



Wirtschaftspatent

Erteilt gemäß § 5 Absatz 1 des Änderungsgesetzes
zum Patentgesetz

ISSN 0433-6461

(11)

2010 246

Int.Cl.³

3(51) C 07 C103/52

AMT FÜR ERFINDUNGS- UND PATENTWESEN

In der vom Anmelder eingereichten Fassung veröffentlicht

(21) WP C 07 C/ 2319 554

(22) 21.07.81

(44) 29.06.83

(71) KARL-MARX-UNIVERSITÄT LEIPZIG; DD;

(72) JAKUBKE, HANS-DIETER, PROF. DR. SC. NAT. DIPL.-CHEM.;
NEUBERT, KLAUS, DR. RER. NAT. DIPL.-CHEM.; HARTRODT, BIANKA, DR. RER. NAT. DIPL.-CHEM.;
MANSFELD, JOHANNA, DR. RER. NAT. DIPL.-BIOCHEM.; BERGMANN, JUTTA, DR.
DIPL.-MED.; MEHLIS, BURKHARD, DR. SC. NAT. DIPL.-CHEM., DD

(73) siehe (72)

(74) DR. RER. NAT. P. NENNING, KARL-MARX-UNIVERSITÄT, DIREKT. F. FORSCH., BFN, 7010 LEIPZIG,
GOETHESTR. 3-5

(54) VERFAHREN ZUR HERSTELLUNG VON CYCLO [ELEDOSIN (6-11)-HEXAPEPTID]

(57) Die Erfindung betrifft ein Verfahren zur Herstellung des homodet-cyclischen Eledoisin(6-11)-hexapeptides. Das Cyclopeptid ist ein potentieller Antagonist der Tachykininwirkstoffe. Die Darstellung des cyclischen Eledoisin(6-11)-hexapeptides erfolgt durch Ringschlußreaktion der linearen Vorstufe H-Leu-Met-Ala-Phe-Ile-Gly-OH nach verschiedenen strategischen Varianten. Das lineare Hexapeptid wird durch Segmentkondensation aufgebaut. Das Cyclopeptid ist für die pharmazeutische Industrie und die klinische Pharmakologie von Interesse.

Verfahren zur Herstellung von cyclo[Eleodoisin(6 - 11)-
hexapeptid]

Anwendungsgebiet der Erfindung

Die Erfindung betrifft ein Verfahren zur Herstellung des homodet-cyclischen Eleodoisin(6 - 11)-hexapeptides. Eleodoisin gehört zur Gruppe der Tachykinine, die sich durch glattnuskulär-kontrahierende, hypotensive und sialoge Wirkungen auszeichnen, wobei das C-terminale Pentapeptid(7 - 11) Träger der biologischen Aktivität ist. Das homodet-cyclische Eleodoisin(6 - 11)-hexapeptid ist ein potentieller Antagonist der Tachykinin-Wirkstoffe. Die Erfindung ist von Bedeutung für die pharmazeutische Industrie und die klinische Pharmakologie.

Charakteristik der bekannten technischen Lösungen

Die Cyclisierung nativ vorliegender linearer Peptidwirkstoffe für biologische Aktivitätsuntersuchungen in Richtung Wirkungsdifferenzierung ist bekannt.

So wurden im Rahmen von Untersuchungen über den Einfluß der Konformationsstabilisierung auf die biologische Aktivität u.a. die linearen Peptide Kallidin, Bradykinin, luteinisierendes Hormon-Releasing Hormon und Substanz P-Teilsequenzen cyclisiert (vgl. beispielsweise J. Meienhofer, Liebigs Ann.

Chem. 691, 218 (1966); M. Mutulis et al., 5. Allunionssymposium über Chemie und Physik der Eiweiße und Peptide, Baku, Okt. 1980, UdSSR; H. David et al., Central Nervous System Effect of Hypothalamic Hormones and other Peptides (Ed. by Collu et al.), Raven Press, New York, 1979, S. 317; K. Neubert et al., Peptides 1978, Proceed. of the 15th European Peptide Symposium, Gdansk, Poland, Sept. 1978 (Ed. Z. Sienion, G. Kupryszewski), Wroclaw University Press, Poland 1979, S. 455).

Die Ringschlußreaktion der entsprechenden linearen Peptidsequenz erfolgte unter Verdünnungsbedingungen nach den in der Peptidchemie üblichen Cyclisierungsstrategien (vgl. E. Wunsch, Synthese von Peptiden in Houben-Weyl Bd. 15/II, Methoden der organischen Chemie (Ed. E. Müller), Georg Thieme-Verlag Stuttgart, 1974). Die Herstellung von homodet-cyclischem Eledoisin bzw. Eledoisin-Partialsequenzen ist aus der Literatur bisher nicht bekannt.

Ziel der Erfindung

Das Ziel der Erfindung ist ein einfaches Verfahren zur Herstellung des homodet-cyclischen Eledoisin(6 - 11)-hexapeptides durch Ringschlußreaktion von H-Leu-Met-Ala-Phe-Ile-Gly-OH (Aminosäuresymbole entsprechend IUPAC-IUB Commission on Biochemical Nomenclature, J. Biol. Chem. 247, 977 (1972)), wobei der Aufbau der linearen Vorstufe in einfacher Weise durch Segmentkondensation erfolgt.

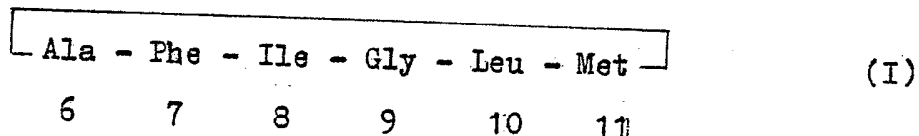
Darlegung des Wesens der Erfindung

Der Erfindung liegt die Aufgabe zugrunde, durch Cyclisierung des linearen Peptides H-Leu-Met-Ala-Phe-Ile-Gly-OH unter Verdünnungsbedingungen cyclo-[Eledoisin(6 - 11)-hexapeptid] herzustellen.

Für den Aufbau der linearen Vorstufe sind mehrere strategische Varianten möglich, da die Ringschlußreaktion prinzipiell

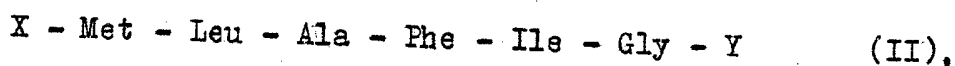
an jeder Aminosäure erfolgen kann. Die gewählte Segmentkondensation (2 + 4 Verknüpfung) mit C-terminalem Glycin besitzt den Vorteil, daß bei der nachfolgenden Cyclisierungsreaktion eine Racemisierung ausgeschlossen wird.

Die mit Hilfe des erfindungsgemäßen Verfahrens dargestellte Verbindung ist durch die Formel I



gekennzeichnet.

Als Zwischenprodukte zur Darstellung der Verbindung der Formel (I) dienen die linearen geschützten Hexapeptide der Formel (II)

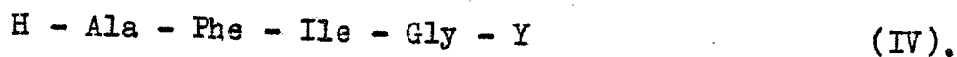


worin X für tert. Butyloxycarbonyl; Benzoyloxycarbonyl; unterschiedlich substituierte Benzoyloxycarbonyl-Verbindungen; o-Nitrophenylsulfenyl; 2-p-Biphenylisopropylloxycarbonyl; α, α' -Dimethyl-3,5-dimethoxybenzyloxycarbonyl und Y für OH; Methyl-; Ethyl-; tert. Butyl-; Phenacyl-; Benzyl-; unterschiedlich substituierte Benzylester steht.

Die Verbindungen der Formel (II) werden durch Segmentkondensation hergestellt, die dadurch gekennzeichnet ist, daß man ein geschütztes Dipeptid der Formel (III)



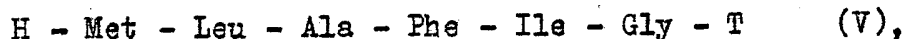
worin X die oben genannte Bedeutung besitzt und S für OH; p-Nitrophenyl-; N-Hydroxysuccinimid; Pentachlorphenyl-; Trichlorphenyl-; Pentafluorphenylester; Hydrazid steht, mit einem Tetrapeptid der Formel (IV)



worin Y wie oben definiert ist, nach den in der Peptidchemie üblichen Kupplungsmethoden (vgl. E. Wunsch, Bd. 15/II s.o.) - DCC, Mischanhydrid-, Azid-, vorzugsweise über das DCC/Addi-

tiv- oder das Aktivester-Verfahren - verknüpft.

Die Verbindungen der Formel II werden in die als Cyclisierungsvorstufen dienenden Verbindungen der Formel (V)



worin T für OH; Hydrazid oder Aktivester, u.a. p-Nitrophenyl-; N-Hydroxysuccinimid-; Pentafluorphenyl-; Trichlorphenyl-; Pentachlorphenylester steht, nach folgenden Varianten überführt:

1. Für Y in der oben genannten Definition entsprechend der Schutzgruppenkombination X/Y durch simultane bzw. aufeinanderfolgende Entfernung der Carboxyl- und Aminoschutzgruppe nach den in der Peptidchemie für diese Schutzgruppen üblichen Deblockierungsmethoden (Acidolyse, Hydrolyse, Hydrogenolyse - vgl. E. Wunsch Bd. 15/I s. o.).
2. Für den Fall Y = Methyl-; Ethyl-; Benzyl-; substituierte Benzylester durch Hydrazinolyse und anschließende Abspaltung der Aminoschutzgruppe X durch Acidolyse bzw. Hydrogenolyse.
3. Für Y in der oben genannten Bedeutung nach Freisetzung der Carboxylgruppe durch selektive Entfernung von Y in Abhängigkeit von der Natur der Aminoschutzgruppe X durch alkalische oder saure Hydrolyse, Hydrogenolyse, Zn/Eisessig oder Natriumthiophenolat-Behandlung, anschließende Überführung der als Zwischenprodukte erhaltenen N-Acylpeptide in N-Acyl-hexapeptid-aktivierte Ester (N-Hydroxysuccinimid-; Pentafluorphenyl-; Trichlorphenyl-; Pentachlorphenyl-; vor allem p-Nitrophenylester) mit Hilfe der DCC- bzw. Mischanhydrid-Methode (vgl. E. Wunsch, Bd. 15/II s. o.) und nachfolgende Entacylierung mittels Acidolyse bzw. Hydrogenolyse.

Die Verbindungen der Formel (V) werden für T = OH nach der DCC- bzw. DCC/Additiv-Methode, vorzugsweise DCC/N-Hydroxysuccinimid, für T = Hydrazid nach dem Azidverfahren und für

T = aktivierter Ester in der oben genannten Definition durch intramolekulare Aminolyse bei Temperaturen von 20 bis 70 °C, vorzugsweise über den entsprechenden p-Nitrophenylester, unter Verdünnungsbedingungen cyclisiert und nach Abtrennung nichtcyclischer Verbindungen durch Behandlung mit sauren und basischen Ionenaustauschern durch Gelfiltration an Sephadex LH-20 gereinigt, wobei man in allen Fällen das homodetacyclische Eledoisin(6 - 11)-hexapeptid der Formel (I) erhält.

Ausführungsbeispiele

Die Erfindung soll nachstehend anhand von Ausführungsbeispielen näher erläutert werden.

Es werden folgende Abkürzungen verwendet:

Aminosäuresymbole entsprechend IUPAC-IUB Commission on Biochemical Nomenclature, J. Biol. Chem. 247, 977 (1972)

AcOH	Essigsäure
Boc	tert. Butyloxycarbonyl
DC	Dünnschichtchromatogramm, - chromatographisch
DCC	N,N'-Dicyclohexylcarbodiimid
DMF	Dimethylformamid
EE	Essigsäureethylester
h	Stunde(n)
HOBT	1-Hydroxybenzotriazol
HONSu	N-Hydroxysuccinimid
i.Vak.	im Vakuum
IM	Lösungsmittel
-ONSu	N-Hydroxysuccinimidester
-ONp	p-Nitrophenylester
PE	Petrolether
RT	Raumtemperatur
THF	Tetrahydrofuran

Folgende Laufmittelsysteme (in Volumenanteilen) zur dünn-
schichtchromatographischen Reinheitskontrolle der Synthese-

produkte auf Silicagel-Fertigplatten (Silufol UV₂₅₄, CSSR) werden verwendet:

BAW : 2-Butanol-Ameisensäure-Wasser	75+13,5+11,5
BEW : 1-Butanol-Essigsäure-Wasser	80+20+20
BPEW: 1-Butanol-Pyridin-Essigsäure-Wasser	30+20+6+24
CM : Chloroform-Methanol	90-10
CME : Chloroform-Methanol-Essigsäure	110+6+3,6

Beispiel I

cyclo[Eledoisin(6 - 11)-hexapeptid] - Ringschluß mittels DCC/HONSu

I. 1. Boc - Ala - Phe - Ile - Gly - OH

Eine Lösung von 1,9 g (6,6 mMol) Boc-Ala-ONSu in 20 ml DMF wird bei 0 °C mit 2,45 g (6,6 mMol) H-Phe-Ile-Gly-OH.HCl (erhalten durch schrittweisen Aufbau vom C-Terminus durch Anknüpfung der entsprechenden Boc-Aminosäure-ONSu; Entacylierung mittels 1,1 N HCl/AcOH) und 0,74 ml (6,6 mMol) N-Methylmorpholin versetzt. Der Ansatz wird 1 h bei 0 °C und weitere 24 h bei RT gerührt. Danach wird die Lösung mit 10%-iger Zitronensäure auf pH 3 gebracht, das ausgefallene Produkt abgesaugt, nacheinander mit verd. Zitronensäure, Wasser und wenig EE auf der Fritte gewaschen und i. Vak. über P₂O₅ getrocknet. Das Rohprodukt wird zweimal aus DMF/Ether umgefällt.

Ausbeute: 2.27 g (68 % d. Th.)
 Schmp.: 176 - 179 °C
 $[\alpha]_D^{20}$: - 22,0 ° (c = 1, DMF)
 DC: einheitlich in BEW und BPEW

C₂₅H₃₈N₄O₇ (506,6)

Ber.	C	59,27	H	7,56	N	11,06
Gef.	C	59,08	H	7,41	N	11,05

I. 2. Boc - Leu - Met - ONSu

2,5 g (10 mMol) Boc-Leu-OH werden unter Argonatmosphäre in 25 ml THF gelöst, mit 1,1 ml (10 mMol) N-Methylmorpholin versetzt und bei -15 °C unter Rühren 1,3 ml (10 mMol) Chlorkohlensäureisobutylester hinzugegeben. Nach 6 Min. werden 1,1 ml (10 mMol) N-Methylmorpholin und sofort danach 2,82 g (10 mMol) H-Met-ONSu·HCl (aus der entsprechenden Boc-Verbindung durch Entacylierung erhalten) in 20 ml THF hinzugefügt und der Ansatz eine Stunde bei -15 °C und 2 h bei RT gerührt. Nach Zugabe von 5 ml Wasser wird das LM i. Vak. abgezogen, der Rückstand in EE aufgenommen, nacheinander mit Wasser, gesätt. NaHCO₃-Lösung, Wasser, 5%iger KHSO₄-Lösung und Wasser gewaschen und über Na₂SO₄ getrocknet. Der EE wird i. Vak. verdampft und der ölige Rückstand zur Kristallisation mit PE überschichtet. Das Rohprodukt wird zweimal aus EE/PE umgefällt.

Ausbeute: 2,3 g (50 % d. Th.)

Schmp.: 127 - 129 °C

[α]_D²⁰: - 39,2 ° (c = 1, EE)

DC: einheitlich in BPEW und CME

C₂₀H₃₃N₃O₇S (459,6)

Ber. C 52,27 H 7,24 N 9,10

Gef. C 52,02 H 7,20 N 8,97

I. 3. Boc-L-Leucyl-L-methionyl-L-alanyl-L-phenylalanyl-L-isoleucyl-glycin

a) DCC/HOBt-Methode

Zu einer Lösung von 1,27 g (3,5 mMol) Boc-Leu-Met-OH und 0,47 g (3,5 mMol) HOBt in 8 ml DMF werden bei 0 °C 0,72 g (3,5 mMol) DCC in 2 ml DMF hinzugefügt und die Mischung 1 h bei RT gerührt. Danach wird der ausgefallene Dicyclohexylharnstoff abgetrennt und das Filtrat bei 0 °C mit einer Lösung von 1,33 g (3 mMol) A-Ala-Phe-Ile-Gly-OH·HCl (erhalten durch Entacylierung von I. 1. mit 1,1 N HCl/AcOH) in 5 ml

DMF vereinigt. Man gibt 0,33 ml (3 mMol) N-Methylmorpholin hinzu und rührt den Ansatz 30 Min. bei 0 °C und 10 h bei RT. Anschließend engt man i. Vak. ein, verrührt den Rückstand mit 5 % KHSO₄-Lösung, saugt ab und wäscht das Rohprodukt nacheinander mit Wasser, gesätt. NaHCO₃-Lösung und Wasser. Das getrocknete Hexapeptid wird mit EE und wenig Methanol gewaschen und aus DMF/Ether umgefällt.

Ausbeute: 1,8 g (80 % d.Th.)
 Schmp.: ab 270 °C Zers.
 $[\alpha]_D$: - 26,7 ° (c = 0,5; DMF)
 DC: einheitlich in BAW und BEW

C₃₆H₅₇N₆O₅S (750,9)

Ber.	C	57,57	H	7,78	N	11,19
Gef.	C	57,28	H	7,92	N	11,01

Aminosäureanalyse: Leu 1,00; Met 0,87; Ala 1,02;
 Phe 1,10; Ile 0,98; Gly 1,03

b) Methode der aktivierten Ester

1,4 g (3 mMol) Boc-Leu-Met-ONSu werden in 10 ml DMF gelöst, auf 0 °C abgekühlt, 1,33 g (3 mMol) H-Ala-Phe-Ile-Gly-OH·HCl sowie 0,33 ml (3 mMol) N-Methylmorpholin hinzugegeben und der Ansatz 2 h bei 0 °C und 24 h bei RT gerührt. Danach wird das Rohprodukt durch Zugabe von 5%iger KHSO₄-Lösung ausgefällt und wie unter a) beschrieben aufgearbeitet.

Ausbeute: 1,7 g (76 % d. Th.)

Es ist in den analytischen Daten mit dem nach Variante a) erhaltenen Produkt identisch.

I. 4. cyclo[Ala-Phe-Ile-Gly-Leu-Met]

0,83 g (1,2 mMol) H-Leu-Met-Ala-Phe-Ile-Gly-OH·HCl (erhalten durch Deblockierung von I. 3. mittels 1,1 N HCl/AcOH, 40 Min. bei 20 °C, Argonatmosphäre) werden in 10 ml DMF gelöst, mit

Pyridin auf 100 ml verdünnt und mit 0,175 ml (1,25 mMol) Triethylamin 30 Min. bei Rt geschüttelt. Danach fügt man 2,76 g (24 mMol) HONSu in 100 ml Pyridin hinzu und tropft die Lösung unter Rühren innerhalb von 24 h bei RT zu 4,94 g (24 mMol) DCC in 1,5 l Pyridin. Nach weiteren 72 h werden 8 ml 50%ige AcOH zugegeben, der Ansatz i. Vak. auf ca. 10 ml eingedampft abgekühlt und vom Dicyclohexylharnstoff befreit. Das Filtrat wird zur Trockne eingedampft, der Rückstand in 100 ml Methanol/Wasser (4 : 1) gelöst und jeweils 1,5 h mit 15 g Dowex 1X-2 (OH⁻-Form) sowie 15 g Dowex 50WX-2 (H⁺-Form) gerührt. Die Ionenaustauscherharze werden nach Abfiltrieren mit jeweils 100 ml derselben LM-Mischung nachgewaschen und das Filtrat i. Vak. eingedampft. Das Rohprodukt wird aus DMF/Ether umgefällt, abgesaugt, getrocknet, in 2 ml DMF gelöst und an Sephadex LH-20 (2,5 x 110 cm) mit DMF als Elutionsmittel chromatographiert.

Ausbeute: 180 mg (24 % d. Th.)

Schmp.: 290 - 295 °C

$[\alpha]_D$: - 14,3 ° (c = 0,5; AcOH)

DC: einheitlich in BEW, BAW und CM

$C_{31}H_{48}N_6O_5S$ (632,8)

Ber. C 58,83 H 7,64 N 13,28

Gef. C 58,52 H 7,45 N 13,74

Aminosäureanalyse: Ala 1,00; Phe 1,08; Ile 1,05;
Gly 1,02; Leu 1,00; Met 0,97.

Beispiel II

cyclo[Eledoisin(6 - 11)-hexapeptid] - intramolekulare Esteraminolyse

II. 1. Boc - Leu - Met - Ala - Phe - Ile - Gly - ONp

1,1 g (1,46 mMol) Boc-Leu-Met-Ala-Phe-Ile-Gly-OH werden in

10 ml DMF gelöst und bei -10°C mit 0,22 g (1,68 mMol) p-Nitrophenol und 0,33 g (1,65 mMol) DCC, in 5 ml DMF gelöst, versetzt. Der Ansatz wird 2 h bei -10°C , 12 h bei 0°C und 18 h bei RT gerührt.

Danach wird der entstandene Dicyclohexylharnstoff abgetrennt, das DMF i. Vak. abgedampft, der Rückstand mit Ether verrieben, abgesaugt, auf der Fritte mit gesätt. NaHCO_3 -Lösung, Wasser und EE gewaschen, am Soxleth mit Ether extrahiert und anschließend aus DMF/Ether umgefällt.

Ausbeute: 0,92 g (72 % d. Th.)

Schmp.: ab 290°C Zers.

$[\alpha]_D^{22}$: $-41,3^{\circ}$ ($c = 1$, AcOH)

DC: einheitlich in BAW und BPEW

II. 2. cyclo[Ala-Phe-Ile-Gly-Leu-Met]

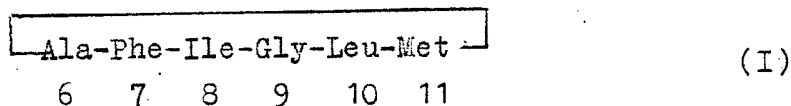
0,7 g (0,8 mMol) H-Leu-Met-Ala-Phe-Ile-Gly-ONp·Trifluoracetat (erhalten durch Entacylierung von II. 1. mittels Trifluoressigsäure 20 Min. bei RT unter Argonatmosphäre) werden in 125 ml DMF gelöst und innerhalb von 5 h in eine auf 50°C erwärmte Lösung von 500 ml Pyridin und 0,14 ml (1,1 mMol) N-Methylmorpholin unter Rühren eingetropft. Der Ansatz wird 35 h bei RT weiter gerührt. Danach dampft man das LM i. Vak. ab, der Rückstand wird mit wenig Aceton gewaschen, in 80 ml Methanol/Wasser (4 : 1) gelöst, mit Ionenaustauscherharzen wie unter I. 4. beschrieben behandelt und anschließend an Sephadex LH-20 chromatographiert.

Ausbeute: 131 mg (26 % d. Th.)

Das Cyclopeptid ist in seinen analytischen Daten mit dem unter I. 4. beschriebenen Produkt identisch.

Erfindungsansprüche

1. Verfahren zur Herstellung des homodet-cyclischen Eledoisin(6-11)-hexapeptides der Formel I



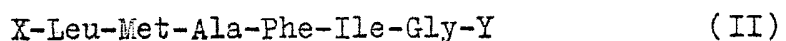
gekennzeichnet dadurch, daß
ein Dipeptidderivat der Formel III



worin X = tert.-Butyloxycarbonyl; Benzyloxycarbonyl; unterschiedlich substituierte Benzyloxycarbonyl-Verbindungen; o-Nitrophenylsulfenyl; 2-p-Biphenylisopropyloxycarbonyl; α , α' -Dimethyl-3,5-dimethoxybenzyloxycarbonyl bedeutet und S für OH, p-Nitrophenyl-; N-Hydroxysuccinimid-; Pentachlorphenyl-; Pentafluorphenylester; Hydrazid steht mit einem Tetrapeptidderivat der Formel IV



worin Y = OH; Methyl; Ethyl; tert.-Butyl; Phenacyl; Benzyl; unterschiedlich substituierte Benzylester bedeutet, nach den üblichen Methoden der Peptidchemie wie der DCC-, der DCC/Additiv-, der Mischanhydrid-, der Azid-, der Aktivestermethode o.dgl. zu einem linearen geschützten Hexapeptid der Formel II verknüpft wird

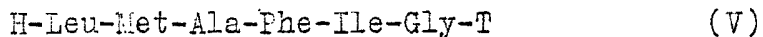


das Hexapeptid der Formel II durch simultane oder aufeinanderfolgende Entfernung der Carboxyl- und Aminoschutzgruppen nach den in der Peptidchemie für diese Schutzgruppen üblichen Deblockierungsmethoden

oder durch Hydrazinolyse und anschließende Abspaltung der Aminoschutzgruppe mittels Acidolyse bzw. Hydrogenolyse
oder durch selektive Entfernung von Y und anschließende Umwandlung der resultierenden N-geschützten Hexapeptide

in carboxylaktivierte Derivate sowie deren nachfolgende
Entacylierung

in die Cyclisierungsvorstufe der Formel V überführt wird



worin T für eine aktivierbare oder aktivierte Carboxyl-
gruppierung steht

und die so erhaltene Verbindung nach der DCC-, DCC/Additiv-
methode, nach dem Azidverfahren ^{oder} durch intramolekulare Ami-
nolyse aktivierter Ester bei 20 - 70°C o.dgl. cyclisiert
und das erhaltene Produkt durch Ionenaustauschchromatogra-
fie und Gelfiltration an Sephadex LH 20 gereinigt wird.

2. Verfahren nach Punkt 1, dadurch gekennzeichnet, daß die
Umwandlung des Hexapeptidderivates II in die Cyclisierungs-
vorstufe V durch Hydrazinolyse der Estergruppen Y = Methyl;
Ethyl; substituierte Benzylgruppen und anschließende Ab-
spaltung der Aminoschutzgruppen X der oben genannten Defi-
nition erfolgt.

3. Verfahren nach Punkt 1, dadurch gekennzeichnet, daß die
Umwandlung des Hexapeptidderivates II in die Cyclisierungs-
vorstufe V durch selektive Entfernung von Y, anschließende
Überführung der Zwischenprodukte in N-geschützte carboxyl-
aktivierte Hexapeptidester und nachfolgende Abspaltung der
Aminoschutzgruppen X der oben genannten Definition erfolgt.

4. Verfahren nach Punkt 1, dadurch gekennzeichnet, daß die
aktivierbare oder aktivierte Carboxylgruppierung T in For-
mel V OH; Hydrazid; Aktivester; wie p-Nitrophenyl-; N-Hy-
droxysuccinimid-; Pentafluorphenyl-; Trichlorphenyl-; Pen-
tachlorphenylester o.dgl. ist.

5. Verfahren nach Punkt 1 und 4, dadurch gekennzeichnet,
daß die Cyclisierung für T = OH in Formel V nach der DCC-
bzw. DCC/Additivmethode, insbesondere nach der DCC-N-Hy-
droxysuccinimidmethode erfolgt.

6. Verfahren nach Punkt 1 und 4, dadurch gekennzeichnet, daß für T = Hydrazid in Formel V die Cyclisierung nach der Azidmethode erfolgt.

7. Verfahren nach Punkt 1 und 4, dadurch gekennzeichnet, daß die Cyclisierung für T = Aktivester in Formel V durch intramolekulare Aminolyse erfolgt.