CH 634 291 A5

(19) CONFÉDÉRATION SUISSE
OFFICE FÉDÉRAL DE LA PROPRIÉTÉ INTELLECTUELLE

(51) Int. Cl.³: C 07 C 103/52
A 61 K 37/02

ETH-BIBLIOTHEK ZÜRICH

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) 634 291

(21) Numéro de la demande: 10035/78

(22) Date de dépôt: 26.09.1978

(30) Priorité(s): 29.09.1977 GB 40476/77

(24) Brevet délivré le: 31.01.1983

(45) Fascicule du brevet publié le: 31.01.1983

(73) Titulaire(s):
Reckitt & Colman Products Limited, London W4 2RW (GB)

(72) Inventeur(s):
Michael John Rance, Hessle/Yorks (GB)
Balraj Kristan Handa, Wawne/Yorks (GB)
Barry Arnold Morgan, Hessle/Yorks (GB)

(74) Mandataire:
Kirker & Cie, Genève

(54) Peptides.

(57) Amides tétrapeptidiques de formule

$$R^1R^2\text{Tyr-A-Gly-B-}\underset{\underset{R^3}{|}}{N}\text{-}C_nH_{2n}S(O)_rC_pH_{2p+1}$$

dans laquelle R^1, R^2, R^3, A et B représentent certains substituants spécifiés et n est compris entre 2 et 5, p est compris entre 1 et 5 et r est 1 ou 2. Ces composés se révèlent pharmacologiquement actifs lorsqu'ils sont essayés sur la préparation d'iléon de cobaye stimulé à travers la paroi, qui indique leur affinité pour les sites récepteurs de produits opiacés et leur utilité possible par exemple en tant qu'analgésiques.

REVENDICATIONS

1. Composé de formule:

$$R^1R^2Tyr\text{-}A\text{-}Gly\text{-}B\text{-}\underset{\underset{R^3}{|}}{N}\text{-}C_nH_{2n}S(O)_rC_pH_{2p+1} \quad (I)$$

dans laquelle:
R^1 est l'hydrogène, ou un groupe alcoyle $C_{1\text{-}4}$, alcényle $C_{3\text{-}5}$, propargyle, cycloalcoylméthyle $C_{4\text{-}8}$, ou phénylalcoyle $C_{1\text{-}3}$;
R^2 est l'hydrogène ou un groupe alcoyle $C_{1\text{-}4}$;
A est un reste D-sérine ou D-thréonine qui peut, dans chaque cas, être substitué sur le β-OH par un alcoyle $C_{1\text{-}4}$, ou un reste D-méthionine, D-méthioninesulfoxyde ou D-méthioninesulfone, ou le groupe $-NH-CR^4H-CO-$ dans lequel R^4 est un alcoyle $C_{1\text{-}5}$, ce groupe ayant la configuration D;
B est le groupe $-NR^6-CHR^8-CO-$ où R^6 est l'hydrogène ou alcoyle $C_{1\text{-}4}$ et
R^8 est CH_2Ar, où Ar est un groupe phényle qui peut être substitué par un chlore, un groupe méthyle, oxhydrile ou méthoxy, le groupe ayant la configuration L;
R^3 est l'hydrogène, ou un groupe alcoyle $C_{1\text{-}10}$, phényle ou phénylalcoyle $C_{1\text{-}6}$;
n est compris entre 2 et 5;
p est compris entre 1 et 5;
r est 1 ou 2,
et leurs sels d'addition d'acide.

2. Composé selon la revendication 1, caractérisé en ce que R^1 est l'hydrogène, ou un groupe méthyle, allyle, cyclopropylméthyle ou phényléthyle;
R^2 est l'hydrogène;
A est un reste D-sérine, D-thréonine, D-alanine, D-valine, D-norvaline, D-leucine, D-norleucine, D-O-méthylsérine, D-méthionine, D-méthioninesulfoxyde ou D-méthioninesulfone, ou un reste de l'acide D-α-aminobutyrique;
B est un reste L-phénylalanine, L-N-méthylphénylalanine ou L-p-chlorophénylalanine;
R^3 est l'hydrogène ou un groupe alcoyle $C_{1\text{-}5}$ ou phénylalcoyle $C_{1\text{-}3}$;
n est 2 ou 3;
p est compris entre 1 et 3;
et leurs sels obtenus par addition d'un acide.

3. L-tyrosyl-D-alanylglycyl-N-méthyl-L-phénylalanine-3-méthylsulfinylpropylamide selon la revendication 1.

4. N-méthyl-L-tyrosyl-D-alanylglycyl-N-méthyl-L-phénylalanine-3-méthylsulfinylpropylamide selon la revendication 1.

5. N-méthyl-L-tyrosyl-D-alanylglycyl-L-phénylalanine-3-méthylsulfinylpropylamide selon la revendication 1.

6. L-tyrosyl-D-sérylglycyl-N-méthyl-L-phénylalanine-3-méthylsulfinylpropylamide selon la revendication 1.

7. L-tyrosyl-D-méthionine(sulfoxyde)glycyl-N-méthyl-L-phénylalanine-3-méthylsulfinylpropylamide selon la revendication 1.

8. L-tyrosyl-D-norvalylglycyl-N-méthyl-L-phénylalanine-3-méthylsulfinylpropylamide selon la revendication 1.

9. L-tyrosyl-D-alanylglycyl-N-méthyl-L-phénylalanine-2-méthylsulfinyléthylamide selon la revendication 1.

10. L-tyrosyl-D-alanylglycyl-N-méthyl-L-phénylalanine-N-méthyl-3-méthylsulfinylpropylamide selon la revendication 1.

11. L-tyrosyl-D-alanylglycyl-N-méthyl-L-phénylalanine-2-propylsulfinyléthylamide selon la revendication 1.

12. L-tyrosyl-D-alanylglycyl-N-méthyl-L-phénylalanine-N-isoamyl-N-3-méthylsulfinylpropylamide selon la revendication 1.

13. L-tyrosyl-D-alanylglycyl-N-méthyl-L-phénylalanine-N-3-méthylsulfinylpropyl-N-2-phényléthylamide selon la revendication 1.

14. L-tyrosyl-D-alanylglycyl-N-méthyl-L-phénylalanine-3-méthylsulfonylpropylamide selon la revendication 1.

15. N-méthyl-L-tyrosyl-D-alanylglycyl-N-méthyl-L-phénylalanine-3-méthylsulfonylpropylamide selon la revendication 1.

16. L-tyrosyl-D-alanylglycyl-L-phénylalanine-3-méthylsulfonylpropylamide selon la revendication 1.

17. L-tyrosyl-D-méthionylglycyl-N-méthyl-L-phénylalanine-3-méthylsulfinylpropylamide selon la revendication 1.

18. L-tyrosyl-D-alanylglycyl-N-méthyl-L-p-chlorophénylalanine-3-méthylsulfinylpropylamide selon la revendication 1.

19. L-tyrosyl-D-alanylglycyl-N-méthyl-L-phénylalanine-4-méthylsulfinylbutylamide selon la revendication 1.

20. N-méthyl-L-tyrosyl-D-méthionine(sulfoxyde)glycyl-N-méthyl-L-phénylalanine-3-méthylsulfinylpropylamide selon la revendication 1.

21. L-tyrosine-D-alanylglycyl-L-phénylalanine-3-méthylsulfinylpropylamide selon la revendication 1.

22. Procédé pour la préparation d'un composé de formule I, selon la revendication 1, caractérisé en ce qu'un composé de formule

$$H-M_2-W \quad (II)$$

où M_2 est un reste amino-acide ou peptide protégé et W est un groupe $NR^3C_nH_{2n}SC_pH_{2p+1}$, où R^3, n et p ont les mêmes significations que plus haut, est:

a) ou bien couplé avec un composé de formule

$$Y-M_1-OH \quad (III)$$

dans laquelle Y est un groupe protégeant N ou bien désigne R^1R^2 qui ont la même signification que ci-dessus, sauf qu'ils ne sont pas de l'hydrogène, et M_1 est un reste amino-acide ou peptide protégé, M_1 et M_2 ensemble représentant -Tyr-A-Gly-B- et où A et B ont les mêmes significations que plus haut, puis subit ensuite les étapes d'oxydation du soufre en un groupe $S(O)_r$, r désignant 1 ou 2, puis d'élimination de la protection;

b) ou bien oxydé sur le soufre pour former un groupe $S(O)_r$, puis couplé avec un composé de formule

$$Y-M_1-OH$$

où Y et M_1 ont les mêmes significations que plus haut, puis il subit l'élimination de la protection.

23. Préparation pharmaceutique comprenant au moins un des composés selon l'une des revendications 1 à 21, ou un de leurs sels pharmaceutiquement acceptables, avec un agent de dilution ou de transport pharmaceutiquement acceptable.

Cette invention concerne des peptides, leurs procédés de préparation et des préparations thérapeutiques les contenant.

Selon cette invention, on obtient des composés de formule:

$$R^1R^2Tyr\text{-}A\text{-}Gly\text{-}B\text{-}\underset{\underset{R^3}{|}}{N}\text{-}C_nH_{2n}S(O)_rC_pH_{2p+1} \quad (I)$$

dans laquelle:
R^1 est l'hydrogène, ou un groupe alcoyle $C_{1\text{-}4}$, alcényle $C_{3\text{-}5}$, propargyle, cycloalcoylméthyle $C_{4\text{-}8}$, ou phénylalcoyle $C_{1\text{-}3}$;
R^2 est l'hydrogène ou un groupe alcoyle $C_{1\text{-}4}$;
A est un reste D-sérine ou D-thréonine qui peut dans chaque cas être substitué sur le β-OH par un alcoyle $C_{1\text{-}4}$, ou un reste D-méthionine, D-méthioninesulfoxyde ou D-méthioninesulfone, ou le groupe $-NH-CR^4H-CO-$ (dans lequel R^4 est un alcoyle $C_{1\text{-}5}$), ce groupe ayant la configuration D;
B est le groupe $-NR^6CHR^8-CO-$ (où R^6 est l'hydrogène ou alcoyle $C_{1\text{-}4}$ et R^8 est CH_2Ar où Ar est un groupe phényle qui peut être substitué par un chlore, un groupe méthyle, oxhydrile ou méthoxy), le groupe ayant la configuration L;
R^3 est l'hydrogène, ou un groupe alcoyle $C_{1\text{-}10}$, phényle ou phénylalcoyle $C_{1\text{-}6}$;
n est compris entre 2 et 5;
p est compris entre 1 et 5;
r est 1 ou 2,
et leurs sels obtenus par addition d'un acide.

Des exemples de A sont constitués par la D-alanine, la D-leucine, la D-isoleucine, la D-norleucine, la D-valine et la D-norvaline.

Des exemples de B sont constitués par la L-phénylalanine, la L-o-chlorophénylalanine, la L-p-chlorophénylalanine, la L-p-méthoxyphénylalanine, la L-p-méthylphénylalanine et leurs dérivés N-alcoyle C_{1-4}, comme par exemple la L-N-méthylphénylalanine.

Dans un domaine particulier de cette invention, on obtient des composés de formule I où:

R^1 est l'hydrogène, ou un groupe méthyle, allyle, cyclopropylméthyle ou phényléthyle;

R^2 est l'hydrogène;

A est un reste D-sérine, D-thréonine, D-alanine, D-valine, D-norvaline, D-leucine, D-norleucine, D-o-méthylsérine, D-méthionine, D-méthioninesulfoxyde ou D-méthioninesulfone ou un reste de l'acide D-α-aminobutyrique;

B est un reste L-phénylalanine, L-N-méthylphénylalanine ou L-p-chlorophénylalanine;

R^3 est l'hydrogène, ou un groupe alcoyle C_{1-5} ou phénylalcoyle C_{1-3};

n est 2 ou 3;

p est compris entre 1 et 3;

r est 1 ou 2,

et leurs sels obtenus par addition d'un acide.

Les symboles employés ici pour désigner les dérivés d'acides aminés sont ceux qu'on emploie habituellement en chimie des peptides et qu'on peut trouver dans «Biochem. J.», *126*, 773 (1972). Tous les restes amino-acides ont la configuration naturelle ou L, à moins qu'on en indique une autre.

L'invention permet aussi d'obtenir des préparations thérapeutiques contenant un composé correspondant à la formule ou un de ses sels obtenus par addition d'un acide pharmaceutiquement acceptable, associé à un agent de dilution ou de transport pharmaceutiquement acceptable.

Les composés selon l'invention présentent une activité pharmacologique. Ainsi, par exemple, ils possèdent une affinité pour les sites récepteurs de produits opiacés et ils peuvent être utilisés en tant que tels comme analgésiques, antagonistes narcotiques et agents antidiarrhéiques. Le test utilisé pour la détection de leur activité positive sur les sites récepteurs de produits opiacés est celui qui emploie la préparation d'iléon de cobaye stimulé à travers sa paroi et qui est décrit dans Kosterlitz H.W. et Watt A.J., «J. Pharmacol. and Chemotherapy», *33*, 266-176 (1968).

Les composés selon l'invention peuvent être préparés par les méthodes standards de la chimie des peptides.

Ainsi, ils peuvent être produits par couplages successifs, habituellement à partir d'une extrémité portant un C, d'acides aminés convenablement protégés et activés, soit en solution selon des méthodes classiques ou par des procédés en phase solide, ou par le couplage de fragments constitués de peptides convenablement protégés.

On trouvera des détails concernant la sélection des groupes protecteurs et les méthodes pour les incorporer ainsi que les conditions de réaction convenables pour former des liaisons amide (peptide) et pour éliminer les groupes protecteurs, dans les références suivantes:

a) Houben Weyl, «Methoden der Organischen Chemie», vol. 16; parties I et II der «Synthese von Peptiden» (Thieme, 1974);

b) Schroder & Lubke, «The Peptides», Academic Press (1965).

Les composés de formule I peuvent être préparés par un procédé caractérisé en ce qu'un composé de formule

$$H-M_2-W \qquad (II)$$

où M_2 est un reste amino-acide ou peptide protégé et W est un groupe $NR^3C_nH_{2n}SC_pH_{2p+1}$, où R^3, n et p ont les mêmes significations que plus haut, est:

a) ou bien couplé avec un composé de formule

$$Y-M_1-OH \qquad (III)$$

dans laquelle Y est un groupe protégeant N ou bien désigne R^1R^2 qui ont la même signification que ci-dessus, sauf qu'ils ne sont pas de l'hydrogène, et M_1 est un reste amino-acide ou peptide protégé, M_1 et M_2 ensemble représentant -Tyr-A-Gly-B- et où A et B ont les mêmes significations que plus haut, puis subit ensuite les étapes d'oxydation du soufre en un groupe $S(O)_r$, r désignant 1 ou 2, puis d'élimination de la protection;

b) ou bien oxydé sur le soufre pour former un groupe $S(O)_r$, puis couplé avec un composé de formule

$$Y-M_1-OH$$

où Y et M_1 ont les mêmes significations que plus haut, puis il subit l'élimination de la protection.

Il s'est révélé plus commode en pratique, dans le cas a, d'éliminer la protection avant d'effectuer l'oxydation.

Les couplages peuvent être effectués par les méthodes standards de synthèse des peptides, avec ou sans isolation des constituants activés correspondant au composé de formule III.

Les oxydations sont habituellement effectuées dans un solvant approprié avec 3 ou 4 équivalents molaires d'agent oxydant. Dans la pratique, on a constaté que des concentrations de sulfure de l'ordre de 20 mM fournissent des composés de formule I dans lesquels r = 1 (composés sulfinyl), tandis que des concentrations supérieures, de l'ordre de 200 mM, fournissent principalement des composés de formule I dans lesquels r = 2 (composés sulfonyl). Il est facile d'effectuer les oxydations en employant du peroxyde d'hydrogène, par exemple dans l'éthanol.

Cette invention est illustrée par les exemples suivants qui ne sont pas limitatifs et dans lesquels les températures sont données en degrés Celsius.

Les abréviations suivantes sont employées tout au long du texte:

BOC	t-Butyloxycarbonyl
Bu^t	t-Butyl
IBCF	Chloroformiate d'isobutyle
Z	Benzyloxycarbonyl
ONSu	N-hydroxysuccinimido
DCCI	Dicyclohexylcarbodiimide
DCU	Dicyclohexylurée
HONSu	N-hydroxysuccinimide
NMM	N-méthylmorpholine
DMF	Diméthylformamide
DCHA	Dicyclohexylamine
DME	1,2-Diméthoxyéthane
Tmp	3-Méthylthiopropyle
Tos	Tosylate
TMG	Tétraméthylguanidine

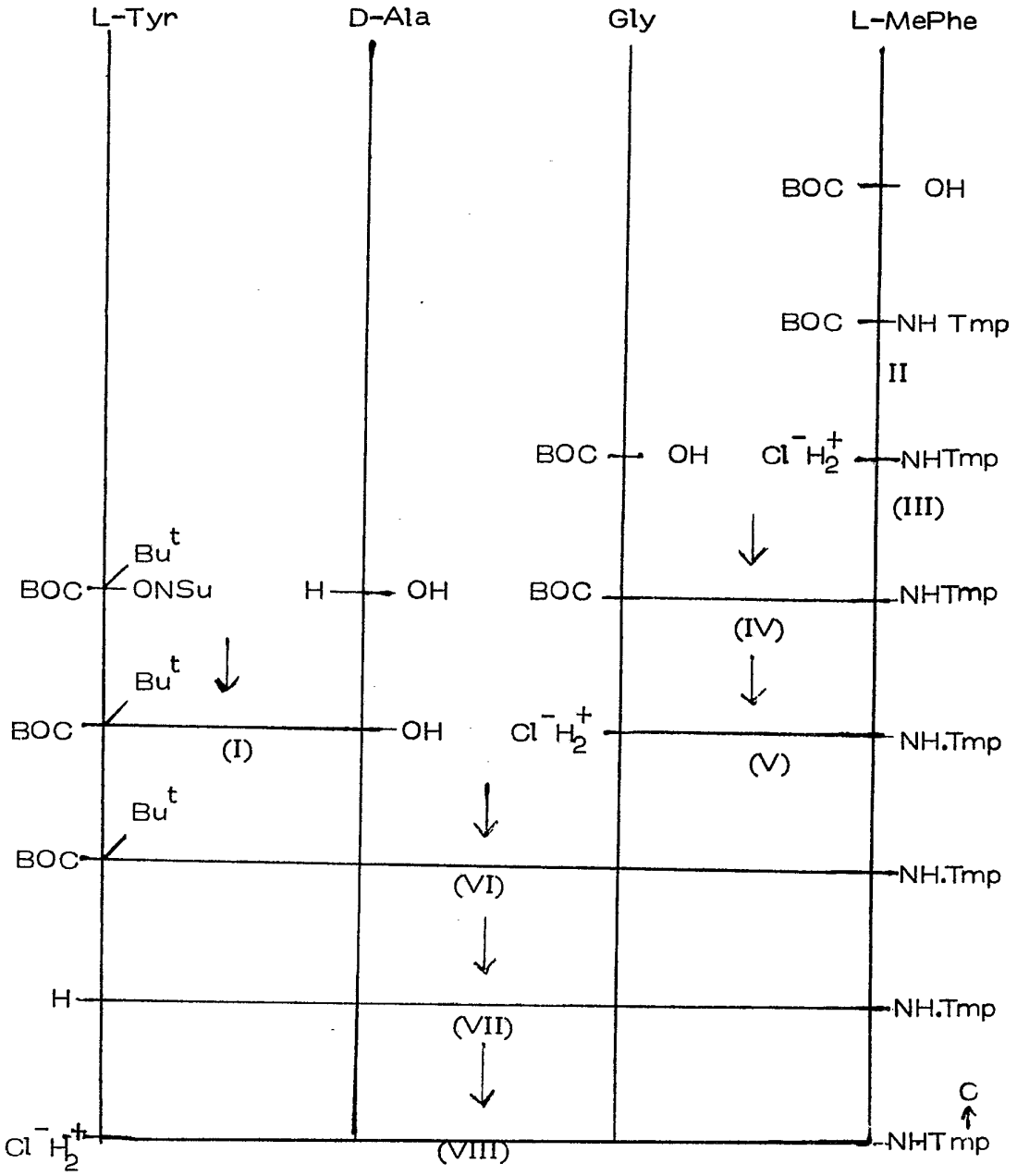
On examina les différents composés et intermédiaires par chromatographie en couche mince (t.l.c.) sur des plaques couvertes de gel de silice Kieselgel GF 254, en utilisant les systèmes suivants:

1F	méthanol/chloroforme	1/9
1G	méthanol/chloroforme	1/19
2B	chloroforme/méthanol/acide acétique	19/9/1
2D	chloroforme/méthanol/acide acétique	30/5/1
3A	chloroforme/méthanol/acide acétique/eau	60/18/2/3
3B	chloroforme/méthanol/acide acétique/eau	30/20/4/6
3C	chloroforme/méthanol/acide acétique/eau	90/27/2/3
4A	n-butanol/acétate d'éthyle/acide acétique/eau	1/1/1/1
7B	acétate d'éthyle/pyridine/acide acétique/eau	60/20/6/11
7C	acétate d'éthyle/pyridine/acide acétique/eau	120/20/6/11
7D	acétate d'éthyle/pyridine/acide acétique/eau	240/20/6/11
7E	acétate d'éthyle/pyridine/acide acétique/eau	360/20/6/11
7G	acétate d'éthyle/pyridine/acide acétique/eau	960/20/6/11
28B	acétate d'éthyle/éther de pétrole 40-60°	10/1
32A	acétate d'éthyle/isopropanol	9/1
32B	acétate d'éthyle/isopropanol	19/1

Exemple 1:

Chlorhydrate de L-tyrosyl-D-alanylglycyl-N-méthyl-L-phénylalanine- 3-méthylsulfinylpropylamide

Celui-ci fut préparé selon la méthode suivante:



a) *N-t-Butyloxycarbonyl-O-t-butyl-L-tyrosyl-D-alanine (I)*

BOC-Tyr(Bu^t)—OH(2,5 g) fut dissous dans le DME, refroidi dans un bain de glace additionnée de sel, puis HONSu (0,853 g) et DCCI (1,53 g) furent ajoutés. On laissa se réchauffer le mélange réactionnel à température ambiante et on l'agita pendant la nuit. La DCU fut éliminée par filtration et le solvant fut évaporé. Le résidu fut dissous dans le DMF (5 ml) et ajouté à température ambiante à une solution de D-alanine (0,66 g) dans le DMF (5 ml) et l'eau (1 ml) en présence de TMG (0,86 g). Le mélange réactionnel fut agité pendant la nuit, le solvant fut évaporé et le résidu fut traité avec de l'eau (100 ml). La solution aqueuse fut extraite à l'acétate d'éthyle (2 × 50 ml) et acidifiée à pH 4 avec de l'acide citrique à 10%. Le mélange fut extrait à l'acétate d'éthyle (2 × 100 ml) et les extraits organiques réunis furent lavés à l'eau jusqu'à ce qu'ils ne contiennent plus d'acide, et séchés (Na_2SO_4). Après évaporation du solvant, on obtint une gomme qui fut recristallisée dans l'acétate d'éthyle pour donner le dérivé dipeptidique (I) (1,3 g, 43%) P.F. 186-187°, Rf7C = 0,65; Rf8A = 0,25.

b) *N-t-Butyloxycarbonyl-N-méthyl-L-phénylalanine-3-méthyl-thiopropylamide (II)*

BOC-MePhe-OH (1 g) fut dissous dans le dichlorométhane (10 ml) et refroidi à −20° lorsqu'on ajouta du chloroformiate d'isobutyle (0,5 g) et de la NMM (0,37 g). Au bout de 2 min, Tmp-NH_2HCl (0,51 g) et NMM (0,37 g) furent ajoutés et on laissa le mélange réactionnel se réchauffer à température ambiante. Après 3 h d'agitation, le solvant fut évaporé et le résidu se partagea entre l'acétate d'éthyle (100 ml) et l'eau (50 ml). La couche organique fut lavée avec une solution saturée de bicarbonate de sodium (2 × 50 ml), une solution d'acide citrique à 10% (3 × 50 ml) puis avec de l'eau jusqu'à ce qu'elle ne contienne plus d'acide et enfin avec une solution saturée de sel. La phase organique fut séchée sur Na_2SO_4 et

concentrée pour donner (II) sous la forme d'une huile (1,3 g), Rf32A = 0,75 Rf7G = 0,8.

c) *N-t-Butyloxycarbonylglycyl-N-méthyl-L-phénylalanine-3-méthylthiopropylamide (IV)*

i) BOC-MePhe-NHTmp (1,3 g) fut traité à température ambiante avec un excès de HCl 3,5M dans l'acétate d'éthyle (3 ml) pendant 40 min. Le solvant fut évaporé et le résidu trituré avec de l'éther éthylique à 0°.

Un solide hygroscopique fut obtenu, qui fut filtré et séché sur P_2O_5 sous vide pour donner III (1 g), Rf7C = 0,25.

ii) BOC-Gly-OH (0,69 g) fut dissous dans le dichlorométhane (10 ml) et refroidi à −20°. Du chloroformiate d'isobutyle (0,53 g) et de la NMM (0,4 g) furent ajoutés avec agitation. Au bout de 2 min, Cl^-H_2+MePhe−NHTmp (1,2 g) et NMM (0,4 g) furent ajoutés et on laissa le mélange réactionnel se réchauffer à température ambiante. L'agitation fut maintenue pendant 3 h supplémentaires et le mélange réactionnel fut traité comme on l'a décrit pour (II). L'amide dipeptidique (IV) fut obtenu sous forme de gomme. Rendement = 1,25 g. Rf32A = 0,7; Rf7G = 0,75.

d) *N-t-Butyloxycarbonyl-O-t-butyl-L-tyrosyl-D-alanylglycyl-N-méthyl-L-phénylalanine-3-méthylthiopropylamide (VI)*

i) BOC-Gly-MePhe-NHTmp (1,2 g) fut traité à température ambiante avec du chlorure d'hydrogène 3,5M dans l'acétate d'éthyle (5 ml) pendant 45 min, puis le solvant fut évaporé. Le résidu fut trituré avec de l'éther et le chlorhydrate (V) fut obtenu sous la forme d'un solide hygroscopique. Il fut séché sur P_2O_5 sous un vide poussé. Rendement = 1 g (98%). Rf7C = 0,2.

ii) BOC-Tyr(Bu^t)-D-Ala-OH (0,67 g) et Cl^-H_2+Gly-MePhe-NHTmp (0,59 g) furent dissous dans le DMF (5 ml) et refroidis dans un bain de glace additionnée de sel lorsque HONSu (0,415 g) et DCCI (0,338 g) furent ajoutés, suivis de NMM (0,166 g, 1,66 ml de solution à 10% dans le DMF). On laissa le mélange réactionnel se réchauffer à température ambiante, on l'agita pendant 18 h, puis la DCU fut éliminée par filtration et le solvant évaporé. Le résidu fut dissous dans l'acétate d'éthyle (150 ml), lavé avec une solution saturée de bicarbonate de sodium (3 × 50 ml), une solution d'acide citrique à 10% (3 × 50 ml) et avec de l'eau jusqu'à neutralité et enfin avec une solution saturée de sel. La phase organique fut séchée (Na_2SO_4) et concentrée pour donner (VI) sous la forme d'une gomme semi-solide. Rf7G = 0,65.

e) *L-Tyrosyl-D-alanylglycyl-N-méthyl-L-phénylalanine-3-méthylthiopropylamide (VII)*

BOC-Tyr(Bu^t)-D-Ala-Gly-MePhe-NHTmp (0,95 g) fut traité à température ambiante avec du chlorure d'hydrogène 3,5M dans l'acétate d'éthyle (5 ml) pendant 45 min, puis le solvant fut évaporé. Le résidu fut soumis à une chromatographie dans une colonne de gel de silice (60 × 2,5 cm) avec le système de solvants 7C. Les fractions appropriées furent réunies, concentrées, et le résidu fut débarrassé de son eau par lyophilisation pour donner (VII). Rendement = 0,45 g. Rf7C = 0,25; Rf3A = 0,45.

f) *Chlorhydrate de L-tyrosyl-D-alanyl-glycyl-N-méthyl-L-phénylalanine-3-méthylsulfinylpropylamide (VIII)*

H-Tyr-D-Ala-Gly-MePhe-NH-Tmp (0,1 g) fut dissous dans l'éthanol (5 ml) et traité à température ambiante avec du peroxyde d'hydrogène (0,25 ml de solution à 20 volumes). Au bout de 2 h, le solvant fut évaporé et le résidu fut soumis à une chromatographie dans une colonne de gel de silice (45 × 2,5 cm) avec le système de solvants 3C. Les fractions appropriées furent réunies, concentrées et le résidu fut lyophilisé dans HCl 0,1M (10 ml) pour donner (VIII) sous forme de solide blanc (0,045 g). Rf3A = 0,13; Rf3B = 0,62; Rf7B = 0,16; [α] = 14,8° (C = 0,25, HCl 0,1M).

Exemple 2:

Chlorhydrate de N-méthyl-L-tyrosyl-D-alanylglycyl-N-méthyl-L-phénylalanine-3-méthylsulfinylpropylamide

Celui-ci fut préparé selon la méthode suivante:

(Voir en tête de la page suivante)

a) *N-Méthyl-N-t-butyloxycarbonyl-O-t-butyl-L-tyrosyl-D-alanine*

Ce dipeptide fut préparé (selon la méthode de l'exemple 1a) en convertissant le N-Me-N-BOC-Tyr(Bu^t)−OH (2,5 g) en son ONSu-ester actif et en le couplant ensuite à la D-alanine (0,731 g) en présence de TMG (0,954 g). Le dipeptide fut recristallisé dans le système acétate d'éthyle/éther de pétrole; rendement = 2 g; P.F. 109-110°; Rf7D = 0,50.

b) *N-Méthyl-N-t-butyloxycarbonyl-O-t-butyl-L-tyrosyl-D-alanyl-glycyl-N-méthyl-L-phénylalanine-3-méthylthiopropylamide*

Celui-ci fut préparé (selon la méthode de l'exemple 1 d ii) en couplant N-Me-N-BOC-Tyr(Bu^t)-D-Ala-OH (0,634 g) avec Cl^-H_2+· Gly-MePhe-NHTmp (0,54 g) dans le DMF (5 ml) en employant HONSu (0,38 g) et DCCI (0,31 g) en présence de NMM (0,152 g; 1,52 ml d'une solution à 10% dans le DMF). Après le traitement, on obtint une gomme qui se solidifia sous un vide poussé. Rendement = 0,75 g.

c) *N-Méthyl-L-tyrosyl-D-alanylglycyl-N-méthyl-L-phénylalanine-3-méthylthiopropylamide*

N-Me-N-BOC-Tyr(Bu^t)-D-Ala-Gly-MePhe-NHTmp (0,75 g) fut traité à température ambiante avec un excès de chlorure d'hydrogène 3,5M dans l'acétate d'éthyle pendant 40 min, puis le solvant fut évaporé. Le résidu fut soumis à une chromatographie dans une colonne de gel de silice (60 × 2,5 cm) avec le système de solvants 7C. Les fractions appropriées furent réunies, concentrées, et le résidu fut lyophilisé dans l'acide chlorhydrique 0,1M (15 ml) pour donner le composé cité en titre sous la forme d'un solide blanc (0,35 g). Rf7B = 0,4; Rf3A = 0,45.

d) *Chlorhydrate de N-méthyl-L-tyrosyl-D-alanylglycyl-N-méthyl-L-phénylalanine-3-méthylsulfinylpropylamide*

N-Me-Tyr-D-Ala-Gly-MePhe-NHTmp (0,1 g) fut dissous dans l'éthanol (50 ml) et traité à température ambiante avec du peroxyde d'hydrogène (0,25 ml d'une solution à 20 volumes). Au bout de 2 h, le solvant fut évaporé et le résidu fut soumis à une chromatographie dans une colonne de gel de silice (45 × 2,5 cm) avec le système de solvants 3C. Les fractions appropriées furent réunies, concentrées et le résidu lyophilisé dans HCl 0,1M (10 ml) pour donner le composé cité en titre sous la forme d'un solide blanc (0,035 g). Rf3A = 0,15; Rf3B = 0,64; Rf7B = 0,16; $[\alpha]_D^{24} = 19,1°$ (C = 0,26 dans HCl 0,1M).

Exemple 3:

Chlorhydrate de N-méthyl-L-tyrosyl-D-alanylglycyl-L-phénylalanine-3-méthylsulfinylpropylamide

Celui-ci fut préparé selon la méthode suivante:

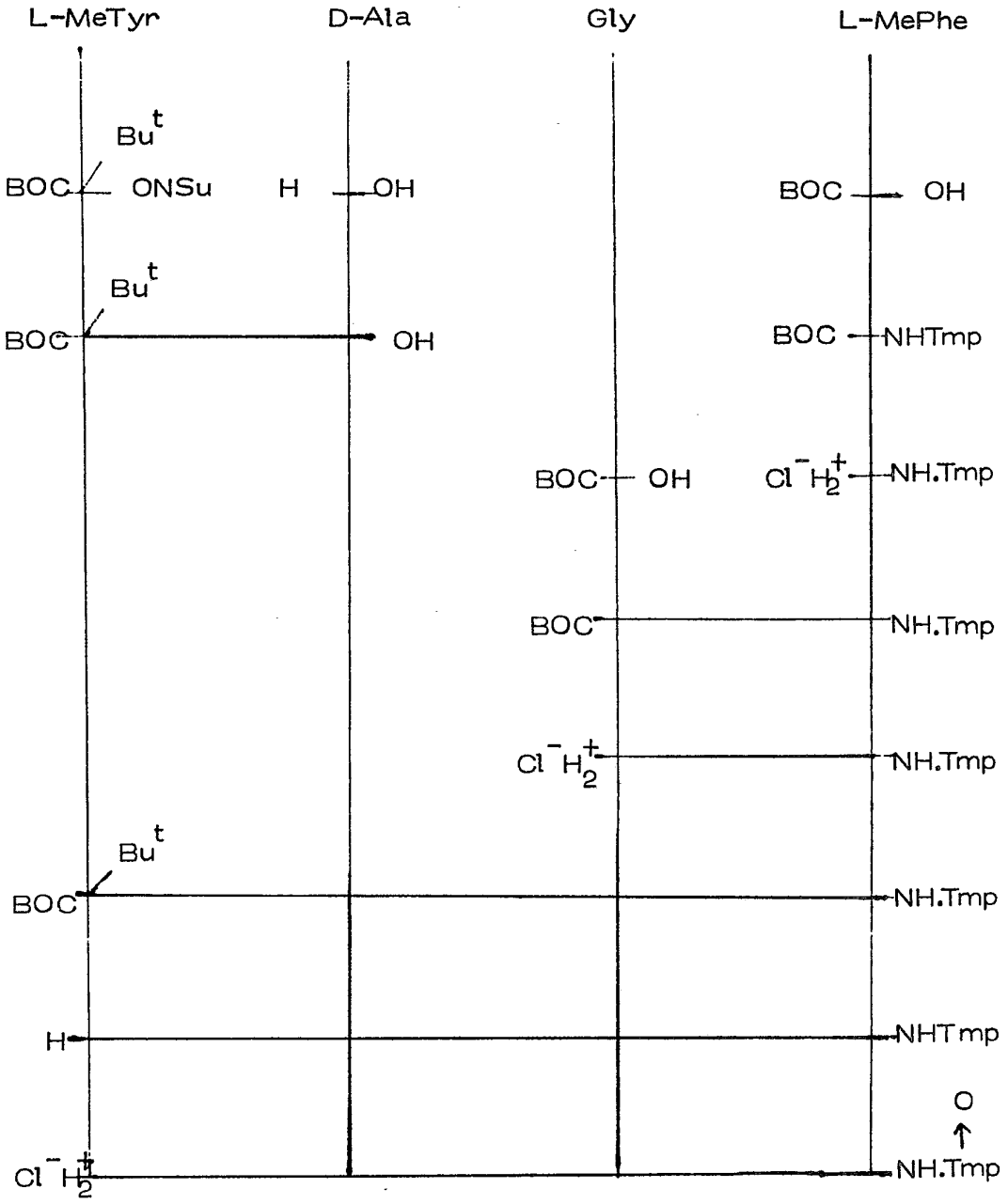
a) *N-t-butyloxycarbonyl-L-phénylalanine-3-thiométhylpropylamide*

Celui-ci fut préparé à partir de BOC-PheOH et de 3-méthylthiopropylamide par la méthode de l'exemple 1b; le produit fut obtenu sous la forme d'une huile.

b) *Chlorhydrate de N-méthyl-L-tyrosyl-D-alanylglycyl-L-phénylalanine-3-méthylsulfinylpropylamide*

Celui-ci fut préparé en ôtant la protection de l'amide protégé ci-dessus et en le couplant avec BOC-GlyOH selon la méthode de l'exemple 1c. On ôta la protection du dérivé dipeptidique résultant et on le coupla avec BOCMeTyr(Bu^t)D-AlaOH selon la méthode de l'exemple 1d, on ôta la protection du tétrapeptide résultant et on l'oxyda selon les méthodes des exemples 1e et 1f.

Le composé résultant fut lyophilisé à partir de HCl 0,1M pour



donner un solide blanc. Rf3A = 0,11; Rf3B = 0,54; Rf7B = 0,16; $[\alpha]_D^{24}$ = 35,8° (C = 0,25 dans HCl 0,1M).

Exemple 4:

L-Tyrosyl-D-sérylglycyl-N-méthyl-L-phénylalanine-3-méthylsulfinyl-propylamide

a) *N-t-Butyloxycarbnonyl-O-t-butyl-L-tyrosyl-D-sérine*

D-sérine (0,95 g, 9 mM) fut dissoute dans NaOH 4M (1,5 ml). On ajouta de l'eau (4 ml) puis du bicarbonate de sodium solide (0,504 g, 6 mM) pour donner une solution claire. Une solution de BOCTyr-(Bu^t)ONSu (3,48 g, 8 mM) dans le DMF (4 ml) fut alors ajoutée et le mélange fut agité pendant 48 h à 22°. Le solvant fut alors évaporé et le résidu dissous dans l'eau (80 ml). Le pH de la solution aqueuse fut ajusté à 3 avec une solution aqueuse concentrée d'acide citrique et la solution fut extraite à l'acétate d'éthyle (2 × 50 ml). Les extraits à l'acétate d'éthyle furent réunis et lavés jusqu'à neutralité, séchés et concentrés à un volume de ~ 10 ml. Du cyclohexane y fut ajouté (50 ml) et la solution trouble fut abandonnée à 5° pendant 48 h. Le solide résultant fut recueilli par filtration et séché sous vide pour donner le dipeptide désiré (2,16 g, 64%) sous forme de cristaux blancs. P.F. 158,5-160°.

b) *N-t-Butyloxycarbonyl-O-t-butyl-L-tyrosyl-D-sérylglycyl-N-méthyl-L-phénylalanine-3-méthylthiopropylamide*

Celui-ci fut préparé en couplant BOCTyr(Bu^t)-D-SerOH avec $Cl^-H_2^+$GlyMePheNHTmp selon la méthode de l'exemple 1d.

c) *L-Tyrosyl-D-sérylglycyl-N-méthyl-L-phénylalanine-3-méthyl-sulfinylpropylamide*

Celui-ci fut préparé à partir du pentapeptide protégé ci-dessus en enlevant la protection et en l'oxydant selon la méthode des exemples 1e et 1f. Le composé sulfinyle désiré fut lyophilisé dans l'eau pour donner un solide blanc. Rf3A = 0,10; Rf3B = 0,47; Rf7B = 0,15.

Exemple 5:

L-Tyrosyl-D-méthionyl(sulfoxyde)glycyl-N-méthyl-L-phénylalanine-3-méthylsulfinylpropylamide

a) *N-t-Butyloxycarbonyl-O-t-butyl-L-tyrosyl-D-méthionine*

Ce dipeptide fut préparé en couplant BOCTyr(Bu^t)ONSu avec le sel de sodium de la D-méthionine selon la méthode de l'exemple 4a. Le produit fut obtenu sous la forme d'un solide vitreux. Rf3A = 0,69; Rf32A = 0,33; P.F. 229,5-230°.

Cette substance fut trouvée homogène par chromatographie en couche mince (t.l.c.).

b) *N-t-Butyloxycarbonyl-O-t-butyl-L-tyrosyl-D-méthionylglycyl-N-méthyl-L-phénylalanine-3-méthylthiopropylamide*

Celui-ci fut préparé en couplant le dipeptide obtenu selon l'exemple 5a avec Cl^-H_2+GlyMePheNHTmp selon la méthode de l'exemple 1d. Après chromatographie sur gel de silice, le produit fut isolé sous une forme vitreuse incolore qui fut trouvée homogène par chromatographie en couche mince (t.l.c.). Rf7G=0,4; Rf28B=0,24.

c) *L-Tyrosyl-D-méthionylglycyl-N-méthyl-L-phénylalanine-3-méthyl-thiopropylamide*

Celui-ci fut préparé en ôtant la protection du composé préparé en 5b par la méthode de l'exemple 1e. L'amide tétrapeptidique purifié fut trouvé homogène par chromatographie en couche mince (t.l.c.). Rf2B=0,67; Rf2D=0,24; Rf3B=0,69.

d) *L-Tyrosyl-D-méthionyl(sulfoxyde)-N-méthyl-L-phénylalanine-3-méthylsulfinylpropylamide*

Celui-ci fut préparé par oxydation du bisulfure correspondant selon la méthode de l'exemple 1f. Le bisulfoxyde fut trouvé homogène par chromatographie en couche mince (t.l.c.). Rf3B=0,59; Rf4A=0,53; Rf7B=0,075; $[\alpha]_D^{24}=20,4°$ (C=0,525, HCl 0,1M).

Exemple 6:

L-Tyrosyl-D-norvalylglycyl-N-méthyl-L-phénylalanine-3-méthyl-sulfinylpropylamide

a) *N-t-Butoxycarbonyl-O-t-butyl-L-tyrosyl-D-norvaline*

BOC-Tyr(Bu^t)-ONSu (3,27 g) fut dissous dans le DMF (3 ml). TMG (0,867 g) et D-norvaline (0,996 g) furent dissoutes dans le DMF (10 ml). Les deux solutions furent mélangées et agitées à 22° pendant 4 d.

Le solvant fut éliminé par évaporation et le résidu fut réparti entre l'acétate d'éthyle (60 ml) et l'eau (40 ml). Le mélange fut acidifié à pH 3. Les phases furent séparées et la phase aqueuse fut extraite à l'acétate d'éthyle (3 × 20 ml). Les extraits organiques combinés furent lavés à l'eau jusqu'à neutralité et séchés sur Na_2SO_4.

Le dipeptide fut obtenu sous la forme d'une huile incolore (2,02 g, 61,4% de rendement) après évaporation du solvant. Le composé fut trouvé homogène par chromatographie en couche mince (t.l.c.). Rf2B=0,62; Rf28B=0,19; Rf32B=0,29.

b) *N-t-Butyloxycarbonyl-O-t-butyl-L-tyrosyl-D-norvalylglycyl-N-méthyl-L-phénylalanine-3-méthylthiopropylamide*

Celui-ci fut préparé en couplant le dipeptide préparé en 6a avec Cl^-H_2+GlyMePheNHTmp selon la méthode de l'exemple 1d. Après chromatographie sur gel de silice, le produit fut isolé sous une forme vitreuse incolore qui fut trouvée homogène par chromatographie en couche mince (t.l.c.). Rf7G=0,44; Rf28B=0,27.

c) *L-Tyrosyl-D-norvalylglycyl-N-méthyl-L-phénylalanine-3-méthyl-thiopropylamide*

Celui-ci fut préparé en ôtant la protection du composé préparé en 6b, selon la méthode de l'exemple 1e. Après chromatographie sur gel de silice, l'amide tétrapeptidique fut trouvé homogène par chromatographie en couche mince (t.l.c.). Rf2B=0,46; Rf2D=0,23; Rf3B=0,69.

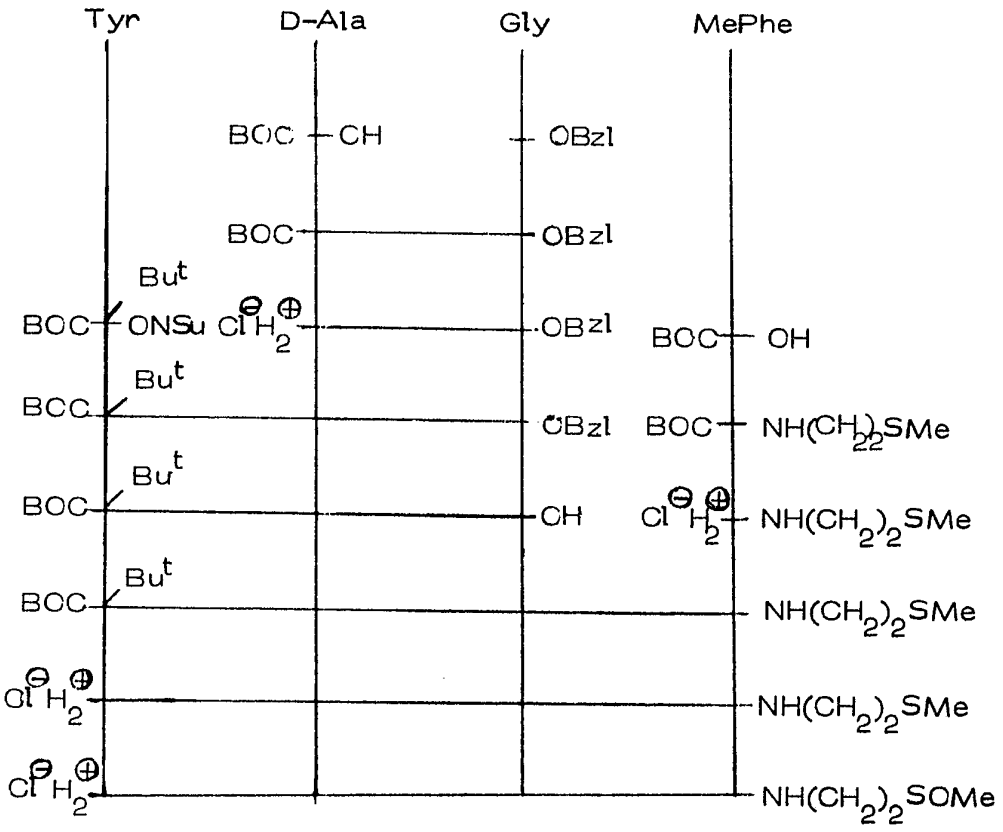
d) *L-Tyrosyl-D-norvalylglycyl-N-méthyl-L-phénylalanine-3-méthyl-sulfinylpropylamide*

Celui-ci fut préparé par oxydation du sulfure correspondant 6c selon la méthode de l'exemple 1f. Le sulfoxyde purifié fut trouvé homogène par chromatographie en couche mince (t.l.c.). Rf3B=0,63; Rf4A=0,67; Rf7B=0,18 $[\alpha]_D^{24}=24,8°$ (C=0,49, HCl 0,1M)

Exemple 7:

L-Tyrosyl-D-alanylglycyl-N-méthyl-L-phénylalanine-2-méthyl-sulfinyléthylamide

Celui-ci fut préparé selon la méthode suivante:



a) *t-Butyloxycarbonyl-N-méthyl-L-phénylalanine-2-méthylthioéthylamide*

Celui-ci fut préparé en couplant BOCMePheOH avec la 2-méthylthioéthylamine selon la méthode de l'exemple 1b. Le produit fut obtenu sous forme d'huile. RflG = 0,71; Rf32A = 0,48.

b) *Trifluoroacétate de N-méthyl-L-phénylalanine-2-méthylthioéthylamide*

BOCMePheNH$(CH_2)_2$SMe (410 mg) fut dissous dans le mélange eau/acide trifluoroacétique (1/9,5 ml) et la solution fut agitée pendant 1 h. La solution fut alors concentrée, redissoute puis reconcentrée dans de l'eau, de l'éthanol et finalement triturée avec de l'éther pour donner le trifluoroacétate désiré sous forme de solide collant. Rf3A = 0,65; Rf4A = 0,67; Rf7C = 0,38.

Le produit fut utilisé sans purificatin ultérieure.

c) *N-t-Butyloxycarbonyl-O-t-butyl-L-tyrosyl-D-alanylglycyl-N-méthyl-L-phénylalanine-2-méthylthioéthylamide*

BOCTyr(Bu^t)-D-AlaGlyOH (542 mg, 1,16 mM) fut dissous dans le DMF (2 ml) et CH_2Cl_2 (8 ml) et la solution fut refroidie à $-20°$. IBCF fut alors ajouté (160 mg, 1,16 mM) suivi de NMM (118 mg, 1,16 mM). Au bout de 2 min, une solution de $^+$HMePheNH$(CH_2)_2$SMeTFA$^-$ (obtenu à partir de 1,16 mM du dérivé BOC correspondant) dans CH_2Cl_2 (5 ml) et NMM (118 mg, 1,16 mM) furent ajoutées et on laissa le mélange agité reprendre la température ambiante. Au bout de 48 h, la solution fut répartie entre EtOAc et une solution aqueuse de $NaHCO_3$. La couche d'acétate d'éthyle fut extraite avec une solution aqueuse de $NaHCO_3$ (× 2), avec de l'acide citrique à 10% (× 3), puis séchée et concentrée. Le résidu fut purifié par chromatographie sur gel de silice (30 × 2,5 cm). Une élution avec le mélange IPA/EtOAc (1/19) donna l'amide tétrapeptidique pur sous la forme d'une gomme claire qui fut trouvée homogène par chromatographie en couche mince (t.l.c.). RflG = 0,41; Rf7C = 0,73; Rf32B = 0,29.

d) *L-Tyrosyl-D-alanylglycyl-N-méthyl-L-phénylalanine-2-méthylthioéthylamide*

On ôta la protection du tétrapeptide 7c selon la méthode 1e. Le produit brut fut purifié par chromatographie sur silice dans le système de solvants 3A pour donner une gomme. Rf3A = 0,44; Rf4A = 0,68; Rf7C = 0,19.

e) *L-Tyrosyl-D-alanylglycyl-N-méthyl-L-phénylalanine-2-méthylsulfinyléthylamide*

Le sulfure de l'exemple 7d fut oxydé selon la méthode de l'exemple 1f. Le produit brut fut purifié par chromatographie échangeuse d'ions sur carboxyméthylcellulose. La colonne (30 × 1,5 cm) fut d'abord chargée d'une solution aqueuse de pyridine à 0,05%, et éluée avec gradient jusqu'à pyridine 1%/acide acétique 1%. Les éluats furent analysés par chromatographie en couche mince (t.l.c.) et les fractions appropriées furent réunies et concentrées. Le résidu fut lyophilisé dans l'eau pour donner le sulfoxyde de peptide désiré sous la forme de son acétate. Rf3A = 0,17; Rf4A = 0,53; Rf7B = 0,10; $[\alpha]_{589}^{20} = 21,6°$ (C = 1, HCl 0,1N).

Exemple 8:

L-Tyrosyl-D-alanylglycyl-N-méthyl-L-phénylalanine-N-méthyl-3-méthylsulfinylpropylamide

Celui-ci fut préparé selon la méthode suivante:

a) *N-Méthyl-3-méthylthiopropylamide*

Le chlorure de l'acide 3-méthylthiopropionique (2,08 g) fut ajouté à une solution de méthylamine (5 ml, 7,8M) dans l'éther sec à 0°. Le précipité blanc fut éliminé par filtration et le filtrat fut concentré. On obtint une gomme qui cristallisa à la longue. Rendement: 1,8 g (90%).

b) *N-Méthyl-3-méthylthiopropylamine*

Celle-ci fut préparée par réduction du N-méthyl-3-méthylthiopropylamide comme on le décrit pour la préparation de 10b. Le produit se présenta sous la forme d'une gomme. Rf3A = 0,44.

c) *t-Butyloxycarbonyl-N-méthyl-L-phénylalanine-N-méthyl-3-méthylthiopropylamide*

Celui-ci fut préparé en couplant BOCMePheOH avec la N-méthyl-3-méthylthiopropylamine selon la méthode de l'exemple 1b. Le produit fut obtenu pur après chromatographie sur colonne de gel de silice avec le système acétate d'éthyle/cyclohexane (1/3) comme solvant. Rf = 0,52 (acétate d'éthyle/cyclohexane, 1/1).

d) *Chlorhydrate de N-méthyl-L-phénylalanine-N-méthyl-3-méthylthiopropylamide*



BOC-Me-Phe-N-$(CH_2)_3SCH_3$ (0,8 g) fut dissous dans le mélange HCl 3M/acétate d'éthyle (6 ml) et agité à température ambiante pendant 40 min, puis le solvant fut évaporé. Le résidu fut trituré avec de l'éther sec pour donner un solide hygroscopique. Rendement = 0,500 g; Rf3A = 0,8.

e) *N-t-Butyloxycarbonyl-O-t-butyl-L-tyrosyl-D-alanylglycyl-N-méthyl-L-phénylalanine-N-méthyl-3-méthylthiopropylamide*

Le chlorhydrate de N-méthylphénylalanine-N-méthyl-3-méthylpropylamide (8d) (0,5 g) fut couplé avec BOCTyr(Bu^t)-D-AlaGlyOH (0,736 g) comme il est décrit dans l'exemple 7c. Le produit couplé fut obtenu sous forme de solide jaune. Rendement = 0,76 g; RflG = 0,48.

f) *L-Tyrosyl-D-alanylglycyl-N-méthyl-L-phénylalanine-N-méthyl-3-méthylthiopropylamide*

On ôta la protection du peptide 8e (0,75 g) dans l'acide trifluoroacétique (TFA) à 90% comme il est décrit pour 7b. Le trifluoroacétate fut obtenu sous forme solide et fut purifié par chromatographie sur colonne de gel de silice avec le système de solvants 3A. Un solide amorphe fut obtenu après lyophilisation. Rendement = 0,525 g; Rf3A = 0,45; Rf3B = 0,92; Rf7B = 0,43.

g) *L-Tyrosyl-D-alanylglycyl-N-méthyl-L-phénylalanine-N-méthyl-3-méthylsulfinylpropylamide*

Le sulfure de l'exemple 8f fut oxydé selon la méthode de l'exemple 1b. Le produit brut fut purifié par chromatographie échangeuse d'ions sur carboxyméthyl/Sephadex comme il est décrit dans l'exemple 7e. Le composé sulfinyle fut obtenu sous la forme de son acétate, solide amorphe. Rf3A = 0,22; Rf3B = 0,64; Rf7B = 0,43; $[\alpha]^{24}_D = -8,6°$ (C = 0,5, HCl 0,1M).

Exemple 9:

L-Tyrosyl-D-alanylglycyl-N-méthyl-L-phénylalanine-2-propylsulfinyléthylamide

a) *t-Butyloxycarbonyl-N-méthyl-L-phénylalanine-2-propylthioéthylamide*

Celui-ci fut préparé à partir de BOCMePheOH et de 2-propylthioéthylamine selon la méthode de l'exemple 1b. L'acide (1,39 g) et la 2-propylthioéthylamine (650 mg) donnèrent 1,5 g de produit sous forme de gomme. Rf32B = 0,61; Rf3A = 0,87.

b) *Trifluoroacétate de N-méthyl-L-phénylalanine-2-propylthioéthylamide*

On ôta la protection de l'amide obtenu en a (1,4 g) avec de l'acide trifluoroacétique aqueux (10 ml) comme dans l'exemple 7b. Par chromatographie sur silice avec le système chloroforme/méthanol/acide acétique/eau (120/36/2/3), on obtint une gomme (1,1 g); Rf7B = 0,71; Rf3A = 0,61.

c) *N-t-Butoxycarbonyl-O-t-butyl-L-tyrosyl-D-alanylglycyl-N-méthyl-L-phénylalanine-2-propylthioéthylamide*

Selon la méthode décrite dans l'exemple 7c, le trifluoroacétate ci-dessus (1,0 g) et BOCTyr(Bu^t)-D-AlaGlyOH (1,16 g) donnèrent

l'amide tétrapeptidique sous la forme d'une gomme qui ne fut pas purifiée davantage. Rf3A = 0,75; Rf32A = 0,5.

d) *L-Tyrosyl-D-alanylglycyl-N-méthyl-L-phénylalanine-2-propylthio-éthylamide*

En ôtant la protection du produit de c selon la méthode de l'exemple 7b, on obtint 505 mg de l'amide tétrapeptidique après chromatographie sur silice dans le système chloroforme/méthanol/acide acétique/eau (120/36/2/3). Rf3A = 0,46.

e) *L-Tyrosyl-D-alanylglycyl-N-méthyl-L-phénylalanine-2-propyl-sulfinyléthylamide*

Le produit de d fut oxydé selon la méthode de l'exemple 1f. Une chromatographie sur résine carboxyméthyl/Sephadex avec un gradient de 0,05% de pyridine dans l'eau, à 2% de pyridine, 2% d'acide acétique dans l'eau donna le sulfoxyde. Rf3A = 0,32; Rf4A = 0,65; Rf7B = 0,20; $[\alpha]_D^{24} = 20,2°$ (C = 0,98, HCl 0,1M).

Exemple 10:

L-Tyrosyl-D-alanylglycyl-N-méthyl-L-phénylalanine-N-isoamyl-N-3-méthylsulfinylpropylamide

a) *3-Méthylthiopropane-N-isoamylamide*

Du chlorure de 3-méthylthiopropionyle (2,08 g) dans l'éther diéthylique (30 ml) fut ajouté lentement à une solution agitée d'iso-amylamine (2,94 g). Au bout de 15 min, le mélange fut extrait deux fois avec de l'eau, puis la couche d'éther fut lavée avec une solution d'acide citrique et à l'eau ensuite. Après séchage et concentration, on obtint l'amide sous forme de gomme (2,8 g). Rf1F = 0,63; Rf7E = 0,79; Rf32A = 0,49.

b) *iso-Amyl 3-méthylthiopropylamine*

L'amide obtenu en a (1,9 g) dans le tétrahydrofuranne (20 ml) fut traité sous azote à 0° avec le complexe borane/tétrahydrofuranne (20 ml de solution molaire dans le tétrahydrofuranne), le mélange fut agité toute la nuit. Une solution de chlorure d'hydrogène 2M dans le méthanol (20 ml) fut ajoutée et on fit bouillir le mélange pendant 30 min, on le concentra et le résidu fut réparti entre l'acétate d'éthyle et l'eau. La couche aqueuse fut alcalinisée et extraite à l'éther. L'extrait séché fut concentré pour donner l'amine sous forme d'huile (1,6 g). Rf3A = 0,72; Rf7B = 0,63; Rf4A = 0,74.

c) *t-Butoxycarbonyl-N-méthyl-L-phénylalanine-N-isoamyl-N-3-méthylthiopropylamide*

Celui-ci fut préparé à partir de BOCMePheOH et d'isoamyl 3-méthylthiopropylamine (525 mg) selon la méthode de l'exemple 1b. Après chromatographie sur silice dans le système acétate d'éthyle/isopropanol (95/5) le produit fut obtenu sous forme d'huile qui cristallisa à la longue (987 mg). RflG = 0,71.

d) *Trifluoroacétate de N-méthyl-L-phénylalanine-N-isoamyl-N-3-méthylthiopropylamide*

Celui-ci fut préparé selon la méthode de l'exemple 7b et obtenu sous forme de gomme. Rf3A = 0,91; Rf7C = 0,35.

e) *N-t-Butoxycarbonyl-O-t-butyl-L-tyrosyl-D-alanylglycyl-N-méthyl-L-phénylalanine N-isoamnyl-N-3-méthylthiopropylamide*

Le trifluoroacétate de N-méthylphénylalanine N-isoamyl-N-3-méthylthiopropylamide (d, obtenu à partir de 900 mg de produit protégé) fut couplé avec BOCTyr(Bu^t)D-AlaGlyOH (960 mg) selon la méthode de l'exemple 7c. Après chromatographie sur silice dans le système acétate d'éthyle/isopropanol (95/5), on obtint une gomme (653 mg). Rf32A = 0,56; RflG = 0,52.

f) *Trifluoroacétate de L-tyrosyl-D-alanylglycyl-N-méthyl-L-phénylalanine N-isoamyl-N-3-méthylthiopropylamide*

On ôta la protection de l'amide peptidique obtenu en e (580 mg) selon la méthode de l'exemple 7b. Une chromatographie sur silice dans le système chloroforme/méthanol/acide acétique/eau (120/36/2/3) donna le produit (311 mg). Rf3A = 0,55; Rf7C = 0,28; Rf4A = 0,56.

g) *L-Tyrosyl-D-alanylglycyl-N-méthyl-L-phénylalanine-N-isoamyl-N-3-méthylsulfinylpropylamide*

L'oxydation du méthylthiopropylamide (280 mg) obtenu en f selon la méthode de l'exemple 1f et une purification par chromatographie sur résine carboxyméthyl/Sephadex (forme pyridinium) dans la pyridine à 0,05% suivie d'une élution avec gradient jusqu'à pyridine 1%, acide acétique 1%, donnèrent un produit qui fut lyophilisé dans l'eau et donna l'acétate (189 mg). Rf3A = 0,29; Rf4A = 0,58; Rf7B = 0,26; $[\alpha]_{589}^{23} = 7,7°$ (C = 0,9 dans HCl 0,1M).

Exemple 11:

L-Tyrosyl-D-alanylglycyl-N-méthyl-L-phénylalanine-N-3-méthyl-sulfinylpropyl-N-2-phényléthylamide

a) *3-Méthylthiopropane-N-2-phényléthylamide*

Celui-ci fut préparé à partir de chlorure de 3-méthylthio-propionyle (2,67 g) et de 2-phényléthylamine (5,04 g) selon la méthode de l'exemple 10a. Le produit solide fut trouvé pur par chromatographie en couche mince (t.l.c.). Un échantillon recristallisé dans le méthanol aqueux donna des aiguilles, P.F. 56-59°.

b) *N-Méthylthiopropyl-N-2-phényléthylamine*

La réduction du 3-méthylthiopropane-N-2-phényléthylamide (2,23 g) selon la méthode de l'exemple 10b donna l'amine (1,4 g) sous forme d'huile. Rf7C = 0,29; Rf4A = 0,69; Rf3A = 0,51.

c) *N-t-Butoxycarbonyl-N-méthyl-L-phénylalanine N-3-méthylthio-propyl-N-2-phényléthylamide*

L'amine obtenue en b (627 mg) fut couplée avec BOCMePheOH (obtenu à partir de 1,38 g du sel de dicyclohexylamine) selon la méthode de l'exemple 1b. Le produit (1,39 g) se présenta sous forme d'huile. Rf3A = 0,89; Rf32A = 0,68.

d) *Trifluoroacétate de N-méthyl-L-phénylalanine N-3-méthylthio-propyl-N-2-phényléthylamide*

L'amide protégé obtenu en c (622 mg) fut traité avec de l'acide trifluoroacétique comme dans l'exemple 7b. Le sel d'amine fut obtenu sous forme de gomme. Rf3A = 0,73; Rf4A = 0,72; Rf7C = 0,46.

e) *N-t-Butoxycarbonyl-O-t-butyl-L-tyrosyl-D-alanylglycyl-N-méthyl-L-phénylalanine N-3-méthylthiopropyl-N-2-phényléthylamide*

Celui-ci fut préparé à partir du sel d'amine obtenu en d et de BOCTyr(Bu^t)D-AlaGlyOH (615 mg) selon la méthode de l'exemple 7c. Après chromatographie sur silice dans le système de solvants 32B, on obtint une gomme (491 mg). RflG = 0,45; Rf32A = 0,53.

f) *Trifluoroacétate de L-tyrosyl-D-alanylglycyl-N-méthyl-L-phényl-alanine N-3-méthylthiopropyl-N-2-phényléthylamide*

On ôta la protection de l'amide obtenu en e (400 mg) avec de l'acide trifluoroacétique selon la méthode de l'exemple 7b et on obtint le composé cité en titre sous forme solide (290 mg). Rf3A = 0,54; Rf4A = 0,79; Rf7C = 0,19.

g) *L-Tyrosyl-D-alanylglycyl-N-méthyl-L-phénylalanine-N-3-méthyl-sulfinylpropyl-N-2-phényléthylamide*

Le L-tyrosyl-D-alanylglycyl-N-méthyl-L-phénylalanine-N-3-méthylthiopropyl-N-2-phényléthylamide (260 mg) fut oxydé selon la méthode de l'exemple 1f. Une purification par chromatographie échangeuse d'ions sur résine de carboxyméthylcellulose avec un gradient allant de pyridine à 0,05% à pyridine 1%, acide acétique 1%, donna le sulfoxyde désiré (176 mg). Rf3A = 0,31; Rf4A = 0,57; Rf7B = 0,23; $[\alpha]_{589}^{20} = -13,9°$ (C = 1, HCl 0,1M).

Exemple 12:

Chlorhydrate de L-tyrosyl-D-alanylglycyl-N-méthyl-L-phénylalanine-3-méthylsulfonylpropylamide

Celui-ci fut préparé par oxydation du sulfure correspondant (exemple 1e). TyrD-AlaGlyMePheNH$(CH_2)_3$SMe (110 mg) fut dissous dans l'éthanol (5 ml) et traité à température ambiante avec du peroxyde d'hydrogène (0,25 ml d'une solution à 20 volumes). On agita pendant 2 h, puis on évapora le solvant et le résidu fut chromatographié sur colonne de gel de silice (45 × 2,5 cm) avec le système de solvants 3C. La sulfone désirée fut éluée avant le sulfoxyde correspondant. Les fractions furent analysées par chromatographie en couche mince (t.l.c.) (système 3A) et celles qui contenaient la sulfone pure furent réunies, concentrées et le résidu fut lyophilisé dans HCl 0,1M pour donner TyrD-AlaGlyMePhe-NH$(CH_2)_3S(O_2)CH_3$ (30 mg) sous forme de solide blanc. Rf3A = 0,15; Rf3B = 0,67; Rf7B = 0,25; $[\alpha]_D^{24} = 13,3°$ (C = 0,27 dans HCl 0,1M).

Exemple 13:

Chlorhydrate de N-méthyl-L-tyrosyl-D-alanylglycyl-N-méthyl-L-phénylalanine-3-méthylsulfonylpropylamide

Celui-ci fut préparé par oxydation du sulfure correspondant (exemple 2c) selon la méthode de l'exemple 12. MeTyrD-AlaGlyMePheNH$(CH_2)_3SO_2CH_3$ fut obtenu sous forme de solide blanc. Rf3A = 0,16; Rf3B = 0,53; Rf7B = 0,21.

Exemple 14:

Chlorhydrate de L-tyrosyl-D-alanylglycyl-L-phénylalanine-3-méthylsulfonylpropylamide

Celui-ci fut préparé par oxydation du L-tyrosyl-D-alanylglycyl-phénylalanine-3-méthylthiopropylamide selon la méthode de l'exemple 12. TyrD-AlaGlyPheNH$(CH_2)_3SO_2Me$ fut obtenu sous forme de solide blanc. Rf3A = 0,13; Rf3B = 0,59; Rf7B = 0,25; $[\alpha]_D^{24} = 38,5°$ (C = 0,25, HCl 0,1M).

Le tableau expose en détail d'autres composés de formule I qui peuvent être préparés selon les méthodes des exemples ci-dessus ou selon d'autres techniques bien connues en chimie des peptides.

TABLEAU

Allyl-Tyr-D-Ala-Gly-MePhe-NH$(CH_2)_3$SOMe
Cpm-Tyr-D-Ala-Gly-MePhe-NH$(CH_2)_3$SOMe
H-Tyr-D-Ala-Gly-Phe-NH$(CH_2)_3$SOMe
Allyl-Tyr-D-Ala-Gly-Phe-NH$(CH_2)_3$SOMe
Cpm-Tyr-D-Ala-Gly-Phe-NH$(CH_2)_3$SOMe
Ph$(CH_2)_2$Tyr-D-Ala-Gly-MePhe-NH$(CH_2)_3$SOMe
H-Tyr-D-Met-Gly-MePhe-NH$(CH_2)_3$SOMe
Allyl-Tyr-D-Met-Gly-MePhe-NH$(CH_2)_3$SOMe
Allyl-Tyr-D-Ser-Gly-MePhe-NH$(CH_2)_3$SOMe
H-Tyr-D-Ala-Gly-MePhe(p-Cl)-NH$(CH_2)_3$SOMe
Allyl-Tyr-D-Ala-Gly-MePhe-NH$(CH_2)_2$SOMe
H-Tyr-D-Ala-Gly-MePhe-NH$(CH_2)_4$SOMe
Allyl-Tyr-D-Ala-Gly-MePhe-NH$(CH_2)_4$SOMe
Me-Tyr-D-Met(O)-Gly-MePhe-NH$(CH_2)_3$SOMe
H-Tyr-D-Ala-Gly-Phe-NH$(CH_2)_3SO_2$Me
H-Tyr-D-Thr-Gly-MePhe-NH$(CH_2)_3$SOMe
H-Tyr-D-Val-Gly-MePhe-NH$(CH_2)_3$SOMe
H-Tyr-D-Leu-Gly-MePhe-NH$(CH_2)_3$SOMe
H-Tyr-D-Nle-Gly-MePhe-NH$(CH_2)_3$SOMe
H-Tyr-D-Ser(OMe)-Gly-MePhe-NH$(CH_2)_3$SOMe
H-Tyr-D-Met(O_2)-Gly-MePhe-NH$(CH_2)_3$SOMe
H-Tyr-D-Abu-Gly-MePhe-NH$(CH_2)_3$SOMe
H-Tyr-D-Ala-Gly-Phe(p-Cl)-NH$(CH_2)_3$SOMe
Me-Tyr-D-Ala-Gly-Phe(p-Cl)-NH$(CH_2)_3$SOMe

Selon la méthode d'essai de Kosterlitz et Watt mentionnée plus haut, des cobayes mâles ou femelles (race Duncan Hartley) sont tués par un choc sur la tête et un morceau de l'iléon est détaché et installé dans un bain pour organe isolé ayant un volume de 50 ml. Une réponse par contraction est produite par stimulation à basse fréquence (0,1 Hz) avec des pulsations de courant linéaires de 0,5 ms. La réponse est affaiblie par un grand nombre d'agents pharmacologiquement actifs différents (anesthésiques locaux, dépresseurs musculaires légers, stimulants α-récepteurs présynaptiques et agents narcotiques).

Le composé test est dissous dans de l'eau distillée pour donner une solution de réserve de concentration 1 mg/ml. On effectue des dilutions en série à l'aide de solution de Krebs pour avoir des concentrations de produit de 10 µg, 1 µg et 0,1 µg/ml. Le produit est essayé en ajoutant une quantité comprise entre 0,1 et 0,3 ml de ces solutions au bain d'organe. Une courbe donnant l'intensité de la réponse en fonction de la dose est alors construite et comparée avec celle de la Met-encéphaline.

Au cours de ces essais, on constata que Me-Tyr-D-Ala-Gly-MePhe-NH$(CH_2)_3$SOMe possédait approximativement quinze fois plus d'activité que la Met-encéphaline et que H-Tyr-D-Ala-Gly-MePhe-NH$(CH_2)_3$SOMe en possédait approximativement onze fois plus. On évalua aussi les composés à l'aide du test de contorsion induite par la phénylquinone chez la souris de Hendershot L.C. et Forsaith J., «J. Pharm. Exp. Therap.», 125, 237 (1959); lorsqu'ils furent administrés i.v., ces produits donnèrent des ED_{50} respectifs de 0,004 et 0,0045 mg/kg.

Les compositions thérapeutiques peuvent avoir une forme appropriée à l'administration orale ou à l'administration parentérale. De telles compositions destinées à la voie orale peuvent avoir la forme de capsules, pastilles, granulés ou de liquides comme les élixirs, sirops ou suspensions.

Les compositions destinées à l'administration parentérale peuvent avoir la forme de préparations stériles, par exemple en solution dans l'eau pure ou contenant un sel.

Dans le but d'avoir une certaine précision dans le dosage, les compositions auront de préférence la forme de doses unitaires.