

MAGYAR
NÉPKÖZTÁRSASÁG



ORSZÁGOS
TALÁLMÁNYI
HIVATAL

SZABADALMI LEÍRÁS

181843

Bejelentés napja: 1977. VII. 12. (AO-450)

Hollandiai elsőbbsége:
1976. VII. 12. (76.07684)

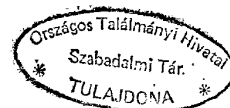
Közzététel napja: 1983. I. 28.

Megjelent: 1985. VI. 28.

Nemzetközi osztályozás:

NSZO₃:

C 07 C 103/52



Feltalálók:

Greven Hendrik Marie vegyész, Heesch, Dr. de Wied David vegyész, Bilthoven, Hollandia

Szabadalmas:

AKZO N. V., Arnhem, Hollandia

Eljárás pszichofarmakológiailag aktív ACTH-származékok előállítására

1

A találmány tárgya eljárás az új I általános képletű $[A-NH-CH(R_1)-CO-NH-CH(R_2)-CO-L-Q-D-Lys-Z]$ ACTH-származékok - ahol

- A jelentése H-(L)Met, H-(L)Met($\rightarrow O$), H-(L)Met($\rightarrow O_2$), dezamino-Met, dezamino-Met($\rightarrow O$), dezamino-Met($\rightarrow O_2$) vagy a $H_2N-B-CO$ -képletű csoport,
- B jelentése etilén vagy izobutilén-csoport,
- Q jelentése $-NH-CHR-CO-$ képletű aminosav maradék, - ahol
- R jelentése metil-, izopropil- vagy izobutil-p-hidroxifenilmetilcsoport, 3-indolilmetil- vagy benzil-csoport,
- R₁ és R₂ jelentése vagy metil-, izopropil-, vagy izobutil-csoport és
- Z jelentése N-(2-feniletül)-amino-, N-(β -indoliletül)-amino-csoport, N-(2-fenilizopropil)-amino-, N-(3-fenilpropil)-amino-, N-(p-hidroxifeniletül)-aminocsoport, L-Trp-OH, L-Phe-OH, vagy L-Phe-Gly-OH és 1-4 szénatomos alkilészterei és savaddíciós sói előállítására.

A találmány szerint előállított peptidok és peptid-származékok értékes pszichofarmakológiai tulajdonságokkal rendelkeznek. Különösen a feltételes menekülési reakció extinkcióját gátolják és ennek eredményeképpen különösen alkalmasak a vegyületek bizonyos szellemi rendellenességek kezelésére olyan ese-

2

tekben, amelyeknél az agyműködést kell serkenteni, például szenilitás vagy más öregkori fogyatékoság esetén.

Az Eur. J. Pharmacol. 2, 14 (1967)-ből ismeretes, hogy a természetes adrenokortikotrop hormonok bizonyos peptid szakaszai (ACTH) késleltetik a feltételes menekülési reakció extinkcióját. Ebben a vonatkozásban az ACTH 4-10 aminosavszekvenciáját tartalmazó peptid a legkisebb aktív peptid szakasz.

A fent említett pszichofarmakológiai tulajdonságokon kívül a 4-10 ACTH aminosav-szekvenciájú ACTH peptid kis MSH (melanofor stimuláló hormon) aktivitással is rendelkezik, ahogy ez ennél az ACTH fragmentumnál szokásos. Bár még nem teljesen ismeretes az MHS aktivitást mutató peptid alacsony dóziséval elérhető hatás, kutatást folytattunk olyan peptidek irányában, melyek legalább azonos pszichofarmakológiai hatásúak, de MSH aktivitásuk nincs vagy csak alacsony.

A 3 853 836 számú Amerikai Egyesült Államok-beli szabadalmi leírásban leírják, hogy a 4-10 aminosav szekvenciájú ACTH a pszichofarmakológiai aktivitás szempontjából nem lényeges és ez a hatás egy sokkal rövidebb peptidnek, mégpedig a 4-6 ACTH-nak tulajdonítható. Továbbá úgy tűnik, hogy a hatás csökkenése nélkül az N-terminális L-Met aminosavat D-Met, L- vagy D-Met($\rightarrow O$), L- vagy D-Met($\rightarrow O_2$), dezamino-Met($\rightarrow O$), dezamino-

181843

—Met($\rightarrow$ O₂) vagy H₂N—B(O)—C— képletű csoporttal helyettesíthetjük — ahol B jelentése elágazó vagy egyenes láncú 1–6 szénatomos alkilén-csoport.

A 3 856 770 számú Amerikai Egyesült Államok-beli szabadalmi leírásban azt is leírják, hogy ha az eredeti 4–10 ACTH peptidben a C-terminális —L—Trp—Gly—OH peptid-maradékot, az —L—Phe—OH, L—Phe—Gly—OH, fenilalkilamino- vagy (3-indolil)-alkilaminocsoportok egyikével pótoljuk, akkor a pszichofarmakológiai hatás fokozódik.

A 3 842 064 számú Amerikai Egyesült Államok-beli szabadalmi leírásban arról is beszámolunk, hogy a pszichofarmakológiai hatás akkor is jelentősen megnő, ha az eredeti 4–10 ACTH peptidben vagy a fent említett szabadalmi leírásokban leírt módosított peptidekben az L-arginint D-lizinnel helyettesítjük.

Az utóbbi szabadalmi leírásban az A—L—Glu—L—His—L—Phe—D—Lys—L—Phe—(Gly)—OH, II általános képletűnek megfelelő legtöbb aktív peptid le van írva — ahol A jelentése a fenti.

Ezek a peptidek mintegy 1000-szeres aktivitást mutatnak az eredeti 4–10 ACTH-hoz képest.

Meglepő módon azt találtuk, hogy a Glu és His aminosav-maradékok, melyeket eddig a hatás szempontjából fontosnak tartottak, a hatás csökkenése nélkül helyettesíthetők rövid szénláncú alifás aminosav-maradékokkal, mint amilyenek például az Ala, Leu, Val és Ile, melyeket sokkal egyszerűbben és olcsóbban alkalmazhatunk a peptid szintézisben, mint a Glu és His savmaradékokat.

Azt is kimutatták, hogy az eredeti 4–10 ACTH 7-es helyzetében levő L—Phe aminosav más balraforogató aminosavakkal, többek között a fent említett rövidszénláncú alifás aminosavakkal helyettesíthető.

A találmány tehát az A—NH—CHR₁—CO—NH—CHR₂—CO—L—Q—D—Lys—Z I általános képletű peptidek előállítására — ahol A, B, Q, R, R₁ és R₂, Z jelentése a fenti — valamint az I képletű vegyületeket tartalmazó gyógyászati készítmények előállítására vonatkozik.

A Z jelentésénél a terminális csoportok, például az N-(fenilalkil)-aminocsoport és az N-(β -indoliletíl)-aminocsoport főleg abban különböznek az aminosav-maradékoktól, hogy nem tartalmaznak karboxilcsoportot.

Az I általános képletű vegyületek előállítása ismert módon történik. A peptidek előállításának főbb módszerei a következők:

a) szabad karboxilcsoportot és más védett reakcióképes csoportokat tartalmazó aminosav vagy peptid kondenzációja szabad aminosavat és más védett reakcióképes csoportokat tartalmazó aminosavval, peptiddel vagy aminnal kondenzálószer jelenlétében,

b) aktivált karboxilcsoport és más adott esetben védett reakcióképes csoportot tartalmazó aminosav, peptid kondenzációja szabad aminocsoportot és más védett reakcióképes csoportot tartalmazó aminosavval, peptiddel vagy aminnal, majd kívánt esetben a védőcsoportokat eltávolítjuk.

A karboxilcsoport aktiválását a következőképpen végezhetjük:

2

a karboxilcsoportot átalakíthatjuk savhalogenniddé, aziddá, anhidriddé, imidazoliddá vagy aktivált észterré, például N-hidroxi-szukcinimid-észterré vagy p-nitrofenil-észterré.

Az aminocsoportot a csoport foszfit-amiddá alakításával aktiválhatjuk vagy a „foszforazo”-módszert alkalmazzuk.

A fenti kondenzálási reakciókat a következő módszerrel végezhetjük: karbodiimid módszer, azid módszer, a vegyes anhidrid-módszer és az aktivált észter módszer, lásd „The Peptides” I. kötet (Academic Press), E. Schröder és K. Lübke. Az ún. „Solid phase” = szilárd fázis módszert Merrifield írta le a J. Am. Chem. Soc. 85, 2149 (1963)-ban, ezt a módszert is használhatjuk a találmány szerinti peptidek és peptid-származékok előállítására.

A reakcióképes csoportokat megakadályozhatjuk abban, hogy részt vegyenek a kondenzációs reakcióban, úgynevezett védőcsoportokkal látjuk el, melyeket ismét könnyen eltávolíthatunk például hidrolízis vagy redukció segítségével. Így például a karboxilcsoportot hatásosan védhetjük észterezéssel, az észterezést metanollal, etanollal, tercier butanollal, benzilalkohollal vagy p-nitrobenzilalkohollal végezhetjük, vagy amiddá is átalakíthatjuk a karboxilcsoportot. Ez utóbbi védőcsoportot nem tudjuk könnyen eltávolítani, így ezt csak a végső peptid C-terminális aminosav karboxilcsoportjának védelmére ajánlatos használni.

Ebben az esetben a peptid-szintézis közvetlenül az I általános képletű peptidhez vezet.

Az aminosavcsoport hatásos védelmére előnyösek a következő csoportok:

savból származó csoportok, például alifás, aromás, aralifás vagy heterociklusos karbonsavból származó csoportok, például acetyl-, benzoil- vagy piridin-karboxil-csoport; vagy szénsavból származó csoportok, például etoxikarbonil-, benziloxikarbonil-, t-butoxikarbonil- vagy p-metoxibenziloxikarbonilcsoport; vagy szulfonsavból származó csoportok, például benzol-szulfonil- vagy p-toluol-szulfonil-csoport, de más csoportok, például szubsztituált vagy szubsztituátlan aril- vagy aralkilcsoportok, például benzil- vagy trifenilmetilcsoport, o-nitrofenil-szulfenil- vagy 2-benzoil-1-metilvinilcsoport is szóba jöhetnek.

Gyakran az is ajánlatos, hogy a lizin ϵ -aminocsoportját és adott esetben a tirozin fenolos hidroxilcsoportját is megvédjük. Ez utóbbi védelem nem mindig lényeges. Ilyen esetekben előnyösen tercier butoxi-karbonil- vagy tozilcsoportot használunk a lizin ϵ -aminocsoportjának és benzilcsoportot a tirozin fenolos hidroxilcsoportjának védelmére.

A védőcsoportokat a kérdéses csoport természetétől függően különböző módszerekkel hasíthatjuk le, így például trifluorecetsav vagy enyhe redukció segítségével például hidrogénnel katalizátor, például palládium jelenlétében vagy hidrogénbromiddal jég-cetben.

(L)Met($\rightarrow$ O) vagy dezamino-Met($\rightarrow$ O) N-terminális csoportokat tartalmazó peptidek előállítása úgy történhet, hogy a megfelelő Met vagy dezamino-Met peptidet ismert módon, például híg hidrogénperoxid-

65

dal vagy persavval, enyhe oxidációnak vetjük alá. Az oxidáció révén S- és R-szulfoxidok elegyét kapjuk, mely elegyet rezolválhatjuk és így a diasztereomereket ismert módon, például szelektív kristályosítással szétválasztjuk. Az elválasztott diasztereomereket megkaphatjuk úgy is, hogy (L)-metionin-S(vagy R)-szulfoxidot vagy megfelelő dezamino-származékát a maradék peptid szakasszal összekapcsoljuk.

A találmány szerint előállított (L)Met($\rightarrow$ O₂) vagy dezamino-Met($\rightarrow$ O₂) N-terminális maradékot tartalmazó peptideket a (dezamino)-Met-peptid (I) oxidációjával vagy a (dezamino)-Met-szulfonnak a peptid fragmentum maradékával történő összekapcsolásával állítjuk elő.

Az I általános képletű peptidok funkcionális származékain értjük:

1. A savaddíciós sókat vagy fémsókat, például nátriumsót,

2. az I általános képlet szerinti peptideket – ahol egy vagy több aminocsoport 1–6 szénatomos alifás karbonsavból levezetett acilcsoporttal, például acetil-, propionil- vagy butirilcsoporttal lehet helyettesítve,

3. a jelen találmány szerinti peptidok adott esetben alkilszubsztituált amidjai, például szubsztituálatlan amidok vagy mono- vagy di-(1–6 szénatomos)-alkil-amidok, például mono- vagy dimetilamidok,

4. a találmány szerinti peptidok észterei, melyeket 1–18 szénatomos alifás vagy aralifás alkoholokból kapunk,

5. fémkomplexek, melyeket úgy állítunk elő, hogy a peptideket gyengén oldódó sóval, hidroxidál vagy fémmel, előnyösen cinkkel hozunk érintkezésbe.

A savaddíciós sókat úgy állítjuk elő, hogy a peptideket gyógyszerileg elfogadható savakkal, például sósavval, foszforsavval, ecetsavval, maleinsavval, borkósavval vagy citromsavval reagáltatjuk.

A találmány szerint előállított peptideket és származékait orálisan és parenterálisan alkalmazhatjuk. A peptidet előnyösen injekciós készítményekben használjuk, erre a célra alkalmas folyékony közegben feloldjuk, szuszpendáljuk vagy emulgeáljuk. Ha megfelelő segédanyagokkal vagy töltőanyagokkal elegyítjük a peptideket, akkor orális adagolásra alkalmas formát például tablettát, pirulát, tablettát vagy drázsét kapunk. A peptideket kúp vagy spray formájában is adagolhatjuk.

A találmány szerint előállított peptideket vagy származékait előnyösen 0,01 μ g – 1 mg és orálisan 0,1 mg – 50 mg/tskg napi dózisban használjuk a peptid-hatás szintjétől függően.

Különösen értékes készítményeket kapunk, ha a peptideket tartós hatású formában készítjük ki. Ebben a viszonylatban különösen a fém-komplexek jönnek számításba. A fémkomplexeket úgy kapjuk, hogy kevésbé oldékony fémsókat, fémhidroxidokat vagy fémoxidokat érintkezésbe hozunk peptidekkel. A fémfoszfátok, fém-pirofoszfátok és fém-polifoszfátok általában rosszul oldódó fémsók formájában kerülnek felhasználásra.

A találmány szerinti eljárás során az átmeneti fémekhez tartozó fémeket, például kobaltot, nik-

kelt, rezet és vasat, előnyösen cinket, valamint a periódusos rendszer fűcsoportjaiba tartozó fémkomplex képzésre alkalmas fémeket, például magnéziumot és alumíniumot használunk.

A fémkomplexek előállítását a szokásos módon végezzük. Egy fémkomplexet, például úgy állítunk elő, hogy a peptidet és a rosszul oldódó fémsót, fémhidroxidot vagy fémoxidot vizes közegbe adagoljuk. A fémkomplex előállításának másik módja, hogy a peptid vizes oldatához lúgos közeget és oldható sót adunk, minek következtében oldhatatlan peptid-fémhidroxid komplexet kapunk.

A fémkomplex előállításának további módja, hogy a peptidet, az oldékony fémsót és még egy másik oldékony sót vizes, előnyösen lúgos közegbe adagolunk és így in situ keletkezik az oldhatatlan peptid fémsó komplex.

A fémkomplexeket szuszpenzió vagy például liofilizált és később újra szuszpendált formában használhatjuk. Az A jelentése magában foglalja a Met, a dezamino-Met-csoportot, a Met és dezamino-Met megfelelő szulfoxidját és szulfonját, de magában foglalja a H₂N–B–CO képletű aminosav-maradékot is, ahol B etilén vagy izobutilén-csoport.

A peptidekben a HN–CHR₁–CO– és HN–CHR₂–CO– általános képletű aminosav-maradékok azonos vagy különböző alifás α -aminosav-maradékokat képviselnek. Előnyösek azok az aminosav-maradékok – ahol R₁ és R₂ metil-, izopropil- vagy izobutil-csoport és különösen az Ala természetes aminosav-maradék.

Az HN–CHR–CO– általános képlettel jellemzett Q α -aminosav-maradék a találmány szerint előállított peptidok viszonylatában előnyösen az Ala, Val, Leu, Ile, Tyr, Trp és Phe természetes aminosavakat foglalja magában. Különösen előnyösek a Phe, Leu és azok a maradékok, ahol R jelentése metil-, izopropil- vagy izobutilcsoport, különösen Ala (R = metilcsoport).

A találmány szerint előállított peptidészterek előnyösen 1–8 szénatomos, különösen 1–4 szénatomos alkoholokból, például metanolból, etanolból, propanolból és butanolból vezethetők le és úgy állíthatók elő, hogy a végső peptidet vagy a kiindulási aminosavat észterezzük és ez esetben az észtercsoport a peptid-szintézis védőcsoportként szolgálhat.

Azok az előnyös I általános képletű peptidok, amelyeknél R₁ és R₂ azonosak, például metilcsoport (az Ala aminosav-maradékát kapjuk), izopropil (a Val aminosav-maradékát kapjuk) vagy 2-metilpropil (a Leu aminosav-maradékát kapjuk).

Az „A” az I általános képletben előnyösen L–Met vagy dezamino-Met vagy a két sav maradékból származó szulfoxidot vagy szulfont jelent.

Az I általános képletben a „Q” szimbólum előnyösen L–Phe vagy L–Ala aminosav-maradékot jelent.

A „Z” jelentése előnyösen L–Phe–OH aminosav-maradék vagy adott esetben az L–Phe–Gly–OH képletű peptid-maradék, bár utóbbi a lánc meghosszabbodásával jár a hatás további növekedése nélkül.

Előnyösen a következő peptideket állítjuk elő:

H-L-Met-L-Ala-L-Ala-L-Phe-D-Lys-L-Phe-OH,
H-L-Met(O)-L-Ala-L-Ala-L-Phe-D-Lys-L-Phe-OH,
H-L-Met(O₂)-L-Ala-L-Ala-L-Phe-D-Lys-L-Phe-OH,
H-Met-L-Ala-L-Ala-L-Ala-D-Lys-L-Phe-Gly-OH,
H-L-Met(O)-L-Ala-L-Ala-L-Ala-D-Lys-L-Phe-Gly-OH,
H-L-Met(O₂)-L-Ala-L-Ala-L-Ala-D-Lys-L-Phe-Gly-OH,
dezamino-Met-L-Ala-L-Ala-L-Phe-D-Lys-L-Phe-OH,
dezamino-Met-(O₂)-L-Ala-L-Ala-L-Phe-D-Lys-L-Phe-OH,
dezamino-Met(O)-Ala-L-Ala-L-Phe-D-Lys-L-Phe-Gly-OH.

Az alábbi példákkal szemléltetjük találmányunk részleteit:

I. Ha nem adjuk meg külön az optikai konfigurációt, akkor az L formáról beszélünk,

II. A következő rövidítéseket használjuk a védő és aktiváló csoportok vonatkozásában:

Boc = tercier-butiloxikarboonil-csoport
tBu = tercier-butil-csoport
Me = metil-csoport
ONP = p-nitrofeniloxi-csoport
Bzl = benzil-csoport
ONB = nitrobenziloxi-csoport
OSu = szukcinimido-N-oxi-csoport
Z = benziloxikarbonil-csoport.

III. A következő rövidítéseket használjuk a reagensek és oldószerek megjelölésére:

Bz = benzol
To = toluol
EtOH = etanol
Bu = butanol
Py = piridin
Ac = ecetsav
EtOAc = etil-acetát
Fo = hangyasav
Am = amid-alkohol
IPro = izopropanol
DMF = dimetilformamid
THF = tetrahidrofuran
DCCI = diciklohexilkarbodiimid
DCHU = diciklohexilkarbamid
TAA = trietilamin
TFA = trifluor-ecetsav
Wa = víz
NEM = N-etilmorfolin
HOBt = N-hidroxibenzotriazol

IV. Az aminosav csoportokra a következő rövidítéseket használjuk:

Met = metionil
Met(→O) = metionilszulfoxid
Met(→O₂) = metionilszulfon

Phe = fenilalanil
Tyr = tirozil
Lys = lizil
Trp = triptofil
Gly = glicil
Val = valil
Leu = leucil
Ala = alanil
Ile = izoleucil
β-Ala = β-alanil
(α-Me)Ala = α-metilalanil

V. A következő rövidítéseket használjuk az aminosavcsoportokkal kapcsolatos csoportok esetében:

PPA = N-(3-fenilpropil)-amino-csoport.
PEA = N-(2-feniletil)-amino-
HPEA = N-(p-hidroxifeniletil)-amino-
Amf = N-(2-fenilizopropil)-amino
amfetaminből képződik,
Tra = N-(β-indoliletil)-amino
triptaminből származik,
Dezamino-Met = dezamino-metionil
Dezamino-Met(→O) = dezamino-metionil-szulfoxid
(vagy 4-metilszulfonilbutiril)
Dezamino-Met(→O₂) = dezamino-metionil-szulfon
(vagy 4-metilszulfonilbutiril).

Kiindulási anyagok előállítása

I. N-terminális rész

1. Boc-Met-Ala-Ala-N₂H₃

a) Boc-Ala-Ala-OMe

20,79 g Boc-Ala-OH-t 150 ml DMF-ben oldunk fel. Lehűtjük -10 °C-ra, 15,84 ml TAA-t, majd 10,45 ml klórhangyasav-etilésztert adunk hozzá. Az egészet 10 percig -10 °C-on kevertetjük, majd 13,9 g H-Ala-OMe-HCl 150 ml DMF-dal képezett oldatát és 14,4 ml TAA-t adunk a reakcióelegyhez és az egészet még 15 percig -10 °C-on, 2 óráig 0 °C-on, majd végül szobahőmérsékleten 8 óráig keverjük. Lehűtjük -10 °C-ra, leszűrjük a TAA.HCl-t és a szűrletet vákuumban szárazra pároljuk. A maradékot 250 ml etilacetátban feloldjuk és egymás után vízzel, 0,05 n sósavval, 5%-os káliumkarbonát oldattal és 30%-os nátrium-klorid oldattal mossuk. Vízmentes nátrium-szulfáttal szárítjuk és a szűrletet szárazra pároljuk és a maradékot éter és petroléter elegyből átkristályosítjuk.
Kitermelés: 19,3 g; olvadáspont: 108–110 °C.
R_f = (To : EtOH 8 : 2 arányú elegyében) = 0,50, szilíciumdioxidon.

b) H-Ala-OMe · HCl

18,75 g a) szerint előállított Boc-Ala-Ala-OMe-t 150 ml metilénkloridban oldunk és 45 percig sósavgázt engedünk az oldatba állandó jeges vízzel történő hűtés közben. A védőcsoportok el-

távolítása után a termelés 14,3 g.
 R_f (To : EtOH 8 : 2 arányú elegye) = 0,01, szilíciumdioxidon.

c) Boc-Met-Ala-Ala-OMe

15,8 g Boc-Met-N₂H₃-t 150 ml DMF-ben oldunk és -20 °C-on 28,0 ml 4,2 N sósav THF-nal készített oldatával és 8,10 ml izoamil-nitrilrel aktiváljuk. 20 percig aktiváljuk -15 °C-on, majd az oldatot 14,5 ml NEM-mel semlegesítjük, majd 14,3 g H-Ala-OMe · HCl [b] szerint állítjuk elő] 75 ml DMF-dal készített oldatát és 1 mólekvalens NEM-t adunk hozzá. A pH-t ezután NEM-mel 7,2-re állítjuk és a reakcióelegyet 48 óráig 4 °C körüli hőmérsékleten tartjuk. 48 óra múlva a NEM · HCl-t leszűrjük és a szűrletet szárazra pároljuk. A maradékot 300 ml etilacetátban oldjuk, majd vízzel, 0,05 n sósavval, 5%-os nátrium-hidrogénkarbonátoldattal, majd ismét vízzel mossuk.

Nátrium-szulfáttal szárítjuk, a szűrletet szárazra pároljuk és a maradékot etilacetát és petroléter 1 : 1 arányú elegyből átkristályosítjuk.
 Termelés: 16,2 g; olvadáspont: 128–129 °C.
 R_f (To : EtOH 8 : 2 arányú elegyében) = 0,46, szilíciumdioxidon.

d) Boc-Met-Ala-Ala-N₂H₃

15,9 g c) lépés szerint előállított Boc-Met-Ala-Ala-OMe-t 160 ml metanolban oldunk, 16,0 ml hidrazin-hidráttal adunk hozzá. Miután 3,5 óráig kevertük, 200 ml száraz étert adunk hozzá. Lehűtjük 0 °C-ra és a szilárd anyagot leszűrjük.
 Termelés: 12,6 g; olvadáspont: 207–208 °C.
 R_f [Am : iPro : Wa (10 : 4 : 5)] = 0,41, szilíciumdioxidon.

Az I.1. pontban részletezett módhoz hasonlóan a következő peptideket állítjuk elő:

2. Boc-Ala-Ala-Ala-N₂H₃
 R_f (Am : iPro : Wa 10 : 4 : 5 arányú elegyében) = 0,44
3. Boc-Val-Ala-Ala-N₂H₃
 R_f (Am : iPro : Wa 10 : 4 : 5 arányú elegyében) = 0,40
4. Boc-Ala-Leu-Leu-N₂H₃
 R_f (Am : iPro : Wa 10 : 4 : 5 arányú elegyében) = 0,38
5. Boc-Met-Ala-Leu-N₂H₃
 R_f (Am : iPro : Wa 10 : 4 : 5 arányú elegyében) = 0,39
6. Boc-Met-Val-Val-N₂H₃
 R_f (Am : iPro : Wa 10 : 4 : 5 arányú elegyében) = 0,38
7. Boc-Met(O₂)-Ala-Ala-N₂H₃
 R_f (Am : iPro : Wa 10 : 4 : 5 arányú elegyében) = 0,30

8. Dezamino-Met-Ala-Ala-N₂H₃
 R_f (Am : iPro : Wa 10 : 4 : 5 arányú elegyében) = 0,34

- 5 9. Dezamino-Met(O₂)-Ala-Ala-N₂H₃
 R_f (Am : iPro : Wa 10 : 4 : 5 arányú elegyében) = 0,23.

II. C-terminális rész

1. H-Phe-D-Lys(Boc)-Phe-OtBu szintézise

a) Z-D-Lys(Boc)-Phe-OtBu

15 Z-D-Lys-(Boc)-ONP-t 50 ml DMF-ben oldunk és az oldatot -20 °C-ra lehűtjük, majd 4,1 g H-Phe-OtBu 75 ml DMF-el készített oldatát adjuk hozzá. 1 óra hosszat keverjük 0 °C-on, majd még 20 óra hosszat 20 °C-on és a reakcióelegyet szárazra pároljuk. A sárga maradékot etilacetát és víz elegyében feloldjuk és 5%-os kálium-karbonát oldattal, vízzel, 5%-os citromsavval, majd vízzel mossuk. A szerves fázist szárítjuk és szárazra pároljuk. A maradékot etilacetát és éter 40 : 60 arányú elegyében feloldjuk és a petrolétert addig adagoljuk, amíg zavaros oldatot nem kapunk. A kapott csapadékot ezt követően leszűrjük.

30 R_f To : EtOH 9 : 1 arányú elegyében = 0,63 szilíciumdioxidon.

b) H-D-Lys(Boc)-Phe-OtBu

35 3 g dipeptidet 60 ml metanolban oldunk. 60 mg 10%-os palládium-aktív szén hozzáadása után hidrogént vezetünk az oldaton keresztül, amíg a széndioxid fejlődés meg nem szűnik (2 óra). Hyflon keresztül szűrjük, majd a szűrletet szárazra pároljuk és habot kapunk.

R_f To : EtOH 9 : 1 arányú elegyében = 0,21 (szilíciumdioxidon).

c) Z-Phe-D-Lys(Boc)-Phe-OtBu

50 2,18 g Z-Phe-ONP-t 15 ml DMF-ben oldunk. Hozzáadunk 2,24 g H-D-Lys(Boc)-Phe-OtBu [2]. pont szerint állítjuk elő] 30 ml DMF-el képezett oldatát és az egészet 15 óra hosszat keverjük 20 °C-on.

55 Miután a sárga oldatot szárazra pároltuk, a maradékot 15 ml etilacetátban oldjuk, majd 50 ml petrolétert adunk hozzá. Az elegyet 8 óra hosszat hagyjuk állni szobahőmérsékleten, majd a kapott csapadékot leszűrjük.

Olvadáspont: 135–138 °C.

d) H-Phe-D-Lys(Boc)-Phe-OtBu

60 A 3. pont szerint kapott 2,5 g tripeptidet a 2. pont szerint hidrogénezünk. (55 mg 10% palládium-csontszén katalizátor)

65 R_f (To : EtOH 8 : 2 arányú elegyében) = 0,38, szilíciumdioxidon.

2. H-Leu-D-Lys(Boc)-Phe-OtBu

a) Z-Leu-D-Lys(Boc)-Phe-OtBu

3,2 g Z-Leu-ONP-t 40 ml DMF-ben oldunk. 3,6 g H-D-Lys(Boc)-Phe-OtBu-t adunk az oldathoz, majd 20 óra hosszat szobahőmérsékleten kevertetjük az elegyet. Az elegyet szárazra pároljuk, feloldjuk 100 ml etilacetátban és a kapott oldatot 10%-os kálium-karbonát oldattal, 30%-os nátrium-klorid oldattal, citromsav oldattal és ismét 30%-os nátrium-klorid oldattal mossuk. Az etilacetátos oldatot ezután megszáritjuk és bepárlással betöményítjük, majd petrolétert adunk a koncentrátumhoz. A képződött csapadékot leszűrjük. Olvadáspont: 102–105 °C. Termelés: 4,8 g

b) H-Leu-D-Lys(Boc)-Phe-OtBu

Az 1. pont szerint kapott tripeptidet 145 mg 10%-os palládium-szén katalizátor jelenlétében hidrogénezük a II.1.2. pontban leírt módon. R_f (To : EtOH 8 : 2 arányú elegyében) = 0,41, szilíciumdioxidon.

c) H-Ala-D-Lys(Boc)-Phe-OtBu

2,8 g Z-Ala-ONP-t 3,6 g H-D-Lys(Boc)-Phe-OtBu-val kapcsoljuk össze a 2. pontban leírt módon és a kapott védett tripeptidet hidrogénezük 85 mg 10%-os palládium-csontszén katalizátor jelenlétében. R_f (To : EtOH 8 : 2 arányú elegyében) = 0,37, szilíciumdioxidon.

4. H-Leu-D-Lys(Boc)-Tra

a) Z-Leu-D-Lys(Boc)-Tra

A II.1.3. pontban leírt módon kapjuk a Z-Leu-D-Lys(Boc)-Tra-t 3,1 g Z-Leu-ONP-ből és a Z-D-Lys(Boc)-Tra-ból kapott 3 g H-D-Lys(Boc)-Tra-ból.

Termelés: 65%.

R_f (To : EtOH 8 : 2 arányú elegyében) = 0,72, szilíciumdioxidon.

b) H-Leu-D-Lys(Boc)-Tra

Az 1. pontból kapott 2 g peptidet 25 ml metanolban oldjuk és 160 mg 10%-os palládium-aktív szén katalizátor jelenlétében hidrogénezük a II.1.2. pontban leírt módon. Szárazra párolva habot kapunk.

Termelés: 95%.

R_f (To : EtOH 8 : 2 arányú elegyében) = 0,47, szilíciumdioxidon

5. H-Phe-D-Lys(Boc)-Tra

A 4. ponthoz hasonlóan állítjuk elő.

R_f (To : EtOH 8 : 2 arányú elegyében) = 0,33.

6. H-Ala-D-Lys(Boc)-Tra

A 4. pontban leírt módszer szerint állítjuk elő.

R_f (To : EtOH 8 : 2 arányú elegyében) = 0,35.

7. H-Tyr-D-Lys(Boc)-Tra

A 4. ponthoz hasonlóan állítjuk elő.

R_f (To : EtOH 8 : 2 arányú elegyében) = 0,24.

8. H-Leu-D-Lys(Boc)-Trp-OMe; H-Leu-D-Lys(Boc)-Trp-OH

a) Z-Leu-D-Lys(Boc)-Trp-OMe

5,57 g Z-Leu-OH-t 50 ml DMF-ben oldunk és miután az elegyet 0 °C-ra hűtöttük, 3,0 ml TAA-t és 2,0 ml etilkloroformiátot adunk hozzá. A reakcióelegyet 15 percig keverjük, majd 8,64 g H-D-Lys(Boc)-Trp-OMe 50 ml DMF-el készített oldatát adjuk hozzá -10 °C-on és az elegyet 30 percig ezen a hőmérsékleten kevertetjük. Még 2 óra hosszat kevertetjük 0 °C-on, majd 5 óráig szobahőmérsékleten, az elegyet leszűrjük és a szűrletet szárazra pároljuk. A maradékot ezután etilacetátban oldjuk és a kapott oldatot vízzel, 5%-os nátrium-hidrogénkarbonát oldattal, vízzel, 0,1 n sósavval, majd 30%-os nátrium-klorid oldattal mossuk.

Az oldatot ezután szárítjuk és szárazra pároljuk (olaj).

R_f (To : EtOH 9 : 1 arányú elegyében) = 0,41, szilíciumdioxidon.

Termelés: 10,5 g

b) Z-Leu-D-Lys(Boc)-Trp-OH

Az 1. pont szerint előállított 5 g tripeptid észtert 100 ml dioxánban oldjuk, majd 15,3 ml 0,9 n nátrium-hidroxidot adunk hozzá. A reakcióelegyet 2 óra hosszat melegítjük szobahőmérsékleten, majd 2 n sósavval a pH-t 7-re megsavanyítjuk. A dioxánt bepárlással eltávolítjuk és etilacetát és víz elegyét adjuk a maradékhoz. A vizes fázist pH = 2-re savanyítjuk anélkül, hogy a fázisokat elválasztanánk. A szerves fázist 10%-os nátrium-klorid oldattal mossuk, majd szárítjuk. Az oldószert desztillációval eltávolítjuk és habot kapunk.

R_f (To : EtOH 8 : 2 arányú elegyében) = 0,38, szilíciumdioxidon.

Termelés: 3,8 g.

c) H-Leu-D-Lys(Boc)-Trp-OH

3,15 g tripeptidet, melyet a 2. pont szerint állítunk elő, 50 ml DMF-ben és 1,67 ml 4 n sósavban oldunk. 50 mg 10%-os palládium-aktív szén katalizátort adunk az oldathoz és hidrogént eresztünk 4 órán keresztül az oldaton át. A katalizátort ezután leszűrjük és a szűrletet szárazra pároljuk (olaj).

R_f (To : EtOH 9 : 1 arányú elegyében) = 0,10, szilíciumdioxidon.

d) H-Leu-D-Lys(Boc)-Trp-OMe

Az 1. pont szerint előállított 2,5 g peptid-észtert a 3. pontban leírt módon hidrogénezzük 75 mg fenti katalizátor jelenlétében és olajat kapunk.

R_f (Am : Py : Wa 5 : 3 : 2 arányú elegyében) = 0,29, szilíciumdioxidon.

9. H-Leu-D-Lys(Boc)-fenilalkilamidok előállítása

a) Z-D-Lys(Boc)-PPa

10,33 g (20,6 mmól) Z-D-Lys(Boc)-ONP-t 80 ml metilénkloridban oldunk 0 °C körüli hőmérsékleten. 2,7 g 3-fenilpropilamint adunk hozzá, majd az elegyet 1,5 óráig 0 °C-on és még 18 óra hosszat szobahőmérsékleten keverjük. Az oldószert bepárlással eltávolítjuk és a maradékot 200 ml etilacetátban oldjuk. Az etilacetátos oldatot 10%-os nátrium-karbonát oldattal, 30%-os nátrium-klorid oldattal, 0,1 n sósavval és 30%-os nátrium-klorid oldattal mossuk, majd az etilacetátos réteget szárítjuk és 80 ml térfogatra betöményítjük. Étert adunk hozzá, hogy zavarossá tegyük az oldatot és az elegyet jégsekrénybe helyezzük. A keletkezett csapadékot 2 óra múlva leszűrjük.

R_f (Bz : EtOH 9 : 1 arányú elegyében) = 0,50, szilíciumdioxidon.

b) H-D-Lys(Boc)-PPa

8,75 g az 1. pont szerint kapott vegyületet 120 ml metanolban oldunk, melyhez 1,2 g 10%-os palládium-aktív szén adunk. Hidrogént vezetünk bele, miközben 3,5 óráig keverjük az elegyet, majd leszűrjük a katalizátort. A szűrletet szárazra pároljuk és majdnem színtelen olajat kapunk, melyet azonnal további reakciókra használunk fel.

R_f (Am : Fo : Wa 7 : 2 : 1 arányú elegyében) = 0,54, szilíciumdioxidon.

c) Z-Leu-D-Lys(Boc)-PPa

6,39 g a 2. pont szerinti előállított védett aminosav-származékot 68 ml dimetilformamidban oldunk és 7,0 g Z-Leu-ONP 20 ml dimetilformamiddal készített oldatát adjuk hozzá. Az elegyet 20 óráig kevertetjük, majd az oldószert vákuumban történő bepárlással távolítjuk el. A maradékot 170 ml etilacetáttal oldjuk és 5%-os kálium-karbonát oldattal, 30%-os nátrium-klorid oldattal, 0,1 n sósavval és 30%-os nátrium-klorid oldattal mossuk. Az etilacetátos réteget ezután nátrium-szulfáttal szárítjuk és szárazra pároljuk.

R_f (Bz : EtOH 8 : 2 arányú elegyében) = 0,64, szilíciumdioxidon.

d) H-Leu-D-Lys(Boc)-PPa

9,0 g a 3. pont szerint előállított peptid-származékot 300 ml DMF-ben oldjuk és az oldathoz 4 ml 4 n sósavat és 1,5 g 10%-os palládium-aktív szén katalizátort adunk hozzá, 3,5 óráig keverés közben hidrogént vezetünk az elegybe, majd a katalizátort leszűr-

jük és a szűrletet szárazra pároljuk és így majdnem színtelen olajat kapunk.

R_f (Bu : Ac : Wa 4 : 1 : 1 arányú elegyében) = 0,55, szilíciumdioxidon.

e) A következő vegyületeket megfelelő módon állítjuk elő:

1. H-Leu-D-Lys(Boc)-L-Amf

R_f (To : EtOH 8 : 2 arányú elegyében) = 0,50, szilíciumdioxidon

2. H-Leu-D-Lys(Boc)-PEA

R_f (To : EtOH 8 : 2 arányú elegyében) = 0,43, szilíciumdioxidon

3. H-Leu-D-Lys(Boc)-HPEA

R_f (To : EtOH 8 : 2 arányú elegyében) = 0,34, szilíciumdioxidon

10. H-Phe-D-Lys(Boc)-Phe-Gly-OH szintézise

a) Z-Phe-D-Lys(Boc)-OMe

29,9 g Z-Phe-OH-t és 14,8 g HOBt-t 200 ml dimetilformamidban oldunk fel. Lehűtjük -22 °C-ra, majd egy n és után a következő oldatokat adjuk hozzá: 32,6 g H-D-Lys(Boc)-OMe · HCl 210 ml DMF-el, 1 ekvivalens TAA-val készített oldatát és 22,7 g DCCI 100 ml DMF-el készített oldatát. Az egészet 15 percig -22 °C-on, 2 óra hosszat 0 °C-on, és 16 óráig szobahőmérsékleten kevertetjük. Lehűlés után a keletkezett DCHU-t leszűrjük és a szűrletet szárazra pároljuk. A maradékot etilacetátban feloldjuk és vízzel, 5%-os citromsavval, 5%-os nátrium-hidrogén-karbonátoldattal és ismét vízzel mossuk, majd az oldatot szárazra pároljuk és kristályosítjuk.

Termelés: 51,6 g; olvadáspont: 122–123 °C.

b) Z-Phe-D-Lys(Boc)-OH

13,7 g Z-Phe-D-Lys(Boc)-OMe-t [a] pont szerint állítjuk elő] 180 ml dioxán és víz 9 : 1 arányú elegyében oldunk és 15 ml 2 n nátrium-hidroxidot adunk hozzá. Az egészet 2 óra hosszat keverjük szobahőmérsékleten, majd a reakcióelegy pH-ját normál sósavval 7-re állítjuk be. A reakcióelegyet 50 ml térfogatra töményítjük be (dioxán-mentes) és 250 ml etilacetátot adunk hozzá. Az elegyet vízzel mossuk és nátrium-szulfáttal szárítjuk. A nátrium-szulfátot leszűrjük és a szűrletet szárazra pároljuk. A maradékot éter és petroléter 1 : 2 arányú elegyéből átkristályosítjuk.

Termelés: 11,3 g; olvadáspont: 72–75 °C.

R_f (To : EtOH 8 : 2 arányú elegyében) = 0,12, szilíciumdioxidon és (Am : Py : Wa 5 : 3 : 2 arányú elegyében) = 0,69, szilíciumdioxidon.

c) Boc-Phe-Gly-OBzl

1 ekvivalens NEM, majd 25,5 g Boc-Phe-ONP 100 ml DMF-el készített oldatát adjuk egymás után 12,6 g H-Gly-OBzl 100 ml DMF-el készített olda-

tához. Szobahőmérsékleten keverjük egész éjjel, majd a reakcióelegyet szárazra pároljuk. A maradékot 300 ml etilacetát és víz 5 : 1 arányú elegyében oldjuk és vízzel mossuk.

Nátrium-szulfáton szárítjuk, majd a szűrletet vákuumban 100 ml körüli térfogatra töményítjük be, majd 50 ml petrolétert és 250 ml száraz étert adunk hozzá.

Termelés: 16,7 g; olvadáspont: 126–127 °C.

R_f (To : EtOH 8 : 2 arányú elegyében) = 0,56, szilíciumdioxidon.

d) H-Phe-Gly-OBzl · HCl

8,25 g Boc-Phe-Gly-OBz-t 120 ml metilénkloridban oldunk és sósavgázt vezetünk keverés közben az oldatba és jég és víz elegyével 1 óra hosszat hűtjük.

1 óra múlva a sósav bevezetését megszüntetjük és a reakcióelegyet szárazra pároljuk.

Termelés: 6,98 g habsterű termék.

R_f (To : EtOH 8 : 2 arányú elegyében) = 0,33, szilíciumdioxidon.

e) Z-Phe-D-Lys(Boc)-Phe-Gly-OBzl

Az a) pontban leírt módszert alkalmazzuk. A használt reagensek: 9,25 g Z-Phe-D-Lys(Boc)-OH [a b) pont szerint kapjuk], 2,92 g HOBt, 6,98 g H-Phe-Gly-OBzl · HCl és 4,12 g DCCI.

Etilacetát és petroléter elegyből átkristályosítjuk.

Termelés: 12,0 g; olvadáspont: 157–159 °C.

R_f (To : EtOH 8 : 2 arányú elegyében) = 0,39, szilíciumdioxidon.

f) H-Phe-D-Lys(Boc)-Phe-Gly-OH

4,11 g Z-Phe-D-Lys(Boc)-Phe-Gly-OBzl-t 75 ml DMF-ben oldunk. 300 mg 10%-os palládium-aktív szén hozzáadása után hidrogént vezetünk be az oldatba 3 órán keresztül. A katalizátort hyflo-azbeszten leszűrjük és a szűrletet szárazra pároljuk.

Termelés: 2,9 g.
 R_f (Bu : Py : Ac : Wa 4 : 0,75 : 0,25 : 1 arányú elegyében) = 0,46, szilíciumdioxidon.

A következő peptideket állítjuk elő az előző példában leírt módon.

11. H-Trp-D-Lys(Boc)-Phe-Gly-OH
 R_f (Bu : Py : Ac : Wa 4 : 0,75 : 0,25 : 1 arányú elegyében) = 0,52, szilíciumdioxidon

12. H-Leu-D-Lys(Boc)-Phe-Gly-OH
 R_f (Bu : Py : Ac : Wa 4 : 0,75 : 0,25 : 1 arányú elegyében) = 0,40, szilíciumdioxidon

13. H-Val-D-Lys(Boc)-Phe-Gly-OH
 R_f (Bu : Py : Ac : Wa 4 : 0,75 : 0,25 : 1 arányú elegyében) = 0,42, szilíciumdioxidon

14. H-Ala-D-Lys(Boc)-Phe-Gly-OH
 R_f (Bu : Py : Ac : Wa 4 : 0,75 : 0,25 : 1 arányú elegyében) = 0,37, szilíciumdioxidon

15. H-Tyr-D-Lys(Boc)-Phe-Gly-OH
 R_f (Bu : Py : Ac : Wa 4 : 0,75 : 0,25 : 1 arányú elegyében) = 0,48, szilíciumdioxidon.

1. példa

H-Met-Ala-Ala-Ala-D-Lys-Phe-Gly-OH

a) Boc-Met-Ala-Ala-Ala-D-Lys(Boc)-Phe-Gly-OH (I. 1. + II.14.)

1,62 g Boc-Met-Ala-Ala-N₂H₃-t 20 ml DMF-ben feloldunk. Lehűtjük -20 °C-ra, majd 1,68 ml 4,74 n HCl és THF elegyét adjuk hozzá, majd 0,60 ml izoamilnitrit hozzáadása következik és ezután az egész elegyet 20 percig -15 °C-on keverjük, majd 0,6 ml NEM-et és 2,3 g H-Ala-D-Lys(Boc)-Phe-Gly-OH 20 ml DMF-el készített oldatát, valamint 1,68 ml 4,74 n HCl és THF elegyét adjuk hozzá. A reakcióelegy pH-ját NEM hozzáadásával 7,2-re állítjuk és a reakcióelegyet ezt követően 2 napig 4 °C-on tartjuk. A NEM-HCl-t leszűrjük és a szűrletet szárazra pároljuk. A maradékot 125 ml szek. butanol és kloroform 2 : 3 arányú elegyében és 25 ml vízben oldjuk és a kapott oldatot vízzel, 5%-os citromsavval, majd ismét vízzel mossuk. Víztmentes nátrium-szulfáton szárítjuk, majd a szűrletet szárazra pároljuk. A maradékot 40 ml metanolban oldjuk és 160 ml vizet adunk hozzá és a kapott terméket leszűrjük és szárítjuk.

Termelés: 2,6 g.

R_f (Bu : Py : Ac : Wa 4 : 0,75 : 0,25 : 1 arányú elegyében) = 0,62, szilíciumdioxidon.

40 Olvadáspont: 202–203 °C (bomlik).

b) H-Met-Ala-Ala-Ala-D-Lys-Phe-Gly-OH-acetát

2,6 g a) pont szerint előállított peptidet 26 ml 90%-os TFA-ban oldunk. 45 percig keverjük szobahőmérsékleten nitrogén atmoszféra alatt és az oldatot 250 ml száraz éterhez csöpögtetjük. A kapott csapadékot leszűrjük és szárítjuk, majd a kapott szilárd terméket 40 ml tercier butanol és víz 1 : 1 arányú elegyében oldjuk és a kapott terméket acetát formában ioncserélő gyantával keverjük. 30 percig tartó keverés után az incserélő gyantát leszűrjük és a szűrletet szárazra pároljuk. A maradékot ezután ellenáramú disztribúcióval tisztítjuk.

Termelés: 78%.

R_f (Bu : Py : Ac : Wa 4 : 0,75 : 0,25 : 1 arányú elegyében) = 0,25, szilíciumdioxidon.

2. példa

Az 1. példában leírt módon a következő peptideket és acetát sóikat állítjuk elő:

- 17
1. H-Met-Ala-Ala-Phe-
-D-Lys-Phe-Gly-OH
 $R_f = 0,24$ (I.1 + II.10)
 2. H-Met-Ala-Ala-Trp-
-D-Lys-Phe-Gly-OH
 $R_f = 0,27$ (I.1 + II.11)
 3. H-Met-Ala-Ala-Leu-
-D-Lys-Phe-Gly-OH
 $R_f = 0,22$ (I.1 + II.12)
 4. H-Met-Ala-Ala-Val-
-D-Lys-Phe-Gly-OH
 $R_f = 0,18$ (I.1 + II.13)
 5. H-Met-Ala-Ala-Tyr-
-D-Lys-Phe-Gly-OH
 $R_f = 0,23$ (I.1 + II.15)
 6. H-Ala-Ala-Ala-Phe-
-D-Lys-Phe-Gly-OH
 $R_f = 0,21$ (I.2 + II.10)
 7. H-Val-Ala-Ala-Phe-
-D-Lys-Phe-Gly-OH
 $R_f = 0,26$ (I.3 + II.10)
 8. H-Ala-Ala-Ala-Ala-
-D-Lys-Phe-Gly-OH
 $R_f = 0,20$ (I.2 + II.14)
 9. H-Ala-Leu-Leu-Leu-
-D-Lys-Phe-Gly-OH
 $R_f = 0,19$ (I.4 + II.12)
 10. H-Met-Ala-Leu-Phe-
-D-Lys-Phe-Gly-OH
 $R_f = 0,18$ (I.5 + II.10)
 11. H-Met-Val-Val-Phe-
-D-Lys-Phe-Gly-OH
 $R_f = 0,22$ (I.6 + II.10)
 12. H-Met(O₂)-Ala-
-Ala-Phe-D-Lys-Phe-
-Gly-OH
 $R_f = 0,16$ (I.7 + II.10)
 13. Dezamino-Met-Ala-
-Ala-Phe-D-Lys-Phe-
-Gly-OH
 $R_f = 0,36$ (I.8 + II.10)
 14. Dezamino-Met(O₂)-Ala-
-Ala-Phe-D-Lys-Phe-
-Gly-OH
 $R_f = 0,28$

3. példa

Az 1. példában leírt módon a következő peptideket és acetát sóit állítjuk elő:

- 18
1. H-Met-Ala-Ala-Phe-
-D-Lys-Phe-OH (I.1 + II.1)
 - 5 2. H-Met-Ala-Ala-Leu-
-D-Lys-Phe-OH
 $R_f = 0,28$ (I.1 + II.2)
 - 10 3. H-Met(O₂)-Ala-
-Ala-Ala-D-Lys-
-Phe-OH
 $R_f = 0,18$ (I.7 + II.3)
 - 15 4. H-Met(O₂)-Ala-
-Ala-Leu-D-Lys-Tra
 $R_f = 0,11$ (I.7 + II.4)
 - 20 5. Dezamino-Met-Ala-
-Ala-Phe-D-Lys-Tra
 $R_f = 0,14$ (I.8 + II.5)
 - 25 6. Dezamino-Met(O₂)-Ala-
-Ala-Ala-D-Lys-Tra
 $R_f = 0,18$ (I.9 + II.6)
 - 30 7. H-Met-Ala-Leu-Tyr-
-D-Lys-Tra
 $R_f = 0,17$ (I.5 + II.7)
 - 35 8. H-Met-Ala-Ala-Leu-
-D-Lys-Trp-OMe
 $R_f = 0,31$ (I.1 + II.8)
 - 40 9. H-Met-Ala-Ala-Leu-
-D-Lys-Trp-OH
 $R_f = 0,18$ (I.1 + II.8.3)
 - 45 10. H-Met-Ala-Ala-Leu-
-D-Lys-PPA
 $R_f = 0,22$ (I.1 + II.9.4)
 - 50 11. H-Met-Ala-Ala-Leu-
-D-Lys-L-Amf
 $R_f = 0,24$ (I.1 + II.9.5.1)
 - 55 12. H-Met-Ala-Ala-Leu-
-D-Lys-PEA
 $R_f = 0,21$ (I.1 + II.9.5.2)
 - 60 13. H-Met-Ala-Ala-Leu-
-D-Lys-HPEA
 $R_f = 0,26$ (I.1 + II.9.5.3)
 - 65 14. H-Met(O₂)-Ala-
-Ala-Phe-D-Lys-
-Phe-OH
 $R_f = 0,19$ (I.7 + II.1)
 15. H-Ala-Leu-Leu-Phe-
-D-Lys-Phe-OH
 $R_f = 0,32$ (I.4 + II.1)
 16. Dezamino-Met-Ala-
-Ala-Phe-D-Lys-
-Phe-OH
 $R_f = 0,35$ (I.8 + II.1)

A 2. és 3. példákban az R_f értékeket egyéb megjegyzés hiányában Bu : Py : Ac : Wa 4 : 0,75 : 0,25 : 1 arányú eluáló elegyre adtuk meg szilíciumdioxidon.

4. példa

Szulfoxidok

0,06 mmól peptidet 5 ml ecetsavban oldunk és 15 μ l 30%-os hidrogénperoxidot adunk az oldathoz, majd 1 óra hosszat szobahőmérsékleten keverjük. 20 mg platina korom 2,5 ml jégecettel készített szuszpenzióját adjuk hozzá. Az elegyet 30 percig keverjük, majd leszűrjük. A szűrletet vákuumban szárazra pároljuk és a maradékot 10 ml tercier butanol és víz elegyéhez adjuk. Az elegyet ezután liofilizáljuk. A következő peptidek acetátjait állítjuk elő ezzel az eljárással.

1. H-Met(O)-Ala-Ala-Ala-D-Lys-Phe-Gly-OH
 $R_f = 0,12$
2. H-Met(O)-Ala-Ala-Phe-D-Lys-Phe-Gly-OH
 $R_f = 0,10$
3. H-Met(O)-Ala-Leu-Phe-D-Lys-Phe-Gly-OH
 $R_f = 0,11$
4. Dezamino-Met(O)-Ala-Ala-Phe-D-Lys-Phe-Gly-OH
 $R_f = 0,26$
5. H-Met(O)-Ala-Ala-Phe-D-Lys-Phe-OH
 $R_f = 0,13$
6. Dezamino-Met(O)-Ala-Ala-Phe-D-Lys-Tra
 $R_f = 0,15$
7. H-Met(O)-Ala-Ala-Leu-D-Lys-PPA
 $R_f = 0,08$
8. Dezamino-Met(O)-Ala-Ala-Phe-D-Lys-PHe-OH
 $R_f = 0,19$
9. H-Met(O)-Ala-Ala-Leu-D-Lys-Trp-OMe
 $R_f = 0,21$

Az R_f értékeket Bu : Py : Ac : Wa 4 : 0,75 : 0,25 : 1 arányú elegyére adjuk meg szilíciumdioxidon.

5. példa

Szulfonok

0,2 mmól peptidet feloldunk 0,5 ml víz és 0,1 ml 4 n perklórsav, 0,02 ml 0,5 mól ammónium-molibdát elegyében és utána 0,06 ml 30%-os hidrogénperoxidot adunk ehhez az elegyhez. Az elegyet 2 óra hosszat kevertetjük 10 °C-on, majd 25 ml tercier butanol és víz elegyével hígítjuk. Acetát formában levő Dowex X-8 ioncserélő gyantát adunk az elegyhez és 30 percig keverjük. Az elegyet leszűrjük és a szűrletet liofilizáljuk. A következő acetátokat állítjuk elő ilyen módon.

10

1. H-Met(O₂)-Ala-Ala-Phe-D-Lys-Phe-Gly-OH
 $R_f = 0,18$
- 5 2. H-Met(O₂)-Ala-Ala-Phe-D-Lys-Phe-OH
 $R_f = 0,20$
3. Dezamino-Met(O₂)-Ala-Ala-Phe-D-Lys-Phe-OH
 $R_f = 0,23$

Az R_f értékeket Bu : Py : Ac : Wa

4 : 0,75 : 0,25 : 1 arányú elegyére adjuk meg szilíciumdioxidon.

6. példa

20 Cink komplexek

50 mg cink/ml-t tartalmazó 1,5 ml cinkklorid oldatot 31,5 mg dinátrium-hidrogén-foszfát-dihidrát 30 ml desztillált vízzel készített oldatához adjuk. A cink-foszfát csapadékot 4 n sósav hozzáadásával ismét feloldjuk, majd 175 mg nátriumkloridot és 0,5 g benzil-alkoholt adunk az elegyhez. 1,5 mg H-Met-Ala-Ala-Phe-D-Lys-Phe-OH hexapeptidet (3. 1. példa) oldunk fel ebben az elegyben és annyi N nátrium-hidroxidot adunk hozzá, hogy a pH-t 8,5-re állítsuk be. Az oldat térfogatát ezután desztillált vízzel 50 ml-re töltjük fel.

- | | | |
|----|------------------|---|
| 35 | 1 ml szuszpenzió | 30 μ g hexapeptidet
1,5 mg cinket
0,63 mg Na ₂ HPO ₄ · 2H ₂ O-t
3,5 mg NaCl-t
10 mg benzilalkoholt |
| 40 | tartalmaz. | |

45 7. példa

Injekciós készítmény

- | | | |
|----|-------------------------------|--------|
| 50 | 1. példa szerinti peptid | 1,5 mg |
| | NaCl | 9,0 mg |
| | metiloxi-benzoát | 1,2 mg |
| | desztillált pirogénmentes víz | 1,0 ml |

55

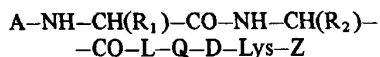
8. példa

Kapszula

- | | | |
|----|--|-----------|
| 60 | Kemény zselatin kapszula: | |
| | 3.14. példa szerinti peptid (5.2. példa) | 2,5 mg |
| | magnézium-sztearát | 1,4 mg |
| | povidon | 5,5 mg |
| 65 | mannitol | 137,0 mg. |

Szabadalmi igénypontok:

1. Eljárás az



I általános képletű peptidek és peptid-származékok, vagy 1–4 szénatomos alkilészterei vagy savaddíciós sói – ahol

A jelentése H–L–Met, H–L–Met(→O), H–L–Met(→O₂), dezamino–met, dezamino–Met(→O), dezamino–Met(→O₂), vagy H₂N–B–CO– csoport,

B jelentése CH₃CH= vagy (CH₃)₂CHCH= csoport,

Q –NH–CHR–CO– képletű aminosav-maradék – ahol R jelentése metil-, izopropil- vagy izobutilcsoport, p-hidroxifenilmetilcsoport, 3-indolimetil- vagy benzilcsoport,

R₁ és R₂ metil-, izopropil- vagy izobutilcsoport és

Z jelentése N–(2-fenil-etil)-amino-, N–(β-indoliletíl)-amino-, N–(2-fenil-izopropil)-amino-, N–(3-fenil-propil)-amino-, N–(p-hidroxifenil-etil)-amino-csoport, –L–Trp–OH, –L–Phe–OH, vagy –L–Phe–Gly–OH– csoport

5 előállítására, azzal jellemezve, hogy az I általános képletű vegyület aminosav szekvenciájának megfelelő, kívánt esetben védett funkció csoportot (csoportokat) tartalmazó aminosavakat vagy peptid 10 fragmenseket egymással kondenzálunk és adott esetben a védőcsoportokat eltávolítjuk, majd kívánt esetben Met- vagy dezamino–Met csoportot tartalmazó peptidet szulfoxiddá vagy szulfonná oxidáljuk vagy savaddíciós sóvá vagy 1–4 szénatomos alkilészterre alakítjuk.

15 2. Eljárás gyógyászati készítmények előállítására, azzal jellemezve, hogy valamely az 1. igénypont szerint előállított I általános képletű vegyületet – ahol A, R₁, R₂, Q és Z jelentése az 1. igénypontban 20 megadott – gyógyászatilag alkalmazható hordozó- és/vagy vivőanyagokkal összekeverjük és gyógyszer-készítménnyé alakítjuk.