

(19) HU

MAGYAR
NÉPKÖZTÁRSASÁG



ORSZÁGOS
TALÁLMÁNYI
HIVATAL

SZABADALMI LEÍRÁS

B

(11) 188 081

A bejelentés napja: (22) 80. 07. 03.

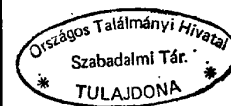
(21) 1664/80

A bejelentés elsőbbsége: (33) (32) (31)
CH: 79. 07. 04 (6243/79-1)
80. 02. 12. (1135/80-0)

A közzététel napja: (41) (42) 1984. 02. 28.

Megjelent: (45) 1988. 04. 29.

Nemzetközi
osztályjelzet:
(51) NSZO,
C 07 K 7/20



Feltaláló(k): (72)

RINK Hans, vegyész, Riehen, SIEBER Peter, vegyész, Reinach,
dr. KAMBER Bruno, vegyész, Arlesheim, CH

Szabadalmaz: (73)

Ciba-Geigy AG., Bazel, CH

(54)

ELJÁRÁS ÚJ CIKLOPEPTIDEK ÉS AZ AZOKAT TARTALMAZÓ GYÓGYÁSZATI
KÉSZÍTMÉNYEK ELŐÁLLÍTÁSÁRA

(57) KIVONAT

A találmány szerinti eljárással az új,

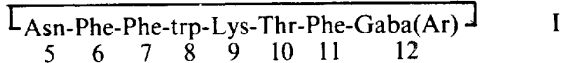
$\left[\text{Asn-Phe-Phe-trp-Lys-Thr-Phe-Gaba(Ar)} \right]$ I
5 6 7 8 9 10 11 12

I általános képletű szomatostatín-analóg ciklusos
oktapeptideket – ahol

trp D-Trp csoportot vagy 5-F-D-Trp csoportot
jelent és Gaba(Ar) egy olyan γ -aminovajsav gyökét
jelenti, amely β -helyzetben cikloalkil-, naftil-, halo-
gén-naftil-, fenil-, halogén-fenil-, nitro-fenil- vagy
fenoxi-fenil-csoportot hordoz – és azok savaddíciós
sóit és komplexeit állítják elő a megfelelő lineáris
oktapeptidek ciklizálásával.

A találmány tárgya eljárás szomatostatin-típusú új ciklopeptidek és az azokat tartalmazó gyógyászati készítmények előállítására.

Közelebbről a találmány olyan ciklopeptidek előállítására vonatkozik, amelyek a szomatostatin leglényegesebb jellemzőit, így az 5–11 aminosavak rész-szekvenciáját vagy egy egyenértékű szekvenciát tartalmaznak, amellet azonban kénmentesek. A találmány szerinti eljárással előállítható szomatostatin-analóg ciklopeptidek az



általános képletű ciklusos oktapeptideket foglalják magukban, ahol trp D-Trp vagy 5-fluor-D-Trp csoportot jelent és Gaba(Ar) egy olyan γ -amino-vajsav gyökét jelent, amely β -helyzetben 5–7 szénatomos cikloalkilcsoportot, naftil-, halogén-naftil-, fenil-, halogén-fenil-, nitro-fenil- vagy fenoxi-fenil-csoportot hordoz. A Gaba(Ar) savgyököknek megfelelő sav rövid jelölése H-Gaba(Ar)—OH.

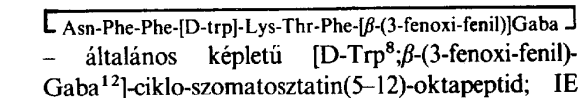
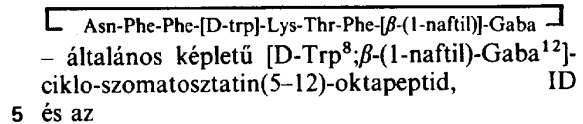
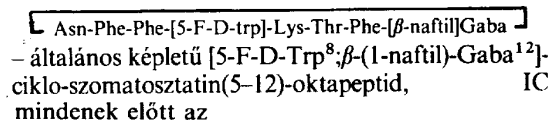
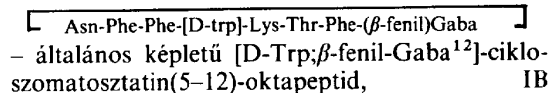
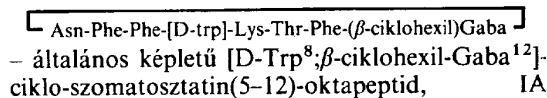
A Gaba(Ar)-nak nevezett csoport Ar-ral jelzett helyettesítői közül előnyös a ciklopentil- és ciklohexil-csoport. A naftilcsoport előnyösen 1- vagy 2-naftilcsoport.

A helyettesített fenil- és naftilcsoportok közül előnyös a 4-fluor-fenil-, 4-klór-fenil-, 4-nitro-fenil- és különösen a 3-fenoxi-fenil-csoport, valamint a 4-klór-1-naftilcsoport.

A Gaba(Ar) általános képletű, különösen előnyös csoportok az alábbi vajsavakból származnak: 4-amino-3-ciklohexil-, 4-amino-3-fenil-, 4-amino-3-(4-fluor-fenil)-, 4-amino-3-(4-nitro-fenil)-, 4-amino-3-(4-klór-1-naftil)-, 4-amino-3-(2-naftil)- és mindenk előtt a 4-amino-3-(1-naftil)- és 4-amino-3-(3-fenoxi-fenil)-vajsav.

Az Ar csoporttal történő szubsztitúció eredményként a savlánc megfelelő szénatomján aszimmetria centrum keletkezik, ennek az a következménye, hogy a találmány szerinti eljárással előállítható ciklopeptidnek mindig két diasztereomerje van, ezek kívánt esetben elválaszthatók egymástól vagy együttesen, diasztereomer elegyként használhatók ugyanarra célra. Általában mindig a B izomernek nevezett diasztereomer az előnyös, azaz az olyan vegyület, amely a megfelelő, védett, II általános képletű közbenső termékek ellenáramú megosztásakor a hidrofílebb diasztereomerekből származik.

Különösen előnyös, találmány szerinti eljárással előállítható, I általános képletű ciklusos oktapeptidek az alábbiak:



ezeknek a vegyületeknek mindegyike előfordulhat egy racém [dl-Gaba(Ar)] csoportból levezetett diasztereomer elegyként, azonban önálló diasztereomer alakjában is, például a [Gaba(Ar)]-csoport optikai izomerjeinek csak egyikéből származó, az alábbi példákban leírt és fizikai állandókkal jellemzett diasztereomer alakjában. A fentiekben megnevezett vegyületeknek mindig a B izomerje a különösen előnyös.

Az összes, fentiekben általánosan vagy előnyösenként jellemzett, I általános képletű szomatostatin-analóg előfordulhat savaddíciós sója vagy komplexei alakjában is. Savaddíciós sóként különösen a szokásos, gyógyászati lag elfogadható savakkal képezett, fiziológiailag elviselhető sók jönnek szóba; a szerves savak közül megnevezzük a hidrogén-halogenideket, így a sósavat, valamint a kénsavat és a foszfor-, illetve pirofoszforsavat is, a szerves savak közül elsősorban a szulfonsavakat, így a benzol- vagy p-toluol-szulfonsavat vagy a rövid-szénláncú alkánszulfonsavakat, így a metánszulfonsavat, továbbá a karbonsavakat, így az ecetsavat, tejsavat, palmitin- és sztearinsavat, almasavat, borkősavat, aszkorbinsavat és citromsavat.

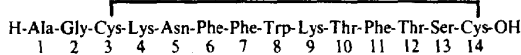
Komplexeken a szerkezetükben még teljesen fel nem derített vegyületeket kell érteni, amelyek bizonyos szerves vagy szerves vegyületek peptidekhez való hozzáadásakor keletkeznek, és ezeknek megnyújtott hatást biztosítanak. Ilyen anyagokat írunk le például az ACTH és más, adrenokortikotrop hatású peptidek esetére. Megnevezzük például szerves vegyületeket, amelyek fémekből, így kalciumból, magnéziumból, alumíniumból, kobaltból és különösen cinkből származnak, mindenk előtt az ilyen fémek rosszul oldódó sóit, így foszfátjait, pirofoszfátjait és polifoszfátjait, valamint hidroxidjait, továbbá az alkálifém-polifoszfátokat, például a Calgon N, Calgon 322 vagy Calgon 188 néven kereskedelmi forgalomba kerülő anyagokat. Hatás meghosszabbodást kiváltó szerves vegyületek például a nem antigén zselatin-fajták, például a polioxizselatin, polivinilpirrolidon és karboximetilcellulóz, továbbá az alginsav, dextrán, polifenolok és polialkoholok szulfonsav- és foszforsavészterei, mindenk előtt a polifloretinfoszfát és fitinsav, továbbá bázikus vagy mindenk előtt savas aminosavak polimerizátumai és kopolimerizátumai, például a protamin vagy poliglutaminsav.

Ha mást nem adunk meg, az aminosavcsoportok rövidítései az L-sorozatba tartozó α -aminosavak csoportjaira vonatkoznak, amelyek a természetben előfordulnak.

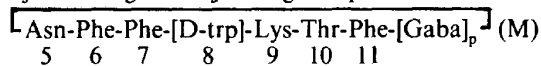
Ha mást nem adunk meg, egy szerves csoporttal vagy egy vegyülettel kapcsolatban előforduló „rövidszénláncú” kifejezés olyan csoportot vagy olyan vegyületet jelöl, amely legfeljebb 7-, előnyösen azonban legfeljebb 4-szénatomos.

A találmány szerinti eljárással előállítható új ciklopeptidek olyan fiziológiai hatással rendelkeznek, amely alapjellegében a szomatostatint hatáshoz hasonló. Így ugyanolyan terápiás indikációkban használhatók, például különösen olyan funkciózavarok kezelésére, amelyekben a növekedési hormon vagy glukagon szekréciója abnormálisan magas, így acromegalia vagy diabetes. Minthogy ezenkívül gátolják a vérvesztést a gasztrointesztinális traktusban, ilyen indikációs területen is eredményesen alkalmazhatók.

A szomatostatint, amely egy



képletű ciklusos tetradekapeptid [Science, 179., 77. (1973.)], ismert módon gátolja a növekedési hormon (szomatotropin) hipofízis által szabályozott szekrécióját. Ezenkívül gátolja az endokrin pankreas szekréciós aktivitását, így az inzulin és glukagon szekrécióját. Ezeket az értékes tulajdonságokat magának a szomatostatinnak az esetében nem lehet a gyakorlati alkalmazáskor teljesen kihasználni, mert ennek a vegyületnek a hatástartama rövid. Gyakran előnyös továbbá, ha a hatóanyag gátló hatását főként a két mirigy egyikén fejti ki, ezzel szemben a másikat lehetőleg kevésbé befolyásolja. (A legtöbb esetben kevésbé kívánatos a hipofízises kiválasztás, azaz a növekedési hormon kiválasztásának gátlása.) Ezért arra kell törekedni, hogy az alapszekvencia módosításával, különösen egyes eredeti aminosavak kihagyásával és/vagy más, gyakran „nem természetes” aminosavakra való cserélésével a gátló hatás disszociációját, valamint viszonylag hosszú hatástartamot érjünk el. Így például azt tapasztalták, hogy különösen előnyös ilyen fajta fiziológiai tulajdonságok lépnek fel az



tipusú ciklopeptidek – ahol Gaba γ -amino-vajsav gyökét jelenti és p értéke 0, 1 vagy 2 – és további hasonló vegyületek esetében, lásd a 78 100 994.9 számon bejelentett és 0 001 295 számon nyilvánosságra hozott európai szabadalmi bejelentésünket. Az ilyen vegyületek tipikus jellemzője, hogy egy egyenes szénlánc van bennük, amely a szomatostatint cisztincsoportjában levő eredeti $-\text{CH}_2-\text{S}-\text{S}-\text{CH}_2-$ csoportot szimulálja.

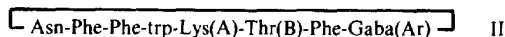
Meglepődve tapasztaltuk, hogy ennek az egyszerű, mindig szubsztituálatlan láncrésznek egy teljesen szokatlan módosításával, azaz a γ -aminosav ciklusos szénhidrogén-csoporttal történő szubsztitúciójával a kívánt aktivitás nemcsak megmarad, hanem még tovább fokozódik. Így az I általános képletű vegyületek a szomatostatinhoz képest jobban gátolják az inzulin- és glukagon-szekréciót, másrészt a hatástartam is lényegesen meghosszabbodik. Így például az inzulin- és glukagonkiválasztás izolált perfundált patkány-pankreaszon való meghatározásakor (Grodsky, G. M. és Fanska, R. E.: „Methods in Enzymology”, 39., D. rész, 364. oldal, szerkesztők: Hardman, J. G. és O'Malley, B. W., Academic Press, New York, 1975.) azt tapasztaltuk, hogy a $[\text{D-trp}^8; \beta\text{-(1-naftil)Gaba}^{12}]$ -ciklo-szomatostatint(5-12)-oktapeptid (ID képlet)

diasztereomer elegyként körülbelül tízszeres, míg az izolált B izomer körülbelül húszszoros gátló hatást mutat a $[\text{D-trp}^8; \text{Gaba}^{12}]$ -ciklo-szomatostatint(5-12)-oktapeptidhez (M képlet, p=1) viszonyítva.

Az I általános képletű vegyületeket önmagában ismert módokon állíthatjuk elő, ekkor úgy járunk el, hogy egy



III általános képletű lineáris peptidet – ahol II' valamilyen, az alábbiakban definiált II általános képletű ciklopeptidnek megfelelő lineáris oktapeptidgyököt jelent, amelyben az amidkötés a peptidgyűrű két tetszőleges szomszédos aminosavcsoportja között van megszakítva és C szabad hidroxilcsoportot, aktiváló csoporttal átalakított hidroxilcsoportot vagy $-\text{NH}-\text{NH}_2$ hidrazinocsoportot jelent – ciklizálunk és a kapott



általános képletű vegyületről – ahol Gaba(Ar) és trp a fentiekben megadott jelentésű, A egy ε -amino védőcsoportot vagy hidrogénatomot és B hidroxil védőcsoportot vagy hidrogénatomot jelent, ahol az A és B csoportok közül csak az egyik jelenthet hidrogénatomot – a védőcsoport(oka)t lehasítjuk.

ε -Amino védőcsoportokként a peptidkémiaiában szokásos összes amino védőcsoportot alkalmazhatjuk, ahogyan ezeket a szakkönyvekben összefoglalóan leírják, lásd például Houben-Weyl: Methoden der organischen Chemie, 4. kiadás, 15/I. kötet, Wünsch, E.: Synthese von Peptiden, Georg Thieme Verlag, Stuttgart, 1974. Előnyösek az acidolízissel lehasítható csoportok, így elsősorban a terc-butiloxikarbonilcsoport és az analóg csoportok, például a terc-amiloxikarbonil-, izopropiloxikarbonil-, diizopropilmetoxikarbonil-, alliloxikarbonil-, ciklopentiloxikarbonil-, ciklohexiloxikarbonil-, d-izoborniloxikarbonil- és adamantiloxikarbonilcsoport, valamint az aralkil-típusú csoportok, így a benzilidril- és trifenilmetilcsoport (tritolcsoport) vagy bizonyos, az 509 266 számú svájci szabadalmi leírásban ismertetett, 2-(p-bifenilil)-2-propiloxikarbonil-típusú aralkoxikarbonilcsoportok.

Alkalmazhatunk továbbá redukív vagy bázikus úton lehasítható amino védőcsoportokat is, például különösen a benziloxikarbonilcsoportot és olyan benziloxikarbonilcsoportokat, amelyek az aromás részben halogénatomokkal, nitrocsopottokkal, rövidszénláncú alkoxicsopottokkal és/vagy rövidszénláncú alkilcsoportokkal vannak helyettesítve, így a p-klór- és p-bróm-benziloxikarbonil-, p-nitro-benziloxikarbonil-, p-metoxi-benziloxikarbonil-, p-toliloxi-karbonilcsoportot vagy izonikotiniloxikarbonilcsoportot, továbbá acilcsoportokat, így p-toluolszulfonil-, benzolszulfenil-, p-nitrobenzolszulfenil-, illetve formil-, trifluoracetil- vagy ftalilcsoportot.

Különösen előnyös ε -amino védőcsoport az etoxikarbonilcsoport, β -helyzetben három szénhidrogén-csoporttal helyettesített szililcsoport, így a trifenilszilil-, dimetilbutilszilil- vagy mindenképp előtt trimetilszililcsoport. Egy ilyen β -(trihidrokarbilszilil)-etoxikarbonilcsoport, így egy β -(tri-rövidszénláncú alkilszilil)-etoxikarbonilcsoport, például különösen

a β -(trimetilszilil)-etoxikarbonilcsoport a védendő ϵ -aminocsoporttal megfelelő β -trihidrokarbilszilil-etoxikarbonilaminocsoportot (például β -trimetilszilil-etoxikarbonilaminocsoportot) képez, amely a savas hidrolízis és hidrogenolízis körülményei között stabilis, azonban specifikus, nagyon enyhe körülmények között fluoridionok hatására lehasítható. Ilyen vonatkozásban hasonlóan viselkedik, mint az alábbiakban karboxil védőcsoportként leírt β -szililetilésztercsoport. (Ezt a hasonlóságot a szintézis során különösen figyelembe kell venni, az ilyen védőcsoportok alkalmazása egyes esetekben kizárja más védőcsoport egyidejű alkalmazását.) További részleteket a karboxilcsoport β -szililetilésztercsoporttal való megvédésének ismertetésekor adunk meg.

Hidroxil védőcsoportként az összes, a peptidkémiaiában ilyen célra általánosan használatos csoportot alkalmazhatjuk, vesd össze a fentiekben idézett szakkönyvvel (Houben-Weyl). Előnyösek az acidolízissel lehasítható csoportok, így a 2-tetrahidropiranyilcsoport és különösen a terc-butilcsoport. Használhatunk azonban redukzív vagy bázikus úton lehasítható védőcsoportokat is, például olyan benzilcsoportokat, amelyek az aromás részben halogénatommal, nitro- és/vagy rövidszénláncú alkoxicsalóporttal lehetnek helyettesítve, illetve rövidszénláncú alkanoilcsoportokat, így az acetilcsoportot vagy aroilcsoportokat, így benzoilcsoportot.

Az A és B védőcsoportokat előnyösen úgy választjuk meg, hogy azok hasonló körülmények között legyenek lehasíthatók; különösen előnyösek a már említett, acidolízissel lehasítható csoportok. Mindkét védőcsoport lehasítását előnyösen egyetlen műveletben végezzük; használhatunk azonban különböző fajta csoportokat is, amelyeket külön-külön hasítunk le.

Valamilyen C szimbólummal ábrázolt funkcionális csoport a C-terminális aminosavcsoport karbonilcsoportját egészíti ki, és azzal együtt szabad karboxilcsoportot, aktivált észtercsoportot, illetve karboxilcsoportot képez.

A hidroxilcsoportot átalakító aktiváló csoport különösen egy olyan csoport, amely az N-hidroxiszukeinimid, 1-hidroxi-benzotriazol, N,N'-diciklohexil-izokarbamid, 2,4,5-triklór-fenol, 2-nitro-fenol, 4-nitro-fenol, pentaklórfenol vagy pentafluorfenol aktivált észterét képezi, lehet azonban egy ilyen fajta, a peptidkémiaiából ismert más aktiváló csoport is, lásd Houben-Weyl, 15/II. kötet.

A III általános képletű lineáris peptidok közül azok az előnyösek, amelyekben a Gaba(Ar) csoport egy, a II' csoportban szereplő terminális aminosav. Ezeket az előnyös kiindulási anyagokat a

H-Gaba(Ar)-Asn-Phe-Phe-trp-Lys(A)-Thr(B)-Phe-C
különösen a IIIa és

H-Asn-Phe-Phe-trp-Lys(A)-Thr(B)-Phe-Gaba(Ar)-C
IIIb

általános képlet jellemzi, ahol a képletekben A, B, C, trp és Gaba(Ar) a fentiekben megadott jelentésű. Különösen előnyös IIIa és IIIb általános képletű vegyületek azok, amelyekben A amino védőcsoportot, mindenképp előtt acidolízissel lehasítható amino védőcsoportot, B hidroxil védőcsoportot,

mindenek előtt acidolízissel lehasítható hidroxil védőcsoportot és C szabad hidroxilcsoportot jelent.

A találmány szerinti eljárásban a III általános képletű lineáris peptidok ciklizálását önmagában ismert módon, a szokásos, amidkötés kialakításához általánosan használt összekapcsoló módszerekkel végezzük, ennek során azonban a peptid kiindulási anyagokat nagyon kis koncentrációban adagoljuk, hogy a kapcsolás lefolyását az intramolekuláris ciklizálás felé toljuk el az intermolekuláris polikondenzáció rovására.

A lineáris peptidokat előnyösen körülbelül $1 \cdot 10^{-4}$ – körülbelül $1 \cdot 10^{-2}$ mólos, előnyösen körülbelül $1 \cdot 10^{-3}$ mólos koncentrációban adagoljuk, ez körülbelül 0,01–1,0, előnyösen 0,1 súly/térfogat% koncentrációnak felel meg. A reakcióelegyen kezdettől fogva megfelelő hígítást állítunk be, vagy a hígítást a kiindulási anyag és adott esetben a többi reagens reakcióelegybe való lassú becsöptetésével folyamatosan is előállíthatjuk.

A ciklizálást előnyösen úgy végezzük, hogy a fentiekben megadott kiindulási koncentráció esetén

a) egy III általános képletű kiindulási anyagot – ahol C szabad hidroxilcsoportot jelent és amelyben mind a lizingyök ϵ -aminocsoportja, mind a treoningyök hidroxilcsoportja védett – egy karbodiimiddel kezelünk adott esetben egy aktív észtert képező komponens jelenlétében, vagy

b) egy III általános képletű kiindulási anyagot – ahol C egy aktivált észterre átalakított hidroxilcsoportot jelent, a terminális aminocsoport protonált formában van és legalább a lizingyök ϵ -aminocsoportja védett – valamilyen szerves bázissal reagáltatunk, vagy

c) egy III általános képletű kiindulási anyagot – ahol C – NHNH_2 csoportot jelent és legalább a lizingyök ϵ -aminocsoportja védett – először savas körülmények között salétromossavval vagy annak rövidszénláncú alkilészterével kezelünk, majd a fentiekben említett alacsony koncentrációban feleslegben levő szerves bázissal ciklizáljuk.

A ciklizálást alkalmas oldószerekben valósítjuk meg; oldószerként példaképpen megnevezzük a dioxánt, tetrahidrofuránt, acetonitrilt, piridint, dimetilformamidot, dimetilacetamidot, dimetilszulfoxidot, N-metil-pirrolidont, hexametilfoszfotriamidot, valamint az etilacetátot, kloroformot és metilénklóridot és azok elegyeit.

Az a) eljárásváltozatban a ciklizálást valamilyen karbodiimiddel, előnyösen N,N'-diciklohexilkarbodiimiddel végezzük, amelyet előnyösen feleslegben alkalmazunk; meg kell jegyezni, hogy ennek során a szabad karboxilcsoportot tartalmazó III általános képletű kiindulási anyag először a diciklohexilizokarbamid (illetve egy analóg izokarbamid) aktivált észterévé alakul és ez az in situ képződött aktív észter azonnal tovább reagál. Egy aktív észtert képező komponens mint segédreagens beadagolása kétségtelenül egy aktív észter átmeneti képződéséhez kell, hogy visszavezessen; erre a célra a peptidkémiaiában szokásos, aktív észtert képző komponenseket használhatjuk, így különösen a 2,4,5-triklór-fenolt, 2- vagy 4-nitro-fenolt, pentaklór- és pentafluorfenolt, mindenképp előtt azonban

N-hidroxí-vegyületeket, ezek közül különösen előnyös az N-hidroxí-szukcinimid, N-hidroxí-piperidin és mindenek előtt az 1-hidroxí-benzotriazol. Ennek az eljárásváltozatnak az esetén a reakcióhőmérséklet általában 0–70 °C, előnyösen 35–55 °C.

A b) eljárásváltozat esetén, amelyet kész aktív észterekkel, különösen a már említettekkel végzünk, a ciklizálás spontán végbemegy, amint a terminális aminocsoportot a bázis protonmentesíti. Az alkalmazott bázisok előnyösen kvaterner vagy mindenek előtt tercier aminok, például trietilamin vagy N-etil-morfolin. A reakciót előnyösen 10–30 °C-on, különösen szobahőmérsékleten végezzük.

A c) eljárásváltozat esetén az első lépést, azaz a savazid salétromossavval vagy annak észterével való kezeléssel történő kialakítását előnyösen jelentősen magasabb kiindulási anyag koncentráció mellett valósítjuk meg, mint az azt követő ciklizálást. Célszerűen körülbelül egy egyenérték mennyiségű rövidszénláncú alkilnitrítrel, így etil-, izoamil- és különösen terc-butilnitrítrel végezzük a reakciót sósavas közegben, körülbelül –30 – körülbelül –5 °C hőmérsékleten, előnyösen körülbelül –20 °C-on; kis nitrítfelesleg megengedhető. Ezután a képződött azid oldatát a szükséges hígítás után, körülbelül 0 °C és körülbelül 35 °C közötti hőmérsékleten feleslegben levő szerves bázissal, például a fentiekben megadott bázisok egyikével meglúgosítjuk, és így, a b) eljárásváltozathoz hasonlóan spontán ciklizálást végzünk.

Ha kiindulási anyagként racém H-Gaba(Ar)—OH γ -amino-vajsavat vagy annak származékát használjuk, egy szterikus egységes 5–11 részszekekvencia kombinálásával diasztereomerpárt kapunk. Ezt a szokásos fizikai elválasztási módszerekkel az egyes diasztereomerekre bonthatjuk, például frakcionált kicsapással vagy kristályosítással, különböző kromatográfiás technikákkal, így adszorpció, illetve megosztásos kromatográfiával, géliszűrővel és ioncserélővel történő elválasztással vagy két alkalmas oldószerrendszer közötti megosztással, különösen ellenáramú megosztással (Craig-eljárás). Különösen előnyösen megy végbe a megosztás az utóbbi módszer esetén már ciklizált vegyületek esetén, azaz I általános képletű végtermékek és mindenek előtt azok II általános képletű ciklusos előtermékei esetén. (Az ekkor izolált, kevésbé hidrofíli diasztereomert A izomerként, a hidrofílebbet B izomerként jelöljük.) Az ilyen elválasztáshoz megfelelő oldószerrendszerek a peptidkémia általánosan ismertek, és többnyire klórozott szénhidrogének, rövidszénláncú alkoholok és víz kétfázisú kombinációjából állnak, amelyeket általában úgy választunk meg, hogy mindkét fázis közel azonos térfogattartalommal legyen jelen. Ezek a rendszerek szoros összhangban állnak a vékonyrétegekromatográfiában használt rendszerekkel és ezekből elvezethetők (lásd a kiviteli példát is).

A II általános képletű vegyületekben előforduló védőcsoportok lehasítását önmagában ismert módon végezzük; a savas hidrolízist (acidolízis) például trifluorocetsavval, sósavval vagy hidrogénfluoridral, savra érzékeny védőcsoportok esetén rövidszénláncú alifás karbonsavval, így hangyasavval

és/vagy ecetsavval is végezzük, víz és adott esetben polihalogénezett rövidszénláncú alkanol vagy rövidszénláncú alkanon, így 1,1,1,3,3,3-hexafluorpropán-2-ol vagy hexafluoraceton jelenlétében. A redukcióval lehasítható csoportokat, különösen azokat, amelyek benzilcsoportokat tartalmaznak, előnyösen hidrogenolízissel távolítjuk el, például palládium katalizátorral való hidrogénezéssel. Az izonikotiniloxikarbonilcsoportot előnyösen cinkkel történő redukálással hasítjuk le.

A végtermékeket az elkülönítés módja szerint bázisok vagy savaddíciós sók alakjában kapjuk, ezeket utólag önmagában ismert módon egymásba átalakíthatjuk.

A fentiekben említett komplexek előállítását is ismert vagy azokkal ekvivalens módokon végezzük.

A szervetlen anyagokkal, így nehezen oldódó fém-, például alumínium- vagy cinkvegyületekkel alkotott komplexeket előnyösen ugyanúgy állítjuk elő, mint az ACTH komplexeit, például az illető fém oldható sójával, például cinkkloriddal vagy cinkszulfáttal való reagáltatással és valamilyen alkálifélfoszfáttal és/vagy -hidroxiddal való kicsapással. A szerves vegyületekkel, így polioxizselatinnal, karboximetilcellulózzal, polivinilpirrolidonnal, polifloretinfoszfáttal, poliglutaminsavval stb. alkotott komplexeket úgy állítjuk elő, hogy ezeket az anyagokat vizes oldatban összekeverjük a peptiddel. Hasonlóképpen állíthatunk elő oldhatatlan vegyületeket is alkálifélfoszfatokkal.

A II általános képletű vegyületek újak, és előállításuk szintén a találmány tárgyát képezi.

A III általános képletű lineáris peptidok is újak, és előállításuk szintén a találmány tárgyát képezi. Önmagában ismert módszerekkel állítjuk elő őket, ennek során a felépítésükhöz szükséges aminosavakat, illetve kisebb peptidegységeket —CONH— kötések kialakítása közben tetszőleges időbeli sorrendben egymással kondenzáljuk, ekkor a reakcióban részt nem vevő funkcionális csoportokat átmenetileg megvédhetjük.

A fentiekben előnyösnek nevezett, IIIa és IIIb általános képletű lineáris peptidok különösen olyan közbelső termékekből hozzáférhetők, amelyeknek előállítását más szomatostatin-analógok szintézisével összefüggésben a fentiekben már említett, 0 001 295 számon nyilvánosságra hozott európai szabadalmi bejelentésünkben tüzetesen leírtuk. Az ott leírt közbelső termékek az előnyös (D-trp)⁹-szomatostatin(5–11)-szekekvenciát már megfelelő, védett alakban tartalmazzák, és egy H-Gaba(Ar)—OH általános képletű, szubsztituált γ -aminovajsav megfelelő származékával közvetlenül kondenzálhatók. Az utóbbi kiindulási anyagok ismertek vagy ismert eljárásokkal előállíthatók.

A III általános képletű lineáris peptidok, valamint azok közbelső termékeinek az előállításakor a terminális α -amino- és karboxilcsoportok védőcsoportjaiként különösen a hosszúszenláncú peptidok szintézisében szokásos védőcsoportok jönnek számításba, így például a szolvilízissel vagy redukcióval könnyen és szelektíven lehasítható csoportok.

α -Amino védőcsoportokként példaképpen meg-

nevezük az alábbiakat: adott esetben, például halogénatommal, nitro-, rövidszénláncú alkil- vagy rövidszénláncú alkoxicsoporttal helyettesített di- vagy triaril-(rövidszénláncú alkil)-csoportok, így difenilmetil- vagy trifenilmetilcsoportok, például benzhidril-, tritil-, di-(p-metoxi)-benzhydrilcsoport vagy mindenképp előtti a szénsavból levezethető, hidrogenolízissel lehasítható csoportok, így az aromás részben adott esetben halogénatomokkal, nitrocsoportokkal, rövidszénláncú alkil- vagy rövidszénláncú alkoxicsoportokkal helyettesített benziloxikarbonilcsoportok, például benziloxikarbonil-, p-bróm- vagy p-klór-benziloxikarbonil-, p-nitrobenziloxikarbonil-, p-metoxi-benziloxikarbonilcsoport, továbbá 2-(p-bifenilil)-2-propiloxikarbonilcsoport és hasonló, az 509 266 számú svájci szabadalmi leírásban leírt ariloxikarbonilcsoportok. Ekkor arra kell ügyelni, hogy az α -amino védőcsoportnak a lizingyök adott esetben jelenlévő ε -amino védőcsoportjának a kialakítása közben szelektíven lehasíthatónak kell lennie. Az is előnyös továbbá, hogy ha lehasításkor az adott esetben jelenlévő karboxil és hidroxil védőcsoport is sértetlen marad.

A karboxilcsoportokat például hidrazid-képzéssel vagy észterezéssel védjük meg. Az észterezéshez alkalmasak például a rövidszénláncú, adott esetben helyettesített alkanolok, így a metanol, etanol, ciánmetilalkohol, 2,2,2-triklór-etanol, benzoilmetilalkohol vagy különösen a terc-butilalkohol, azonban egy adott esetben helyettesített benzilalkohol is. A helyettesített alkanolok különösen előnyös csoportját jelentik az olyan etilalkoholok, amelyek β -helyzetben egy triszubsztituált szililcsoportot, így trifenilszilil-, dimetilbutilszilil- vagy mindenképp előtti trimetilszililcsoportot tartalmaznak. Az ilyen alkoholok – amint ezt a 851 576 számú belga szabadalmi leírásban leírták – azért alkalmasak különösen jól a karboxilcsoportok megvédésére, mert a megfelelő β -szililetilészterek, például a β -(trimetilszilil)-etilészter, bár ugyanolyan stabilisak, mint a többi alkilészter, azonban enyhe körülmények között, fluoridionok hatására az összes többi védőcsoport meghagyása közben szelektíven lehasíthatók.

Aktív észterek előállítására, így például a III általános képletű vegyületek esetén, alkalmasak például az elektronvonzó szubsztituensekkel helyettesített fenolok és tiofenolok, így fenol, tiofenol, tiokrezol, p-nitro-tiofenol, 2,4,5- és 2,4,6-triklór-fenol, pentaklór-fenol, pentafluorfenol, o- és p-nitro-fenol, 2,4-dinitro-fenol, p-ciano-fenol, továbbá például az N-hidroxi-szukcinimid, N-hidroxi-ftálimid és N-hidroxi-piperidin.

A treoningyök hidroxilcsoportját észterezéssel vagy eterezéssel védhetjük meg a fentiekben leírt módon, azonban szabad is maradhat.

Ezeket a védőcsoportokat ismert módon hasíthatjuk le. Így a benziloxikarbonilcsoportot hidrogenolízissel, az N-tritilcsoportot ásványi savakkal, így hidrogénhalogénidekkel, például hidrogénfluoridral vagy előnyösen sósavval vagy valamilyen szerves savval, így hangyasavval, ecetsavval, klórecetsavval vagy trifluorecetsavval, vizes vagy abszolút trifluoretanolban mint oldószerben (2 346 147 számú német szövetségi köztársasági nyilvánossághozatali irat) vagy vizes ecetsavval, a terc-

butiloxikarbonilcsoportot trifluorecetsavval vagy sósavval, a 2-(p-bifenilil)-izopropiloxikarbonilcsoportot vizes ecetsavval vagy például jégcet, 82,8%-os hangyasav és víz 7 : 1 : 2 arányú elegyével vagy a 2 346 147 számú német szövetségi köztársasági nyilvánossághozatali iratban ismertetett eljárással hasíthatjuk le.

A β -szililetilésztercsoportokat előnyösen fluoridionokat leadó reagensekkel, például kvaterner szerves bázisok fluoridjaival, így tetraetilammónium-fluoriddal hasítjuk le. Azonban a szokásos alkilészterekhez hasonlóan lúgos hidrolízissel is, például alkálifémhidroxidokkal, -karbonátokkal vagy -hidrogénkarbonátokkal lehasíthatók, vagy hidrazinolízissel, például hidrazinhidráttal, a megfelelő karbazoilcsoportokká alakíthatók. A terc-butilészterek lehasításához előnyösen acidolízist alkalmazunk, a benzilészterekhez hidrogenolízist.

A III általános képletű lineáris peptidok előállításához vezető aminosav- és/vagy peptidegység-kondenzációt önmagában ismert módon valósítjuk meg. Ekkor előnyösen egy védett α -aminocsoporttal és adott esetben aktivált terminális karboxilcsoporttal rendelkező aminosavat vagy peptidet (aktív komponens) szabad α -aminocsoporttal és szabad vagy védett, például észterezett terminális csoporttal rendelkező aminosavval vagy peptiddel (passzív komponens) kapcsolunk, a képződött termékben a terminális aminosoprotot szabaddá tesszük és ezt a peptidet, amely szabad α -aminocsoportot és egy adott esetben védett terminális karboxilcsoportot tartalmaz, újra egy további aktív komponenssel, azaz aktivált terminális karboxilcsoporttal és szabad α -aminocsoporttal rendelkező aminosavval vagy peptiddel reagáltatjuk stb. A karboxilcsoportot például savaziddá, -anhidriddé, -imidazolidá vagy aktivált észterré, például valamilyen fentiekben megadott észterre történő alakítással, vagy valamilyen karbodiimiddel, így N,N'-diciklohexilkarbodiimiddel való reagáltatással, adott esetben N-hidroxi-szukcinimid vagy egy szubsztituátlan vagy például halogénatommal, metil- vagy metoxi-csoporttal helyettesített 1-hidroxi-benzotriazollal vagy 4-hidroxi-benzo-1,2,3-triazin-3-oxiddal (lásd például 1 917 690, 1 937 656 és 2 202 613 számú német szövetségi köztársasági szabadalmi leírás) vagy N,N'-karbodiimidazollal aktiválhatjuk. A legalkalmasabb kapcsolási módszerként a karbodiimides módszert kell megnevezni, továbbá az azidos módszert, az aktivált észteres módszert és az anhidrides módszert, valamint a Merrifield-, az N-karbonsavanhidrides vagy N-tiokarbonsavanhidrides módszert.

A III általános képletű lineáris peptidok különösen előnyös előállításakor kapcsolási módszerként a karbodiimides módszert használjuk N,N'-diciklohexilkarbodiimiddel, 1-hidroxi-benzotriazol jelenlétében. A terminális karboxilcsoportot ekkor β -(trimetil-szilil)-etilészter alakjában megvédjük, az aktív komponens α -aminocsoportját benziloxikarbonilcsoporttal védjük meg, amelyet minden kapcsolat után hidrogenolízissel lehasítunk. A lizingyök ε -aminocsoportjának a megvédésére a terc-butoxikarbonilcsoporttal végzett acilezést és a treoningyök hidroxilcsoportjához a terc-butilcsoport-

tal végzett éterezést használjuk. Mindkét ilyen védőcsoportot kívánt esetben utoljára, egy lépésben, savas hidrolízissel, például trifluorecetsavval, sósavval vagy hidrogénfluoriddal hasíthatjuk le.

Az alkalmazott eljárás mód szerint a vegyületeket bázisok vagy sóik alakjában kapjuk. A sókból önmagában ismert módon nyerhetjük ki a bázisokat. Az utóbbiakból savakkal, például olyan savakkal, amelyek a fentiekben megadott sók előállítására alkalmasak, újra gyógyászatilag alkalmazható savaddíciós sókat állíthatunk elő.

A szabad alakban vagy só alakjában levő új vegyületek közötti szoros összefüggés következtében az előzőekben és az alábbiakban szabad vegyületek vagy sóik alatt értelem- és célszerűen adott esetben a megfelelő sókat, illetve szabad vegyületeket is érteni kell.

A találmány az eljárás olyan foganatosítási módjait is magában foglalja, amikor egy tetszőleges eljárás lépésben közbenső terméként kapható vegyületből indulunk ki és a hiányzó eljárás lépéseket valósítjuk meg, vagy egy kiindulási anyagot a reakció körülményei között állítunk elő vagy egy származékát, adott esetben egy sója alakjában alkalmazunk.

A találmány szerinti eljárásban előnyösen olyan kiindulási anyagokat használunk, amelyek a fentiekben különösen előnyösnek nevezett vegyületekhez vezetnek.

A találmány tárgya továbbá olyan gyógyszerkészítmények előállítása, amelyek hatóanyagként I általános képletű vegyületeket tartalmaznak. Ezeket a gyógyászati készítményeket különösen a fentiekben megadott indikációkban alkalmazzuk intraperitoneálisan, így intravénásan, intramuszkulárisan vagy szubkután vagy pedig intranazálisan. A szükséges adag a kezelendő betegségtől, a betegség súlyosságától és a terápia hosszától függ. Az egyszeri adagok számát és mennyiségét, valamint a beadás módját legjobban a mindenkori beteg egyéni vizsgálata alapján határozhatjuk meg. Ezeknek a tényezőknek a meghatározási módja szakember számára ismert. Általában azonban injekció esetén egy ilyen vegyület terápiásan hatásos mennyisége körülbelül 0,001 – körülbelül 2 mg/testsúly kg dózistartományba esik. Az előnyös hatóanyag tartomány körülbelül 0,0015 – körülbelül 0,15 mg/testsúly kg, és a beadás módja intravénás infúzió vagy szubkután injekció. A parenterális beadásra szánt gyógyászati készítmények ennek megfelelően az adagolás módjától függően egyszeri adagban körülbelül 0,08 – körülbelül 15 mg találmány szerinti hatóanyagot tartalmaznak. A készítmények a hatóanyagon kívül általában még valamilyen puffert, például egy foszfát-puffert, amelynek a pH-t körülbelül 3,5 és 7 között kell tartania, továbbá az izotónia beállításához nátriumkloridot, mannitot vagy szorbitot tartalmaznak. A készítmények lehetnek fagyaszttva szárítottak vagy oldott állapotban is tartalmazhatják a hatóanyagot; az oldatok előnyösen valamilyen antibakteriális hatású konzerválószerrel, például 0,2–0,3% 4-hidroxi-benzoészterrel vagy -etilészterrel tartalmazhatnak. Ha az ilyen készítményekben a hatóanyagnak meghosszabbított hatású komplex alakjában kell jelen len-

nie, ezt közvetlenül előállíthatjuk oly módon, hogy a komplexképző komponenst az injekciós oldathoz adjuk, amelyet például a fentiekben megadott módon állítunk elő. Adalékanyagként például 0,1–1,0 súly% cink(II)-sót, például cinkszulfátot használhatunk 0,5–5,0 súly% protaminnal, például protaminszulfáttal, ahol a mennyiségek az injekciós oldat összterfogatára vonatkoznak. Ez a készítmény 3,5 – körülbelül 6,5 pH-értékű oldat vagy körülbelül 7,5–8,0 pH-értékű szuszpenzió.

Intranazális beadásra szánt készítmény lehet egy vizes oldat vagy zselé, egy olajos oldat vagy szuszpenzió, azonban egy zsírtartalmú kenőcs is. A hatóanyagból vizes oldatot például úgy készíthetünk, hogy az I általános képletű hatóanyagot vagy annak egy terápiásan alkalmazható savaddíciós sóját legfeljebb 7,2 pH-értékű vizes puffer-oldatban feloldjuk és az oldatot izotóniássá tevő anyagot adunk hozzá. A vizes oldathoz célszerűen egy polimer tapadást elősegítő anyagot, például polivinilpirrolidont és/vagy egy konzerválószerrel adunk. Az egyszeri adag körülbelül 0,08 – körülbelül 15 mg, előnyösen 0,25–10 mg, ezt körülbelül 0,05 ml oldat, illetve 0,05 g zselé tartalmazza.

Intranazális beadásra alkalmas olajos készítményt például úgy állíthatunk elő, hogy egy I általános képletű peptidet vagy annak egy terápiásan alkalmazható savaddíciós sóját olajban szuszpendáljuk adott esetben duzzasztószerek, így alumíniumsztearát és/vagy olyan felületaktív szerek (tenzidek) hozzáadásával, amelyeknek HLB-értéke (hidrofil-lipofil egyensúly) 10 alatti, ilyenek például a többértékű alkoholok zsírsavmonoészterei, például a glicerínmonosztearát, szorbitánmonolaurát, szorbitánmonosztearát vagy szorbitánmonooleát. Zsírtartalmú kenőcsöt például úgy állítunk elő, hogy a találmány szerinti hatóanyagot kenhető zsíros alapanyagban szuszpendáljuk, adott esetben egy 10 alatti HLB-értékű tenzid hozzáadásával. Emulziós kenőcsöt úgy állítunk elő, hogy a peptid hatóanyag vizes oldatát lágy, kenhető, zsíros alapanyagban eldörzsöljük, 10 alatti HLB-értékű tenzid hozzáadásával. Az összes ilyen, intranazális beadásra szánt készítmény konzerválószerrel is tartalmazhat. Az egyszeri adagok körülbelül 0,08 – körülbelül 15 mg, előnyösen 0,25–10 mg-osak körülbelül 0,05 – körülbelül 0,1 g alapmasszában.

Intranazális beadásra alkalmasak továbbá az inhaláló, illetve befúvó készítmények, így a befúvásra használható kapszulák, amelyek lehetővé teszik, hogy a hatóanyagot por alakjában a belélegzett levegővel befűjjük, valamint az aeroszolok és sprayk, amelyek azt, hogy a farmakológiai hatóanyagot por alakjában vagy egy oldat vagy szuszpenzió cseppeinek az alakjában eloszthassuk. A port eloszlató tulajdonságokat mutató készítmények a hatóanyagon kívül általában segédanyagokat tartalmaznak; a befúvásra használható kapszulák például szilárd hordozóanyagokat, így laktózt tartalmaznak, az aeroszol és spray-készítmények például egy folyékony, szobahőmérséklet alatti forráspontú hajtógázt, valamint kívánt esetben további hordozóanyagokat, így folyékony vagy szilárd nem ionos vagy anionos tenzideket és/vagy szilárd hígítószerkeket. Azok a készítmények, amelyekben

a hatóanyag oldatban van, ezenkívül alkalmas hajtószert, továbbá szükség esetén egy további oldószert és/vagy egy stabilizálószer tartalmaznak. Hajtógáz helyett használhatunk nyomás alatti levegőt is, amelyet alkalmas sűrítő- és kiterjesztő készülék segítségével szükség szerint állítunk elő.

A találmány szerinti eljárással előállítható gyógyászati készítmények napi adagja 70 kg súlyú melegvérű esetében körülbelül 0,1 – körülbelül 120 mg hatóanyagnak megfelelő készítmény.

A találmány szerinti eljárást az oltalmi kör korlátozása nélkül az alábbi példákkal szemléltetjük. Rövidítéseként, például az aminosavak, peptidek, védőcsoportok stb. jelölésére az alábbi irodalmi helyeken megadott rövidítéseket használjuk: „Synthese von Peptiden” (kiadó: Wunsch, E.), Houben-Weyl: Methoden der organischen Chemie, XV. kötet, G. Thieme kiadó, Stuttgart, 1974. Különösen az alábbi rövidítéseket használjuk:

Boc terc-butiloxikarbonilcsoport,
But terc-butilcsoport (mint éterképző csoport),
DCC N,N'-diciklohexil-karbamid,
DCCI N,N'-diciklohexil-karbodiimid,
Gaba 4-amino-vajsav-csoport,
—NH—(CH₂)₃—CO—,
OBzl benziloxics csoport,
Z benziloxikarbonilcsoport,
CD cirkulárdikroizmus,
ORD optikai rotációs diszperzió,
DC vékonyrétegkromatográfia.

A vékonyrétegkromatográfias vizsgálatokban, ha mást nem adunk meg, adszorbensként kovasavgeélt és futtatószerként az alábbi rendszereket alkalmazzuk:

Rendszer száma

52: n-butanol-ecetsav-víz (75 : 7,5 : 21)
101: n-butanol-piridin-ecetsav-víz
(38 : 24 : 8 : 30)
111B: n-butanol-piridin-25%-os vizes ammónia-oldat-víz (40 : 24 : 6 : 30)
112A n-butanol-piridin-hangyasav-víz
(42 : 24 : 4 : 20)
157A: kloroform-metanol-víz-ecetsav
(90 : 10 : 1 : 0,5)
157C: kloroform-metanol-víz-ecetsav
(75 : 27 : 5 : 0,5)
157F: kloroform-metanol-víz-ecetsav
(70 : 40 : 9 : 0,5)

1.A példa

Asn-Phe-Phe-(D-trp)-Lys-Thr-Phe-(β-fenil)Gaba – izomer A 160 mg védett,

Asn-Phe-Phe(D-trp)-Lys(Boc)-Thr(But)-Phe-(β-fenil)Gaba – izomer A képletű oktapeptidet 5 °C hőmérsékleten, nitrogén atmoszférában feloldunk 1,5 ml, 89 térfogat% trifluorecetsavat, 10 térfogat% vizet és 1 térfogat% tioglikolsavat tartalmazó elegyben, az oldatot azonnal 25 °C-ra melegítjük, és 50 perc múlva ezen a hőmérsékleten a terméket 5 ml peroxidmentes éterrel kicsapjuk. A végtermék így kapott nyers trifluoracetátját leszűrjük, vákuumban megszárítjuk, 5 ml n ecetsavoldatban feloldjuk és

15 ml anioncserélőn, például acetát formájú AG 1-X8 ioncserélőn (gyártja Bio-Rad Laboratories, Richmond, California, Amerikai Egyesült Államok) átszűrjük, majd az eluátumot liofilizáljuk.

A kapott, címben szereplő vegyület vékonyrétegkromatográfián, három rendszerben vizsgálva egységes

DC (cellulóz, Merck):

101 számú rendszer: R_f = 0,66,

111B számú rendszer: R_f = 0,48,

112A számú rendszer: R_f = 0,60.

DC (vízben): λ(nm)/mol. Ellipt.: 235/– 5800 (min); 223/+ 6600 (max.)

15 Hasonlóképpen eljárva állítjuk elő az

Asn-Phe-Phe-(D-trp)-Lys-Thr-Phe-(Ar)Gaba

képletű végterméket megfelelően védett oktapeptidekből:

20 (Ar)Gaba = β-(2-Naftil)Gaba – izomer A

DC: 157C számú rendszer: R_f 0,27;

(Ar)Gaba = β-(2-Naftil)Gaba – izomer B

DC: 157C számú rendszer: R_f 0,27;

25 (Ar)Gaba = β-(4-Fluor-fenil)Gaba – izomer B

DC: 157C számú rendszer: R_f 0,29.

1.B példa

30 Asn-Phe-Phe-(D-trp)-Lys-Thr-Phe-(β-fenil)Gaba – izomer B 189 mg

35 Asn-Phe-Phe-(D-trp)-Lys-(Boc)-Thr(But)-Phe-(β-fenil)Gaba – izomer B képletű védett oktapeptidet 5 °C hőmérsékleten, nitrogén atmoszférában feloldunk 1,9 ml, 89 térfogat% trifluorecetsavból, 10 térfogat% vízből és 1 térfogat% tioglikolsavból álló elegyben, az oldatot azonnal 25 °C-ra melegítjük, és a terméket 40 50 perc múlva ezen a hőmérsékleten 5 ml peroxidmentes éterrel kicsapjuk. A végtermék nyers trifluoracetátját leszűrjük, vákuumban megszárítjuk, 5 ml n ecetsavban feloldjuk és 15 ml anioncserélőn, például acetát formájú AG 1-X8 ioncserélőn (gyártja Bio-Rad Laboratories, Richmond, California, Amerikai Egyesült Államok) átszűrjük.

Az eluátumot vákuumban bepároljuk és a maradékot 270 lépcsős ellenáramú megosztásnak vetjük alá n-butanol-ecetsav-víz rendszerben (2400 : 600 : 3000). A 229–250 fokozatokban kapott fázisokat (K = 6,7) összegyűjtjük, vákuumban bepároljuk és 1 : 1 arányú terc-butanol-víz elegyből liofilizáljuk.

55 A kapott, címben szereplő vegyület vékonyrétegkromatográfián, három rendszerben vizsgálva egységes.

DC (cellulóz, Merck):

101 számú rendszer: R_f = 0,64

111B számú rendszer: R_f = 0,48

60 112A számú rendszer: R_f = 0,58

CD (vízben): λ(nm)/mol. Ellipt.: 235/– 3700 (min); 220/+ 35 000 (max).

Az 1.A és 1.B példában kiindulási anyagként alkalmazott peptideket az alábbi módon állíthatjuk elő.

1.1 lépés

d1-H-(β -Fenil)Gaba-OBzl-p-toluolszulfonát
1,10 g d1-4-amino-3-fenil-vajsav és 1,17 g p-toluolszulfonsav-monohidrát elegyét 3,2 ml benzilalkoholban és 50 ml benzolban normál nyomáson lassan addig desztilláljuk, amíg 3 óra alatt összesen 40 ml, 70–90 °C forráspontú frakciót fel nem fogunk. A tiszta reakcióelegyet először vízsugárvattyúval előállított, majd nagy vákuumban, körülbelül 60 °C-on 3 ml-re betöményítjük. A kivált kristálypépet 15 ml éterrel elkeverjük, a kristályokat leszűrjük és 10 ml éterrel mossuk. Ezt az anyagot további tisztítás céljából egy órán keresztül keverjük szobahőmérsékleten 10 ml éterrel, majd leszűrjük, éterrel mossuk és vákuumban megszáritjuk. Olvadáspont: 145–148 °C.

DC: [kloroform–metanol–víz (14 : 6 : 1)]: $R_f = 0,40$

[kloroform–metanol (85 : 15)]: $R_f = 0,17$

Hasonlóképpen eljárva állítjuk elő az alábbi vegyületeket is:

a) d1-4-amino-3-(2-naftil)-vajsavból a d1-H-[β -(2-naftil)]-Gaba-OBzl-p-toluolszulfonátot, DC: 157C számú rendszer: $R_f = 0,48$ és

b) d1-4-amino-3-(4-fluor-fenil)-vajsavból a d1-H-[β -(4-fluor-fenil)]-Gaba-OBzl-p-toluolszulfonátot, DC: 157 számú rendszer: $R_f = 0,45$.

1.2 lépés

Z-Asn-Phe-Phe-(D-trp)-Lys(Boc)-Thr(But)-Phe-[d1-(β -fenil)Gaba]-OBzl

500 mg Z-Asn-Phe-Phe-(D-trp)-Lys(Boc)-Thr(But)-Phe-OH (lásd a fentiekben hivatkozott európai szabadalmi bejelentés 1. példájának 1.7 lépését) és 189 mg d1-4-amino-3-fenil-vajsav-benzilészter-p-toluolszulfonát (1.1 lépés) 2 ml dimetilformamiddal készített elegyét összekeverjük 0,048 ml N-metil-morfolinnal, 58 mg N-hidroxi-benzotriazolal és 104 mg N,N'-diciklohexil-karbodiimiddal, és az elegyet 20 órán keresztül szobahőmérsékleten állni hagyjuk. A reakcióelegy feldolgozása céljából a kivált N,N'-diciklohexil-karbamidot centrifugálással elkülönítjük, a felülúszót 15 ml vízzel összekeverjük és leszűrjük. A kapott szilárd anyagot további tisztítás céljából 10 percen át keverjük 3 ml etanollal, majd a szuszpenziót 0 °C-ra hűtjük, a tiszta terméket leszűrjük és vákuumban megszáritjuk.

DC: [kloroform–metanol (85 : 15)]: $R_f = 0,70$.

Hasonlóképpen eljárva állítjuk elő az 1.1 lépésben megadott, megfelelő vegyületekből az alábbiakat:

a) Z-Asn-Phe-Phe-(D-trp)-Lys(Boc)-Thr(But)-Phe-/d1-[β -(2-naftil)]Gaba/-OBzl,

DC: 157A számú rendszer: $R_f = 0,65$; és

b) Z-Asn-Phe-Phe-(D-trp)-Lys(Boc)-Thr(But)-Phe-/d1-[β -(4-fluor-fenil)]Gaba/-OBzl,

DC: 157A számú rendszer: $R_f = 0,64$.

1.3 lépés

H-Asn-Phe-Phe-(D-trp)-Lys(Boc)-Thr(But)-Phe-[d1-(β -fenil)-Gaba]-OH

453 mg Z-Asn-Phe-Phe-(D-trp)-Lys(Boc)-Thr(But)-Phe-[d1-(β -fenil)Gaba]-OBzl (1.2 lépés) 20 ml dimetilformamiddal készített oldatát 50 mg, aktív szénre felvitt palládium (10%) hozzáadása után 3 órán keresztül hidrogénezzük szobahőmérsékleten és normál nyomáson. A reakcióelegy feldolgozása céljából az oldatot a katalizátor kiszűrése után nagy vákuumban 2 ml-re betöményítjük, a terméket 25 ml peroxidmentes éterrel kicsapjuk, leszűrjük és vákuumban megszáritjuk. A nyersterméket további tisztítás nélkül használjuk fel az 1.4 lépéshez (ciklizálás).

Hasonlóképpen eljárva állítjuk elő az 1.2 lépésben megadott megfelelő vegyületekből az alábbiakat:

a) H-Asn-Phe-Phe-(D-trp)-Lys(Boc)-Thr(But)-Phe-/d1-[β -(2-naftil)]Gaba/-OH;

DC: 157C számú rendszer: $R_f = 0,67$ és

b) H-Asn-Phe-Phe-(D-trp)-Lys(Boc)-Thr(But)-Phe-/d1-[β -(4-fluor-fenil)]Gaba/-OH,

DC: 157A számú rendszer: $R_f = 0,06$.

1.4 lépés

Asn-Phe-Phe-(D-trp)-Lys(Boc)-Thr(But)-Phe-(β -fenil)Gaba

386 mg nyers H-Asn-Phe-Phe-(D-trp)-Lys(Boc)-Thr(But)-Phe-[d1-(β -fenil)Gaba]-OH (1.3 lépés), 400 mg N-hidroxi-benzotriazol és 610 mg N,N'-diciklohexil-karbodiimid 300 ml dimetilformamiddal készített oldatát 20 órán keresztül 50 °C hőmérsékleten tartjuk. Feldolgozás céljából az oldószert nagy vákuumban, körülbelül 30 °C-on lepároljuk, és a maradékot 15 ml etilacetáttal eldörzsöljük. A kivált diciklohexil-karbamidot szűrővel eltávolítjuk, a szűrletet etilacetáttal 50 ml-re felhígítjuk, három alkalommal, 40–40 ml n vizes oxálsav-oldattal, majd vízzel semlegesre mossuk, nátriumsulfát felett megszáritjuk és vákuumban bepároljuk. A nyersterméket tisztítás és az A és B diasztereomer elválasztása céljából 440-lépcsős ellenáramú megosztásnak vetjük alá metanol–víz–kloroform–széntetraklorid rendszerben (2700 : 675 : 900 : 1575 térfogatrészt). A 104–155 fokozatokban kapott fázisok ($K = 0,41$) tartalmazzák a két diasztereomer egyikét (A izomer), míg a 164–207 fokozatokban található fázisok ($K = 0,70$) a másikat (B izomer). A megfelelő fokozatok fázisait egyesítjük és vákuumban bepároljuk. A maradékot 20 ml terc-butanolban feloldjuk és liofilizáljuk, így mindig egy, a fenti összegképletű, vékonyrétegekromatográfián egységes diasztereomert kapunk.

DC: [kloroform–metanol (85–15)]

A izomer: $R_f = 0,65$, B izomer: $R_f = 0,55$;

[kloroform–metanol–víz (14 : 6 : 1)]

A izomer: $R_f = 0,95$, B izomer: $R_f = 0,90$.

Hasonlóképpen eljárva állítjuk elő az 1.3 lépésben megadott, megfelelő vegyületekből az alábbiakat:

a)

Asn-Phe-Phe-(D-trp)-Lys(Boc)-Thr(But)-Phe-[β-(2-naftil)]-Gaba

A izomer: K = 0,27; DC: 157A számú rendszer: $R_f = 0,39$;

B izomer: K = 0,51; DC: 157A számú rendszer: $R_f = 0,32$, valamint

b)

Asn-Phe-Phe-(D-trp)-Lys(Boc)-Thr(But)-Phe-[β-(4-fluor-fenil)]Gaba

B izomer: K = 0,78; DC: 157A számú rendszer: $R_f = 0,31$.

2.A példa

Asn-Phe-Phe-(D-trp)-Lys-Thr-Phe-[β-(1-naftil)]Gaba

A izomer 250 mg

Asn-Phe-Phe-(D-trp)-Lys(Boc)-Thr(But)-Phe-[β-(1-naftil)]-Gaba

A izomer

képletű védett oktapeptidet 5 °C hőmérsékleten, nitrogén atmoszférában feloldunk 2,5 ml, 89 térfogat% trifluorecetsavat, 10 térfogat% vizet és 1 térfogat% tioglikolsavat tartalmazó elegyben, az oldatot azonnal 25 °C-ra melegítjük, majd a terméket 50 perc múlva ezen a hőmérsékleten 8 ml peroxidmentes éterrel kicsapjuk. A nyers termék így kapott nyers trifluoracetátját leszűrjük, vákuumban megszáritjuk, 5 ml n ecetsav-oldatban feloldjuk és 15 ml anioncserélőn, például acetát formában levő AG 1-X8 ioncserélőn (gyártja Bio-Rad Laboratories, Richmond, California, Amerikai Egyesült Államok) leszűrjük, az eluátumot liofilizáljuk.

A kapott, címben szereplő vegyület vékonyrétegkromatográfián, három rendszerben vizsgálva egységes:

DC (cellulóz, Merck):

101 számú rendszer: $R_f = 0,60$

111B számú rendszer: $R_f = 0,45$

112A számú rendszer: $R_f = 0,58$

CD (1%-os vizes ecetsavban):

$\lambda(\text{nm})/\text{mol}$. Ellipt.: 226/8000 (min).

2.B példa

Asn-Phe-Phe-(D-trp)-Lys-Thr-Phe-[β-(1-naftil)]-Gaba

-B izomer 257 mg

Asn-Phe-Phe-(D-trp)-Lys(Boc)-Thr(But)-Phe-[β-(1-naftil)]-Gaba

-B izomer

képletű védett oktapeptidet 5 °C hőmérsékleten, nitrogén atmoszférában feloldunk 2,5 ml, 89 térfogat% trifluorecetsavat, 10 térfogat% vizet és 1 térfogat% tioglikolsavat tartalmazó elegyben, az oldatot azonnal 25 °C-ra melegítjük, és a terméket 50 perc múlva ezen a hőmérsékleten 10 ml peroxidmentes éterrel kicsapjuk. A végtermék így kapott nyers trifluoracetátját leszűrjük, vákuumban megszáritjuk, 5 ml n ecetsav-oldatban feloldjuk, és 15

ml ioncserélőn (gyártja Bio-Rad Laboratories, Richmond, California, Amerikai Egyesült Államok) átszűrjük, az eluátumot liofilizáljuk.

A kapott, címben szereplő vegyület vékonyrétegkromatográfián, három rendszerben vizsgálva egységes.

DC (cellulóz, Merck):

101 számú rendszer: $R_f = 0,57$

111B számú rendszer: $R_f = 0,44$

112A számú rendszer: $R_f = 0,53$

CD (1%-os vizes ecetsavban):

(nm)/mol. Ellipt.: 237/+6500

(max); 231/-7000 (min); 223/+12 000 (max).

A 2.A és 2.B példában kiindulási anyagként alkalmazott peptideket az alábbi módon állítjuk elő.

2.1 lépés

d1-H-[β-(1-Naftil)]Gaba-OBzl-p-toluolszulfonát 1,05 g d1-4-amino-3-(1-naftil)-vajsav és 0,871 g p-toluolszulfonsav-monohidrát 2,4 ml benzilalkohollal és 50 ml benzollal készített elegyét normál nyomáson, lassan addig desztilláljuk, amíg 3 óra alatt összesen 40 ml, 70–90 °C forráspontú frakciót fel nem fogunk. A tiszta reakcióelegyet először vízsugárszivattyúval előállított, majd nagy vákuumban, körülbelül 60 °C hőmérsékleten 3 ml-re betöményítjük. A kivált kristálypépet 15 ml éterrel összekeverjük, a kristályokat leszűrjük és 10 ml éterrel mossuk. További tisztítás céljából ezt az anyagot szobahőmérsékleten, egy órán át keverjük 10 ml éterrel, majd leszűrjük, éterrel mossuk és vákuumban megszáritjuk. Olvadáspont: 152–154 °C.

DC: [kloroform-metanol-víz (14 : 6 : 1)]: $R_f = 0,60$,

[kloroform-metanol (85 : 15)]: $R_f = 0,28$.

2.2 lépés

Z-Asn-Phe-Phe-(D-trp)-Lys(Boc)-Thr(But)-Phe-[d1-β-(1-naftil)]Gaba-OBzl

700 mg Z-Asn-Phe-Phe-(D-trp)-Lys(Boc)-Thr(But)-Phe-OH (1.2 lépés) és 295 mg d1-4-amino-3-(1-naftil)-vajsav-benzilészter-p-toluolszulfonát (2.1 lépés) 2 ml dimetilformamiddal készített elegyét összekeverjük 0,067 ml N-metilmorfolinnal, 81 mg N-hidroxi-benzotriazolal és 147 mg N,N'-diciklohexil-karbodiimiddal, és a reakcióelegyet 20 órán át szobahőmérsékleten állni hagyjuk. A reakcióelegy feldolgozása céljából a kivált N,N'-diciklohexil-karbamidot kiszűrjük, a felülúszót 20 ml vízzel összekeverjük és leszűrjük. A kapott szilárd anyagot további tisztítás céljából 10 percen keresztül 3 ml metanollal keverjük, a szuszpenziót 0 °C-ra hűtjük, a tiszta terméket leszűrjük és vákuumban megszáritjuk.

DC: [kloroform-metanol (85 : 15)]: $R_f = 0,72$,

[kloroform-metanol-víz (14 : 6 : 1)]: $R_f = 0,93$.

2.3 lépés

H-Asn-Phe-Phe-(D-trp)-Lys(Boc)-Thr(But)-Phe-[d1-β-(1-naftil)]Gaba-OH

794 mg Z-Asn-Phe-Phe-(D-trp)-Lys(Boc)-Thr(But)-Phe-[d1-β-(1-naftil)]Gaba-OBzl (2.2 lépés) 40 ml dimetilformamiddal készített oldatát 80 mg, aktív szénre felvitt palládium katalizátor (10%) hozzáadása után 4 órán át szobahőmérsékleten és normál nyomáson hidrogénezzük. A reakcióelegy feldolgozása céljából az oldatot a katalizátor kiszűrése után nagy vákuumban 2 ml-re betöményítjük, a terméket 40 ml, peroxidmentes éterrel kicsapjuk, leszűrjük és vákuumban megszáritjuk. A nyersterméket további tisztítás nélkül használjuk fel a 2.4 lépéshez (ciklizálás).

2.4 lépés

Asn-Phe-Phe-(D-trp)-Lys(Boc)-Thr(But)-Phe-[β-(1-naftil)]-Gaba

678 mg nyers H-Asn-Phe-Phe-(D-trp)-Lys(Boc)-Thr(But)-Phe-[d1-β-(1-naftil)]Gaba-OH (2.3 lépés), 676 mg N-hidroxi-benzotriazol és 1030 mg N,N'-diciklohexil-karbodiimid 500 ml dimetilformamiddal készített oldatát 20 órán keresztül 50 °C hőmérsékleten tartjuk. A reakcióelegy feldolgozása céljából az oldószert nagy vákuumban, körülbelül 30 °C-on bepároljuk, és a maradékot 20 ml etilacetáttal eldörzsöljük. A kivált diciklohexil-karbamidot szűrővel eltávolítjuk, a szűrletet etilacetáttal 200 ml-re felhígítjuk, három alkalommal, 50–50 ml n vizes oxálsav-oldattal, majd vízzel semlegesre mossuk, nátriumszulfát felett megszáritjuk és vákuumban bepároljuk. A nyersterméket tisztítás céljából 560-lépcsős ellenáramú megosztásnak vetjük alá metanol-víz-kloroform-széntetraklorid (2700 : 675 : 900 : 1575 térfogatrész) rendszerben. A 89–143 fokozatokban található fázisok (K=0,22) tartalmazzák a két diasztereomer egyikét (A izomer), a 152–224 fokozatokban található fázisok (K=0,47) a másikat (B izomer). A megfelelő fokozatok fázisait egyesítjük és vákuumban bepároljuk. A maradékot 20 ml terc-butanolban feloldjuk és liofilizáljuk, így mindig egy, a fenti összegképletű, vékonyrétegekromatográfián egységes diasztereomert kapunk.

DC: [kloroform-metanol (85–15)]:

A izomer: $R_f=0,60$, B izomer: $R_f=0,50$.

3.A példa

Asn-Phe-Phe-(D-trp)-Lys-Thr-Phe-(β-ciklohexil)-Gaba

– A izomer

182 mg

Asn-Phe-Phe-(D-trp)-Lys(Boc)-Thr(But)-Phe-(β-ciklohexil)-Gaba

– A izomer

képletű oktapeptidet 5 °C hőmérsékleten, nitrogén atmoszférában feloldunk 1,8 ml, 89 térfogat% trifluorecetsavat, 10 térfogat% vizet és 1 térfogat% tioglikolsavat tartalmazó elegyben, az oldatot

azonnal 25 °C-ra melegítjük és a terméket 50 perc múlva ezen a hőmérsékleten 6 ml 2 : 1 arányú hexán-éter eleggyel kicsapjuk. A végtermék így módon előállított nyers trifluoracetátját leszűrjük, vákuumban megszáritjuk, 5 ml n ecetsav-oldatban feloldjuk és 15 ml anioncserélőn, például acetát formában levő AG 1-X8 ioncserélőn (gyártja Bio-Rad Laboratories, Richmond, California, Amerikai Egyesült Államok) átszűrjük, az eluátumot liofilizáljuk.

A kapott címben szereplő vegyület vékonyrétegekromatográfián három rendszerben vizsgálva egységes.

DC: 101 számú rendszer: $R_f=0,88$,

111B számú rendszer: $R_f=0,50$,

112A számú rendszer: $R_f=0,78$.

3.B példa

Asn-Phe-Phe-(D-trp)-Lys-Thr-Phe-(β-ciklohexil)-Gaba

– B izomer

167 mg

Asn-Phe-Phe-(D-trp)-Lys(Boc)-Thr(But)-Phe-(β-ciklohexil)-Gaba

– B izomer

képletű védett oktapeptidet 5 °C hőmérsékleten, nitrogén atmoszférában feloldunk 1,7 ml, 89 térfogat% trifluorecetsavat, 10 térfogat% vizet és 1 térfogat% tioglikolsavat tartalmazó elegyben, az oldatot azonnal 25 °C-ra melegítjük, és a terméket 50 perc múlva ezen a hőmérsékleten 6 ml 2 : 1 arányú hexán-éter eleggyel kicsapjuk. A végtermék így kapott, nyers trifluoracetátját leszűrjük, vákuumban megszáritjuk, 5 ml n ecetsav-oldatban feloldjuk és 15 ml anioncserélőn, például AG 1-X8 ioncserélőn (gyártja Bio-Rad Laboratories, Richmond, California, Amerikai Egyesült Államok) átszűrjük, az eluátumot liofilizáljuk.

A kapott, címben szereplő vegyületet vékonyrétegekromatográfián, három rendszerben vizsgálva egységes.

DC: 101 számú rendszer: $R_f=0,83$,

111B számú rendszer: $R_f=0,75$,

112A számú rendszer: $R_f=0,70$.

A 3.A és 3.B példában kiindulási anyagként alkalmazott vegyületeket az alábbi módon állítjuk elő.

3.1 lépés

d1-H-(β-Ciklohexil)Gaba-OBzl-p-toluolszulfonát

0,50 g d1-4-amino-3-ciklohexil-vajsav-hidroklorid és 0,428 p-toluolszulfonsav-monohidrát 1,2 ml benzilalkohollal és 40 ml benzollal készített elegyét normál nyomáson lassan addig desztilláljuk, amíg 3 óra alatt összesen 30 ml, 70–90 °C forráspontú frakciót fel nem fogunk. A tiszta reakcióelegyet vízsugárszivattyúval előállított, majd nagy vákuumban, körülbelül 60 °C hőmérsékleten 3 ml-re betöményítjük. A kivált kristálypépet 15 ml éterrel elkeverjük, a kristályokat leszűrjük és 10 ml éterrel mossuk. További tisztítás céljából ezt az anyagot szobahőmérsékleten, egy órán át keverjük 10 ml

éterrel, majd leszűrjük, éterrel mossuk és vákuumban megszáritjuk.

DC: [kloroform-metanol-víz (14 : 6 : 1)]: $R_f = 0,48$,
[kloroform-metanol (85 : 15)]: $R_f = 0,15$.

3.2 lépés

Z-Asn-Phe-Phe-(D-trp)-Lys(Boc)-Thr(But)-Phe-(d1- β -ciklohexil)Gaba-OBzl

1,06 g Z-Asn-Phe-Phe-(D-trp)-Lys(Boc)-Thr(But)-Phe-OH (1.2 lépés) és 448 mg d1-4-amino-3-ciklohexil-vajsav-benzilészter-p-toluolszulfonát (3.1 lépés) 5 ml dimetilformamiddal készített elegyét összekeverjük 0,111 ml N-metil-morfolinnal, 123 mg N-hidroxi-benzotriazollal és 223 mg N,N'-diciklohexil-karbodiimiddal, és az elegyet 20 órán keresztül szobahőmérsékleten állni hagyjuk. Az elegyből feldolgozás céljából centrifugálással eltávolítjuk a kivált N,N'-diciklohexil-karbamidot, a felülúszót összekeverjük 20 ml vízzel és leszűrjük. Az így kapott szilárd anyagot a további tisztítás céljából 10 percen át 3 ml metanollal keverjük, a szuszpenziót 0 °C-ra hűtjük, a tiszta terméket leszűrjük és vákuumban megszáritjuk.

DC: [kloroform-metanol (85 : 15)]: $R_f = 0,80$,
[kloroform-metanol-víz (14 : 6 : 1)]: $R_f = 0,95$.

3.3 lépés

H-Asn-Phe-Phe-(D-trp)-Lys(Boc)-Thr(But)-Phe-(d1- β -ciklohexil)-Gaba-OH

980 mg Z-Asn-Phe-Phe-(D-trp)-Lys(Boc)-Thr(But)-Phe-(d1- β -ciklohexil)Gaba-OBzl (3.2 lépés) 50 ml dimetilformamiddal készített oldatát 100 mg, aktív szénre felvitt palládium (10%) hozzáadása után 4 órán át hidrogénezük szobahőmérsékleten és normál nyomáson. Az elegy feldolgozása céljából az oldatot a katalizátor kiszűrése után nagy vákuumban 2 ml-re betöményítjük, a terméket 40 ml peroxidmentes éterrel kicsapjuk, leszűrjük és vákuumban megszáritjuk. A nyersterméket további tisztítás nélkül használjuk fel a következő 3.4 lépéshez (ciklizálás).

3.4 lépés

Asn-Phe-Phe-(D-trp)-Lys(Boc)-Thr(But)-Phe-(β -ciklohexil)Gaba

836 mg nyers H-Asn-Phe-Phe-(D-trp)-Lys(Boc)-Thr(But)-Phe-(d1- β -ciklohexil)Gaba-OH (3.3 lépés), 860 mg N-hidroxi-benzotriazol és 1,31 g N,N'-diciklohexil-karbodiimid 640 ml dimetilformamiddal készített oldatát 20 órán keresztül 50 °C hőmérsékleten tartjuk. Az elegy feldolgozása céljából az oldószert nagy vákuumban, körülbelül 30 °C hőmérsékleten lepároljuk, és a maradékot 20 ml etilacetáttal eldörzsöljük. A kivált diciklohexilkarbamidot szűrővel eltávolítjuk, a szűrletet etilacetáttal 200 ml-re felhígítjuk, három alkalommal 50–50 ml n vizes oxálsav-oldattal, majd vízzel semlegesre mossuk, nátriumsulfát felett megszáritjuk és vákuumban bepároljuk. A nyersterméket tisztítás céljából

ból 400-lépcsős ellenáramú megosztásnak vetjük alá metanol-kloroform-víz-széntetraklorid rendszerben (2700 : 900 : 675 : 1575 térfogatrészt). A 81–108 fokozatokban található fázisok ($K = 0,30$) tartalmazzák a két diasztereomer egyikét (A izomer), a 120–147 fokozatokban található fázisok ($K = 0,49$) a másikat (B izomer). A megfelelő fokozatok fázisait egyesítjük és vákuumban bepároljuk. A maradékot 20 ml terc-butanolban feloldjuk és liofilizáljuk, így mindig egy, fenti összegképletű, vékonyréteggromatográfián egységes diasztereomert kapunk.

DC: [kloroform-metanol (85 : 15)] A izomer: $R_f = 0,51$, B izomer: $R_f = 0,42$.

4.A példa

Asn-Phe-Phe-(D-trp)-Lys-Thr-Phe-[β -(3-fenoxi-fenil)]Gaba
– A izomer
280 mg

Asn-Phe-Phe-(D-trp)-Lys(Boc)-Thr(But)-Phe-[β -(3-fenoxi-fenil)]Gaba

– A izomer
képletű védett oktapeptidet 5 °C hőmérsékleten, nitrogén atmoszférában feloldunk 2,8 ml, 89 térfogat% trifluoecetsavat, 10 térfogat% vizet és 1 térfogat% tioglikolsavat tartalmazó elegyben, az oldatot azonnal 25 °C-ra melegítjük és a terméket 50 perc múlva ezen a hőmérsékleten 25 ml peroxidmentes éterrel kicsapjuk. A végtermék így előállított nyers trifluoacetátját leszűrjük, vákuumban megszáritjuk, 5 ml n ecetsav-oldatban feloldjuk és 15 ml anioncserélőn, például AG 1-X8 ioncserélőn (gyártja Bio-Rad Laboratories, Richmond, California, Amerikai Egyesült Államok) átszűrjük, az eluátumot liofilizáljuk.

A kapott, címben szereplő vegyület vékonyréteggromatográfián, három rendszerben vizsgálva egységes.

DC: 52 számú rendszer: $R_f = 0,49$,

111B számú rendszer: $R_f = 0,40$,

157F számú rendszer: $R_f = 0,53$.

CD: 1%-os vizes ecetsavban: λ /mol Ellipt.

[nm/fok · cm² · dmol⁻¹]: 210/–37430(min); 222/–534(max); 230/–15506(min).

4.B példa

Asn-Phe-Phe-(D-trp)-Lys-Thr-Phe-[β -(3-fenoxi-fenil)]Gaba
– B izomer
268 mg

Asn-Phe-Phe-(D-trp)-Lys(Boc)-Thr(But)-Phe-[β -(3-fenoxi-fenil)]Gaba

– B izomer
képletű védett oktapeptidet 5 °C hőmérsékleten, nitrogén atmoszférában feloldunk 2,7 ml, 89 térfogat% trifluoecetsavat, 10 térfogat% vizet és 1 térfogat% tioglikolsavat tartalmazó elegyben, az oldatot azonnal 25 °C-ra melegítjük, és a terméket 50 perc múlva ezen a hőmérsékleten 30 ml peroxidmentes éterrel kicsapjuk. A végtermék így kapott nyers

trifluoracetátját leszűrjük, vákuumban megszáritjuk, 5 ml n ecetsav-oldatban feloldjuk, és 15 ml anioncserélőn, például AG 1-X8 ioncserélőn (gyártja Bio-Rad Laboratories, Richmond, California, Amerikai Egyesült Államok) átszűrjük, az eluátumot liofilizáljuk.

A kapott, címben szereplő vegyület vékonyrétegekromatográfián 3 rendszerben vizsgálva egy-egy-egyes:

DC: 52 számú rendszer: $R_f = 0,49$,

111B számú rendszer: $R_f = 0,38$,

157F számú rendszer: $R_f = 0,52$.

CD: 1%-os vizes ecetsavban: λ/mol . Ellipt.

$[\text{nm}/\text{fok} \cdot \text{cm}^2 \cdot \text{dmol}^{-1}]$: 220/+30 354(max); 232,5/-13 811(min).

A 4.A és 4.B példában kiindulási anyagként alkalmazott peptideket az alábbi módon állítjuk elő.

4.1 lépés

d1-H-[β -(3-Fenoxi-fenil)]Gaba-OBzl-p-toluol-szulfonát

0,500 g d1-4-amino-3-(3-fenoxi-fenil)-vajsavklorid és 0,308 g p-toluolszulfonsav-monohidrát 0,85 ml benzilalkohollal és 70 ml benzollal készített elegyet normál nyomáson lassan addig desztilláljuk, amíg 3 óra alatt 30 ml, 70–90 °C forráspontú frakciót fel nem fogunk. A tiszta reakcióelegyet vízsugárszivattyúval előállított, majd nagy vákuumban körülbelül 60 °C hőmérsékleten 3 ml-re betöményítjük. A kivált kristálypépet 15 ml éterrel elkeverjük, a kristályokat leszűrjük és 10 ml éterrel mossuk. Ezt az anyagot további tisztítás céljából szobahőmérsékleten egy órán át keverjük 10 ml éterrel, majd leszűrjük, éterrel mossuk és vákuumban megszáritjuk.

DC: [kloroform–metanol–víz (14 : 6 : 1)]: $R_f = 0,61$,
[kloroform–metanol (85 : 15)]: $R_f = 0,30$.

4.2 lépés

Z-Asn-Phe-Phe-(D-trp)-Lys(Boc)-Thr(But)-Phe-[d1- β -(3-fenoxi-fenil)]Gaba-OBzl

819 mg Z-Asn-Phe-Phe-(D-trp)-Lys(Boc)-Tjr(But)-Phe-OH (1.2 lépés) és 341 mg d1-4-amino-3-(3-fenoxi-fenil)-vajsav-benzilészter-p-toluolszulfonát (4.1 lépés) 6 ml dimetilformamiddal készített elegyet összekeverjük 0,071 ml N-metil-morfolinnal, 95 mg N-hidroxi-benzotriazolal és 171 mg N,N'-diciklohexil-karbodiimiddal, és az elegyet 20 órán keresztül szobahőmérsékleten állni hagyjuk. Az elegy feldolgozása céljából a kivált diciklohexil-karbamidot centrifugálással eltávolítjuk, a felülúszót 20 ml vízzel elkeverjük és a terméket leszűrjük. A kapott szilárd anyagot további tisztítás céljából 10 percen át 3 ml metanollal keverjük, a szuszpenziót 0 °C-ra lehűtjük, a tiszta terméket leszűrjük és vákuumban megszáritjuk.

DC: [kloroform–metanol (85 : 15)]: $R_f = 0,76$,

[kloroform–metanol–víz (16 : 6 : 1)]: $R_f = 0,94$.

4.3 lépés

H-Asn-Phe-Phe-(D-trp)-Lys(Boc)-Thr(But)-Phe-[d1- β -(3-fenoxi-fenil)]Gaba-OH

943 mg Z-Asn-Phe-Phe-(D-trp)-Lys(Boc)-Thr(But)-Phe-[d1- β -(3-fenoxi-fenil)]Gaba-OBzl (4.2 lépés) 30 ml dimetilformamiddal készített oldatát 100 mg, aktív szénre felvitt palládium (10%) hozzáadása után 4 órán keresztül szobahőmérsékleten és normál nyomáson hidrogénezzük. Az oldatot feldolgozás céljából a katalizátor kiszűrése után nagy vákuumban 2 ml-re betöményítjük, a terméket 40 ml peroxidmentes éterrel kicsapjuk, leszűrjük és vákuumban megszáritjuk. A nyersterméket további tisztítás nélkül használjuk fel a következő, 4.4 lépéshez (ciklizálás).

4.4 lépés

Asn-Phe-Phe-(D-trp)-Lys(Boc)-Thr(But)-Phe-[β -(3-fenoxi-fenil)]Gaba

811 mg nyers H-Asn-Phe-Phe-(D-trp)-Lys(Boc)-Thr(But)-Phe-[d1- β -(3-fenoxi-fenil)]Gaba-OH (4.3 lépés), 784 mg N-hidroxi-benzotriazol és 1,20 g N,N'-diciklohexil-karbodiimid 580 ml dimetilformamiddal készített oldatát 20 órán át 50 °C hőmérsékleten tartjuk. Az elegy feldolgozása céljából az oldószert nagy vákuumban, körülbelül 30 °C-on lepároljuk, és a maradékot 20 ml etilacetáttal eldörzsöljük. A kivált diciklohexilkarbamidot szűrővel eltávolítjuk, a szűrletet etilacetáttal 200 ml-re felhígítjuk, három alkalommal, 50–50 ml n vizes oxálsav-oldattal, majd vízzel semlegesre mossuk, nátriumszulfát felett megszáritjuk és vákuumban bepároljuk. A nyersterméket tisztítás céljából 600-lépcsős ellenáramú megosztásnak vetjük alá metanol–víz–kloroform–széntetraklorid rendszerben (2700 : 675 : 900 : 1575 térfogatrész). A 80–113 fokozatokban található fázisok ($K = 0,17$) tartalmazák a két diasztereomer egyikét (A izomer), a 125–167 fokozatokban található fázisok ($K = 0,31$) a másikat (B izomer). A megfelelő fokozatok fázisait egyesítjük és vákuumban bepároljuk. A maradékot 20 ml terc-butanolban feloldjuk és liofilizáljuk, így mindig egy, fenti összegképletű, vékonyrétegekromatográfián egységes diasztereomert kapunk.

DC: [kloroform–metanol (85 : 15)]

A izomer: $R_f = 0,60$, B izomer: $R_f = 0,51$,

[kloroform–metanol–víz (14 : 6 : 1)]

A izomer: $R_f = 0,89$, B izomer: $R_f = 0,83$.

5. példa

Asn-Phe-Phe-(5-F-D-trp)-Lys-Thr-Phe-[β -(1-naftil)]Gaba

– B izomer (5-F-D-trp = 5-fluor-D-triptofil)

147 mg

Asn-Phe-Phe-(5-F-D-trp)-Lys(Boc)-Thr(But)-Phe-[β -(1-naftil)]Gaba

– B izomer

képletű védett oktapeptidet 5 °C hőmérsékleten, nitrogén atmoszférában feloldunk 2,5 ml, 89 térf-

gat% trifluorecetsavat, 10 térfogat% vizet és 1 térfogat% tioglikolsavat tartalmazó elegyben, az oldatot azonnal 25 °C-ra melegítjük, és a terméket 50 perc múlva ezen a hőmérsékleten 15 ml peroxidmentes éterrel kicsapjuk. A végtermék kapott, nyers trifluoracetátját leszűrjük, vákuumban megszáritjuk, 5 ml n ecetsav-oldatban feloldjuk és 15 ml anioncserélőn (gyártja Bio-Rad Laboratories, Richmond, California, Amerikai Egyesült Államok) átszűrjük. Az eluátumot vákuumban bepároljuk, a maradékot 230-lépcsős ellenáramú megosztásnak vetjük alá n-butanol-ecetsav-víz rendszerben (4 : 1 : 5). A 230–274 fokozatokban található fázisokat ($K = 13,7$) összegyűjtjük, vákuumban bepároljuk és 1 : 1 arányú terc-butanol-víz elegyből liofilizáljuk.

A kapott, címben szereplő vegyületet vékonyrétegekromatográfiásan, három rendszerben vizsgálva egységes:

DC: 52 számú rendszer: $R_f = 0,50$,

111B számú rendszer: $R_f = 0,45$,

157F számú rendszer: $R_f = 0,55$.

A kiindulási anyagként alkalmazott peptideket az alábbi módon állítjuk elő.

5.1 lépés

Z-Asn-Phe-Phe-(5-F-D-trp)-Lys(Boc)-Thr(But)-Phe-[d1-β-(1-naftil)]Gaba-OBzl

411 mg Z-Asn-Phe-Phe-(5-F-D-trp)-Lys(Boc)-Thr(But)-Phe-OH (11.5 lépés, a fentiekben megadott európai szabadalmi bejelentés 11. példája) és 172 mg d1-4-amino-3-(1-naftil)-vajsav-benzilészter-p-toluolszulfonát (2.1 lépés) 3 ml dimetilformamiddal készített elegyét összekeverjük 0,039 ml N-metil-morfolinnal, 47 mg N-hidroxi-benzotriazolal és 85 mg N,N'-diciklohexil-karbodiimiddal, és az elegyet 20 órán át szobahőmérsékleten állni hagyjuk. Az elegy feldolgozása céljából a kivált diciklohexil-karbamidot centrifugálással eltávolítjuk, a felülúszót 10 ml vízzel elkeverjük és a terméket leszűrjük. A kapott szilárd anyagot további tisztítás céljából 10 percen át 2 ml metanollal keverjük, a szuszpenziót 0 °C-ra lehűtjük, a tiszta terméket leszűrjük és vákuumban megszáritjuk.

DC: [kloroform-metanol (85 : 15)]: $R_f = 0,67$,

[kloroform-metanol-víz (14 : 6 : 1)]: $R_f = 0,87$.

5.2 lépés

H-Asn-Phe-Phe-(5-F-D-trp)-Lys(Boc)-Thr(But)-Phe-[d1-β-(1-naftil)]Gaba-OH

421 mg Z-Asn-Phe-Phe-(5-F-D-trp)-Lys(Boc)-Thr(But)-Phe-[d1-β-(1-naftil)]Gaba-OBzl (5.1 lépés) 15 ml dimetilformamiddal készített oldatát 50 mg, aktív szénre felvitt palládium (10%) beadagolása után 4 órán keresztül szobahőmérsékleten és normál nyomáson hidrogénezzük. Az elegy feldolgozása céljából az oldatot a katalizátor kiszűrése után nagy vákuumban 2 ml-re betöményítjük, a terméket 40 ml peroxidmentes éterrel kicsapjuk,

leszűrjük és vákuumban megszáritjuk. A nyersterméket további tisztítás nélkül használjuk fel a következő, 5.3 lépéshez (ciklizálás).

5.3 lépés

Asn-Phe-Phe-(5-F-D-trp)-Lys(Boc)-Thr(But)-Phe-[β-(1-naftil)]Gaba

357 mg nyers H-Asn-Phe-Phe-(5-F-D-trp)-Lys(Boc)-Thr(But)-Phe-[d1-β-(1-naftil)]Gaba-OH (5.2 lépés) 355 mg N-hidroxi-benzotriazol és 543 mg N,N'-diciklohexil-karbodiimid 260 ml dimetilformamiddal készített oldatát 20 órán keresztül 50 °C hőmérsékleten tartjuk. Feldolgozás céljából az oldószert nagy vákuumban körülbelül 30 °C hőmérsékleten lepároljuk, és a maradékot 20 ml etilacetáttal eldörzsöljük. A kivált diciklohexil-karbamidot szűrővel eltávolítjuk, a szűrletet etilacetáttal 200 ml-re felhígítjuk, három alkalommal, 50–50 ml n vizes oxálsav-oldattal, majd vízzel semlegesre mossuk, nátriumsulfát felett megszáritjuk és vákuumban bepároljuk. A nyersterméket tisztítás céljából 480-lépcsős ellenáramú megosztásnak vetjük alá metanol-víz-kloroform-széntetraklorid rendszerben (2700 : 675 : 900 : 1575 térfogatrész). A 75–114 fokozatokban található fázisok ($K = 0,24$) tartalmazzák a két diasztereomer egyikét (A izomer), a 161–186 fokozatokban található fázisok ($K = 0,50$) pedig a másikat (B izomer). A megfelelő fokozatok fázisait egyesítjük és vákuumban bepároljuk. A maradékot 20 ml terc-butanolban feloldjuk és liofilizáljuk, így mindig egy, a fenti összegképletű, vékonyrétegekromatográfiásan egységes diasztereomert kapunk.

DC: [kloroform-metanol (85 : 15)]:

A izomer: $R_f = 0,54$, B izomer: $R_f = 0,45$,

[kloroform-metanol-víz (14 : 6 : 1)]:

A izomer: $R_f = 0,90$, B izomer: $R_f = 0,85$.

6. példa

Asn-Phe-Phe-(D-trp)-Lys-Thr-Phe-[β-(4-klór-1-naftil)]Gaba – B izomer
178 mg

Asn-Phe-Phe-(D-trp)-Lys(Boc)-Thr(But)-Phe-[β-(4-klór-1-naftil)]Gaba

– B izomer
képletű védett oktapeptidet az 1.B példában leírt módon dolgozzuk fel. A termék tisztítását 770-lépcsős ellenáramú megosztással végezzük terc-butanol-toluol-metanol-puffer rendszerben (800 : 800 : 340 : 1140), a puffer 1 liter vízben 2,2 g ammóniumacetátot és 1,6 ml jégecetet tartalmaz. A tiszta B izomert tartalmazó fázisokat ($K = 1,1$) vákuumban bepároljuk, és a maradékot terc-butanol és víz elegyből liofilizáljuk.

DC: 52 számú rendszerben: $R_f = 0,46$,

157C számú rendszerben: $R_f = 0,24$.

Hasonlóképpen eljárva állítjuk elő az

Asn-Phe-Phe-(D-trp)-Lys-Thr-Phe-[β-(4-nitrofenil)]Gaba – B izomer

képletű peptidet is, $K = 0,33$ (a fenti oldószerszerben), DC: 157C számú rendszerben: $R_f = 0,28$.

A kiindulási anyagként alkalmazott peptidet az alábbi módon állítjuk elő.

6.1 lépés

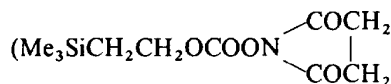
H-Asn-Phe-Phe-(D-trp)-Lys(Boc)-Thr(But)-Phe-OH

3,1 g Z-Asn-Phe-Phe-(D-trp)-Lys(Boc)-Thr(But)-Phe-H (amelyet a fentiekben idézett európai szabadalmi bejelentés 1. példa, 1.7 lépésében szereplő módon állítottunk elő) 100 ml dimetilformamiddal készített oldatát 300 mg, aktív szénre felvitt palládium (10%) hozzáadása után 2 órán keresztül hidrogénezzük. A katalizátor kiszűrése után az oldatot nagy vákuumban 20 ml-re betöményítjük, és további tisztítás nélkül használjuk fel a következő, 6.2 lépéshez.

6.2 lépés

N²-2-Trimetilsziletoxikarbonil-Asn-Phe-Phe-(D-trp)-Lys(Boc)-Thr(But)-Phe-OH

A védett heptapeptid 6.1 lépésben kapott dimetilformamid oldatát összekeverjük 940 mg 2-trimetilsziletoil-szukcinimidilkarbonáttal



és 0,27 ml N-metil-morfolinnal, és a reagáltatást 45 percen keresztül végezzük szobahőmérsékleten. További 0,13 ml N-metil-morfolin hozzáadása után a reagáltatást további 2 1/2 órán keresztül folytatjuk. A terméket 100 ml 0,2 n sósav-oldat becsöpögtetésével 0 °C-on lecsapjuk, és tisztítás céljából három alkalommal etilacetáttal és acetonnitrillel eldörzsöljük.

DC: 157A számú rendszerben: $R_f = 0,29$.

6.3 lépés

N²-2-Trimetilsziletoxikarbonil-Asn-Phe-Phe-(D-trp)-Lys(Boc)-Thr(But)-Phe-[d1-β-(4-klór-1-naftil)]-Gaba-OH

135 mg N²-2-trimetilsziletoxikarbonil-Asn-Phe-Phe-(D-trp)-Lys(Boc)-Thr(But)-Phe-OH (6.2 lépés) és 180 mg N-hidroxi-szukcinimid 2 ml dimetilformamiddal készített oldatához 0 °C hőmérsékleten hozzáadjuk 216 mg N,N'-diciklohexil-karbodiimid 0,8 ml dimetilformamiddal készített oldatát, és az elegyet 4 1/2 órán át reagáltatjuk (1. részlet). Eközben 304 mg d1-4-amino-3-(4-klór-1-naftil)-vajsavat feloldunk 0,6 ml 2n metanolos benziltrimetilalumíniumhidroxidban 10 ml dimetilformamid és kis mennyiségű víz hozzáadása közben, és nagy vákuumban újra 3,5 ml-re betöményítjük. A zavaros oldatot 0 °C hőmérsékleten hozzáadjuk a fenti 1. részlethez, két alkalommal 0,2-0,2 ml dimetilformamiddal mossuk, és éjszakán át szobahőmérsékleten reagáltatjuk. A terméket 100 ml jég-

hideg 0,2n sósav-oldat becsöpögtetésével kicsapjuk, leszűrjük és vízzel mossuk. Szárítás után három alkalommal etilacetáttal és acetonnitrillel eldörzsöljük.

DC: 157A számú rendszerben:

$R_f = 0,39$ és $0,41$ (diasztereomerek).

Hasonlóképpen eljárva állítjuk elő d1-4-amino-3-(4-nitro-fenil)-vajsavból kiindulva az

N²-2-trimetilsziletoxikarbonil-Asn-Phe-Phe-(D-trp)-Lys(Boc)-Thr(But)-Phe-[d1-β-(4-nitro-fenil)]-Gaba-OH-t,

DC: 157A számú rendszerben: $R_f = 0,37$.

6.4 lépés

H-Asn-Phe-Phe-(D-trp)-Lys(Boc)-Thr(But)-Phe-[d1-β-klór-naftil]]Gaba-OH-hidroklorid

1,55 g 2-trimetilsziletoxikarbonil-Asn-Phe-Phe-(D-trp)-Lys(Boc)-Thr(But)-Phe-[d1-β-(4-klór-naftil)]Gaba-OH (6.3 lépés) 4,2 ml dimetilformamiddal készített oldatát 0 °C hőmérsékleten 2 perc alatt összekeverjük 8,6 ml 0,59 mólos, dimetilszulfoxiddal készített tetraetilammóniumfluorid-oldattal, és az elegyet 3 órán keresztül 30 °C-on reagáltatjuk. A terméket 200 ml jéghideg 0,1 n sósav-oldat becsöpögtetésével kicsapjuk. A csapadékot centrifugáljuk, jéghideg vízzel mossuk, terc-butanolban feloldjuk és liofilizáljuk. A maradékot 3 ml dimetilformamidban feloldjuk, és vízzel újra kicsapjuk. A centrifugálással elkülönített terméket vízzel többször mossuk és nagy vákuumban megszáritjuk.

DC: 157A számú rendszerben:

$R_f = 0,09$ és $0,12$ (diasztereomerek).

Hasonlóképpen eljárva állítjuk elő megfelelő kiindulási anyagokból (lásd 6.3 lépés) a

H-Asn-Phe-Phe-(D-trp)-Lys(Boc)-Thr(But)-Phe-[d1-β-(4-nitro-fenil)]Gaba-OH-hidrokloridot.

DC: 157C számú rendszerben:

$R_f = 0,53$ és $0,55$ (diasztereomerek).

6.5 lépés

Asn-Phe-Phe-(D-trp)-Lys(Boc)-Thr(But)-Phe-[β-(4-klór-1-naftil)]Gaba

-- B izomer

1,25 g HCl · H-Asn-Phe-Phe-(D-trp)-Lys(Boc)-Thr(But)-Phe-[d1-β-(4-klór-1-naftil)]Gaba-OH (6.4 lépés), 1,33 g N-hidroxi-benzotriazol-monohidrát, 0,1 ml N-metil-morfolin és 1,8 g N,N'-diciklohexil-karbodiimid 800 ml dimetilformamiddal készített oldatát 18 órán keresztül 50 °C hőmérsékleten tartjuk. Az elegy feldolgozása céljából hozzáadunk 1,1 g oxálsavat, az oldatot nagy vákuumban erősen bepároljuk, és a kivált diciklohexil-karbamidot szűrővel eltávolítjuk. A szűrletből a terméket híg nátriumhidrogénkarbonát-oldat becsöpögtetésével kicsapjuk. A nyersterméket tisztítás céljából 560 lépcsős ellenáramú megosztásnak vetjük alá metanol-víz-kloroform-széntetraklorid rendszerben (2700 : 675 : 900 : 1575 térfogatrész).

A 154–228 fokozatokban található terméket (K = 0,43) a szokásos módon elválasztjuk.

DC: B izomer: 157A számú rendszer: $R_f = 0,33$.

Hasonlóképpen eljárva állítjuk elő a megfelelő lineáris kiindulási anyagból (6.4 lépés) ciklizálással és ugyanolyan oldószerszerrendszerben végzett ellenáramú megosztással az

Asn-Phe-Phe-(D-trp)-Lys(Boc)-Thr(But)-Phe-[β -(4-nitro-fenil)]Gaba

– B izomert

K = 0,8;

DC: 157A számú rendszer: $R_f = 0,27$.

Az alábbi 7–13. példában a gyógyászati készítmények előállítását írjuk le. A „hatóanyag” kifejezés a találmány szerinti eljárással előállítható I általános képletű végtermékre, különösen az 1–6. példában szereplő ilyen vegyületekre, elsősorban a 2.B példában szereplő [D-trp⁸; β -(1-naftil)Gaba¹²]-ciklo-szomatosztatin(5–12)-oktapeptid-B izomerre és a 4.B példában szereplő [D-trp⁸; β -(3-fenoxifenil)Gaba¹²]-ciklo-szomatosztatin(5–12)-oktapeptidre vonatkozik.

7. példa

A) 2,0 mg hatóanyagot tartalmazó injekciós oldatot az alábbi módon állítunk elő.

0,7 ml desztillált vízben feloldunk 1,0 mg jégecet, 0,8 mg nátriumacetátot, 8,0 mg nátriumkloridot és 2,0 mg hatóanyagot, és desztillált vízzel 1 ml-re feltöltjük. Az oldatot autoklávban 20 percen át melegítjük 120 °C-on. Az oldat pH-ja sterilizálás után 4,5.

B) 0,5 mg hatóanyagot tartalmazó injekciós oldatot az alábbi módon állítunk elő.

0,7 ml fiziológiás nátriumklorid-oldatban feloldunk 0,5 mg hatóanyagot, és az oldatot 0,1 n sósav-oldattal pH = 4,0-ra savanyítjuk. Desztillált vízzel 1 ml-re feltöltjük és sterilre szűrjük.

8. példa

A) 0,1 mg hatóanyagot tartalmazó, zselatin-tartalmú injekciós oldatot az alábbi módon állítunk elő.

A hatóanyag sterilre szűrt vizes oldatát melegítés közben, aszeptikus körülmények között olyan steril zselatin-oldattal keverjük össze, amely konzerválószerként fenolt tartalmaz. 1,0 ml oldat az alábbi összetételű:

hatóanyag	0,5 mg
zselatin	280,0 mg
fenol	5,0 mg
desztillált víz ad	1,0 ml

Az elegyet aszeptikus körülmények között ampullába töltjük.

9. példa

0,5 mg hatóanyagot steril szárazanyagként tartalmazó, injektálásra szánt készítményt az alábbi módon állítunk elő.

0,5 mg hatóanyagot feloldunk 1 ml, 20 mg manitot tartalmazó vizes oldatban. Az oldatot sterilre szűrjük és aszeptikus körülmények között 2 ml-es ampullába töltjük, mélyhűtjük és liofilizáljuk. Használat előtt a liofilizátumot desztillált vízben feloldjuk. Az oldatot intramuszkulárisan vagy intravénásan adjuk be.

10. példa

A hatóanyagot polifoszfát-szuszpenzióként tartalmazó injekciós készítményt az alábbi módon állítunk elő.

A) 1,0 mg hatóanyaggal:

1,0 mg hatóanyag és 9,0 mg nátriumklorid 0,5 ml desztillált vízzel készített oldatát összekeverjük 2 mg nátriumpolifoszfát (Calgon N) 0,5 ml desztillált vízzel készített oldatával. A kapott szuszpenzió az alábbi összetételű:

hatóanyag	1,0 mg
nátriumpolifoszfát (Calgon N)	2,0 mg
nátriumklorid	9,0 mg
desztillált víz ad	1,0 ml

A szuszpenzió pH-ja 6,9. Intramuszkuláris beadásra alkalmas.

B) 0,5 mg hatóanyaggal:

A fentiekben leírt módon állítjuk elő az alábbi összetételű szuszpenziót:

hatóanyag	0,5 mg
nátriumpolifoszfát (Calgon 322)	1,0 mg
nátriumklorid	9,0 mg
desztillált víz ad	1,0 ml

A szuszpenzió pH-ja 5,9.

11. példa

0,3 mg hatóanyagot olajos alumíniumsztearát gél alakjában tartalmazó injekciós készítményt az alábbi módon állítunk elő.

2%-os alumíniumsztearát gélét állítunk elő a szokásos módon úgy, hogy 1,0 g alumíniummonosztearátot 49,0 g földimogyoróolajban szuszpendálunk és 10 percen keresztül 130 °C-on melegítjük. 0,3 g így kapott alumíniumsztearát gélben 15,0 mg hatóanyagot szuszpendálunk, a szuszpenziót homogenizáljuk és az alumíniumsztearát gél fennmaradó részével felhígítjuk. Az így kapott gél az alábbi összetételű:

hatóanyag	0,3 mg
alumíniummonosztearát	20,0 mg
földimogyoróolaj ad	1,0 mg

Az olajos alumíniumsztearát gél-szuszpenzió intramuszkuláris beadásra alkalmas.

12. példa

0,5 mg hatóanyagot dextranszulfáttal készített depó-szuszpenzió alakjában tartalmazó injekciós készítmény

0,36 mg ecetsavat, 1,9 mg nátriumacetát-trihidrátot, 0,8 mg nátriumkloridot és 0,5 mg hatóanyagot feloldunk 0,4 ml desztillált vízben, és az oldatot

desztillált vízzel 0,5 ml-re feltöltjük. Ehhez az oldathoz keverés közben hozzáadunk 0,5 ml, 0,1% dextránszulfátot (molekulasúly 500,000) tartalmazó oldatot, így homogén szuszpenzió képződik. Ez a szuszpenzió az alábbi összetételű:

hatóanyag	0,50 mg
dextránszulfát (molekulasúly 500,000)	0,50 mg
ecetsav (100%)	0,36 mg
nátriumacetát-trihidrát	1,90 mg
nátriumklorid	8,00 mg
desztillált víz ad	1,00 ml

A vizes szuszpenzió intramuszkuláris és szubkután injektálásra alkalmas.

13. példa

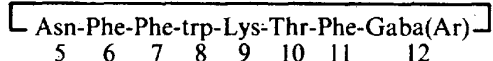
Nazális spray

30 mg finomra őrölt hatóanyagot 75 mg benzilalkohol és 1,395 g telített, 8–12 szénatomos zsírsavak felszintetikus gliceridjeinek elegyében (például Miglyol 812) szuszpendálunk. Ezzel a szuszpenzióval 10 ml-es alumínium flakonokat töltünk meg, amelyeket adagoló szeleppel lezárunk és nitrogén nyomás alatt 6,0 g 40 : 60 térfogat arányú diklórdifluorometán-1,2-diklór-1,1,2,2-tetrafluoretán eleggyel (például Freon 12/114) töltünk meg. Az összesen 7,5 g töltőszúlyú alumínium flakon 100 egyszeri adagot tartalmaz, az egyes adagok hatóanyagtartalma 0,3 mg. A flakont a szeleppel úgy állítjuk be, hogy az egy alkalommal történő megnyomással az egyszeri adagot permetezze ki.

Hasonlóképpen eljárva állítunk elő olyan nazális spray-eket, amelyek Miglyol helyett azonos súlymennyiségű izopropilmirisztátot vagy izopropilpalmitátot vagy 8–12 szénatomos zsírsavak glicerín- és polioxietilénlikolésztereinek a keverékét (például Labrafac WL 1219) tartalmazzák.

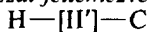
Szabadalmi igénypontok

1. Eljárás az



I általános képletű ciklusos oktapeptidek előállítására – ahol a képletben

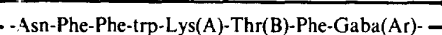
trp D-Trp vagy 5-F-D-Trp csoportot jelent és Gaba(Ar) egy olyan γ -aminovajsav gyökét jelent, amely β -helyzetben 5-7 szénatomos cikloalkilcsoportot, naftil-, halogén-naftil-, fenil-, halogén-fenil-, nitro-fenil- vagy fenoxi-fenil-csoportot hordoz –, azzal jellemezve, hogy egy



III általános képletű lineáris peptidet – ahol

II' valamilyen, az alábbiakban definiált II általános képletű ciklopeptidnek megfelelő lineáris oktapeptid gyököt jelent, amelyben az amidkötés a peptidgyűrű két tetszőleges szomszédos aminosavcsoportja között van megszakítva és

C szabad hidroxilcsoportot, aktiváló csoporttal átalakított hidroxilcsoportot vagy $-\text{NH}-\text{NH}_2$ hidrazinocsoportot jelent – ciklizálunk és a kapott

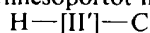


II általános képletű vegyületben – ahol

Gaba(Ar) és trp a fentiekben megadott jelentésű, A egy ϵ -amino védőcsoportot vagy hidrogénatomot és B egy hidroxil védőcsoportot vagy hidrogénatomot jelent, és az A és B szimbólumok közül csak az egyik lehet hidrogénatom – a védőcsoport(ok)at lehasítjuk. (Elsőbbsége: 1980. február 12.)

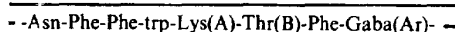
2. Az 1. igénypont szerinti eljárás fogatosítási módja olyan I általános képletű oktapeptidek előállítására, amel ekben

trp D-Trp csoportot jelent és Gaba(Ar) egy olyan γ -aminovajsav gyökét jelent, amely β -helyzetben 5-7 szénatomos cikloalkilcsoportot, naftil-, halogén-naftil-, fenil-, halogén-fenil-, vagy nitro-fenilcsoportot hordoz, azzal jellemezve, hogy egy



III általános képletű lineáris peptidet – ahol

II' valamilyen, az alábbiakban definiált II általános képletű ciklopeptidnek megfelelő lineáris oktapeptid gyököt jelent, amelyben az amidkötés a peptidgyűrű két tetszőleges szomszédos aminosavcsoportja között van megszakítva és C szabad hidroxilcsoportot, aktiváló csoporttal átalakított hidroxilcsoportot vagy $-\text{NH}-\text{NH}_2$ hidrazinocsoportot jelent – ciklizálunk és a kapott

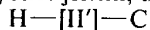


II általános képletű vegyületben – ahol

Gaba(Ar) és trp a fentiekben megadott jelentésű, A egy ϵ -amino védőcsoportot vagy hidrogénatomot és B egy hidroxil védőcsoportot vagy hidrogénatomot jelent, és az A és B szimbólumok közül csak az egyik lehet hidrogénatom – a védőcsoport(ok)at lehasítjuk. (Elsőbbsége: 1979. július 4.)

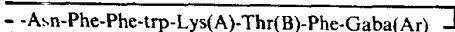
3. Az 1. igénypont szerinti eljárás fogatosítási módja olyan I általános képletű vegyületek diasztereomer elegyeinek vagy az egyes diasztereomereinek előállítására, ahol

trp D-Trp csoportot és Gaba(Ar) a 4-amino-3-ciklohexil-vajsav, 4-amino-3-fenil-vajsav, 4-amino-3-(1-naftil)-vajsav vagy 4-amino-3-(2-naftil)-vajsav gyökét jelent, azzal jellemezve, hogy egy



III általános képletű lineáris peptidet – ahol

II' valamilyen, az alábbiakban definiált II általános képletű ciklopeptidnek megfelelő lineáris oktapeptid gyököt jelent, amelyben az amidkötés a peptidgyűrű két tetszőleges szomszédos aminosavcsoportja között van megszakítva és C szabad hidroxilcsoportot, aktiváló csoporttal átalakított hidroxilcsoportot vagy $-\text{NH}-\text{NH}_2$ hidrazinocsoportot jelent – ciklizálunk és a kapott



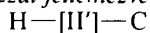
II általános képletű vegyületben – ahol

Gaba(Ar) és trp a fentiekben megadott jelentésű, A egy ϵ -amino védőcsoportot vagy hidrogénatomot és B egy hidroxil védőcsoportot vagy hidrogénatomot jelent, és az A és B szimbólumok közül csak az egyik lehet hidrogénatom – a védőcsoport(ok)at lehasítjuk. (Elsőbbsége: 1979. július 4.)

4. Az 1. igénypont szerinti eljárás fogatosítási módja olyan I általános képletű vegyületek diasztere-

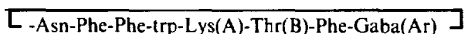
romer elegyeinek vagy az egyes diasztereomereinek előállítására, ahol

trp D-Trp csoportot és Gaba(Ar) a 4-amino-3-(4-fluor-fenil)-vajsav, 4-amino-3-(4-nitro-fenil)-vajsav, 4-amino-3-(4-klór-1-naftil)-vajsav vagy 4-amino-3-(3-fenoxi-fenil)-vajsav gyökét jelenti, *azzal jellemezve*, hogy egy



III általános képletű lineáris peptidet – ahol

II' valamilyen, az alábbiakban definiált II általános képletű ciklopeptidnek megfelelő lineáris oktapeptid gyököt jelent, amelyben az amidkötés a peptidgyűrű két tetszőleges szomszédos aminosavcsoportja között van megszakitva és C szabad hidroxilcsoportot, aktiváló csoporttal átalakított hidroxilcsoportot vagy $-\text{NH}-\text{NH}_2$ hidrazinocsoportot jelent – ciklizálunk és a kapott



II általános képletű vegyületben – ahol

Gaba(Ar) és trp a fentiekben megadott jelentésű, A egy ε -amino védőcsoportot vagy hidrogénatomot és B egy hidroxil védőcsoportot vagy hidrogénatomot jelent, és az A és B szimbólumok közül csak az egyik lehet hidrogénatom – a védőcsoport(ok)at lehasítjuk. (Elsőbbsége: 1980. február 12.)

5. Az 1. igénypont szerinti eljárás fogantatosítási módja a [D-Trp⁸;β-ciklohexil-Gaba¹²]-ciklo-szomatostatin(5-12)-oktapeptid diasztereomer elegy vagy egyes diasztereomerek alakjában való előállítására, *azzal jellemezve*, hogy egy H-Asn-Phe-Phe-(D-Trp)-Lys(A)-Thr(B)-Phe-(β-ciklohexil-Gaba)-C általános képletű lineáris oktapeptidet, ahol A, B és C a 2. igénypontban megadott jelentésű, ciklizálunk, majd a jelenlevő védőcsoportokat lehasítjuk. (Elsőbbsége: 1979. július 4.)

6. Az 1. igénypont szerinti eljárás fogantatosítási módja a [D-Trp⁸;β-(3-fenoxi-fenil)-Gaba¹²]-ciklo-szomatostatin(5-12)-oktapeptid diasztereomer elegy vagy egyes diasztereomerek alakjában való előállítására, *azzal jellemezve*, hogy egy H-Asn-Phe-Phe-(D-Trp)-Lys(A)-Thr(B)-Phe-[β-(3-fenoxi-fenil)-Gaba]-C általános képletű lineáris oktapeptidet – ahol A, B és C az 1. igénypontban megadott jelentésű – ciklizálunk, majd a jelenlevő védőcsoportokat lehasítjuk. (Elsőbbsége: 1980. február 12.)

7. Az 1. igénypont szerinti eljárás fogantatosítási módja az 1-6. igénypontokban jellemzett vegyületek B izomer alakjában történő előállítására, *azzal jellemezve*, hogy a II általános képletű, ciklizált és védett oktapeptid diasztereomer elegyből a hidrofillebb komponenst ellenáramú megosztással elkülönítjük és a védőcsoportokat lehasítjuk. (Elsőbbsége: 1980. február 12.)

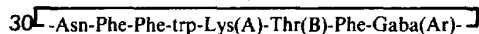
8. Az 1. igénypont szerinti eljárás fogantatosítási módja a [D-Trp⁸;β-(1-naftil)-Gaba¹²]-ciklo-szomatostatin(5-12)-oktapeptid diasztereomer elegy

vagy egyes diasztereomerek előállítására, *azzal jellemezve*, hogy egy H-Asn-Phe-Phe-(D-Trp)-Lys(A)-Thr(B)-Phe-[β-(1-naftil)-Gaba]-C általános képletű lineáris oktapeptidet – ahol A, B és C a 2. igénypontban megadott jelentésű – ciklizálunk, majd a jelenlevő védőcsoportokat lehasítjuk. (Elsőbbsége: 1979. július 4.)

9. A 8. igénypont szerinti eljárás fogantatosítási módja a 8. igénypontban megadott vegyület B izomerjének az előállítása, *azzal jellemezve*, hogy a II általános képletű, ciklizált és védett oktapeptid diasztereomer elegyből a hidrofillebb komponenst ellenáramú megosztással elkülönítjük és a védőcsoportokat lehasítjuk. (Elsőbbsége: 1979. július 4.)

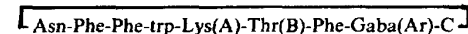
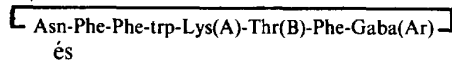
10. Az 1. igénypont szerinti eljárás fogantatosítási módja, *azzal jellemezve*, hogy egy H-Asn-Phe-Phe-trp-Lys(A)-Thr(B)-Phe-Gaba(Ar)-C IIIb IIIb általános képletű lineáris peptidet – ahol a képletben

trp D-Trp vagy 5-F-D-Trp csoportot jelent, Gaba(Ar) egy olyan γ-amino-vajsav gyökét jelenti, amely β-helyzetben 5-7 szénatomos cikloalkilcsoporttal, A egy ε-amino-védőcsoportot vagy hidrogénatomot, B egy hidroxil védőcsoportot vagy hidrogénatomot jelent és az A és B szimbólumok közül csak az egyik lehet hidrogénatom és C szabad hidroxilcsoportot, aktiváló csoporttal átalakított hidroxilcsoportot vagy $-\text{NH}-\text{NH}_2$ hidrazincsoportot jelent – ciklizálunk és a kapott



II általános képletű vegyületről – ahol trp, Gaba(Ar), A és B a fenti jelentésű – a védőcsoport(ok)at lehasítjuk. (Elsőbbsége: 1980. február 12.)

11. A 10. igénypont szerinti eljárás fogantatosítási módja, *azzal jellemezve*, hogy olyan



III általános képletű vegyületeket alkalmazunk, amelyekben trp és Gaba(Ar) a 2. igénypontban, A, B és C pedig a 10. igénypontban megadott jelentésű. (Elsőbbsége: 1979. július 4.)

12. Eljárás gyógyászati készítmények előállítására, *azzal jellemezve*, hogy az 1., 4., 6. vagy 7. igénypont szerinti eljárással előállított vegyületeknek legalább egyikét legalább egy gyógyászatilag alkalmazható segéd- vagy hordozóanyaggal összekeverjük és gyógyászati készítménnyé készítjük. (Elsőbbsége: 1980. február 12.)

13. Eljárás gyógyászati készítmények előállítására, *azzal jellemezve*, hogy 2., 3., 5., 8. vagy 9. igénypont szerinti eljárással előállított vegyületeknek legalább egyikét legalább egy gyógyászatilag alkalmazható segéd- vagy hordozóanyaggal összekeverjük és gyógyászati készítménnyé készítjük. (Elsőbbsége: 1979. július 4.)

Ábra nélkül

Kiadja az Országos Találmányi Hivatal
A kiadásért felel: Himer Zoltán osztályvezető
Szedte a Nyomdaipari Fényszedő Üzem (877356/09)

88-0645 — Dabasi Nyomda, Budapest — Dabas
Felelős vezető: Bálint Csaba igazgató