem vollständig geschützten Tyrosin (Bzl bedeutet eine

35 Benzylgruppe) wie in Tabelle 3 dargestellt, gekuppelt und ergab das geschützte Tetrapeptid (9). Dieses Tetrapeptid wurde in der im Herstellungsbeispiel 1 beschriebenen Weise verseift und ergab Verbindung (10); aus dieser wurde die Gruppe Bzl durch Hydrogenolyse in Methanol in Gegenwart von 10%igem Palladium auf Holzkohle als Katalysator abgespalten.

40

Tabelle 2

	Rf*	Fp.°C	Kristallisation aus Lösungsmittel	Elementar-Analyse
(1)	0,65 <sup>a</sup>	66–67	Äthylacetat/Petroläther	C <sub>13</sub> H <sub>16</sub> N <sub>2</sub> O <sub>5</sub> berechnet: C 55,7; H 5,7; N 10,0% gefunden: C 55,8; H 5,9; N 10,3%
(2)	0,59 <sup>a</sup>	180	wässriges Äthanol	C <sub>12</sub> H <sub>14</sub> N <sub>2</sub> O <sub>5</sub> berechnet: C 54,1; H 5,3; N 10,5% gefunden: C 54,3; H 5,6; N 10,4%
(3)	0,40 <sup>b</sup>	58	Äthylacetat/Diisopropyläther	C <sub>22</sub> H <sub>25</sub> N <sub>3</sub> O <sub>6</sub> berechnet: C 61,8; H 5,9; N 9,8% gefunden: C 61,6; H 5,8; N 9,6%
(4) (H.Cl)	0,77 <sup>c</sup>	182,3	Methanol/Isopropanol	C <sub>14</sub> H <sub>20</sub> ClN <sub>3</sub> O <sub>4</sub> berechnet: C 51,0; H 6,1; N 12,8% gefunden: C 51,3; H 6,3; N 12,6%
(5)	0,33 <sup>b</sup>			
(6)	0,8 <sup>a</sup>			

\*Lösungsmittel

(a) n-Butanol:Essigsäure:Wasser (3:1:1)

(b) Methyläthylketon

(c) Chloroform:Methanol:32% Essigsäure (12:9:4)

Tabelle 3

	Tyr	Gly	Gly	Phe
BOC.	OBzl Tyr.OH	H-Gly	(4)	Gly
BOC.	OBzl Tyr	Gly	(9)	Gly
BOC.	OBzl Tyr	Gly	(10)	Gly
BOC.	Tyr	Gly	(6)	Gly

	Rf*	Fp. und Kristallisation/ Lösungsmittel	Elementaranalyse
(9)	0,83 <sup>a</sup> 0,34 <sup>b</sup>		
(10)	0,70 <sup>a</sup> 0,06 <sup>b</sup>	138,2°C Äthylacetat	berechnet C <sub>24</sub> H <sub>40</sub> N <sub>4</sub> O <sub>8</sub> : C 64,56; H 6,33; N 8,86% gefunden C <sub>24</sub> H <sub>40</sub> N <sub>4</sub> O <sub>8</sub> : C 64,42; H 6,46; N 8,55%

\*Lösungsmittel

- (a) n-Butanol:Essigsäure:Wasser (3:1:1)  
(b) Methyläthylketon

\*Lösungsmittel (a) n-Butanol:Essigsäure:Wasser (3:1:1)  
(b) Methyläthylketon

Die charakteristischen Daten für die Zwischenstufen (9) und (10) sind in Tabelle 3 aufgeführt, worin Rf auf Dünnschichtchromatographie unter Verwendung von Merck-Silicagel und den angegebenen Lösungsmittelsystemen Bezug nimmt.

40

## Beispiele 1 bis 3

Peptide der Formel: H.Tyr.Gly.Gly.Phe.X<sup>7</sup>.OH

Dieser Formel entsprechende Peptide wurden durch Kondensation der geschützten Tetrapeptide BOC.Tyr.Gly.Gly.Phe-OH (Herstellungsbeispiele 1 und 2) mit geeigneten Aminosäurederivaten mit geschützter Carboxylgruppe der Formel H-X<sup>7</sup>-OR hergestellt.

Tyr	Gly	Gly	Phe	X <sup>7</sup>
BOC.Tyr	Gly 1	Gly	Phe.OH	H-X <sup>7</sup> .OR
BOC.Tyr	Gly 2	Gly	Phe	X <sup>7</sup> .OR
H.Tyr	Gly 3	Gly	Phe	X <sup>7</sup> .OH

-OR stellt zweckmässigerweise einen der Reste -OMe; -OEt; -OBu<sup>t</sup>; -OBzl oder -OBz(p-NO<sub>2</sub>) dar, wobei die Auswahl letzten Endes von der gewählten Art der Abspaltung der Schutzgruppe abhängt. Aus einer mit -OMe oder -OEt geschützten Carboxylgruppe kann diese durch alkalische Verseifung freigesetzt werden; aus einer mit -OBu<sup>t</sup> geschützten Carboxylgruppe kann diese durch milde Acidolyse, z. B. mit Trifluoressigsäure oder n-

Salzsäure in Essigsäure, freigesetzt werden; mit -OBzl oder -OBz(p-NO<sub>2</sub>) geschützter Carboxylgruppe kann diese durch Hydrogenolyse freigesetzt werden.

65

## Stufe A

Allgemeine Methode zur Herstellung von BOC.Tyr.Gly.Gly.-Phe.X<sup>7</sup>.OR. X<sup>7</sup> bedeutet Gly, Ala, Val, R bedeutet Me.

0,92 mMol BOC.Tyr.Gly.Gly.Phe.OH, 0,92 mMol HCl.H.X<sup>7</sup>.OMe (z. B. Glycinmethylesterhydrochlorid) und 1,84 mMol HOBT wurden in 5 ml DMF gelöst und mit 0,2 mMol NMM versetzt. Die Mischung wurde auf -10°C abgekühlt, worauf 0,92 mMol DCCI zugegeben wurden. Die Lösung wurde stehengelassen, bis sie sich langsam auf Raumtemperatur erwärmt und über Nacht gerührt. Die DCU wurde filtriert, mit

wenig DMF gewaschen und das Filtrat im Vakuum eingedampft. Der Rückstand wurde in Äthylacetat gelöst und nacheinander mit 5%iger wässriger NaHCO<sub>3</sub>; H<sub>2</sub>O; 5%iger Zitronensäure und Wasser gewaschen. Die Lösung wurde über Magnesiumsulfat <sup>5</sup> getrocknet, eingedampft und der Rückstand aus einem geeigneten Lösungsmittel auskristallisiert.

X <sup>7</sup>	Fp. (Kristallisation/ Lösungsmittel)	Rf	[α] <sub>D</sub> <sup>25</sup>	Elementaranalyse	Aminosäure- analyse
Gly	108–110°C MeOH/EtOAc/pe	0,97 <sup>3</sup> 0,95 <sup>4</sup> 0,85 <sup>5</sup>	+1,37°C (C = 0,5, MeOH)	C <sub>30</sub> H <sub>39</sub> N <sub>5</sub> O <sub>9</sub> .H <sub>2</sub> O: gefunden:	C 57,05; H 6,50; N 11,09 % C 57,02; H 6,62; N 10,64 %
Ala	115–117°C EtOAc	0,87 <sup>3</sup> 0,95 <sup>4</sup> 0,91 <sup>5</sup>	-8,81°C (C = 0,5 in MeOH)	C <sub>31</sub> H <sub>41</sub> N <sub>5</sub> O <sub>9</sub> : gefunden:	C 59,32; H 6,58; N 11,16 % C 59,19; H 7,06; N 10,74 %
Val	150–151°C Pr/EtOAc/Pr <sub>2</sub> O	0,97 <sup>3</sup> 0,95 <sup>5</sup>	-6,08°C (C = 0,5 in MeOH)	C <sub>33</sub> H <sub>45</sub> N <sub>5</sub> O <sub>9</sub> : gefunden:	C 60,44; H 6,92; N 10,68 % C 59,94; H 7,02; N 10,37 %

### Stufe B

Allgemeine Methode zur Herstellung von BOC.Tyr.Gly.Gly.-Phe.X<sup>7</sup>.OH. X<sup>7</sup> bedeutet Gly, Ala, Val.

Das geschützte Pentapeptid BOC.Tyr.Gly.Gly.Phe.X<sup>7</sup>.OMe wurde in 6 ml Methanol gelöst, danach wurden 3 ml Wasser zugegeben und der pH-Wert mit n-NaOH bei 11,5 bis 12,0 gehalten bis die theoretische Menge Alkali zugegeben worden war. Die Lösung wurde im Vakuum eingeengt, um das Methanol

zu entfernen, und anschliessend mit Wasser verdünnt. Spuren von unlöslichem Material wurden abgefiltert; die Lösung mit Äthylacetat extrahiert, um jeglichen übriggebliebenen Ester zu entfernen. Danach wurde der pH-Wert der wässrigen Phase mit 0,7 M Zitronensäurelösung auf 3 eingestellt. Das ausgefällte Peptid wurde mit Äthylacetat extrahiert, wobei das Peptid in dem Äthylacetat in Lösung ging. Der Extrakt wurde mit Wasser gewaschen, über MgSO<sub>4</sub> getrocknet und im Vakuum eingeengt <sup>35</sup>

X <sup>7</sup>	Rf	Elementaranalyse
Gly	0,84 <sup>3</sup> ; 0,74 <sup>4</sup> ; 0,83 <sup>5</sup>	C <sub>29</sub> H <sub>37</sub> N <sub>5</sub> O <sub>9</sub> .H <sub>2</sub> O: gefunden:
Ala	0,80 <sup>3</sup> ; 0,66 <sup>4</sup> ; 0,87 <sup>5</sup>	C <sub>30</sub> H <sub>39</sub> N <sub>5</sub> O <sub>9</sub> .H <sub>2</sub> O: gefunden:
Val	0,88 <sup>3</sup> ; 0,85 <sup>4</sup> ; 0,93 <sup>5</sup>	C <sub>32</sub> H <sub>43</sub> N <sub>5</sub> O <sub>9</sub> : gefunden:

### Stufe C

Allgemeine Methode zur Herstellung von H.Tyr.Gly.Gly.-Phe.X<sup>7</sup>.OH.HCl. X<sup>7</sup> bedeutet Gly, Ala, Val.

Zu 100 mg des Pentapeptids BOC.Tyr.Gly.Gly.Phe.X<sup>7</sup>.OH wurden 5 ml 1,0n Salzsäure in Essigsäure und 1 ml Anisol hinzugefügt. Nachdem das Gemisch 90 min lang bei Raumtempe-

ratur gerührt worden war, wurden die Lösungsmittel im Vakuum <sup>65</sup> entfernt. Durch Verreiben des Rückstandes mit trockenem Äther erhielt man einen amorphen Feststoff. Das Produkt wurde in Wasser gelöst, filtriert und lyophilisiert und ergab das Hydrochloridsalz des Peptids als weissen Feststoff.

Bei- spiel	X <sup>7</sup>	Rf	[ $\alpha$ ] <sub>D</sub> <sup>25</sup>	Elementaranalyse	Aminosäure- analyse	
1	Gly (HCl)	amorph (lyophilisiert)	0,82 <sup>3</sup> 0,63 <sup>4</sup> 0,60 <sup>5</sup>	+27,9°C (C = 0,18, in MeOH)	C <sub>23</sub> H <sub>29</sub> N <sub>5</sub> O <sub>7</sub> HCl.H <sub>2</sub> O: gefunden: C 50,97; H 5,91; N 12,93 % C 51,09; H 6,19; N 12,54 %	Gly (3,02) Tyr (1,00) Phe (0,99)
2	Ala (HCl)	amorph (lyophilisiert)	0,50 <sup>3</sup> 0,58 <sup>4</sup> 0,67 <sup>5</sup>	+22,3°C (C = 0,2, in MeOH)	C <sub>24</sub> H <sub>31</sub> N <sub>5</sub> O <sub>7</sub> .HCl.H <sub>2</sub> O: gefunden: C 51,85; H 6,12; N 12,60 % C 52,14; H 6,20; N 12,10 %	Gly (1,95) Ala (1,01) Tyr (1,00) Phe (0,98)
3	Val (HCl)	amorph (lyophilisiert)	0,80 <sup>2</sup> 0,67 <sup>4</sup> 0,79 <sup>5</sup>	+31,7°C (C = 0,1, in MeOH)	C <sub>27</sub> H <sub>35</sub> N <sub>5</sub> O <sub>7</sub> .HCl.2H <sub>2</sub> O: gefunden: C 52,80; H 6,52; N 11,40 % C 52,89; H 6,45; N 11,26 %	Gly (2,1) Val (1,02) Tyr (1,00) Phe (1,05)

Es wurden die folgenden Peptide mit den angegebenen charakteristischen Daten hergestellt, wobei in der Peptidchemie übliche Standardmethoden zur Anwendung kamen, analog denjenigen, die in den vorhergehenden Beispielen und Herstellungsbeispielen beschrieben wurden. C-Terminale Derivate werden entsprechend der Übereinkunft wie folgt gekennzeichnet:

- OMe : Methylester
- NH<sub>2</sub> : Amid
- NHEt: Äthylamid

In Beispiel 10 wurde BOC.Typ.Gly.Gly.Tyr.Leu.OBu in Methanol/Methylenchlorid, welches einige Tropfen Bortrifluoridäther enthält, gelöst. Dann wurde ein Überschuss einer ätherischen Lösung von Diazomethan hinzugefügt und die Lösung bei Raumtemperatur stehen gelassen, bis seine Reaktion mit Pauly's Reagens negativ war. Die Lösung wurde eingedampft und die BOC- und Bu-Schutzgruppen von dem übrigen Festkörper mit Hilfe von n-Salzsäure in Essigsäure in Gegenwart von Anisol entfernt. Das Peptidhydrochlorid wurde als farbloses

amorphes Pulver nach der Lyophilisierung aus wässriger Lösung isoliert. In Beispiel 21 wurde das als Produkt erhaltene Peptid chromatographisch an einer Silicagelsäule (Merck) durch Elution mit n-Butanol:Essigsäure:Wasser (3:1:1) gereinigt. Die Pauly-positiven Fraktionen mit Rf:0,44<sup>2</sup> wurden vereinigt, im Vakuum eingeengt und der Rückstand aus wässriger Lösung lyophilisiert. Die Peptidbase von Beispiel 105 wurde durch

Reduktion der Verbindung H.Tyr.Gly.Gly.Phe.Leu.OMe hergestellt, wobei als Reduktionsmittel Lithiumaluminiumhydrid oder andere äquivalente Agentien, wie sie allgemein bekannt sind, verwendet.

Die Peptidbasen der Beispiele 111 und 112 wurden durch (a) Herstellung von Z-Leucinamid aus der geschützten Aminosäure; (b) Umwandlung des Amids in das Nitril (Phosphoroxychlorid); (c) Herstellen des geschützten Leucintetrazols durch Umsetzen des Nitrils mit Stickstoffwasserstoffsäure; (d) Entfernen der Schutzgruppe der Leucylaminofunktion durch Hydrogenolyse (10 % Palladium auf Holzkohle); und (e) Sammeln des Pentapeptides in üblicher Weise erhalten.

Beispiel Nr.	Verbindung	Rf	[ $\alpha$ ] <sub>D</sub> <sup>25</sup> (in Methanol)
4	H.Tyr.D-Ala.Gly.Phe.Leu.OH HCl	0,63 <sup>2</sup>	+19,8° (c=0,5)
5(a)	H.Tyr.D-Ala.Gly.Phe.Met.OH HCl	0,62 <sup>2</sup> ; 0,60 <sup>3</sup>	+17,2° (c=0,5)
5(b)	H.Tyr.D-Ala.Gly.Phe.Met.OMe	0,67 <sup>2</sup> ; 0,70 <sup>3</sup>	+10,4° (c=0,5)
6	H.Tyr.D-Ala.Ala.Phe.Leu.OH HCl	0,65 <sup>2</sup> ; 0,56 <sup>4</sup>	+1,68° (c=0,5)
7	H.Tyr.Gly.Gly.Tyr.Leu.OH HCl	0,47 <sup>2</sup> ; 0,50 <sup>3</sup>	+24,4° (c=0,54)
8	H.Phe.Gly.Gly.Tyr.Leu.OH HCl	0,55 <sup>2</sup> ; 0,57 <sup>4</sup>	+26,45° (c=0,54)
	Me		
9	H.Tyr.Gly.Gly.Phe.Leu.OH HCl	0,58 <sup>2</sup> ; 0,62 <sup>4</sup>	+21,77° (c=0,5)
	Me		
10	H.Tyr.Gly.Gly.Tyr.Leu.OH	0,64 <sup>2</sup> ; 0,92 <sup>3</sup>	+21,0° (c=0,51)
11	H.Tyr.Gly.D-Ala.Phe.Leu.OH HCl	0,60 <sup>2</sup> ; 0,90 <sup>3</sup> ; 0,63 <sup>4</sup>	+36,67° (c=1)
12	H.Tyr.Ala.D-Ala.Phe.Leu.OH HCl	0,60 <sup>2</sup> ; 0,94 <sup>3</sup> ; 0,55 <sup>4</sup>	+6,43° (c=1)
13	H.Tyr.Gly.Gly.Phe.Met.Thr.OH HCl	0,72 <sup>1</sup> ; 0,63 <sup>3</sup> ; 0,60 <sup>4</sup> ; 0,60 <sup>5</sup>	
14	H.Tyr.D-Ala.Gly.Phe.Met.Thr.OH HCl	0,10 <sup>1</sup> ; 0,49 <sup>2</sup> ; 0,68 <sup>4</sup>	+12,46° (c=0,52)
15	H.Arg.Tyr.Gly.Gly.Phe.Leu.OH 2HCl	0,38 <sup>2</sup> ; 0,61 <sup>4</sup>	+17,7° (c=0,52)
16	H.Tyr.Ala.D-Ala.Phe.Met.OMe HCl	0,58 <sup>2</sup> ; 0,97 <sup>3</sup> ; 0,88 <sup>4</sup>	-3,66° (c=0,2)
17	H.Tyr.Gly.D-Ala.Phe.Met.OMe HCl	0,61 <sup>2</sup> ; 0,98 <sup>3</sup> ; 0,85 <sup>4</sup>	+30,19° (c=0,2)
18	H.Tyr.Ala.D-Ala.Phe.Met.OH HCl	0,58 <sup>2</sup> ; 0,54 <sup>3</sup> ; 0,61 <sup>4</sup>	+4,22° (c=1)
19	H.Tyr.Gly.D-Ala.Phe.Met.OH HCl	0,50 <sup>2</sup> ; 0,55 <sup>3</sup> ; 0,56 <sup>4</sup>	+34,19° (c=1)
20	H.Arg.Tyr.Gly.Gly.Phe.Leu.Thr.OH 2HCl	0,16 <sup>2</sup> ; 0,32 <sup>3</sup> ; 0,51 <sup>4</sup>	+1,63° (c=0,5)
21	H.Tyr.D-Ala-Gly.Phe.Pro.OH HCl	0,44 <sup>2</sup>	-1,52° (c=0,51)
22	H.Tyr.D-Ala.D-Ala.Phe.Leu.OH HCl	0,68 <sup>2</sup> ; 0,93 <sup>3</sup> ; 0,93 <sup>4</sup>	+43,71° (c=1)
23	H.Tyr.D-Ala.Gly.Leu.Leu.OH HCl	0,68 <sup>2</sup> ; 0,74 <sup>3</sup> ; 0,88 <sup>4</sup>	-4,43° (c=0,5)
24	H.Tyr.Ile.Asn.Met.Leu.OH	0,57 <sup>2</sup> ; 0,83 <sup>4</sup>	-13,5° (c=0,2)
25	H.Tyr.Ala.Gly.Phe.Leu.OH HCl	0,55 <sup>2</sup> ; 0,84 <sup>3</sup> ; 0,86 <sup>4</sup>	-1,35° (c=1)
26	H.Tyr.Gly.Gly.Phe.Nle.OH HCl	0,58 <sup>2</sup> ; 0,85 <sup>3</sup> ; 0,86 <sup>4</sup>	+24,44° (c=0,4)

Beispiel Nr.	Verbindung	Rf	$[\alpha]_D^{25}$ (in Methanol)
27	H.Tyr.D-Leu.Gly.Phe.Leu.OH HCl	0,85 <sup>1</sup> ; 0,86 <sup>2</sup> ; 0,79 <sup>3</sup>	+17,3° (c=0,2)
28	H.Tyr.Ala.Ala.Phe.Leu.OH HCl	0,76 <sup>1</sup> ; 0,62 <sup>2</sup> ; 0,74 <sup>3</sup>	-33,6° (c=0,6)
29	H.Tyr.Gly.Pro.Phe.Leu.OH HCl	0,76 <sup>1</sup> ; 0,68 <sup>2</sup> ; 0,75 <sup>3</sup>	-30,0° (c=0,5)
30	H.Tyr.D-Ala.Gly.D-Phe.Leu.OH HCl	0,57 <sup>2</sup> ; 0,86 <sup>3</sup>	+27,2° (c=0,5)
31	H.Tyr.Gly.Gly.Phe.D-Leu.OH HCl	0,71 <sup>1</sup> ; 0,49 <sup>2</sup> ; 0,79 <sup>3</sup>	+28,7° (c=0,4)
32	H.Tyr.Gly.Gly.D-Phe.Leu.OH HCl	0,51 <sup>2</sup> ; 0,85 <sup>3</sup> ; 0,48 <sup>4</sup>	+24,5° (c=0,52)
33	H.Tyr.Gly.Gly.Phe.Ile.OH HCl	0,76 <sup>1</sup> ; 0,85 <sup>2</sup> ; 0,65 <sup>3</sup>	+22,7° (c=0,6)
34	H.Tyr.D-Ala.Gly.C-Phenylglycyl.Leu.OH HCl	0,64 <sup>2</sup> ; 0,85 <sup>3</sup>	+43,7° (c=0,48)
35	H.Phe.D-Ala.Gly.Phe.Leu.OH HCl	0,66 <sup>2</sup> ; 0,93 <sup>3</sup>	+21,2° (c=0,52)
36	H.Tyr.D-Ala.Sar.Phe.Leu.OMe HCl	0,64 <sup>2</sup> ; 0,90 <sup>4</sup>	+3,69° (c=0,4)
37	H.Tyr.Gly.Ala.Phe.Leu.OH HCl	0,62 <sup>2</sup> ; 0,86 <sup>3</sup> ; 0,63 <sup>4</sup>	-12,07° (c=1)
38	H.Tyr.D-Ala.Gly.Phe.Thr.OH HCl	0,50 <sup>2</sup> ; 0,51 <sup>4</sup>	+19,8° (c=0,51)
39	H.Tyr.D-Ala.Asn.Phe.Leu.OH HCl	0,55 <sup>1</sup> ; 0,89 <sup>3</sup> ; 0,69 <sup>4</sup>	+6,26° (c=0,49)
40	H.Tyr.D-Ala.Gly.Phe.D-Leu.OMe HCl	0,63 <sup>2</sup> ; 0,92 <sup>4</sup>	+39,6° (c=0,51)
41	H.Tyr.D-Ala.Gly.Phe.D-Leu.OH HCl Ac	0,57 <sup>2</sup> ; 0,93 <sup>3</sup> ; 0,82 <sup>4</sup>	+31,5° (c=0,53)
42	H.Tyr.D-Ala.Gly.Phe.Leu.OH HCl Ac	0,60 <sup>2</sup> ; 0,94 <sup>3</sup> ; 0,85 <sup>4</sup>	+14,6° (c=0,5)
43	-Tyr- $=O^4$ -acetyltyrosyl		
44	H.Tyr.D-Ala.Sar.Phe.Leu.OH HCl	0,58 <sup>2</sup> ; 0,85 <sup>4</sup>	+9,89° (c=1)
45	H.Tyr.D-Ala.Gly.Phe.Leu.Thr.OH HCl	0,55 <sup>2</sup> ; 0,93 <sup>3</sup> ; 0,72 <sup>4</sup>	+5,13° (c=0,5)
46	H.MeTyr.Gly.Gly.Phe.Leu.OH HCl	0,57 <sup>2</sup> ; 0,64 <sup>3</sup> ; 0,64 <sup>4</sup>	+25,5° (c=0,5)
47	H.Tyr.D-Ala.Gly.Phe.Nle.OH HCl	0,62 <sup>2</sup> ; 0,68 <sup>4</sup>	+23,2° (c=1,0)
48	H.Tyr.Gly.Sar.Phe.Leu.OMe HCl	0,56 <sup>2</sup> ; 0,70 <sup>3</sup> ; 0,90 <sup>4</sup>	+10,2° (c=0,4)
49	H.D-Tyr.D-Ala.Gly.Phe.Leu.OH HCl	0,55 <sup>2</sup> ; 0,68 <sup>3</sup>	-20,7° (c=0,5)
50	H.D-Tyr.D-Ala.Gly.Phe.D-Leu.OH HCl	0,57 <sup>2</sup> ; 0,62 <sup>3</sup> ; 0,50 <sup>4</sup>	-4,51° (c=0,5)
51	H.Tyr.Gly.Sar.Phe.Leu.OH HCl	0,59 <sup>2</sup> ; 0,80 <sup>3</sup> ; 0,68 <sup>4</sup>	+17,1° (c=1,0)
52	H.Tyr.D-Ala.Gly.Phe.D-Met.OH HCl	0,51 <sup>2</sup> ; 0,66 <sup>3</sup> ; 0,55 <sup>4</sup>	+51,5° (c=0,52)
53	H.Tyr.Pro.Gly.Phe.Leu.OH HCl	0,55 <sup>2</sup> ; 0,67 <sup>3</sup> ; 0,58 <sup>4</sup> ; 0,82 <sup>5</sup>	+31,0° (c=0,51)
54	H.Tyr.D-Ala.Gly.Phe.D-Met.Thr.OH HCl	0,92 <sup>3</sup> ; 0,76 <sup>4</sup> ; 0,66 <sup>5</sup>	-8,6° (c=0,2)
55	H.Tyr.Sar.Gly.Phe.Leu.OH HCl	0,61 <sup>2</sup> ; 0,76 <sup>3</sup>	+47,8° (c=0,51)
56	H.Me.Tyr.D-Ala.Gly.Phe.Leu.OH	0,72 <sup>3</sup> ; 0,91 <sup>4</sup> ; 0,54 <sup>2</sup>	+20,8° (c=1,0)
57	H.Tyr.Gly.D-Pro.Phe.Leu.OH HCl	0,90 <sup>4</sup> ; 0,85 <sup>3</sup> ; 0,52 <sup>2</sup>	
58	H.Tyr.D-Ala.D-Pro.Phe.Leu.OH Natriumsalz	0,89 <sup>4</sup> ; 0,82 <sup>3</sup> ; 0,59 <sup>2</sup>	+55,0° (c=1,0)
59	H.MeTyr.Gly.Gly.Phe.Leu.OMe HCl	0,74 <sup>2</sup> ; 0,81 <sup>3</sup> ; 0,74 <sup>2</sup>	+43,2° (c=1,0)
60	H.MeTyr.D-Ala.Gly.Phe.Leu.OMe HCl	0,98 <sup>4</sup> ; 0,99 <sup>3</sup> ; 0,48 <sup>2</sup>	+18,1° (c=0,4)
61	H.Tyr.D-MeAla.Gly.Phe.D-Leu.OMe HCl	0,91 <sup>4</sup> ; 0,89 <sup>3</sup> ; 0,63 <sup>2</sup>	
62	H.Tyr.D-MeAla.Gly.Phe.D-Leu.OH HCl	0,91 <sup>4</sup> ; 0,85 <sup>3</sup> ; 0,60 <sup>2</sup>	+61,3° (c=0,39)
63	H.Tyr.D-Ala.Gly.Phe.Leu.OMe HCl	0,68 <sup>4</sup> ; 0,72 <sup>3</sup> ; 0,62 <sup>2</sup>	+49,9° (c=0,45)
64	H.Tyr.D-Ala.Gly.Phe.D-Met.OMe HCl	0,95 <sup>4</sup> ; 0,95 <sup>3</sup> ; 0,63 <sup>2</sup>	+11,6° (c=0,44)
65	H.D-Tyr.Gly.Gly.Phe.Leu.OH HCl	0,94 <sup>4</sup> ; 0,93 <sup>3</sup> ; 0,57 <sup>2</sup>	+37,8° (c=0,38)
66	H.MeTyr.D-Ala.Gly.Phe.D-Leu.OH HCl	0,58 <sup>2</sup>	-39,0° (c= 1,0)
67	H.MeTyr.D-Ala.Gly.Phe.D-Leu.OMe HCl	0,55 <sup>2</sup> ; 0,81 <sup>3</sup> ; 0,82 <sup>4</sup>	+40,9° (c= 1)
68	H.DOPA.Gly.Gly.Phe.Leu.OH HCl DOPA = 3,4-dihydroxyphenylalanyl	0,52 <sup>2</sup> ; 0,90 <sup>3</sup> ; 0,92 <sup>4</sup>	+54,7° (c=1)
69	H.Tyr.MeAla.Gly.Phe.D-Leu.OH HCl	0,49 <sup>2</sup> ; 0,85 <sup>3</sup>	+13,8° (c=0,4)
70	H.Tyr.D-Ala.Gly.Phe.D-Leu.D-Thr.OH HCl	0,51 <sup>2</sup> ; 0,88 <sup>3</sup> ; 0,79 <sup>4</sup>	+17° (c=1,0)
71	H.D-Tyr.Gly.Gly.Phe.Leu.OMe HCl	0,50 <sup>2</sup>	+48,9° (c=0,5)
72	H.Tyr.MeAla.Gly.Phe.D-Leu.OMe HCl	0,63 <sup>2</sup> ; 0,97 <sup>3</sup> ; 0,93 <sup>4</sup>	-42,7° (c=0,1)
73	H.Tyr.D-Ala.Gly.Phe.D-Leu.NHEt HCl	0,59 <sup>2</sup>	+9,03° (c=0,2)
74	H.MeTyr.D-Ala.Gly.Phe.D-Leu.NHEt HCl	0,61 <sup>2</sup> ; 0,93 <sup>4</sup> ; 0,61 <sup>5</sup>	+46,5° (c=0,5)
75	Me-MeTyr.D-Ala.Gly.Phe.Leu.OH Acetat	0,58 <sup>2</sup> ; 0,92 <sup>3</sup> ; 0,96 <sup>4</sup>	+50,0° (c=1)
76	Me-MeTyr.Gly.Gly.Tyr.Leu.OH Acetat	0,54 <sup>2</sup> ; 0,62 <sup>3</sup> ; 0,66 <sup>4</sup>	+30,2° (c=0,4)
77	Me-MeTyr.Gly.Ala.Phe.Leu.OH HCl	0,35 <sup>2</sup> ; 0,63 <sup>3</sup> ; 0,87 <sup>4</sup>	+31,3° (c=0,4)
78	Me-MeTyr.Gly.Gly.Phe.Leu.OH HCl	0,55 <sup>2</sup> ; 0,66 <sup>3</sup> ; 0,80 <sup>4</sup>	+38,2° (c=1,0)
79	Me-MeTyr.D-Ala.Gly.Phe.Leu.OMe HCl	0,45 <sup>2</sup> ; 0,65 <sup>3</sup> ; 0,58 <sup>4</sup>	+38,2° (c=1,0)
80	Me-MeTyr.Gly.Gly.Phe.Leu.OMe HCl	0,45 <sup>2</sup> ; 0,97 <sup>3</sup> ; 0,97 <sup>4</sup>	+52,4° (c=1,0)
81	Me-MeTyr.D-Ala.Gly.Phe.D-Leu.OH HCl	0,38 <sup>2</sup> ; 0,92 <sup>3</sup> ; 0,96 <sup>4</sup>	
82	Me-MeTyr.D-Ala.Gly.Phe.D-Leu.OMe HCl	0,40 <sup>2</sup> ; 0,86 <sup>3</sup> ; 0,78 <sup>4</sup>	+62,4° (c=1,0)
83	Me-D-MeTyr.Gly.Gly.Phe.Leu.OH HCl	0,41 <sup>2</sup> ; 0,75 <sup>3</sup> ; 0,96 <sup>4</sup>	+66,4° (c=1,0)
84	Me-MeTyr.D-MeAla.Gly.Phe.D-Leu.OH HCl	0,36 <sup>2</sup> ; 0,89 <sup>3</sup> ; 0,60 <sup>4</sup>	-67,4° (c=0,5)
85	H.Tyr.Gly.Gly.Phe.Leu.Tyr.Gly.OH HCl	0,33 <sup>2</sup> ; 0,76 <sup>3</sup> ; 0,81 <sup>4</sup>	+58,4° (c=0,2)
86	H.Tyr.D-Ala.Gly.His.Leu.OH 2HCl	0,86 <sup>3</sup> ; 0,84 <sup>4</sup>	-4,79° (c=0,1)
		0,26 <sup>2</sup> ; 0,47 <sup>3</sup> ; 0,52 <sup>4</sup>	+20,8° (c=1,0)

Beispiel Nr.	Verbindung	Rf	$[\alpha]_D^{25}$ (in Methanol)
87	H.Tyr.D-Ala.Gly.Phe.D-Leu.Phe.Gly.OH HCl	0,63 <sup>2</sup>	+13,4° (c=0,5)
88	H.Tyr.Gly.Gly.Phe.Met(O).OH HCl	0,18 <sup>2</sup> ; 0,56 <sup>3</sup> ; 0,51 <sup>4</sup>	+18,7° (c=0,2)
89	H.Tyr.D-Ala.Gly.Phe.D-Leu.Lys.Lys.OH diacetate	0,44 <sup>3</sup> ; 0,38 <sup>4</sup>	+12,0° (c=0,5)
90	H.Tyr.D-Trp.Gly.Phe.Leu.OH Natriumsalz	0,76 <sup>2</sup> ; 0,84 <sup>3</sup>	-4,72° (c=1,0)
	Ac		
91	H.Tyr.D-Ala.Gly.Phe.D-Leu.Tyr.OH	0,72 <sup>2</sup> ; 0,67 <sup>5</sup>	+35,6° (c=0,5)
92	H.Tyr.D-Trp.Gly.Phe.D-Leu-OH HCl	0,76 <sup>2</sup>	+16,58° (c=2)*
94	H.Tyr.D-Ala.Gly.Phe(4Cl).D-Leu.OH HCl	0,42 <sup>4A</sup>	-4,56° (c=0,2)
	Me		
95	H.Tyr.Gly.Gly.Tyr.Leu.OH HCl	0,55 <sup>2</sup> ; 0,93 <sup>3</sup> ; 0,79 <sup>4</sup>	+28,4° (c=0,1)
96	H.Tyr.D-Ala.Gly.Phe.(4Cl).D-Leu.OMe HCl	0,65 <sup>5</sup>	+36,5° (c=0,5)
97	H.Tyr.Gly.Gly.Phe.D-Leu.OMe HCl	0,52 <sup>5</sup>	+40,0° (c=0,5)
98	H-MeTyr.D-Ala.Gly.Phe.D-Leu.NH <sub>2</sub> HCl	0,56 <sup>2</sup>	+50,7° (c=1)
99	H.Tyr.Gly.Gly.Phe.D-Met.OMe HCl	0,62 <sup>3</sup> ; 0,64 <sup>5</sup>	+43,7° (c=0,5)
100	H.Tyr.Gly.Gly.Phe.D-Met.OH HCl	0,55 <sup>2</sup> ; 0,51 <sup>5</sup>	+38,3° (c=0,5)
101	H.MeTyr.D-Ala.Gly.Phe.D-Met.OMe HCl	0,62 <sup>2</sup> ; 0,75 <sup>3</sup> ; 0,92 <sup>4</sup>	+59,4° (c=0,12)
102	H.Tyr.Asn.Gly.Phe.D-Met.OH	0,52 <sup>2</sup> ; 0,53 <sup>3A</sup>	-11,8° (c=0,52)
103	H.Tyr.Asn.Gly.Phe.D-Leu.OH	0,48 <sup>2</sup> ; 0,58 <sup>3A</sup>	-21,0° (c=0,5)
104	Me-MeTyr.MeAla.Gly.Phe.D-Leu.OH HCl	0,43 <sup>2</sup> ; 0,48 <sup>3</sup>	+13,8° (c=0,1)
105	H.Tyr.Gly.Gly.Phe.O-acetylleucinol HCl	0,81 <sup>3</sup> ; 0,84 <sup>4</sup> ; 0,68 <sup>5</sup>	
	-O-acetylleucinol =		
	-NH.CH(CH <sub>2</sub> .CH(CH <sub>3</sub> ) <sub>2</sub> ).CH <sub>2</sub> .O.CO.CH <sub>3</sub>		
106	H.Tyr.Gly.Gly.Phe.leucinol HCl	0,81 <sup>3</sup> ; 0,75 <sup>4</sup> ; 0,68 <sup>5</sup>	
	-leucinol = -NH.CH(CH <sub>2</sub> .CH(CH <sub>3</sub> ) <sub>2</sub> ).CH <sub>2</sub> .OH		
107	H.Tyr.Ala(αMe).Gly.Phe.D-Leu.OH HCl	0,55 <sup>2</sup> ; 0,77 <sup>3</sup> ; 0,59 <sup>4</sup>	+25,4° (c=0,52)
	-Ala(αMe)- = -NH.C(CH <sub>3</sub> ) <sub>2</sub> .CO-		
108	H.Tyr.Ala(αMe).Gly.Phe.D-Leu.OMe HCl	0,70 <sup>2</sup> ; 0,89 <sup>3</sup> ; 0,95 <sup>4</sup>	+28,5° (c=0,5)
109	H.βHomoTyr.Gly.Gly.Phe.Leu.OH HCl	0,53 <sup>2</sup> ; 0,63 <sup>3</sup> ; 0,52 <sup>4</sup>	-3,14° (c=0,5)
110	H.Tyr.D-Ala.Gly.Phe.D-β-HomoLeu.OH HCl	0,58 <sup>1</sup> ; 0,82 <sup>3</sup> ; 0,49 <sup>4</sup>	+10,7° (c=0,5)
111	H.Tyr.D-Ala.Gly.Phe.Leu-tetrazol HCl	0,60 <sup>2</sup> ; 0,92 <sup>3</sup> ; 0,96 <sup>4</sup>	+48,2° (c=0,1)
112	H.Tyr.D-Ala.Gly.Phe.D-Leu-tetrazol HCL	0,60 <sup>2</sup> ; 0,90 <sup>3</sup> ; 0,94 <sup>4</sup>	+39,7° (c=0,1)
	CH(CH <sub>3</sub> ) <sub>2</sub>		
	CH <sub>2</sub>		
	-Leu-tetrazol = -NH-CH-C-NH		
	N N		
	\//		
113	H-DOPA.D-Ala.Gly.Phe.D-Leu-OH HCl	0,56 <sup>2</sup> ; 0,72 <sup>3</sup>	+29,9° (c=0,1)
114	H.D-DOPA-D-Ala.Gly.Phe.D-Leu.OH HCl	0,58 <sup>2</sup> ; 0,68 <sup>3</sup>	+9,8° (c=0,1)
115	H.MeTyr.D-Ala.Gly.Phe.D-Met-NHEt HCl	0,59 <sup>2</sup> ; 0,84 <sup>3</sup> ; 0,90 <sup>4</sup>	+59,7° (c=1)
116	H.MeTyr.D-Ala.Gly.Phe.D-Met.OH HCl	0,52 <sup>2</sup> ; 0,71 <sup>3</sup> ; 0,69 <sup>4</sup>	+34,7° (c=1)
117	H.MeTyr.D-Ala.Gly.Phe.D-Met.NH <sub>2</sub> HCl	0,52 <sup>2</sup> ; 0,72 <sup>3</sup> ; 0,85 <sup>4</sup>	+48,9° (c=1)
118	H.Phe(4Cl).D-Ala.Gly.Phe.D-Leu.OH-acetat	0,65 <sup>3A</sup> ; 0,45 <sup>4A</sup>	-0,78° (c=0,2)
119	H.Tyr.D-Ala.Gly.Phe(4Cl).D-Leu.NHEt HCl	0,63 <sup>2</sup> ; 0,68 <sup>3A</sup> ; 0,68 <sup>5</sup>	+40,7° (c=0,5)
	Me		
120	H.Tyr.Gly.Gly.Tyr.Leu.OMe HCl	0,62 <sup>2</sup> ; 0,96 <sup>3</sup> ; 0,15 <sup>6</sup>	+18,9° (c=1)

\* In Eisessig

4A: Chloroform:Methanol:Ammoniak (Dichte 0,880) (120:90:5)

\*3A: Chloroform:Methanol:32%ige Essigsäure (120:90:5)

\*3A: Chloroform:Methanol:32%ige Essigsäure (120:90:5)

4A: Chloroform:Methanol:Ammoniak (Dichte 0,880) (120:90:5)

## Pharmazeutische Zubereitungen

## A. Tabletten (20 mg/Tablette)

Verbindung der Formel I

Lactose

Maisstärke

Gelatine

Magnesiumstearat

20 mg	Verbindung der Formel I	5 mg
76 mg	Lactose	400 mg
5	Povidon (Polyvinylpyrrolidon)	5 mg
10 mg	Magnesiumstearat	5 mg

Zur Herstellung von Tabletten vermischt man die Verbindung der Formel I mit Lactose und Maisstärke. Danach wird die Masse mit der in Wasser gelösten Gelatine granuliert, die Körnchen getrocknet und anschliessend das Magnesiumstearat zugegeben. Die so erhaltene Masse wird zu Tabletten, welche 110 mg je Tablette wiegen, verpresst.

## B. Suppositorien (5 mg/Produkt)

Verbindung der Formel I

250 mg

Suppositorienbase (Massa Esterinum C)

zur Ergänzung auf

100 g<sup>20</sup>

Die Suppositorienbase wird bei 40°C geschmolzen und dann die in Form eines feinen Pulvers vorliegende Verbindung der Formel I portionsweise dazugegeben und bis zum Vorliegen einer homogenen Mischung vermischt. Die so erhaltene Mischung wird in geeignete Formen gegossen, wobei je Form 2 g eingefüllt werden. Danach lässt man die Masse erhärten.

Massa Esterinum C ist eine im Handel erhältliche Suppositorienmasse, welche aus einer Mischung von Mono-, Di- und Triglyceriden von gesättigten pflanzlichen Fettsäuren besteht. Sie wird von Henkel International in Düsseldorf auf den Markt gebracht.

## C. Pessar (5 mg/Produkt)

Verbindung der Formel I	5 mg
Lactose	400 mg
Povidon (Polyvinylpyrrolidon)	5 mg
Magnesiumstearat	5 mg

Man vermischt die Verbindung der Formel I mit Lactose; danach wird die Masse mit einer Lösung von Povidon in 50%igem wässrigem Äthanol granuliert. Die Granulate werden getrocknet, mit dem Magnesiumstearat vermischt und mit einem geeignet geformten Stempel gepresst; das Gewicht des so erhaltenen Pessars beträgt 415 mg.

## D. Gefriergetrocknete Injektion (100 mg/Phiole)

Verbindung der Formel I	100 mg
Wasser für Injektionslösungen, ergänzt auf	2,0 ml

Man löst die Verbindung der Formel I in dem Wasser für Injektionslösungen; sterilisiert die Lösung durch Passieren durch einen Membranfilter mit einer Porenweite von 0,2 µm und sammelt das Filtrat in einem sterilen Behälter. Die so erhaltene Lösung wird in sterile Glasphiole, 2 ml/Phiole, unter aseptischen Bedingungen eingefüllt und gefriergetrocknet. Die Phiole werden mit einem sterilen Gummiverschluss, der mit einer Aluminiumdichtung gesichert ist, verschlossen.

Die Injektion wird vor der Anwendung durch Zugabe eines geeigneten Volumens Wasser für Injektionen oder steriler Kochsalzlösung rekonstituiert.

In den vorhergehenden Formulierungsbeispielen ist das Gewicht der Verbindung der Formel I in jedem Fall unter Bezugnahme auf die Peptidbase berechnet.