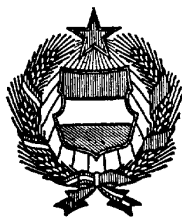


MAGYAR
NÉPKÖZTÁRSASÁG



ORSZÁGOS
TALÁLTMÁNYI
HIVATAL

SZABADALMI LEÍRÁS

181402

Bejelentés napja: 1979. III. 2.

(AO—474)

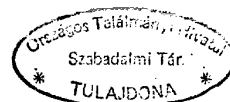
Elsőbbsége: 1978. III. 2. (78.02289)
Hollandia

Közzététel napja: 1982. XI. 29.

Megjelent: 1985. VII. 31.

Nemzetközi osztályozás:

NSZO₃
C 07 C 103/52



Feltalálók:

dr. De Wied, David vegyész, Bilthoven,
Greven, Hendrik Marie vegyész, Heesch,
Hollandia

Szabadalmas:

AKZO N. V., Arnhem, Hollandia

Eljárás pszichofarmakológiai aktivitású új peptidek előállítására

1

A találmány tárgya eljárás pszichofarmakológiai aktivitású új peptidek, valamint azokat hatóanyagként tartalmazó gyógyászati készítmények előállítására. Közelebbről a találmány tárgyat a β -lipotropin (β -LPH) hormon fragmenséből nyert új pszichofarmakológiai aktivitású peptidek és peptidszármazékok képezik. A β -lipotropin 91 aminosavból álló polipeptid, amely a hipofízis hátsó lebenyében képződik és zsír-mobilizáló aktivitású.

Néhány β -LPH fragmens az irodalomból már ismert (Chem. & Eng. News, 1976. augusztus 16-i szám 18. oldal és 1976. november 15-i szám, 26. oldal).

Ismert, hogy a γ -lipotropin fragmens, azaz a β -LPH-(1—58), ugyanúgy zsír-mobilizáló aktivitású, mint maga a β -LPH. A β -LPH-(41—58) fragmens, amelyet β -melanotropinnak neveznek, a melanociták serkentésével befolyásolja a bőr pigmentációját. A β -endorfin-nak nevezett β -LPH-(61—91) szekvencia fájdalomcsillapító hatású, és a morfin-hoz hasonlóan naloxon-nal antagonizálható, így a feltételezés, hogy a morfin és a β -endorfin azonos receptoron hatnak logikus és kézenfekvő.

Ugyancsak kimutatták, hogy a β -endorfin kisebb peptid-fragmensei, például a β -LPH-(61—76)-fragmens (α -endorfin), a β -LPH-(61—69) fragmens, valamint a β -LPH-(61—65) fragmens (Met-enkefalin) is bizonyos affinitást mutatnak az opiát receptorral szemben [Nature 258, 577 (1975)].

Az opiát receptorral szembeni affinitást ugyancsak leírták az endogén Leu-enkefalin peptiddel, [Leu⁶⁵]- β -LPH-(61—65), és a szintetikus D-Ala-Met-enkefalin-nal, [D-Ala⁶²]- β -LPH-(61—65), kapcsolatban [Science 194, 330 (1976)].

2

Kimutatták továbbá, hogy a β -endorfin, β -LPH-(61—91), bizonyos pszichofarmakológiai hatással rendelkezik. Például gátolja az (aktív) menekülési reakció megszűnését az ismert „pole-climbing” vizsgálatban (sarokba-ugrást elkerülő magatartás).

A β -endorfin hatása nem csökkenthető az ismert morfin antagonistákkal, például naloxon-nal vagy naltrexon-nal, így a szakembernek az a következtetése, hogy a β -endorfin pszichofarmakológiai aktivitása teljes mértékben független az agyban levő opiát receptor oldalaktól, bizonyos értelemben indokolt.

Elteltek a β -endorfintól, a fenti polipeptidből származó kisebb peptid fragmensek, azaz az α -endorfin, a β -LPH-(61—69) fragmens és a Met-enkefalin hasonló módon gátolja a menekülési reakció megszűnését.

A γ -endorfin, azaz a β -LPH-(61—77), amely a C-terminális végén az α -endorfintól csak egy aminosavban különbözik, ugyancsak rendelkezik pszichofarmakológiai aktivitással, amely azonban teljes mértékben eltérő az α - és β -endorfin pszichofarmakológiai aktivitásától. Míg az α - és β -endorfin a menekülési reakció megszűnését lassítja, a γ -endorfin a menekülési reakció megszűnését gyorsítja. Figyelemre méltó, hogy az α -endorfin C-terminális végén levő további aminosav a viselkedésmódbeli aktivitásban ilyen drámai fordulatot okoz.

Meglepő módon azt találtuk, hogy a β -LPH-(62—77) aminosav szekvenciát tartalmazó peptidek vagy azok közeli analógjai, nagyobb mértékben gyorsítják a menekülési reakció megszűnését, mint a γ -endorfin. Továbbá a találmány

181402

szerinti peptidek a γ -endorfinnal ellentétben az opiát receptorral szemben nem mutatnak affinitást.

A 4 097 471 sz. amerikai egyesült államokbeli szabadalmi leírás (D. Sarantakis) a H-Tyr-Gly-Gly-Phe-Leu-Thr-Ser-Glu-Lys-Ser-Gln-Thr-Pro-Leu-Val-Thr-OH képletű peptidet és sóit ismerteti. A 4 127 517 sz. amerikai egyesült államokbeli szabadalmi leírás (D. H. Coy) a H-Tyr-X-[Gly-Phe-Met-Thr-Ser-Glu-Lys-Ser-Gln-Thr-Pro-Leu-Val-Thr]-Leu-Phe-Lys-Asn-Ala-Ile képletű peptidet és sóit ismerteti. A 4 127 518 sz. amerikai egyesült államokbeli szabadalmi leírás (Coy) H-Tyr-X-[Gly-Phe-Met-Thr-Ser-Glu-Lys-Ser-Gln-Thr-Pro-Leu-Val-Thr]-Leu-Y képletű peptideket és sóikat ismerteti, ahol a képletben Y jelentése hidroxil-, alkoxi- vagy aminos-csoport. A 4 127 519 sz. amerikai egyesült államokbeli szabadalmi leírás a 4 127 518 sz. amerikai egyesült államokbeli szabadalmi leírásban ismertetett peptidekhez hasonló szerkezetű peptideket ismerteti, amelyekben a zárójelen kívül levő Leu-Y rész helyett Leu-Phe rész van jelen. A 4 127 520 sz. amerikai egyesült államokbeli szabadalmi leírásban ismertetett peptidekben a Leu-Y-részt Leu-Phe-Lys-Y rész helyettesíti.

A találmány tárgya eljárás az (I) általános képletű peptidek — ahol e képletben

A₁ jelentése Gly-, L-Ala- vagy L-Leu-csoport,

A₂ jelentése Gly- vagy L-Ala-csoport,

X jelentése L-Met-, L-Met(O)- vagy L-Met(O₂)-csoport

Y jelentése L-Lys-, vagy D-Lys-csoport,

R₁ és R₂ jelentése egymástól függetlenül L-Glu- vagy L-Gln-csoport

B jelentése L-Leu-OH, D-Leu-OH, L-MeLeu-OH, L-Leucinol, L-Leu-L-Phe-OH, L-Leu-L-Phe-L-Lys-OH vagy L-Leu-L-Phe-D-Lys-OH —

és azok 1—4 szénatomszámú alkanollal képzett alkilészterei, amidjai, 1—4 szénatomszámú N-alkil-amidjai előállítására. Az eljárás abban áll, hogy

a) valamely szabad vagy aktivált karboxil-csoportot tartalmazó, az (I) általános képlet körébe eső, aminosavat vagy peptidet — amely védőcsoportokat is tartalmazhat — valamely, az (I) általános képlet körébe eső, szabad vagy aktivált aminos-csoportot tartalmazó aminosavval vagy peptiddel vagy aminnal — amely védőcsoportot is tartalmazhat — kondenzálunk, a kapott peptidekből a védőcsoportokat adott esetben eltávolítjuk, vagy

b) valamely X helyén L-Met-csoportot tartalmazó (I) általános képletű vegyületet oxidálunk, kívánt esetben az a) és b) eljárás-változatokkal kapott (I) általános képletű peptidet ismert módon kívánt származék-á alakítjuk.

A karboxil-csoport aktivitásának módszerei a szakember számára ismertek. A karboxil-csoport például savhalogenid-, -azid-, -anhidrid-, -imidazoliddá, vagy aktivált észter-, például N-hidroxiszukcinimid-észterre vagy p-nitrofenil-észterre való átalakítással aktiválható.

Az aminos-csoport a szakember számára ismert módszerekkel aktiválható, például foszfit-amiddá való alakításával, vagy az ún. „foszfor-azo” módszerrel (lásd Houben—Weyl, Methode der Organischen Chemie, 4. kiadás, XV/2. kötet, kiadás: Georg Thieme).

A fent ismertetett kapcsolási reakcióban leggyakrabban alkalmazott módszerek a karbodiimid-módszer, az azido-módszer, a vegyes-anhidrid-módszer és az aktivált észter módszer [lásd E. Schröder és K. Lubke, „The Peptides”, I. kötet, 1965 (Academic Press)]. A találmány szerinti peptidek és peptid-származékok továbbá az ún. „szilárd fázisú”

(„solid phase”) módszerrel is előállíthatók [Merrifield, J. Am. Chem. Soc., 85, 2149 (1963)].

A kapcsolási reakcióban részt nem vevő reakcióképes csoportokat az ún. „védőcsoportokkal” védjük, amelyek a szintézis későbbi szakaszában hidrolízissel vagy redukcióval könnyen eltávolíthatók.

A karboxil-csoportokat általában észterképzéssel vagy amidképzéssel védhetjük.

A karboxil-csoportot például legalább sztöchiometrikus mennyiségű metanollal, etanollal, terc-butanollal, benzilalkohollal vagy p-nitrobenzilalkohollal a megfelelő észterre alakíthatjuk.

A karboxil-csoport amidképzéssel történő védelmét például a Houben—Weyl, Methoden der Organischen Chemie 4. kiadás XV/1. kötet, 315. oldalán ismertetett módszerrel végezhetjük. Az amid védőcsoport azonban csak igen nehezen távolítható el, ezért ezt a védőcsoportot csak a végső peptid terminális karboxil-csoportjának vagy a glutaminsav γ -karboxil-csoportjának védelmére célszerű alkalmazni. Ebben az esetben közvetlenül az (I) általános képletű peptid-amid-származékát kapjuk.

Az aminos-csoport védelmére általában acil-csoportok, például alifás, aralifás, vagy heteroalifás karbonsavakból (például ecetsav, benzoészav, piridin-karbonsav) leszármaztatható acilcsoportok, vagy oxi-karbonsavakból levezethető acil-csoportok (például etoxi-karbonil-, benziloxi-karbonil-, terc-butiloxi-karbonil- vagy p-metoxi-karbonil-csoport) vagy szulfonsavakból (például benzolszulfonsav vagy p-toluolszulfonsav) levezethető acil-csoportok lehetnek. Egyéb aminos-csoportként továbbá szubsztituált vagy szubsztituálatlan aril- vagy aralkil-csoportok, például benzil- vagy trifenil-metil-csoport, valamint például o-nitrofenil-szulfenil- vagy 2-benzoil-1-metilvinil-csoport alkalmazhatók (lásd Houben—Weyl, Methoden der Organischen Chemie, XV/1. kötet, 46. oldal).

Előnyösen a lizin ϵ -amino-csoportját, és adott esetben a szerin és a treonin hidroxil-csoportjait is védjük. Ez utóbbiak védelme azonban nem feltétlenül szükséges. A lizin ϵ -amino-csoportját terc-butiloxi-karbonil-csoporttal, a szerin és a treonin hidroxil-csoportjait terc-butil- vagy benzil-csoporttal védhetjük.

A védőcsoportok az adott csoport jellegétől függően önmagában ismert módszerekkel távolíthatók el, például trifluor-ecetsavas kezeléssel, hidrogenolízissel, például katalizátor, mint palládium jelenlétében végzett hidrogénezéssel vagy ecetsavas közegben hidrogénbromiddal végzett reakcióval.

Az L-Met(O)-aminosav-csoportot tartalmazó találmány szerinti peptidek a megfelelő L-Met-aminosav-csoportot tartalmazó peptidekből is előállíthatók enyhe oxidációval. Az oxidációt önmagában ismert módszerekkel, például a Helv. Chim. Acta 44, 61 (1961) által ismertetett hígított hidrogén-peroxiddal vagy valamely persavval végezhetjük. Az oxidáció során az S- és R-szulfoxidok keverékét kapjuk, amely ismert módszerekkel, például szelektív kristályosítással a megfelelő diasztereo-izomerekre választható szét. A diasztereo-izomerek közvetlenül is előállíthatók a peptid szintézis során L-metionin-S (vagy R)-szulfoxidot alkalmazva.

A találmány szerinti szulfon-peptidek, amelyek Met(O₂)-aminosav-csoportot tartalmaznak, a megfelelő (I) általános képletű Met-peptidből állíthatók elő oxidációval, vagy oly módon, hogy a peptid szintézis során metionin-szulfont használunk.

Az (I) általános képletű peptidek funkcionális származékai kifejezés alatt az alábbi származékokat értjük (melyek azonban nem mind képezik a találmány tárgyát):

(a) a találmány szerinti peptidek sóit, közelebből savaddíciós és fémsóit;

(b) a találmány szerinti peptidek észtereit, előnyösen 1–18 szénatomos alkoholokkal, előnyösen 1–6 szénatomos alkanolokkal, mint metanollal, etanollal, propanollal, izopropanollal, butanollal, sec-butanollal, amil-alkohollal, izoamil-alkohollal és hexil-alkohollal képzett észtereit;

(c) a találmány szerinti peptidek amidjait vagy monovagy dialkil-amidjait, ahol az alkil-csoportok 1–6 szénatomot tartalmaznak, mint például a metil- vagy etil-csoport;

(d) a találmány szerinti peptidek 1–6 szénatomos alifás karbonsavakkal képzett N-acil-származékait; és

(e) a találmány szerinti peptidek rosszul oldódó fémsókkal, -hidroxidokkal és -oxidokkal képzett fémkomplexeit, előnyösen cinkkomplexeit.

A sók előállíthatók közvetlenül a peptid előállítására szolgáló reakcióelegyből, de előállíthatók oly módon is, hogy a peptidet utólag reagáltatjuk a megfelelő bázissal vagy savval.

Az (a) pontban említett savaddíciós sók előállíthatók közvetlenül a kívánt savas közegből való izolálással, vagy oly módon, hogy a peptidet a megfelelő savval reagáltatva savaddíciós sójává alakítjuk. A sóképzéshez felhasználható szervesetlen és szerves savak közül példaként a következőket soroljuk fel: sósav, hidrogénbromid, foszforsav, kénsav, ecetsav, maleinsav, borkősav, citromsav, poliglutaminsav vagy karboximetilcellulóz.

Az (a) pont alatt említett fémsók, közelebből az alkálifémsók, oly módon állíthatók elő, hogy a peptidet a megfelelő alkálifém-bázissal, például nátrium-hidroxiddal, nátrium-karbonáttal, nátrium-hidrogén-karbonáttal, reagáltatjuk.

A (d) pont alatt említett N-acil-származékok, melyek alatt közelebből az N-terminális acil-származékokat értjük, előnyösen oly módon állíthatók elő, hogy a peptidszintézis során acil-csoportot tartalmazó aminosavat alkalmazunk. Az acil-csoport ebben az esetben a szintézis során védőcsoportként is funkcionál. Ily módon a kívánt acil-származék közvetlenül előállítható. A kívánt acil-csoport bevitelére eljárhatunk azonban oly módon is, hogy a peptidet utólag acilezzük önmagában ismert módon.

N-acil-csoportként előnyösen acetil-csoportot alkalmazhatunk.

A (b) és (c) pont alatt említett észter- és amid-származékok is előnyösen oly módon állíthatók elő, hogy a peptid-szintézis során olyan aminosavat alkalmazunk, amely a kívánt észter- vagy amid-csoportot már tartalmazza. Eljárhatunk azonban oly módon is, hogy a peptidet önmagában ismert módon utólag észterezzük vagy amidáljuk.

A (c) pontban említett amidok közül a legelőnyösebbek a mono- vagy diszubsztituált amidok, mint a mono-metil- vagy dimetil-amidok vagy a mono-etil- vagy dietil-amidok.

Az (e) pont alatt említett fémkomplexek oly módon állíthatók elő, hogy a peptidet rosszul oldódó fémsóval, vagy fémhidroxiddal vagy fémoxiddal reagáltatjuk. Rosszul oldódó fémsóként általában a fém-foszfátok, fém-pirofoszfátok és a fém-polifoszfátok alkalmazhatók. Az alkalmazható fémek a periódusos rendszer „b” alcsoportjába tartoznak (mint a kobalt, nikkel, réz, vas, előnyösen a cink), valamint olyan a periódusos rendszer főcsoportjába tartozó fémek lehetnek, amelyek komplexképzésre hajlamosak, például magnézium és alumínium. A fémkomplexeik előállítását szokásos módon végezhetjük; így például a fémkomplexeiket előállíthatjuk oly módon, hogy a peptidet vizes közegben a rosszul oldódó fémsóval, fém-hidroxiddal vagy fém-oxiddal reagáltatjuk. Az oldhatatlan peptid-fém-hidroxid-komplex előállítására eljárhatunk oly módon is, hogy a peptid és az

oldható fémsó vizes oldatához alkálikus közeget adunk. Eljárhatunk továbbá oly módon is, hogy a peptidet, az oldható fémsót, valamint egy további oldható só vizes, előnyösen alkálikus közeghez adjuk. Ily módon az oldhatatlan peptid-fémsó-komplex „in situ” képződik.

A fémkomplexek további feldolgozás nélkül közvetlenül alkalmazhatók szuszpenzió formájában, vagy fagyaszttva száríthatók és később újra szuszpenzióvá alakíthatók.

A találmány szerinti (I) általános képletű peptidek és azok fentiekben ismertetett funkcionális származékai jelentős mértékben gyorsítják patkányok (aktív) menekülési reakciójának megszűnését az ún. „pole climbing” vizsgálati módszerben.

A viselkedésmódra gyakorolt fenti hatáson túlmenően a találmány szerinti peptidek nagy dózisban a patkányok mozgását jelentősen csökkentik, ez a hatás az α - és γ -endorfinnal nem figyelhető meg.

A találmány szerinti peptidek továbbá meglepő módon aktívak az ún. „markolási” vizsgálatban („grip test”). A találmány szerinti peptidekkel kezelt patkányok jóval hosszabb ideig lógnak a ketrec aljzata fölött függesztve, első mancsaikkal ceruzát markolva, mint a konyhasóoldattal (placebo) vagy α -endorfinnal kezelt állatok.

A fent ismertetett farmakológiai hatások következtében a találmány szerinti peptidek és származékaik olyan mentális rendellenességek kezelésére alkalmasak, amelyeknél az agyi funkciók csökkentése kívánatos. Közelebből a találmány szerinti peptidek neuroleptikus hatásúak és így például skizofrén tünetek kezelésére alkalmasak.

A találmány tárgyát képezik továbbá olyan gyógyászati készítmények, amelyek hatóanyagként valamely (I) általános képletű peptid hatékony mennyiségét és valamely ismert hordozóanyagot tartalmaznak. A találmány szerinti gyógyászati készítményeket az adagolás módjától függően előnyösen 1 μg — 1 mg/testsúly kg napi dózisban alkalmazhatjuk. Embereknél az előnyösen alkalmazható napi dózis 0,1 mg — 10 mg, legelőnyösebben 0,5 — 2 mg.

A találmány szerinti gyógyászati készítmények orálisan, rektálisan vagy parenterálisan adagolhatók. A találmány szerinti peptidek előnyösen injekciós készítmények formájában adagolhatók. Az injekciós készítmények előállítására a peptideket megfelelő vivőanyagban oldjuk, szuszpendáljuk vagy emulgeáljuk. Megfelelő kötőanyagokkal és töltőanyagokkal keverve, a találmány szerinti peptidek, továbbá orális adagolás céljára pirulák, tabletták, kapszulák és drázsék formájában készíthetők ki. A találmány szerinti készítmények továbbá kúpok és sprayk formájában is adagolhatók.

Különösen előnyösek azok a készítmények, amelyek a találmány szerinti peptidet nyújtott hatású formában tartalmazzák. Nyújtott hatású hatóanyagként előnyösen a találmány szerinti peptidek fémkomplexeit alkalmazhatjuk. A fémkomplexeiket oly módon állíthatjuk elő, hogy a peptidet szakember számára ismert, rosszul oldódó fémsóval, fémhidroxiddal vagy fémoxiddal reagáltatjuk. Rosszul oldódó fémsóként általában fém-foszfátokat, fém-pirofoszfátokat vagy fém-polifoszfátokat alkalmazhatunk.

Különösen előnyösek azok az (I) általános képletű peptidek, ahol a képletben

A₁ és A₂ jelentése Gly- vagy L-Ala-csoport,
X jelentése L-Met, L-Met(O)- vagy L-Met(O₂)-csoport,
R₁ jelentése L-Glu-csoport,
Y jelentése L-Lys-csoport,
R₂ jelentése L-Gln-csoport és
B jelentése L-Leu-OH, D-L-Leu-OH vagy L-Leu-L-Phe-D-Lys-OH és ezen vegyületek savaddíciós sói rövid-

szénláncú alifás alkoholokkal képezett észterei és amidjai.

A példákban, amennyiben az optikai konfigurációt nem jelöltük, az mindig az L-formát jelenti.

A példákban a védőcsoportok és az aktiváló csoportok jelölésére az alábbi rövidítéseket alkalmazzuk:

Boc = terc-butiloxikarbonil-csoport
tBu = terc-butil-csoport
Me = metil-csoport
ONp = p-nitrofeniloxi-csoport
Z = benziloxikarbonil-csoport

A példákban az oldószerek és reagensek jelölésére az alábbi rövidítéseket alkalmazzuk:

To = toluol
EtOH = etanol
Bu = butanol
Py = piridin
Ac = ecetsav
EtOAc = etilacetát
Am = amilalkohol
I. A. N. vagy IAN = izo-amil-nitrit
DMF = dimetilformamid
THF = tetrahidrofuran
DCCI = diciklohexilkarbodiimid
DCHU = diciklohexilkarbamid
TEA = trietilamin
TFA = trifluorecetsav
Wa = víz
N. E. M. vagy NEM = N-etilmorfolin
HOBt = N-hidroxibenzotriazol

Az aminosav-csoportok jelölésére az alábbi rövidítéseket alkalmazzuk:

Met = metionil-csoport
Met(O) = metionil-szulfid-csoport
Met(O₂) = metionil-szulfon-csoport
Phe = fenilalanil-csoport
Pro = prolin-csoport
Ser = szeril-csoport
Lys = lizil-csoport
Thr = treonil-csoport
Glu = glutamil-csoport
Gln = glutaminil-csoport
Gly = glicil-csoport
Val = valil-csoport
Leu = leucil-csoport
Ala = alanil-csoport
MeLeu = N^o-metil-leucil-csoport

A találmány szerinti eljárást az oltalmi kör korlátozása nélkül az alábbi példákban részletesen ismertetjük.

Példák — kiindulási anyagok

A. Boc-Gly-Gly-Phe-Met-OH és analógjai előállítás

(1) H-Phe-Met-OMe.HCl

11,83 g Boc-Phe-Met-OMe-t [Biochemistry, 8, 4183 (1969)] 100 ml metilénkloridban oldunk, majd az oldaton 40 percen át sósavgázt vezetünk keresztül. Az oldatot szárazra pároljuk, a maradékhoz 75 ml etilacetátot adunk, amikor is csapadék válik ki. A szilárd anyagot szűrővel elválasztjuk, petróleuméterrel mossuk, majd szárítjuk. A termék olvadáspontja 123–124 °C. R_f = 0,43 (SiO₂ lapon).

Futtatószer: To : EtOH (8 : 2)

(2) Boc-Gly-Gly-OH

A termék előállítására a Tetrahedron 25, 2119 (1976)

irodalmi helyen ismertetett módszer szerint járunk el.

R_f = 0,42 (SiO₂)

Futtatószer: Bu : Py : Ac : Wa (4 : 0,75 : 0,25 : 1)

bomlás: 125–127 °C.

(3) Boc-Gly-Gly-Phe-Met-OMe

4,43 g Boc-Gly-Gly-OH-t 30 ml DMF-ben oldunk, az oldatot 0 °C-ra hűtjük, majd ekvivalens mennyiségű trietilamint adunk hozzá. A reakcióelegyet –10 °C-ra lehűtjük, majd 1 mólekvalens mennyiségű klór-formiátot adunk hozzá és az elegyet 10 percig keverjük. A reakcióelegyhez 6,6 g P-Phe-Met-OMe.HCl 30 ml DMF-vel készített oldatát és 1,1 mólekvalens mennyiségű trietilamint adunk, majd 30 percig –10 °C-on és további 20 órán át szobahőmérsékleten keverjük. A reakcióelegy –10 °C-ra való lehűtése után a trietilamin-hidrokloridot szűrővel eltávolítjuk, majd a szűrőletet szárazra pároljuk. A maradékot 235 ml etilacetát és 55 ml víz elegyében oldjuk, majd egymást követően 30%-os nátrium-klorid-oldattal, 0,1 n sósav-oldattal, 30%-os nátrium-klorid-oldattal, 5%-os nátrium-hidrogén-karbonát-oldattal, és 30%-os nátrium-klorid-oldattal mossuk. Az oldatot vízmentes nátriumsulfát felett szárítjuk, szűrjük, majd szárazra pároljuk.

Op.: 100–101 °C

R_f = 0,94 (SiO₂)

25 Futtatószer: CHCl₃ : CH₃OH : Wa (70 : 30 : 5)

(4) Boc-Gly-Gly-Phe-Met-OH

2,62 g A(3) példa szerint előállított peptidet 30 ml 9 : 1 arányú dioxán-víz elegyben oldunk, majd az oldathoz 1,2 mólekvalens mennyiségű 2,17 n nátriumhidroxid-oldatot adunk. A reakcióelegyet 1 órán át szobahőmérsékleten keverjük, majd a reakcióelegy pH-értékét 6-ra állítjuk és az oldatot szárazra pároljuk. A maradékot 50 ml etilacetátban oldjuk, majd az oldat pH-értékét 1 n sósavval 2-re állítjuk. Az oldatot 3-szor 30%-os nátriumklorid-oldattal mossuk, vízmentes nátriumsulfát felett szárítjuk, majd szárazra pároljuk. R_f = 0,65. Op.: 97–98 °C.

(5) Az A(4) példában megadott módon állítjuk elő az alábbi vegyületeket:

Boc-Gly-Ala-Phe-Met-OH; R_f = 0,72

40 Boc-Ala-Gly-Phe-Met-OH; R_f = 0,73

Boc-Leu-Gly-Phe-Met-OH; R_f = 0,77

Az A(4) és A(5) példában alkalmazott futtatószer: Bu : Py : Ac : Wa (4 : 0,75 : 0,25 : 1).

45 B. H-Thr-Ser-Glu(OtBu)-Lys(Boc)-OMe és analógjai előállítása

(1) H-Glu(OtBu)-Lys(Boc)-OMe

a) 35,3 g Z-Glu(OtBu)-OH-t és 27,0 g HOBt-t 150 ml dimetilformamidban oldunk, az oldatot –22 °C-ra hűtjük, majd 29,7 g H-Lys(Boc)-OMe.HCl 100 ml dimetilformamidban készített oldatát és 1 mólekvalens mennyiségű N-etilmorfolint (N. E. M.) adunk a hűtött reakcióelegyhez. A reakcióelegy pH-ját N. E. M.-vel 6,4-es értékre állítjuk, majd 23 g DCCI-t adunk hozzá. A reakcióelegyet 15 percig –22 °C-on, majd 12 órán át szobahőmérsékleten keverjük. A DCHU-t szűrővel eltávolítjuk, majd a szűrőletet szárazra pároljuk.

A maradékot 400 ml etilacetátban oldjuk, majd 15%-os nátrium-klorid-oldattal, 5%-os kálium-hidrogén-szulfát-oldattal, 5%-os nátrium-hidrogén-karbonát-oldattal és 15%-os nátrium-klorid-oldattal mossuk. Szárítás és szűrés után a szűrőletet szárazra pároljuk. A maradékot 1 : 2 arányú éter-petroléuméter elegyből kristályosítjuk. Kitermelés: 86,6%. Op.: 54–56 °C.

65 b) A B(1a) példa szerint előállított 0,6 g peptidet 10 ml

DMF-ben oldjuk, 10%-os palládiumos aktívzáron katalizáltatunk hozzá, majd a széndioxid-felszabadulás megszűnéséig hidrogéngázt vezetünk keresztül. Szűrés után a szűrletet szárazra pároljuk. Rf=0,24 (SiO₂)

Futtatószer: To : EtOH (8 : 2)

(2) Z-Thr-Ser-N₂H₃

38,05 g Z-Thr-Ser-OMe-t [Recueil 83, 255 (1964)] 12 ml etanolban oldunk, majd az oldathoz 43 ml hidrazinhidrátot adunk. A reakcióelegyet 2 órán át szobahőmérsékleten keverjük, a szilárd anyagot szűréssel elválasztjuk, 1 : 1 arányú etanol-éter eleggyel mossuk, majd szárítjuk.

Rf=0,58 (SiO₂)

Futtatószer: CHCl₃ : CH₃OH : Wa (70 : 30 : 5)

bomlás: 215—216 °C-on.

(3) H-Thr-Ser-Glu(OtBu)-Lys(Boc)-OMe

a) 1,22 g B(2) példa szerint előállított hidrazidot 15 ml DMF-ben szuszpendálunk, majd 4,28 ml, 2,43 n sósav dimetilformamid oldatát adjuk hozzá. A tiszta oldatot -20 °C-ra hűtjük, majd 0,7 ml IAN-t adunk hozzá és a reakcióelegyet -20 °C-on 30 percig keverjük. A reakcióelegyhez 1,5 g B(1) példa szerint előállított peptid 10 ml DMF-vel készített oldatát adjuk, majd pH-ját 7-2-es értékre állítjuk és 6 napon át hűtőszekrényben állni hagyjuk. Ezután az oldószert ledesztilláljuk, a maradékot etilacetátban oldjuk és a kapott oldatot mossuk. Az oldat szárazra párlásával szilárd anyagot kapunk. Kitermelés: 61,9%. Op.: 130—132 °C.

b) A B(1)b) példában megadott módon a Z-védőcsoportot tartalmazó peptidet metanolos közegben palládiumos aktívzáron katalizátor jelenlétében hidrogénezzük. Kitermelés: 99%. Rf=0,73 (SiO₂)

Futtatószer: Bu : Py : Ac : Wa (38 : 24 : 8 : 30)

(4) Azonos módon állítjuk elő az alábbi peptideket:

H-Thr-Ser-Glu(OtBu)-D-Lys(Boc)-OMe

Rf=0,77 (SiO₂)

Futtatószer: Bu : Py : Ac : Wa (38 : 24 : 8 : 30),

H-Thr-Ser-Gln-Lys(Boc)-OMe

Rf=0,65 (SiO₂)

Futtatószer: Bu : Py : Ac : Wa (39 : 24 : 8 : 30)

C. Z-Ser-R₂-Thr-Pro-OH előállítása (R₂ jelentése Glu- vagy Gln-csoport)

(1) H-Thr-Pro-OtBu

A B(1) példában megadott módon 0,33 mól Z-Thr-OH-t és 0,35 mól H-Pro-OtBu-t kapcsolunk kondenzálószerként HOBT- és DCCI-t alkalmazva dimetilformamid közegben. Kitermelés: 64%. Op.: 65—67 °C. A kapott Z-Thr-Pro-OtBu-t a B(3)b) példában megadott módon hidrogénezzük. Rf=0,10 (SiO₂)

Futtatószer: To : EtOH (8 : 2)

(2) H-Gln-Thr-Pro-OtBu

1,36 g H-Thr-Pro-OtBu-t 10 ml DMF-ben oldunk, majd 1,93 g Z-Gln-ONp-t adunk az oldathoz és a reakcióelegyet 20 órán át szobahőmérsékleten keverjük.

A reakcióelegy szárazra párlása után a maradékot etilacetátban oldjuk, 5%-os kálium-hidrogén-szulfát-oldattal, 5%-os nátrium-hidrogén-karbonát-oldattal és telített nátriumklorid-oldattal mossuk. Az oldatot vízmentes nátriumsulfát felett szárítjuk, szűrjük, majd a szűrletet szárazra pároljuk. Op.: 89—90 °C. Kitermelés: 59%.

A Z-védőcsoportot tartalmazó peptidet a fentiekben ismertetett módon hidrogénezzük.

Rf=0,08 (SiO₂)

Futtatószer: CHCl₃ : CH₃OH (8 : 2).

(3) Z-Ser-Gln-Thr-Pro-OtBu

A C(1) példában megadott módon 20,5 g Z-Ser-OH-t a C(2) példában kapott peptiddel kapcsoljuk, kondenzálószerként DCCI-t és HOBT-t alkalmazva. Kitermelés: 70%.

Op.: 104—106 °C.

5 (4) Z-Ser-Gln-Thr-Pro-OH

1,43 g C(3) példa szerint előállított peptidet szobahőmérsékleten 30 percig 15 ml 90%-os TFA-val keverünk. A reakcióelegyet ezután éterre öntjük, a szilárd terméket szűréssel elválasztjuk, éterrel mossuk, majd szárítjuk. Kitermelés: 90%. Op.: 111—113 °C.

Rf=0,23 (SiO₂)

Futtatószer: CHCl₃ : CH₃OH : Wa (70 : 30 : 5)

(5) Z-Ser-Glu(OtBu)-Thr-Pro-OH

15 Z-Thr-OH és H-Pro-OMe HOBT/DCCI módszerrel történő kapcsolásával és a termék hidrogénezésével kapott H-Thr-Pro-OMe-t Z-Glu(OtBu)-OH-val és Z-Ser-OH-val kapcsolunk. Mindkét kapcsolási lépést a HOBT/DCCI módszer szerint végezzük, és az első kapcsolási lépés után kapott 20 Z-védőcsoportot tartalmazó peptidet hidrogénezzük. A kapott Z-Ser-Glu(OtBu)-Thr-Pro-OMe képletű peptidet 9 : 1 arányú dioxán-víz elegyben oldjuk, majd 0,2 n nátriumhidroxid-oldattal elszappanosítjuk [l. A(4) példa].

Rf=0,29 (SiO₂)

25 Futtatószer: CHCl₃ : CH₃OH : Wa (70 : 30 : 5)

D. H-Leu-Val-Thr-(L vagy D)-Leu-OtBu

(1) H-Thr-Leu-OtBu

30 A J. A. C. S. 95, 877 (1973) irodalmi helyen megadott módon Z-Thr-Leu-OtBu-t állítunk elő a HOBT/DCCI kapcsolási módszerrel.

Op.: 81,5—83 °C.

A Z-védőcsoportot tartalmazó peptidet ezután hidrogénezzük a fentiekben ismertetett módon.

35 Kitermelés: 100%

Rf=0,02 (SiO₂)

Futtatószer: To : EtOH (8 : 2)

(2) H-Thr-D-Leu-OtBu

40 Z-Thr-D-Leu-OtBu hidrogénezésével állítjuk elő.

Op.: 89—92 °C.

Rf=0,18 (SiO₂)

Futtatószer: To : EtOH (8 : 2)

(3) H-Val-Thr-Leu-OtBu

45 A C(2) példában megadott módon 7,85 g Z-Val-ONp és 5,53 g H-Thr-Leu-OtBu kapcsolásával 160 ml DMF-os közegben Z-Val-Thr-Leu-OtBu-t állítunk elő. Kitermelés: 72%. Op.: 127—129 °C.

A fenti Z-védőcsoportot tartalmazó peptidet metanolos közegben hidrogénezve 9,1 g olajos terméket kapunk.

50 Rf=0,60 (SiO₂)

Futtatószer: CHCl₃ : CH₃OH (8 : 2)

(4) H-Val-Thr-D-Leu-OtBu

55 A terméket a D(3) példában megadott módon állítjuk elő. Rf=0,55 (SiO₂)

Futtatószer: CHCl₃ : CH₃OH (8 : 2)

(5) H-Leu-Val-Thr-Leu-OtBu

60 6,7 g Z-Leu-ONp és 6,1 g D(3) példa szerint előállított peptid 160 ml DMF-ban a C(2) példa szerint megadott módon való kapcsolásával 7,7 g (77%) Z-védőcsoportot tartalmazó peptidet állítunk elő.

Op.: 153—155 °C.

A Z-védőcsoportot tartalmazó peptidet metanolos közegben hidrogénezzük.

65 Rf=0,75 (SiO₂)

(6) H-Leu-Val-Thr-D-Leu-OtBu Rf=0,80
 (7) H-Leu-Val-Thr-leucinol Rf=0,50
 (8) H-Leu-Val-Thr-MeLeu-OtBu Rf=0,68
 A (6), (7) és (8) példa szerinti termékek a D(5) példában megadott módon állíthatók elő. Az Rf értékeket SiO₂ lapon futtatószerként CHCl₃ : CH₃OH : Wa (70 : 30 : 5) arányú elegyét alkalmazva határoztuk meg.

E. Boc-Gly-Gly-Phe-Met-Thr-Ser-Glu(OtBu)-Lys(Boc)-OMe és analógjai előállítás

(1) Boc-Gly-Gly-Phe-Met-Thr-Ser-Glu(OtBu)-Lys(Boc)-OMe

2,4 g Boc-Gly-Gly-Phe-Met-OH-t és 3,15 g H-Thr-Ser-Glu(OtBu)-Lys(Boc)-OMe-t a B(1) példában megadott módon 2 mólekivalens mennyiségű HOBt és 1 mólekivalens mennyiségű DCCI jelenlétében kapcsolunk.

A DCHU szűrővel való eltávolítása után a szűrletet szárazra pároljuk és a maradékot metanolból kristályosítjuk. Op.: 207–209 °C (bomlás).
 Kitermelés: 61%.

(2) Boc-Gly-Gly-Phe-Met-Thr-Ser-Glu(OtBu)-Lys(Boc)-OH

2,92 g E(1) példa szerint előállított peptidet 30 ml 9 : 1 arányú dioxán-víz elegyben oldunk, majd az oldathoz 14,4 ml (0,217 g) nátriumhidroxidot adunk. A reakcióelegyet 18 percig szobahőmérsékleten keverjük. A reakcióelegy pH-ját 1 n sósavval 2-es értékre állítjuk, majd 10 ml vizet adunk hozzá. A kivált kristályos anyagot szűrjük és szárítjuk. Kitermelés: 78%. Op.: 215–216 °C (bomlás).
 Rf=0,52 (SiO₂)

Futtatószer: CHCl₃ : CH₃OH : Wa (70 : 30 : 5)

Az alábbi vegyületeket azonos módon állítjuk elő:

(3) Boc-Ala-Gly-Phe-Met-Thr-Ser-Glu(OtBu)-Lys(Boc)-OH

Rf=0,52 (SiO₂). Futtatószer: CHCl₃ : CH₃OH : Wa (70 : 30 : 5)

(4) Boc-Gly-Ala-Phe-Met-Thr-Ser-Glu(OtBu)-Lys(Boc)-OH

Rf=0,51 (SiO₂). Futtatószer: CHCl₃ : CH₃OH : Wa (70 : 30 : 5)

(5) Boc-Leu-Gly-Phe-Met-Thr-Ser-Glu(OtBu)-Lys(Boc)-OH

Rf=0,54 (SiO₂). Futtatószer: CHCl₃ : CH₃OH : Wa (70 : 30 : 5)

(6) Boc-Gly-Gly-Phe-Met-Thr-Ser-Glu(OtBu)-D-Lys(Boc)-OH

Rf=0,50 (SiO₂). Futtatószer: CHCl₃ : CH₃OH : Wa (70 : 30 : 5)

(7) Boc-Gly-Gly-Phe-Met-Thr-Ser-Gln-Lys(Boc)-OH
 Rf=0,40 (SiO₂ lapon). Futtatószer: CHCl₃ : CH₃OH : Wa (70 : 30 : 5) és analógjai.

F. H-Ser-R₂-Thr-Pro-Leu-Val-Thr-(L vagy D)-Leu-OtBu előállítása [R₂ jelentése Glu(OtBu)- vagy Gln-csoport]

(1) H-Ser-Gln-Thr-Pro-Leu-Val-Thr-Leu-OtBu

1,17 g Z-Ser-Gln-Thr-Pro-OH-t és 930 mg H-Leu-Val-Thr-Leu-OtBu-t a B(1) példában megadott módon 2 mólekivalens HOBt és 1 mólekivalens DCCI jelenlétében kapcsolunk. A keletkezett DCHU-t szűrővel eltávolítjuk, a szűrletet szárazra pároljuk, majd a maradékot 2 : 3 arányú sec.-butanol-kloroform elegyben oldjuk. Az oldatot mossuk, majd szárazra pároljuk. A maradékot 1 : 20 arányú DMF/EtOAc elegyből kristályosítjuk. Op.: 210–212 °C. Kitermelés: 72%.

A kapott Z-védőcsoportot tartalmazó peptidet metanolos közegben a fentiekben ismertetett módon hidrogénezzük. Kitermelés: 86%.

Rf=0,25 (SiO₂). Futtatószer: CHCl₃ : CH₃OH : Wa (70 : 30 : 5).

Azonos módon állítjuk elő az alábbi peptideket:

(2) H-Ser-Glu(OtBu)-Thr-Pro-Leu-Val-Thr-Leu-OtBu

Kiindulási anyagok: C(5) és D(5) példa termékei

10 Rf=0,35 (SiO₂)

Futtatószer: CHCl₃ : CH₃OH : Wa (70 : 30 : 5)

(3) H-Ser-Gln-Thr-Pro-Leu-Val-Thr-D-Leu-OtBu

Kiindulási anyagok: C(4) és D(6) példa termékei

15 Rf=0,30 (SiO₂)

Futtatószer: CHCl₃ : CH₃OH : Wa (70 : 30 : 5)

(4) H-Ser-Gln-Thr-Pro-Leu-Val-Thr-Leu-NHCH₃

100 g Z-Ser-Gln-Thr-Pro-Leu-Val-Thr-Leu-OH-t 2 ml DMF-ben oldunk, majd az oldatot –10 °C-ra hűtjük, és hozzáadunk 1 mólekivalens TEA-t és 1 mólekivalens etil-

20 klórformiátot és a reakcióelegyet 10 percig keverjük. Fölösleges mennyiségű monometilamin hozzáadása után a reakcióelegyet –10 °C-on 30 percig, majd 0 °C-on 2 órán át keverjük. Ezután a reakcióelegyet szárazra pároljuk. A ma-

25 radékot 2 : 3 arányú sec.-butanol–kloroform elegyben oldjuk, az oldatot mossuk, szárítjuk, majd szárazra pároljuk. 65 mg Z-védőcsoportot tartalmazó terméket kapunk. Op.: 223–225 °C. A kapott Z-védőcsoportot tartalmazó peptid-

30 monoetilamidot dimetilformamidos közegben szokásos módon hidrogénezzük.

Rf=0,26 (SiO₂)

Futtatószer: CHCl₃ : CH₃OH : Wa (70 : 30 : 5)

(5) H-Ser-Gln-Thr-Pro-Leu-Val-Thr-Leu-OMe

100 mg Z-Ser-Gln-Thr-Pro-Leu-Val-Thr-Leu-OtBu-t 2 ml 90%-os TFA-ban szobahőmérsékleten 20 percig keve-

35 rünk. A reakcióelegyet szárazra pároljuk, a szilárd anyagot szűrjük és szárítjuk. A szilárd anyagot (80 mg) DMF-ben oldjuk, majd a J. O. C. 42, 1286 (1977) irodalmi helyen ismertetett módszer szerint cézium-karbonát jelenlétében

40 metiljodiddal észterezzük. A Z-védőcsoportot tartalmazó peptid-metilésztert dimetilformamidos közegben szokásos módon hidrogénezzük. Kitermelés: 45 mg.

Rf=0,34 (SiO₂)

Futtatószer: CHCl₃ : CH₃OH : Wa (70 : 30 : 5)

45 (6) H-Ser-Gln-Thr-Pro-Leu-Val-Thr-Leu-Phe-Lys(Boc)-OtBu

0,992 g Z-Ser-Gln-Thr-Pro-Leu-Val-Thr-Leu-OH-t 540 mg H-Phe-Lys(Boc)-OtBu-val kapcsolunk dimetilfor-

50 mamidos közegben 1 mólekivalens DCCI és 2 mólekivalens HOBt jelenlétében. A DCHU szűrővel való eltávolítása után a szűrletet szárazra pároljuk. A maradékot 75 ml 2 : 3 arányú sec.-butanol–kloroform elegyben oldjuk, az oldatot

55 vízzel, 0,1 n sósavoldattal, 5%-os nátrium-klorid-oldattal, majd vízzel mossuk, majd vízmentes nátriumsulfát felett szárítjuk. Szűrés után a szűrletet szárazra pároljuk. 1 g Z-Ser-Gln-Thr-Pro-Leu-Val-Thr-Leu-Phe-Lys(Boc)-OtBu-t kapunk. Op.: 221–222 °C (bomlás).

A kapott peptidet DMF-ben palládiumos aktivszén katalizátor jelenlétében a fentiekben ismertetett módon hidrogé-

50 nezzük.

Rf=0,27 (SiO₂)

Futtatószer: CHCl₃ : CH₃OH : Wa (70 : 30 : 5)

(7) H-Ser-Gln-Thr-Pro-Leu-Val-Thr-Leu-Phe-OtBu

65 Rf=0,34 (SiO₂)

(8) H-Ser-Gln-Thr-Pro-Leu-Val-Thr-MeLeu-OtBu
Rf=0,30 (SiO₂)

(9) H-Ser-Gln-Thr-Pro-Leu-Val-Thr-Leucinol
Rf=0,16 (SiO₂)

(10) H-Ser-Gln-Thr-Pro-Leu-Val-Thr-Leu-Phe-D-
-Lys(Boc)-OtBu
Rf=0,48

A (7), (8), (9) és (10) példa szerinti termékeket az F(6) példában megadott módon állítjuk elő. Az Rf érték meghatározásánál futtatószerként CHCl₃ : CH₃OH : Wa (70 : 30 : 5) elegyet alkalmazunk.

I. példa

H-Gly-Gly-Phe-Met-Thr-Ser-Glu-Lys-Ser-Gln-Thr-Pro-Leu-Val-Thr-Leu-OH előállítása

1,28 Boc-Gly-Gly-Phe-Met-Thr-Ser-Glu(OtBu)-Lys(Boc)-OH-t és 308 mg HOBt 10 ml DMF-ben oldunk és az oldatot -22 °C-ra hűtjük. A hűtött oldathoz 1,05 H-Ser-Gln-Thr-Pro-Leu-Val-Thr-Leu-OtBu 5 ml dimetilformamiddal készített oldatát és 1 mólekvalens NEM-t adunk. Az elegy pH-ját NEM-vel 6,5-ös értékre állítjuk, majd 247 mg DCCI-t adunk hozzá. A reakcióelegyet nitrogénatmoszférában 15 percig -22 °C-on, 8 órán át szobahőmérsékleten, majd 12 órán át 35 °C-on keverjük, a kivált DCHU-t szűrjük, a szűrletet mossuk, majd szárítjuk.

A szűrletből kivált csapadékot mossuk és szárítjuk. Kitermelés: 77%, 212–214 °C-on a termék bomlik.

Rf=0,79 (SiO₂). Futtatószer: CHCl₃ : CH₃OH : Wa (70 : 30 : 5). A kapott védett termék 1,65 g-ját 30 ml 90%-os TFA-hoz adjuk, majd a reakcióelegybe néhány csepp terc-butil-szulfidot csepegtetünk. A reakcióelegyet 1 órán át szobahőmérsékleten keverjük, majd éterre öntjük. A kivált szilárd anyagot szűrjük, majd szárítjuk. Az anyagot 30 ml 1 : 1 arányú terc-butanol–víz elegyben oldjuk, majd acetát formában levő ioncserélő gyantát (LEWATIT) adunk az oldathoz és a reakcióelegyet 30 percig keverjük. Az ioncserélő gyantát szűrővel eltávolítjuk és a szűrletet szárazra pároljuk. Kitermelés: 1,2 g.

Rf=0,26 (SiO₂)

Futtatószer: Bu : Py : Ac : Wa (2 : 0,75 : 0,25 : 1)

Az anyagot 4 : 1 : 5 arányú Bu : Ac : Wa oldószerszerben való ellenáramú eloszlatással tisztítjuk. Kitermelés: 680 mg.

II. példa

H-Gly-Gly-Phe-Met(O)-Thr-Ser-Glu-Lys-Ser-Gln-Thr-Pro-Leu-Val-Thr-Leu-OH előállítása

200 mg I. példa szerint előállított peptidet 20 ml jégcetben oldunk, majd 0,08 ml 30%-os hidrogénperoxidot adunk hozzá. A reakcióelegyet 1 órán át szobahőmérsékleten keverjük, majd a reakcióelegyhez 300 mg platinaszivacsot adunk jégcetben és az elegyet további 15 percig keverjük.

A szilárd anyagot szűrővel eltávolítjuk és a szűrletet szárazra pároljuk. Termelés: 190 mg.

A kapott peptidet 4 : 1 : 5 arányú Bu : Ac : Wa oldószerszerben való ellenáramú eloszlatással kromatografálva tisztítjuk.

Termelés: 150 mg (acetát formájában).

Rf=0,20 (SiO₂). Futtatószer: Bu : Py : Ac : Wa (2 : 0,75 : 0,25 : 1)

III. példa

H-Gly-Gly-Phe-Met(O₂)-Thr-Ser-Glu-Lys-Ser-Gln-Thr-Pro-Leu-Val-Thr-Leu-OH előállítása

200 mg I. példa szerint előállított peptidet 5 ml vízhez adjuk, majd hozzáadunk 0,025 ml 0,5 mól ammónium-molibdátot, 0,0125 ml hidrogén-perklorátot és 0,075 ml 30%-os hidrogén-peroxidot. A reakcióelegyet 4 órán át szobahőmérsékleten keverjük, majd 5 ml 1 : 1 arányú terc-butanol–víz elegyet és acetát formában levő ioncserélő gyantát adunk hozzá. 30 perces keverés után az ioncserélő gyantát szűrővel eltávolítjuk és a szűrletet szárazra pároljuk. Termelés: 180 g peptid (acetát formában)

Rf=0,23 (SiO₂). Futtatószer: Bu : Py : Ac : Wa

(2 : 0,75 : 0,25 : 1)

IV. példa

Az I. példában megadott módon az alábbi peptideket állítjuk elő:

1. H-Ala-Gly-Phe-Met-Thr-Ser-Glu-Lys-Ser-Gln-Thr-Pro-Leu-Val-Thr-Leu-OH
[Kiindulási anyagok: az E(3) és F(1) példa termékei]
Rf=0,28

2. H-Gly-Ala-Phe-Met-Thr-Ser-Glu-Lys-Ser-Gln-Thr-Pro-Leu-Val-Thr-Leu-OH
[Kiindulási anyagok: az E(4) és F(1) példa termékei]
Rf=0,27

3. H-Leu-Gly-Phe-Met-Thr-Ser-Glu-Lys-Ser-Gln-Thr-Pro-Leu-Val-Thr-Leu-OH
[Kiindulási anyagok: az E(5) és F(1) példa termékei]
Rf=0,30

4. H-Gly-Gly-Phe-Met-Thr-Ser-Glu-D-Lys-Ser-Gln-Thr-Pro-Leu-Val-Thr-Leu-OH
[Kiindulási anyagok: az E(6) és F(1) példa termékei]
Rf=0,27

5. H-Gly-Gly-Phe-Met-Thr-Ser-Gln-Lys-Ser-Glu-Thr-Pro-Leu-Val-Thr-Leu-OH
[Kiindulási anyagok: az E(7) és F(2) példa termékei]
Rf=0,29

6. H-Gly-Gly-Phe-Met-Thr-Ser-Glu-Lys-Ser-Gln-Thr-Pro-Leu-Val-Thr-D-Leu-OH
[Kiindulási anyagok: az E(2) és F(3) példa termékei]
Rf=0,33

7. H-Gly-Gly-Phe-Met-Thr-Ser-Glu-Lys-Ser-Gln-Thr-Pro-Leu-Val-Thr-Leu-NHCH₃
[Kiindulási anyagok: az E(2) és F(4) példa termékei]
Rf=0,31

8. H-Gly-Gly-Phe-Met-Thr-Ser-Glu-Lys-Ser-Gln-Thr-Pro-Leu-Val-Thr-Leu-OCH₃
[Kiindulási anyagok: az E(2) és F(5) példa termékei]
Rf=0,37

9. H-Gly-Gly-Phe-Met-Thr-Ser-Glu-Lys-Ser-Gln-Thr-Pro-Leu-Val-Thr-Leu-Phe-Lys-OH
[Kiindulási anyagok: az E(2) és F(6) példa termékei]
Rf=0,24

10. H-Gly-Gly-Phe-Met-Thr-Ser-Glu-Lys-Ser-Gln-Thr-Pro-Leu-Val-Thr-Leu-Phe-OH
[Kiindulási anyagok: az E(2) és F(7) példa termékei]
Rf=0,30

11. H-Gly-Gly-Phe-Met-Thr-Ser-Glu-Lys-Ser-Gln-Thr-Pro-Leu-Val-Thr-Leu-Phe-D-Lys-OH
[Kiindulási anyagok: az E(2) és F(10) példa termékei]
Rf=0,29

12. H-Gly-Gly-Phe-Met-Thr-Ser-Glu-Lys-Ser-Gln-Thr-Pro-Leu-Val-Thr-Leu-OH
[Kiindulási anyagok: az E(2) és F(9) példa termékei]
Rf=0,28

13. H-Gly-Gly-Phe-Met-Thr-Ser-Glu-Lys-Ser-Gln-Thr-Pro-Leu-Val-Thr-MeLeu-OH
[Kiindulási anyagok: az E(2) és F(8) példa termékei]
Rf=0,32

Az Rf-értékeket SiO₂ lapon futtatószerként Bu:Py:Ac:Wa (2:0,75:0,25:1) oldószerkeletet alkalmazva határoztuk meg.

V. példa

Sarokba ugrálást elkerülő magatartás

Patkányokat úgy gyakoroltattunk, hogy a feltételes inger (CS) megjelenése után (a ketrec tetején egy fényjel) 5 sec-on belül a sarokba ugorjanak. Azok a patkányok, amelyek 5 sec alatt nem ugrottak, mindaddig amíg nem reagáltak, de max. 30 sec-ig, a lábukba rendszertelen áramütést kaptak (0,2 mA), feltételhez nem kötött ingerként (UCS). Naponta 10 vizsgálatot végeztünk, az egy-egy vizsgálat között átlagosan eltelt idő 60 sec volt. Az egyes vizsgálatok között eltelt idő találmra 40, 60, illetve 80 perc volt. A patkányokat 4 napig gyakoroltattuk. Az extinciót a beszerzést követő napon kezdtük vizsgálni. A beszerzést követő első vizsgálati időszakban, amennyiben a feltételes ingert 5 sec-on belül nem követte reakció, az állatok UCS-t nem kaptak. Minden egyes állattal 10 vizsgálatot végeztünk. A további vizsgálatokat azokkal az állatokkal végeztük, amelyek 8 vagy több vizsgálat során ugrottak. Ezek az állatok közvetlenül az első vizsgálati időszak után s. c. 0,5 ml/patkány peptidet vagy placebo (konyhasóoldat) kaptak. Az extenciót 2 vagy 4 órával később vizsgáltuk.

Az eredményeket az alábbi táblázatban ismertetjük.

Eredmények

Kezelés	Extinkció (10 vizsgálat)		
	0	2	4 ¹
γ-Endorfin (összehasonlító)			
0,03 µg ³	8,8 ± 0,3 ²	6,7 ± 0,8	4,0 ± 0,7
0,1 µg	9,3 ± 0,3	5,5 ± 0,6	2,3 ± 0,4
0,3 µg	9,0 ± 0,4	4,6 ± 0,3	0,8 ± 0,4
Konyhasóoldat 0,5 ml	9,4 ± 0,4	8,0 ± 0,5	7,8 ± 0,7
α-Endorfin (összehasonlító)			
0,3 µg	9,0 ± 0,4	8,3 ± 0,3	7,8 ± 0,3
Haloperidol (összehasonlító)			
0,03 µg	9,3 ± 0,3	6,5 ± 0,7	4,0 ± 0,6
0,1 µg	9,5 ± 0,4	3,0 ± 0,0	0,5 ± 0,4
Konyhasóoldat 0,5 ml	9,8 ± 0,3	9,0 ± 0,4	7,8 ± 0,5
[Des-Tyr ¹]-endorfin			
0,01 µg	9,0 ± 0,3	6,2 ± 0,4	4,2 ± 0,7
0,1 µg	8,8 ± 0,4	2,8 ± 1,0	1,2 ± 0,5
0,3 µg	9,3 ± 0,5	3,0 ± 0,7	1,3 ± 0,5
Konyhasóoldat 0,5 ml	9,7 ± 0,4	9,7 ± 0,4	8,7 ± 0,6

Kezelés	Extinkció (10 vizsgálat)		
	0	2	4 ¹
5 [Des-Tyr ¹ ,Met(O) ⁵ -γ-endorfin]			
0,003 µg	9,0 ± 0,3	7,8 ± 0,8	4,4 ± 0,9
0,01 µg	9,4 ± 0,3	4,8 ± 0,7	1,4 ± 0,7

10 ¹ órával az injekció után

² középérték ± szórás

³ s. c. dózis/patkány

15

Szabadalmi igénypontok

1. Eljárás az (I) általános képletű peptidok — ahol e képletben

A₁ jelentése Gly-, L-Ala- vagy L-Leu-csoport,

20 A₂ jelentése Gly- vagy L-Ala-csoport,

X jelentése L-Met-, L-Met(O)- vagy L-Met(O₂)-csoport,

Y jelentése L-Lys- vagy D-Lys-csoport,

R₁ és R₂ jelentése egymástól függetlenül L-Glu- vagy L-Gln-csoport,

25 B jelentése L-Leu-OH, D-Leu-OH, L-MeLeu-OH, L-Leucinol, L-Leu-L-Phe-OH, L-Leu-L-Phe-L-Lys-OH vagy L-Leu-L-Phe-D-Lys-OH-

és azok 1—4 szénatomszámú alkanollal képzett alkilészterei, amidjai, 1—4 szénatomszámú N-alkil-amidjai előállítására, azzal jellemezve, hogy

30 a) valamely szabad vagy aktivált karboxil-csoportot tartalmazó, az (I) általános képlet körébe eső, aminosavat vagy peptidet — amely védőcsoportokat is tartalmazhat — valamely, az (I) általános képlet körébe eső, szabad vagy aktivált aminocsoportot tartalmazó aminosavval vagy peptiddel vagy aminnal — amely védőcsoportot is tartalmazhat — kondenzálunk, a kapott peptidből a védőcsoportokat adott esetben eltávolítjuk, vagy

35 b) valamely X helyén L-Met-csoportot tartalmazó (I) általános képletű vegyületet oxidálunk,

kivánt esetben az a) és b) eljárás-változatokkal kapott (I) általános képletű peptidet ismert módon 1—4 szénatomszámú alkilészterre, amiddá vagy 1—4 szénatomszámú N-alkil-amiddá alakítjuk. (Az elsőbbség napja: 1979. 03. 02.)

45 2. Eljárás az (I) általános képletű peptidok — ahol e képletben

A₁ jelentése Gly-, L-Ala- vagy L-Leu-csoport,

A₂ jelentése Gly-csoport,

X jelentése L-Met-, L-Met(O)- vagy L-Met(O₂)-csoport,

50 Y jelentése L-Lys- vagy D-Lys-csoport,

R₁ és R₂ jelentése egymástól függetlenül L-Glu- vagy L-Gln-csoport,

B jelentése L-Leu-OH, D-Leu-OH, L-Leucinol, L-Leu-L-Phe-OH, L-Leu-L-Phe-L-Lys-OH vagy L-Leu-L-Phe-D-Lys-OH —

55 és azok 1—4 szénatomszámú alkanollal képzett alkilészterei, amidjai, 1—4 szénatomszámú N-alkil-amidjai előállítására, azzal jellemezve, hogy

60 a) valamely szabad vagy aktivált karboxil-csoportot tartalmazó, az (I) általános képlet körébe eső, aminosavat vagy peptidet — amely védőcsoportokat is tartalmazhat — valamely, amino-csoportot tartalmazó aminosavval vagy peptiddel vagy aminnal — amely védőcsoportot is tartalmazhat — kondenzálunk, a kapott peptidekből a védőcsoportokat adott esetben eltávolítjuk, vagy

65

b) valamely X helyén L-Met-csoportot tartalmazó (I) általános képletű vegyületet oxidálunk,

kívánt esetben az a) és b) eljárás-változatokkal kapott (I) általános képletű peptidet ismert módon 1—4 szénatomszámú alkilészterré, amiddá vagy 1—4 szénatomszámú N-alkil-amiddá alakítjuk. (Az elsőbbség napja: 1978. 03. 02.)

3. Az 1. igénypont szerinti eljárás fogantatosítási módja L-Gly-L-Gly-L-Phe-L-Met-L-Thr-L-Ser-L-Glu-L-Lys-L-Ser-L-Gln-L-Thr-L-Pro-L-Leu-L-Val-L-Thr-L-Leu-OH és 1—4 szénatomszámú alkilészterei, amidjai, 1—4 szénatomszámú N-alkil-amidjai előállítására, azzal jellemezve, hogy

Boc-L-Gly-L-Gly-L-Phe-L-Met-L-Thr-L-Ser-L-Glu-(OtBu)-L-Lys-(Boc)-OH-t N-hidroxi-benztriazol jelenlétében H-L-Ser-L-Gln-L-Thr-L-Pro-L-Leu-L-Val-L-Thr-L-Leu-OtBu-val kondenzálunk, majd a védőcsoportokat eltávolítjuk, kívánt esetben a kapott peptidet funkcionális származékává alakítjuk. (Az elsőbbség napja: 1979. 03. 02.)

4. A 2. igénypont szerinti eljárás kivitelezési módja L-Gly-

-L-Gly-L-Phe-L-Met-L-Thr-L-Ser-L-Glu-L-Lys-L-Ser-L-Gln-L-Thr-L-Pro-L-Leu-L-Val-L-Thr-L-Leu-OH és 1—4 szénatomszámú alkilészterei, amidjai, 1—4 szénatomszámú N-alkil-amidjai előállítására, azzal jellemezve, hogy Boc-L-Gly-L-Phe-L-Met-L-Thr-L-Ser-L-Glu (OtBu)-L-Lys-(Boc)-OH-t N-hidroxi-benztriazol jelenlétében H-L-Ser-L-Gly-L-Thr-L-Pro-L-Leu-L-Val-L-Thr-L-Leu-OtBu-val kondenzálunk, majd a védőcsoportokat eltávolítjuk, kívánt esetben a kapott peptidet funkcionális származékává alakítjuk. (Elsőbbség napja: 1978. 03. 02.)

5. Eljárás valamely (I) általános képletű peptidet — ahol a képletben a szubsztituensek jelentése az 1. és 2. igénypont szerinti — tartalmazó gyógyászati készítmény előállítására, azzal jellemezve, hogy az 1. és 2. igénypont szerinti eljárással kapott peptidet vagy származékát szokásos hordozó-, hígító- és adott esetben egyéb segédanyagokkal összekeverjük, és gyógyászati készítménnyé alakítjuk. (Elsőbbség napja: 1979. 03. 02.)

1 rajz

$A_1-A_2-L-Phe-X-L-Thr-L-Ser-R_1-Y-L-Ser-R_2-L-Thr-L-Pro-$
 $-L-Leu-L-Val-L-Thr-B$

/I/

181402

Nemzetközi osztályozás:
C 07 C 103/52