



Brevet d'invention délivré pour la Suisse et le Liechtenstein

Traité sur les brevets, du 22 décembre 1978, entre la Suisse et le Liechtenstein

⑫ **FASCICULE DU BREVET** A5

⑪

646 685

②① Numéro de la demande: 9272/80

②② Date de dépôt: 16.12.1980

③⑩ Priorité(s): 17.12.1979 US 104345

②④ Brevet délivré le: 14.12.1984

④⑤ Fascicule du brevet
publié le: 14.12.1984

⑦③ Titulaire(s):
Eli Lilly and Company, Indianapolis/IN (US)

⑦② Inventeur(s):
Gesellchen, Paul David, Indianapolis/IN (US)
Smiley, David Lee, Greenfield/IN (US)

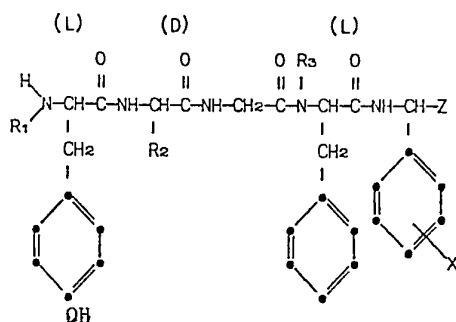
⑦④ Mandataire:
E. Blum & Co., Zürich

⑤④ **Pentapeptides homologues d'enképhalines, leur préparation et composition pharmaceutique les contenant.**

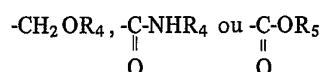
⑤⑦ On décrit des pentapeptides homologues d'enképhalines de formule:

où R₄ est H ou un groupement alkyle en C₁-C₃ et R₅ est un groupement alkyle en C₁-C₃.

Ces composés ont une activité analgésique.

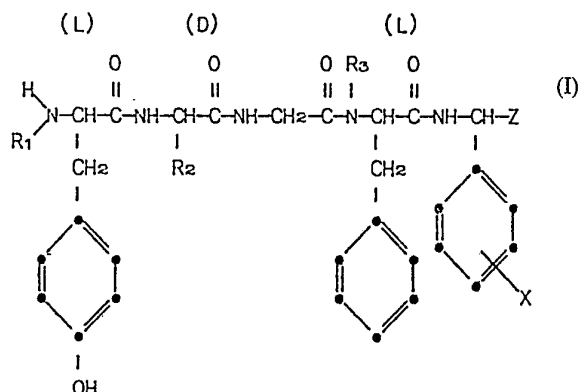


et leurs sels d'addition d'acide pharmaceutiquement acceptables, où R₁, R₂ et R₃ sont des atomes d'hydrogène ou divers groupements organiques; X est H ou un halogène ou un groupement OH, NO₂, alcoxy en C₁-C₃ ou CF₃; et Z est



REVENDICATIONS

1. Composé de formule:



ainsi que ses sels d'addition d'acides non toxiques et pharmaceutiquement acceptables, formule dans laquelle L et D définissent l'asymétrie;

R₁ est un atome d'hydrogène ou un radical alkyle primaire en C₁-C₃;

R₂ est un radical alkyle primaire ou secondaire en C₁-C₄, un radical allyle, cyclopropylméthyle, hydroxyalkyle en C₁-C₂, ou

-(CH₂)_m-U-CH₃ dans lequel U est -S- ou $\text{S}=\text{O}$ et m est égal à 1 ou 2;

R₃ est un atome d'hydrogène, un radical alkyle primaire ou secondaire en C₁-C₄, ou un radical cyclopropylméthyle ou allyle;

X est un atome d'hydrogène ou d'halogène, un groupement hydroxy ou nitro, ou un radical alcoxy en C₁-C₃, alkyle en C₁-C₃ ou trifluorométhyle, et

Z est -CH₂OR₄, -C(=O)-NHR₄, ou -C(=O)-OR₅, R₄ étant un atome d'hydrogène ou un radical alkyle en C₁-C₃ et R₅ étant un radical alkyle en C₁-C₃.

2. Composé selon la revendication 1, dans lequel R₁ est un atome d'hydrogène.

3. Composé selon la revendication 1, dans lequel R₂ est un radical méthyle.

4. Composé selon la revendication 1, dans lequel R₃ est un radical alkyle primaire ou secondaire en C₁-C₄.

5. Composé selon la revendication 1, dans lequel Z est

$\text{O}=\text{C}-\text{NHR}_4$, R₄ ayant la même définition que dans la revendication 1.

6. Composé selon la revendication 5, dans lequel R₄ est un atome d'hydrogène.

7. Composé selon la revendication 1, dans lequel X est un atome d'hydrogène.

8. Composé selon la revendication 1, dans lequel le reste d'acide occupant la position 5 est L.

9. Composé selon la revendication 1, dans lequel R₁ est un radical méthyle.

10. Composé selon la revendication 1, dans lequel R₃ est un atome d'hydrogène.

11. L-tyrosyl-D-alanylglycyl-L-phénylalanyl-L-p-méthoxyphénylglycinamide, ainsi que ses sels d'addition d'acides non toxiques et pharmaceutiquement acceptables, selon la revendication 1.

12. L-tyrosyl-D-alanylglycyl-L-phénylalanyl-L-phénylglycinamide, ainsi que ses sels d'addition d'acides non toxiques et pharmaceutiquement acceptables, selon la revendication 1.

13. L-tyrosyl-D-alanylglycyl-L-phénylalanyl-D-phénylglycinamide, ainsi que ses sels d'addition d'acides non toxiques et pharmaceutiquement acceptables, selon la revendication 1.

14. L-tyrosyl-D-alanylglycyl-L-phénylalanyl-D-p-hydroxyphénylglycinamide, ainsi que ses sels d'addition d'acides non toxiques et pharmaceutiquement acceptables, selon la revendication 1.

15. L-tyrosyl-D-alanylglycyl-L-phénylalanyl-D-phénylglycin-N-méthylamide, ainsi que ses sels d'addition d'acides non toxiques et pharmaceutiquement acceptables, selon la revendication 1.

16. L-tyrosyl-D-alanylglycyl-L-(N-méthyl)-phénylalanyl-L-phénylglycinamide, ainsi que ses sels d'addition d'acides non toxiques et pharmaceutiquement acceptables, selon la revendication 1.

17. L-tyrosyl-D-alanylglycyl-L-(N-méthyl)-phénylalanyl-D-phénylglycinamide, ainsi que ses sels d'addition d'acides non toxiques et pharmaceutiquement acceptables, selon la revendication 1.

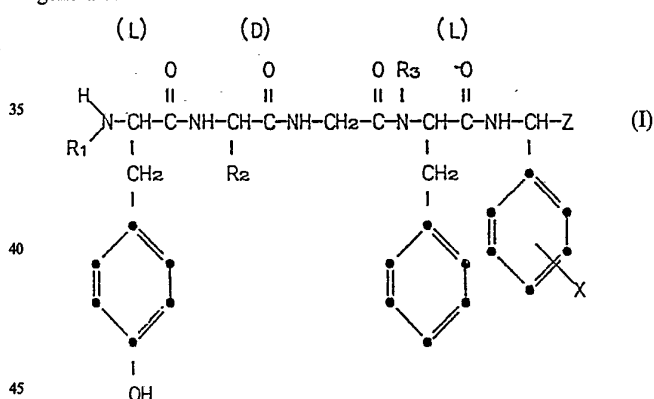
18. L-tyrosyl-D-alanylglycyl-L-(N-éthyl)-phénylalanyl-L-phénylglycinamide, ainsi que ses sels d'addition d'acides non toxiques et pharmaceutiquement acceptables, selon la revendication 1.

19. L-tyrosyl-D-alanylglycyl-L-(N-n-propyl)-phénylalanyl-L-phénylglycinamide, ainsi que ses sels d'addition d'acides non toxiques et pharmaceutiquement acceptables, selon la revendication 1.

20. (N-méthyl)-L-tyrosyl-D-alanylglycyl-L-(N-méthyl)-phénylalanyl-L-phénylglycinamide, ainsi que ses sels d'addition d'acides non toxiques et pharmaceutiquement acceptables, selon la revendication 1.

21. (N-méthyl)-L-tyrosyl-D-alanylglycyl-L-(N-méthyl)-phénylalanyl-D-phénylglycinamide, ainsi que ses sels d'addition d'acides non toxiques et pharmaceutiquement acceptables, selon la revendication 1.

22. Procédé de préparation d'un composé ayant pour formule générale:



ainsi que de ses sels d'addition d'acides non toxiques et pharmaceutiquement acceptables, formule dans laquelle L et D définissent l'asymétrie;

R₁ est un atome d'hydrogène ou un radical alkyle primaire en C₁-C₃;

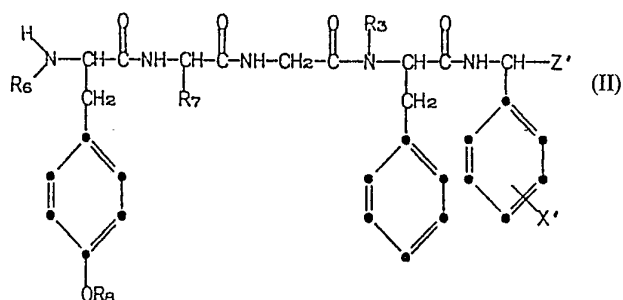
R₂ est un radical alkyle primaire ou secondaire en C₁-C₄, un radical allyle, cyclopropylméthyle, hydroxyalkyle en C₁-C₂, ou

(CH₂)_m-U-CH₃ dans lequel U est -S- ou $\text{S}=\text{O}$ et m est égal à 1 ou 2;

R₃ est un atome d'hydrogène, un radical alkyle primaire ou secondaire en C₁-C₄, ou un radical cyclopropylméthyle ou allyle;

X est un atome d'hydrogène ou d'halogène, un groupement hydroxy ou nitro, ou un radical alcoxy en C₁-C₃, alkyle en C₁-C₃ ou trifluorométhyle, et

Z est -CH₂OR₄, -C(=O)-NHR₄ ou -C(=O)-OR₅, R₄ étant un atome d'hydrogène ou un radical alkyle en C₁-C₃ et R₅ étant un radical alkyle en C₁-C₃, caractérisé en ce qu'il consiste à faire réagir avec un agent de déblocage approprié un composé de formule:



dans laquelle R_3 a la même définition que ci-dessus;

R_6 est un atome d'hydrogène, un radical primaire en C_1-C_3 ou un groupement de blocage de la fonction amine;

R_7 est R_2 tel qu'il est défini ci-dessus ou est un groupement protecteur du groupement hydroxyle pour le fragment hydroxyalkyle en C_1-C_2 ;

R_8 est un atome d'hydrogène ou un groupement protecteur de la fonction hydroxyle;

X' est X tel qu'il est défini ci-dessus ou bien est un groupement protecteur du groupement hydroxyle;

Z' est Z tel qu'il est défini ci-dessus ou bien est un précurseur de Z , y compris un support de résine; avec cette réserve qu'au moins un des substituants R_6 , R_7 , R_8 , X' ou Z' est un fragment bloqué.

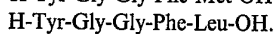
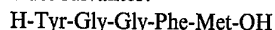
23. Procédé selon la revendication 22, caractérisé en ce que l'agent de déblocage est l'acide trifluoracétique.

24. Procédé selon la revendication 22, caractérisé en ce que Z' est un support de résine et l'agent de déblocage est l'acide fluorhydrique à 0°C environ.

25. Composition pharmaceutique, caractérisée en ce qu'elle comprend un excipient et, en tant que principe actif, un composé selon la revendication 1.

La présente invention concerne une nouvelle catégorie de composés qui font preuve d'une action analgésique.

Récemment, des substances endogènes ayant des propriétés similaires à celle de la morphine ont été extraites de la cervelle ou du liquide céphalo-rachidien (LCR) de mammifères. Ces substances, dénommées enképhalines, ont été identifiées par Hughes *et al.*, «Nature», 258, 577 (1975) comme étant des pentapeptides avec les séquences d'acides aminés suivantes:



Ces composés sont appelés respectivement méthionine-enképhaline et leucine-enképhaline.

Il a été démontré que la méthionine-enképhaline et la leucine-enképhaline faisaient preuve d'une action analgésique chez les souris par administration dans les ventricules cérébraux [Buscher *et al.*, «Nature», 261, 423 (1976)], mais elles sont pratiquement dénuées de toute action analgésique utile lorsqu'elles sont administrées par voie parentérale.

Par conséquent, depuis la découverte des enképhalines, des efforts importants ont été consacrés à la préparation d'analogues des enképhalines dans l'espoir de découvrir des composés ayant une activité et une utilité pratiques accrues en raison de leur disponibilité biologique par administration parentérale ou orale.

Dutta *et al.*, «Life Sciences 21», pp. 559-562 (1977) rendent compte de certaines modifications de structure qui, suggèrent-ils, tendent à augmenter l'efficacité. Ils suggèrent que l'activité peut être augmentée par au moins un des moyens suivants:

a) substitution de Gly en position 2 par certains D ou α -azaaminoacides,

b) transformation du groupement carboxyle terminal en groupement ester méthylique ou en fonction amide,

c) modification du Phe en position 4 par substitution α -aza, N-méthylation ou hydrogénation du noyau aromatique.

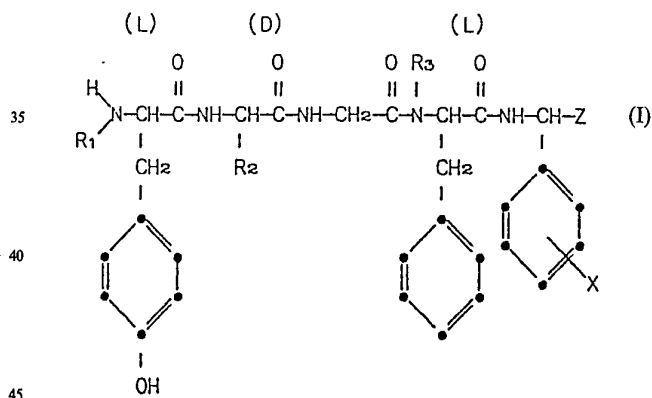
En outre, Roemer *et al.*, «Nature», 268, pp. 547-549 (1977), suggèrent la transformation du Met⁵ en son carbinol correspondant et l'oxydation du soufre du Met en sulfoxyde, à titre de modifications utiles.

Une autre modification structurelle d'importance est celle qui est relatée dans le brevet belge N° 859026. Cette publication suggère l'accroissement d'activité et de disponibilité biologiques des analogues de l'enképhaline par insertion d'un reste de D-aminoacide en position 2, transformation du groupement carboxyle terminale, en fonction amide, et N-alkylation du reste d'aminoacide en position 5.

Une catégorie d'analogues de l'enképhaline ayant un haut degré d'action analgésique a maintenant été découverte. Ces analogues sont des pentapeptides ayant un reste phénylglycyle ou phénylglycyle substitué sur le cycle en position 5.

La littérature rencontre d'autres analogues d'enképhaline qui sont des pentapeptides ayant un reste d'aminoacide aromatique en position 5. Par exemple, Ling *et al.*, Structure-Activity Relationships of Enkephalin and Endorphin Analogs, «Peptides: Proceedings of the Fifth American Peptide Symposium», John Wiley and Sons, New York (1977), pp. 96-99, décrivent Tyr-D-Ala-Gly-Phe-D-Phe-OH. Mais ce composé ne fait preuve que d'un potentiel analgésique limité, tandis que les composés selon l'invention, dans lesquels le groupement qui occupe la position 5 est un fragment phénylglycyle, ont un degré extrêmement élevé d'action analgésique.

Ainsi, la présente invention concerne une catégorie de composés ayant pour formule:



ainsi que leurs sels d'addition d'acides non toxiques et pharmaceutiquement acceptables, dans lesquels L et D définissent l'asymétrie;

R_1 est un atome d'hydrogène ou un radical alkyle primaire en C_1-C_3 ;

R_2 est un radical alkyle primaire ou secondaire en C_1-C_4 , un radical allyle, cyclopropylméthyle, hydroxyalkyle en C_1-C_2 , ou

$-(\text{CH}_2)_m-\text{U}-\text{CH}_3$ dans lequel U est $-\text{S}-$ ou $>\text{S}-\text{O}$ et m est

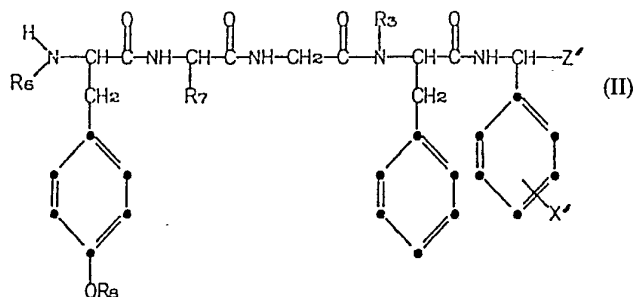
égal à 1 ou 2;

R_3 est un atome d'hydrogène, un radical alkyle primaire ou secondaire en C_1-C_4 , un radical cyclopropylméthyle ou un radical allyle;

X est un atome d'hydrogène ou d'halogène, un groupement hydroxy ou nitro, un radical alcoxy en C_1-C_3 , alkyle en C_1-C_3 ou trifluorométhyle, et

Z est $-\text{CH}_2\text{OR}_4$, $-\text{C}(=\text{O})-\text{NHR}_4$, ou $-\text{C}(=\text{O})-\text{OR}_5$, où R_4 est un atome d'hydrogène ou un radical alkyle en C_1-C_3 et R_5 est un radical alkyle en C_1-C_3 .

On prépare les composés de formule I en faisant réagir avec un agent de déblocage approprié un composé de formule:



dans laquelle R_3 a la même définition que ci-dessus;

R_6 est un atome d'hydrogène, un radical alkyle primaire en C_1 - C_3 , ou un groupement de blocage de la fonction amine;

R_7 est R_2 tel qu'il est défini ci-dessus ou bien est un groupement protecteur du groupement hydroxyle pour le fragment hydroxyalkyle en C_1 - C_2 ;

R_8 est un atome d'hydrogène ou un groupement protecteur du groupement hydroxyle;

X' est X tel qu'il est défini ci-dessus ou est un groupement protecteur du groupement hydroxyle;

Z' est Z tel qu'il est défini ci-dessus ou bien est un précurseur de Z , y compris un support de résine; avec cette réserve qu'au moins un des substituant R_6 , R_7 , R_8 , X' ou Z' est un fragment bloqué.

L'invention concerne également une composition pharmaceutique comprenant un excipient et, en tant que principe actif, un composé de formule I tel qu'il est défini ci-dessus.

Les sels d'addition d'acides non toxiques et pharmaceutiquement acceptables comprennent les sels d'addition d'acides organiques et minéraux, par exemple ceux qui sont préparés à partir d'acides tels que les acides chlorhydrique, sulfurique, sulfonique, tartrique, fumarique, bromhydrique, glycolique, citrique, maléique, phosphorique, succinique, acétique, nitrique, benzoïque, ascorbique, paratoluène-sulfonique, benzènesulfonique, naphthalènesulfonique, propionique, etc. De préférence, les sels d'addition d'acides sont ceux que l'on prépare à partir de l'acide chlorhydrique, de l'acide acétique ou de l'acide succinique. Tous les sels précédents sont préparés par des procédés classiques.

Ainsi qu'on le notera d'après la définition des différents substituants qui apparaissent dans la formule I, les composés qui sont définis par cette structure sont des pentapeptides dont la partie terminale carbonée est un alcool primaire ou son dérivé éther alkylé inférieur, un amide primaire ou secondaire ou un ester alkylé inférieur.

La configuration stéréochimique des composés de formule I en est une caractéristique essentielle. Pour plus de commodité, les restes d'acides aminés des pentapeptides de formule I sont numérotés un à un en commençant par le reste qui se trouve sur la fonction amine terminale. L'asymétrie des restes d'acides aminés, lue de la position 1 à la position 4, est L, D, néant, et L. Le reste, qui occupe la position 5, est un fragment glycine et, ainsi, il n'y a aucune asymétrie quant à ce reste. Quant à la position 5 (la position du carbone terminal), son asymétrie est définie comme étant celle qui est compatible avec et correspond au reste de L-aminoacide supposé correspondre ou au reste de D-aminoacide supposé correspondant, ainsi que, bien entendu, leur mélange racémique.

Le substituant R_1 tel qu'il est utilisé ici est défini comme incluant le radical alkyle primaire en C_1 - C_3 . Par alkyle primaire en C_1 - C_3 , on entend les radicaux méthyle, éthyle et n-propyle.

Les substituants R_4 , R_5 et X , tels qu'ils sont utilisés ici, sont définis comme incluant le radical alkyle en C_1 - C_3 . Par alkyle en C_1 - C_3 , on entend les radicaux méthyle, éthyle, n-propyle et isopropyle.

Les substituants R_2 et R_3 qui apparaissent dans la formule développée ci-dessus sont définis comme incluant le radical alkyle primaire ou secondaire en C_1 - C_4 . Par alkyle primaire ou secondaire en C_1 - C_4 , on entend les radicaux méthyle, éthyle, n-propyle, isopropyle, n-butyle, isobutyle et seconde-butyle.

Le substituant R_2 est également défini comme étant un radical hydroxyalkyle en C_1 - C_2 . Par hydroxyalkyle en C_1 - C_2 , on entend les radicaux hydroxyméthyle, 1-hydroxyéthyle et 2-hydroxyéthyle.

Le substituant R_2 qui apparaît dans la formule développée ci-dessus est également défini comme incluant le groupement

$-(CH_2)_m-U-CH_3$ dans lequel U est $-S-$ ou $>S-O$ et m est

égal à 1 ou 2. Par $-(CH_2)_m-U-CH_3$, on entend les radicaux

méthylthiométhyle, méthylthioéthyle, méthylsulfinylméthyle, et méthylsulfinylethyle.

Le terme halogène tel qu'il est utilisé ici comprend le fluor, le chlore, le brome et l'iode. Le terme alcoxy en C_1 - C_3 tel qu'il est utilisé ici comprend les radicaux méthoxy, éthoxy, propoxy et isopropoxy.

Le substituant X est défini comme étant un atome d'hydrogène ou d'halogène, un groupement hydroxy ou nitro, un radical alcoxy en C_1 - C_3 , alkyle en C_1 - C_3 ou trifluorométhyle et représente un substituant du noyau phényle. Outre le phényle (X est un atome d'hydrogène), des exemples de fragments phényles substitués sont les radicaux p-chlorophényle, p-fluorophényle, m-bromophényle, p-iodophényle, o-chlorophényle, p-hydroxyphényle, o-hydroxyphényle, p-méthoxyphényle, m-éthoxyphényle, o-méthoxyphényle, m-propoxyphényle, p-isopropoxyphényle, p-nitrophényle, m-nitrophényle, p-tolyle, m-tolyle, o-éthylphényle, p-cumyle, m-cumyle, p-n-propylphényle, p-éthylphényle, p-trifluorométhylphényle, m-trifluorométhylphényle, etc.

En ce qui concerne les restes occupant des positions particulières des pentapeptides de formule I, les considérations suivantes s'appliquent:

A) Position 1:

Cette position représente la partie terminale amine du peptide. Le reste est celui qui résulte de la L-tyrosine. Le reste peut être non substitué sur l'azote, auquel cas R_1 est un atome d'hydrogène. Par ailleurs, le reste peut être substitué par un radical alkyle primaire en C_1 - C_3 , c'est-à-dire le radical N-méthyle, N-éthyle ou N-n-propyle. Pour les composés ayant un degré exceptionnellement élevé d'action analgésique lorsqu'ils sont administrés par voie parentérale, le reste tyrosyle qui occupe la position 1 n'est de préférence pas substitué sur l'azote. Pour les composés ayant un degré exceptionnellement élevé d'action analgésique lorsqu'ils sont administrés par voie orale, le reste tyrosyle qui occupe la position 1 est de préférence substitué sur l'azote. Dans le cas où le reste tyrosyle est substitué sur l'azote, le substituant de l'azote est de préférence le radical méthyle ou éthyle, le premier des deux représentant le meilleur choix.

B) Position 2:

Le reste d'acides aminés qui occupe la seconde position des peptides selon l'invention doit obligatoirement être le stéréo-isomère D, et c'est l'un quelconque de plusieurs restes d'acides aminés. Ceux-ci comprennent les restes provenant de la D-alanine (Ala) (R_2 est le radical méthyle), l'acide D- α -aminobutyrique (Abu) (R_2 est le radical éthyle), la D-norvaline (Nva) (R_2 est le radical n-propyle), la D-valine (Val) (R_2 est le radical isopropyle), la D-norleucine (Nle) (R_2 est le radical n-butyle), la D-leucine (Leu) (R_2 est le radical isobutyle), la D-isoleucine (Ile) (R_2 est le radical seconde-butyle), la D-allylglycine Gly(Al) (R_2 est le radical allyle), la D-cyclopropylméthylglycine [Gly(Cp)] (R_2 est le radical cyclopropylméthyle), la D-méthionine (Met) (R_2 est le radical 2-méthylthioéthyle), la D-S-méthylcystéine [Cys(Me)] (R_2 est le radical méthylthiométhyle), le sulfoxyde de D-méthionine [Met (O)] (R_2 est le radical méthylsulfinylethyle), le sulfoxyde de D-S-méthylcystéine [Cys(Me)] (R_2 est le radical méthylsulfinylethyle), la D-sérine (Ser) (R_2 est le radical hydroxyméthyle), la D-thréonine (Thr) (R_2 est le radical 1-hydroxyéthyle), et la D-homosérine (Hse) (R_2 est le radical 2-hydroxyéthyle). De préférence, R_2 est un radical alkyle primaire ou secondaire en C_1 - C_4 ou hydroxyalkyle en C_1 - C_2 . Des deux définitions, c'est le radical alkyle primaire ou secondaire en C_1 - C_4 que l'on

préfère et, à l'intérieur de cette définition, c'est le reste qui provient de la D-alanine.

C) Position 3:

Le reste d'acide-amino qui occupe cette position est celui qui provient de la glycine (Gly).

D) Position 4:

Le reste d'acide-amino qui occupe cette position est celui qui provient de la L-phénylalanine (Phe). Le reste peut soit n'être pas substitué, soit être substitué sur l'azote de la fonction amine (R_3). Dans le cas où le reste est substitué sur l'azote, il s'agit du radical N-méthyle, N-éthyle, N-n-propyle, N-isopropyle, N-n-butyle, N-isobutyle, N-sec.-butyle, N-cyclopropylméthyle ou N-allyle. De préférence, lorsque R_3 est autre que l'hydrogène, c'est un radical alkyle primaire ou secondaire en C_1-C_4 et, de préférence, le radical méthyle ou éthyle.

E) Position 5:

Le reste qui occupe la position du carbone terminal des composés de formule I est un acide-amino transformé structurellement en

son dérivé amide (Z est $-\text{C}(=\text{O})\text{NHR}_4$), son alcool primaire ou son éther alkyle en C_1-C_3 correspondant (Z est $-\text{CH}_2\text{OR}_4$), ou son

ester alkyle en C_1-C_3 (Z est $-\text{C}(=\text{O})\text{OR}_5$). L'asymétrie du reste d'acide-amino qui occupe la position 5 du pentapeptide est L, D, ou D, L. De préférence, le reste est un amide, un alcool ou un ester, et dans le meilleur des cas c'est un amide. Si le reste est un amide, c'est

de préférence un amide primaire, c'est-à-dire que Z est $-\text{C}(=\text{O})\text{NHR}_6$, R_6 étant un atome d'hydrogène. Lorsque l'amide est un amide secondaire, R_6 est un radical alkyle en C_1-C_3 . Dans ces cas-là, la fonction amide terminale est représentée par un radical N-méthyle, N-éthyle, N-n-propyle, ou N-isopropyle et, dans le meilleur des cas, par le radical N-méthyle.

Le reste qui occupe la position 5 est un radical phénylglycyle ou phénylglycyle substitué sur le cycle. Les exemples du radical phénylglycyle substitué sur le cycle sont les radicaux p-chlorophénylglycyle, m-bromophénylglycyle, o-fluorophénylglycyle, p-fluorophénylglycyle, m-hydroxyphénylglycyle, p-hydroxyphénylglycyle, o-méthoxyphénylglycyle, p-éthoxyphénylglycyle, p-méthoxyphénylglycyle, m-isopropoxyphénylglycyle, p-n-propoxyphénylglycyle, m-nitrophénylglycyle, p-nitrophénylglycyle, o-nitrophénylglycyle, p-tolylglycyle, m-tolylglycyle, o-tolylglycyle, p-éthylphénylglycyle, p-cumylglycyle, m-n-propylphénylglycyle, p-trifluorométhylphénylglycyle, m-trifluorométhylphénylglycyle, o-trifluorométhylphénylglycyle, etc.

Dans le présent mémoire descriptif, les abréviations suivantes, dont la plupart sont bien connues et sont communément utilisées dans la technique, seront employées:

Abu: acide- α -aminobutyrique

Ala: alanine

Cys: cystéine

Cys(Me): (S-méthyl)cystéine

Cys(Me)(O): sulfoxyde de (S-méthyl)cystéine

Gly: glycine

Gly(Al): allylglycine

Gly(Cp): cyclopropylméthylglycine

Hse: homosérine

Ile: isoleucine

Leu: leucine

Met: méthionine

Met(O): sulfoxyde de méthionine

Nle: norleucine

Nva: norvaline

Pgl: phénylglycine

Phe: phénylalanine

Ser: sérine

Thr: thréonine

Tyr: tyrosine

Val: valine

Ac: acétyle

Al: allyle

Cp: cyclopropylméthyle

Me: méthyle

Et: éthyle

Ip: isopropyle

Pr: n-propyle

Bu: n-butyle

i-Bu: isobutyle

t-Bu: t-butyle

s-Bu: sec.-butyle

Boc: t-butyloxycarbonyl

Bzl: benzyle

Cbz: benzyloxycarbonyl

DDC: N,N'-dicyclohexylcarbodiimide

HBT: 1-hydroxybenzotriazole

DMF: N,N-diméthylformamide

TFA: acide trifluoracétique

THF: tétrahydrofuranne

DEAE: diéthylaminoéthyle

DIEA: diisopropyléthylamine

IBCF: chloroformiate d'isobutyle

NMN: N-méthylmorpholine

18-couronne-6: 1,4,7,10,13,16-hexaoxacyclooctadécane.

Des exemples de composés types de formule I comprennent les suivants:

H-L-Tyr-D-Ala-Gly-L-(N-Me)Phe-L-Pgl-NH₂;

H-L-Tyr-D-Ala-Gly-L-Phe-L-Pgl-NH₂;

H-L-Tyr-D-Abu-Gly-L-Phe-L-(o-Me)Pgl-NH₂;

H-L-Tyr-D-Abu-Gly-L-Phe-D-(p-Me)Pgl-NH₂;

H-L-Tyr-D-Nva-Gly-L-Phe-L-(m-Me)Pgl-NH₂;

H-L-Tyr-D-Nva-Gly-L-(N-Et)Phe-L-Pgl-NH₂;

H-L-Tyr-D-Val-Gly-L-(N-Al)Phe-D-(p-F)Pgl-NH₂;

H-L-Tyr-D-Val-Gly-L-(N-Pr)Phe-L-Pgl-NH₂;

H-L-Tyr-D-Nle-Gly-L-Phe-L-(p-Me)Pgl-NH₂;

H-L-Tyr-D-Nle-Gly-L-Phe-D-(p-MeO)Pgl-NH₂;

(N-Et)-L-Tyr-D-Leu-Gly-L-(N-IP)Phe-L-Pgl-NH₂;

H-L-Tyr-D-Leu-Gly-L-Phe-L-(m-Pr)Pgl-NH₂;

H-L-Tyr-D-Ile-Gly-L-(N-Me)Phe-L-(p-OH)Pgl-NH₂;

H-L-Tyr-D-Ile-Gly-L-Phe-D-(p-Pr)Pgl-NH₂;

H-L-Tyr-D-Ala-Gly-L-(N-s-Bu)Phe-L-(m-Cl)Pgl-NH₂;

H-L-Tyr-D-Ala-Gly-L-Phe-L-(o-Br)Pgl-NH₂;

(N-Me)-L-Tyr-D-Ala-Gly-L-Phe-D-(p-I)Pgl-NH₂;

H-L-Tyr-D-Ala-Gly-L-(N-i-Bu)Phe-L-Pgl-NH₂;

H-L-Tyr-D-Ala-Gly-L-(N-Cp)Phe-L-(p-EtO)Pgl-NH₂;

H-L-Tyr-D-Ala-Gly-L-(N-s-Bu)Phe-D-Pgl-NH₂;

H-L-Tyr-D-Ala-Gly-L-Phe-L-(m-PrO)Pgl-NH₂;

H-L-Tyr-D-Ala-Gly-L-Phe-L-(p-NO₂)Pgl-NH₂;

H-L-Tyr-D-Ala-Gly-L-(N-Pr)Phe-L-(m-IP)Pgl-NH₂;

H-L-Tyr-D-Ala-Gly-L-Phe-D-(p-CF₃)Pgl-NH₂;

H-L-Tyr-D-Val-Gly-L-(N-IP)Phe-L-(m-OH)Pgl-NH₂;

H-L-Tyr-D-Leu-Gly-L-Phe-L-(o-OH)Pgl-NH₂;

H-L-Tyr-D-Val-Gly-L-(N-Et)Phe-L-(p-Et)Pgl-NH₂;

H-L-Tyr-D-Leu-Gly-L-Phe-D-(o-Me)Pgl-NH₂;

H-L-Tyr-D-Ala-Gly-L-(N-Cp)Phe-L-Pgl-NH₂;

(N-Me)-L-Tyr-D-Ala-Gly-L-Phe-L-(m-CF₃)Pgl-NH₂;

H-L-Tyr-D-Ala-Gly-L-Phe-L-(m-NO₂)Pgl-NH₂;

(N-Me)-L-Tyr-D-Ala-Gly-L-Phe-D-(o-NO₂)Pgl-NH₂;

H-L-Tyr-D-Ala-Gly-L-(N-Al)Phe-L-Pgl-NH₂;

H-L-Tyr-D-Gly(Al)-Gly-L-Phe-L-(p-Br)Pgl-NH₂;

(N-Et)-L-Tyr-D-Gly(Cp)-Gly-L-(N-Cp)Phe-L-(p-I)Pgl-NH₂;

H-L-Tyr-D-Met-Gly-L-Phe-L-(p-IP)Pgl-NH₂;

H-L-Tyr-D-Cys(Me)-Gly-L-Phe-D-(m-Pr)Pgl-NH₂;

H-L-Tyr-D-Met(O)-Gly-L-Phe-L-(o-Cl)Pgl-NH₂;

(N-Pr)-L-Tyr-D-Cys(Me)(O)-Gly-L-Phe-L-(p-IP)Pgl-NH₂;

H-L-Tyr-D-Ser-Gly-L-Phe-L-(o-CF₃)Pgl-NH₂;
 (N-Me)-L-Tyr-D-Ala-Gly-L-(N-Et)Phe-L-Pgl-NH₂;
 H-L-Tyr-D-Ala-Gly-L-(N-Et)Phe-L-(p-MeO)Pgl-NH₂;
 (N-Me)-L-Tyr-D-Ala-Gly-L-(N-Me)Phe-L-Pgl-NH₂;
 (N-Me)-L-Tyr-D-Ala-Gly-L-(N-Pr)Phe-L-Pgl-NH₂;
 H-L-Tyr-D-Thr-Gly-L-(N-Et)Phe-L-Pgl-NH₂;
 H-L-Tyr-D-Hse-Gly-L-Phe-L-(m-Cl)Pgl-NH₂;
 (N-Me)-L-Tyr-D-Ala-Gly-L-Phe-L-(p-OH)Pgl-NH₂;
 (N-Pr)-L-Tyr-D-Ala-Gly-L-Phe-L-(p-NO₂)Pgl-NH₂;
 H-L-Tyr-D-Ala-Gly-L-Phe-D-(o-I)Pgl-NH₂;
 (N-Et)-L-Tyr-D-Abu-Gly-L-Phe-L-(o-CF₃)Pgl-NH₂;
 (N-Pr)-L-Tyr-D-Val-Gly-L-(N-Et)Phe-L-Pgl-NH₂;
 H-L-Tyr-D-Ala-Gly-L-(N-Et)Phe-L-Pgl-NH(Me);
 H-L-Tyr-D-Ala-Gly-L-Phe-L-(p-MeO)Pgl-NH(Me);
 H-L-Tyr-D-Ala-Gly-L-Phe-L-(p-F)Pgl-NH(Me);
 H-L-Tyr-D-Ala-Gly-L-(N-Et)Phe-L-(m-Me)Pgl-NH(Et);
 H-L-Tyr-D-Ala-Gly-L-(N-Et)Phe-L-Pgl-NH(Et);
 H-L-Tyr-D-Ala-Gly-L-(N-Et)Phe-L-(m-OH)Pgl-NH(Me);
 (N-Me)-L-Tyr-D-Ala-Gly-L-Phe-L-(p-Br)Pgl-NH(Pr);
 (N-Et)-L-Tyr-D-Ala-Gly-L-Phe-L-(p-NO₂)Pgl-NH(Me);
 H-L-Tyr-D-Ala-Gly-L-(N-Al)Phe-L-Pgl-NH(Ip);
 H-L-Tyr-D-Ala-Gly-L-(N-Me)Phe-L-Pgl-CH₂OH;
 H-L-Tyr-D-Ala-Gly-L-(N-Me)Phe-L-(p-Cl)Pgl-CH₂OH;
 H-L-Tyr-D-Abu-Gly-L-Phe-L-(m-Et)Pgl-CH₂OH;
 H-L-Tyr-D-Abu-Gly-L-(N-Al)Phe-D-(p-Me)Pgl-CH₂OH;
 H-L-Tyr-D-Nva-Gly-L-Phe-L-(p-MeO)Pgl-CH₂OH;
 H-L-Tyr-D-Nva-Gly-L-(N-Et)Phe-L-Pgl-CH₂OH;
 H-L-Tyr-D-Val-Gly-L-Phe-D-(m-EtO)Pgl-CH₂OH;
 H-L-Tyr-D-Val-Gly-L-(N-Pr)Phe-L-Pgl-CH₂OH;
 H-L-Tyr-D-Nle-Gly-L-Phe-L-(p-CF₃)Pgl-CH₂OH;
 H-L-Tyr-D-Nle-Gly-L-Phe-D-(o-NO₂)Pgl-CH₂OH;
 H-L-Tyr-D-Leu-Gly-L-(N-Ip)Phe-L-Pgl-CH₂OH;
 H-L-Tyr-D-Leu-Gly-L-Phe-L-(p-Pr)Pgl-CH₂OH;
 (N-Me)-L-Tyr-D-Ile-Gly-L-Phe-L-(p-MeO)Pgl-CH₂OH;
 (N-Et)-L-Tyr-D-Ile-Gly-L-Phe-D-(o-Pr)Pgl-CH₂OH;
 (N-Pr)-L-Tyr-D-Ala-Gly-L-(N-Cp)Phe-L-(m-EtO)-Pgl-CH₂OH;
 (N-Me)-L-Tyr-D-Ala-Gly-L-Phe-L-(p-PrO)Pgl-CH₂OH;
 H-L-Tyr-D-Ala-Gly-L-(N-Pr)Phe-D-(p-I)Pgl-CH₂OH;
 H-L-Tyr-D-Ala-Gly-L-(N-i-Bu)Phe-L-Pgl-CH₂OH;
 (N-Me)-L-Tyr-D-Ala-Gly-L-Phe-L-(o-IpO)Pgl-CH₂OH;
 H-L-Tyr-D-Ala-Gly-L-(N-s-Bu)Phe-D-Pgl-CH₂OH;
 H-L-Tyr-D-Ala-Gly-L-(N-i-Bu)Phe-L-(o-MeO)Pgl-CH₂OH;
 H-L-Tyr-D-Ala-Gly-L-Phe-L-(m-F)Pgl-CH₂OH;
 H-L-Tyr-D-Ala-Gly-L-Phe-L-(o-OH)Pgl-CH₂OH;
 (N-Me)-L-Tyr-D-Ala-Gly-L-(N-Et)Phe-D-(p-OH)-Pgl-CH₂OH;
 H-L-Tyr-D-Val-Gly-L-Phe-L-(m-Br)Pgl-CH₂OH;
 H-L-Tyr-D-Leu-Gly-L-Phe-L-(o-CF₃)Pgl-CH₂OH;
 (N-Pr)-L-Tyr-D-Val-Gly-L-Phe-L-(o-Et)Pgl-CH₂OH;
 H-L-Tyr-D-Leu-Gly-L-Phe-D-(p-IpO)Pgl-CH₂OH;
 H-L-Tyr-D-Ala-Gly-L-(N-Cp)Phe-L-Pgl-CH₂OH;
 H-L-Tyr-D-Ala-Gly-L-Phe-L-(o-IpO)Pgl-CH₂OH;
 (N-Me)-L-Tyr-D-Ala-Gly-L-Phe-L-(o-F)Pgl-CH₂OH;
 H-L-Tyr-D-Ala-Gly-L-Phe-D-(o-NO₂)Pgl-CH₂OH;
 H-L-Tyr-D-Ala-Gly-L-(N-Al)Phe-L-Pgl-CH₂OH;
 H-L-Tyr-D-Gly(Al)-Gly-L-(N-Me)Phe-L-(p-F)Pgl-CH₂OH;
 H-L-Tyr-D-Gly(Cp)-Gly-L-Phe-L-(m-Me)Pgl-CH₂OH;
 (N-Me)-L-Tyr-D-Met-Gly-L-(N-Et)Phe-L-(o-CF₃)Pgl-CH₂OH;
 (N-Et)-L-Tyr-D-Cys(Me)-Gly-L-Phe-D-(p-I)-Pgl-CH₂OH;
 H-L-Tyr-D-Met(O)-Gly-L-Phe-L-(p-NO₂)Pgl-CH₂OH;
 H-L-Tyr-D-Cys(Me)(O)-Gly-L-Phe-L-(o-Me)Pgl-CH₂OH;
 H-L-Tyr-D-Ser-Gly-L-Phe-L-(o-MeO)Pgl-CH₂OH;
 H-L-Tyr-D-Ala-Gly-L-(N-Et)Phe-L-Pgl-CH₂OH;
 H-L-Tyr-D-Ala-Gly-L-(N-Et)Phe-L-Pgl-CH₂OMe;
 H-L-Tyr-D-Ala-Gly-L-(N-Et)Phe-L-(p-Me)Pgl-CH₂OMe;
 (N-Me)-L-Tyr-D-Ala-Gly-L-Phe-L-(p-Cl)Pgl-CH₂OMe;
 H-L-Tyr-D-Ala-Gly-L-(N-Me)Phe-L-(o-NO₂)Pgl-CH₂OEt;
 H-L-Tyr-D-Ala-Gly-L-(N-Et)Phe-L-Pgl-CH₂OEt;
 H-L-Tyr-D-Ala-Gly-L-Phe-L-(p-CF₃)Pgl-CH₂OMe;

(N-Me)-L-Tyr-D-Ala-Gly-L-Phe-L-(m-IpO)Pgl-CH₂OPr;
 H-L-Tyr-D-Ala-Gly-L-Phe-L-(p-Pr)Pgl-CH₂OMe;
 H-L-Tyr-D-Ala-Gly-L-(N-Al)Phe-L-Pgl-CH₂Oip;
 H-L-Tyr-D-Ala-Gly-L-(N-Me)Phe-L-Pgl-OMe;
 H-L-Tyr-D-Ala-Gly-L-Phe-L-(m-Me)Pgl-OEt;
 H-L-Tyr-D-Abu-Gly-L-(o-Et)Pgl-OMe;
 H-L-Tyr-D-Abu-Gly-L-L-Phe-D-(p-MeO)Pgl-OMe;
 H-L-Tyr-D-Nva-Gly-L-Phe-L-(m-IpO)Pgl-OPr;
 (N-Me)-L-Tyr-D-Nva-Gly-L-(N-Et)Phe-L-Pgl-Oip;
 H-L-Tyr-D-Val-Gly-L-Phe-D-(o-PrO)Pgl-OMe;
 H-L-Tyr-D-Val-Gly-L-(N-Pr)Phe-L-Pgl-OEt;
 (N-Pr)-L-Tyr-D-Nle-Gly-L-Phe-L-(p-CF₃)Pgl-OEt;
 H-L-Tyr-D-Nle-Gly-L-Phe-D-(m-NO₂)Pgl-OMe;
 H-L-Tyr-D-Leu-Gly-L-(N-Ip)Phe-L-Pgl-OEt;
 (N-Me)-L-Tyr-D-Leu-Gly-L-Phe-L-(p-Cl)Pgl-OPr;
 H-L-Tyr-D-Ile-Gly-L-Phe-L-(m-Br)Pgl-OMe;
 H-L-Tyr-D-Ile-Gly-L-Phe-D-(o-F)Pgl-OMe;
 (N-Pr)-L-Tyr-D-Ala-Gly-L-(N-Me)Phe-L-(p-Cl)-Pgl-OMe;
 H-L-Tyr-D-Ala-Gly-L-Phe-L-(p-NO₂)Pgl-OEt;
 H-L-Tyr-D-Ala-Gly-L-(N-Et)Phe-D-(o-MeO)-Pgl-Oip;
 (N-Et)-L-Tyr-D-Ala-Gly-L-(N-i-Bu)Phe-L-Pgl-OMe;
 H-L-Tyr-D-Ala-Gly-L-Phe-L-(p-Br)Pgl-OMe;
 H-L-Tyr-D-Ala-Gly-L-(N-s-Bu)Phe-D-Pgl-OEt;
 H-L-Tyr-D-Ala-Gly-L-Phe-L-(o-EtO)Pgl-OPr;
 H-L-Tyr-D-Ala-Gly-L-(N-Me)Phe-L-(p-NO₂)Pgl-Oip;
 (N-Me)-L-Tyr-D-Ala-Gly-L-(N-Et)Phe-L-(p-Pr)-Pgl-OMe;
 H-L-Tyr-D-Ala-Gly-L-Phe-D-(m-IpO)Pgl-OMe;
 H-L-Tyr-D-Val-Gly-L-(N-Me)Phe-L-(p-I)Pgl-OMe;
 (N-Me)-L-Tyr-D-Leu-Gly-L-Phe-L-(m-Br)Pgl-OEt;

30 et autres.

On prépare les composés de formule I par des procédés de routine pour la synthèse des peptides. Il est possible que, pendant la synthèse de certains des composés de formule I, une racémisation partielle se produise. Cependant, le degré de racémisation, dans le cas où elle se produit, n'est pas suffisant pour modifier de manière significative l'action analgésique des composés de formule I.

On peut synthétiser les composés de formule I par une synthèse des peptides en phase solide ou par synthèse classique en solution. Dans le procédé en phase solide, on construit la chaîne du peptide chaînon par chaînon en utilisant un support de résine, typiquement une résine de benzhydrylamine ou une résine de polystyrène chlorométhylée. On coupe le produit de la résine à l'aide d'acide fluorhydrique à 0° C environ et le purifie, généralement par voie chromatographique.

Quel que soit le procédé utilisé, la préparation des composés de formule I met en jeu la condensation d'acides aminés ou de fragments de peptides par réaction de la fonction carboxyle de l'un avec la fonction amine de l'autre pour produire une liaison amide. Pour parvenir à réaliser la condensation, il est souhaitable, tout d'abord, que toutes les fonctions réactives ne participant pas directement à la réaction soient rendues inactives à l'aide de groupements de blocage appropriés, et, deuxièmement, que la fonction carboxyle qui doit être couplée soit activée de manière appropriée pour que la condensation puisse avoir lieu. Tout cela implique une sélection soignée de l'ordre de la réaction et des conditions de réaction, ainsi que l'utilisation de groupements de blocage spécifiques pour que la synthèse du peptide voulu soit réalisée. On prépare chacun des acides aminés que l'on utilise pour produire les composés de formule I et qui comportent les groupements protecteurs et/ou les fonctions activantes choisies de manière particulière, par des techniques bien admises dans le domaine des peptides.

On utilise des combinaisons choisies de groupements de blocage à chaque stade de la synthèse totale des composés de formule I. Ces combinaisons particulières se sont révélées fonctionner de la façon la plus régulière.

D'autres combinaisons agiraient dans la synthèse des composés de formule I, mais peut-être avec un moindre degré de succès. C'est ainsi, par exemple, que les radicaux benzyloxycarbonyl, t-butyloxy-

carbonyle, t-amtyloxy-carbonyle, p-méthoxybenzyloxy-carbonyle, adamantyloxy-carbonyle et isobornyloxy-carbonyle peuvent être employés de manières diverses comme groupements de blocage de la fonction amine dans la synthèse des composés de formule I. En outre, le radical benzyle (Bzl) est généralement employé comme groupement protecteur du groupement hydroxyle pour le reste tyrosyle, mais on pourrait tout aussi bien employer d'autres radicaux, par exemple les radicaux paranitrobenzyle (PNB), paraméthoxybenzyle (PMB), etc.

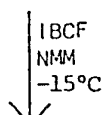
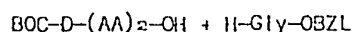
Les groupements de blocage de la fonction carboxyle que l'on utilise pour préparer les composés de formule I peuvent être n'importe lequel des groupements typiques formant des esters, y compris, par exemple, les radicaux méthyle, éthyle, benzyle, paranitrobenzyle, paraméthoxybenzyle, 2,2,2-trichloréthyle, etc.

Le couplage de l'acide aminé ou du fragment de peptide à fonction amine bloqué et convenablement protégé avec un acide aminé, ou d'un fragment de peptide à fonction carboxyle bloqué et convenablement protégé, pour la préparation des composés de formule I, consiste à rendre la fonction carboxyle libre de l'acide aminé ou du fragment de peptide active vis-à-vis de la réaction de couplage. Cela peut se faire en utilisant n'importe laquelle de plusieurs techniques bien admises. L'une de ces techniques d'activation met en jeu la transformation de la fonction carboxyle en un anhydride mixte. On active la fonction carboxyle libre en la faisant réagir avec un autre acide, typiquement un dérivé de l'acide carbonique, par exemple un chlorure de ce dernier. Des exemples de chlorures d'acides utilisés pour former des anhydrides mixtes sont le chloroformiate d'éthyle, le chloroformiate de phényle, le chloroformiate de sec.-butyle, le chloroformiate d'isobutyle, le chlorure de pivaloyle, etc. On utilise de préférence le chloroformiate d'isobutyle.

Un autre procédé d'activation de la fonction carboxyle afin de mettre en œuvre la réaction de couplage consiste à transformer cette fonction en son dérivé ester actif. De tels esters actifs comprennent, par exemple, un ester 2,4,5-trichlorophénylique, un ester pentachlorophénylique, un ester paranitrophénylique, etc. Un autre procédé de couplage que l'on peut utiliser est le procédé bien admis de couplage par un azide.

Le procédé de couplage préféré pour la préparation des composés de formule I met en jeu l'utilisation de N,N'-dicyclohexylcarbodiimide (DCC) pour activer la fonction carboxyle libre, en permettant ainsi au couplage de se faire. On met en œuvre cette technique d'activation et de couplage en utilisant une quantité équimolaire de DCC par rapport à l'acide aminé ou au fragment de peptide, et on la met en œuvre en présence d'une quantité équimolaire de 1-hydroxybenzotriazole (HBT). La présence de HBT supprime les réactions secondaires indésirables, y compris la possibilité de racémisation.

La coupure des groupements de blocage choisis est nécessaire à des stades particuliers de la séquence de synthèse utilisée pour la préparation des composés de formule I. Un chimiste ordinairement qualifié dans le domaine de la synthèse des peptides peut facilement choisir parmi les groupements protecteurs représentatifs ceux qui sont compatibles en ce sens qu'une coupure sélective du produit peut être réalisée, permettant l'élimination d'un ou de plusieurs mais pas de tous les groupements protecteurs présents sur l'acide aminé ou le fragment de peptide. Ces techniques sont bien admises dans le domaine des peptides. Une discussion plus détaillée des techniques qui sont disponibles pour la coupure sélective est fournie dans la littérature par Schröder et Lübke, «The Peptides», vol. I, Academic Press, New York (1965), et en particulier dans le tableau qui apparaît aux pages 72 à 75 de cette référence.

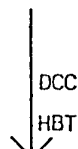
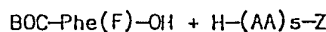


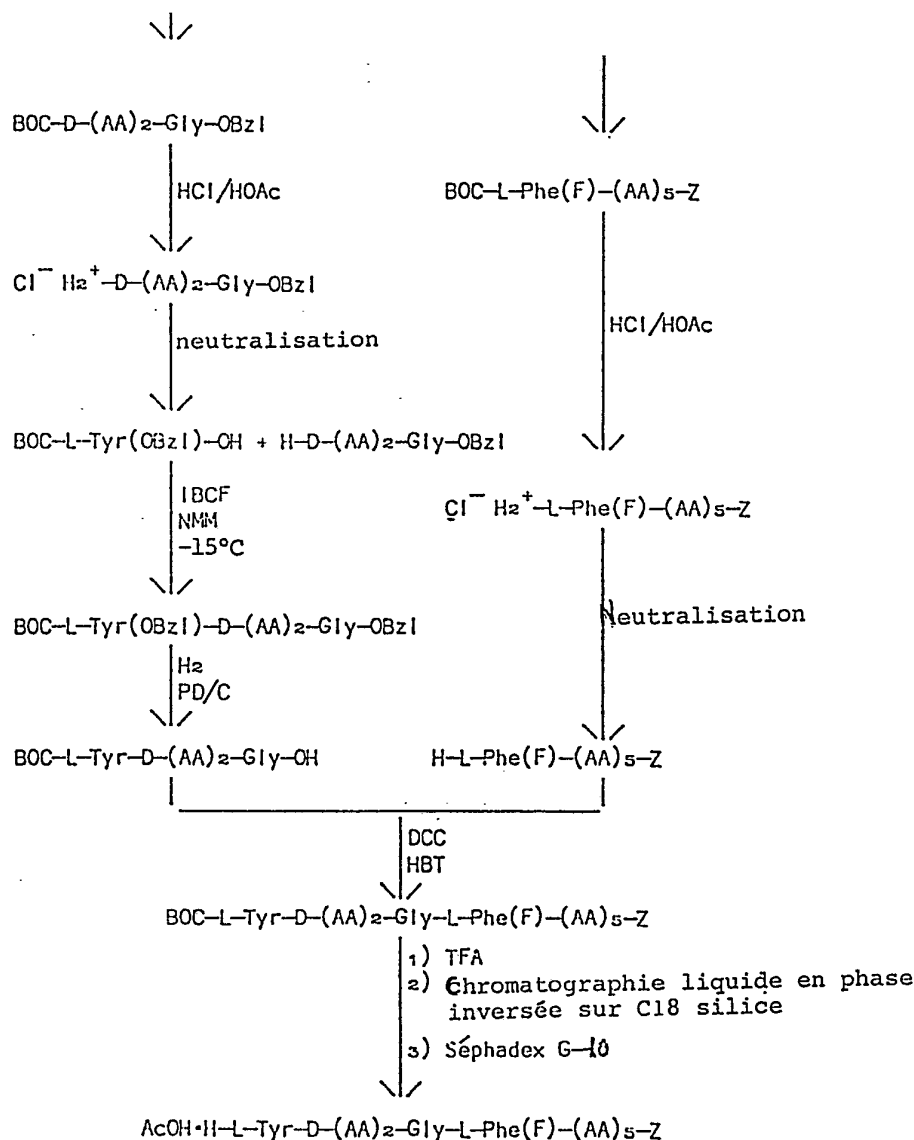
La coupure des groupements protecteurs de la fonction carboxyle peut être réalisée par saponification alcaline. On utilise généralement des conditions alcalines relativement fortes, faisant typiquement appel à un hydroxyde de métal alcalin tel que la soude, la potasse, l'hydroxyde de lithium, etc. Les conditions de réaction dans lesquelles la saponification est réalisée sont bien admises dans la technique. Un grand nombre des groupements de blocage de la fonction carboxyle peuvent également être éliminés par hydrogénolyse catalytique, y compris, par exemple, hydrogénolyse en présence d'un catalyseur tel que le palladium sur charbon. En outre, dans les cas où le groupement de blocage de la fonction carboxyle est le radical paranitrobenzyle ou 2,2,2-trichloréthyle, on peut réaliser le déblocage par réduction en présence de zinc et d'acide chlorhydrique.

On coupe un grand nombre des groupements de blocage de la fonction amine en traitant l'acide aminé ou le peptide protégé par un acide tel que l'acide formique, l'acide trifluoroacétique (TFA), l'acide paratoluènesulfonique (TSA), l'acide benzènesulfonique (BSA), l'acide naphthalènesulfonique, etc., pour former le sel d'addition d'acide correspondant. La coupure des autres groupements de blocage, par exemple du radical benzyloxy-carbonyle, peut se faire en traitant l'acide aminé ou le peptide bloqué par un mélange d'acide bromhydrique et d'acide acétique pour former le sel d'addition d'acide correspondant, c'est-à-dire le bromhydrate. Le procédé ou le réactif particulier que l'on utilise dépendra des caractéristiques chimiques ou physiques des produits mis en œuvre dans la réaction de déblocage spécifique. On peut transformer le sel d'addition d'acide résultant en une forme plus acceptable pharmaceutiquement en le traitant avec une résine d'échange d'ions appropriée telle que DEAE Séphadex A25, Amberlyst A27, etc.

Le groupement protecteur du groupement hydroxyle peut être conservé sur le peptide tout au long de sa séquence de préparation, n'étant éliminé que pendant l'opération de synthèse finale conjointement à la coupure du groupement de blocage de la fonction amine. Cependant, suivant les conditions utilisées pour éliminer le groupement de blocage de la fonction carboxyle, il peut être éliminé plus tôt dans la séquence de préparation. Quand on coupe le groupement carboxyle par saponification alcaline, le groupement protecteur de la fonction hydroxyle est conservé; cependant, quand on utilise une hydrogénolyse catalytique pour éliminer le groupement protecteur de la fonction carboxyle, le groupement protecteur de la fonction hydroxyle est, lui aussi, coupé. Ce dernier cas ne représente pas un problème sérieux étant donné que la préparation des composés de formule I peut se faire en présence d'un reste tyrosyle ayant un groupement hydroxyle libre.

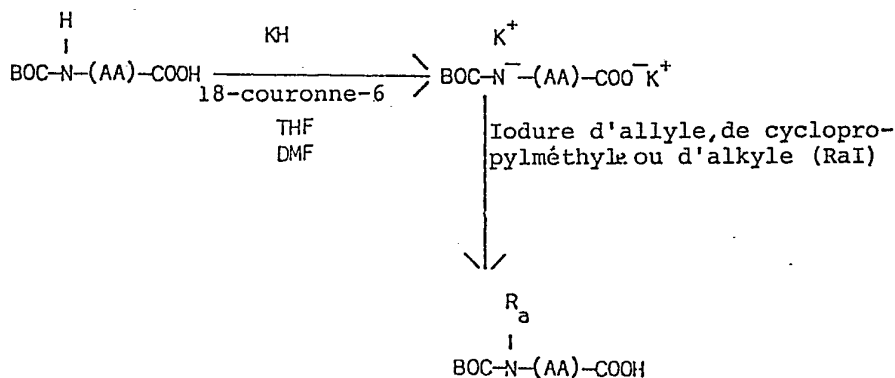
Parmi les procédés en solution classiques, un procédé spécifique préféré pour préparer les composés de formule I met en jeu le couplage d'un tripeptide à azote terminal, préparé séparément avec un dipeptide à carbone terminal, préparé séparément suivi d'un déblocage approprié des fragments bloqués éventuellement restants. Le dipeptide à carbone terminal préparé séparément que l'on fait réagir avec le tripeptide à azote terminal peut être structuré de manière à contenir la fonction amide, alcool, éther ou ester. Ou bien, il peut contenir un groupement qui représente un précurseur du fragment à azote terminal voulu. La séquence générale illustrant la préparation d'un pentapeptide de formule I peut être décrite de la façon suivante. Dans cette séquence, la lettre Z représente le fragment à carbone terminal, qu'il soit sous sa forme finale ou sous la forme d'un précurseur, le symbole AA représente un reste d'acide aminé, et le nombre affecté au symbole AA représente la position de l'acide aminé dans la séquence du peptide final.





Le schéma ci-dessus ne représente qu'une séquence de préparation des composés de formule I. D'autres séquences sont possibles. Un autre procédé en solution que l'on peut utiliser met en jeu l'addition successive, par étapes, d'acides aminés simples pour la construction de la chaîne du peptide, en commençant par le fragment aminoacide du carbone terminal. On utilise des techniques de réaction telles que celles décrites ci-dessus dans cette séquence de préparation ainsi que dans toutes autres séquences de préparation envisagées.

Dans certains des composés de formule I, un ou plusieurs des groupements R_1 et R_3 sont, de manières diverses, des radicaux alkyle, allyle ou cyclopropylméthyle. Dans ces cas, on utilise l'acide aminé substitué sur l'azote approprié dans la séquence de préparation. On peut préparer n'importe lequel des aminoacides monosubstitués sur l'azote de la manière suivante en utilisant, comme produit de départ, un aminoacide à azote protégé:



Comme l'indique la séquence ci-dessus, on traite d'abord l'acide aminé par l'hydruide de potassium en présence d'un éther-couronne approprié pour former le dianion. On traite ensuite l'intermédiaire par l'iodure d'allyle, de cyclopropylméthyle ou d'alkyle approprié, pour obtenir l'acide aminé substitué sur l'azote voulu.

Il sera évident pour l'homme du métier moyennement qualifié dans le domaine de la synthèse des peptides que la racémisation sur l'atome de carbone peut se faire dans des conditions fortement alcalines telles que celles que l'on utilise dans le procédé d'alkylation ci-dessus. Le degré de racémisation peut varier en fonction de l'ami-

noacide particulier que l'on met en jeu. On peut réduire la racémisation au minimum en utilisant un excès d'agent d'alkylation et en faisant en sorte que la durée de la réaction soit aussi courte que possible. Néanmoins, même dans le cas où une racémisation excessive se produit, on peut purifier le produit par recristallisation sous la forme du sel d'une amine asymétrique appropriée, par exemple sous la forme du sel de la d(+) α -phényléthylamine.

On transforme la partie à carbone terminal des peptides de formule I en son dérivé amide primaire ou secondaire, ester, alcool ou éther. Dans les pentapeptides à fonction amide de formule I, l'amide n'est pas substitué ou est monosubstitué sur l'azote. On réalise la transformation en dérivé amide par activation du groupement carboxyle de l'acide à l'aide de N,N'-dicyclohexylcarbodiimide (DCC) en présence de 1-hydroxybenzotriazole (HBT) pour obtenir l'ester de HBT. Pour produire les pentapeptides de formule I, on fait ensuite réagir l'ester avec de l'ammoniac anhydre ou avec l'amine primaire appropriée, pour obtenir l'amide non substitué ou l'amide monosubstitué sur l'azote. Des amines primaires appropriées pour la préparation des pentapeptides de formule I comprennent la méthylamine, l'éthylamine, la n-propylamine et l'isopropylamine.

On peut obtenir les esters à carbone terminal à partir des acides correspondants par des techniques bien admises dans ce domaine. La transformation en dérivé alcool primaire se fait en préparant l'ester méthylique de l'acide ou du peptide à carbone terminal. On réduit ensuite l'ester à l'aide de borohydrure de sodium et de chlorure de lithium pour obtenir le dérivé alcool primaire correspondant.

On peut préparer les éthers par n'importe lequel d'un certain nombre de procédés bien admis. L'un d'eux met en jeu le traitement de l'alcool correspondant dans un milieu de soude aqueuse, avec un bromure d'alkyle dont le groupement alkyle correspond à la partie alkyle prévue de l'éther.

Les composés de formule I sont des agents pharmaceutiques valables. Ils font preuve d'une action analgésique et aussi d'une action neuroleptique. Ils sont particulièrement utiles pour atténuer la douleur et améliorer les perturbations émotionnelles, lorsqu'ils sont administrés par voie parentérale ou orale à des mammifères, y compris à des humains.

On peut administrer les composés de formule I isolément ou en association avec des porteurs pharmaceutiquement acceptables, dont la proportion est déterminée par la solution et la nature chimique du composé, par la voie d'administration choisie, et par la pratique pharmaceutique normale.

Les compositions préférées sont celles qui conviennent à l'administration parentérale, c'est-à-dire intramusculaire, sous-cutanée ou intraveineuse. Ces compositions comprennent des solutions ou suspensions injectables stériles, et des formules injectables stériles à dépôt ou à libération lente. Des solutions injectables stériles particulièrement commodas sont réalisées dans une solution saline isotonique ou du dextrose isotonique. Les compositions injectables stériles peuvent être préparées et conservées telles quelles ou bien elles peuvent être préparées immédiatement avant l'emploi par addition d'un milieu stérile, de l'eau par exemple, à un poids connu d'ingrédient stérile contenu dans un véhicule, par exemple une fiole ou une ampoule, qui conserve la stérilité de l'ingrédient. Le poids connu d'ingrédient stérile peut également contenir une quantité suffisante de dextrose stérile ou de chlorure de sodium pour fournir une solution ou une suspension isotonique après addition du milieu stérile.

Les compositions préférées sont celles qui conviennent à l'administration orale. On peut les préparer sous forme d'unités séparées telles que capsules, comprimés, etc., contenant chacune une quantité prédéterminée du principe actif. En outre, on peut par exemple les préparer sous forme de poudre ou de granules, sous la forme d'une solution ou d'une suspension dans un milieu aqueux ou non aqueux, ou bien sous la forme d'une émulsion.

On peut préparer les comprimés par compression, généralement avec un ou plusieurs ingrédients accessoires. On prépare les compri-

més en comprimant le principe actif dans une forme fluide, telle qu'une poudre ou des granules, et en le mélangeant avec un ou plusieurs autres ingrédients tels que liants, lubrifiants, diluants inertes, agents tensio-actifs, tampons, agents aromatiques, épaississants, conservateurs, agents dispersants, etc.

Les médecins détermineront la posologie particulière des composés de formule I qui est la mieux appropriée. Les posologies choisies varieront en fonction du mode d'administration, du composé particulier administré, du patient à traiter, et du type de traitement. Mais en général la posologie sera comprise entre 10 μ g environ et 2 mg environ par kilogramme de poids corporel du patient, et de préférence d'environ 100 à environ 500 μ g par kilogramme de poids corporel, lorsque le médicament sera administré par voie intramusculaire ou sous-cutanée, et d'environ 1 à environ 200 μ g par kilogramme de poids corporel du patient, et de préférence d'environ 3 à environ 50 μ g par kilogramme de poids corporel, lorsqu'il sera administré par voie intraveineuse. En cas d'administration par voie orale, la posologie sera généralement comprise entre environ 1 et environ 500 mg par kilogramme de poids corporel du patient, et de préférence entre environ 50 et environ 200 mg par kilogramme de poids corporel, et, au mieux, entre environ 50 et environ 100 mg par kilogramme de poids corporel.

Les exemples suivants sont fournis pour illustrer la préparation et l'activité des composés de formule I. Ils ne sont pas destinés à limiter le champ d'application de l'invention. Toutes les abréviations utilisées dans ces exemples ont été définies ci-dessus.

Exemple 1:

Préparation de l'acétate de L-tyrosyl-D-alanylglycyl-L-phénylalanyl-L-p-méthoxyphénylglycinamide

A. N^α-t-butyloxycarbonyl-L-p-méthoxyphénylglycinamide

A une solution bien agitée de N^α-t-butyloxycarbonyl-p-méthoxyphénylglycine (5,03 g; 17,9 mmol) dissoute dans 50 ml de THF froid (−9° C), on a ajouté de la N-méthylmorpholine (1,99 ml; 17,9 mmol) puis du chloroformate d'isobutyle (2,34 ml; 17,9 mmol). Au bout de 2,5 min, on a fait barboter de l'ammoniac gazeux dans le mélange réactionnel pendant 1 h. On a partagé le mélange réactionnel entre 80 ml d'eau et 80 ml d'acétate d'éthyle, et on a séparé les couches. On a lavé les couches acétate d'éthyle successivement avec 80 ml de bicarbonate de potassium 1N, 80 ml d'eau, deux fois 80 ml d'acide chlorhydrique 1N et 80 ml d'eau. On a séché la couche acétate d'éthyle sur du sulfate de magnésium et on a filtré, et on a concentré le filtrat sous vide pour obtenir 4,77 g d'un solide blanc que l'on a recristallisé dans un mélange d'acétate d'éthyle et d'éther de pétrole pour obtenir le composé du titre (3,32 g; 66%).

B. Chlorhydrate de L-p-méthoxyphénylglycinamide

A une solution de 3,32 g (12 mmol) du composé de la partie A dans 6,0 ml d'acide acétique glacial, 4,7 ml d'anisole et 4,7 ml de triéthylsilane, on a ajouté 47 ml (36 mmol) d'acide chlorhydrique 0,77N dans l'acide acétique. On a agité le mélange réactionnel à la température ambiante pendant 35 min sous un tube de séchage contenant du sulfate de calcium, puis on a dilué le mélange avec 600 ml d'éther. On a filtré le précipité résultant, on l'a lavé deux fois avec 50 ml d'éther et on l'a séché sous vide pour obtenir 2,53 g du composé du titre (75%).

C. N^α-t-butyloxycarbonyl-L-phénylalanyl-L-p-méthoxyphénylglycinamide

A une suspension refroidie (0° C) de 650 mg (3,0 mmol) du produit de la partie D dans 6 ml de DMF, on a ajouté 0,52 ml (3 mmol) de DIEA, 811 mg (6,0 mmol) de HBT, une solution de 786 mg (3,0 mmol) de Boc-L-phénylalanine dans 4 ml de DMF, et une solution de 619 mg (3,0 mmol) de DCC dans 2,5 ml de DMF. On a agité le mélange réactionnel à 0° C pendant 2,5 h sous un tube de séchage à CaSO₄ et à la température ambiante pendant 16 h. On a filtré le mélange réactionnel pour éliminer la dicyclohexylurée

(DCU), et on a concentré le filtrat sous vide pour obtenir une suspension jaune que l'on a partagée entre 200 ml d'acétate d'éthyle et 100 ml d'eau. On a séparé les couches et on a lavé la couche acétate d'éthyle successive avec 100 ml d'eau, trois fois avec 400 ml de tampon à pH 10, trois fois avec 400 ml d'acide chlorhydrique 0,1N et trois fois avec 400 ml d'eau. On a séché la couche acétate d'éthyle sur du sulfate de magnésium et on a filtré, et on a chassé le solvant sous vide pour obtenir 1,27 g (99%) du composé du titre sous la forme d'un solide blanc.

D. Chlorhydrate de L-phénylalaninyl-L-p-méthoxyphénylglycinamide

A une solution de 1,27 g (3,0 mmol) du produit de la partie C dans 4 ml d'acide acétique glacial, 1,0 ml d'anisole, et 1,0 ml de triéthylsilane, on a ajouté 10 ml (15,8 mmol) d'acide chlorhydrique 1,58N dans de l'acide acétique. On a agité la solution pendant 45 min à la température ambiante sous un tube de séchage à CaSO_4 , puis on a dilué avec 250 ml d'éther. On a filtré le précipité résultant, on l'a lavé deux fois avec 15 ml d'éther et on l'a séché sous vide à 35° C pour obtenir 1,01 g (92%) du composé du titre.

E. N^α-t-butyloxycarbonyl-L-tyrosyl-D-alanylglycyl-L-phénylalaninyl-L-p-méthoxyphénylglycinamide

A une suspension de 1,01 g (2,36 mmol) du produit de la partie D dans 15 ml de DMF froid (0° C), on a ajouté 640 mg (4,72 mmol) de HBT, une suspension de 1,39 g (2,36 mmol) de sel de dicyclohexylamine de N^α-t-butyloxycarbonyl-L-tyrosyl-D-alanylglycine dans 10 ml de DMF, et une solution de 490 mg (2,38 mmol) de DCC dans 2 ml de DMF. On a agité le mélange réactionnel dans un bain de glace fondante pendant 18 h puis on l'a filtré pour éliminer le DCU. On a concentré le filtrat sous vide pour obtenir un résidu jaune que l'on a partagé entre 200 ml d'acétate d'éthyle et 200 ml d'eau. On a séparé les couches, et on a lavé la couche acétate d'éthyle successivement trois fois avec 500 ml de tampon à pH 10, trois fois avec 500 ml d'acide chlorhydrique 0,1N, et trois fois avec 500 ml d'eau. On a séché la couche acétate d'éthyle sur du sulfate de magnésium et on l'a filtrée, et on a chassé le solvant sous vide pour obtenir 1,93 g (plus de 100%) du composé du titre. La chromatographie en couche mince a montré qu'il contenait de la DCU comme impureté. On a utilisé le produit obtenu dans l'étape suivante sans autre purification.

F. Trifluoracétate de L-tyrosyl-D-alanylglycyl-L-phénylalaninyl-L-p-méthoxyphénylglycinamide

A 1,69 g (2,35 mmol) du produit de la partie E en suspension dans 3,0 ml d'anisole et 3,0 ml de triéthylsilane, on a ajouté 30 ml d'acide trifluoracétique. On a agité la solution jaune limpide résultante pendant 45 min sous du sulfate de calcium, puis on l'a concentrée sous vide pour obtenir une huile jaune. On a trituré cette huile avec 1,5 l d'éther, et on a recueilli le précipité par filtration, on l'a lavé deux fois avec 20 ml d'éther, et on l'a séché sous vide à 35° C pour obtenir 1,73 g (87%) du composé du titre exempt de contamination par la DCU.

G. Purification chromatographique pour obtenir l'acétate de L-tyrosyl-D-alanylglycyl-L-phénylalaninyl-L-p-méthoxyphénylglycinamide

On a fait subir au produit de la partie F (1,50 g; 2,05 mmol) une chromatographie à $5,15 \times 10^6$ dyn/cm² sur une colonne de gel de silice -C₁₈ (5 × 72 cm) en utilisant comme solvant d'élution un mélange d'acétonitrile et d'acétate d'ammonium 0,1N. On a contrôlé l'effluent de la colonne par absorption des rayons ultraviolets à 280 nm et, après que 1122 ml eurent été élués, on a recueilli l'éluat en fractions de 1,5 min et 15,9 ml chacune. On a réuni les fractions 33 à 75 et on les a lyophilisées pour obtenir un solide blanc.

On sépare ce solide des sels de tampon résiduel par chromatographie sur Séphadex G-10 en utilisant de l'acide acétique à 50% comme solvant d'élution. On a contrôlé l'éluat par absorption des rayons ultraviolets à 280 nm, et on a recueilli des fractions de 6 min

(8,4 ml). On a réuni les fractions 27 à 46 et on les a lyophilisées pour obtenir 1,12 g (75%) du composé du titre.

$$[\alpha]_D^{25} = +95,59^\circ (c = 0,5, \text{HCl } 1\text{N})$$

$$[\alpha]_{365}^{25} = +384,22^\circ (c = 0,5, \text{HCl } 1\text{N})$$

Analyse pour C₃₄H₄₂N₆O₉ (678,743):

Calculé: C 60,17 H 6,24 N 12,38%

Trouvé: C 60,41 H 6,03 N 12,61%

Analyse des aminoacides: Gly, 1,02; Ala, 1,00; Tyr, 1,02; Phe, 0,98; p-(MeO)Pgl, 1,04*; NH₃, 1,05. % peptides, 98.

* Pendant l'analyse, une partie s'est coupée et a été analysée comme étant de la p-hydroxyphénylglycine.

Exemple 2:

Préparation de l'acétate de L-tyrosyl-D-alanylglycyl-L-phénylalaninyl-L-phénylglycinamide

On a préparé ce produit conformément au mode opératoire de l'exemple 1 pour obtenir 1,37 g d'un produit qui présentait les caractéristiques suivantes:

$$[\alpha]_D^{25} = +93,79^\circ (c = 0,5, \text{HCl } 1\text{N})$$

$$[\alpha]_{365}^{25} = +343,25^\circ (c = 0,5, \text{HCl } 1\text{N})$$

Analyse pour C₃₃H₄₀N₆O₈ (648,722):

Calculé: C 61,10 H 6,22 N 12,96%

Trouvé: C 61,36 H 6,28 N 13,17%

Analyse des aminoacides: Gly, 1,01; Ala, 1,02; Tyr, 1,99; Phe, 1,00; Pgl, 0,98; NH₃, 1,03; % peptides, 93,2.

Exemple 3:

Préparation de l'acétate de L-tyrosyl-D-alanylglycyl-L-phénylalaninyl-D-phénylglycinamide

On a préparé ce produit conformément au mode opératoire de l'exemple 1 pour obtenir 1,38 g d'un produit qui présentait les caractéristiques suivantes:

$$[\alpha]_D^{25} = +26,02^\circ (c = 0,5, \text{HCl } 1\text{N})$$

$$[\alpha]_{365}^{25} = +69,96^\circ (c = 0,5, \text{HCl } 1\text{N})$$

Analyse pour C₃₃H₄₀N₆O₈ (648,722):

Calculé: C 61,10 H 6,22 N 12,96%

Trouvé: C 61,11 H 5,96 N 13,14%

Analyse des aminoacides: Gly, 1,01; Ala, 1,00; Tyr, 1,00; Phe, 1,00; Pgl, 0,99; NH₃, 1,00; % peptides, 89,4.

Exemple 4:

Préparation du chlorhydrate de L-tyrosyl-D-alanylglycyl-L-phénylalaninyl-D-p-hydroxyphénylglycinamide

On a préparé ce produit conformément au mode opératoire de l'exemple 1. Il présentait les caractéristiques suivantes:

$$[\alpha]_D^{25} = +15,71^\circ (c = 0,5, \text{HCl } 1\text{N})$$

Analyse pour C₃₁H₃₇N₆O₇·Cl:

Calculé: C 58,08 H 5,82 N 13,11 Cl 5,53%

Trouvé: C 56,52 H 5,86 N 12,32 Cl 3,76%*

* Ce produit représente un mélange du chlorhydrate et de l'acétate.

Exemple 5:

Préparation de l'acétate dihydraté de L-tyrosyl-D-alanylglycyl-L-phénylalaninyl-D-phénylglycin-N-méthylamide

On a préparé ce produit conformément au mode opératoire de l'exemple 1 pour obtenir 826 mg d'un produit qui présentait les caractéristiques suivantes:

$$[\alpha]_D^{25} = -31,30^\circ (c = 0,5, \text{HCl } 1\text{N})$$

$$[\alpha]_{365}^{25} = -107,48^\circ (c = 0,5, \text{HCl } 1\text{N})$$

Analyse pour $C_{36}H_{53}N_7O_{12}$ (775,864):*

Calculé: C 55,73 H 6,89 N 12,64%

Trouvé: C 55,90 H 6,18 N 12,59%

Analyse des aminoacides: Gly, 1,00; Ala, 1,00; Tyr, 0,99; Phe, 0,98; NH_3 , 1,00; Pgl, 0,98; CH_3NH_2 , 1,01; % peptides, 88,0.

* Calcul effectué en considérant que le produit est sous la forme du dihydrate et qu'il contient une quantité équimolaire d'acétate d'ammonium (en accord avec la présence d'une quantité équimolaire d'ammoniac indiquée dans l'analyse des aminoacides).

Exemple 6:

Préparation de l'acétate de *L*-tyrosyl-*D*-alanyl-glycyl-*L*-(*N*-méthyl)-phénylalanyl-*L*-phénylglycinamide

On a préparé ce produit conformément au mode opératoire de l'exemple 1 pour obtenir 425 mg d'un produit qui présentait les caractéristiques suivantes:

$[\alpha]_D^{25} = +37,25^\circ$ (c = 0,5, HCl 1N)

$[\alpha]_{365} = +127,05^\circ$ (c = 0,5, HCl 1N)

Analyse pour $C_{34}H_{42}N_6O_8$ (662,749):

Calculé: C 61,62 H 6,39 N 12,68%

Trouvé: C 61,77 H 6,16 N 12,61%

Analyse des aminoacides: Gly, 1,00; Ala, 1,00; Tyr, 1,01; NH_3 , 1,02; Pgl, 0,98; % peptides, 86,4.

Exemple 7:

Préparation de l'acétate de *L*-tyrosyl-*D*-alanyl-glycyl-*L*-(*N*-méthyl)-phénylalanyl-*D*-phénylglycinamide

On a préparé ce produit conformément au mode opératoire de l'exemple 1 pour obtenir 586 mg d'un produit qui présentait les caractéristiques suivantes:

$[\alpha]_D^{25} = -22,13^\circ$ (c = 0,25, HCl 1N et DMF)

$[\alpha]_{365} = -92,49^\circ$ (c = 0,25, HCl 1N et DMF)

Analyse pour $C_{34}H_{42}N_6O_8$ (662,749):

Calculé: C 61,62 H 6,39 N 12,68%

Trouvé: C 61,86 H 6,32 N 12,94%

Analyse des aminoacides: Gly, 1,00; Ala, 1,00; Tyr, 1,00; NH_3 , 1,04; Pgl, 0,99; % peptides, 89,6.

Exemple 8:

Préparation de l'acétate de *L*-tyrosyl-*D*-alanyl-glycyl-*L*-(*N*-méthyl)-phénylalanyl-*L*-phénylglycinamide

On a préparé ce produit en utilisant les techniques de l'exemple 1, mais en préparant d'abord les dipeptides représentés par les restes d'aminoacides en positions 4 et 5 et en positions 2 et 3. On a ensuite couplé ces dipeptides, et on a couplé le térapeptide résultant avec l'acide aminé à azote terminal pour obtenir 146 mg du produit voulu.

$[\alpha]_D^{25} = +32,07^\circ$ (c = 0,5, HCl 1N)

$[\alpha]_{365} = +114,85^\circ$ (c = 0,5, HCl 1N)

Analyse pour $C_{35}H_{42}N_6O_8$ (676,776):

Calculé: C 62,12 H 6,55 N 12,42%

Trouvé: C 61,85 H 6,27 N 12,15%

Analyse des aminoacides: Gly, 1,00; Ala, 1,00; Tyr, 1,00; NH_3 , 1,08; Pgl, 1,00; % peptides, 92,8.

Exemple 9:

Préparation de l'acétate de *L*-tyrosyl-*D*-alanyl-glycyl-*L*-(*N*-n-propyl)-phénylalanyl-*L*-phénylglycinamide

On a préparé ce produit conformément au mode opératoire de l'exemple 8 pour obtenir 478 mg d'un produit qui présentait les caractéristiques suivantes:

$[\alpha]_D^{25} = +25,49^\circ$ (c = 0,5, HCl 1N)

$[\alpha]_{365} = +87,45^\circ$ (c = 0,5, HCl 1N)

Analyse pour $C_{36}H_{46}N_6O_8$ (690,798):

Calculé: C 62,59 H 6,71 N 12,17%

Trouvé: C 62,33 H 6,43 N 12,45%

Analyse des aminoacides: Gly, 0,99; Ala, 1,01; Tyr, 1,02; NH_3 , 1,11; Pgl, 0,98; % peptides, 90,0.

Exemple 10:

Préparation de l'acétate de (*N*-méthyl)-*L*-tyrosyl-*D*-alanyl-glycyl-*L*-(*N*-méthyl)phénylalanyl-*L*-phénylglycinamide

On a préparé ce produit conformément au mode opératoire de l'exemple 8 pour obtenir 676 mg d'un produit qui présentait les caractéristiques suivantes:

$[\alpha]_D^{25} = +30,9^\circ$ (c = 0,5, méthanol)

$[\alpha]_{365} = +116,4^\circ$ (c = 0,5, méthanol)

Analyse pour $C_{35}H_{44}N_6O_8$ (676,776):

Calculé: C 62,11 H 6,55 N 12,42%

Trouvé: C 62,39 H 6,13 N 12,28%

Analyse des aminoacides: Gly, 1,01; Ala, 0,99; NH_3 , 1,04; Pgl, 0,96; % peptides, 92.

Exemple 11:

Préparation de l'acétate de (*N*-méthyl)-*L*-tyrosyl-*D*-alanyl-glycyl-*L*-(*N*-méthyl)phénylalanyl-*D*-phénylglycinamide

On a préparé ce produit conformément au mode opératoire de l'exemple 8 pour obtenir 782 mg d'un produit qui présentait les caractéristiques suivantes:

$[\alpha]_D^{25} = -26,0^\circ$ (c = 0,5, méthanol)

$[\alpha]_{365} = -105,3^\circ$ (c = 0,5, méthanol)

Analyse pour $C_{35}H_{44}N_6O_8$ (676,776):

Calculé: C 62,11 H 6,55 N 12,42%

Trouvé: C 62,86 H 6,74 N 12,75%

Analyse des aminoacides: Gly, 1,01; Ala, 0,99; NH_3 , 1,15; Pgl, 1,00; % peptides, 92.

L'action analgésique des composés de formule I est démontrée par le test de la plaque chaude sur les souris. Dans ce test, on place une souris à l'intérieur d'un cylindre vertical en résine acrylique comprenant, à sa base, une surface de plaque chaude que l'on maintient à $52^\circ C$. On donne à la souris, par voie orale ou par injection sous-cutanée, une quantité prédéterminée du composé d'essai dissoute ou en suspension dans un porteur approprié, et, 15 min après l'administration du composé d'essai, on place la souris sur la surface de la plaque chaude. On mesure le temps de latence, en secondes, qui s'écoule avant que la souris saute de la surface de la plaque chaude. Un agent qui fait preuve d'action analgésique produit une augmentation de ce temps de latence par rapport à celui de souris témoins qui ne reçoivent que le porteur. Cela doit obligatoirement se produire avec une dose qui ne provoque ni défaut de coordination ni invalidation motrice. Le tableau suivant donne les résultats de DE_{50} obtenus dans ce test.

Tableau I

	Action analgésique, test de la plaque chaude	
	Composé	DE_{50} , mg/kg, voie sous-cutanée
60	Exemple 1	3,14
	Exemple 2	0,40
	Exemple 3	0,23
65	Exemple 4	1,0

Tableau 1 (suite)

Action analgésique, test de la plaque chaude	
Composé	DE ₅₀ , mg/kg, voie sous-cutanée
Exemple 5	0,74
Exemple 6	0,19
Exemple 7	3,82
Exemple 8	0,064
Exemple 9	0,15

Un autre test que l'on utilise pour évaluer l'action analgésique des composés de formule I est le test de contorsion sur les souris. On utilise dans ce test des souris mâles albinos de race normale Cox, pesant 20 à 22 g et que l'on fait jeûner pendant une nuit. Les contorsions qui se caractérisent par une contraction de la musculature abdominale, une extension des pattes de derrière et une rotation du tronc, sont induites par l'administration intrapéritonéale d'une dose de 55 mg/kg d'acide acétique (0,55%). Chaque groupe de traitement se compose de cinq souris. Le nombre total de contorsions pour le

groupe de traitement est déterminé dans une période d'observation de 10 min commençant 5 min après l'administration de l'acide acétique. Les groupes témoins ont un total de 200 à 350 contorsions par période d'observation.

On administre les composés d'essai à 100 mg/kg par la voie orale, 30, 90 et 180 min après l'administration intrapéritonéale de l'acide acétique, et par la voie sous-cutanée, 30 min après cette administration. Le tableau suivant donne les résultats de DE₅₀ obtenus dans ce test.

Tableau 2

Action analgésique, test des contorsions sur les souris		
Composé	DE ₅₀ , mg/kg voie sous-cutanée	DE ₅₀ mg/kg voie orale
Exemple 1	112	—
Exemple 2	12	> 80
Exemple 3	2,2	330
Exemple 6	1,4	—
Exemple 10	1,4	> 320
Exemple 11	1,8	> 320