

(19)



SUOMI - FINLAND

(FI)

PATENTTI- JA REKISTERIHALLITUS

PATENT- OCH REGISTERSTYRELSEN

FINNISH PATENT AND REGISTRATION OFFICE

(10) **FI 813198 A7**

(12) **JULKISEKSI TULLUT PATENTTIHAKEMUS
PATENTANSÖKAN SOM BLIVIT OFFENTLIG
PATENT APPLICATION MADE AVAILABLE TO THE
PUBLIC**

(21) Patentihakemus - Patentansökan - Patent application 813198

(51) Kansainvälinen patenttiluokitus - Internationell patentklassifikation -
International patent classification
C07C

(22) Tekemispäivä - Ingivningsdag - Filing date 14.10.1981

(23) Saapumispäivä - Ankomstdag - Reception date 14.10.1981

(41) Tullut julkiseksi - Blivit offentlig - Available to the public 21.04.1982

(43) Julkaisupäivä - Publiceringsdag - Publication date 12.06.2019

(32) (33) (31) Etuoikeus - Prioritet - Priority

20.10.1980 US 198,900

(71) Hakija - Sökande - Applicant

1 • Eli Lilly and Company, 307 East McCarty Street, Indianapolis, Ind. 46206, AMERIKAN YHDYSVALLAT, (US)

(72) Keksijä - Uppfinnare - Inventor

1 • Gesellchen, Paul David, TOWN UNKNOWN, AMERIKAN YHDYSVALLAT, (US)

2 • Shuman, Robert Theodore, USA, AMERIKAN YHDYSVALLAT, (US)

(74) Asiamies - Ombud - Agent

Kolster Oy Ab, Salmisaarenaukio 1, 00180 Helsinki

(54) Keksinnön nimitys - Uppfinningens benämning - Title of the invention

Menetelmä farmakologisesti aktiivisten peptidien valmistamiseksi.

Förfarande för framställning av farmakologiskt aktiva peptider.

Menetelmä farmakologisesti aktiivisten peptidien valmistamiseksi

Tämä keksintö koskee menetelmää uusien, analgeettista aktiivisuutta omaavien yhdisteiden joukon valmistamiseksi.

Viime aikoina on imettäväisten aivoista tai aivoselkäydinnesteestä (csf) uutettu endogeenisiä aineita, joilla on morfiinimaiset ominaisuudet. Hughes et al., Nature, 258, 577 (1975) ovat identifioineet nämä enkefaliiniksi kutsutut aineet pentapeptideiksi, joissa on seuraavat ketjut:

H-Tyr-Gly-Gly-Phe-Met-OH
H-Tyr-Gly-Gly-Phe-Leu-OH

Näitä yhdisteitä kutsutaan vastaavasti metioniini-enkefaliiniksi ja leusiinienkefaliiniksi.

Vaikkakin metioniini- ja leusiinienkefaliinin on osoitettu omaavan analgeettista aktiivisuutta hiirissä aivokammioon tapahtuvassa annossa /Buscer et al., Nature, 261, 423 (1976)/, niiltä käytännöllisesti katsoen puuttuu käyttökelpoinen analgeettinen aktiivisuus parenteraalissa annossa.

Sen vuoksi on enkefaliinien löytämisestä saakka uhrattu paljon työtä enkefaliinien analogien valmistamiseksi siinä toivossa, että löydettäisiin yhdisteitä, joilla on suurempi aktiivisuus ja jotka ovat käyttökelpoisia käytännössä siksi, että ne ovat elimistön saatavissa parenteraalissa tai oraalissa annossa.

Dutta et al., Life Sciences 21, ss. 559-562 (1977) tekevät selkoa tietyistä rakenteen modifikaatioista, joilla he esittävät olevan tehoa lisäävä vaikutus. He esittävät, että tehoa voidaan lisätä millä tahansa seuraavista toimenpiteistä tai kaikilla niillä:

a) substituomalla 2-aseman Gly tietyillä D- tai α -atsa-aminohapoilla,

b) muuttamalla päätekarboksyyli metyyliesteriksi tai amidiksi,

5 c) modifioimalla 4-aseman Phe α -atsasubstitutiolla, N-metyloinnilla tai aromaattisen renkaan hydrauksella.

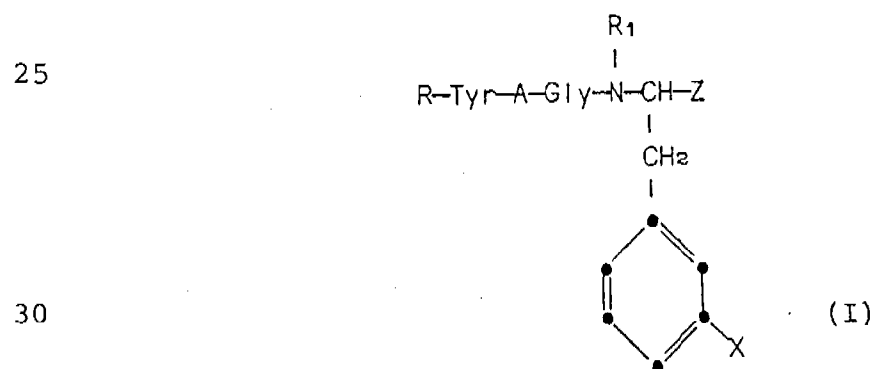
Nyt on keksitty joukko enkefaliinianalogeja, joilla on korkea analgeettinen aktiivisuus yhdistyneenä vähäiseen taipumukseen aiheuttaa fyysistä riippuvuutta. Nämä analogit ovat tetrapeptidejä, joissa on rengassubstituoitu fenyylialaniini. Ne ovat sangen spesifisiä sekä substituentin laadun että sen sijainnin suhteen. Erityisesti ne ovat tetrapeptidejä, joissa on metasubstituoitu L-fenyylialaniini peptidin 4-asemassa.

15 Kirjallisuudesta tunnetaan muita rengassubstituoituja enkefaliinin 4-fenyylialaninyylianalogueja, ne eivät kuitenkaan ole enkefaliinin meta-substituoituja 4-fenyylialaninyylianalogueja. A.R. Day et al., Res. Comm. in Chem. Path. and Pharmacol. 14 (4). 597-603 (1976) raportoivat yhdisteestä H-Tyr-Gly-Gly-pClPhe-Nle-OH. R.J. Miller et al., Vitamins and Hormones 36, 297-382, Academic Press (1978) mainitsevat yhdisteet H-Tyr-D-Ala-Gly-pDlPhe-D-Leu-OH, H-Tyr-D-Ala-Gly-pClPhe-D-Leu-OMe ja H-Tyr-D-Ala-Gly-pClPhe-D-Leu-NH₂. Pless et al., "Opioid Activity of Enkephalin Analogues",
20 esitetty 15:nnessä European Peptide Symposiumissa, syyskuun 4-9. 1978, Gdansk, Puola, esittävät yhdisteen H-Tyr-D-Ala-Gly-pClPhe-Met(O)-oli. D.H. Coy et al., BBRC 83 (3), 977-983 (1978), mainitsevat yhdisteen H-Tyr-D-Ala-Gly-F₅Phe-Met-NH₂. Etelä-afrikkalaisessa patentissa 77/0579 kuvataan yleisesti enkefaliinille analogisia pentapeptidejä, joiden fenyylialaniiniryhmän rengas on eri tavoin substituoitu. Belgialaisessa patentissa 886 679 kuvataan ja sen vaatimusten kohteena ovat enkefaliinin tetrapeptidianalogit, jotka sisältävät p-fluorisubstituoidun fenyylialaniinin. Belgialaisen patentti 870819, etelä-afrikkalainen patentti 77/4479
35

ja julkaisu McGregor et al., Life Sciences 23, 1371-1378 (1978) kohdistuvat kaikki enkefaliinin tetrapeptidiana-
 logeihin, mutta missään niistä ei kuvata 4-asemassa ole-
 vaa rengassubstituoitua fenyylialaniinia. R.Millerin
 5 esityksessä "Structural Pharmacology and Neurobiology
 of the Enkephalins and Endorphins", 176th American Chemical
 Society National Meeting, Miami Beach, Florida, syyskuun
 11-14. 1978, tuotiin esiin tiettyjä enkefaliinianalogeja,
 joiden 4-asemassa on p-substituoitu fenyylialaniini, var-
 10 sinkin p-kloori- ja p-bromisubstituoituja yhdisteitä. Melt-
 zer et al., Life Sciences 22, 1931-1938 (1978) tuovat esiin
 useita enkefaliinianalogeja, varsinkin kaksi p-kloorisubsti-
 tuoitua ja yhden p-metoksisubstituoidun fenyylialaniiniana-
 login.

15 Mikään yllä esitetyistä ei kuvaa seuraavassa annetun
 kaavan I mukaisia yhdisteitä, ja on havaittu, että sekä L-
 fenyylialaniinin substituentin laadulla että sen sijainnilla
 on tärkeä merkitys sekä enkefaliinianalogin analgeettisen
 aktiivisuuden tasoon että analogin taipumukseen aiheuttaa
 20 fyysistä riippuvuutta.

Siten tämä keksintö koskee menetelmää, jolla valmis-
 tetaan joukko yhdisteitä, joilla on kaava:



sekä niiden farmaseuttisesti hyväksyttäviä myrkyttömiä hap-
 poadditiosuoloja, jolloin kaavassa (I)

35 R on vety, metyyli, etyyli, syklopropyyli- tai allyyli,

A on radikaali D-aminohaposta, joka on jokin hapoista Ala, Abu, Nva, Val, Nle, Leu, Ile, Gly(Al), Gly(Cp), Met, Cys(Me), Met(O), Cys(Me)(O), Ser, Thr ja Hse,

R_1 on primaarinen C_1 - C_3 -alkyyli, syklopropyyylimetyyli, allyyli, etyyli, etyyli, 2-fluorietyyli tai propargyli,

X on bromi, jodi, kloori, metyyli, trifluorimetyyli tai metoksi ja

Z on $-CH_2OR_2$,

10 $\begin{array}{c} O \qquad O \\ || \qquad || \\ -C-NH_2 \text{ tai } -C-OR_3 \end{array}$ joissa R_2 on vety, asetyyli tai asetoksimetyyli ja R_3 on C_1 - C_3 -alkyyli; jolle menetelmälle on ominaista, että lohkaistaan suojaryhmät vastaavasti suojatusta kaavan I mukaisesta yhdisteestä suojaryhmiä poistavalla reagenssilla.

15 Suojatussa peptidissä olevat suojaryhmät ovat tavanomaisia suojaryhmiä, joita käytetään peptidisynteesissä suojaamaan aminohappoja liittämismenetelmän aikana ja niihin sisältyy myös hartsikantaja, jota käytetään kiinteäfaasi synteesitekniikassa.

Tämän keksinnön mukaiset farmaseuttiset koostumukset sisältävät täyteainetta ja aktiivisena aineosana yllä esitetyn kaavan I mukaista yhdistettä.

25 Keksintö käsittää myös näiden kaavan I mukaisten yhdisteiden farmaseuttisesti hyväksyttävät myrkyttömät happoadditiosuolat. Farmaseuttisesti hyväksyttäviin myrkyttömiin happoadditiosuoloihin kuuluvat orgaaniset ja epäorgaaniset happoadditiosuolat, esimerkiksi suolat, jotka on valmistettu hapoista kuten suolahappo, rikkihappo, sulfonihappo, viinihappo, fumaarihappo, bromivetyhappo, glukolihappo, sitruunahappo, maleiinihappo, fosforihappo, meripihkahappo, etikkahappo, typpihappo, bentsoehappo, askorbiinihappo, p-tolueenisulfonihappo, bentseenisulfonihappo, naftaleenisulfonihappo, propionihappo ynnä muut. Ensisijaisia happoadditiosuoloja ovat suolahaposta, etikkahaposta tai meripihkahaposta valmistetut suolat. Kaikki yllä mainitut suolat valmistetaan tavanomaisin menetelmin.

Kuten huomataan kaavassa I esiintyvien eri substituenttien määritelmästä, ovat tällä rakenteella määritellyt yhdisteet tetrapeptidejä, joiden C-pääteryhmä on primaarinen alkoholi tai sen eetterijohdannainen, primaarinen amidi tai alempialkyyliesteri.

Kaavan I mukaisten yhdisteiden stereokonfiguraatio on niiden olennainen ominaispiirre. Mukavuussyistä kaavan I mukaisten tetrapeptidien aminohapporyhmät numeroidaan jaksottain alkaen pääteaminoryhmästä. Aminohapporyhmien kiraalisuus luettuna asemasta 1 asemaan 4 on L, D, puuttuu ja L. Aseman 3 ryhmä on glysiiniryhmä ja siten tässä ryhmässä ei esiinny kiraalisuutta.

Tässä käytetty ryhmä R_1 on määriteltä tarkoitamaan ryhmää "primaarinen C_1 - C_3 -alkyyli". Ilmaisulla "primaarinen C_1 - C_3 -alkyyli" tarkoitetaan metyyliä, etyyliä ja n-propyyliä.

Tässä käytetty ryhmä R_3 on määriteltä tarkoitamaan ryhmää " C_1 - C_3 -alkyyli". Ilmaisulla " C_1 - C_3 -alkyyli" tarkoitetaan metyyliä, etyyliä, n-propyyliä ja isopropyyliä.

Kaavan I mukaisten tetrapeptidien eri asemissa olevien ryhmien suhteen ovat huomionarvoisia seuraavat seikat:

A) Asema 1

Tämä asema edustaa peptidin aminopääteryhmää. Tässä oleva ryhmä on peräisin L-tyrosiinista. Ryhmä voi olla N-atomissa substituomaton, missä tapauksessa R on vety. Edelleen ryhmä voi olla N-monosubstituoitu, josta seuraavat ryhmät N-metyyli, N-etyyli, N-syklopropyyli-metyyli tai N-allyyli. Yhdisteissä, joilla on poikkeuksellisen korkeat analgeettiset aktiivisuudet parenteraalissa annossa, asemassa 1 oleva tyrosyyli-ryhmä on ensisijaisesti N-substituomaton. Yhdisteissä, joilla on poikkeuksellisen korkeat analgeettiset aktiivisuudet oraalissa annossa, on tyrosyyli-ryhmä ensisijaisesti N-substituoitu. Siinä tapauksessa, että tyrosyyli on N-substituoitu, on N-substituentti edullisesti metyyli.

B) Asema 2

Aminohapporyhmän (A), joka on kaavan I mukaisten peptidien toisessa asemassa, täytyy olla D-stereoisomeeri ja

se on mikä tahansa lukuisista α -aminohapporyhmistä riippuen α -hiiliatomin substituentista (R_4). Näihin kuuluvat happoryhmät, jotka ovat peräisin seuraavista hapoista: D-alaniini (Ala) (R_4 on metyyli), D- α -aminovoihappo (Abu) (R_4 on etyyli), D-norvaliini (Nva) (R_4 on n-propyyli), D-valiini (Val) (R_4 on isopropyyli), D-norleusiini (Nle) (R_4 on n-butyli), D-leusiini (Leu) (R_4 on isobutyli), D-isoleusiini (Ile) (R_4 on sek.-butyyli), D-allyylylglysiini /Gly(Al)/ (R_4 on allyyli), D-syklopropyylylimetyylylglysiini /Gly(Cp)/ (R_4 on syklopropyylylimetyyli), D-metioniini (Met) (R_4 on 2-metyylitioetyyli), D-(S-metyyli)kysteiini /Cys(Me)/ (R_4 on metyylytioniometyyli), D-metioniinisulfoksidi /Met(O)/ (R_4 on metyylylsulfinyylietyyli), D-(S-metyyli)kysteiinisulfoksidi /Cys(Me)(O)/ (R_4 on metyylylsulfinyylylimetyyli), D-seriini (Ser) (R_4 on hydroksimetyyli), D-treoniini (Thr) (R_4 on 1-hydroksietyyli) ja D-homoseriini (Hse) (R_4 on 2-hydroksietyyli). Edullisesti A on Ala, Abu, Nva, Val, Nle, Leu, Ile, Ser, Thr tai Hse ja ensi sijaisesti Ala, Abu, Nva, Val, Nle, Leu tai Ile. Edullisimmin A on Ala.

20 C) Asema 3

Tässä asemassa oleva aminohapporyhmä on peräisin glysiinistä (Gly).

D) Asema 4

Tässä asemassa oleva aminohapporyhmä on peräisin meta-substituoidusta L-fenyylialaniinista /Phe(X)/. Ryhmän aminotyyppi on substituoitu (R_1) metyyllillä, etyyllillä, n-propyyllillä, syklopropyylylimetyyllillä, allyyllillä, etyylytioniometyyllillä, 2-fluorietyyllillä tai propargyyllillä. Edullisesti R_1 on primaarinen C_1 - C_3 -alkyyli, allyyli, syklopropyylylimetyyli tai propargyyli. Edullisimmin R_1 on etyyli, syklopropyylylimetyyli, allyyli tai propargyyli.

Lisäksi L-fenyylialaniiniryhmä on rengassubstituoitu meta-asemassa. Substituentti voi olla mikä tahansa seuraavista: bromi, jodi, kloori, metyyli, trifluorimetyyli tai metoksi. Edullisesti substituentti on bromi tai jodi ja edullisimmin bromi.

L-fenyylialaniini on kaavan I mukaisten yhdisteiden C-pääteryhmä ja se on aminohappo, joka on rakenteeltaan muutettu amidikseen

- 5 $\begin{array}{c} \text{O} \\ \parallel \\ (\text{Z on } -\text{CNH}_2), \text{ primaariseksi alkoholi- tai eetterijohdanna-} \\ \text{naisekseen (Z on } -\text{CH}_2\text{OR}_2), \text{ tai C}_1\text{-C}_3\text{-alkyyliesterikseen} \end{array}$
- $\begin{array}{c} \text{O} \\ \parallel \\ (\text{Z on } -\text{C-OR}_3). \text{ Edullisesti ryhmä on muutettu primaariseksi} \\ \text{amidikseen, alkoholikseen tai esterijohdannaisekseen. Yllä} \\ 10 \text{ mainituista on primaarinen amidi edullisin.} \end{array}$

Tässä selityksessä käytetään seuraavia lyhenteitä, joista useimmat ovat hyvin tunnettuja ja alalla yleisesti käytettyjä:

- Abu - α -aminovoihappo
- 15 Ala - alaniini
- Cys - kysteiini
- Cys(Me) - (S-metyyli)kysteiini
- Cys(Me)(O) - (S-metyyli)kysteiinisulfoksidi
- Gly - glysiini
- 20 Gly(Al) - allyyliglysiini
- Gly(Cp) - syklopropyylimetyyliglysiini
- Hse - homoseriini
- Ile - isoleusiini
- Leu - leusiini
- 25 Met - metioniini
- Met(O) - metioniinisulfoksidi
- Nle - norleusiini
- Nva - norvaliini
- Phe - fenyylialaniini
- 30 Ser - seriini
- Thr - treoniini
- Tyr - tyrosiini
- Val - valiini
- Ac - asetyyli
- 35 AcOMe - asetoksimetyyli
- Al - allyyli

- Cp - syklopropyyli
 Me - metyyli
 Et - etyyli
 Ip - isopropyyli
 5 Pr - n-propyyli
 OMe - metoksi
 Etm - etyyliitiometyyli
 Fle - 2-fluorietyyli
 Ppg - propargyyli
 10 Bu - n-butyli
 i-Bu - isobutyli
 t-Bu - tert.-butyyli
 s-Bu - sek.-butyyli
 Boc - tert.-butyylioksikarbonyyli
 15 Bzl - bentsyyli
 Cbz - bentsyylioksikarbonyyli
 DCC - N,N'-disykloheksyylikarbodi-imidi
 HBT - 1-hydroksibentsotriatsoli
 DMF - N,N'-dimetyyliformamidi
 20 TFA - trifluorietikkahappo
 THF - tetrahydrofuraani
 DEAE - dietyyliaminoetyyli
 NMM - N-metyylimorfoliini
 IBCF - isobutyliklooriformaatti
 25 18-crown-6 - 1,4,7,10,13,16-heksaoksasyklo-oktadekaani.

Esimerkkejä tyypillisistä kaavan I mukaisista yhdisteistä ovat seuraavat, joista jokaisessa on substituentti fenyylialaniinin meta-asemassa ja joista mikä tahansa tai jokainen voi olla farmaseuttisesti hyväksyttävänä myrkyttömänä happoadditiosuolana:

- 30 H-L-Tyr-D-Ala-Gly-L- (N-Me) Phe (Br) -NH₂,
 H-L-Tyr-D-Ala-Gly-L- (N-Et) Phe (I) -NH₂,
 H-L-Tyr-D-Abu-Gly-L- (N-Pr) Phe (Br) -NH₂,
 H-L-Tyr-D-Abu-Gly-L- (N-Et) Phe (Br) -NH₂,
 35 H-L-Tyr-D-Nva-Gly-L- (N-Ppg) Phe (Me) -NH₂

- H-L-Tyr-D-Nva-Gly-L-(N-Et)Phe(OMe)-NH₂;
 H-L-Tyr-D-Val-Gly-L-(N-Et)Phe(CF₃)-NH₂;
 H-L-Tyr-D-Val-Gly-L-(N-Pr)Phe(Cl)-NH₂;
 5 H-L-Tyr-D-Nle-Gly-L-(N-Cp)Phe(I)-NH₂;
 H-L-Tyr-D-Nle-Gly-L-(N-Ppg)Phe(Br)-NH₂;
 H-L-Tyr-D-Leu-Gly-L-(N-Etm)Phe(Br)-NH₂;
 H-L-Tyr-D-Leu-Gly-L-(N-Cp)Phe(OMe)-NH₂;
 H-L-Tyr-D-Ile-Gly-L-(N-Al)Phe(Br)-NH₂;
 10 H-L-Tyr-D-Ile-Gly-L-(N-Cp)Phe(Me)-NH₂;
 H-L-Tyr-D-Ala-Gly-L-(N-Et)Phe(CF₃)-NH₂;
 H-L-Tyr-D-Ala-Gly-L-(N-Pr)Phe(OMe)-NH₂;
 H-L-Tyr-D-Ala-Gly-L-(N-Fle)Phe(Cl)-NH₂;
 H-L-Tyr-D-Ala-Gly-L-(N-Etm)Phe(I)-NH₂;
 15 H-L-Tyr-D-Ala-Gly-L-(N-Fle)Phe(I)-NH₂;
 H-L-Tyr-D-Ala-Gly-L-(N-Etm)Phe(Br)-NH₂;
 H-L-Tyr-D-Ala-Gly-L-(N-Cp)Phe(Br)-NH₂;
 H-L-Tyr-D-Ala-Gly-L-(N-Al)Phe(I)-NH₂;
 H-L-Tyr-D-Ala-Gly-L-(N-Ppg)Phe(OMe)-NH₂;
 20 H-L-Tyr-D-Thr-Gly-L-(N-Cp)Phe(Me)-NH₂;
 H-L-Tyr-D-Val-Gly-L-(N-Et)Phe(CF₃)-NH₂;
 H-L-Tyr-D-Leu-Gly-L-(N-Et)Phe(Br)-NH₂;
 H-L-Tyr-D-Val-Gly-L-(N-Al)Phe(Br)-NH₂;
 H-L-Tyr-D-Leu-Gly-L-(N-Al)Phe(Cl)-NH₂;
 25 H-L-Tyr-D-Thr-Gly-L-(N-Cp)Phe(CF₃)-NH₂;
 H-L-Tyr-D-Thr-Gly-L-(N-Et)Phe(OMe)-NH₂;
 H-L-Tyr-D-Thr-Gly-L-(N-Me)Phe(Br)-NH₂;
 H-L-Tyr-D-Thr-Gly-L-(N-Pr)Phe(Br)-NH₂;
 H-L-Tyr-D-Thr-Gly-L-(N-Al)Phe(Cl)-NH₂;
 30 H-L-Tyr-D-Gly(Al)-Gly-L-(N-Et)Phe(Me)-NH₂;
 H-L-Tyr-D-Gly(Cp)-Gly-L-(N-Me)Phe(OMe)-NH₂;
 H-L-Tyr-D-Met-Gly-L-(N-Et)Phe(CF₃)-NH₂;
 H-L-Tyr-D-Cys(Me)-Gly-L-(N-Cp)Phe(Br)-NH₂;
 H-L-Tyr-D-Met(O)-Gly-L-(N-Pr)Phe(Br)-NH₂;
 35 H-L-Tyr-D-Cys(Me)(O)-Gly-L-(N-Cp)Phe(Br)-NH₂;

- H-L-Tyr-D-Ser-Gly-L-(N-Cp)Phe(I)-NH₂;
 H-L-Tyr-D-Ser-Gly-L-(N-Et)Phe(Cl)-NH₂;
 (N-Me)-L-Tyr-D-Ala-Gly-L-(N-Cp)Phe(Br)-NH₂;
 (N-Me)-L-Tyr-D-Thr-Gly-L-(N-Et)Phe(I)-NH₂;
 5 H-L-Tyr-D-Hse-Gly-L-(N-Cp)Phe(Br)-NH₂;
 (N-Me)-L-Tyr-D-Ala-Gly-L-(N-Et)Phe(Br)-NH₂;
 (N-Me)-L-Tyr-D-Ala-Gly-L-(N-Me)Phe(Br)-NH₂;
 (N-Me)-L-Tyr-D-Ala-Gly-L-(N-Pr)Phe(Br)-NH₂;
 (N-Et)-L-Tyr-D-Abu-Gly-L-(N-Cp)Phe(I)-NH₂;
 10 (N-Me)-L-Tyr-D-Val-Gly-L-(N-Et)Phe(Me)-NH₂;
 (N-Pr)-L-Tyr-D-Leu-Gly-L-(N-Cp)Phe(CF₃)-NH₂;
 H-L-Tyr-D-Abu-Gly-L-(N-Al)Phe(OMe)-NH₂;
 H-L-Tyr-D-Nle-Gly-L-(N-Al)Phe(Br)-NH₂;
 H-L-Tyr-D-Ile-Gly-L-(N-Ppg)Phe(Br)-NH₂;
 15 (N-Me)-L-Tyr-D-Leu-Gly-L-(N-Et)Phe(Br)-NH₂;
 (N-Me)-L-Tyr-D-Nva-Gly-L-(N-Me)Phe(Br)-NH₂;
 (N-Me)-L-Tyr-D-Ala-Gly-L-(N-Ppg)Phe(I)-NH₂;
 (N-Et)-L-Tyr-D-Ala-Gly-L-(N-Me)Phe(Br)-NH₂;
 (N-Cpm)-L-Tyr-D-Ala-Gly-L-(N-Me)Phe(Cl)-NH₂;
 20 (N-Me)-L-Tyr-D-Ala-Gly-L-(N-Cp)Phe(Br)-NH₂;
 (N-Al)-L-Tyr-D-Ala-Gly-L-(N-Al)Phe(Br)-NH₂;
 (N-Me)-L-Tyr-D-Ala-Gly-L-(N-Etm)Phe(Br)-NH₂;
 (N-Et)-L-Tyr-D-Ala-Gly-L-(N-Et)Phe(I)-NH₂;
 (N-Cpm)-L-Tyr-D-Ala-Gly-L-(N-Et)Phe(Me)-NH₂;
 25 (N-Me)-L-Tyr-D-Ala-Gly-L-(N-Al)Phe(OMe)-NH₂;
 H-L-Tyr-D-Ala-Gly-L-(N-Me)Phe(I)-CH₂OH;
 H-L-Tyr-D-Ala-Gly-L-(N-Et)Phe(Cl)-CH₂OH;
 H-L-Tyr-D-Abu-Gly-L-(N-Cp)Phe(Br)-CH₂OH;
 H-L-Tyr-D-Abu-Gly-L-(N-Et)Phe(Br)-CH₂OH;
 30 H-L-Tyr-D-Nva-Gly-L-(N-Cp)Phe(OMe)-CH₂OH;
 H-L-Tyr-D-Nva-Gly-L-(N-Et)Phe(CF₃)-CH₂OH;
 H-L-Tyr-D-Val-Gly-L-(N-Cp)Phe(Br)-CH₂OH;
 H-L-Tyr-D-Val-Gly-L-(N-Pr)Phe(I)-CH₂OH;
 H-L-Tyr-D-Nle-Gly-L-(N-Cp)Phe(OMe)-CH₂OH;
 35 H-L-Tyr-D-Nle-Gly-L-(N-Ppg)Phe(Br)-CH₂OH;

- H-L-Tyr-D-Leu-Gly-L- (N-Etm) Phe (I) -CH₂OH;
 H-L-Tyr-D-Leu-Gly-L- (N-Cp) Phe (Me) -CH₂OH;
 H-L-Tyr-D-Ile-Gly-L- (N-Al) Phe (OMe) -CH₂OH;
 H-L-Tyr-D-Ile-Gly-L- (N-Cp) Phe (CF₃) -CH₂OH;
 5 H-L-Tyr-D-Ala-Gly-L- (N-Et) Phe (Br) -CH₂OH;
 H-L-Tyr-D-Ala-Gly-L- (N-Pr) Phe (Br) -CH₂OH;
 H-L-Tyr-D-Ala-Gly-L- (N-Fle) Phe (I) -CH₂OH;
 H-L-Tyr-D-Ala-Gly-L- (N-Etm) Phe (Cl) -CH₂OH;
 H-L-Tyr-D-Ala-Gly-L- (N-Fle) Phe (I) -CH₂OH;
 10 H-L-Tyr-D-Ala-Gly-L- (N-Fle) Phe (Br) -CH₂OH;
 H-L-Tyr-D-Ala-Gly-L- (N-Cp) Phe (Me) -CH₂OH;
 H-L-Tyr-D-Ala-Gly-L- (N-Al) Phe (CF₃) -CH₂OH;
 H-L-Tyr-D-Ala-Gly-L- (N-Ppg) Phe (OMe) -CH₂OH;
 H-L-Tyr-D-Thr-Gly-L- (N-Et) Phe (Br) -CH₂OH;
 15 H-L-Tyr-D-Val-Gly-L- (N-Et) Phe (Br) -CH₂OH;
 H-L-Tyr-D-Leu-Gly-L- (N-Et) Phe (Br) -CH₂OH;
 H-L-Tyr-D-Val-Gly-L- (N-Al) Phe (I) -CH₂OH;
 H-L-Tyr-D-Leu-Gly-L- (N-Al) Phe (Br) -CH₂OH;
 H-L-Tyr-D-Thr-Gly-L- (N-Cp) Phe (Br) -CH₂OH;
 20 H-L-Tyr-D-Thr-Gly-L- (N-Et) Phe (Me) -CH₂OH;
 H-L-Tyr-D-Thr-Gly-L- (N-Me) Phe (OMe) -CH₂OH;
 H-L-Tyr-D-Thr-Gly-L- (N-Pr) Phe (CF₃) -CH₂OH;
 H-L-Tyr-D-Thr-Gly-L- (N-Al) Phe (Br) -CH₂OH;
 H-L-Tyr-D-Gly (Al) -Gly-L- (N-Cp) Phe (Cl) -CH₂OH;
 25 H-L-Tyr-D-Gly (Cp) -Gly-L- (N-Me) Phe (Br) -CH₂OH;
 H-L-Tyr-D-Met-Gly-L- (N-Et) Phe (I) -CH₂OH;
 H-L-Tyr-D-Cys (Me) -Gly-L- (N-Cp) Phe (Br) -CH₂OH;
 H-L-Tyr-D-Met (O) -Gly-L- (N-Pr) Phe (Br) -CH₂OH;
 H-L-Tyr-D-Cys (Me) (O) -Gly-L- (N-Cp) Phe (Me) -CH₂OH;
 30 H-L-Tyr-D-Ser-Gly-L- (N-Cp) Phe (Br) -CH₂OH;
 H-L-Tyr-D-Ser-Gly-L- (N-Et) Phe (Br) -CH₂OH;
 (N-Me) -L-Tyr-D-Ala-Gly-L- (N-Cp) Phe (Br) -CH₂OH;
 (N-Me) -L-Tyr-D-Thr-Gly-L- (N-Et) Phe (Br) -CH₂OH;
 H-L-Tyr-D-Hse-Gly-L- (N-Et) Phe (I) -CH₂OH;
 35 (N-Me) -L-Tyr-D-Ala-Gly-L- (N-Et) Phe (Me) -CH₂OH;

- (N-Me)-L-Tyr-D-Ala-Gly-L-(N-Me)Phe(OMe)-CH₂OH;
 (N-Me)-L-Tyr-D-Ala-Gly-L-(N-Pr)Phe(CF₃)-
 CH₂OH;
 (N-Et)-L-Tyr-D-Abu-Gly-L-(N-Cp)Phe(Cl)-
 5 CH₂OH;
 (N-Me)-L-Tyr-D-Val-Gly-L-(N-Et)Phe(Br)-CH₂OH;
 (N-Pr)-L-Tyr-D-Leu-Gly-L-(N-Cp)Phe(Br)-CH₂OH;
 H-L-Tyr-D-Abu-Gly-L-(N-Al)Phe(I)-CH₂OH;
 H-L-Tyr-D-Nle-Gly-L-(N-Al)Phe(OMe)-CH₂OH;
 10 H-L-Tyr-D-Ile-Gly-L-(N-Ppg)Phe(CF₃)-CH₂OH;
 (N-Me)-L-Tyr-D-Leu-Gly-L-(N-Et)Phe(Br)-
 CH₂OH;
 (N-Me)-L-Tyr-D-Nva-Gly-L-(N-Me)Phe(Br)-CH₂OH;
 (N-Me)-L-Tyr-D-Ala-Gly-L-(N-Ppg)Phe(I)-CH₂OH;
 15 (N-Et)-L-Tyr-D-Ala-Gly-L-(N-Me)Phe(Br)-CH₂OH;
 (N-Cpm)-L-Tyr-D-Ala-Gly-L-(N-Me)Phe(CF₃)-
 CH₂OH;
 (N-Me)-L-Tyr-D-Ala-Gly-L-(N-Cp)Phe(OMe)-
 CH₂OH;
 20 (N-Al)-L-Tyr-D-Ala-Gly-L-(N-Al)Phe(Me)-CH₂OH;
 (N-Me)-L-Tyr-D-Ala-Gly-L-(N-Fle)Phe(Br)-
 CH₂OH;
 (N-Et)-L-Tyr-D-Ala-Gly-L-(N-Et)Phe(Br)-CH₂OH;
 (N-Al)-L-Tyr-D-Ala-Gly-L-(N-Et)Phe(Cl)-CH₂OH;
 25 (N-Me)-L-Tyr-D-Ala-Gly-L-(N-Al)Phe(I)-CH₂OH;
 H-L-Tyr-D-Ala-Gly-L-(N-Et)Phe(Br)-CH₂OAc;
 H-L-Tyr-D-Ala-Gly-L-(N-Et)Phe(Br)-CH₂OAcOMe;
 H-L-Tyr-D-Ala-Gly-L-(N-Me)Phe(I)-CH₂OAcOMe;
 H-L-Tyr-D-Ala-Gly-L-(N-Me)Phe(Me)-CH₂OAc;
 30 H-L-Tyr-D-Ala-Gly-L-(N-Et)Phe(OMe)-CH₂OAcOMe;
 H-L-Tyr-D-Ala-Gly-L-(N-Al)Phe(CF₃)-CH₂OAcOMe;
 H-L-Tyr-D-Ala-Gly-L-(N-Pr)Phe(Br)-CH₂OAc;
 H-L-Tyr-D-Ala-Gly-L-(N-Cp)Phe(Br)-CH₂OAc;
 H-L-Tyr-D-Ala-Gly-L-(N-Al)Phe(Br)-CH₂OAc;
 35 H-L-Tyr-D-Ala-Gly-L-(N-Me)Phe(I)-OMe;

- H-L-Tyr-D-Ala-Gly-L-(N-Cp) Phe (Br) -OEt;
 H-L-Tyr-D-Abu-Gly-L-(N-Cp) Phe (Br) -OMe;
 H-L-Tyr-D-Abu-Gly-L-(N-Et) Phe (Br) -OMe;
 H-L-Tyr-D-Nva-Gly-L-(N-Et) Phe (OMe) -OPr;
 5 H-L-Tyr-D-Nva-Gly-L-(N-Et) Phe (CF₃) -OIp;
 H-L-Tyr-D-Val-Gly-L-(N-Cp) Phe (Me) -OMe;
 H-L-Tyr-D-Val-Gly-L-(N-Pr) Phe (Br) -OEt;
 H-L-Tyr-D-Nle-Gly-L-(N-Cp) Phe (Cl) -OEt;
 H-L-Tyr-D-Nle-Gly-L-(N-Pr) Phe (Br) -OMe;
 10 H-L-Tyr-D-Leu-Gly-L-(N-Etm) Phe (I) -OEt;
 H-L-Tyr-D-Leu-Gly-L-(N-Cp) Phe (Br) -OPr;
 H-L-Tyr-D-Ile-Gly-L-(N-Et) Phe (Br) -OMe;
 H-L-Tyr-D-Ile-Gly-L-(N-Al) Phe (Me) -OMe;
 H-L-Tyr-D-Ala-Gly-L-(N-Et) Phe (OMe) -OMe;
 15 H-L-Tyr-D-Ala-Gly-L-(N-Pr) Phe (CF₃) -OEt;
 H-L-Tyr-D-Ala-Gly-L-(N-Al) Phe (Br) -OIp;
 H-L-Tyr-D-Ala-Gly-L-(N-Fle) Phe (Br) -OMe;
 H-L-Tyr-D-Ala-Gly-L-(N-Cp) Phe (Br) -OMe;
 H-L-Tyr-D-Ala-Gly-L-(N-Etm) Phe (Br) -OEt;
 20 H-L-Tyr-D-Ala-Gly-L-(N-Ppg) Phe (I) -OPr;
 H-L-Tyr-D-Ala-Gly-L-(N-Fle) Phe (Me) -OIp;
 (N-Me) -L-Tyr-D-Ala-Gly-L-(N-Et) Phe (OMe) -OMe;
 (N-Me) -L-Tyr-D-Ala-Gly-L-(N-Me) Phe (CF₃) -OMe;
 H-L-Tyr-D-Val-Gly-L-(N-Et) Phe (Br) -OMe;
 25 H-L-Tyr-D-Leu-Gly-L-(N-Et) Phe (Cl) -OEt;
 H-L-Tyr-D-Val-Gly-L-(N-Me) Phe (Br) -OMe;
 H-L-Tyr-D-Leu-Gly-L-(N-Me) Phe (Br) -OEt;
 H-L-Tyr-D-Ala-Gly-L-(N-Cp) Phe (I) -OPr;
 (N-Me) -L-Tyr-D-Ala-Gly-L-(N-Et) Phe (Br) -OIp;
 30 (N-Et) -L-Tyr-D-Ala-Gly-L-(N-Et) Phe (Br) -OMe;
 (N-Me) -L-Tyr-D-Ala-Gly-L-(N-Al) Phe (Cl) -OMe;
 (N-Me) -L-Tyr-D-Ala-Gly-L-(N-Al) Phe (I) -OEt;
 H-L-Tyr-D-Gly (Al) -Gly-L-(N-Et) Phe (Br) -OEt;
 H-L-Tyr-D-Gly (Cp) -Gly-L-(N-Et) Phe (Me) -OPr;
 35 H-L-Tyr-D-Met-Gly-L-(N-Me) Phe (OMe) -OMe;

- H-L-Tyr-D-Cys (Me) -Gly-L- (N-Et) Phe (CF₃) -OPr;
 H-L-Tyr-D-Met (O) -Gly-L- (N-Cp) Phe (Br) -OIp;
 H-L-Tyr-D-Cys (Me) (O) -Gly-L- (N-Cp) Phe (Br) -OMe;
 H-L-Tyr-D-Ser-Gly-L- (N-Me) Phe (Br) -OEt;
 5 (N-Al) -L-Tyr-D-Ala-Gly-L- (N-Et) Phe (I) -OEt;
 H-L-Tyr-D-Thr-Gly-L- (N-Me) Phe (Br) -OEt;
 H-L-Tyr-D-Thr-Gly-L- (N-Et) Phe (Br) -OMe;
 H-L-Tyr-D-Hse-Gly-L- (N-Et) Phe (Me) -OMe;
 (N-Me) -L-Tyr-D-Thr-Gly-L- (N-Et) Phe (OMe) -OMe;
 10 H-L-Tyr-D-Thr-Gly-L- (N-Al) Phe (CF₃) -OMe;
 (N-Me) -L-Tyr-D-Ala-Gly-L- (N-Me) Phe (Br) -OMe;
 (N-Et) -L-Tyr-D-Abu-Gly-L- (N-Cp) Phe (Br) -OEt;
 (N-Me) -L-Tyr-D-Val-Gly-L- (N-Et) Phe (Br) -OMe;
 (N-Cpm) -L-Tyr-D-Leu-Gly-L- (N-Et) Phe (Br) -OMe;
 15 H-L-Tyr-D-Abu-Gly-L- (N-Al) Phe (Br) -OMe;
 (N-Me) -L-Tyr-D-Nle-Gly-L- (N-Et) Phe (I) -OEt;
 H-L-Tyr-D-Ile-Gly-L- (N-Pr) Phe (Cl) -OPr;
 (N-Me) -L-Tyr-D-Leu-Gly-L- (N-Fle) Phe (Me) -OIp;
 (N-Me) -L-Tyr-D-Nva-Gly-L- (N-Etm) Phe (Br) -OIp;
 20 (N-Me) -L-Tyr-D-Met-Gly- (N-Et) Phe (Br) -OPr;
 H-L-Tyr-D-Ser-Gly-L- (N-Me) Phe (I) -OMe;
 H-L-Tyr-D-Nle-Gly-L- (N-Me) Phe (Br) -OEt;
 H-L-Tyr-D-Ile-Gly-L- (N-Et) Phe (Br) -OMe;
 (N-Me) -L-Tyr-D-Met-Gly-L- (N-Al) Phe (Br) -OMe;
 25 (N-Me) -L-Tyr-D-Val-Gly-L- (N-Pr) Phe (Br) -OMe;
 H-L-Tyr-D-Gly (Al) -Gly-L- (N-Me) Phe (Br) -OMe;
 (N-Me) -L-Tyr-D-Gly (Cp) -Gly-L- (N-Et) Phe (Br) -OMe;
 30 ynnä muut.

Kaavan I mukaisia yhdisteitä valmistetaan peptidisynteesin tavanomaisilla menetelmillä. Tiettyjen kaavan I mukaisten yhdisteiden synteesin kuluessa on mahdollista, että tapahtuu osittaisrasemisoituminen. Rasemisoitumisen
5 määrä, mikäli sitä tapahtuu, ei kuitenkaan ole riittävä muuttamaan merkittävästi kaavan I mukaisten yhdisteiden analgeettista aktiivisuutta.

Kaavan I mukaisia yhdisteitä voidaan syntetisoida peotidien kiinteäfaasisynteesillä tai klassisella liuos-
10 faasisynteesillä. Kiinteäfaasimenetelmässä peptidiketju rakennetaan jaksottain käyttäen hartsikantajaa, tyypillisesti p-metyyllibentshydryyliamiinihartsia tai kloorimetyloitua polystyreenihartsia. Tuote lohkaistaan hartsista HF:lla 0°C:ssa tai etikkahapolla ja puhdistetaan, yleensä kromato-
15 grafisesti. Liuosfaasisynteesissä peptidiketju muodostetaan saattamalla erilaiset aktivoidut ja suojatut aminohapot reagoimaan keskenään melkein missä tahansa järjestyksessä ja poistamalla sitten suojaryhmät suojaryhmiä poistavalla reagenssilla kuten hapolla, esimerkiksi trifluorietikkahapolla (TFA), p-tolueenisulfonihapolla (TSA), bentseenisulfo-
20 nihapolla (BSA), metaanisulfonihapolla (MSA), naftaleenisulfonihapolla, jääetikalla HCl-kaasun läsnäollessa tai muurahaishapolla. Tavallisesti läsnä on myös reagenssi, joka pystyy toimimaan karboniumioneja sitovana aineena, ku-

ten anisoli, tioanisoli tai trietyylisilaani, edullisesti anisoli. Kaikki reaktio-olosuhteet ovat tavanomaiset ja peptidikemian ammattimiesten hyvin tuntemat. Esimerkiksi TFA-reaktion lämpötila on noin -10° - noin $+30^{\circ}\text{C}$.

5 Mitä tahansa menetelmää käytetäänkin käsittää kaavan I mukaisten yhdisteiden valmistus aminohappojen tai peptidiosasten liittämisen yhteen siten, että jonkin osan karboksyyli ryhmä saatetaan reagoimaan toisen osan aminoryhmän kanssa niin että saadaan amidisisidos. Yhteenliittymisen
10 tapahtumiseksi tehokkaaksi on toivottavaa ensiksi, että kaikki reaktiiviset ryhmät, jotka eivät suoranaisesti ota osaa reaktioon, inaktivoidaan käyttäen sopivia suojaryhmiä ja toiseksi, että karboksyyli ryhmä, jonka tulee liittyä ami-
noon aktivoidaan sopivasti niin, että liittymisreaktio ta-
15 pahtuu. Kaikkeen tähän sisältyy, että sekä reaktiojärjestys että reaktio-olosuhteet valitaan huolellisesti samoin kuin se, että käytetään spesifisiä suojaryhmiä niin, että saadaan haluttu peptidituote. Kaikki aminohapot, joita käytetään valmistettaessa kaavan I mukaisia yhdisteitä ja
20 joissa on erityisesti valitut suojaryhmät ja/tai aktivoidut reagoivat ryhmät, valmistetaan peptidialalta hyvin tunnetuilla menetelmillä.

Valittuja suojaryhmäyhdistelmiä käytetään kaavan I mukaisten yhdisteiden kokonaissynteesin kussakin vaiheessa.
25 Näiden erityisten yhdistelmien on havaittu vaikuttavan tassaissimmin. Muutkin yhdistelmät toimisivat kaavan I mukaisen yhdisteiden synteesissä mutta eivät ehkä yhtä hyvin tuloksin. Siten esimerkiksi bentsyylioksidikarbonyyliä, tert.-butyylioksidikarbonyyliä, tert.-amyylioksidikarbonyyliä, p-met-
30 oksibentsyylioksidikarbonyyliä, adamantyylioksidikarbonyyliä ja isobornyylioksidikarbonyyliä voidaan vaihdellen käyttää aminon suojaryhminä kaavan I mukaisten yhdisteiden synteesissä. Edelleen yleensä käytetään bentsyyliä (Bzl) tyrosyyli-
ryhmän hydroksin suojaryhmänä, vaikka muitakin, kuten p-nit-
35 robentsyyliä (PNB), p-metoksibentsyyliä (PMB) ja niiden kaltaisia voitaisiin hyvin käyttää.

Karboksyylin suojaryhmät, joita käytetään kaavan I mukaisten yhdisteiden valmistuksessa, voivat olla mitä tahansa esterin muodostavia ryhmiä, joihin kuuluu esimerkiksi metyyli, etyyli, bentsyyli, p-nitrobentsyyli, p-met-

5 oksibentsyyli, 2,2,2-trikloorietyyli ja niiden kaltaiset.

Sopivasti N-suojatun aminohapon tai peptidiketjun liittäminen sopivasti karboksyyli-suojattuun aminohappoon tai peptidiketjuun valmistettaessa kaavan I mukaisia yh-

10 disteitä käsittää aminohapon tai peptidiketjun vapaan karboksyyli-ryhmän muuttamisen liittymisreaktion suhteen aktiiviksi. Tämä voidaan toteuttaa millä tahansa lukuisista tunnetuista tavoista. Eräs tällainen aktivointitekniikka sisältää karboksyyli-ryhmän muuttamisen seka-anhydridiksi. Vapaa karboksyyli-ryhmä aktivoidaan saattamalla se reagoimaan

15 toisen hapon kanssa, joka tyypillisesti on hiilihapon johdannainen kuten esimerkiksi sen happokloridi. Esimerkkejä happoklorideista, joita käytetään seka-anhydridien muodostamiseen ovat etyyliklooriformaatti, fenyyliklooriformaatti, sek.-butyyliklooriformaatti, isobutyyliklooriformaatti, pi-

20 valoyylikloridi ja niiden kaltaiset. Ensisijaisesti käytetään isobutyyliklooriformaattia.

Toinen menetelmä karboksyyli-ryhmän aktivoimiseksi liittymisreaktion toteuttamista varten on sen muuttaminen aktiiviksi esterijohdannaisekseen. Tällaisiin aktiivisiin estereihin kuuluvat esimerkiksi 2,4,5-trikloorifenyyliesteri, pentakloorifenyyliesteri, p-nitrofenyyliesteri ja niiden kaltaiset. Vielä eräs liittämismenetelmä, jota voi-

25 daan käyttää, on hyvin tunnettu atsidimenetelmä.

Ensi sijainen liittymisreaktion toteuttamismenetelmä kaavan I mukaisten yhdisteiden valmistamiseksi on N,N'-di-

30 sykloheksyylikarbodi-imidin (DCC) käyttö vapaan karboksyyli-ryhmän aktivoimiseksi niin, että liittymisreaktio tapahtuu. Tämä aktivointi- ja liittämistekniikka toteutetaan käyttäen ekvimolaariset määrät DCC:tä ja aminohappoa tai

35 peptidiketjua ja se suoritetaan niin, että läsnä on ekvimolaarinen määrä l-hydroksibentsotriatsolia (HBT). HBT:n

läsnäolo vaimentaa haitalliset sivureaktiot, joihin kuuluu mahdollinen rasemisoituminen.

Valittujen suojaryhmien poisto on tarpeen kaavan I mukaisten yhdisteiden valmistuksessa käytetyn synteetitien määrätyissä kohdissa. Tämä suojaryhmien poisto tapahtuu ta-
 5 vanomaisten suojaryhmänpoistoreagenssien avulla. Normaalien peptidisynteesien ammattitaidon omaava kemisti voi helposti valita tyypillisistä suojaryhmistä ne, jotka ovat sopivia siinä mielessä, että tuotteen suojauksen selektiivinen pois-
 10 to on mahdollinen siten, että aminohapossa tai peptidiketjussa olevista suojaryhmistä voidaan poistaa yksi tai useampia mutta ei niitä kaikkia. Nämä tekniikat ovat hyvin tunnettuja peptidikemian alalla. Täydellisempi kuvaus selektiivisen suojaryhmänpoiston tekniikoista, joita voidaan käyt-
 15 tää, on esitetty kirjallisuudessa julkaisussa Schroder ja Lübke, The Peptides, Vol. I, Academic Press, New York, (1965) ja varsinkin sen sivuilla 72-75 esitetyssä taulukossa.

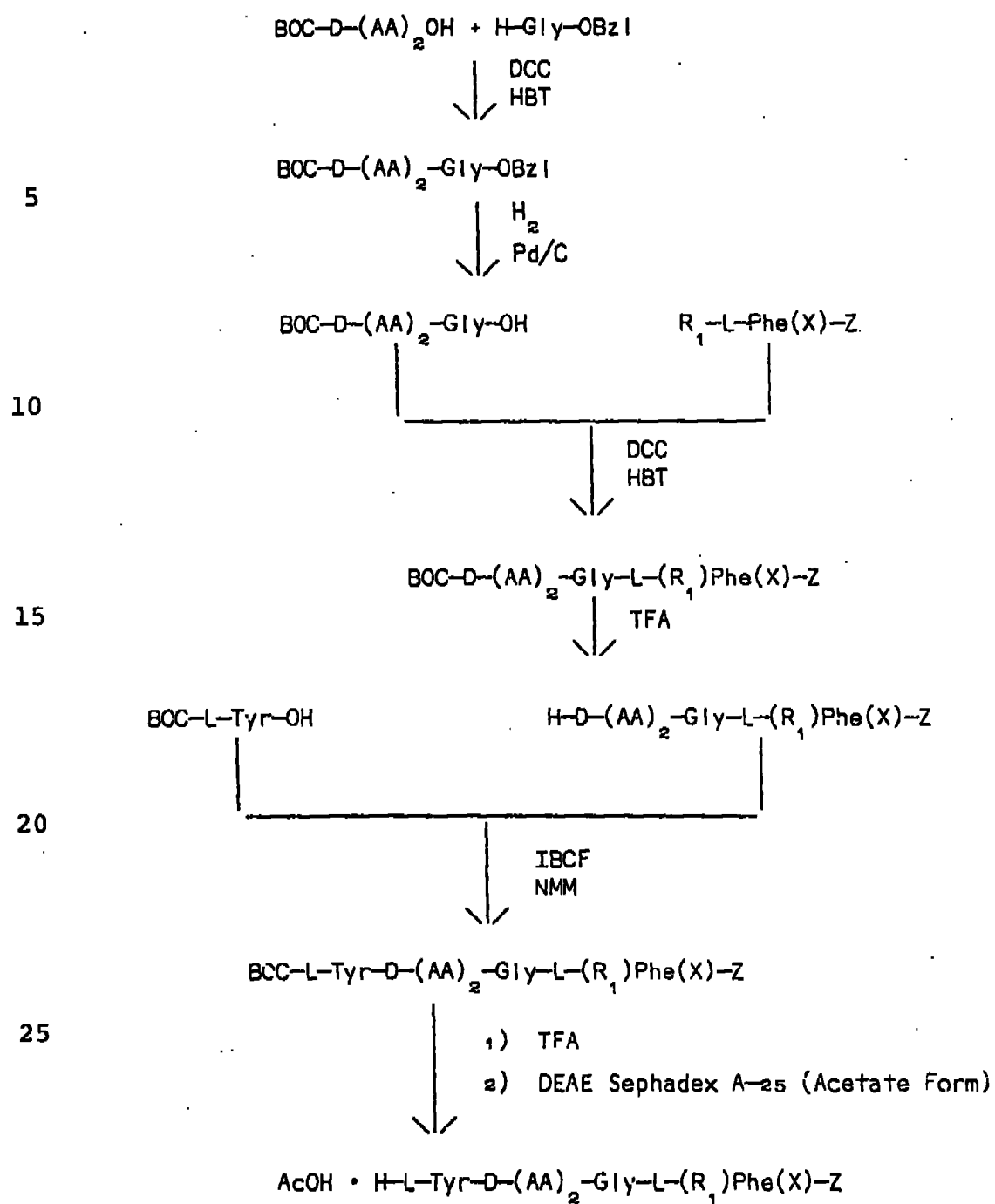
Karboksyylin suojaryhmien poisto voidaan suorittaa alkalisella hydrolyysillä. Suhteellisen voimakkaita alkalisia olosuhteita, joissa tyypillisesti käytetään alkalimetallihydroksideja, kuten natriumhydroksidia, kaliumhydroksidia, litiumhydroksidia ja niiden kaltaisia, käytetään yleensä suojatun karboksyylin de-esteröinnissä. Olosuhteet, joissa hydrolysointi suoritetaan, ovat alalta yleisesti tunnet-
 20 tuja. Monet karboksyylin suojaryhmistä voidaan poistaa myös katalyyttisellä hydrogenolyysillä, jollainen on esimerkiksi hydrogenolyysi sellaisen katalyytin kuin palladiumhiilellä läsnäollessa. Lisäksi niissä tapauksissa joissa karboksyylin suojaryhmä on p-nitrobentsyyli tai 2,2,2-trikloorietyyli,
 25 voidaan suojaryhmät poistaa pelkistämällä sinkin ja suolahapon läsnäollessa.

Monet aminon suojaryhmistä poistetaan käsittelemällä suojattua aminohappoa tai peptidiä hapolla, kuten muurahais-
 hapolla, trifluorietikkahapolla (TFA), p-tolueenisulfoni-
 35 hapolla (TSA), bentseenisulfonihapolla (BSA), naftaleenisulfonihapolla ja niiden kaltaisilla, vastaavan happoaddi-

tiosuolatuotteen muodostamiseksi. Muiden lohkaaisu voidaan suorittaa käsittelemällä suojattua aminohappoa tai peptidiä HBr:n ja etikkahapon seoksella vastaavan hydrobromidihappoadditiosuolan muodostamiseksi. Kulloinkin käytettävä menetelmä tai reagenssi riippuu spesifiseen suojauksenpoistoreaktioon osallistuvien aineiden kemiallisista tai fysikaalisista ominaisuuksista. Saatu happoadditiosuola voidaan muuttaa farmaseuttisesti sopivammaksi käsittelemällä sitä sopivalla ioninvaihtohartsilla kuten hartseilla DEAE Sephadex A25, Amberlyst A27 ja niiden kaltaisilla.

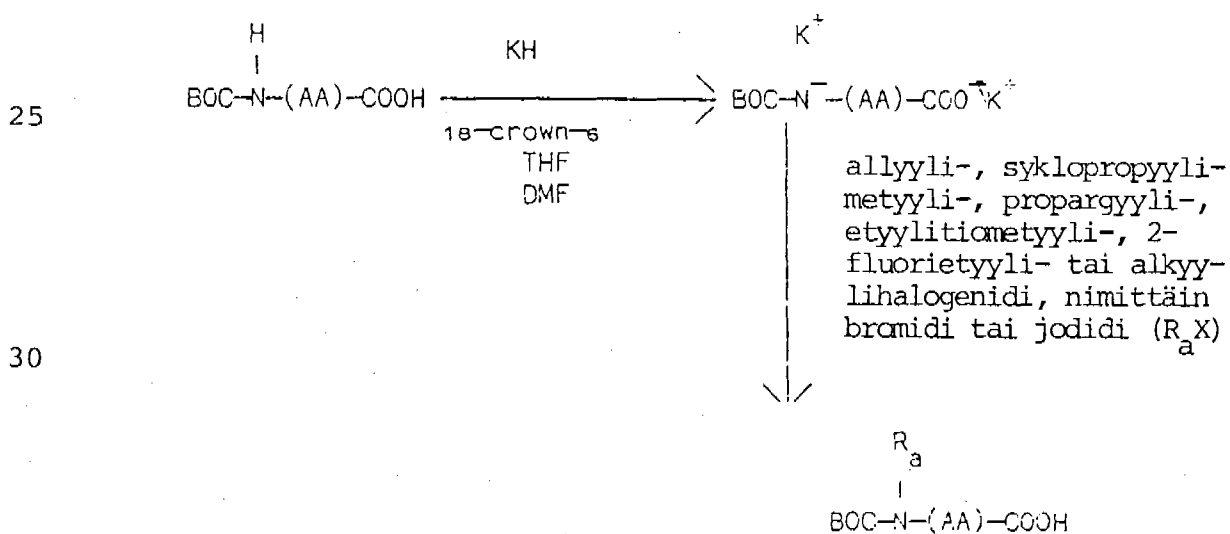
Hydroksin suojaryhmä voidaan säilyttää peptidissä koko sen valmistusvaiheen ajan ja poistaa viimeisessä synteesivaiheessa yhdessä aminon suojaryhmän lohkaisun kanssa. Riippuen olosuhteista, joita käytetään karboksyylin suojaryhmän poistoon, voidaan hydroksin suojaryhmä kuitenkin poistaa aikaisemminkin valmistuksen aikana. Kun karboksyylin suojaryhmä poistetaan alkalisella hydrolyysillä, säilyy hydroksin suojaryhmä; mutta kun käytetään katalyyttistä hydrogenolyysiä karboksyylin suojaryhmän poistamiseksi, lohkeaa myös hydroksin suojaryhmä. Viimemainittu tilanne ei ole vakava ongelma, koska kaavan I mukaisten yhdisteiden valmistus voi tapahtua suojaamattoman tyrosyyliiryhmän läsnäollessa.

Eduellinen spesifinen menetelmä kaavan I mukaisten yhdisteiden valmistamiseksi käsittää 2- ja 3-asemien aminohapporyhmiä vastaavan dipeptidin liittämisen C-pääteryhmäaminohappoon, minkä jälkeen saatu tripeptidi liitetään N-pääteryhmän tyrosiiniin. C-pääteryhmän aminohappo voi olla rakenteeltaan sellainen, että se sisältää amidi-, alkoholi-, eetteri- tai esteriryhmän. Vaihtoehtoisesti se voi sisältää ryhmän, joka on halutun C-pääteryhmän edeltäjä. Yleinen reaktiojärjestys on esitetty seuraavassa kaaviossa. Kaaviossa kirjain Z tarkoittaa C-pääteryhmää joko sen lopullisessa muodossa tai sen edeltäjänä, symboli AA tarkoittaa aminohapporyhmää ja symbolin AA alaviittana oleva numero tarkoittaa aminohapon paikkaa lopullisena tuotteena olevassa peptidiketjussa.



Yllä oleva edustaa vain yhtä synteesitietä kaavan I mukaisten yhdisteiden valmistamiseksi. Muita synteesiteitä on tietysti myös käytettävissä. Eräs näistä käsittää erikseen valmistetun N-pääteryhmätripeptidin liittämisen erikseen valmistettuun C-pääteryhmän aminohappoon mitä seuraa kaikkien suojattujen ryhmien suojaryhmien poisto sopivalla tavalla. Eräs muu liuosmenetelmä, jota voidaan käyttää, käsittää vaiheittaisen, järjestyksessä suoritettavan yksittäisten aminohappojen lisäämisen peptidiketjun rakentamiseksi lähtien C-pääteryhmän aminohaposta. Tässä käytetään yllä kuvatun kaltaisia reaktiotekniikkoja samoin kuin mitä tahansa muita sopiviksi harkittuja preparatiivisia synteesiteitä.

Tietyissä kaavan I mukaisissa yhdisteissä yksi tai useampia ryhmistä R ja R₁ on vaihtoehtoisesti alkyyli, allyyli, propargyyli, etyyliitiometyyli, 2-fluorietyyli tai syklopropyyliimetyyli. Näissä tapauksissa käytetään sopivalta tavalla N-substituoitua aminohappoa valmistussynteesissä. Mikä tahansa N-monosubstituoiduista aminohapoista voidaan valmistaa seuraavassa esitetyllä tavalla käyttäen lähtöaineena N-suojattua aminohappoa:



35

Kuten yllä esitetystä synteetitiestä käy ilmi, käsitellään aminohappoa ensin kaliumhydridillä sopivan crown-eetterin läsnäollessa di-anionin aikaansaamiseksi. Väli-
 5 tuotetta käsitellään sitten sopivalla allyyli-, syklopropyylimetyyli-, propargyyli-, etyyliitiometyyli-, 2-fluorietyyli- tai alkyyljodidilla halutun N-substituoidun aminohapon saamiseksi.

On ilmeistä peptidisynteesien keskitason ammattimiehelle, että α -hiiliatomissa voi tapahtua rasemisoituminen
 10 voimakkaasti alkalisissa olosuhteissa kuten niissä, joita käytetään yllä esitettyssä alkylointimenetelmässä. Rasemisoitumisaste voi vaihdella riippuen kyseessä olevasta aminohaposta. Rasemisoitumista voidaan vähentää käyttämällä ylimäärin alkylointireagenssia ja pitämällä reaktioaika mahdollisimman lyhyenä. Kuitenkin, vaikkakin ylimääräistä rasemisoitumista tapahtuisi, tuote voidaan puhdistaa uudelleen-
 15 kiteyttämällä d(+)- α -fenyylietyyliamiinin suolana.

Kaavan I mukaisten peptidien C-pääteryhmä voidaan muuttaa hapon amidi-, ester-, alkoholi- tai eetterijohdannaiseksi. Muuttaminen amidiksi suoritetaan aktiivomalla aminohapon karboksyyli-ryhmä N,N'-disykloheksyylikarbodiimidillä (DCC) 1-hydroksibentsotriatsolin (HBT) läsnä ollessa jolloin saadaan HBT-esteri. Esteri saatetaan sitten reagoimaan vedettömän ammoniakkin kanssa amidin saamiseksi.

25 C-pääteryhmäestereitä saadaan vastaavista hapoista alalta hyvin tunnetuilla tavoilla. Muuttaminen primaariksi alkoholiksi suoritetaan valmistamalla C-pääteaminohapon tai -peptidin metyyliesteri. Esteri pelkistetään sitten natriumboorihydridin ja litiumkloridin avulla vastaavaksi primaariksi alkoholijohdannaiseksi.

Eetterit voidaan valmistaa millä tahansa lukuisista hyvin tunnetuista menetelmistä. Eräs näistä käsittää vastaavan alkoholin käsittelyn natriumhydroksidia sisältävässä vesiväliaineessa alkyylibromidilla, jonka alkyyliryhmä vastaa tarkoitetun eetterin alkyylisosaa.
 35

Kaavan I mukaiset yhdisteet ovat arvokkaita farmaseuttisia aineita. Niillä on analgeettinen teho ja myös neuroleptinen teho. Ne ovat erityisen käyttökelpoisia kivun lievittämiseen ja emotionaalisten häiriöiden parantamiseen annettuina parenteraalisti tai oraalisti imettäv-
 5 väisille, mukaan luettuna ihminen. Kaavan I mukaisten yhdisteiden erittäin merkittävä lisäetu on, yhdessä niiden analgeettisen ja neuroleptisen tehon kanssa, se, että niillä on hyvin vähäinen taipumus aiheuttaa fyysistä riippuvuutta.
 10 ta.

Kaavan I mukaisia yhdisteitä voidaan antaa yksistään tai yhdessä farmaseuttisesti hyväksyttävien lisäaineiden kanssa, joiden osuuden määrää yhdisteen liukoisuus ja kemiallinen luonne, valittu antotapa ja farmaseuttinen vakio-
 15 käytäntö.

Edullisia koostumuksia ovat ne, jotka soveltuvat parenteraaliin antoon, siis lihakseen, ihon alle tai laskimoon. Näihin kuuluvat steriilit, injektoitavat liuokset ja suspensiot ja steriilit, injektoitavat depot- ja hitaasti
 20 vapautuvat valmisteet. Erityisen sopivia steriilejä, injektoitavia liuoksia saadaan tekemällä ne isotoniseen suolaliuokseen tai isotoniseen dekstroosiliuokseen. Steriilejä injektoitavia koostumuksia voidaan valmistaa ja säilyttää sellaisina tai valmistaa välittömästi ennen käyttöä lisää-
 25 mällä steriili väliaine, esimerkiksi vesi, tunnettuun painomäärään steriiliä aineosaa, joka on suljettuna astiaan, esimerkiksi lääkepulloseen tai ampulliin, joka säilyttää aineosan steriilinä. Tunnettu painomäärä steriiliä aineosaa voi sisältää myös steriiliä dekstroosia tai natriumklori-
 30 dia sopivan määrän isotonisen liuoksen tai suspension aikaansaamiseksi sitten kun steriili väliaine on lisätty.

Edullisia koostumuksia ovat myös ne, jotka sopivat annettavaksi suun kautta. Näitä voidaan valmistaa erillisinä yksikköinä, kuten kapseleina, tabletteina ja niiden
 35 kaltaisina, joista jokainen sisältää ennalta määrätyn määrän aktiivista aineosaa. Edelleen niitä voidaan valmistaa

jauhe- tai raemuotoisina samoin kuin liuoksina tai suspensioina vesipitoisessa tai vedettömässä väliaineessa tai emulsiona.

Tabletti voidaan valmistaa puristamalla, tavallisesti yhden tai useampien lisäaineiden kanssa yhdessä. Tabletit valmistetaan puristamalla vapaasti valuvassa muodossa kuten jauheena tai rakeina oleva aktiivinen aineosa tavallisesti sekoitettuna yhteen tai useampaan muuhun aineosaan, kuten sideaineisiin, luistoaineisiin, inertteihin laimentimiin, voiteluaineisiin, pinta-aktiivisiin aineisiin, puskureihin, makuaineisiin, sakeuttimiin, säilöntäaineisiin, hajottamisaineisiin ja niiden kaltaisiin.

Lääkärit määrittävät kulloinkin sopivan, kaavan I mukaisen yhdisteen annostuksen. Valitut annostukset vaihtelevat riippuen antotavasta, kulloinkin annettavasta yhdisteestä, käsiteltävästä potilaasta ja käsittelytavasta. Yleensä annostus kuitenkin vaihtelee alueella noin 0,5 μ g - noin 2 mg hoidettavan kehon painokilogrammaa kohti ja edullisesti noin 10 μ g - noin 100 μ g painokilogrammaa kohti kun anto tapahtuu lihakseen tai ihon alle ja noin 0,1 μ g - noin 200 μ g hoidettavan kehon painokilogrammaa kohti ja edullisesti noin 1 μ g - noin 50 μ g kehon painokilogrammaa kohti kun anto tapahtuu laskimoon. Oraalisti annettuna annostus yleensä vaihtelee noin 100 μ g:sta noin 100 mg:aan hoidettavan kehon painokilogrammaa kohti ja edullisesti noin 500 μ g:sta noin 50 mg:aan kehon painokilogrammaa kohti ja edullisimmin noin 1 mg:sta noin 10 mg:aan kehon painokilogrammaa kohti.

Seuraavat esimerkit on tarkoitettu valaisemaan kaavan I mukaisten yhdisteiden valmistusta ja tehoa. Niitä ei ole tarkoitettu rajoittamaan näiden aluetta. Kaikki lyhenteet, joita näissä esimerkeissä käytetään, on määritelty edellä.

Esimerkki 1

L-(N-metyyli)tyrosyyli-D-alanyyliyglysyli-L-(N-syklopropyyli-metyyli)-m-bromifenyylialaniiniamidin ase-
taattisuolan valmistus

A. N^α-asetyyli-β-syaani-D,L-m-bromifenyylialaniini, etyyliesteri

Mekaanisesti sekoitettuun suspensioon, jossa oli 16,8 g (0,35 mol) natriumhydridiä (50 % mineraaliöljyssä) 260 ml:ssa kuivaa THF:a, lisättiin huoneen lämpötilassa pieninä erinä 59,56 g (0,35 mol) etyyliasetaamidosaani-asetaatia. Liuos, jossa oli 87,48 g (0,35 mol) m-bromibentsyylibromidia 50 ml:ssa THF:a (kuivaa), lisättiin ti-
poittain reaktioseokseen. Seosta jäähdytettiin aluksi lie-
västi ja sen jälkeen sitä sekoitettiin huoneen lämpötilassa 72 tuntia, jonka jälkeen sitä kuumennettiin palautusjäähdyttään 4 tunnin ajan. Sitten seos jäähdytettiin huoneen lämpötilaan ja lisättiin 80 ml etyylialkoholia. Seosta sekoitettiin vielä 30 minuuttia ja kaadettiin sitten 1-normaaliiseen HCl:ään. Vesipitoista seosta uutettiin etyyli-
asetaatilla ja etyyliasetaattikerros erotettiin ja pestiin peräkkäin vedellä, 1 N natriumbikarbonaatilla ja vedellä. Etyyliasetaatti kuivattiin natriumsulfaatilla ja väkevöitiin tyhjässä öljyksi (107 g).
NMR δ 2,0 (asetyyli), 3,4-3,5 (metyleeni) ja 7,1-7,5 (m-bromifenyyli).

B. D,L-m-bromifenyylialaniini

Vaiheesta A saatu tuote (107 g, 0,32 mol) suspendoitiin liuokseen, jossa oli 58,8 g (1,47 mol) natriumhydroksidihelmiä liuotettuna 220 ml:aan vettä. Saatua seosta keitetiin palautusjäähdyttään 24 tuntia. Seos jäähdytettiin sitten huoneen lämpötilaan ja pH säädettiin arvoon 6,5 6-normaalisisällä HCl:lla. Muodostunut sakka otettiin talteen ja kuivattiin, jolloin saatiin 41,01 g (53 %) otsikkoyhdistettä.

C. N^α-trifluoriasetyyli-D,L-m-bromifenyylialaniini

200 ml:aan trifluorietikkahappoa lisättiin 46,53 g (0,19 mol) D,L-m-bromifenyylialaniinia. Seos jäähdytettiin 0°C:een ja 29,3 ml (0,21 mol) trifluorietikkahappoanhydridiä lisättiin 5 minuutin kuluessa. Saatua liuosta sekoitettiin

0°C:ssa 1,5 tuntia. Seosta sekoitettiin kolme tuntia huoneen lämpötilassa minkä jälkeen se väkevöitiin tyhjössä. Jäännös laimennettiin 400 ml:lla vettä ja muodostunut sakka otettiin talteen ja kuivattiin. Kiinteä aine kiteytettiin eetterin ja petrolin seoksesta, jolloin saatiin 28,4 g (44 %) otsikkoyhdistettä.

Analyysi, laskettu $C_{11}H_9NO_3BrF_3$:lle (340,1):

C 38,85, H 2,67, N 4,12

Todettu: C 39,09, H 2,46, N 4,32

D. L-m-bromifenyylialaniini

500 ml:aan vettä lisättiin 28 g (0,082 mol) vaiheessa C saatua tuotetta. Seosta sekoitettiin ja lisättiin 2 N NaOH:ta kunnes saatiin kirkas liuos (pH 7,2). Lisättiin karboksipeptidaasi A:ta (25 mg) ja liuos pidettiin 37°C:ssa termostaattisesti valvotun vesihauteen avulla ja pH:ssa 7,2 radiometrisen pH-säätimen avulla. Kun oli sekoitettu lievästi viiden päivän ajan liuos säädettiin pH-arvoon 5,0, lisättiin hiiltä ja seos suodatettiin. Suodoksen pH säädettiin arvoon 3,0 1-normaalisisällä HCl:llä ja uutettiin kolmesti etyyliasetaatilla. Vesipitoisen liuoksen pH säädettiin sitten arvoon 7,0 2N NaOH:lla ja väkevöitiin tyhjössä kunnes L-isomeeri alkoi kiteytyä. Seoksen annettiin sitten jäähtyä huoneen lämpötilaan. Muodostunut sakka otettiin talteen ja kuivattiin, jolloin saatiin 10,9 g (109 %) otsikkoyhdistettä.

E. N^α-tert.-butyylioksikarbonyyli-L-m-bromifenyylialaniini

Seokseen, jossa oli 25 ml tert.-butyylialkoholia ja 20 ml vettä, lisättiin 9,9 g (0,041 mol) vaiheesta D saatua tuotetta ja sen jälkeen 20,5 ml (0,041 mol) 2N NaOH:ta ja 8,9 g (0,041 mol) di-tert.-butyylikarbonaattia. Seosta sekoitettiin huoneen lämpötilassa viisi tuntia, minkä jälkeen lisättiin 150 ml vettä. Vesipitoista seosta uutettiin eetterillä. Vesipitoinen kerros tehtiin sitten happameksi pH-arvoon 2,5 kylmällä 1N HCl:llä ja uutettiin eetterillä. Eetterikerros uutettiin vedellä, kuivattiin magnesiumsulfaa-

tilla ja haihdutettiin tyhjössä öljyksi. Öljy liuotettiin petrolieetteriin ja sen annettiin seistä yli yön 4°C:ssa. Muodostuneet kiteet otettiin talteen ja kuivattiin, jolloin saatiin 11,3 g (80 %) otsikkoyhdistettä, sp. 124-125°C.

5 $[\alpha]_D^{25} +16,7^\circ$ (c = 1,0, EtOH)

Analyysi, laskettu $C_{14}H_{18}NO_4Br$:lle (344):

C 48,85, H 5,27, N 4,07

Todettu: C 49,25, H 5,59, N 4,04

10 F. N^α-tert.-butyylioksikarbonyyli-L-m-bromifenyyli-
alaniiniamidi

50 ml:aan dimetyyliformamidia lisättiin 11,5 g (0,033 mol) N^α-tert.-butyylioksikarbonyyli-L-m-bromifenyylialaniinia. Seos jäähdytettiin -15°C:een ja lisättiin 3,63 ml

15 (0,033 mol) NMM ja 4,33 ml (0,33 mol) isobutyryliklooriformaattia. Seosta sekoitettiin -15°C:ssa viisi minuuttia, minkä jälkeen vedetöntä ammoniakkaa (kaasuna) kuplitettiin

reaktioseokseen yhden tunnin ajan. Seosta sekoitettiin vielä neljä tuntia -15°C:ssa. Seos kaadettiin sitten seokseen, jossa oli murskattua jäätä 1N natriumbikarbonaatissa. Saa-

20 tu vesipitoinen liuos uutettiin etyyliasetaatilla. Orgaaninen kerros erotettiin ja uutettiin peräkkäin vedellä, 1,5 N sitruunahapolla ja vedellä. Orgaaninen faasi kuivattiin magnesiumsulfaatilla ja väkevöitiin tyhjössä kiinteäksi aineeksi. Kiinteä aine trituroitiin eetterillä ja muodostunut sak-

25 ka otettiin talteen ja kuivattiin, jolloin saatiin 11,3 g (100 %) otsikkoyhdistettä, sp. 146-147°C.

$[\alpha]_D^{25} +9,8^\circ$ (c = 0,5, MeOH)

Analyysi, laskettu $C_{14}H_{19}N_2O_3Br$:lle (343,2):

30 C 48,99, H 5,58, N 8,16

Todettu: C 48,85, H 5,33, N 7,91

G. L-m-bromifenyylialaniiniamidi, hydrokloridisuola

60 ml:aan juuri valmistettua 1N HCl (kaasu) jäätikassa, joka sisälsi 5 ml anisolia, lisättiin 11,1 g (0,032 mol) vaiheen F tuotetta. Seosta sekoitettiin huoneen lämpö-

35

tilassa 30 minuuttia. Seos kaadettiin sitten eetteriin ja muodostunut sakka otettiin talteen ja kuivattiin, jolloin saatiin 8,75 g (98 %) otsikkoyhdistettä.

$[\alpha]_D^{25} +13,46^\circ$ (c = 0,5, MeOH).

5 Analyysi, laskettu $C_9H_{12}N_2OClBr$:lle (279,6):

C 38,67, H 4,33, N 10,02

Todettu: C 38,55, H 4,41, N 10,00.

H. N^α -syklopropyyylimetyyli-L-m-bromifenyyli-
niiniamidi

10 50 ml:aan vedetöntä etanolia lisättiin 4,2 g (0,015 mol) vaiheen G tuotetta ja sen jälkeen 5,04 g (0,06 mol) kiinteää vedetöntä natriumbikarbonaattia ja 2,04 g (0,015 mol) syklopropyyylimetyylibromidia. Seosta keitettiin palautus-
jäähdyttäen seitsemän tuntia. Seos haihdutettiin sitten tyh-
15 jössä öljyksi. Öljy liuotettiin 20 ml:aan kloroformia ja saatettiin 3 x 40 cm:n pylvääseen, jossa oli Grace and Davison grade 62 piigeeli kloroformissa. Tuote eluoitiin vaihegradientin noustessa 10 %:iseen metanoliin. Tuote eristettiin talteen otettujen fraktioiden ohutkerroskromatografiaprofiilin mukaisesti, jolloin saatiin 2,2 g (49 %) otsikkoyhdistettä.

NMR δ 1,6 (-NH-) ja 7,0-7,4 (m-bromifenyyli).

I. N^α -tert.-butyylioksikarbonyyli-D-alanyyligly-
syyli-L-(N^α -syklopropyyylimetyyli)-m-bromifenyy-
25 lialaniiniamidi

40 ml:aan dimetyyliformamidia lisättiin 2,1 g (7,1 mol) vaiheen H tuotetta. Seos jäähdytettiin 0°C:een ja lisättiin 1,87 g (7,1 mmol) N^α -tert.-butyylioksikarbonyyli-D-alanyyliglysiiniä ja sen jälkeen 0,96 g (7,1 mmol) HBT ja
30 1,46 g (7,1 mmol) DCC, Seosta sekoitettiin 0°C:ssa neljä tuntia ja sitten huoneen lämpötilassa 72 tuntia. Seos jäähdytettiin sitten 0°C:een, muodostuneet sakat poistettiin suodattamalla ja suodos haihdutettiin tyhjössä. Jäännös liuotettiin etyyliasetaattiin ja liuosta uutettiin perä-
35 käin 1 N natriumbikarbonaatilla, vedellä, 1,5 N sitruunahapolla ja vedellä. Orgaaninen faasi kuivattiin sitten mag-

nesiumsulfaatilla ja haihdutettiin tyhjöissä öljyksi, jolloin saatiin 1,5 g (40 %) otsikkoyhdistettä.

J. N^α-tert.-butyylioksikarbonyyli-N^α-metyyli-L-tyrosyyli-D-alanyyliglysyli-L-(N^α-syklopropyyli-metyyli)-m-bromifenyylialaniiniamidi

5 50 ml:aan trifluorietikkahappoa, joka sisälsi 5 ml anisolia, lisättiin 1,5 g (2,9 mmol) vaiheen I tuotetta. Seosta sekoitettiin 0°C:ssa 30 minuuttia ja haihdutettiin tyhjöissä lämmittämättä. Muodostunut öljy laimennettiin etherillä. Emäliuos dekantoitiin ja jäljelle jäänyt öljy kuivatettiin tyhjöissä.

15 15 ml:aan dimetyyliformamidia lisättiin 0,856 g (2,9 mmol) N^α-tert.-butyylioksikarbonyyli-N^α-metyyli-L-tyrosiinia. Seos jäähdytettiin -15°C:een ja 0,32 ml (2,9 mmol) NMM ja 0,38 ml (2,9 mmol) IBCF lisättiin nopeasti samalla sekoittaen. Sekoittamista jatkettiin -15°C:ssa sinä aikana kun valmistettiin seuraava:

20 Yllä saadun tripeptidin TFA-suola liuotettiin 10 ml:aan DMF:a. Seos jäähdytettiin 0°C:een ja 0,32 ml (2,9 mmol) NMM lisättiin yhtenä eränä. Liuosta sekoitettiin täydellisen reaktion varmistamiseksi. Muodostunut seos lisättiin sitten edellä valmistettuun seka-anhydridiliuokseen. Saatua seosta sekoitettiin -15°C:ssa 4 tuntia. Seoksen annettiin sitten hitaasti lämmetä huoneen lämpötilaan ja sekoittamista jatkettiin yli yön. Seos kaadettiin sen jälkeen 1 N natriumbikarbonaattiin ja saatua vesipitoista liuosta uutettiin etyyliasetaatilla. Orgaaninen faasi erotettiin ja uutettiin peräkkäin vedellä, 1,5 N sitruunahapolla ja vedellä. Etyyli-
25 asetaatti kuivatettiin sitten magnesiumsulfaatilla ja väkevöitiin tyhjöissä öljyksi (1,6 g). Öljy liuotettiin asetoniin ja vietiin preparatiivisille ohutkerroslevyille. Levyt eluoitiin kloroformin ja metanolin 9:1 seoksella. Pääkomponentti leikattiin TLC-levyiltä ja eluoitiin silikageeliltä, jolloin saatiin 0,8 g (39 %) otsikkoyhdistettä.

K. N^α-metyyli-L-tyrosyyli-D-alanyylylglysyili-
L-(N^α-syklopropyyylimettyli)-m-bromifenyyliala-
niiniamidi, asetaattisuola

15 ml:aan TFA, joka sisälsi 3 ml anisolia, lisättiin
 5 0,8 g (1,2 mmol) vaiheen J tuotetta. Seosta sekoitettiin 0°C:
 ssa 30 minuuttia, minkä jälkeen se jäädytyskuivattiin. Muo-
 dostunut kiinteä aine liuotettiin 9,0 ml:aan 0,1 M ammonium-
 asetaattiliuosta, joka sisälsi 3l % asetonitriiliä. Liuos
 vietiin 4 x 72 cm:n C₁₈-käänteisfaasipiigeeli-HPLC-pylvää-
 10 seen. Ajo pylvään läpi suoritettiin 4,2 kg/cm²:n paineella
 ja eluaattia tarkkailtiin 280 nm:ssa. Sopivat fraktiot yh-
 distettiin ja lyofilisoitiin. Saatu kiinteä aine liuotettiin
 0,2 M etikkahappoon (10 ml) ja liuos vietiin 2,5 x 100 cm:n
 G-10 Sephadex-pylvääseen, joka oli ensin tasapainotettu sa-
 15 malla liuottimella. Eluaattia tarkkailtiin 280 nm:ssa ja
 sopivat fraktiot yhdistettiin ja lyofilisoitiin, jolloin
 saatiin 773 mg (97 %) otsikkoyhdistettä.

$$[\alpha]_D^{25} + 6,64 \quad (c = 0,5, 1 \text{ N HCl})$$

20 Analyysi, laskettu C₃₀H₄₀N₅O₇Br:lle (662,6):

C 54,38, H 6,09, N 10,57

Todettu: C 54,30, H 5,99, N 10,28

Aminohappoanalyysi: Ala 0,97, Gly 1,03, NH₃ 0,99

Muita yhdisteitä, jotka on valmistettu esimerkin l
 mukaisella menetelmällä, ovat seuraavat:

25 Esimerkki 2

L-(N-mettyli)tyrosyyli-D-alanyylylglysyili-L-(N-etyy-
li)-m-bromifenyylialaniiniamidi, asetaattisuola

$$[\alpha]_D^{25} + 7,1^{\circ} \quad (c = 0,5, 1 \text{ N HCl}).$$

30 Analyysi, laskettu C₂₈H₃₈N₅O₇Br:lle (363,5):

C 52,83, H 6,02, N 11,00

Todettu: C 53,09, H 6,13, N 11,18

Aminohappoanalyysi: Ala 0,99, Gly 1,01, NH₃ 1,04

Esimerkki 3

35 L-tyrosyyli-D-alanyylylglysyili-L-(N-etyyli)-m-bromi-
fenyylialaniiniamidi, asetaattisuola

$[\alpha]_D^{25} -8,3^\circ$ (c = 0,5, 1 N HCl)

Analyysi, laskettu $C_{27}H_{36}N_5O_7Br$:lle (623):
C 52,09, H 5,83, N 11,25

Todettu: C 52,13, H 6,09, N 11,39

5 Aminohappoanalyysi: Tyr 1,01, Ala 0,99, Gly 0,99,
NH₃ 1,01.

Esimerkki 4

L-(N-metyyli)tyrosyyli-D-alanyyliglysyli-L-(N-etyyli)-m-mekyyli
fenyylialaniiniamidi, asetaattisuola

$[\alpha]_D^{25} +9,2^\circ$ (c = 0,5, 1 N HCl).

Analyysi, laskettu $C_{29}H_{41}N_5O_7$:lle (571,7):
C 60,93, H 7,23, N 12,25

Todettu: C 60,68, H 7,00, N 12,46

15 Aminohappoanalyysi: Ala 0,98, Gly 1,02, NH₃ 0,96.

Esimerkki 5

L-tyrosyyli-D-alanyyliglysyli-L-(N-etyyli)-m-kloorifenyylialaniiniamidi, asetaattisuola

$[\alpha]_D^{25} -13,7^\circ$ (c = 0,5, 1 N HCl).

20 Analyysi, laskettu $C_{27}H_{36}N_5O_7Cl$:lle (578,1):
C 56,10, H 6,28, N 12,12

Todettu: C 55,84, H 6,37, N 12,35

Aminohappoanalyysi: Tyr 1,02, Ala 0,99, Gly 0,98,
NH₃ 0,88.

25 Esimerkki 6

L-(N-metyyli)tyrosyyli-D-alanyyliglysyli-L-(N-etyyli)-m-kloorifenyylialaniiniamidi, asetaattisuola

$[\alpha]_D^{25} -9,2^\circ$ (c = 0,5, 1 N HCl).

30 Analyysi, laskettu $C_{28}H_{38}N_5O_7Cl$:lle (592,1):
C 56,80, H 6,47, N 11,83

Todettu: C 57,11, H 6,45, N 12,15.

Aminohappoanalyysi: Ala 0,99, Gly 1,00, NH₃ 1,01.

Esimerkki 7

35 L-tyrosyyli-D-alanyyliglysyli-L-(N-etyyli)-m-jodifenyylialaniiniamidi, asetaattisuola

$[\alpha]_D^{25} -14,0^\circ$ ($c = 0,5$, 1 N HCl).

Analyysi, laskettu $\text{C}_{27}\text{H}_{36}\text{N}_5\text{O}_7\text{I}$:lle (669,5):

C 48,44, H 5,42, N 10,46

Todettu: C 48,40, H 5,25, N 10,66.

5 Aminohappoanalyysi: Tyr 1,01, Ala 0,99, Gly 0,99,
 NH_3 1,05.

Esimerkki 8

L-tyrosyyli-D-alanyyliglysyli-L-(N-syklopropyyli-
metyyli)-m-jodifenyylialaniiniamidi, asetaattisuola

10 $[\alpha]_D^{25} +1,18^\circ$ ($c = 0,5$, $1\text{ M CH}_3\text{COOH}$).

Analyysi, laskettu $\text{C}_{29}\text{H}_{38}\text{N}_5\text{O}_7\text{I}$:lle:

C 50,08, H 5,51, N 10,07

Todettu: C 50,00, H 5,22, N 10,23

15 Aminohappoanalyysi: Tyr 0,99, Ala 1,01, Gly 0,99,
 NH_3 0,95.

Esimerkki 9

L-(N-metyyli)tyrosyyli-D-alanyyliglysyli-L-(N-syk-
lopropyyli-metyyli)-m-jodifenyylialaniiniamidi, ase-
taattisuola.

20 $[\alpha]_D^{25} +0,787^\circ$ ($c = 0,5$, $1\text{ M CH}_3\text{COOH}$).

Analyysi, laskettu $\text{C}_{30}\text{H}_{40}\text{N}_5\text{O}_7\text{I}$:lle:

C 50,78, H 5,68, N 9,81

Todettu: C 50,50, H 5,40, N 9,88.

25 Kaavan I mukaisten yhdisteiden analgeettinen aktiivi-
 suus osoitetaan hiiren kuumalevy-kokeella. Tässä kokeessa
 käytetään pystysuoraa akryylisylinteriä, jonka pohjana on
 kuuma levy, joka pidetään 52°C :ssa. Hiirelle annetaan ihon-
 alaisena ruiskeena ennalta määrätty määrä tutkittavaa yh-
 distettä liuotettuna tai suspendoituna sopivaan kantajaan
 30 ja 15 minuuttia sen jälkeen kun tutkittavaa yhdistettä on
 annettu hiiri pannaan kuumalle levyille. Mitataan sekuntei-
 na aika, joka kuluu ennen kuin hiiri hyppää kuumalta levyl-
 tä. Aine, jolla on analgeettista aktiivisuutta, saa aikaan
 tämän ajan pitenemisen verrattuna vastaavaan aikaan hiirillä,
 35 jotka saavat vain kantaja-ainetta. Tämän täytyy tapahtua
 annostusalueella, joka ei aiheuta lihasten yhteistoiminnan

häiriötä tai motorista kykenemättömyyttä. Seuraavassa taulukossa I on annettu tässä kokeessa saadut ED_{50} -arvot. Ilmaisulla " ED_{50} " tarkoitetaan annostusta, joka saa aikaan kivuntunnottomuuden 50 %:lla tutkittavista hiiristä.

- 5 Kivuntunnottomuus määritellään tutkittavaa yhdistettä käytettäessä saatuna hypyn viivästymisaikana, joka on yhtä suuri tai suurempi kuin verrokkien vastaava aika plus kaksinkertainen standardihajonta. Prosenttiset kivuntunnottomuusarvot muutetaan probiteiksi ja ED_{50} -arvot lasketaan regressioanalyysin avulla annostus-vastearvoista.
- 10 Jokaisella annostus-vaste-käyrällä täytyy olla ainakin neljä pistettä ja jokaisen pisteen täytyy olla määritetty käyttäen vähintään kymmentä käsiteltyä hiirtä ja kymmentä verrokkihiirtä.

15

Taulukko 1

Analgeettinen aktiivisuus, kuumalevykoe

Yhdiste	ED_{50} , mg/kg
20	Esimerkki 1
	$1,2 \times 10^{-7}$
	Esimerkki 2
	0,003
	Esimerkki 3
	0,0049
	Esimerkki 4
	0,003
	Esimerkki 5
	0,0003
25	Esimerkki 6
	0,0018
	Esimerkki 7
	0,0019

- Lisäksi kaavan I mukaisilla yhdisteillä on vähäinen taipumus aiheuttaa fyysistä riippuvuutta. Tämä osoitetaan
- 30 hiiren liikkuvuuskokeella (locomotor activity test). Yhdisteen taipumuksella aiheuttaa fyysistä riippuvuutta on havaittu olevan hyvä korrelaatio sen kykyyn lisätä hiiren liikkuvuutta, vrt. Goldstein et al., The Journal of Pharmacology and Experimental Therapeutics 169, 175-184 (1969), Rethy et al., The Journal of Pharmacology and Experimental Therapeutics 176, 472-476 (1971), ja Brase et al., The Journal of
- 35

Pharmacology and Experimental Therapeutics 201(2), 368-374 (1977).

Hiiren liikkuvuus mitataan käyttäen sylinterimäisiä metalliverkosta tehtyjä häkkeitä, jotka ovat 5,1 cm (2")
5 korkeat ja halkaisijaltaan 27,9 cm (11"). Kuusi häkkiä suljetaan ilmastoituun, äänieristettyyn kammioon, jossa on tasainen valaistus. Valonsäde suunnataan häkin keskuksen läpi vastakkaisella puolella olevaan valokennoon. Kaksi hiirtä sijoitetaan kuhunkin häkkiin tunnin ajaksi niin että
10 ne mukautuvat ympäristöön. Viidelle hiiriparille injektoidaan sitten ihonalaisesti ennalta määrätty annos tutkittavaa yhdistettä yhden parin saadessa suolaliuoskantajaa, jossa ei ole tutkittavaa yhdistettä. Hiiret pannaan takaisin vastaaviin häkkeihin kolmen tunnin ajaksi. Rekisteröidään pulssien lukumäärä kunkin 15 minuutin kuluessa sekä niiden kokonaismäärä kolmen tunnin ajalta. Jokainen valonsäteen katkeaminen rekisteröityy pulssina.

Seuraavassa taulukossa II on annettu pulssien kokonaismäärän keskiarvo kullekin kymmenen hiiren ryhmälle, jotka
20 tutkittiin käyttäen tiettyä yhdistettä ja annostusta. On ilmeistä, että verrattuna vastaaviin aikaisemmin tunnetuihin yhdisteisiin, kaavan I mukaiset yhdisteet aiheuttavat olennaisesti vähemmän liikkuvuutta.

Taulukko II

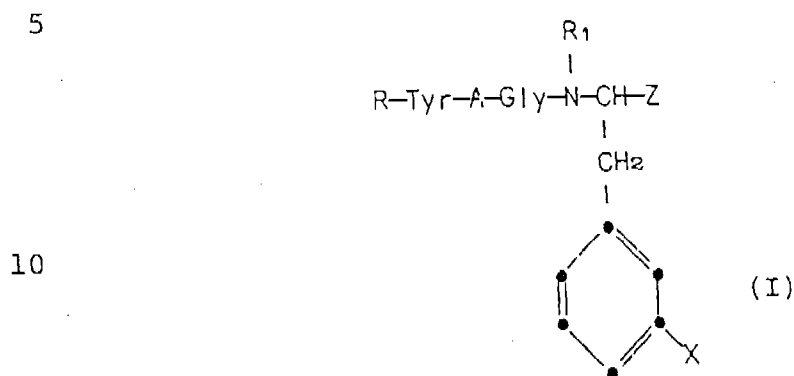
R-Tyr-D-Ala-Gly-(N-R₁)(R₂)Phe-NH₂

Yhdiste		Annos mg/kg						
R	R ₁	R ₂	4	8	16	32	64	128
H	Et	m-Cl	125	613	819	2388	3667	2807
Me	Et	m-Cl	148	304	796	1978	4477	3476
H	Et	m-Br	---	200	512	1092	2820	---
Me	Et	m-Br	142	235	358	701	2523	5153
Me	Cpm	m-Br	171	140	276	320	1888	2159
H	Et	m-I	178	174	363	852	1630	2871
Me	Et	m-Me	173	255	537	1176	3231	3852
H	Et	H [*]	704	1204	2916	3528	---	---
Me	Et	p-F [*]	431	1425	2415	2033	---	---

*) tunnettuja yhdisteitä

Patenttivaatimukset:

1. Menetelmä yleisen kaavan



mukaisen yhdisteen ja sen farmaseuttisesti hyväksyttävien
 15 myrkyttömien happoadditiosuolojen valmistamiseksi, jossa
 kaavassa R on vety, metyyli, etyyli, syklopropyylimetyyli
 tai allyyli; A on radikaali D-aminohaposta, joka on jokin
 hapoista Ala, Abu, Nva, Val, Nle, Leu, Ile, Gly(Al), Gly
 (Cp), Met, Cys(Me), Met(O), Cys(Me)(O), Ser, Thr ja Hse;
 20 R_1 on primaarinen C_1 - C_3 -alkyyli, syklopropyylimetyyli, al-
 lyyli, etyylitiometyyli, 2-fluorietyyli tai propargyyli;
 X on bromi, jodi, kloori, metyyli, trifluorimetyyli tai
 metoksi; ja Z on $-CH_2OR_2$,

25 $\overset{O}{\parallel}-C-NH_2$ tai $\overset{O}{\parallel}-C-OR_3$, jossa R_2 on vety, asetyyli tai asetoksi-
 metyyli ja R_3 on C_1 - C_3 -alkyyli; t u n n e t t u siitä, että
 lohkaistaan suojaryhmät vastaavasti suojatusta kaavan I mu-
 kaisesta yhdisteestä suojaryhmiä poistavalla aineella.

2. Patenttivaatimuksen 1 mukainen menetelmä L-(N-
 30 metyyli)tyrosyyli-D-alanyyliglysyli-L-(N-syklopropyyli-
 metyyli)-m-bromifenyylialaniiniamidin valmistamiseksi,
 t u n n e t t u siitä, että N^α -tert.-butyylioksikarbonyy-
 li- N^α -metyyli-L-tyrosyyli-D-alanyyliglysyli-L-(N^α -syklo-

propyyli-metyyli)-m-bromifenyyli-alaniiniamidi saatetaan reagoimaan trifluorietikkahapon kanssa.

3. Patenttivaatimuksen 1 mukainen menetelmä L-(N-metyyli)-tyrosyyli-D-alanyyliglysyli-L-(N-etyyli)-m-bromifenyyli-alaniiniamidin valmistamiseksi, t u n n e t t u siittä, että N^{α} -tert.-butyylioksikarbonyyli- N^{α} -metyyli-L-tyrosyyli-D-alanyyliglysyli-L-(N^{α} -etyyli)-m-bromifenyyli-alaniiniamidi saatetaan reagoimaan trifluorietikkahapon kanssa.

10 4. Patenttivaatimuksen 1 mukainen menetelmä L-tyrosyyli-D-alanyyliglysyli-L-(N-etyyli)-m-bromifenyyli-alaniiniamidin valmistamiseksi, t u n n e t t u siittä, että N^{α} -tert.-butyylioksikarbonyyli-L-tyrosyyli-D-alanyyliglysyli-L-(N^{α} -etyyli)-m-bromifenyyli-alaniiniamidi saatetaan reagoimaan trifluorietikkahapon kanssa.

15 5. Patenttivaatimuksen 1 mukainen menetelmä L-(N-metyyli)-tyrosyyli-D-alanyyliglysyli-L-(N-metyyli)-m-metyylifenyyli-alaniiniamidin valmistamiseksi, t u n n e t t u siittä, että N^{α} -tert.-butyylioksikarbonyyli- N^{α} -metyyli-L-tyrosyyli-D-alanyyliglysyli-L-(N^{α} -metyyli)-m-metyylifenyyli-alaniiniamidi saatetaan reagoimaan trifluorietikkahapon kanssa.

20 6. Patenttivaatimuksen 1 mukainen menetelmä L-tyrosyyli-D-alanyyliglysyli-L-(N-etyyli)-m-kloorifenyyli-alaniiniamidin valmistamiseksi, t u n n e t t u siittä, että N^{α} -tert.-butyylioksikarbonyyli-L-tyrosyyli-D-alanyyliglysyli-L-(N^{α} -etyyli)-m-kloorifenyyli-alaniiniamidi saatetaan reagoimaan trifluorietikkahapon kanssa.

30 7. Patenttivaatimuksen 1 mukainen menetelmä L-(N-metyyli)-tyrosyyli-D-alanyyliglysyli-L-(N-etyyli)-m-kloorifenyyli-alaniiniamidin valmistamiseksi, t u n n e t t u siittä, että N^{α} -tert.-butyylioksikarbonyyli- N^{α} -metyyli-L-tyrosyyli-D-alanyyliglysyli-L-(N^{α} -etyyli)-m-kloorifenyyli-alaniiniamidi saatetaan reagoimaan trifluorietikkahapon kanssa.

8. Patenttivaatimuksen 1 mukainen menetelmä L-tyrosyyli-D-alanyylyglysyili-L-(N-etyyli)-m-jodifenyyli-alaniiniamidin valmistamiseksi, t u n n e t t u siitä, että N α -tert.-butyylioksikarbonyyli-L-tyrosyyli-D-alanyylyglysyili-L-(N α -etyyli)-m-jodifenyyli-alaniiniamidi
5 saatetaan reagoimaan trifluorietikkahapon kanssa.

9. Patenttivaatimuksen 1 mukainen menetelmä L-tyrosyyli-D-alanyylyglysyili-L-(N-syklopropyyylimetyyli)-m-jodifenyyli-alaniiniamidin valmistamiseksi, t u n n e t t u
10 siitä, että N α -tert.-butyylioksikarbonyyli-L-tyrosyyli-D-alanyylyglysyili-L-(N α -syklopropyyylimetyyli)-m-jodifenyyli-alaniiniamidi saatetaan reagoimaan trifluorietikkahapon kanssa.

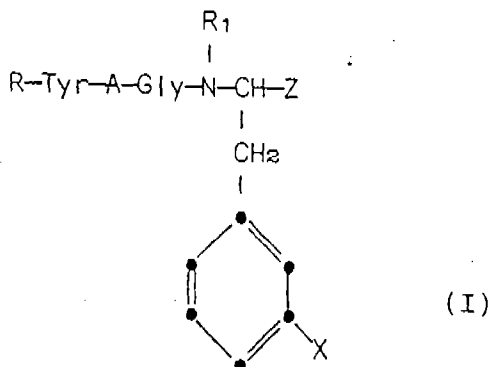
10. Patenttivaatimuksen 1 mukainen menetelmä L-(N-metyyli)tyrosyyli-D-alanyylyglysyili-L-(N-syklopropyyylimetyyli)-m-jodifenyyli-alaniiniamidin valmistamiseksi, t u n n e t t u
15 siitä, että N α -tert.-butyylioksikarbonyyli-N α -metyyli-L-tyrosyyli-D-alanyylyglysyili-L-(N α -syklopropyyylimetyyli)-m-jodifenyyli-alaniiniamidi saatetaan reagoimaan trifluorietikkahapon kanssa.
20

Patentkrav:

1. Förfarande för framställning av en förening med den allmänna formeln

5

10



15 och farmaceutiskt godtagbara, giftfria syraadditionssalt därav, varvid R är väte, metyl, etyl, cyklopropylmetyl eller allyl;

A är en rest av en D-aminosyra, vilken valts bland Ala, Abu, Nva, Val, Nle, Leu, Ile, Gly(Al), Gly(CP), Met, Cys(Me),
20 Met(O), Cys(Me) (O), Ser, Thr och Hse;

R_1 är C_1 - C_3 -primär alkyl, cyklopropylmetyl, allyl, etyltiometyl, 2-fluoretyl eller propargyl;

X är brom, jod, klor, metyl, trifluormetyl eller metoxi;
och

25

Z är $-\text{CH}_2\text{OR}_2$, $-\overset{\text{O}}{\underset{\text{||}}{\text{C}}}\text{-NH}_2$ eller $-\overset{\text{O}}{\underset{\text{||}}{\text{C}}}\text{-OR}_3$, vari R_2 är väte, acetyl eller acetoximetyl och R_3 är C_1 - C_3 -alkyl; k ä n n e t e c k n a t

därav, att blockeringsgrupperna spjälks från den motsvarigt skyddade föreningen med formeln I, med ett
30 avblockeringsmedel.

30

2. Förfarande enligt patentkravet 1 för framställning av L-(N-metyl)-tyrosyl-D-alanyl-glycyl-L-(N-cyklopropylmetyl)-m-bromfenylalaninamid, k ä n n e t e c k n a t

därav, att N^{L} -t-butyloxikarbonyl- N^{L} -metyl-L-tyrosyl-D-alanyl-glycyl-L-
35 (N^{L} -cyklopropylmetyl)-m-bromfenylalaninamid reageras med trifluorättiksyra.

3. Förfarande enligt patentkravet 1 för framställning av L-(N-metyl)tyrosyl-D-alanyl-glycyl-L-(N-etyl)-m-bromfenylalaninamid, k ä n n e t e c k n a t därav, att N α -t-butyloxikarbonyl-N α -metyl-L-tyrosyl-D-alanyl-glycyl-L-(N α -etyl)-m-bromfenylalaninamid reageras med trifluorättiksyra.

4. Förfarande enligt patentkravet 1 för framställning av L-tyrosyl-D-alanyl-glycyl-L-(N-etyl)-m-bromfenylalaninamid, k ä n n e t e c k n a t därav, att N α -t-butyloxikarbonyl-L-tyrosyl-D-alanyl-glycyl-L-(N α -etyl)-m-bromfenylalaninamid reageras med trifluorättiksyra.

5. Förfarande enligt patentkravet 1 för framställning av L-(N-metyl)-tyrosyl-D-alanyl-glycyl-L-(N-metyl)-m-metyl-fenylalaninamid, k ä n n e t e c k n a t därav, att N α -t-butyloxikarbonyl-N α -metyl-L-tyrosyl-D-alanyl-glycyl-L-(N α -metyl)-m-metylphenylalaninamid reageras med trifluorättiksyra.

6. Förfarande enligt patentkravet 1 för framställning av L-tyrosyl-D-alanyl-glycyl-L-(N-etyl)-m-klorfenylalaninamid, k ä n n e t e c k n a t därav, att N α -t-butyloxikarbonyl-L-tyrosyl-D-alanyl-glycyl-L-(N α -etyl)-m-klorfenylalaninamid reageras med trifluorättiksyra.

7. Förfarande enligt patentkravet 1 för framställning av L-(N-metyl)-tyrosyl-D-alanyl-glycyl-L-(N-etyl)-m-klorfenylalaninamid, k ä n n e t e c k n a t därav, att N α -t-butylloxikarbonyl-N α -metyl-L-tyrosyl-D-alanyl-glycyl-L-(N α -etyl)-m-klorfenylalaninamid reageras med trifluorättiksyra.

8. Förfarande enligt patentkravet 1 för framställning av L-tyrosyl-D-alanyl-glycyl-L-(N-etyl)-m-jodfenylalaninamid, k ä n n e t e c k n a t därav, att N α -t-butyloxikarbonyl-L-tyrosyl-D-alanyl-glycyl-L-(N α -etyl)-m-jodfenylalaninamid reageras med trifluorättiksyra.

9. Förfarande enligt patentkravet 1 för framställning av L-tyrosyl-D-alanyl-glycyl-L-(N-cyklopropylmetyl)-m-jodfenylalaninamid, k ä n n e t e c k n a t därav, att N α -t-butyloxikarbonyl-L-tyrosyl-D-alanyl-glycyl-L-(N α -cyklopropylmetyl)-m-jodfenylalaninamid reageras med trifluorättiksyra.

10. Förfarande enligt patentkravet 1 för framställning av L-(N-metyl)tyrosyl-D-alanyl-glycyl-L-(N-cyklopropylmetyl)-m-jodfenylalaninamid, k ä n n e t e c k n a t därav, att
- 5 N α -t-butyloxikarbonyl-N α -metyl-L-tyrosyl-D-alanyl-glycyl-L-(N -cyklopropylmetyl)-m-jodfenylalaninamid reageras med tri-fluorättiksyra.

Viitejulkaisuja - Anförda publikationer

Julkisia suomalaisia patenttihakemuksia: - Offentliga finska patentansökninga

Hakemus-, kuulutus- ja patenttijulkaisuja: - Ansökningspublikationer,
utläggnings- och patentskrifter:

FI -A-781447, CO7C 103/52, FI-A-770219, CO7K 7/12
FI-C-66842, CO7C 103/52

CH

DE

DK

FR

GB

NO

SE

US

EP

WO

ZA-A-774479, A61K

Muita julkaisuja: - Andra publikationer:

16.7.86 Pell-Karén

Allekirjoitus