

[19]中华人民共和国专利局

[51]Int.Cl.<sup>4</sup>

C07K 7/00

A61K 37/02



[12] 发明专利申请公开说明书

[11] CN 86 1 04835 A

CN 86 1 04835 A

[43] 公开日 1986年12月17日

[21] 申请号 86 1 04835

[22] 申请日 86.6.18

[30] 优先权

[32] 85.6.18 [33] 美国 [31] 747,640

[71] 申请人 史密丝克莱恩贝曼公司

地址 美国宾夕法尼亚州费城富兰克林广场  
1号

[72] 发明人 法迪亚·埃尔费海尔·阿里

[74] 专利代理机构 中国专利代理有限公司

代理人 刘元金

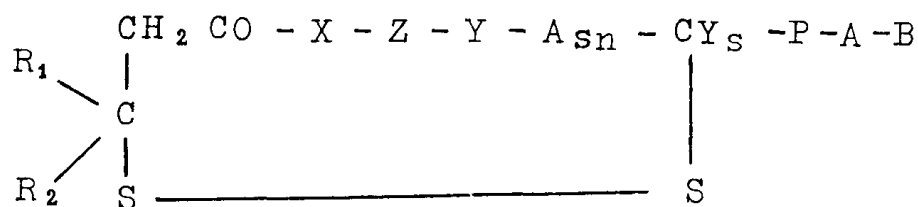
[54] 发明名称 加压素拮抗剂

[57] 摘要

具有一个含有两个碱性氨基酸之二肽侧链的加压素拮抗剂, 显示出强的 $V_1$ 和 $V_2$ 拮抗剂活性。由常规的肽序列合成法制得的本发明的一种化合物是  
[1-( $\beta$ -巯基- $\beta$ ,  $\beta$ -环亚戊基丙酸)-2-(邻-乙基)-D-酪氨酸-4-缬氨酸-7-精氨酸-8-精氨酸-9-脱甘氨酸]-加压素。

# 权 利 要 求 书

1. 具有下列结构式的化合物或其药物上可接受的盐或前体药物,



其中

P 是 Arg、Lys、HArg、MeArg、MeLys 或 MeArg 的 D 或 L 型异构体;

A 是 Arg、Lys、HArg、MeArg、MeLys 或 MeArg 的 D 或 L 型异构体;

B 是 OH、NH<sub>2</sub> 或 NHA<sub>1k</sub>;

Z 是 Phe、Phe ( 4' - Alk )、Tyr ( Alk )、Ile 或 Tyr;

X 是 Phe、Phe ( 4' - Alk )、Val、Nva、Leu、Ile、Pba、Nle、Cha、Abu、Met、Chg、Tyr 或 Tyr ( Alk ) 的 D 或 L 型异构体;

Y 是 Val、Ile、Abu、Ala、Chg、Gln、Lys、Cha、Thr、Nle、Phe、Leu 或 Gly; 且

R<sub>1</sub> 和 R<sub>2</sub> 各是氢、甲基, 或当两者一起, 并与相接的 β 碳一道形成一个 4 - 6 元环亚烷基环, 且 Alk 是 C<sub>1-4</sub> 烷基。

2. 根据权利要求 1 的化合物, 其中 R<sub>1</sub> 和 R<sub>2</sub> 一起形成螺亚戊基环。

3. 根据权利要求 1 的化合物, 其中 P - A - B 是 Arg-Arg (NH<sub>2</sub> )。

4. 根据权利要求1的化合物，其中化合物是〔1-( $\beta$ -巯基- $\beta$ ,  $\beta$ -环亚戊基丙酸)-2-(邻-乙基)-D-酪氨酸-4-缬氨酸-7-精氨酸-8-精氨酸-9-脱甘氨酸]-加压素或其药物学上可接受的酸加成盐。

5. 根据权利要求1的化合物，其中化合物是〔1-( $\beta$ -巯基- $\beta$ ,  $\beta$ -环亚戊基丙酸)-2-(邻-乙基)-D-酪氨酸-4-缬氨酸-7-D-精氨酸-8-D-精氨酸-9-脱甘氨酸]-加压素或其药物学上可接受的酸加成盐。

6. 根据权利要求1的化合物，其中化合物是〔1-( $\beta$ -巯基- $\beta$ ,  $\beta$ -环亚戊基丙酸)-2-(邻-甲基)-L-酪氨酸-4-缬氨酸-7-精氨酸-8-D-精氨酸-9-脱甘氨酸]-加压素或其药物学上可接受的酸加成盐。

7. 根据权利要求1的化合物，其中化合物是〔1-( $\beta$ -巯基丙酸)-2-(邻-乙基)-D-酪氨酸-3-异亮氨酸-4-苏氨酸-7-精氨酸-8-精氨酸-9-脱甘氨酸]-加压素或其药物学上可接受的酸加成盐。

8. 根据权利要求1的化合物，其中化合物是〔1-( $\beta$ -巯基- $\beta$ ,  $\beta$ -环亚戊基丙酸)-2-(邻-乙基)-D-酪氨酸-4-缬氨酸-7-精氨酸-8-精氨酸-9-脱甘氨酰胺]-加压素或其药物学上可接受的酸加成盐。

9. 根据权利要求1的化合物，其中化合物是1-( $\beta$ -巯基- $\beta$ ,  $\beta$ -环亚戊基丙酸)-2-(邻-乙基)-D-酪氨酸-4-缬氨酸-8-精氨酸-7-赖氨酸-9-脱甘氨酸]-加压素或其药物学上可接受的酸加成盐。

1 0. 根据权利要求1的化合物，其中化合物是〔1 - (  $\beta$  - 巯基丙酸 ) - 2 - ( 邻 - 乙基 ) - D - 酪氨酸 - 4 - 缬氨酸 - 7 - N - 甲基精氨酸 - 8 - 精氨酸 - 9 - 脱甘氨酸 ] - 加压素或其药物学上可接受的酸加成盐。

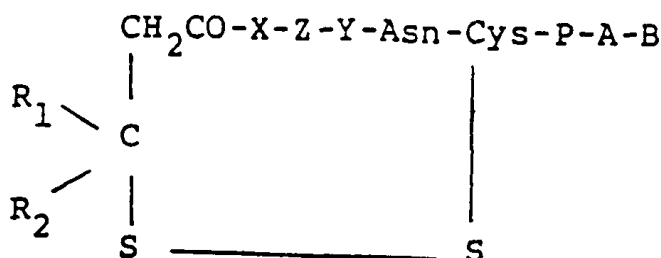
1 1. 根据权利要求1—1 0中任一项的化合物供作药用。

1 2. 根据权利要求1—1 0中任一项的化合物，用作抗高血压。

1 3. 根据权利要求1—1 0中任一项的化合物，用作加压素拮抗剂。

1 4. 一种药物组合物，其中含有根据权利要求1—1 0中任一项的化合物和药物学上可接受的载体。

1 5. 制备下列结构式之化合物或其药物学上可接受的盐或前药的方法



其中

P 是 Arg、Lys、HArg、MeArg、MeLys 或 MeHArg 的 D 或 L 型异构体；

A 是 Arg、Lys、HArg、MeArg、MeLys 或 MeHArg 的 D 或 L 型异构体；

B 是 OH，NH<sub>2</sub> 或 NHALK；

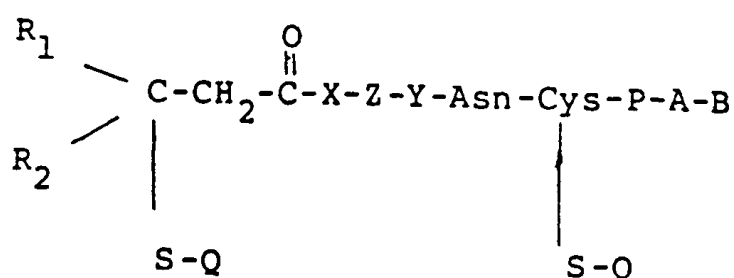
Z 是 Phe、Phe ( 4' - Alk )、Tyr ( Alk )、Ile 或 Tyr;

X 是 Phe、Phe ( 4' - Alk )、Val、Nva、Leu、Ile、Pba、Nle、Cha、Abu、Met、Chg、Tyr 或 Tyr ( Alk ) 的 D 或 L 型异构体;

Y 是 Val、Ile、Abu、Ala、Chg、Gln、Lys、Cha、Thr、Nle、Phe、Leu 或 Gly; 且

R<sub>1</sub> 和 R<sub>2</sub> 各是氢、甲基, 或当两者一起并与相接的 β 碳构成 4 - 6 元环亚烷基环; 且 Alk 是 C<sub>1-4</sub> 烷基;

方法包括环化可任意被保护的下列结构式的化合物——



其中 X、Z、Y、P、A、B、R<sub>1</sub> 和 R<sub>2</sub> 的定义如前;

Q 是氢或可置换的基团;

——其后可以进行下列任一顺序,

( a ) 除去任何保护基;

( b ) 如有 Arg ( OH )<sup>+</sup> 化合物存在—— 则与 A ( 定义如前 ), 以其酸被保护的形式或酰胺形式—— 进行反应;

( c ) 形成药理学上可接受的盐或其前药, 当 B 是 OH 时, 则为其酯。

1 6. 根据权利要求 1 5 的方法，其中 Q 是氢。

1 7. 根据权利要求 1 5 的方法，其中 Q 是乙酰氨基。

1 8. 根据权利要求 1 5—1 7 的方法，它包括氧化环化作用。

1 9. 根据权利要求 1 8 的方法，它是在碘和甲醇存在下进行的。

2 0. 根据权利要求 1 8 的方法，它是在碱金属铁氰化物存在下进行的。

2 1. 根据权利要求 2 0 的方法，其中碱金属铁氰化物是铁氰化钾或铁氰化钠。

加 压 素 拮 抗 剂

本发明涉及某些新的、具有强加压素拮抗剂活性的环状八肽。这些八肽的结构特征在于，它具有由两个碱性氨基酸残基组成的二肽尾端，并直接联接于加压素样环的半胱氨酸残基位上。

M. Manning 等人 ( 见 Nature , 308, 652 ( 1984 ) 和美国专利 4469679 号 ) 已经公开了一些加压素样拮抗物的 9 位末端甘氨酸残基可被除去或用 L 或 D - 丙氨酸、丝氨酸或精氨酸置换而不影响它与加压素受体的结合。

美国专利 4481194 号和 4481193 号则公开了，从加压素拮抗物结构的 7 位上除去脯氨酸，或从 7 位和 9 位上除去脯氨酸及甘氨酸，所得化合物仍可保留有基本的、但稍为降低了的拮抗物活性。

本发明的加压素样化合物具有不同于先有技术的结构，其特征是它有两个碱性氨基酸残基——如精氨酸和赖氨酸——直接联接于二硫 V S P 环上。这类化合物是效力很强的加压素拮抗物。

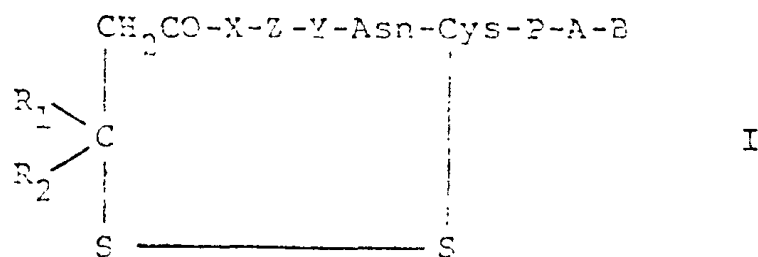
在本申请的说明书和权利要求中，均使用肽和加压素化学领域中通用的术语。如未特别指明构型，所有氨基酸残基均为 L 型，或天然存在的构型。为清楚起见，在某些结构式中，加注了含硫成员 cap、mpa 和 cys 残基。

本文所用的某些肽的缩写符号如下：cap， $\beta$ -巯基- $\beta$ ， $\beta$ -环亚烷基丙酸；pmp， $\beta$ -巯基- $\beta$ ， $\beta$ -环亚戊基丙酸；mpr， $\beta$ -巯基丙酸；dpen， $\beta$ -巯基- $\beta$ ， $\beta$ -二甲基丙酸或脱氧青霉胺；Tyr(Alk)，邻位一烷基酪氨酸；Abu， $\alpha$ -氨基-正丁酸；chg，

环己基甘氨酸; Cha , 环己基丙氨酸; Pba ,  $\alpha$ -氨基苯丁酸; Gln , 谷氨酸酰胺或谷氨酰胺; Gly , 甘氨酸; Tyr, 酪氨酸; Phe , 苯丙氨酸; Phe(4'-Alk), 4'-烷基苯丙氨酸; MeAla, N-甲基丙氨酸; Val , 缬氨酸; Ile , 异亮氨酸; Nle, 正亮氨酸; Leu , 亮氨酸; Ala , 丙氨酸; Lys, 赖氨酸; Arg , 精氨酸; HArg , 高精氨酸; MeArg , N-甲基精氨酸; MeHArg , N-甲基高精氨酸; MeLys , N-甲基赖氨酸; Met, 蛋氨酸; Asn , 天冬酰胺; Sar , 肌氨酸; Tos , 甲苯磺酸酯; BHA , 二苯甲基胺; DMA P , 4-二甲胺基吡啶; DIEA , 二异丙基乙胺; HF , 氟化氢; 4-MeBzl , 4-甲苄基; TFA , 三氟乙酸; DCC , 二环己基碳二亚胺; Boc , 叔丁氧基羰基; Z , 苄氧基羰基; VSP , 加压素; HBT , 羟基苯并三唑; ACM , 乙酰氨基甲基; Mpa , 非环 $\beta$ -巯基丙酸。上述例如MeArg 的定义中, Me表示该甲基位于与之有关的肽残基之酰氨基的氮上。

“Alk”代表1—4个碳原子的低级烷基。例如, 这些烷基可连接到2位的酪氨酸残基的氧取代基上, 或接到尾端的N末端氮上, 或者接到在3位的Phe残基的4'位上。这样的烷基取代基包括甲基、乙基、正丙基、异丙基或丁基, 其中较好的是乙基。文中所用的“加压素”这一术语, 除经修饰者外, 是指L-精氨酸加压素(AVP), 1位上的1-( $\beta$ -巯基环亚烷基)-丙酸(Cap)本文中常常为方便计记作Pmp, 因含1, 5-亚戊基的残基位是较常选用的。所有的 $\beta$ -巯基丙酸本文中常常记作Mpr。

本发明之基本的加压素拮抗剂化合物可用下列结构式阐明:



其中：

P 是 Arg、Lys、HArg、MeArg、MeLys 或 MeHArg 的 D-或 L 型异构体；

A 是 Arg、Lys、HArg、MeArg、MeLys 或 MeHArg 的 D 或 L 型异构体；

B 是 OH、NH<sub>2</sub> 或 NHAlk；

Z 是 Phe、Phe(4'-Alk)、Tyr(Alk)、Ile 或 Tyr；

X 是 Phe、Phe(4'-Alk)、Val、Nva、Leu、Ile、Pba、Nle、Cha、Abu、Met、Chg、Tyr 或 Tyr(Alk) 的 D 或 L 型异构体；

Y 是 Val、Ile、Abu、Ala、Chg、Gln、Lys、Cha、Nle、Thr、Phe、Leu 或 Gly；且

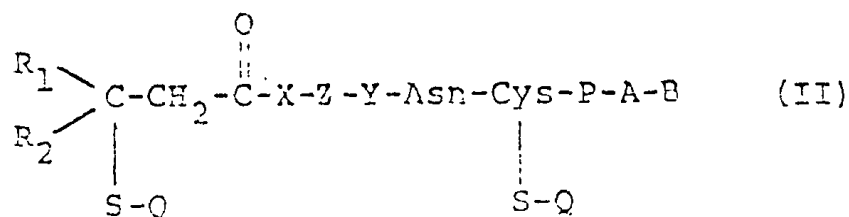
R<sub>1</sub> 和 R<sub>2</sub> 各是氢、甲基，或者一起并与他们相连结的 β 碳一道形成 4-6 元亚烷基环。

本发明化合物的一个亚群包括有其中 P 是 Arg、A 是 Arg 及 B 是 NH<sub>2</sub> 的式 I 之化合物。式 I 中 R<sub>1</sub> 和 R<sub>2</sub> 最好是环亚戊基。

本发明还包括加成盐、复合物或前体药物，如本发明之化合物的酯（当 B 是 OH），特别是无毒的、医药上可接受的酸的加成盐。酸加成盐是用标准方法在合适溶剂中用母体化合物和过量的酸制备的，所用的酸如有盐酸、氢溴酸、硫酸、磷酸、乙酸、马来酸、琥珀酸、

乙磺酸或甲磺酸。式 I 的终产物结构上具有两个强碱性基团，所以很容易制得其酸加成盐衍生物。终产物之酸形式的酯衍生物，如甲酯、乙酯或苯甲酯，是按已知的方法制备的。

本发明的终产物 ( I ) 是通过氧化下述线性七肽制得的：



其中 X、Z、Y、P、A、B、R<sub>1</sub> 和 R<sub>2</sub> 的定义如式 I 所述。巯基是在 1 和 6 位上的氨基酸残基：Q 各是氢或是可被除去的保护基，例如乙酰氨基甲基 (ACM)。结构式 ( II ) 的二硫醇基也可在当 8 位的残基是酯或酰胺衍生物的形式被氧化。例如，酰胺可以是其中 B 是 —NHAlk 或 —NH<sub>2</sub> 的结构式 ( II ) 的那些肽。酯的 B 则可为 OAlk 或 OBzl。

所说的氧化作用是用过量的碱金属铁氰化物 (如铁氰化钾或铁氰化钠) 与线性中间体 ( II ) 反应进行的。反应过程使用的是一种合适的情性溶剂——最好是与水混溶的溶剂，并于中性 PH (约 7—7.5) 条件下完成。反应在常温或较低温度下进行，直至反应基本完成。线性肽二硫醇和氧化剂的浓度最好要低，例如，在几升水溶液中有 0.01—0.1 摩尔浓度的氧化剂即可环化 1—5 克二硫醇。

亦可将氧化能力大致相等于铁氰化物的其它温和的氧化剂用于闭环反应。这些替代的方法有：例如将氧通过反应溶液数天、溶于甲醇的碘、过氧化氢或于二价铜盐存在下氧化等。当可被取代的硫醇保护基，例如 Pmp 残基上的硫醇基上的硫醇保护基被分子内取代时，亦

可发生环化作用。

一种特别有用的巯基保护基是乙酰氨基甲基 ( A C M )。用碘/乙醇可有接进行双—A C M—S 线性肽的一勺烩氧化。

当然，本领域内的技术人员会理解到，如果在结构式 II 的起始原料结构中存在有干扰反应的部位，则某些环化方法是不适用的。线性硫醇原料可在各种线性残基上暂时存在有共同的保护基。

线性肽的肽链通常是逐步组构的，由 A 单位朝着 M p a 或 P m p 单元进行。按肽合成技术中已知的和下述的方法对每个残基作适当的保护。该分步反应的顺序可方便地在 Beckman 990B 型肽合成仪或与它相当的装置中不用分离各中间体肽来进行的。有关详细程序将在下述实施例中介绍。

按已知方法对各种逐一接到树脂支持链上的氨基酸 ( A A ) 进行保护。例如，B o c 保护基可用于保持氨基基团，特别是在  $\alpha$  位上；P m p、M p a 或 C y s 残基上的巯基亦可选用取代的苄基保护；甲苯磺酰基用于保护 A r g、H A r g 或 M e A r g 残基；而 T y r 或 L y s 残基位则可选用苄氧羰基 ( Z ) 保护。最方便的保护基应是那些不容易被温和的酸处理除去的 ( 如除去 B o c 基 ) 的保护基。人们宁可使用 H F 或钠—液氨，对苄基或苄氧羰基则用催化氢化。

用过量的无水氟化氢与一种适当的清除剂 ( 如苯甲醚 ) 来处理接在树脂上的肽，即可得到高产率的结构式 II 之线性肽中间体。

亦可用任何一种标准的肽合成法，通过将 A r g 酸与 A 的被保护形式 ( 作为酸或酰胺 ) 反应，制备结构式 I 的化合物。起始原料 7 - 精氨酸如当结构式 I 中 P 是上述定义的精氨酸样残基，A 是羟基时即可按上述方法，用树脂固定相的或溶液反应顺序来制备。

本发明的最终产物具有  $V_1$  和/或  $V_2$  加压素拮抗剂活性。已知加压素在肾脏内参与抗利尿的作用机制。当这些化合物起拮抗天然抗利尿激素 (ADH) 的作用时, 机体即由于增加了肾小管末端部分的通透性而排泄水分。作用的机制是发生在位于某些肾上皮细胞之浆膜上的加压素受体上。本发明之ADH拮抗剂的最显著的药理作用在于它是一种排水利尿剂, 而不是象双氢氯噻嗪这样的排钠利尿剂。

任何患有不适当的抗利尿激素分泌综合症 (SIADH) 或患具有致水肿病因的患者, 都是本权利要求之化合物的治疗对象。本发明之化合物临床应用的适应征包括高血压、肝硬化、低血钠、充血性心力衰竭或由严重损伤或疾病导致的任何创伤状态。其中  $R_1$  和  $R_2$  形成 5 或 6 元环的结构式 1 之化合物是特别强的  $V_2$  拮抗剂。

第二类加压素受体的位置是在心血管系统本身内的血管加压位点 ( $V_1$  受体)。这些受体亦可受到本发明之化合物的拮抗。其中  $R_1$  和  $R_2$  是氢或甲基的结构式 1 之同源物是强的  $V_1$  拮抗剂。这些化合物也具有实质上的抗催产活性。

因此, 本发明之化合物特别适用于需要进行抗高血压、抗催产或利尿治疗的病人。治疗包括经胃肠道、胃肠道外、口含或吸入法服用非中毒量但为有效量的、经选择的、最好是分散于药物载体中的本发明之化合物。对于一个 70 公斤体重的病人, 活性成分的剂量单位可从每公斤体重 0.01 至 10 毫克范围中选择, 最好是每公斤体重 0.1 至 1 毫克病人或患病动物每天服用这一剂量单位 1 至 5 次。

含有结构式 I 之活性拮抗剂成分的医药组合物包括一个剂量单位的溶解式悬浮于某种标准液体载体 (如等张盐水) 中的制剂, 并分装在适于胃肠道外给药 (如静脉内、皮下或肌肉内注射) 的安瓿或多

剂量小瓶内。供吸入用的组合物可以是相似的，但通常是用有刻度的剂量给药器或吸入器给药的。经研磨的粉末组合物也可与油性制剂、凝胶、用于等张制剂的缓冲液、口含片、皮肤穿透药膏以及乳剂或气雾剂等一道使用。

对抗天然抗利尿激素的  $V_2$  拮抗剂的活性（抗ADH活性）在体外是用猪或人肾的髓质，在体内是用缺水大鼠进行测定的。F. Stassen 等人 [J. Pharmacology and Experimental Therapeutics, 223, 50-54 (1982)] 描述了加压素刺激的腺苷酸环代酶激活或加压素结合活性的体外分析法。 $V_1$  拮抗剂的活性是用大鼠胸主动脉组织和大鼠肝细胞浆膜，按 Stassen 的文章及第一届国际利尿会议 (Miami, Florida, 1983/3) 的出版物中所介绍的方法测定的。催产素的拮抗作用是按 W. Sawyer 等人 [Endocrinology, 106, 81 (1979)] 所述的方法测定的。

体内测定对抗ADH的活性是用缺水大鼠按下述方法进行。

#### 缺水大鼠筛选

试验前对雄性大鼠停食停水约18小时。每个代谢笼内分放4只动物。0小时后，对试验组动物腹腔内注射试验化合物，两组对照组（禁食或未禁食的）则只给等体积的赋形剂。每小时测定尿体积和渗透性，共测四小时。试验值按排尿毫升数（累计量）、每只大鼠排泄电解质的毫克当量数、排尿的毫克数以及以每公斤  $H_2O$  的毫渗透摩尔表示的渗透性记录。用耐受试验确定差异显著性。ED<sub>300</sub> 定义为降低尿渗透性至300毫渗透摩尔/公斤时所需的化合物剂量（微克/公斤）。

表 1

| Pmp-D-Tyr(Et)-Phe-Val-Asn-Cys-X   |          |          |                          |
|-----------------------------------|----------|----------|--------------------------|
|                                   | Kb(毫微摩尔) | Ki(毫微摩尔) | $E_{D_{300}}$ (微克/公斤)(n) |
| (A) ArgArg(NH <sub>2</sub> )      | 2.7      | 2.0      | 7.2 (2)                  |
| (B) Arg(NH <sub>2</sub> )         | 9.0      | 2.5      | 58 (3)                   |
| (C) ProArg(NH <sub>2</sub> )      | 12       | 4.5      | 9.2 (15)                 |
| (D) ArgGly(NH <sub>2</sub> )      | 17       | 2.7      | 22.7                     |
| (E) D-ArgArg(NH <sub>2</sub> )    | 2.7      | 1.9      | 14.6.                    |
| (F) Arg-D-Arg(NH <sub>2</sub> )   | 5.4      | 1.7      | -                        |
| (G) D-Arg-D-Arg(NH <sub>2</sub> ) | 5.2      | 0.88     | 13.5                     |

表1中的化合物是一系列具有同样环数的化合物。比较是在本发明的化合物(A)和三种较早报导的化合物(B、C和D)之间进行的。这些数据表明,化合物A仍是VSP样化合物去脯氨酸(des Pro)系列中报导的最强的加压素拮抗剂。在体内大鼠试验中,化合物A的活性是化合物B的8倍,是化合物D的3倍。“n”是试验次数。

下列实施例在于说明本发明之化合物的制备和应用。所有温度均用摄氏度。

### 实 施 例 1

Pmp-D-Tyr(Et)-Phe-Val-Asn-Cys-Arg-Arg(NH<sub>2</sub>)

被保护的肽中间体树脂, Pmp(4-MeBzl)-D-Tyr(Et)-Phe-Val-Asn-Cys(4-MeBzl)-Arg(Tos)-Arg(Tos)-BHA是使用固相法在二苯甲基胺树脂(BHA)上合成的。在一振荡器上,使用1.0毫摩尔的BHA树脂。所有的氨基酸的氮用叔丁氧基羰基(Boc)保护,之后,相继用DCC/HBT偶联。Pmp(4-MeBzl)用DMAP偶联。在苯甲醚(3.0毫升)存在下,用无水HF(30毫升)于0℃处理60分钟,将肽从树脂上裂解出来并同时脱去侧链的保护基,真空蒸发至干后,用无水乙醚洗残留物。用二甲基甲酰胺(100毫升)和溶于3.5升水中的40%乙酸(100毫升)(预先调至pH 4.5)提取粗肽产物。用75毫升0.01摩尔铁氰化钾(pH 7.2)氧化环合用水稀释的二巯基八肽混合物。用冰乙酸将溶液的pH调至4.5。然后通过弱酸性丙烯酸树脂(Bio-Rex70)柱。用吡啶-乙酸盐缓冲液(吡啶/冰乙酸/水=30:4:66,

V/V)洗脱。真空蒸馏除去吡啶乙酸盐。由稀乙酸中冻干残留物，得到284.19毫克部分纯化的粗品肽。

### 纯化

#### 1)逆流分配层析(CCD):

样品: 284.19毫克, 正丁醇/乙酸/水

(n-BuOH/HOAc/H<sub>2</sub>O)4:1:5; 240 次转移(transfers)

(a) 馏份116-144 112.48毫克

(b) 馏份112-115和145-166 34.42毫克

#### 2)凝胶过滤:

葡聚糖G-15, 0.2摩尔HOAc, 使用(1a)

112.48毫克得到(2a)19.28毫克; (2b)

50.08毫克和(2c)7.99毫克。

将纯度为96%的样品2a用作试验。

### 物理学数据

分子式: C<sub>52</sub>H<sub>79</sub>N<sub>15</sub>O<sub>10</sub>S<sub>2</sub>; 分子量1137.543

快原子轰击: (M+H)<sup>+</sup>1138; (M-H)1136

氨基酸分析: Asp(1.00), Cys(0.51), Val(1.07),

Tyr(0.78), Phe(0.95), Arg(2.17)。

肽含量: 93.2%

### 层析数据:

#### 1)薄层层析(TLC)

(a) 正丁醇/乙酸/水/乙酸乙酯(B/A/W/E)

(1:1:1:1), R<sub>f</sub>0.5

正丁醇/乙酸/水/吡啶(B/A/W/P)

(15 : 3 : 3 : 10), Rf 0.6

2) 高压液相层析 (HPLC), Altex Ultrasphere

ODS 柱, 5 微米, 4.5 毫米 × 25 厘米

a 0.1% TFA / b CH<sub>3</sub> CN

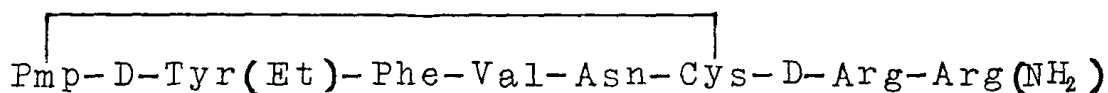
(a) 梯度 75 a : 25 b 至 45 : 55

K' = 11.46

(b) 恒溶剂 60 a / 40 b

K' = 4.85

## 实 施 例 2



按实施例 1 的方法, 在 0.1 毫 摩尔二苯甲基胺树脂上合成保护了的肽中间体树脂—Pmp(4-MeBzl)-D-Tyr(Et)-Phe-Val-Asn-Cys(4-MeBzl)-D-Arg(Tos)-Arg(Tos)-BHA。按实施例 1 的方法进行 HF 裂解并用 0.01 摩尔铁氰化钾氧化, 得到 371.09 毫克 (35.2%) 部分纯化的肽。

纯化

1) 逆流分配层析:

样品: 371 毫克, n-BuOH/HOAc/H<sub>2</sub>O, 4:1:5,

v/v, 240 次转移

(a) 馏份 143-159 105.59 毫克

(b) 馏份 124-134 和 160-170 64.3 毫克

(c) 馏份 135-142 36.22 毫克

2) 将 (1a) 的 105.95 毫克样品重新溶解于 1% 乙酸中,

并通过一微孔滤器(0.45 $\mu$ )过滤。将滤液冻干,得到51.06毫克产物。

### 3) HPLC 制备

(2)的样品25毫克, Alt ex ODS, 10毫米 $\times$ 25厘米、5微米, 流速5毫升/分, 0.1%三氟乙酸(TFA): 乙腈(CH<sub>3</sub>CN)(60:40), 恒溶剂, 229毫微米(2.0AUS), 得到15.37毫克纯度为96-97%的样品。

物理学数据:

分子式 C<sub>62</sub> H<sub>9</sub> N<sub>15</sub> O<sub>10</sub> S<sub>2</sub>      分子量 1137.543

层析数据

#### 1) TLC

a) B/A/W/E(1:1:1:1, V/V), R<sub>f</sub>0.025

B/A/W/P(15:3:3:10), R<sub>f</sub>0.438

2) HPLC, Altex Ultrasphere ODS柱, 5微米, 0.45毫米 $\times$ 25厘米。

a 0.1%TFA/b CH<sub>3</sub>CN

a 梯度 80:20至50:50, K'=10.16

b 恒溶剂55:45, K'=3.0

恒溶剂60:40, K'=5.67

### 实 施 例 3

Pmp-D-Tyr(Et)-Phe-Val-Asn-Cys-D-Arg-D-Arg(NH<sub>2</sub>)

按实施例1所述方法, 在1.0毫摩尔二苯甲基胺树脂上合成被保护的肽中间体树脂—Pmp(4-MeBzl)-D-Tyr(Et)-Phe-Val-

Asn-Cys(4-MeBzl)-D-Arg(Tos)-D-Arg(Tos)-BHA。按上述相似方法进行HF裂解和用0.01摩尔铁氰化钾氧化，得到>1.0克油状物质。

纯化：

1) 逆流分配层析：

油状样品(由Bio-Rex-70柱洗脱的粗制品)，

BuOH/HOAc/H<sub>2</sub>O, 4:1:5; 240次转移。

(a) 馏份 114-154                      858毫克

(b) 馏份 155-200                      60毫克

2) 凝胶过滤；

葡聚糖G-15, 0.2摩尔HOAc, 自1a 123毫克样品得到(2a) 74.40毫克, 2b 12.75毫克, 2c 0.61毫克。

3) HPLC制备：

2b样品50毫克, Altex ODS柱, 10毫米×25厘米, 5微米, 流速5.0毫升/分, 0.1% TFA/CH<sub>3</sub>CN(60:40), 恒溶剂, 229毫微米(2.0 AUFS), 得到11.56毫克(6.5毫克纯度98%) 5.06毫克纯度<98%)。

物理学数据：

分子式: C<sub>52</sub>H<sub>79</sub>N<sub>15</sub>O<sub>10</sub>S<sub>2</sub>, 分子量1137.543

快原子轰击: (M+H)<sup>+</sup>1138

氨基酸分析: Asp(1.00), Cys(0.49), Val(1.01), Tyr(0.30), Phe(1.04), Arg(1.76)。

肽含量: 63.4%

层析数据:

1) T L C

a) B/A/W/(1:1:1:1),  $R_f$  0.46

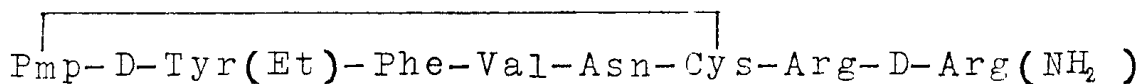
b) B/A/W/P(15:3:3:10),  $R_f$  0.393

2) HPLC, a 0.1%TFA; b CH<sub>3</sub> CN

a 梯度 80:20 至 50:50  $K' = 7.83$ ;

b 恒溶剂 55:45  $K' = 2.63$

#### 实 施 例 4



按实施例1中所述的方法在1.0毫摩尔二苯甲基胺树脂柱上合成被保护的肽中间体树脂 Pmp(4-MeBzl)-D-Tyr(Et)-Phe-Val-Asn-Cys(4-MeBzl)-Arg(Tos)-D-Arg(Tos)-BHA。被实施例1所述方法进行HF裂解并用0.01摩尔铁氰化钾氧化,得到252.46毫克肽。

纯化

1) 逆流分配层析:

样品252.46毫克(粗品), BuOH/HOAc/H<sub>2</sub>O, 4:1:5; 240次转移。

(a) 馏份 82-102 111.47毫克

(b) 馏份 76-81和103-152 65-87毫克

2) 凝胶过滤:

葡聚糖 G 15, 0.2摩尔HOAc, 由1<sub>a</sub>的114.47毫克样品得到(2<sub>a</sub>):39.85毫克, (2<sub>b</sub>):29.83毫克; 将

(2a) 部分 (纯度 98%) 用来作生物活性试验。

物理学数据:

分子式:  $C_{62}H_{79}N_{15}O_{10}S_2$ ; 分子量: 1137.543。

快原子轰击:  $(M+H)^+ 1138$ ,  $(M-H)^- 1136$ 。

氨基酸分析: Asp(1.00), Cys(0.56), Val(0.90),  
Tyr(0.55), Phe(0.93), Arg(1.87)。

肽含量: 80.4%; 85.16% ( $N_2$  分析)。

层析数据

1) TLC

a B/A/W/E (1:1:1:1),  $R_f$  0.57

b B/A/W/P (15:3:3:10),  $R_f$  0.39

2) HPLC

a 0.1 TFA / b  $CH_3CN$

1) 梯度 80 a: 20 b 到 50:50,  $K' = 9.59$

2) 恒溶剂 55 a: 45 b,  $K' = 3.05$

### 实 施 例 5

$\overbrace{\text{Pmp-D-Tyr(Et)-Phe-Val-Asn-Cys-Arg-Arg(OH)}}$

在 1.0 毫摩尔 Boc-Arg(Tos)-O-Bzl-树脂 (购自 Peninsula 实验室) 上合成所用的被保护的肽中间体—Pmp(4-MeBzl)-D-Tyr(Et)-Phe-Val-Asn-Cys(4-MeBzl)-Arg(Tos)-Arg(Tos)-OCH<sub>2</sub>C<sub>6</sub>H<sub>4</sub> 树脂。按上述方法进行 HF 裂解并用 0.01 摩尔铁氰化物氧化之。通过反相硅胶 C-18 柱纯化该稀释溶液, 用含 0.1% TFA 的 50%  $CH_3CN$  水溶液洗脱, 得到

549.62毫克(46.7%)肽。

纯化

1) 分配柱层析, G25葡聚糖, 样品120毫克,

nBuOH/HOAc/H<sub>2</sub>O, 4:1:5, V/V。

a 56.0毫克

b 20.68毫克

2) HPLC

1 a 25毫克, Altex ODS, 10毫米×25厘米, 5微米, 流速500毫升/分, 0.1% TFA: CH<sub>3</sub>CN(58:42), 恒溶剂, 229毫微米(2.0 AUFS), 得到10.65毫克(6.16毫克-96.5%; 4.49毫克-<96%)。

物理学数据

分子式: C<sub>62</sub>H<sub>78</sub>N<sub>4</sub>O<sub>11</sub>S<sub>2</sub>; 分子量1138.527;

FAB: (M+H)<sup>+</sup>1139; (M-H)<sup>-</sup>1137;

氨基酸分析: Asp(1.07); Cys(0.53); Val(0.97); Tyr(0.3); Phe(0.92); Arg(1.71);

肽含量: 79.8%。

层析数据

1) TLC

a B/A/W/E (1:1:1:1), R<sub>f</sub>0.53

b B/A/W/P (15:3:3:10), R<sub>f</sub>0.25

2) HPLC

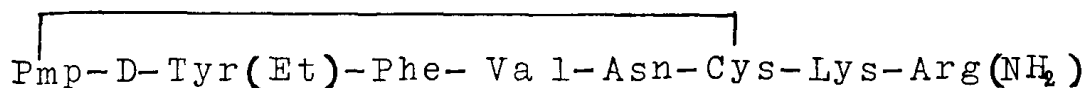
a 0.1%TFA/b CH<sub>3</sub>CN;

1. 梯度 80 a:20 b 至50:50; K'<sub>av</sub>=8.0;

2. 恒溶剂 58 a : 42 b,

$K' = 4.27$ .

### 实 施 例 6



按上述方法在 1.0 毫摩尔二苯甲基胺树脂上合成被保护的肽中间树脂 Pmp(4-MeBzl)-D-Tyr(Et)-Phe-Val-Asn-Cys(4-MeBzl)-Lys(CIZ)-Arg(Tos)-BHA。按所述方法完成 HF 裂解并用 0.1 摩尔铁氰化物氧化, 得到 710.17 毫克部分纯化的肽。

#### 纯化

1) 逆流分配层析; 样品 710.17 毫克; ( $B/A/W$ , 4 : 1 : 5,  $V/V$ ), 250 次转移。

|    |               |           |
|----|---------------|-----------|
| a) | 106-130       | 327.19 毫克 |
| b) | 131-156       | 100.1 毫克  |
| c) | 64-100        | 61.95 毫克  |
| d) | 50-63+157-180 | 41.38 毫克  |

#### 2) 凝胶过滤:

葡聚糖 G15, 0.2 摩尔 HOAc, 自 1a 样品 100 毫克得

2a) 70.21 毫克

2b) 22.98 毫克;

组份 2 a 纯度 98-99%。

#### 物理数据

分子式:  $C_{52}H_{79}N_7O_{10}S_2$ ; 分子量: 1109.53;

FAB:  $(M+H)^+ 1110$ ,  $(M-H)^- 1108$ ;

层析数据:

1. TLC: a) B/A/W/E, 1:1:1:1(V/V),  $R_f$  0.5;

b) B/A/W/P, 15:3:3:10, (V/V),

$R_f$  0.19;

c) B/A/W, 4:1:5, 上部(V/V),

$R_f$  0.27;

2. HPLC:

1) 梯度 80:20 至 50:50—0.1% TFA/CH<sub>3</sub> CN,

$K'=11.32$

2) 恒溶剂 60:40—0.1% TFA/CH<sub>3</sub> CN,  $K'=6.6$

### 实 施 例 7

$\overline{\text{Pmp-D-Tyr(Et)-Phe-Val-Asn-Cys-Arg-Lys(NH}_2\text{)}}$

在 1.0 毫摩二苯甲基胺树脂上合成被保护的肽中间体树脂 Pmp  
(4-MeBzl)-D-Tyr(Et)-Phe-Val-Asn-Cys(4-MeBzl)-  
Arg(Tos)-Lys(CIZ)-BHA。用前述相似的方法进行 HF 裂解并  
用 0.01 摩尔铁氰化物氧化之, 得到 702.5 毫克肽。

纯化:

1) CCD: 样品 702.5 毫克 (B/A/W, 4:1:5

V/V), 240 次转移

a) 101-144 468.82 毫克;

b) 96-100+145-160 36.19 毫克;

c) 55-95 55.19 毫克;

2) 凝胶过滤:

葡聚糖 G 15, 0.2 摩尔 H OAc, 1 a 的样品 100 毫克,

2 a ) 67.27 毫克;

2 b ) 30.2 毫克;

2 a 的纯度为 96 - 97 %。

层析数据

1. T L C

a B / A / W / E, 1 : 1 : 1 : 1 V / V, R<sub>f</sub> 0.54;

b B / W / A / P, 15 : 3 : 3 : 10 V / V, R<sub>f</sub> 0.42;

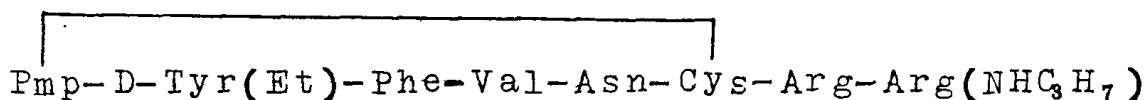
2. H P L C

1) 梯度 0.1 % TFA / CH<sub>3</sub> CN 80 : 20 至 50 : 50,

K' = 12.11;

2) 恒溶剂 0.1 % TFA / CH<sub>3</sub> CN 55 : 45, K' = 3.69.

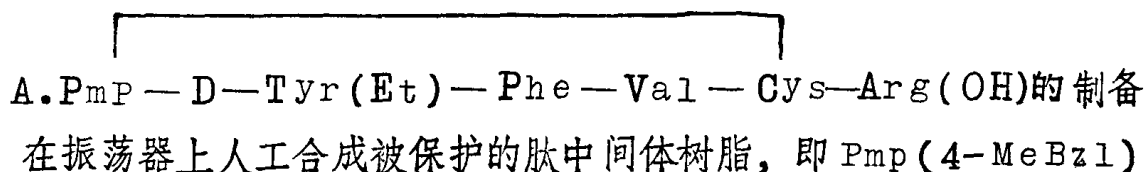
### 实 施 例 8



将按实施例 5 制备的 0.1 毫摩尔的酸性末端肽和溶于 20 毫升二甲基甲酰胺的 0.1 毫摩尔正丙胺的混合物, 用 23 毫克 (0.11 毫摩尔) DCC 和 14 毫克 (0.11 毫摩尔) HBT 于室温下反应四小时。蒸发除去挥发物得到残留产物, 按上述方法纯化之。

### 实 施 例 9

用片段组合法制备



-D-Tyr(Et)-Phe-Val-Asn-Cys(4-MeBzl)-Arg(Tos)-OCH<sub>2</sub>-C<sub>6</sub>H<sub>4</sub> 树脂。由市场上购得的 Boc-Arg(Tos)-OCH<sub>2</sub>-C<sub>6</sub>H<sub>4</sub> 树脂，每克树脂取代容量为 0.35 毫克 当量。用 1:1 TFA:CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub> 脱去 BOC 保护基，并用 DCC/HBT 活化和催化与继后的氨基酸偶联，分步合成被保护的肽—树脂中间体 1.0 毫摩尔，得到 3.15 克 Pmp(4-MeBzl)-D-Tyr(Et)-Phe-Val-Asn-Cys(4-MeBzl)-Arg(Tos)-OCH<sub>2</sub>-C<sub>6</sub>H<sub>4</sub>-树脂。用 30 毫升 HF 在 3.0 毫升苯甲醚存在下于 0° 处理 60 分钟，使侧链保护基脱保护，并由此从树脂上裂解得到标题肽，真空蒸发至干后，用无水乙醚洗所得残留物。用脱气的二甲基甲酰胺、1 当量氢氧化铵、之后用溶于 3.5 升经除气的水中 40% 乙酸萃取肽。用 60 毫升 0.01 摩尔铁氰化钾 (pH 7.2) 氧化环合用水稀释的二巯基七肽，直至颜色持续 30 分钟。氧化反应完成后，用冰醋酸将 pH 调至 4.5。过滤该溶液，并将滤液通过 C-18 硅胶层析柱进行闪式柱层析。用 1:1 0.1%TFA/CH<sub>3</sub>CN 洗脱肽，得到分成三部分的 245 毫克 (25%) 中间体肽，纯度约 90%。

纯化：

将 22.0 毫克最纯部分的样品进行高压液相层析；Altex ODS，10 毫米×25 厘米，5 微米，流速 5 毫升/分，0.1% TFA/CH<sub>3</sub>CN(60:40) 恒溶剂，220 毫微米 (0.5 AVIS)，10.10 毫克。

物理学数据：

分子式：C<sub>46</sub>H<sub>66</sub>N<sub>10</sub>O<sub>10</sub>S<sub>2</sub>；分子量 982.5；

快原子轰击：(M+H)<sup>+</sup> 983，(M-H)<sup>-</sup> 981；

氨基酸分析: Asp(1.00), Cys(0.27), Val(0.95), Tyr  
(0.50), Phe(0.99), Arg(1.07);

肽含量: 74.93%;

层析数据:

1. TLC

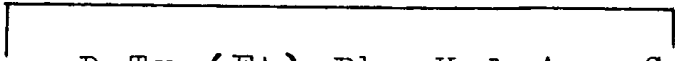
a B/A/W/E (1:1:1:1),  $R_f=0.6$

b B/A/W (4:1:5 上限),  $R_f=0.3$

2. HPLC

a) 梯度  $K' = 14.6$ ;

b) 恒溶剂  $K' = 5.97$ .

B.  Pmp-D-Tyr(Et)-Phe-Val-Asn-Cys(OH) 的制备

将4.87克(15毫摩尔)的BocCys(4-MeBzl)溶解于30毫升乙醇中并加入10毫升水。之后用碳酸氢钠水溶液将pH调至7.1。

浓缩该混合物并将残留物从50毫升甲苯中蒸发三次。于高真空和常温下,将该残留物放置过夜。

将该盐溶解于35毫升二甲基甲酰胺中并加入5克商品氯甲基苯基树脂。将混合物于氩气下于50℃搅拌过夜。

过滤混合物,并用二甲基甲酰胺(5×60毫升)、DMF/水,9:1(5×60毫升)、DMF(5×60毫升)和乙醇(6×60毫升)洗涤树脂。之后于高真空和常温下干燥过两夜。

按上述方法,在Backman合成仪中在0.5毫摩尔BocCys(4-MeBzl)树脂上,用Asn、Val、Phe、D-Tyr(Et)的Boc

衍生物和 S - ( 4 - MeBzl ) Pmp 衍生物组构肽链。除去树脂，洗涤并于真空中干燥之。

用 1 . 5 毫升苯甲醚处理 0 . 8 6 克肽树脂，并于 0 °C 在 1 5 毫升氟化氢中搅拌 6 0 分钟。之后，于 0 °C 减压除去氟化氢。

用 3 × 2 5 毫升乙醚洗残留物并将醚层弃去用二甲基甲酰胺和 3 0 % 乙酸 ( 4 × 1 0 毫升 ) 洗脱肽。将该溶液加到 2 升经脱气的水中并用氢氧化铵将其 p H 调至 7 . 0 。缓慢加入 0 . 0 1 铁氰化钾溶液 ( 3 5 毫升 ) 。

之后用乙酸将 p H 调到 4 . 5 并将 2 5 克 ( 湿重 ) 弱碱性离子交换树脂 ( ag-3×4 IR-4S ) 与混合物搅拌 3 0 分钟。过滤混悬液并用 2 × 4 0 0 毫升 3 0 % 乙酸洗涤树脂。

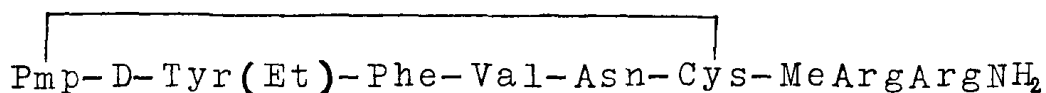
将滤液通过 - C<sub>18</sub> 闪式柱 ( 7 × 1 6 毫米 ) 。之后用水 ( 3 × 4 0 0 毫升 ) 洗柱并用乙腈 / 水 / T F A ( 5 0 : 5 0 : 0 . 2 5 ) 洗脱肽。合并第 3 0 - 3 6 组份，浓缩并冻干，得到 8 0 毫克标题的游离 Cys(OH) 环状中间体。

在甘油中作 F A B 质谱分析：8 2 7 ( M + H )<sup>+</sup>, 8 2 5 ( M - H )<sup>-</sup>。

### C . 缩合

以上述 B 中所得到的 6 - Cys 酸 ( 2 0 毫克 ) ，在 D C C 、 HBT 和一当量的溶于二甲基甲酰胺之三乙胺存在下，与一当量 Arg-Arg (NH<sub>2</sub>) · 3HCl 反应，生成实施例 1 的化合物。相似地，以由 A 得到的 7 - Arg 酸与 Arg(2HCl)(OMe) 反应，在经酯的温和水解后，生成实施例 5 的酸性母体化合物。如果需要，亦可将该化合物离析成钾盐。用 D C C / H B T 使一当量 Arg(NH<sub>2</sub>) 2HCl 与上述 A 中得到的 7 - Arg 酸偶联即得到所要的产物。

## 实 施 例 10



用固相法在二苯甲基胺树脂上制备被保护的肽中间体树脂，即 Pmp(4-MeBzl)-D-Tyr(Et)-Phe-Val-Asn-Cys(4-MeBzl)-N-MeArg(Tos)-Arg(Tos)-BHA。在振荡器上使用 0.5 毫摩尔 BHA 树脂，所有氨基酸的氮上均用叔丁氧羰基保护，然后用 DCC/HBT 逐一偶联。制备 BOC-N-CH<sub>3</sub> Arg(Tos)。用 DMA P 偶联 Pmp(4-MeBzl)。使用无水 HF (20 毫升) 和苯甲醚 (2 毫升) 于 0℃ 处理 60 分钟，使侧链保护基脱保护并由树脂上裂解出肽。真空蒸发至干后，用无水乙醚洗残留物。用脱气的 50% 乙酸 (100 毫升) 和溶于 2 升除气水的脱气的 DMF (60 毫升) 在 pH 4.5 时萃取粗制肽。用 50 毫升 0.01 摩尔铁氰化物在 pH 7.2 时氧化环合用水稀释的二巯基八肽。用冰乙酸将溶液的 pH 调到 4.5。经过弱酸性离子交换柱 (Bio-Rex70) 纯化之，得到 375 毫克部分纯化的肽。

纯化：

CCD，375 毫克在 B/A/W (4:1:5 V/V) 中，

240 次转移得到

a 122-146, 106.42 毫克；

b 147-156+110-121, 131.86 毫克；

c 157-200+100-109, 32.80 毫克；

将纯度为 97-98% 的样品 a 用来进行生物学活性评价。

层析数据：

## 1. T L C

a B/A/W/E, 1:1:1:1, V/V,  $R_f=0.68$ ;

b B/A/W, 4:1:5, V/V, 上部  $R_f=0.39$ ;

## 2. H P L C

a 梯度: 0.1%TFA/CH<sub>3</sub>CN 为 80:20 至 50:50,

$$K' = 11.93;$$

b 恒溶剂: 0.1%TFA/CH<sub>3</sub>CN 为 55:45,  $K'=4.29$ .

### 实 施 例 11

以化学计算量的 Boc-L-Tyr(Et) 取代实施例 1 之合成肽的 2 位残基上的 Boc-D-Tyr(Et), 得到环化的 Pmp-L-Tyr(Et)-Phe-Val-Asn-Cys-Arg-Arg(NH<sub>2</sub>).

以 Boc-D-Ile 取代实施例 1 中 2 位残基上的 Boc-D-Tyr(Et), 得到 Pmp-D-Ile-phe-Val-Asn-Cys-Arg-Arg(NH<sub>2</sub>).

以 Boc-L-Phe(4-Me) 取代实施例 1 合成系列反应中 3 位残基上的氨基酸, 以 Boc-Nle 取代 4 位残基上的氨基酸, 得到 Pmp-D-Tyr(Et)-Phe-(4-Me)-Nle-Asn-Cys-Arg-Arg(NH<sub>2</sub>).

以 Boc-Cha 取代 4 位残基, 得到 Pmp-D-Tyr(Et)-Phe-Cha-Asn-Cys-Arg-Arg(NH<sub>2</sub>).

用 HBT 取代 4 位上未保护的 Gln, 得到 Pmp-D-Tyr(Et)-Phe-Gln-Asn-Cys-Arg-Arg(NH<sub>2</sub>).

分别以 Boc-D-Pba 和 Boc-Chg 取代实施例 1 中详述之反应系列的 2 位残基和 4 位残基, 得到 Pmp-D-Pba-Phe-Chg-Asn-Cys-Arg-Arg(NH<sub>2</sub>).

## 实 施 例 12

在上述合成序列中取代适当保护的环残基，分别得到的八肽和其盐如下：

- a、〔1-脱氨基青霉胺-2(邻-乙基)-D-酪氨酸-3-(4'-甲基苯丙氨酸)-7-精氨酸-8-精氨酸-9-脱甘氨酸〕-加压素乙酸盐；
- b、〔1-( $\beta$ -巯基丙酸)-2-(邻-乙基)-D-酪氨酸-4-( $\alpha$ -氨基丁酸)-7-精氨酸-8-精氨酸-9-脱甘氨酸〕-加压素
- c、〔1-( $\beta$ -巯基丙酸)-2-缬氨酸-4-环己基甘氨酸-7-精氨酸-8-精氨酸-9-脱甘氨酸〕-加压素盐酸盐；
- d、〔1-( $\beta$ -巯基丙酸)-4-谷氨酰胺-7-精氨酸-8-高精氨酸-9-脱甘氨酸〕-加压素；
- e、〔1-脱氨基青霉胺-2-苯丙氨酸-7-高精氨酸-8-高精氨酸-9-脱甘氨酸〕-加压素；
- f、〔1-脱氨基青霉胺-2-D- $\alpha$ -氨基苯丁酸-4-异亮氨酸-7-L-精氨酸-8-L-精氨酸-9-脱甘氨酰胺〕-加压素；
- g、〔1-脱氨基青霉胺-2-色氨酸-4-谷氨酰胺-7-D-精氨酸-8-D-精氨酸-9-脱甘氨酸〕-加压素；
- h、〔1-( $\beta$ -巯基- $\beta$ ,  $\beta$ -环亚戊基丙酸)-2-L-酪氨酸-3-(4'-甲基苯丙氨酸)-7-精氨酸-8-精氨酸-9-脱甘氨酸〕-加压素；

i, [ 1 - (  $\beta$  - 巯基丙酸 ) - 2 - ( 邻 - 乙基 ) - D - 酪氨酸 - 3 - 异亮氨酸 - 4 - 苏氨酸 - 7 - 精氨酸 - 8 - 精氨酸 - 9 - 脱甘氨酸 ] - 加压素乙酸盐。

### 实 施 例 1 3

胃肠道外剂量单位组合物:

将含 0.1 0 毫克实施例 1 的肽的灭菌干粉制剂用作胃肠道外注射用, 其制备方法如下: 将 0.5 毫克肽溶解于 2 0 毫克甘露糖醇的 1 毫升水溶液中。于无菌条件下过滤溶液, 装入 2 毫升安瓿并冻干。重新配制的溶液可供需要用加压素拮抗剂治疗的病人使用, 按需要可每天注射 1—5 次, 或者用相等量供连续静脉滴注。

鼻吸入剂量单位组合物:

将 2.5 毫克经过精细研磨的本发明的肽 ( 如实施例 2 的产物 ) 悬浮于 7.5 毫克苯甲醇与 1.395 克悬浮剂 ( 如一种半合成的高级脂肪酸甘油酯的商品混合物 ) 的混合物中。将悬浮液装入一 1 0 毫升气雾剂容器内, 封以计量阀并配有气雾发射剂。容器内含有 1 0 0 个单位剂量, 可以每天按需要对病人鼻内给药 1—6 次。

勘 误 表

| 文件名称  | 页  | 行    | 补 正 前         | 补 正 后                                    |
|-------|----|------|---------------|------------------------------------------|
| 说 明 书 | 5  | 3    | 可有接……氧化       | 可直接……环化                                  |
|       | 7  | 1 1  | 1983/3        | 1984/3                                   |
|       |    | 1 3  | EndocVinology | Endocrinology                            |
|       | 11 | 1 2  | 0.1           | 1.0                                      |
|       |    | 倒 1  | 105.95        | 105.59                                   |
|       | 12 | 9-10 |               | 快原子轰击: $(M+H)^+$<br>1138, $(M-H)^-$ 1136 |
|       |    |      |               | 氨基酸分析: ASP(1.00),<br>CYS(0.5), Val(1.05) |
|       |    |      |               | , TYR(0.44), phe<br>(1.10), Arg(1.94)    |
|       |    |      |               | 肽含量: 59.91<br>(N <sub>2</sub> 分析)        |
|       | 14 | 3    | B/A/W/        | B/A/W/E                                  |
|       | 15 | 1 4  | 50. 55        | 50. 50                                   |
|       | 16 | 9    | 500           | 5.0                                      |
|       | 17 | 8    | 0.1           | 0.01                                     |
|       |    | 1 2  | 250           | 240                                      |
|       | 19 | 倒 2  | Val-CYS       | Val-Asn-CYS                              |
|       | 21 | 倒 6  | 50°C          | 53°C                                     |
| 权利要求书 | 1  | 6, 8 | MeArg         | MeHArg                                   |