

(19) DANMARK



(12) FREMLÆGGESESSKRIFT (11) 148903 B



DIREKTORATET FOR
PATENT- OG VAREMÆRKEVÆSENEN

(21) Patentansøgning nr.: 3169/81

(22) Indleveringsdag: 15 jul 1981

(41) Alm. tilgængelig: 18 jan 1982

(44) Fremlagt: 11 nov 1985

(86) International ansøgning nr.: -

(30) Prioritet: 17 jul 1980 CH 5483/80 26 nov 1980 CH 8752/80

(51) Int.Cl.⁴: C 07 K 5/10
// C 07 K 7/12

(71) Ansøger: *SANDOZ A.G.; Basel, CH.

(72) Opfinder: Francois *Cardinaux; CH, Rene *Huguenin; CH, Janos *Pless; CH.

(74) Fuldmægtig: Plougmann & Vingtoft Patentbureau

(54) Analogifremgangsmåde til fremstilling af enkephalin-analoge pentapeptidderivater eller syreadditionssalte deraf

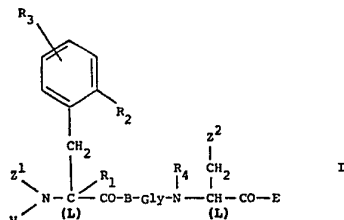
(57) Sammendrag:

R₂ sammen betegner -CH₂-CH₂-, og R₃ betegner hydroxy eller C₁₋₄-alkoxy i m- eller p-stilling, B betegner resten af en D-α-aminosyre, R₄ betegner hydrogen eller C₁₋₄-alkyl, Z² betegner eventuelt substitueret phenyl, og E betegner en β-aminoalkoholrest med det forbehold, at når Z¹ betegner hydrogen eller methyl, betegner R₄ C₃₋₄-alkyl, eller estere eller syreadditionssalte eller complexer af sådanne peptider eller estere fremstilles ved flere forskellige fremgangsmåder.

Forbindelserne med formel I har værdifuld farmakologisk, især luteiniseringshormonsekretionsinhiberende aktivitet og CNS-depressant-virkning.

3169-81

Pentapeptider med formel I



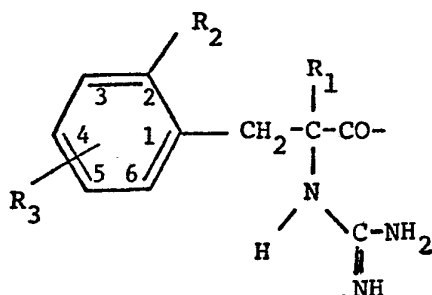
hvor Z¹ betegner hydrogen, methyl eller amidino, R₁ betegner hydrogen eller C₁₋₄-alkyl, og R₂ betegner hydrogen, eller R₁ og

DK 148903 B

Den foreliggende opfindelse angår en analogifremgangsmåde til fremstilling af hidtil ukendte, enkephalin-analoge pentapeptidderivater med den almene formel I



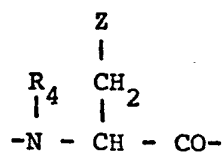
5 hvor A betegner en gruppe med den almene formel



10 hvor R_1 betegner hydrogen eller C_{1-4} -alkyl, og R_2 betegner hydrogen, eller R_1 og R_2 sammen betegner en ethylenbro, og R_3 betegner hydroxy eller C_{1-4} -alkoxy i 3-, 4- eller 5-stillingen;

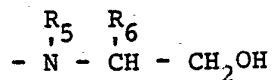
B betegner resten af D-isomeren af en naturligt forekommende ikke-aromatisk α -aminosyre;

D betegner en gruppe med den almene formel

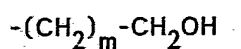


15 hvor R_4 betegner hydrogen eller C_{1-4} -alkyl, og Z betegner phenyl eller phenyl, der er mono- eller disubstitueret med halogen, nitro, C_{1-4} -alkyl eller C_{1-4} -alkoxy,
og

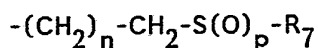
E betegner en gruppe med den almene formel



5 hvor R_5 er hydrogen eller C_{1-4} -alkyl, og R_6 er hydrogen, den substituent, der er bundet til α -carbonatomet i en naturligt forekommende α -aminosyre, en gruppe med den almene formel



hvor m er et helt tal fra 1 til 6,
eller en gruppe med den almene formel



10 hvor R_7 er C_{1-5} -alkyl, og n og p uafhængigt af hinanden er 0, 1 eller 2 med det forbehold, at R_7 er andet end methyl, når n er 1, og p er 0,

15 hvorhos grupperne A og D har L-konfiguration, og gruppen E har D- eller L-konfiguration, eller fysiologisk hydrolyserbare, fysiologisk tolerable estere deraf med C_{2-5} -aliphatiske mono- eller dicarboxylsyrer eller benzoesyre eller fysiologisk tolerable syreadditionssalte af sådanne pentapeptider og estere.

20 Ved beskrivelsen af de her omhandlede polypeptider som pentapeptider skal det bemærkes, at aminoalkoholgruppen E regnes som et aminosyrederivat.

25 Forbindelser, der svarer til forbindelserne med den almene formel I uden en amidinogruppe i gruppen A, er kendte og hører til den klasse af forbindelser, der beskrives i tysk offentliggørelsesskrift nr. 2702711 og den ækvivalente britiske patentbeskrivelse nr. 1.578.873. Alle de her omhandlede forbindelser er hidtil ukendte og udviser overraskende LH-sekretionsinhiberende virkning i modsætning til de kendte enkephalinpentapeptider.

I pentapeptiderne med formlen I foretrækkes følgende betydninger eller kombinationer deraf:

- 1) R_1 og R_2 betegner begge hydrogen;
 - 2) R_3 betegner hydroxy. Mest foretrukket sidder R_3 i 4-stilling og
5 betegner især 4-hydroxy;
 - 3) B betegner -(D)-Ala-;
 - 4) R_4 betegner C_{1-4} -alkyl, f.eks. methyl. Når R_4 betegner C_{3-4} -
alkyl er dette fortrinsvis n-propyl, isopropyl eller n-butyl,
især n-propyl;
 - 10 5) Z betegner phenyl eller phenyl, der er mono- eller disubstitue-
ret med én eller to substituenten udvalgt blandt gruppen bestå-
ende af fluor, chlor og nitro, især fluor. Når Z betegner substi-
tueret phenyl, er dette fortrinsvis monosubstitueret phenyl,
især m- eller p-substitueret phenyl. Mest foretrukket betegner
15 Z phenyl eller m- eller p-fluorphenyl, især phenyl eller p-fluor-
phenyl;
 - 6.1) R_5 betegner fortrinsvis hydrogen;
 - 6.2) som substituenten knyttet til α -carbonatomet i en naturlig
 α -amino syre betegner R_6 fortrinsvis en gruppe med formlen
20 $CH_3-S-CH_2-CH_2-$, $HO-CH_2-$, $CH_3-CH(OH)-$ eller
 $H_2NCO-CH_2-CH_2-$;
 - 6.3) når R_6 har en anden betydning end angivet i 6.2), betegner
det fortrinsvis en gruppe med formlen $CH_3-SO-CH_2-CH_2-$ eller
 $CH_3-SO_2-CH_2-CH_2-$;
 - 25 6.4) R_6 betegner mest foretrukket gruppen med formlen
 $CH_3-SO-CH_2-CH_2-$;
 - 6.5) resten E, herunder de foretrukne rester E angivet under 6.1) -
6.4) ovenfor, har fortrinsvis L-konfiguration. Mest foretrukket
betegner E -Met(O)-ol, dvs. resten af L-methioninolsulfoxid.
- 30 Hydroxygrupper i pentapeptiderne med formlen I, især hydroxygrup-
pen i den endestillede β -aminoalkoholrest E, kan være esterificeret
med C_{2-5} -aliphatiske mono- eller dicarboxylsyrer eller benzoesyre til

dannelse af tilsvarende fysiologisk hydrolyserbare, fysiologisk tolerable estere, dvs. estere, der hydrolyseres til dannelse af en fysiologisk tolerabel syre.

- 5 Egnede esterformer blandt C_{2-5} -aliphatiske mono- eller dicarboxylsyrer omfatter f.eks. acetaterne.

Pentapeptiderne med formlen I og deres estere kan foreligge i syreadditionssaltform. Syreadditionssalte kan f.eks. dannes med organiske syrer, polymere syrer og uorganiske syrer. Sådanne syreadditionssaltformer omfatter f.eks. hydrochloriderne og acetaterne.

- 10 En klasse af de her omhandlede forbindelser omfatter pentapeptiderne med formlen I, hvor B betegner -D-Ala-, Z betegner phenyl eller phenyl, der er mono- eller disubstitueret med halogen, nitro, C_{1-4} -alkyl eller C_{1-4} -alkoxy, og R_1 , R_2 , R_3 , R_4 og E har den i sammenhæng med formlen I angivne betydning samt syreadditionssaltene
- 15 deraf.

Analogifremgangsmåden ifølge opfindelsen er ejendommelig ved, at

- a) to eventuelt beskyttede peptidenheder, som hver indeholder mindst én aminosyre-, aminoalkohol- eller aminoalkoholesterrest, ved hjælp af en peptidbinding kondenseres i den til opnåelse af
- 20 det ønskede peptid med den almene formel I, eller en ester deraf med en C_{2-5} -aliphatisk mono- eller dicarboxylsyre eller med benzoesyre, nødvendige rækkefølge, hvorefter om ønsket en således opnået eventuelt beskyttet forbindelse med den almene formel I, der indeholder mindst én fri hydroxygruppe, esterificeres med en C_{2-5} -aliphatisk mono- eller dicarboxylsyre eller med
- 25 benzoesyre, eller
- b) en eventuelt beskyttet forbindelse med den almene formel I, hvor E er methioninol, eller en ester deraf med en C_{2-5} -aliphatisk mono- eller dicarboxylsyre eller med benzoesyre, oxideres til en
- 30 tilsvarende forbindelse eller ester, hvor E er methioninol-sulfoxid eller -sulfon, eller

c) en eventuelt beskyttet forbindelse med den almene formel I, hvor den N-terminale aminogruppe ikke bærer en amidinogruppe, eller en ester deraf med en C₂₋₅-aliphatisk mono- eller dicarboxylsyre eller med benzoesyre, omsættes med et reagens, der er i stand til at indføre en amidinogruppe på N-terminalen af forbindelsen eller esteren,

og eventuelle beskyttelsesgrupper fjernes, og forbindelserne med den almene formel I eller estere deraf med C₂₋₅-aliphatiske mono- eller dicarboxylsyre eller med benzoesyre udvindes i fri form eller i syreadditionssaltform.

De ovenstående fremgangsmåder kan f.eks. udføres i analogi med de fremgangsmåder, der beskrives i nedenstående eksempler.

For så vidt som fremstillingen af udgangsmaterialerne ikke nøje beskrives, er forbindelserne kendte eller kan fremstilles og renses i overensstemmelse med kendte fremgangsmåder.

Et egnet reagens til udførelse af fremgangsmådetrin c) er f.eks. 1-amidino-3,5-dimethylpyrazol, hensigtsmæssigt anvendt i saltform, f.eks. i form af nitraten. Omsætningen udføres hensigtsmæssigt i et opløsningsmiddel eller fortyndingsmiddel, der er inert over for reaktionsdeltagerne under reaktionsbetingelserne, f.eks. dimethylformamid.

De her omhandlede peptapeptider og estere samt de fysiologisk tolerable syreadditionssalte deraf udviser værdifulde farmakologiske egenskaber, som det indiceres ved dyreforsøg. De udviser især en luteiniseringshormon-LH-sekretionshæmning og CNS-depressantvirkning, som det f.eks. indiceres ved nedenstående testmetoder.

1. LH-Sekretionsinhiberende aktivitet; ovulationsinhibering i rotten.

Voksne hunrotter, som hver vejer 200-250 g, og som har en påvist regulær 4-dages oestruscyklus holdes under standardbetingelser (14 timers lys (04.00 -18.00), 24°C og 55-60%'s relativ luftfugtighed) og tillades adgang ad libitum til foder og vand. Testforbindelsen admini-

streres subcutant under præ-oestrusfasen, idet doserne administreres én gang kl. 13.00 og igen kl. 16.00. 20 timer efter den første dosis dræbes dyrene, æggelederne åbnes, og det totale antal æg i begge ledere tælles med et dissektionsmikroskop. Vurderingen udføres efter 5 et "alt-eller-intet"-princip, idet ovulationen kun anses for at være inhiberet, når der ikke findes nogen æg. Der anvendes fem rotter pr. dosis. Ved denne test har forbindelsen ifølge eksempel 1 en ED₅₀-værdi på 0,03 mg.

2. CNS-depressantvirkning:

- 10 Observation af ændringer i den spontane opførsel hos mus og rotter (P.O.T.-test) i overensstemmelse med de af J.H. Nodide et al. i "Animal and Clinical Pharmacological Techniques in Drug Evaluation", Chicago, 1964 og i "Psychopharmacologia", 13, 222 - 257 (Berlin, 1968) beskrevne principper.
- 15 Pentapeptiderne, esterne og saltene er derfor indiceret til anvendelse i) ved behandlingen af individer med sygdomme med en ætiologi forbundet med eller moduleret af LH-sekretion eller med en ætiologi, i hvilken den fysiologiske regulering af LH-sekretionen er impliceret, f.eks. ved behandlingen af prostatahypertrofi eller ved behandlingen 20 af menopausesyndrom, især post-menopausale hedeture, f.eks. i overensstemmelse med de af Tataryn et al. ("Thermo-regulatory mechanisms and their Therapeutic Implications, 4th. Int. Symp. on the Pharmacology and Thermoregulation, Oxford, 1979" published - Karger, Basel 1980, side 202-207) og Casper et al. ("Science", 205, 25 side 823-825 (1979)), beskrevne undersøgelser og ii) som psykofarmaceutika, f.eks. ved behandling af psykotiske tilstande. Ved begge 25 anvendelser i) og ii) er en indiceret dosis i området fra 0,1 til 10 mg pentapeptid eller ester, hensigtsmæssigt administreret i delte doser 2-4 gange daglig i enhedsdosisform eller i retardform. Egnede enhedsdosisformer, f.eks. til oral administration, indeholder således fra 30 0,025 til 5,0 mg af et peptapeptid eller en ester som beskrevet ovenfor eller af en ækvivalent mængde af et farmaceutisk tolerabelt salt eller complex deraf sammen med et(en) fast eller flydende farmaceutisk fortyndingsmiddel eller bærer derfor. Sådanne præparater kan 35 f.eks. være i form af en opløsning eller en tablet.

I beskrivelsen og kravene samt i nedenstående eksempler anvendes følgende forkortelser:

	Met-ol	= (L)-methioninolresten med formlen $\text{CH}_3\text{SCH}_2\text{CH}_2\text{CH}(\text{CH}_2\text{OH})\text{NH}-$
5	Met(O)-ol	= (L)-methioninolsulfoxidresten med formlen $\text{CH}_3-\text{S}(\text{O})-\text{CH}_2\text{CH}_2\text{CH}(\text{CH}_2\text{OH})\text{NH}-$
	MeTyr	= -N-methyl-Tyr-
	MeTyr(Bu ^t)	= -N-methyl-O-tert.butyl-Tyr-
	MePhe	= -N-methyl-Phe-
10	(N-propyl)Phe	= -N-n-propyl-Phe-
	(N-i.butyl)Phe	= -N-isobutyl-Phe-
	(N-butyl)Phe	= -N-n-butyl-Phe-
	(N-propyl)Phe(p-F)	= -N-n-propyl-p-fluor-Phe-
	DMF	= dimethylformamid
15	Boc	= tert.butyloxycarbonyl
	Z	= benzyloxycarbonyl.

I overensstemmelse med standardnomenklatur forstås det, at alle aminosyrerester indiceret ved trebogstavforkortelsen har L-konfiguration, medmindre andet er angivet.

- 20 Fremgangsmåden ifølge den foreliggende opfindelse belyses nærmere ved nedenstående eksempler:

EKSEMPEL 1

N^α -Amidino-Tyr-(D)-Ala-Gly-MePhe-Met(O)-ol-acetat.

- 25 1 g H-Tyr-(D)-Ala-Gly-MePhe-Met(O)-ol-hydrochlorid opløst i 10 ml dimethylformamid omsættes med 1,9 g 1-amidino-3,5-dimethylpyrazolnitrat i 0,5 ml N-methylmorpholin og 0,8 ml triethylamin. Efter 5 dage indstilles reaktionsblandingen til pH-værdi 5-6 ved tilsætning af 1N eddikesyre og inddampes til tørhed i vakuum. Remanensen opløses i vand, og opløsningen anbringes på en chromatografikolonne, som
30 indeholder 50 g af en svagt sur ionbytter. Efter vask med 0,1% s

- eddikesyre elueres produktet med en eddikesyregradient på fra 0,1% til 95%. Fraktioner, som indeholder den i overskriften nævnte forbindelse, samles og lyofiliseres, hvorved fås den i overskriften nævnte forbindelse i form af et lyst amorf pulver, der sønderdeles ved
- 5 140°C: $[\alpha]_D^{20} = -50,8^\circ$ (c = 0,7 i dimethylformamid).

EKSEMPEL 2

N^α -Amidino-Tyr-(D)-Ala-Gly-MePhe(p-F)-Met(O)-ol-hydrochlorid.

- Den i overskriften nævnte forbindelse fremstilles i analogi med eksempel 1 under anvendelse af H-Tyr-(D)-Ala-Gly-MePhe(p-F)-Met-
- 10 (O)-ol-hydrochlorid som udgangsmaterialet. $[\alpha]_D^{20} = -29,3^\circ$ (c = 1 i 95%'s eddikesyre).

EKSEMPEL 3

N^α -Amidino-Tyr-(D)-Ala-Gly-(N-propyl)Phe-Met-ol-hydrochlorid

- 1,3 ml 8N HCl i dioxan og derefter 0,35 ml tert.butylnitrit sættes til
- 15 en opløsning af 1,04 g N^α -amidino-Tyr-(D)-Ala-NH-NH₂-hydrochlorid i 20 ml dimethylformamid ved en temperatur på -18°C. Efter henstand i 10 minutter ved -18°C neutraliseres reaktionsblandingen med 2,3 ml N-ethyl-diisopropylamin og forenes med en i forvejen afkølet opløsning, som indeholder 1,5 g H-Gly-(N-propyl)Phe-Met-ol-hydrochlorid og
- 20 0,62 ml N-ethyl-diisopropylamin i 15 ml dimethylformamid. Efter omsætning i 1 time ved -15°C og i yderligere 3 timer ved -10°C afdampes opløsningsmidlet i vakuum, og reanensen optages i vand og vaskes adskillige gange med methylenchlorid. Den vandige fase inddampes til ca. 60 ml, adsorberes på en polystyrenadsorptionsharpiks, vaskes
- 25 med vand og elueres med vandigt methanol. Efter inddampning til tørhed og udfældning fra methanol/ethylether fås den i overskriften nævnte forbindelse, $[\alpha]_D^{20} = -41,0^\circ$ (c = 1 i dimethylformamid), sønderdeling ved 90°C.

Udgangsmaterialerne til anvendelse i ovenstående fremgangsmåde fremstilles som følger:

a) H-(N-Propyl)Phe-NH-NH-Z-hydrochlorid.

- 10,0 g NaBH_3CN og, efter yderligere 5 minutter, 3,2 ml propionaldehyd sættes til en opløsning af 14,0 g H-Phe-NH-NH-Z-hydrochlorid i 120 ml methanol ved 20°C . Efter omsætning i 2 1/2 time afdampes opløsningsmidlet i vakuum, der tilsættes 50 ml vand, og pH-værdien indstilles til stærk basisk reaktion (\approx pH-værdi 12) ved tilsætning af 10N natriumhydroxid, og produktet ekstraheres med methylenchlorid.
- 10 Ekstrakten vaskes grundigt med vand, tørres over natriumsulfat og behandles med et overskud af HCl i ethylether. Krystallisationen fuldendes ved tilsætning af yderligere ether, hvorved fås den i overskriften nævnte forbindelse, $[\alpha]_{\text{D}}^{20} = +42,5^\circ$ ($c = 1$ i dimethylformamid).

15 b) Boc-Gly-(N-Propyl)Phe-NH-NH-Z.

- 11,8 ml pivaloylchlorid sættes til en opløsning af 16,8 g Boc-Gly-OH i 100 ml tetrahydrofuran ved -20°C , og blandingen omrøres i 15 minutter ved -15°C . Derefter tilsættes en opløsning af 12,5 g H-(N-propyl)Phe-NH-NH-Z og 5,5 ml N-ethyl-diisopropylamin i 50 ml tetrahydrofuran, og reaktionsblandingen omrøres i 1 time ved -15°C , 1 time ved 0°C og i 20 timer ved 10°C . Efter behandling med 150 ml 1N kaliumhydrogencarbonat ekstraheres produktet med ethylacetat, vaskes med fortyndet kaliumhydrogencarbonat og kaliumhydrogensulfat og vand og tørres over natriumsulfat, og opløsningsmidlet afdampes i vakuum.
- 25 Den i overskriften nævnte forbindelse renses chromatografisk under anvendelse af silicagel og methylenchlorid/methanol som elueringsmiddel.

c) Boc-Gly-(N-Propyl)Phe-NH-NH₂.

- 21,1 g Boc-Gly-(N-propyl)Phe-NH-NH-Z i 100 ml methanol hydrogeneres i nærværelse af en palladiumkatalysator i 1 time ved 2-3 bar hydrogentryk. Opløsningsmidlet afdampes i vakuum, og den amorfe

remanens tørres over phosphorpentoxid og kaliumhydroxid i vakuum, hvorved fås den i overskriften nævnte forbindelse, $[\alpha]_D^{20} = -39,4^\circ$ ($c = 1$ i dimethylformamid).

d) Boc-Gly-(N-Propyl)Phe-Met-ol.

- 5 8,6 ml 8N HCl i dioxan og derefter 2,1 ml tert.butylnitrit sættes under omrøring til en opløsning af 7,8 g Boc-Gly-(N-propyl)Phe-NH-NH₂ i 50 ml dimethylformamid ved -18°C. Efter henstand i 10 minutter ved -18°C neutraliseres blandingen ved tilsætning af 12,0 ml N-ethyl-diisopropylamin og forenes med en i forvejen afkølet opløsning
- 10 af 5,4 g methioninol [CH₃SCH₂CH₂CH(NH₂)CH₂OH] i 30 ml dimethylformamid. Efter omsætning i 3 timer ved -10°C fortyndes reaktionsblandingen med ethylacetat, vaskes med fortyndet kaliumhydrogencarbonat og kaliumhydrogensulfat og vand og tørres over natriumsulfat. Opløsningsmidlet afdampes i vakuum, og produktet renses chromatografisk under anvendelse af silicagel og methylenchlorid/methanol som
- 15 elueringsmiddel, hvorved fås den i overskriften nævnte forbindelse.

e) H-Gly-(N-Propyl)Phe-Met-ol-hydrochlorid.

- En opløsning af 9,9 g Boc-Gly-(N-propyl)Phe-Met-ol i 20 ml ethylether behandles med 100 ml 5N HCl i ethylether ved 0°C. Efter yderligere 1 time ved 0°C afdampes opløsningsmidlet i vakuum, og re-
- 20 manensen omkrystalliseres af ethylacetat/methanol/ethylether, hvorved fås den i overskriften nævnte forbindelse, $[\alpha]_D^{20} = -72,5^\circ$ ($c = 1$ i dimethylformamid). Produktet sønderdeles ved 60°C.

f) Boc-Tyr-(D)-Ala-NH-NH-Z.

- 25 6,6 ml isobutylchlorformiat sættes til en opløsning af 14,1 g Boc-Tyr-OH og 5,6 ml N-methylmorpholin i 100 ml tetrahydrofuran ved -20°C.

- Efter yderligere 5 minutter ved -20°C tilsættes en opløsning indeholdende 13,7 g H-(D)-Ala-NH-NH-Z-hydrochlorid og 5,0 ml N-methylmorpholin i 50 ml dimethylformamid. Efter omsætning i 2 1/2 time
- 30

ved -15°C tilsættes 100 ml 1N kaliumhydrogencarbonat, og blandingen fortyndes med ethylacetat, vaskes med fortyndet kaliumhydrogencarbonat og kaliumhydrogensulfat og vand og tørres over natriumsulfat. Den i overskriften nævnte forbindelse udvindes ved afdampning af opløsningsmidlet i vakuum og omkrystallisation af remanensen af ethylacetat/hexan/ethylether.

g) H-Tyr-(D)-Ala-NH-NH-Z-hydrochlorid.

100 ml 5N HCl i ethylether sættes til en opløsning af 25,0 g Boc-Tyr-(D)-Ala-NH-NH-Z i 50 ml ethylacetat ved 0°C . Krystallisationen fuldendes efter 1 1/2 time ved tilsætning af yderligere ethylether, og den i overskriften nævnte forbindelse udvindes ved filtrering, $[\alpha]_{\text{D}}^{20} = +32,8^{\circ}$ ($c = 1$ i dimethylformamid), sønderdeling ved 200°C .

h) N^{α} -Amidino-Tyr-(D)-Ala-NH-NH-Z-hydrochlorid.

15 12,1 g 1-amidino-3,5-dimethylpyrazol-nitrat sættes til en opløsning af 8,8 g H-Tyr-(D)-Ala-NH-NH-Z-hydrochlorid og 2,8 ml triethylamin i 50 ml dimethylformamid. Blandingen omrøres i 4 dage ved $50-60^{\circ}\text{C}$, og der tilsættes 3,0 ml triethylamin. Opløsningsmidlet fjernes ved afdampning i vakuum, og remanensen optages i vand og ekstraheres adskillige gange med methylenchlorid. Den vandige fase inddampes derefter til ca. 400 ml og adsorberes på en polystyrenadsorptionsharpiks, og den i overskriften nævnte forbindelse elueres som nitratet under anvendelse af methanol/vand som elueringsmiddel. Eluatet inddampes til tørhed, tørres atter i vakuum, opløses i ethylacetat i nærværelse af en mindre mængde ethanol, og den i overskriften nævnte forbindelse udvindes som sit hydrochlorid ved tilsætning af ethylether og overskud af 5N HCl i ethylacetat. $[\alpha]_{\text{D}}^{20} = +23,3^{\circ}$ ($c = 1$ i dimethylformamid), sønderdeling ved 50°C .

i) N^{α} -Amidino-Tyr-(D)-Ala-NH-NH₂-hydrochlorid.

30 1,6 g N^{α} -amidino-Tyr-(D)-Ala-NH-NH-Z-hydrochlorid i 20 ml methanol hydrogeneres i nærværelse af en palladiumkatalysator ved 2-3 bar

hydrogentryk. Efter 30 minutter frafiltreres katalysatoren, opløsningsmidlet afdampes i vakuum, og remanensen omkrystalliseres af methanol/ethylether, hvorefter fås den i overskriften nævnte forbindelse, $[\alpha]_D^{20} = +13,2^\circ$ ($c = 1$ i dimethylformamid), sønderdeling ved

5 80°C .

EKSEMPEL 4

N^α -Amidino-Tyr-(D)-Ala-Gly-(N-propyl)Phe-Met(O)-ol-hydrochlorid

1,05 g N^α -amidino-Tyr-(D)-Ala-Gly-(N-propyl)Phe-Met-ol-hydrochlorid (jfr. eksempel 3) opløses i 10 ml eddikesyre og oxideres ved 20°C

10 under anvendelse af 0,15 ml 11M hydrogenperoxid. Efter 10 minutter udfældes produktet med ethylether. Det rå produkt renses ved modstrømsfordeling i en blanding af chloroform:methanol:vand (65:35:10 (v/v)). Den i overskriften nævnte forbindelse fås efter omkrystallisation af methanol/ethylether, $[\alpha]_D^{20} = -33,6^\circ$ ($c = 1$ i 95%'s eddikesyre).

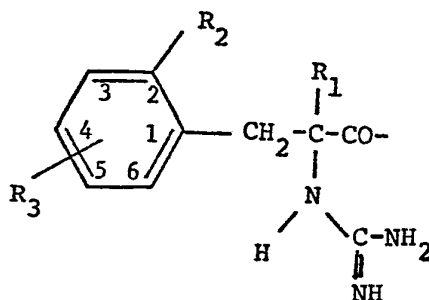
15 re).

PATENTKRAV

1. Analogifremgangsmåde til fremstilling af enkephalin-analoge pentapeptidderivater med den almene formel I



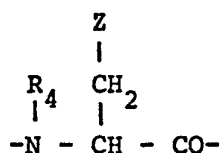
20 hvor A betegner en gruppe med den almene formel



- 5 hvor R_1 betegner hydrogen eller C_{1-4} -alkyl, og R_2 betegner hydrogen, eller
 R_1 og R_2 sammen betegner en ethylenbro, og
 R_3 betegner hydroxy eller C_{1-4} -alkoxy i 3-, 4- eller 5-stillingen;

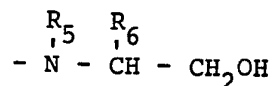
B betegner resten af D-isomeren af en naturligt forekommende ikke-aromatisk α -aminosyre;

D betegner en gruppe med den almene formel

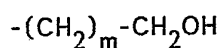


- 10 hvor R_4 betegner hydrogen eller C_{1-4} -alkyl, og
 Z betegner phenyl eller phenyl, der er mono- eller disubstitueret med halogen, nitro, C_{1-4} -alkyl eller C_{1-4} -alkoxy,
og

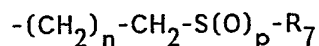
E betegner en gruppe med den almene formel



- 15 hvor R_5 er hydrogen eller C_{1-4} -alkyl, og
 R_6 er hydrogen, den substituent, der er bundet til α -carbonatomet i en naturligt forekommende α -aminosyre, en gruppe med den almene formel



- 20 hvor m er et helt tal fra 1 til 6,
eller en gruppe med den almene formel



hvor R_7 er C_{1-5} -alkyl, og n og p uafhængigt af hinanden er 0, 1 eller 2 med det forbehold, at R_7 er andet end methyl, når n er 1, og p er 0,

5 hvorhos grupperne A og D har L-konfiguration, og gruppen E har D- eller L-konfiguration, eller fysiologisk hydrolyserbare, fysiologisk tolerable estere deraf med C_{2-5} -aliphatiske mono- eller dicarboxylsyrer eller med benzoesyre eller fysiologisk tolerable syreadditionssalte af sådanne pentapeptider og estere,
k e n d e t e g n e t ved, at

- 10 a) to eventuelt beskyttede peptidenheder, som hver indeholder mindst én aminosyre-, aminoalkohol- eller aminoalkoholesterrest, ved hjælp af en peptidbinding kondenseres i den til opnåelse af det ønskede peptid med den almene formel I, eller en ester deraf med en C_{2-5} -aliphatisk mono- eller dicarboxylsyre eller med
15 benzoesyre, nødvendige rækkefølge, hvorefter om ønsket en således opnået eventuelt beskyttet forbindelse med den almene formel I, der indeholder mindst én fri hydroxygruppe, esterificeres med en C_{2-5} -aliphatisk mono- eller dicarboxylsyre eller med benzoesyre, eller
- 20 b) en eventuelt beskyttet forbindelse med den almene formel I, hvor E er methioninol, eller en ester deraf med en C_{2-5} -aliphatisk mono- eller dicarboxylsyre eller med benzoesyre, oxideres til en tilsvarende forbindelse eller ester, hvor E er methioninol-sulfoxid eller -sulfon, eller
- 25 c) en eventuelt beskyttet forbindelse med den almene formel I, hvor den N-terminale aminogruppe ikke bærer en amidinogruppe, eller en ester deraf med en C_{2-5} -aliphatisk mono- eller dicarboxylsyre eller med benzoesyre, omsættes med et reagens, der er i stand til at indføre en amidinogruppe på N-terminalen af forbindelsen eller
30 esteren,

og eventuelle beskyttelsesgrupper fjernes, og forbindelserne med den almene formel I eller estere deraf med C_{2-5} -aliphatiske mono- eller

dicarboxylsyrer eller med benzoesyre udvindes i fri form eller i syreadditionssaltform.

2. Fremgangsmåde ifølge krav 1,
k e n d e t e g n e t ved, at der fremstilles pentapeptidderivatet
5 N^α-amidino-Tyr-(D)Ala-Gly-MePhe-Met(O)ol.

Fremdragne publikationer:

DK ansøgninger nr. 1995/78, 5230/78.
Nature, bind 258 (1975), side 577-579.