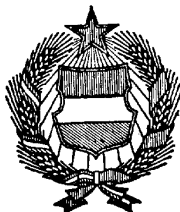


MAGYAR
ÉPKÖZTÁRSASÁG



ORSZÁGOS
TALÁLMÁNYI
HIVATAL

SZABADALMI LEÍRÁS

180783

Bejelentés napja: 1978. IV. 21.

(HO-2067)

Elsőbbsége: 1977. IV. 22. (789.898)

1978. I. 23. (871.563)

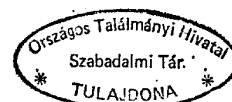
Amerikai Egyesült Államok

Közzététel napja: 1982. VIII. 30

Megjelent: 1985. IV. 30.

Nemzetközi osztályozás:

NSZO₃
C 07 C 103/52



Feltaláló:

Wang Su-Sun vegyész, Bloomfield, New Jersey,
Amerikai Egyesült Államok

Szabadalmaz:

F. Hoffmann—La Roche et Co. A. G.,
Bázel, Svájc

Eljárás timozin α_1 és (Asn²)-analógja előállítására

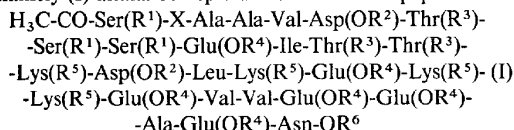
1

A timozin α_1 28 aminosav-maradékból álló, hőstabil, nagymértékben savas polipeptid, amely az alábbi képletnek felel meg: $H_3C-CO-Ser-Asp-Ala-Ala-Val-Asp-Thr-Ser-Ser-Glu-Ile-Thr-Thr-Lys-Asp-Leu-Lys-Glu-Lys-Lys-Glu-Val-Val-Glu-Glu-Ala-Glu-Asn-OH$.

A találmány tárgya új eljárás timozin α_1 és (Asn²)-analógja előállítására.

Ezt az erős immúnfokozó hatással rendelkező peptidet Goldstein és munkatársai ioncserés kromatográfiával és gél-szűrőssel különítették el timozinfrakció 5-ből [Proc. Natl. Acad. Sci. USA 74, 725—729 (1977)].

A találmány tárgya eljárás timozin α_1 és (Asn²)-timozin α_1 előállítására. A találmány értelmében úgy járunk el, hogy valamely (I) általános képletű védett oktakozepeptid



— ahol

X Asn vagy Asp(OR²) csoportot jelent,

R¹ a szerint-maradék hidroxil-csoportjára felvihető szokásos védőcsoportot jelent,

R², R⁴ és R⁶ karboxil-csoportra felvihető szokásos védőcsoportot jelent,

R³ a treonin hidroxil-csoportjára felvihető szokásos védőcsoportot jelent, és

R⁵ a lizin-maradék ω -amino-csoportjára felvihető szokásos védőcsoportot jelent — védőcsoportjait lehasítjuk.

2

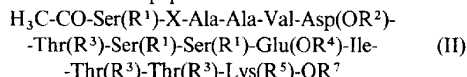
R¹ például benzil-, acetyl-, benzoil-, terc-butyl-, tritil-, 4-bróm-benzil-, 2,6-diklór-benzil- vagy benziloxikarbonil-csoportot (előnyösen benzil-csoportot) jelenthet. Az R², R⁴ és R⁶ helyén álló csoportok közül példaként a következőket soroljuk fel: aril-csoportok, előnyösen fenil-csoport vagy rövidszénláncú alkil-csoporttal, halogénatommal, nitro-csoporttal, merkaptó-csoporttal vagy szubsztituált merkaptó-csoporttal (így metiltio-csoporttal) helyettesített fenil-csoport; aralkil-csoportok, így benzil-csoport vagy metoxi-csoporttal, halogénatommal vagy nitro-csoporttal szubsztituált benzil-csoport; rövidszénláncú alkil-csoportok, így metil-, etil-, terc-butyl- és terc-amil-csoport; szubsztituált rövidszénláncú alkil-csoportok, így 2-halogén-etil-, β,β -dimetil-amino-etil- és cianometil-csoport; benzhidril-csoport és fenacil-csoport (különösen előnyösen benzil-csoport). R³ például benzil-, acetyl-, benzoil-, terc-butyl-, tritil-, 2,6-diklór-benzil-, 4-bróm-benzil- vagy benziloxikarbonil-csoportot (előnyösen benzil-csoportot) jelenthet. R⁵ például a következő csoportokat jelentheti: benziloxikarbonil-csoport; az aro-más gyűrűn adott esetben szubsztituens hordozó benziloxi-karbonil-csoport, így 4-klór-, 2-bróm-, 4-bróm-, 2,4-diklór-, 4-nitro-, 4-metoxi-, 3,5-dimetoxi-, 4-metil-, 2,4,6-trimetil-, 4-fenilazo-, 4-(4-metoxi-fenilazo)-, 2-(N,N-dimetil-karbami-do)- és 2-nitro-4,5-dimetoxi-benziloxikarbonil-csoport; ure-tán-típusú védőcsoportok, így 4-toluolszulfonil-etoxikarbo-nil-csoport, 9-fluorenilmétioxikarbonil-csoport és hasonló, bázissal lehasítható csoportok; 5-benzizoxazolil-metilén-oxikarbonil-csoport, metiltio- és metilszulfonil-etiloxikarbo-nil-csoport, izonikotiniloxikarbonil-csoport, halogén-etoxi-karbonil-csoportok, diizopropilmétioxikarbonil-csoport,

180783

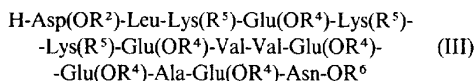
benzidril-oxikarbonil-csoport, izobornil-oxikarbonil-csoport, dinitro-difenil-metoxikarbonil-csoport, terc-butoxikarbonil-csoport, terc-amiloxikarbonil-csoport, adamantiloxikarbonil-csoport, ciklohexiloxikarbonil-csoport, metil-ciklobutiloxikarbonil-csoport, metil-ciklohexiloxikarbonil-csoport, 2-aril-izopropoxikarbonil-csoportok [így 2-(p-bifenilil)-izopropoxikarbonil- és 2-(4-piridil)-izopropoxikarbonil-csoport] és hasonló nitrogéntartalmú uretán-csoportok; acil-csoportok, így formil-, trifluoracetil-, ftaloil-, benzolszulfonil-, acetoacetil-, klóracetil-, 2-nitro-benzoil- és 4-toluolszulfonil-csoport; szulfenil-csoportok, így benzolszulfenil-, o-nitro-fenilszulfenil- és hasonló szulfenil-csoportok; továbbá aril-rövidszénláncú alkil-csoportok, így difenilmetil- és trifenilmetil-csoport. R⁵ előnyösen benziloxikarbonil-csoportot jelenthet.

Az (I) általános képletű védett oktaopeptid- és oktaopeptid-ek védőcsoportjait önmagukban ismert módszerekkel hasíthatjuk le; így például ezeket a vegyületeket vízmentes savval (például hidrogénfluoriddal) kezelhetjük, célszerűen anizol jelenlétében.

Az (I) általános képletű védett oktaopeptideket a találmány értelmében úgy állíthatjuk elő, hogy a (II) általános képletű védett tetradekapeptideket



(III) általános képletű védett tetradekapeptidekkel kondenzáljuk



— ahol X, R¹, R², R³, R⁴, R⁵ és R⁶ jelentése a fenti, és R⁷ hidrogénatomot vagy aktiváló csoportot jelent.

A fenti kapcsolási reakciót az oldatfázisú peptid-szintézis jól ismert módszereivel hajthatjuk végre. Eljárhatunk például úgy, hogy a terminális amino-csoportot hordozó tetradekapeptidet 1-hidroxibenzotriazollal (HOBt) és diklohexilkarbodiimmiddel (DCC) reagáltatjuk, és az így kapott aktivált észtert kapcsoljuk a terminális karboxil-csoportot hordozó tetradekapeptiddel.

A védett tetradekapeptideket önmagukban ismert módszerekkel állíthatjuk elő.

Az X helyén Asp(OBzl) csoportot tartalmazó (III) általános képletű, karboxil-végcsoportot tartalmazó védett tetradekapeptidet például a következőképpen alakítjuk ki:

A szintézis első lépésében H-Glu(OBzl)-OH-t Boc-Ala-OSu-val kapcsolunk, majd a kapott, Boc-Ala-Glu(OBzl)-OH képletű védett dipeptid-fragmentet a DCC[HOSu módszer szerint (lásd Wunsch és Drees: Chem. Ber. 99, 110/1966)] HCl · H-Asn-OBzl-el kondenzáljuk. Az aszparaginsav-benzilészter-hidroklorid Boc-Asn-OBzl-ből állítjuk elő; ezt az utóbbi vegyületet a kereskedelembe kapható Boc-Asn-OH céziumsója és benzilbromid kondenzációjával alakítjuk ki. A Boc védőcsoport lehasítása során a védett vegyületet vízmentes tetrahydrofuránban 30 percig 4 n sósavoldattal kezeljük.

Ezután H-Glu(OBzl)-OH és Boc-Glu(OBzl)-OSu reakciójával Boc-Glu(OBzl)-Glu(OBzl)-OH-t állítunk elő átlátszó, színtelen olaj formájában. A kapott vegyületet DCC/HOSu közvetítésével végrehajtott fragment-kondenzációban HCl · H-Ala-Glu(OBzl)-Asn-OBzl-el reagáltatjuk (az utóbbi reagenst Boc-Ala-Glu(OBzl)-Asn-OBzl-ből állítjuk elő, tetrahydrofurános közegben 4 n sósavoldattal végzett kezeléssel). A kondenzáció során tiszta, kristályos anyag formájában jó hozammal kapjuk a Boc-Glu(OBzl)-Glu(OBzl)-Ala-Glu(OBzl)-Asn-OBzl képletű védett pentapeptidet.

A Boc-Glu(OBzl)-Val-Val-Glu(OBzl)-Glu(OBzl)-Ala-Glu(OBzl)-Asn-OBzl képletű védett oktaopeptid szintézise során először a reagensként felhasználandó, Boc-Glu(OBzl)-Val-Val-OH képletű védett tripeptidet állítjuk elő. A védett tripeptid előállításának első lépésében Boc-Val-OSu-t szabad valinnal reagáltatunk, a kapott Boc-Val-Val-OH képletű termék védőcsoportját tetrahydrofurános közegben 4 n sósavoldattal lehasítjuk, majd a védőcsoportmentes terméket Boc-Glu(OBzl)-OSu-val reagáltatjuk. Ekkor a kívánt tripeptidhez jutunk, amelyet kristályos ciklohexilaminsója [Boc-Glu(OBzl)-Val-Val-OH · CHA] formájában különítünk el. A ciklohexilaminsóból felszabadítjuk a savat, majd a szabad savat HOSu jelenlétében, DCC felhasználásával HCl · H-Glu(OBzl)-Glu(OBzl)-Ala-Glu(OBzl)-Asn-OBzl-hez kapcsoljuk. Ezt az utóbbi reagenst Boc-Glu(OBzl)-Glu(OBzl)-Ala-Glu(OBzl)-Asn-OBzl tetrahydrofurános közegben végzett sósavas kezeléssel alakítjuk ki. A kapcsolási reakcióban kialakult, Boc-Glu(OBzl)-Val-Val-Glu(OBzl)-Glu(OBzl)-Ala-Glu(OBzl)-Asn-OBzl képletű védett oktaopeptidet tisztítás után amorfi, szilárd anyag formájában különítjük el. A védett oktaopeptid védőcsoportjait hidrogenolízissel és azt követő trifluoecetsavas kezeléssel ismert módon lehasítjuk, és a képződött Glu-Val-Val-Glu-Glu-Ala-Glu-Asn képletű szabad oktaopeptidet ioncserés oszlop-kromatográfiával tisztítjuk. Vékonyrétegekromatográfiás vizsgálat és papír-elektroforézis szerint egységes terméket kapunk.

A következő műveletsorozatban a Boc-Glu(OBzl)-Lys(Z)-Lys(Z)-Glu(OBzl)-Val-Val-Glu(OBzl)-Glu(OBzl)-Ala-Glu(OBzl)-Asn-OBzl képletű védett undekapeptidet alakítjuk ki. A szintézis első lépésében Boc-Lys(Z)-OSu és H-Lys(Z)-OH reakciójával Boc-Lys(Z)-Lys(Z)-OH-t állítunk elő, majd ezt a dipeptidet tetrahydrofuránban 4 n sósavoldattal kezeljük. A képződött HCl · H-Lys(Z)-Lys(Z)-OH-t Boc-Glu(OBzl)-OSu-val reagáltatjuk, majd a kapott Boc-Glu(OBzl)-Lys(Z)-Lys(Z)-OH képletű tripeptidet Weygand és munkatársai módszerével [Z. Naturforsch. 21b, 426 (1966)] DCC/HOSu eleggyel aktiváljuk. A kialakult, Boc-Glu(OBzl)-Lys(Z)-Lys(Z)-OSu képletű aktív tripeptid-észtert magában a képződési reakcióelegyben H-Glu(OBzl)-Val-Val-Glu(OBzl)-Glu(OBzl)-Ala-Glu(OBzl)-Asn-OBzl trifluoacetát-sójával reagáltatjuk (ezt a reagenst a megfelelő, védett oktaopeptid és trifluoecetsav 30 perces reakciójával alakítjuk ki). A reakcióelegyhez kis mennyiségű bázist adunk. Termékként Boc-Glu(OBzl)-Lys(Z)-Lys(Z)-Glu(OBzl)-Val-Val-Glu(OBzl)-Glu(OBzl)-Ala-Glu(OBzl)-Asn-OBzl képletű védett undekapeptidet kapunk. A kapott védett undekapeptid védőcsoportjait vízmentes hidrogénfluoriddal végzett kezeléssel lehasítjuk. A képződött, Glu-Lys-Lys-Glu-Val-Val-Glu-Glu-Ala-Glu-Asn képletű szabad undekapeptid ioncserés oszlop-kromatográfiás tisztítás után papír-elektroforézis szerint egységes termék.

A szintézis végső műveletsorozatában a kívánt védett tetradekapeptidet alakítjuk ki a fentihez hasonló módszerrel. Boc-Leu-OSu és H-Lys(Z)-OH kapcsolásával Boc-Leu-Lys(Z)-OH-t állítunk elő. A kapott vegyület N⁶-Boc-csoportját tetrahydrofurános közegben 4 n sósavoldattal végzett kezeléssel lehasítjuk, és az így kapott vegyületet Boc-Asp(OBzl)-OSu-val reagáltatjuk. Tiszta, kristályos szilárd anyagként Boc-Asp(OBzl)-Leu-Lys(Z)-OH képletű védett tripeptidet kapunk. Ezt a vegyületet Boc-Asp(OBzl)-Leu-Lys(Z)-OSu képletű aktív észterével alakítjuk, majd az aktív észtert H-Glu(OBzl)-Lys(Z)-Lys(Z)-Glu(OBzl)-Val-Val-Glu(OBzl)-Glu(OBzl)-Ala-Glu(OBzl)-Asn-OBzl trifluoacetát-sójával (a megfelelő védett undekapeptid és trifluoecetsav reakciójá-

val kapott termék) kondenzáljuk. A kívánt Boc-Asp(OBzl)-Leu-Lys(Z)-Glu(OBzl)-Lys(Z)-Lys(Z)-Glu(OBzl)-Val-Val-Glu(OBzl)-Glu(OBzl)-Ala-Glu(OBzl)-Asn-OBzl képletű védett tetradeka-peptidet jó hozammal kapjuk. A termék vékonyrétegekromatográfiás vizsgálat szerint homogén. Ha a kapott védett vegyületet vízmentes hidrogénfluoriddal kezeljük, majd a terméket ioncserés oszlopkromatográfiával tisztítjuk, a megfelelő, Asp-Leu-Lys-Glu-Lys-Lys-Glu-Val-Val-GluGlu-Ala-Glu-Asn képletű szabad tetradeka-peptidhez jutunk.

Hasonló módszerekkel alakítjuk ki a $H_3C-CO-Ser(Bzl)-Asp(OBzl)-Ala-Ala-Val-Asp(OBzl)-Thr(Bzl)-Ser(Bzl)-Ser(Bzl)-Glu(OBzl)-Ile-Thr(Bzl)-Thr(Bzl)-Lys(Z)-OH$ képletű, védett amino-végcsoportot tartalmazó tetradeka-peptidet egy acetil-tetrapeptid-fragmens, egy hexapeptid és egy további tetrapeptid összekapcsolásával. A reakciókat a peptid-szintézisben szokásos, ismert módon hajthatjuk végre. Az acetilamino-végcsoportot hordozó tetrapeptid előállításánál $H_3C-CO-Ser(Bzl)-OH$ -céziomsó és benzilbromid reakciójával $H_3C-CO-Ser(Bzl)-OBzl$ -t állítunk elő, majd ezt a vegyületet hidrazinolízisnek vetjük alá. A $H_3C-CO-Ser(Bzl)-HNNH_2$ képletű tiszta, kristályos, szilárd hidrazin-származékot jó hozammal kapjuk. Egy külön műveletben a Boc-Ala-Ala-OH képletű dipeptid védőcsoportjának lehasításával $HCl \cdot H-Ala-Ala-OH$ -t állítunk elő, és ezt a dipeptidet Boc-Asp(OBzl)-OSu-val kapcsoljuk. A képződött Boc-Asp(OBzl)-Ala-Ala-OH képletű védett tripeptidet diciklohexilaminsója formájában különítjük el. Ezután az amino-védőcsoportot lehasítjuk, és a kapott terméket Honzl és Rudinger módszerével [Collection Czech. Chem. Commun. 26, 2333 (1961)] a $H_3C-CO-Ser(Bzl)-HNNH_2$ képletű hidrazin-származékkal kondenzáljuk. A képződött, $H_3C-CO-Ser(Bzl)-Asp(OBzl)-Ala-Ala-OH$ képletű, részlegesen védett tetrapeptidet DCC és HOBT jelenlétében ekvivalens mennyiségű hidrazinnal reagáltatjuk. Ekkor a kívánt tetrapeptid szintézisében közbelső termékként felhasználható, $H_3C-CO-Ser(Bzl)-Asp(OBzl)-Ala-Ala-HNNH_2$ képletű vegyülethez jutunk.

A Boc-Val-Asp(OBzl)-Thr(Bzl)-Ser(Bzl)-Ser(Bzl)-Glu(OBzl)-HNNH₂ képletű védett hexapeptidet a C-terminális aminosavból kiindulva, lépésenkénti lánchosszabbítással állítjuk elő. Az első műveleti lépésben H-Glu(OBzl)-OH és Boc-Ser(Bzl)-OSu kapcsolásával a Boc-Ser(Bzl)-Glu(OBzl)-OH képletű védett dipeptidet alakítjuk ki, majd e vegyület Boc-csoportját lehasítjuk, és a kapott terméket Boc-Ser(Bzl)-OSu-val reagáltatjuk. Boc-Ser(Bzl)-Ser(Bzl)-Glu(OBzl)-OH képletű védett tripeptidet kapunk. A vegyület amino-védőcsoportját lehasítjuk, majd a képződött $HCl \cdot H-Ser(Bzl)-Ser(Bzl)-Glu(OBzl)-OH$ képletű sötét Boc-Thr(Bzl)-OSu-val reagáltatjuk. Az így kapott Boc-Thr(Bzl)-Ser(Bzl)-Ser(Bzl)-Glu(OBzl)-OH képletű védett tetrapeptid Boc-csoportját tetrahidrofurános közegben végzett sósavas kezeléssel lehasítjuk, és a képződött vegyületet Boc-Asp(OBzl)-OSu-val reagáltatjuk. Boc-Asp(OBzl)-Thr(Bzl)-Ser(Bzl)-Ser(Bzl)-Glu(OBzl)-OH képletű védett pentapeptidet kapunk. E vegyület Boc-csoportját sósavas kezeléssel lehasítjuk, majd a kapott $HCl \cdot H-Asp(OBzl)-Thr(Bzl)-Ser(Bzl)-Ser(Bzl)-Glu(OBzl)-OH$ képletű sötét Boc-Val-OSu-val kapcsoljuk. Tiszta, kristályos termék formájában Boc-Val-Asp(OBzl)-Thr(Bzl)-Ser(Bzl)-Ser(Bzl)-Glu(OBzl)-OH-t kapunk.

Ezután a kapott hexapeptid terminális glutaminsav-részéhez kapcsolódó α -karboxil-csoportot specifikus reakcióval, DCC kapcsolószer alkalmazásával, HOBT jelenlétében hidrazid-csoporttá alakítjuk. Reagensként ekvivalens mennyiségű hidrazint használunk fel. A Boc-Val-Asp(OBzl)-Thr(Bzl)-Ser(Bzl)-Ser(Bzl)-Glu(OBzl)-HNNH₂ képletű védett hexa-

peptid-hidrazidot tiszta, kristályos, szilárd anyag formájában, megfelelő hozammal kapjuk.

A Boc-Ile-Thr(Bzl)-Thr(Bzl)-Lys(Z)-OH képletű védett tetrapeptidet a fentihez hasonló lépésenkénti szintézissel, Anderson és munkatársai módszerével [J. Am. Chem. Soc. 86, 1839 (1964)] alakítjuk ki. Boc-Thr(Bzl)-OSu és H-Lys(Z)-OH reakciójával olajos termék formájában Boc-Thr(Bzl)-Lys(Z)-OH képletű dipeptidet állítunk elő, majd az α -amino-csoporthoz kapcsolódó védőcsoportot lehasítjuk, és a kapott vegyületet Boc-Thr(Bzl)-OSu-val reagáltatjuk. Kristályos szilárd anyag formájában Boc-Thr(Bzl)-Thr(Bzl)-Lys(Z)-OH képletű védett tripeptidet kapunk. E vegyület Boc-csoportját lehasítjuk, majd a kapott, $HCl \cdot H-Thr(Bzl)-Thr(Bzl)-Lys(Z)-OH$ képletű sötét Boc-Ile-OSu-val reagáltatjuk. A képződött, Boc-Ile-Thr(Bzl)-Thr(Bzl)-Lys(Z)-OH képletű védett tetrapeptidet szilikagéllal töltött oszlopon kromatografáljuk. Tiszta, kristályos terméket kapunk.

Ezután a fenti tetrapeptid-fragmens amino-végcsoportjához kapcsolódó védőcsoportot lehasítjuk, majd a kapott vegyületet azid-módszerrel a fentiek szerint előállított, Boc-Val-Asp(OBzl)-Thr(Bzl)-Ser(Bzl)-Ser(Bzl)-Glu(OBzl)-HNNH₂ képletű védett hexapeptiddel kapcsoljuk. A Boc-Val-Asp(OBzl)-Thr(Bzl)-Ser(Bzl)-Ser(Bzl)-Glu(OBzl)-Ile-Thr(Bzl)-Thr(Bzl)-Lys(Z)-OH képletű védett deka-peptidet jó hozammal kapjuk.

A kapott deka-peptid Boc-csoportját trifluorecetsavval lehasítjuk, majd a kapott vegyületet azid-módszerrel a korábban ismertetett módon kialakított, védett amino-végcsoportot tartalmazó, Ac-Ser(Bzl)-Asp(OBzl)-Ala-Ala-HNNH₂ képletű védett tetrapeptiddel kapcsoljuk. E lépésben a $H_3C-CO-Ser(Bzl)-Asp(OBzl)-Ala-Ala-Val-Asp(OBzl)-Thr(Bzl)-Ser(Bzl)-Ser(Bzl)-Glu(OBzl)-Ile-Thr(Bzl)-Thr(Bzl)-Lys(Z)-OH$ képletű védett tetradeka-peptidhez jutunk.

Az (I) általános képletű vegyület kialakítása során a fenti acetil-tetradeka-peptidet DCC-vel és HOBT-vel aktiváljuk, majd a kapott aktív észteret TFA $\cdot H-Asp(OBzl)-Leu-Lys(Z)-Glu(OBzl)-Lys(Z)-Lys(Z)-Glu(OBzl)-Val-Val-Glu(OBzl)-Glu(OBzl)-Ala-Glu(OBzl)-Asn-OBzl$ -lel reagáltatjuk (az utóbbi reagenst a megfelelő, védett tetradeka-peptid és trifluorecetsav reakciójával alakítjuk ki). Termékként $H_3C-CO-Ser(Bzl)-Asp(OBzl)-Ala-Ala-Val-Asp(OBzl)-Thr(Bzl)-Ser(Bzl)-Glu(OBzl)-Ile-Thr(Bzl)-Thr(Bzl)-Lys(Z)-Asp(OBzl)-Leu-Lys(Z)-Glu(OBzl)-Lys(Z)-Lys(Z)-Glu(OBzl)-Val-Val-Glu(OBzl)-Glu(OBzl)-Ala-Glu(OBzl)-Asn-OBzl$ képletű, védett acetil-oktadeka-peptidet kapunk. E vegyületet vízmentes hidrogénfluoriddal reagáltatva az összes védőcsoportot lehasítjuk, és a kapott peptidet ioncserés kromatográfiával tisztítjuk. Timozan- α_1 -et kapunk.

Hasonló eljárással állítjuk elő a $H_3C-CO-Ser(Bzl)-Asp(OBzl)-Ala-Ala-Val-Asp(OBzl)-Thr(Bzl)-Ser(Bzl)-Ser(Bzl)-Glu(OBzl)-Ile-Thr(Bzl)-Lys(Z)-OH$ képletű védett tetradeka-peptidből a megfelelő, $H_3C-CO-Ser-Asp-Ala-Ala-Val-Asp-Thr-Ser-Ser-Glu-Ile-Thr-Thr-Lys-OH$ képletű szabad tetradeka-peptidet.

Az [Asn²]-timozin- α_1 -et a timozin- α_1 -hez hasonló szintézissel alakítjuk ki. A szintézisben felhasznált közbelső termékek — a $H_3C-CO-Ser(Bzl)-Asn-Ala-Ala-HNNH_2$ képletű, acetilamino-végcsoportot hordozó tetrapeptid-hidrazid kivételével — megegyeznek a korábban felsoroltakkal. A $H_3C-CO-Ser(Bzl)-Asn-Ala-Ala-HNNH_2$ képletű vegyületet a következőképpen állítjuk elő:

Boc-Ala-Ala-OH-ból Boc-Ala-Ala-OBzl-t állítunk elő, majd e vegyület Boc-csoportját sósavas kezeléssel szelektí-

ven lehasítjuk. A kapott, $\text{HCl} \cdot \text{H-Ala-Ala-OBzl}$ képletű dipeptidészter-sót König és Geiger módszerével [Chem. Ber. 103, 788 (1970)] Boc-Asn-OH-val kapcsoljuk, majd a képződött, Boc-Asn-Ala-Ala-OBzl képletű védett tripeptid-észter Boc-csoportját tetrahydrofurános közegben végzett sósavas kezeléssel lehasítjuk. Az így kapott $\text{HCl} \cdot \text{H-Asn-Ala-Ala-OBzl}$ képletű sót a DCC/HOBT módszer szerint $\text{H}_3\text{C-CO-Ser(Bzl)-OH} \cdot \text{DCHA}$ -val kondenzáljuk, végül a képződött $\text{H}_3\text{C-CO-Ser(Bzl)-Asn-Ala-Ala-OBzl}$ képletű védett tetrapeptidet hidrazinolízisnek vetjük alá. A kívánt $\text{H}_3\text{C-CO-Ser(Bzl)-Asn-Ala-Ala-HNNH}_2$ képletű hidrazidot jó hozammal kapjuk.

A fenti hidrazid és a $\text{TFA} \cdot \text{H-Val-Asp(Obzl)-Thr(Bzl)-Ser(Bzl)-Ser(Bzl)-Glu(Obzl)-Ile-Thr(Bzl)-Thr(Bzl)-Lys(Z)-OH}$ képletű védett decapeptid fragmenskondenzációjával a $\text{H}_3\text{C-CO-Ser(Bzl)-Asn-Ala-Ala-Val-Asp(Obzl)-Thr(Bzl)-Ser(Bzl)-Ser(Bzl)-Glu(Obzl)-Ile-Thr(Bzl)-Thr(Bzl)-Lys(Z)-OH}$ képletű védett tetradecapeptidet állítjuk elő. Ezt a vegyületet ezután a fent ismertetett, védőcsoportmentes C-terminális aminosavrészt tartalmazó tetradecapeptid trifluorecetsavas sójával kapcsoljuk, és így védett $[\text{Asn}^2]$ -timozin- α_1 -et állítunk elő. A kapott vegyület összes védőcsoportját vízmentes hidrogénfluoriddal végzett kezeléssel lehasítjuk, majd a vegyületet ioncserés oszlopkromatográfiával tisztítjuk. Végtermékként $[\text{Asn}^2]$ -timozin- α_1 -et kapunk. A $\text{H}_3\text{C-CO-Ser(Bzl)-Asn-Ala-Ala-Val-Asp(Obzl)-Thr(Bzl)-Ser(Bzl)-Ser(Bzl)-Glu(Obzl)-Ile-Thr(Bzl)-Thr(Bzl)-Lys(Z)-OH}$ képletű védett tetradecapeptid védőcsoportjait ugyanezzel a módszerrel távolíthatjuk el; ekkor a $\text{H}_3\text{C-CO-Ser-Asn-Ala-Ala-Val-Asp-Thr-Ser-Ser-Glu-Ile-Thr-Thr-Lys-OH}$ képletű acetilezett tetradecapeptidhez jutunk.

Vizsgálataink során azt tapasztaltuk, hogy a fenti szintézisben közbenső termékként képződött peptidek számos képviselője a T-sejtek szabályozását, differenciálódását és funkcióját befolyásoló aktivitással rendelkezik. Ezek a peptidek a következők:

$\text{Glu-Val-Val-Glu-Glu-Ala-Glu-Asn}$,
 $\text{Glu-Lys-Lys-Glu-Val-Val-Glu-Glu-Ala-Glu-Asn}$,
 $\text{Asp-Leu-Lys-Glu-Lys-Lys-Glu-Val-Val-Glu-Glu-Ala-Glu-Asn}$,
 $\text{H}_3\text{C-CO-Ser-Asn-Ala-Ala-Val-Asp-Thr-Ser-Ser-Glu-Ile-Thr-Thr-Lys}$ és
 $\text{H}_3\text{C-CO-Ser-Asp-Ala-Ala-Val-Asp-Thr-Ser-Ser-Glu-Ile-Thr-Thr-Lys}$.

A timozin- α_1 -et, $[\text{Asn}^2]$ -timozin- α_1 -et, illetve az előzőekben felsorolt új okta-, undeka- és tetradecapeptideket, valamint e vegyületek gyógyászatiilag alkalmazható sóit parenterális úton (így intravénás, szubkután vagy intramuszkuláris adagolással) juttathatjuk be a kezelendő melegvérű emlősök szervezetébe. Ezek a vegyületek körülbelül 1–100 mg/testsúly kg-os napi intravénás dózisban adagolva erős immúnfokozó aktivitással rendelkeznek. A szükséges napi dózis nyilvánvalóan a kezelendő rendellenességtől, a rendellenesség súlyosságától és a kezelés időtartamától függően változik. Gyógyászati felhasználás szempontjából alkalmas dózisegységeknek bizonyultak az 1 mg liofilizált timozin- α_1 -et, $[\text{Asn}^2]$ -timozin- α_1 -et, illetve a fent felsorolt peptid-fragmenseket tartalmazó készítmények, amelyekhez felhasználás előtt steril vizet vagy fiziológias sóoldatot kevernek.

A találmány szerinti eljárást az oltalmi kör korlátozása nélkül az alábbi példákban részletesen ismertetjük. A leírásban és az igénypontokban alkalmazott rövidítések jelentése a követke-

ző: Boc = terc-butoxikarbonil-csoport, Bzl = benzil-csoport, DCC = diciklohexil-karbodiimid, DMF = dimetilformamid, THF = tetrahydrofurán, HOSu = N-hidroxi-szukcinimid, Triton B = trimetil-benzil-ammóniumhidroxid 40%-os metanolos oldata, NMM = N-metil-morfolin, CHA = ciklohexilamin, DCHA = diciklohexilamin, Z = benziloxikarbonil-csoport, DMSO = dimetilszulfoxid, TFA = trifluorecetsav, Et_3N = trietilamin, HOBT = 1-hidroxi-benzotriazol.

Megjegyezzük, hogy a timozin- α_1 és $[\text{Asn}^2]$ -timozin- α_1 szintézisét speciális védőcsoportok alkalmazása kapcsán ismertetjük; szakember számára azonban nyilvánvaló, hogy a konkrétan megnevezett védőcsoportok helyett egyéb, azokkal egyenértékű védőcsoportok is felhasználhatók.

1. példa

A) műveletsor:

a) 11,0 g (47,5 mmól) Boc-Asn-OH 200 ml metanollal készített oldatához 20 ml vizet adunk. Az oldat pH-ját 20%-os vizes Cs_2CO_3 -oldattal 7,0-ra állítjuk (ehhez körülbelül 55 ml oldatra van szükség). Az elegyet szárazra pároljuk, és a maradékról 45 °C-on 2×120 ml dimetilformamidot párolunk le. A kapott fehér, szilárd anyaghoz 8,9 g (52 mmól) benzilbromidot és 120 ml dimetilformamidot adunk, és az elegyet 6 órán át keverjük. A reakcióelegyet szárazra pároljuk, és a maradékot nagymennyiségű vízzel kezeljük. A termék azonnal megszilárdul. A terméket leszűrjük, etilacetátban oldjuk, az oldatot vízzel mossuk, nátriumsulfát fölött szárítjuk, végül bepároljuk, és a kapott szilárd anyagot etilacetát és petroléter elegyből kristályosítjuk. 13,8 g (90,3 %) Boc-Asn-OBzl-t kapunk; op.: 120–122 °C, $[\alpha]_D^{25} = -17,29^\circ$ (c = 1, DMF).

13,7 g (42,4 mmól) Boc-Asn-OBzl-t 80 ml tetrahydrofuránban oldunk, és az oldathoz 500 ml 4 n tetrahydrofurános sósavoldatot adunk. Az elegyet 45 percig állni hagyjuk; ezalatt az elegyből a termék egy része kiválik. Az elegyhez 1000 ml étert adunk. Az éter hatására azonnal kivált fehér, szilárd anyagot leszűrjük, éterrel mossuk, és vákuumban, szemcsés nátriumhidroxid fölött szárítjuk. 10,3 g (94%) $\text{HCl} \cdot \text{H-Asn-OBzl}$ -t kapunk; op.: 122–126 °C, $[\alpha]_D^{25} = +6,82^\circ$.

b) 7,0 g (29,5 mmól) H-Glu(Obzl)-OH -t dörzsmozsárban finomra aprítunk, majd az örölt anyaghoz 8,88 g (32,3 mmól) Boc-Ala-OSu-t, 250 ml dimetilformamidot és 6 ml NMM-t adunk, és az elegyet 48 órán át keverjük. A reakcióelegy enyhén lúgos kémhatásának biztosítására a reakció során az elegyhez további kis mennyiségű NMM-t is adunk. Az oldószert lepároljuk, és a maradékot 300 ml etilacetát és 500 ml víz és 2 ml 10%-os vizes sósavoldat elegye között megoszlatjuk. A szerves fázist elválasztjuk, vízzel háromszor mossuk, nátriumsulfát fölött szárítjuk, és szárazra pároljuk. A maradékot kevés éterben felvesszük, és az elegyhez nagy térfogatú petrolétert adunk. Fehér, amorf, vékonyrétegekromatográfián egységes szilárd anyagot kapunk. Az így kapott 11,0 g (91,5%) Boc-Ala-Glu(Obzl)-OH 84–88 °C-on olvad; $[\alpha]_D^{25} = 8,08^\circ$ (c = 1, DMF).

10,4 g (25,4 mmól) Boc-Ala-Glu(Obzl)-OH-t, 6,56 g (24,5 mmól) $\text{HCl} \cdot \text{H-Asn-OBzl}$ -t és 5,9 g (50,8 mmól) HOSu-t 250 ml 0 °C-os dimetilformamidban oldunk, és az oldathoz 5,7 g (27,6 mmól) DCC-t, majd közvetlenül ezután 3,5 ml Et_3N -t adunk. Az elegyet 2 órán át 0 °C-on, majd 40 órán át 25 °C-on keverjük; ezalatt az elegy enyhén lúgos

kémhatásának biztosítására a rendszerhez időről időre kis mennyiségű Et_3N -t adunk. A képződött oldhatatlan melléktermékeket kiszűrjük, és a szűrletet szárazra pároljuk. Az olajos maradékot vizes kezeléssel megszilárdítjuk. A kapott nyers terméket kloroformban felvesszük, a kloroformos oldatot vízzel háromszor mossuk, nátriumsulfát fölött szárítjuk, majd betöményítjük. A kivált kis mennyiségű szilárd anyagot (amely szennyezésként jelentős mennyiségű diklohexil-karbamidot tartalmaz) kiszűrjük, és a szűrletet petroléterrel kezeljük. Kristályos termék formájában 8,0 g (51,4%) Boc-Ala-Glu(OBzl)-Asn-OBzl-t kapunk; op.: 102–105 °C, $[\alpha]_D^{25} = 12,5^\circ$ ($c = 1$, DMF).

c) 4,74 g (20 mmól) H-Glu(OBzl)-OH-t dörzsmozsárban eldörzsölünk, majd dimetilformamidos közegben, keverés közben 0,7 g (20 mmól) Boc-Glu(OBzl)-OSu-val és 3,6 ml NMM-el kezeljük. A képződött oldatot sziruppá bepároljuk, és a maradékot vízzel kezeljük. A kapott olajos csapadékot etilacetátban felvesszük, az oldatot egymás után 5%-os vizes ecetsav-oldattal és vízzel háromszor mossuk, nátriumsulfát fölött szárítjuk, majd szárazra pároljuk. A maradékot kapott 14,03 g átlátszó olajat petroléterrel fedjük, és a rendszert állni hagyjuk. Olajos terméként 10,2 g (90,0%) Boc-Glu(OBzl)-Glu(OBzl)-OH-t kapunk, amely vékonyrétegkromatográfiás vizsgálat szerint egységes. $[\alpha]_D^{25} = -7,59^\circ$ ($c = 1$, DMF).

d) 28,2 g (46 mmól) Boc-Ala-Glu(OBzl)-Asn-OBzl-t 1 órán át 1,1 liter 4 n tetrahydrofurános sósavoldattal kezelünk. Az oldószert és a sav fölöslegét lepároljuk, és a kapott olajos maradékról két ízben friss tetrahydrofuránt párolunk le. Az olajos maradékot nagy mennyiségű éterrel kezelve megszilárdítjuk. Az így kapott szilárd $\text{HCl} \cdot \text{H-Ala-Glu(OBzl)-Asn-OBzl}$, 25,6 g (46 mmól) Boc-Glu(OBzl)-Glu(OBzl)-OH, 10,6 g (92 mmól) HOSu, 10,9 g (53 mmól) DCC és 540 ml dimetilformamid elegyét 1 órán át 0 °C-on, majd 48 órán át 25 °C-on keverjük. Az elegy enyhén lúgos kémhatásának biztosítására a rendszerhez időről időre Et_3N -t adunk (összesen körülbelül 16 ml Et_3N -t adagolunk be). A kivált oldhatatlan melléktermékeket leszűrjük, és a szűrletet szárazra pároljuk. A kapott nyers terméket kloroformban oldjuk, az oldatot vízzel háromszor mossuk, nátriumsulfát fölött szárítjuk, végül szárazra pároljuk. A maradékot petroléteres kezeléssel megszilárdítjuk, majd izopropanolból átkristályosítjuk. 28,9 g (59,8%) Boc-Glu(OBzl)-Glu(OBzl)-Ala-Glu(OBzl)-Asn-OBzl-t kapunk; op.: 169–175 °C, $[\alpha]_D^{25} = -11,78^\circ$ ($c = 1$, DMF).

3,9 g (3,48 mmól) Boc-Glu(OBzl)-Glu(OBzl)-Ala-Glu(OBzl)-Asn-OBzl-t 30 percig 15 ml 4 n tetrahydrofurános sósavoldattal kezelünk; ezalatt az elegyből kevés kristályos termék válik ki. Az elegyet 210 ml étert adunk, a kivált szilárd anyagot elkülönítjük, éterrel mossuk, majd metanol és éter elegyből kristályosítjuk. 2,58 g (75,1%) $\text{HCl} \cdot \text{H-Glu(OBzl)-Glu(OBzl)-Ala-Glu(OBzl)-Asn-OBzl}$ -t kapunk; op.: 148–151 °C, $[\alpha]_D^{25} = -3,65^\circ$ ($c = 1$, DMF).

e) 12,6 g (40 mmól) Boc-Val-OSu-t 250 ml dimetilformamidban, 2 ml Et_3N jelenlétében 4,68 g (40 mmól) H-Val-OH-val kondenzálunk. A reakciót 96 órán át végezzük; ezalatt az elegy enyhén lúgos kémhatásának biztosítására a rendszerhez szükség szerint további mennyiségű Et_3N -t adunk. A kivált oldhatatlan anyagot kiszűrjük, és a szűrletet 45 °C-on szárazra pároljuk. A maradékot éter és híg (körülbelül 1%-os) vizes kénsavoldat között megoszlatjuk. A szerves fázist elválasztjuk, vízzel háromszor mossuk, nátrium-

sulfát fölött szárítjuk, és bepároljuk. A habszerű üveg formájában kapott maradékot éter és petroléter elegyből kristályosítjuk. 12,2 g (96,4%) Boc-Val-Val-OH-t kapunk; op.: 155–158 °C, $[\alpha]_D^{25} = +1,10^\circ$ ($c = 1$, DMF).

5

40,5 g (128 mmól) Boc-Val-Val-OH-t 60 percig 1,8 liter 4 n tetrahydrofurános sósavoldattal kezelünk. Az oldószert és a sav fölöslegét lepároljuk, és a maradékot éterrel kezeljük. Fehér, amorf porként 34,5 g $\text{HCl} \cdot \text{H-Val-Val-OH}$ -t kapunk. Ezt a vegyületet 1 liter dimetilformamidban, 54 ml Et_3N jelenlétében 24 órán át 55,6 g (128 mmól) Boc-Glu(OBzl)-OSu-val reagáltatjuk. A kivált kevés oldhatatlan anyagot kiszűrjük, és a szűrletet szárazra pároljuk. A kapott olajos maradékot 1,5 liter etilacetátban felvesszük, és az oldatot 5%-os vizes ecetsav-oldattal kétszer, majd vízzel háromszor mossuk. A szerves fázist nátriumsulfát fölött szárítjuk, majd szárazra pároljuk. Átlátszó, színtelen, nem kristályosodó olajat kapunk. Ezt az anyagot 3,2 liter éterben oldjuk, és az oldathoz 7,5-es pH-érték eléréséig CHA-t (17 ml) adunk. A kivált szilárd sötét leszűrjük és metanol és éter elegyből átkristályosítjuk. 58,9 g (72,7%) Boc-Glu(OBzl)-Val-Val-OH $\cdot$ CHA-t kapunk; op.: 158–160 °C, $[\alpha]_D^{25} = 33,41^\circ$ ($c = 1$, metanol).

1,69 g (2,66 mmól) Boc-Glu(OBzl)-Val-Val-OH $\cdot$ CHA-t választótölcsérben 40 ml víz és 40 ml etilacetát keverékében szuszpendálunk. A szuszpenzióhoz 4 ml 1 mólos vizes kénsavoldatot adunk, és alaposan összekeverjük. A szilárd anyag feloldódik. A szerves fázist elválasztjuk, vízzel többször mossuk, nátriumsulfát fölött szárítjuk, és bepároljuk. A kapott 1,45 g olajos maradékot, azaz a szabad tripeptidet 15 ml dimetilformamidban, 0,612 g (5,32 mmól) HOSu, 0,3 ml (2,66 mmól) NMM és 0,63 g (3,06 mmól) DCC jelenlétében 2,58 g (2,61 mmól) $\text{HCl} \cdot \text{H-Glu(OBzl)-Glu(OBzl)-Ala-Glu(OBzl)-Asn-OBzl}$ -el kondenzáljuk. A reakciót 1 órán át 0 °C-on, majd 60 órán át 25 °C-on végezzük; az elegy enyhén lúgos kémhatásának biztosítására a rendszerhez szükség esetén további mennyiségű NMM-t adunk. A kivált oldhatatlan mellékterméket kiszűrjük, és a szűrletet 45 °C-on szárazra pároljuk. A kapott olajos maradékot vizes kezeléssel megszilárdítjuk. A nyers, szilárd terméket 50 ml dimetilformamidban oldjuk, és 300 ml metanollal kicsapjuk. 2,25 g (58,7%) Boc-Glu(OBzl)-Val-Val-Glu(OBzl)-Glu(OBzl)-Ala-Glu(OBzl)-Asn-OBzl-t kapunk; op.: 277–280 °C, $[\alpha]_D^{25} = -12,43^\circ$ ($c = 1$, DMF).

0,72 g (0,49 mmól), a fentiek szerint kapott terméket 40 ml dimetilformamid, 30 ml metanol és 2 ml víz elegyében, 0,5 g 5%-os palládium/bárium-sulfát katalizátor jelenlétében, 3,4 atmoszféra nyomáson 3 órán át hidrogénezünk. Az elegyet szűrjük, és a szűrletet szárazra pároljuk. A maradékot 30 percig 5 ml TFA-val kezeljük, az elegyet bepároljuk, és az így kapott maradékot éterrel többször eldörzsöljük. A képződött fehér, szilárd anyagot 20 ml vízben felvesszük, és az elegyet fagyaszttva szárítjuk. A kapott 0,47 g súlyú nyers terméket Bio-Rad AGI-X 2 gyantával (erős bázikus polisztirol-gyanta) töltött és ammóniumacetát-pufferoldattal (ammóniával pH = 8,1-re lúgosított 2%-os vizes ecetsav-oldat) egyensúlyba hozott, 3×32 cm méretű gyantaoszlopra visszük fel. Az oszlopot rendre 200–200 ml 0,025 mólos ammóniumacetát-oldattal (pH = 5,5), 0,025 mólos ecetsav-oldattal, 0,05 mólos ecetsav-oldattal, 0,1 mólos ecetsav-oldattal, 0,25 mólos ecetsav-oldattal, 0,5 mólos ecetsav-oldattal, 0,75 mólos ecetsav-oldattal, végül 1 mólos ecetsav-oldattal eluáljuk. Az eluátumot 12 ml-es frakciókba

gyűjtjük, és minden egyes frakciót vékonyrétegkromatográfias elemzésnek vetünk alá. A kívánt terméket tartalmazó frakciókat (azaz a 225—229. frakciót) egyesítjük és kétszer fagyaszta száritjuk. 0,223 g (48,1%) tiszta Glu-Val-Val-Glu-Glu-Ala-Glu-Asn-t kapunk, amely papír-elektroforézis és vékonyrétegkromatográfias elemzés szerint egységes.

f) 15 g (39,5 mmól) Boc-Lys(Z)-OH, 5,8 g (50,5 mmól) HOSu, 8,66 g (42 mmól) DCC és 250 ml tetrahidrofuran elegyet 3 órán át keverjük. A kivált oldhatatlan mellékterméket kiszűrjük, és a szűrletet szárazra pároljuk. A kapott 24,2 g szirupszerű maradékhoz 150 ml izopropanolt és 150 ml petrolétert adunk. 21 g olajos, nem kristályosodó terméket kapunk. Az így kapott nyers Boc-Lys(Z)-OSu-t 72 órán át 250 ml dimetilformamidban, 5,5 ml Et₃N jelenlétében 10,6 g (38 mmól) H-Lys(Z)-OH-val kondenzáljuk. A reakcióelegyet keverjük, és az enyhén lúgos kémhatás biztosítására az elegyhez időnként Et₃N-t adunk. Az oldatból kiszűrjük a kis mennyiségű oldhatatlan anyagot, és a szűrletet 45 °C-on szárazra pároljuk. A kapott olajos maradékot 1 liter 5%-os vizes ecetsav-oldattal kezeljük. A kivált terméket etilacetáttal kivonjuk. A szerves fázist vízzel mossuk, nátriumszulfát fölött száritjuk, bepároljuk, és az olajos maradékot 10 ml DCHA-t tartalmazó 300 ml etilacetáttal elegyítjük. A kapott kristályos söt metanolból és éterből átkristályosítjuk. 22,7 g (72,5%) Boc-Lys(Z)-Lys(Z)-OH · DCHA-t kapunk; op.: 160—162 °C, $[\alpha]_D^{25} = -2,21^\circ$ (c = 1, metanol).

10 g (12,14 mmól) Boc-Lys(Z)-Lys(Z)-OH-DCHA-t 1 liter etilacetát és 1 liter 0,1 n vizes kénsavoldat között megoszlatunk. A szerves fázist vízzel háromszor mossuk, nátriumszulfát fölött száritjuk, és szárazra pároljuk. Az így kapott 7,9 g Boc-Lys(Z)-Lys(Z)-OH-t 30 percig frissen készített, 4 n tetrahidrofuranos sósavoldattal kezeljük. Az oldószert és a sav főlöseget 30 °C-on lepároljuk, és a maradékról két ízben tetrahidrofuránt párolunk le. A kapott maradékot éteres kezeléssel megszilárdítjuk. A kivált HCl · H-Lys(Z)-Lys(Z)-OH-t leszűrjük és éterrel többször mossuk. A kapott 6,7 g fehér, porszerű anyagot 70 ml dimetilformamidban oldjuk, az oldatot jégfürdőn hűtjük, és 1,63 ml Et₃N-t, majd 5,54 g (12,76 mmól) Boc-Glu(OBzl)-OSu-t adunk hozzá. Az elegyet 1 órán át 0 °C-on, majd 24 órán át 25 °C-on keverjük; ezalatt az elegy pH-ját Et₃N időnkénti beadagolásával 7,5-ön tartjuk. A reakcióelegyet kevés ecetsavval pH = 3,5 értékre savanyítjuk, és az oldószert lepároljuk. A kapott maradékot etilacetátban felvesszük, az oldatot vízzel háromszor mossuk, nátriumszulfát fölött száritjuk, és szárazra pároljuk. A kapott, félig megszilárdult maradékot éterrel eldörzsöljük, majd etilacetátból átkristályosítjuk. 7,26 g (69,5%) Boc-Glu(OBzl)-Lys(Z)-Lys(Z)-OH-t kapunk; op.: 153—155 °C, $[\alpha]_D^{25} = -2,71^\circ$ (c = 1, THF).

g) 1,7 g (1,16 mmól) Boc-Glu(OBzl)-Val-Val-Glu(OBzl)-Glu(OBzl)-Ala-Glu(OBzl)-Asn-OBzl-t 30 percig 24 ml trifluorecetsavval kezelünk. A sav főlöseget 30 °C-on lepároljuk, és a maradékot éterrel eldörzsöljük. A kapott porszerű anyagot éterrel és petroléterrel alaposan mossuk, és vákuumban nátriumhidroxid fölött száritjuk. 1,71 g trifluoracetát-sót kapunk. 0,998 g (1,16 mmól) Boc-Glu(OBzl)-Lys(Z)-Lys(Z)-OH, 0,16 g (1,4 mmól) HOSu, 0,274 g (1,33 mmól) DCC és 15 ml dimetilformamid elegyet 3 órán át 0 °C-on keverjük. A kapott oldathoz, amely Boc-Glu(OBzl)-Lys(Z)-Lys(Z)-OSu-t tartalmaz, 1,71 g CF₃COOH · H-Glu(OBzl)-Val-Val-Glu(OBzl)-Glu(OBzl)-Ala-Glu(OBzl)-Asn-OBzl-t és 0,2 ml Et₃N-t adunk. Az elegyhez 15 ml dimetilformamidot és még néhány csepp Et₃N-t adunk, és a kapott elegyet

3 napig 25 °C-on keverjük. Gélszerű, félig szilárd anyag képződik. Az elegyet ecetsavval megsavanyítjuk és vízzel kezeljük. A kivált fehér, szilárd anyagot leszűrjük, egymás után vízzel, metanollal és éterrel mossuk. A kapott 2,25 g nyers terméket (op.: 310—313 °C) dimetilformamidban oldjuk, majd metanollal kicsapjuk. 1,75 g (68,3%) Boc-Glu(OBzl)-Lys(Z)-Lys(Z)-Glu(OBzl)-Val-Val-Glu(OBzl)-Glu(OBzl)-Ala-Glu(OBzl)-Asn-OBzl-t kapunk; op.: 314—316 °C, $[\alpha]_D^{25} = 13,68^\circ$ (c = 1, DMSO). A termék vékonyrétegkromatográfias elemzés alapján egységes.

0,5 g (0,226 mmól) Boc-Glu(OBzl)-Lys(Z)-Lys(Z)-Glu(OBzl)-Val-Val-Glu(OBzl)-Glu(OBzl)-Ala-Glu(OBzl)-Asn-OBzl-t 2 ml trifluorecetsavban oldunk, az oldathoz 15 ml hidrogénfluoridot adunk, és az elegyet 15 percig 0 °C-on keverjük. A sav főlöseget 0 °C-on lepároljuk. A maradékot 5%-os vizes ecetsav-oldatban oldjuk, az oldatot éterrel háromszor mossuk, kis térfogatra bepároljuk, és a maradékot fagyaszta száritjuk. 0,34 g nyers terméket kapunk. A nyers terméket a korábban ismertetett módon ioncserés oszlopkromatográfiával tisztítjuk. 0,13 g (42,1%) tiszta Glu-Lys-Lys-Glu-Val-Val-Glu-Glu-Ala-Glu-Asn-t kapunk; $[\alpha]_D^{25} = -85,65^\circ$ (c = 1, viz).

h) 4,0 g (12,2 mmól) Boc-Leu-OSu-t 75 ml dimetilformamidban, 1,7 ml Et₃N jelenlétében 48 órán át 3,42 g (12,2 mmól) H-Lys(Z)-OH-val kondenzálunk. A reakcióelegy pH-ját Et₃N időnkénti beadagolásával 7,5 értéken tartjuk. Az oldhatatlan anyagot kiszűrjük, és a szűrletet szárazra pároljuk. A kapott üvegszerű, habos anyagot 200 ml éterben oldjuk, és az oldathoz 3 ml DCHA-t adunk. A kivált kristályos anyagot leszűrjük, éterrel mossuk, majd metanolból és éterből átkristályosítjuk. 5,7 g (69,5%) Boc-Leu-Lys(Z)-OH · DCHA-t kapunk; op.: 140—142 °C, $[\alpha]_D^{25} = -7,20^\circ$ (c = 1, metanol).

2,97 g (4,4 mmól) Boc-Leu-Lys(Z)-OH · DCHA-t etilacetát és 0,1 n vizes kénsavoldat között megoszlatunk, majd a szabad savat elkülönítjük. A kapott 2,2 g szintelen, olajos anyagot 30 percig 40 ml 4 n tetrahidrofuranos sósavoldattal kezeljük. A sav főlöseget és az oldószert 30 °C-on lepároljuk, és a maradékot éterrel kezeljük. A kapott olajos anyagot éterben oldjuk, és az oldatot bepároljuk. Ezt a műveletet még kétszer megismételjük. A kapott maradékhoz 1,85 g (4,4 mmól) Boc-Asp(OBzl)-OSu-t és 1,85 ml Et₃N-t adunk, és az elegyet éjszakán át keverjük. Ezután a reakcióelegyet szárazra pároljuk. Az olajos maradékot etilacetátban felvesszük, az oldatot vízzel háromszor mossuk, nátriumszulfát fölött száritjuk, és ismét szárazra pároljuk. A kapott nyers terméket etilacetátból és petroléterből kristályosítjuk. 1,52 g (49,6%) tiszta Boc-Asp(OBzl)-Leu-Lys(Z)-OH-t kapunk; op.: 109—111 °C, $[\alpha]_D^{25} = -16,14^\circ$ (c = 1, DMF).

1,2 g (0,545 mmól) Boc-Glu(OBzl)-Lys(Z)-Lys(Z)-Glu(OBzl)-Val-Val-Glu(OBzl)-Glu(OBzl)-Ala-Glu(OBzl)-Asn-OBzl-t 30 percig 35 ml trifluorecetsavval kezelünk. A sav főlöseget gyors ütemben lepároljuk, és a maradékot éterrel többször eldörzsöljük. Fehér, porszerű anyagként 1,2 g undekapeptid-TFA-sót kapunk. Ezt a vegyületet 5 ml dimetilformamid és 2 ml dimetilszulfoxid elegyében oldjuk, és Boc-Asp(OBzl)-Leu-Lys(Z)-OSu-val reagáltatjuk. A reagens előállítása során 0,381 g (0,545 mmól) Boc-Asp(OBzl)-Leu-Lys(Z)-OH, 0,126 g (1,1 mmól) HOSu, 0,124 g (0,599 mmól) DCC és 3 ml dimetilformamid elegyet 3 órán át 0 °C-on keverjük; a kapott elegyet közvetlenül felhasznál-

juk a reakcióhoz. Az aktív tripeptid-észtert és az undekapeptidet tartalmazó elegyet 2 órán át 0 °C-on, majd 3 napig 25 °C-on keverjük, ezalatt az enyhén lúgos kémhatás biztosítására az elegyhez időről időre Et₃N-t adunk. A képződött kocsonyás anyagot 5%-os vizes ecetsavval eldörzsöljük. A kivált fehér, szilárd anyagot leszűrjük, vízzel, metanollal és éterrel mossuk, majd az így kapott 1,28 g nyers terméket (op.: 325–326 °C) 10 ml dimetilformamid és 5 ml dimetil-szulfoxid elegyből 230 ml metanollal kicsapjuk. 1,22 g (80,2%) tiszta Boc-Asp(OBzl)-Leu-Lys(Z)-Glu(OBzl)-Lys(Z)-Lys(Z)-Glu(OBzl)-Val-Val-Glu(OBzl)-Glu(OBzl)-Ala-Glu(OBzl)-Asn-OBzl-t kapunk; op.: 326–327 °C, $[\alpha]_D^{25} = -15,71^\circ$ (c = 1, DMF/DMSO).

1,128 g (0,404 mmól), a fentiek szerint előállított terméket 7 ml anizolban 15 percig 0 °C-on 25 ml vízmentes hidrogén-fluoriddal reagáltatunk. A sav fölöslegét 0 °C-on lepároljuk, és a kapott maradékot éter és víz között megoszlatjuk. A vizes fázist éterrel kétszer mossuk, eredeti térfogatának felére bepároljuk, és a koncentrátumot fagyaszttva szárítjuk. 0,69 g nyers terméket kapunk. A nyers terméket az oktapeptid tisztításánál ismertetett módon kromatografáljuk. A 101–120. frakciót egyesítjük és fagyaszttva szárítjuk. 0,25 g terméket kapunk, amely csekély mennyiségű szennyezőanyagot is tartalmaz. A terméket ugyanazon az oszlopon ismét kromatografáljuk. 0,155 g (22%) tiszta Asp-Leu-Lys-Glu-Lys-Lys-Glu-Val-Val-Glu-Glu-Ala-Glu-Asn-t kapunk, amely papírelektroforézis alapján egységes. $[\alpha]_D^{25} = -86,27^\circ$ (c = 1, 0,1 n HCl).

B. műveletsor:

a) 18,6 g (95,4 mmól) H-Ser(Bzl)-OH 45 ml Triton B-vel készített oldatát szárazra pároljuk. A maradékhoz 100 ml dimetilformamidot adunk, és az elegyet bepároljuk. Ezt a műveletet megismételjük. Ezután a maradékhoz 16,9 g (95,4 mmól) AcOSu-t és 150 ml dimetilformamidot adunk, és az elegyet 20 órán át keverjük. Az enyhén lúgos kémhatás biztosítása érdekében az elegyhez időről időre NMM-t adunk. Az oldószert lepároljuk, a terméket etilacetáttal extraháljuk, és az oldatot kevés 10%-os vizes ecetsav-oldattal és vízzel mossuk. A termék vízben oldódik, ezért csak kis mennyiségű vizet használhatunk fel. Az oldatot nátriumszulfát fölött szárítjuk, és szárazra pároljuk. Átlátszó, nem kristályosodó olaj formájában 14,5 g Ac-Ser(Bzl)-OH-t kapunk. A terméket 300 ml metanol és 30 ml víz elegyében oldjuk, az oldathoz 7,0 pH-érték eléréséig 20%-os Cs₂CO₃-oldatot adunk, majd az elegyet bepároljuk. A kapott szilárd sóról kétszer dimetilformamidot párolunk le, majd 15,4 g (91 mmól) benzilbromidot és 250 ml dimetilformamidot adunk hozzá, és az elegyet 18 órán át keverjük. Az oldószert lepároljuk, a maradékot 600 ml vízzel elegyítjük, és a kivált olajos anyagot etilacetáttal kivonjuk. A szerves oldatot vízzel mossuk, nátriumszulfát fölött szárítjuk, és szirupszerű anyag képződéséig bepároljuk. A szirupszerű maradék otókristállyal kezelve azonnal kristályosodik. A terméket etilacetáttal és petroléterből átkristályosítjuk. 10,42 g (32,2%) H₃C-CO-Ser(Bzl)-OBzl-t kapunk; op.: 89–91 °C.

2,2 g (6,73 mmól) H₃C-CO-Ser(Bzl)-OBzl 75 ml etanollal készített oldatához 5 ml hidrazint adunk, és az elegyet éjszakán át enyhén keverjük. A kivált kevés oldhatatlan anyagot kiszűrjük, és a szűrletet bepároljuk. Az olajos maradékot éteres kezeléssel megszilárdítjuk, és a terméket kevés etanolból és éterből átkristályosítjuk. 1,40 g (82,8%) H₃C-CO-

-Ser(Bzl)-HNNH₂-t kapunk; op.: 128–130 °C, $[\alpha]_D^{25} = +5,80^\circ$ (c = 1, metanol).

b) 3,57 g (40 mmól) L-alanin 18,8 ml Triton B-vel készített oldatát szárazra pároljuk, és az olajos maradékról 2 × 30 ml dimetilformamidot párolunk le. A kapott sóhoz 11,45 g Boc-Ala-Osu-t (40 mmól), 40 ml dimetilformamidot és 4 ml NMM-t adunk, és az elegyet 20 órán át keverjük. Az oldószert eltávolítjuk, a maradékot 100 ml 10%-os vizes ecetsav-oldatban felvesszük, és a terméket 4 × 100 ml etilacetáttal kivonjuk. A szerves oldatot kevés vízzel kétszer mossuk, nátriumszulfát fölött szárítjuk, kis térfogatra bepároljuk, és a maradékhoz zavarosodásig petrolétert adunk. Az elegyet éjszakán át hűtőszekrényben tároljuk. Kristályos anyagként 8,2 g (76,3%) Boc-Ala-Ala-OH válik ki; op.: 115–118 °C.

36,2 g (139 mmól) Boc-Ala-Ala-OH-t 30 percig 3 liter 4 n tetrahydrofurános sósavoldattal kezelünk. Az elegyet bepároljuk, és a maradékot a szokásos módon feldolgozzuk. Az olajos anyagot éteres kezeléssel megszilárdítjuk, és metanol és éter elegyből átkristályosítjuk. 9,1 g (33,3%) HCl · H-Ala-Ala-OH-t kapunk; op.: 209–211 °C.

2,36 g (12 mmól) HCl · H-Ala-Ala-OH 20 ml dimetilformamiddal készített oldatát jégfürdőn hűtjük, és az oldathoz 1,68 ml (12 mmól) Et₃N-t, majd 12 mmól Boc-Asp(OBzl)-OSu-t adunk. Az elegyet 2 órán át 0 °C-on, majd éjszakán át 25 °C-on enyhén keverjük; ezalatt az elegyhez a 8,0 körüli pH-érték biztosítására kis részletekben 12 mmól Et₃N-t adunk. Végül az elegyhez néhány ml ecetsavat adunk, és a savas elegyet szárazra pároljuk. A kapott terméket etilacetáttal kivonjuk. A szerves oldatot vízzel háromszor mossuk, nátriumszulfát fölött szárítjuk, és bepároljuk. A kapott 6 g olajos maradékot etilacetátban oldjuk, és az oldat pH-ját DCHA-val 8,0-ra állítjuk. A kivált kristályos sót izopropanolból és petroléterből átkristályosítjuk. 5,1 g (65,7%) Boc-Asp(OBzl)-Ala-Ala-OH · DCHA-t kapunk; op.: 138–141 °C, $[\alpha]_D^{25} = -13,33^\circ$ (c = 1, metanol).

3,5 g (5,4 mmól) Boc-Asp(OBzl)-Ala-Ala-OH · DCHA-t 500 ml etilacetát és 10 ml 10%-os vizes kénsavoldatot tartalmazó 350 ml víz között megoszlatunk. A vizes fázist 250 ml etilacetáttal extraháljuk. Az etilacetátos oldatokat egyesítjük, vízzel kétszer mossuk, nátriumszulfát fölött szárítjuk, és szárazra pároljuk. Üvegszerű, szilárd maradékként 2,5 g Boc-Asp(OBzl)-Ala-Ala-OH-t kapunk. Ezt az anyagot 30 percig 200 ml frissen készített 4 n tetrahydrofurános sósavoldattal kezeljük. Az elegyet 32 °C-on sziruppá bepároljuk, és a maradékot kétszer tetrahydrofuránt párolunk le. Az olajos maradékot éteres kezeléssel megszilárdítjuk. Az így kapott 1,93 g (4,83 mmól) HCl · H-Asp(OBzl)-Ala-Ala-OH-t a következő lépésben azid-módszer szerint H₃C-CO-Ser(Bzl)-N₃-dal kapcsoljuk. A reagens előállítása során 1,24 g (4,9 mmól) H₃C-CO-Ser(Bzl)-HNNH₂ 25 ml dimetilformamiddal készített, –25 °C-os oldatához 7,42 ml 3,3 n tetrahydrofurános sósavoldatot (24,5 mmól) és 0,99 ml (7,35 mmól) izoamilnitritet adunk, és az elegyet 30 percig –30 °C-on keverjük. Az így kapott oldatot –35 °C-ra hűtjük, 4,1 ml Et₃N-t adunk hozzá, majd beadagoljuk a fentiek szerint előállított 1,93 g, fehér, porszerű, szilárd HCl · H-Asp(OBzl)-Ala-Ala-OH-t. Az elegyet 30 percig –20 °C-on, majd 2 napig 4 °C-on keverjük. Ezalatt az elegyhez az enyhén lúgos kémhatás biztosítására kevés Et₃N-t adunk. A reakcióelegyet a szokásos módon feldolgozzuk, és a kapott kristályos anyagot tetrahydrofuránból és petroléterből átkristályosítjuk. 1,85 g (65,6%) H₃C-CO-Ser(Bzl)-

-Asp(OBzl)-Ala-Ala-OH-t kapunk; op.: 167—170 °C, $[\alpha]_D^{25} = -18,91^\circ$ ($c = 1$, DMSO).

0,825 g (1,41 mmól) $H_3C-CO-Ser(Bzl)-Asp(OBzl)-Ala-Ala-OH$ 4 ml dimetilformamiddal készített oldatát jégfürdőn 0 °C-ra hűtjük. Az oldathoz 54,3 mg (1,69 mmól) hidrazint, majd 0,475 g (3,10 mmól) HOBT $\cdot H_2O$ -t és 0,32 g (1,55 mmól) DCC-t adunk, az elegy pH-ját NMM-mel 7,5-re állítjuk, és a reakcióelegyet 2 órán át 0 °C-on, végül 17 órán át 25 °C-on keverjük. Ezalatt a reakcióelegy begélesedik. A gélserű elegyet metanollal hígítjuk, a kivált szilárd anyagot vákuumszűrőn kiszűrjük, metanollal, éterrel és petroléterrel alaposan mossuk, és a kapott, 229—232 °C-on olvadó terméket dimetilformamidból metanollal kicsapjuk. 0,51 g (61,0%) $H_3C-CO-Ser(Bzl)-Asp(OBzl)-Ala-Ala-HNNH_2$ -t kapunk; op.: 230—232 °C, $[\alpha]_D^{25} = -17,94^\circ$ ($c = 1$, DMSO).

c) 39,4 g (166 mmól) $H-Glu(OBzl)-OH$, 65,0 g (166 mmól) Boc-Ser(Bzl)-OSu, 900 ml dimetilformamid és 2,3 ml (165 mmól) Et_3N elegyét éjszakán át keverjük. Az enyhén lúgos kémhatás biztosítására az elegyhez ezalatt szükség esetén kevés Et_3N -t adunk. A kapott átlátszó oldatot szárazra pároljuk, és az olajos maradékot 1,5 liter etilacetát és 2 liter 5%-os vizes ecetsav-oldat között megoszlatjuk. A szerves fázist vízzel kétszer mossuk, nátriumszulfát fölött szárítjuk, és bepároljuk. A kapott 90,0 g átlátszó, olajos maradékot 3 liter éterben felvesszük, és az oldathoz 25 ml ciklohexilamint adunk. A kivált szilárd anyagot metanolból és éterből átkristályosítjuk. 76,2 g (74,8%) Boc-Ser(Bzl)-Glu(OBzl)-OH $\cdot CHA$ -t kapunk; op.: 154—156,5 °C, $[\alpha]_D^{25} = +6,32^\circ$ ($c = 1$, metanol).

1,5 liter víz és 1,5 liter etilacetát keverékében 76,2 g (124 mmól) Boc-Ser(Bzl)-Glu(OBzl)-OH $\cdot CHA$ -t szuszpendálunk, és a szuszpenzióhoz pH ~ 2,5 érték eléréséig 10%-os vizes kénsavoldatot adunk. Ekkor a szilárd anyag feloldódik. A szabad dipeptid-karbonsavat tartalmazó szerves fázist elválasztjuk, vízzel kétszer mossuk, szárítjuk, és szárazra pároljuk. A 68,5 g súlyú átlátszó, olajos maradékot 45 percig 3 liter frissen készített 4,1 n tetrahydrofurános sósavoldattal kezeljük, majd az elegyet olajos maradékká bepároljuk. A maradékról kétszer tetrahydrofuránt párolunk le. Az így kapott HCl $\cdot H-Ser(Bzl)-Glu(OBzl)-OH$ -t 500 ml dimetilformamidban oldjuk, az oldatot 0 °C-ra hűtjük, és 48,66 g (124 mmól) Boc-Ser(Bzl)-OSu-t és közvetlenül ezután 27 ml Et_3N -t adunk hozzá. Az elegyet éjszakán át 25 °C-on keverjük, ezalatt az enyhén lúgos kémhatás biztosítására az elegyhez időről időre Et_3N -t adunk. A kivált kevés oldhatatlan anyagot kiszűrjük, és a szűrletet bepároljuk. Az olajos maradékot etilacetátban felvesszük, az oldatot 5%-os vizes ecetsav-oldattal és vízzel mossuk, nátriumszulfát fölött szárítjuk, és szárazra pároljuk. A terméket etilacetát és petroléter elegyből kristályosítjuk. 71,8 g (83,7%) Boc-Ser(Bzl)-Ser(Bzl)-Glu(OBzl)-OH-t kapunk; op.: 112—113 °C, $[\alpha]_D^{25} = +17,91^\circ$ ($c = 1$, THF).

71,6 g (104 mmól) Boc-Ser(Bzl)-Ser(Bzl)-Glu(OBzl)-OH-t 45 percig 2,7 liter frissen készített 3,9 n tetrahydrofurános sósavoldattal kezelünk. Az elegyet szárazra pároljuk, és a maradékról két ízben tetrahydrofuránt párolunk le. A kapott 59,3 g szilárd maradékot (op.: 161—165 °C) elkülönböztjük, éterrel mossuk, majd 500 ml dimetilformamidot, 38,2 g (94 mmól) Boc-Thr(Bzl)-OSu-t és 25 ml Et_3N -t adunk hozzá, és az elegyet 1 órán át 0 °C-on, végül 15 órán át 25 °C-on keverjük. Ezalatt az enyhén lúgos kémhatás

biztosítására az elegyhez több részletben összesen 14,5 ml Et_3N -t adunk. A kivált kevés oldhatatlan anyagot kiszűrjük, és a szűrletet bepároljuk. Az olajos maradékot 1,5 liter etilacetátban oldjuk, az oldatot 5%-os vizes ecetsav-oldattal és vízzel kétszer mossuk, nátriumszulfát fölött szárítjuk, és bepároljuk. A kapott szilárd anyagot etilacetátból és petroléterből átkristályosítjuk. 64,8 g (78,1%) Boc-Thr(Bzl)-Ser(Bzl)-Ser(Bzl)-Glu(OBzl)-OH-t kapunk; op.: 115—118 °C, $[\alpha]_D^{25} = +11,64^\circ$ ($c = 1$, DMSO).

54,5 g (67,1 mmól) Boc-Thr(Bzl)-Ser(Bzl)-Ser(Bzl)-Glu(OBzl)-OH-t 1,5 liter 4,1 n tetrahydrofurános sósavoldattal kezelünk, és az elegyet a szokásos módon feldolgozzuk. Fehér, porszerű anyagként 46,3 g (56,6 mmól) HCl $\cdot H-Thr(Bzl)-Ser(Bzl)-Ser(Bzl)-Glu(OBzl)-OH$ -t kapunk. Ehhez a termékhez 500 ml dimetilformamidot, 23,7 g (56 mmól) Boc-Asp(OBzl)-OSu-t és 16 ml Et_3N -t adunk, és 2 órán át 0 °C-on keverjük. Ezután az elegyet 15 órán át 25 °C-on keverjük, és ezalatt összesen 7,4 ml Et_3N -t adunk hozzá. Az elegyet a szokásos módon feldolgozzuk, és a terméket diklórmétánból és petroléterből átkristályosítjuk. 50,35 g (82,7%) Boc-Asp(OBzl)-Thr(Bzl)-Ser(Bzl)-Ser(Bzl)-Glu(OBzl)-OH-t kapunk; op.: 111—113 °C, $[\alpha]_D^{25} = +7,21^\circ$ ($c = 1$, DMSO).

50,0 g (46 mmól) Boc-Asp(OBzl)-Thr(Bzl)-Ser(Bzl)-Ser(Bzl)-Glu(OBzl)-OH védőcsoportjait 4,15 n tetrahydrofurános sósavoldattal végzett kezeléssel lehasítjuk, és a reakcióelegyet a szokásos módon feldolgozzuk. A kapott 45,4 g fehér, szilárd anyagot 1,5 liter tetrahydrofuránban oldjuk, az oldathoz 7 liter étert adunk, és az elegyet éjszakán át 0 °C-on tartjuk. Fehér, porszerű, szilárd anyagként 44,0 g HCl $\cdot H-Asp(OBzl)-Thr(Bzl)-Ser(Bzl)-Ser(Bzl)-Glu(OBzl)-OH$ -t kapunk; op.: 179—184 °C. 43,7 g (42,7 mmól) így kapott terméket 500 ml dimetilformamidban oldunk, az oldatot 0 °C-ra hűtjük, és 15,4 g (49 mmól) Boc-Val-OSu-t és 10 ml Et_3N -t adunk hozzá. Az elegyet 15 órán át keverjük, ezalatt az enyhén lúgos kémhatás biztosítására az elegyhez több részletben összesen 7,9 ml Et_3N -t adunk. Az oldhatatlan anyagot kiszűrjük, és a szűrletet szárazra pároljuk. A kapott olajos maradékot diklórmétánban oldjuk, az oldatot 5%-os vizes ecetsav-oldattal és vízzel mossuk, nátriumszulfát fölött szárítjuk, és 0,5 liter végtérfigatára bepároljuk. A koncentrátumhoz petrolétert adunk, és az elegyet éjszakán át állni hagyjuk. A kivált kristályos terméket tetrahydrofuránból és izopropanolból átkristályosítjuk. 26,3 g (51,4%) Boc-Val-Asp(OBzl)-Thr(Bzl)-Ser(Bzl)-Ser(Bzl)-Glu(OBzl)-OH-t kapunk; op.: 174—177 °C, $[\alpha]_D^{25} = +0,84^\circ$ ($c = 1$, THF).

13,0 g (10,94 mmól) Boc-Val-Asp(OBzl)-Thr(Bzl)-Ser(Bzl)-Ser(Bzl)-Glu(OBzl)-OH 50 ml dimetilformamid-dal készített, 0 °C-os oldatához 0,421 g (13,14 mmól) hidrazint, 3,688 g (24,1 mmól) HOBT-t és 2,48 g (12,04 mmól) DCC-t adunk. A reakcióelegy pH-ját NMM-al 7,5-re állítjuk, és az elegyet 18 órán át keverjük. Az oldhatatlan melléktermékeket kiszűrjük, és a szűrletet szárazra pároljuk. A maradékot vizes kezeléssel megszilárdítjuk, és a kapott anyagot dimetilformamidból és izopropanolból kristályosítjuk. 8,7 g (66,4%) Boc-Val-Asp(OBzl)-Thr(Bzl)-Ser(Bzl)-Ser(Bzl)-Glu(OBzl)-HNNH₂-t kapunk; op.: 215—218 °C, $[\alpha]_D^{25} = +7,62^\circ$ ($c = 1$, DMSO).

d) 14,0 g (24,5 mmól) Boc-Thr(Bzl)-Lys(Z)-OH-t 30 percig 500 ml 4,0 n tetrahydrofurános sósavoldattal kezelünk. Az elegyet szárazra pároljuk, és a maradékról két ízben friss

tetrahidrofuránt párolunk le. Az olajos maradékot éteres kezeléssel megszárítjuk, majd szárítjuk. Az így kapott 11,4 g (21,6 mmól) dipeptid-hidrokloridot 140 ml dimetilformamidban oldjuk, az oldathoz 0 °C-on 8,8 g (21,6 mmól) Boc-Thr(Bzl)-OSu-t és 3,5 ml Et₃N-t adunk, és az elegyet 24 órán át 25 °C-on keverjük. Ezalatt az elegyhez az enyhén lúgos kémhatás fenntartására néhány csepp Et₃N-t adunk. Az elegyet 5 ml ecetsavval megsavanyítjuk, majd nagy mennyiségű vízzel hígítjuk. A kivált nyers, szilárd terméket elkülönítjük, etilacetátban oldjuk, az oldatot vízzel mossuk, nátriumszulfát fölött szárítjuk, majd bepároljuk. Az üvegszerű, szilárd maradékot etilacetátból és petroléterből kristályosítjuk. 13,8 g (83,7%) Boc-Thr(Bzl)-Thr(Bzl)-Lys(Z)-OH-t kapunk; op.: 110–112 °C, $[\alpha]_D^{25} = +19,45^\circ$ (c = 1, etilacetát).

41,5 g (54 mmól) Boc-Thr(Bzl)-Thr(Bzl)-Lys(Z)-OH-t 25 percig 500 ml frissen készített 3,55 n tetrahidrofurános sósavoldattal reagáltatunk. Az elegyet szirupszerű maradékká bepároljuk, és a maradékról két ízben friss tetrahidrofuránt párolunk le. Az olajos maradékot éteres kezeléssel megszárítjuk, és éterral mossuk. A kapott 37,4 g nyers tripeptid-hidrokloridot 500 ml dimetilformamidban oldjuk, és az oldathoz 0 °C-on 17,4 g (53 mmól) Boc-Ile-OSu-t, majd 16 ml Et₃N-t adunk. Az elegyet éjszakán át 25 °C-on keverjük, ezalatt az enyhén lúgos kémhatás biztosítására az elegyhez részletekben összesen 6,2 ml Et₃N-t adunk. A kapott elegyet szűrjük, és a szűrletet bepároljuk. Az olajos maradékot etilacetáttal extraháljuk, a szerves oldatot 5%-os vizes ecetsavoldattal és vízzel mossuk, nátriumszulfát fölött szárítjuk, majd bepároljuk. A sárgás, olajos maradékot etilacetátból és petroléterből kristályosítjuk. 39,6 g nyers szilárd terméket kapunk (op.: 140–142 °C), amely kis mennyiségben számos szennyezőanyagot tartalmaz. A terméket 70–230 mesh szemcseméretű szilikagéllel töltött, 4,7 × 67 cm méretű oszlopon kromatografáljuk, eluálószerként 95 : 5 térfogatarányú kloroform/metanol elegyet használunk. Az egyes frakciókat vékonyrétegkromatográfián elemezzük. A kívánt terméket tartalmazó frakciókat egyesítjük, bepároljuk, és az olajos maradékot kloroformból és petroléterből kristályosítjuk. 19,1 g (41,2%) Boc-Ile-Thr(Bzl)-Thr(Bzl)-Lys(Z)-OH-t kapunk; op.: 144–146 °C, $[\alpha]_D^{25} = +2,40^\circ$ (c = 1, kloroform).

0,439 g (0,496 mmól) Boc-Ile-Thr(Bzl)-Thr(Bzl)-Lys(Z)-OH-t 30 percig 4 n tetrahidrofurános sósavoldattal kezelünk, és a reakcióelegyet a szokásos módon feldolgozzuk. 0,39 g HCl · H-Ile-Thr(Bzl)-Thr(Bzl)-Lys(Z)-OH-t kapunk. 0,59 g (0,492 mmól) Boc-Val-Asp(OBzl)-Thr(Bzl)-Ser(Bzl)-Ser(Bzl)-Glu(OBzl)-HNNH₂-t 6 ml dimetilformamidban oldunk, az oldathoz –25 °C-on 0,57 ml 4,3 n tetrahidrofurános sósavoldatot (2,46 mmól) adunk, és az elegyhez azonnal 0,1 ml (0,74 mmól) izoamilnitritet adunk. A reakcióelegyet 30 percig –20 °C és –25 °C közötti hőmérsékleten keverjük, majd –35 °C-ra hűtjük, és 0,42 ml Et₃N-t és 0,39 g, a fentiek szerint előállított HCl · H-Ile-Thr(Bzl)-Thr(Bzl)-Lys(Z)-OH-t adunk hozzá. Az elegyet 30 percig –20 °C-on, majd 48 órán át 4 °C-on keverjük; ezalatt az elegy pH-ját Et₃N időnkénti beadagolásával körülbelül 7,5 értéken tartjuk. A kapott elegyet 250 ml 5%-os vizes ecetsavoldattal hígítjuk. A kivált szilárd anyagot leszűrjük, vízzel, metanollal és éterral mossuk, majd vákuumban szemesés nátriumhidroxid fölött szárítjuk. 0,82 g nyers terméket kapunk; op.: 244–254 °C. A nyers terméket dimetilformamidban oldjuk, és metanollal kicsapjuk. 0,698 g (81,7%) Boc-

-Val-Asp(OBzl)-Thr(Bzl)-Ser(Bzl)-Ser(Bzl)-Glu(OBzl)-Ile-Thr(Bzl)-Thr(Bzl)-Lys(Z)-OH-t kapunk; op.: 268–271 °C. 0,408 g (0,68 mmól) H₃C-CO-Ser(Bzl)-Asp(OBzl)-Ala-Ala-HNNH₂ 10 ml dimetilformamiddal készített, –20 °C-os szuszpenzióhoz 0,627 ml frissen készített 5,43 n tetrahidrofurános sósavoldatot (3,4 mmól), majd 1,39 ml 10%-os dimetilformamid izoamilnitrit-oldatot (1,03 mmól) adunk. Az elegyet 30 percig keverjük, majd –30 °C-ra hűtjük, és 0,476 ml (3,4 mmól) Et₃N-t és 1,334 g (0,68 mmól) TFA · H-Val-Asp(OBzl)-Thr(Bzl)-Ser(Bzl)-Ser(Bzl)-Glu(OBzl)-Ile-Thr(Bzl)-Thr(Bzl)-Lys(Z)-OH-t adunk hozzá. Az elegyet 30 percig –20 °C-on, majd 5 napig 4 °C-on keverjük; ezalatt az enyhén lúgos kémhatás fenntartására és a gélképződés megakadályozására az elegyhez Et₃N-t és DMSO-t adunk. A reakcióelegyet 300 ml 5%-os vizes ecetsav-oldatba öntjük. A kivált szilárd csapadékot leszűrjük, vízzel, metanollal és éterral mossuk, és szárítjuk. 1,49 g 296–299 °C-on olvadó anyagot kapunk. A terméket dimetilszulfoxidban oldjuk, és metanollal kicsapjuk. 1,40 g (85,37%) H₃C-CO-Ser(Bzl)-Asp(OBzl)-Ala-Ala-Val-Asp(OBzl)-Thr(Bzl)-Ser(Bzl)-Ser(Bzl)-Glu(OBzl)-Ile-Thr(Bzl)-Thr(Bzl)-Lys(Z)-OH-t kapunk; $[\alpha]_D^{25} = +6,37^\circ$ (c = 1, DMSO).

1,35 g (0,558 mmól), a fentiek szerint kapott tetradekapeptid, 0,188 g (1,23 mmól) HOBt · H₂O, 15 ml dimetilformamid és 15 ml dimetilszulfoxid elegyét néhány percig keverjük. Az elegyet jégfürdőn lehűtjük, 0,126 g (0,614 mmól) DCC-t adunk hozzá, és ugyanezen a hőmérsékleten további 24 órán át keverjük.

Egy külön reakcióedényben 4,0 g (1,43 mmól) Boc-Asp(OBzl)-Leu-Lys(Z)-Glu(OBzl)-Lys(Z)-Lys(Z)-Glu(OBzl)-Val-Val-Glu(OBzl)-Glu(OBzl)-Ala-Glu(OBzl)-Asn-OBzl-t 25 percig 40 ml trifluorecetsavval reagáltatunk, és a kapott tetradekapeptid-trifluoracetátot nagy mennyiségű éterral gyorsan kicsapjuk. A kivált szilárd anyagot leszűrjük és éterral alaposan mossuk. Fehér, porszerű anyagként a C-terminális tetradekapeptid trifluorecetsavas sóját kapjuk; hozam: 3,74 g. A korábban ismertetett módon, dimetilformamid és dimetilszulfoxid elegyében kialakított aminos terminális tetradekapeptid aktív észteréhez 1,567 g (0,5583 mmól), az előzőek szerint kapott tetradekapeptid-trifluoracetátot adunk. Az elegy pH-ját néhány csepp NMM-el 7,5 és 8,0 közötti értékre állítjuk, és a reakcióelegyet 1 órán át 0 °C-on, majd 5 napig 25 °C-on keverjük. Ezután a reakcióelegyet 1,5 liter 5%-os vizes ecetsav-oldatba öntjük. A kivált csapadékot vízzel, metanollal, dimetilformamiddal, metanollal, végül éterral alaposan mossuk. 2,21 g H₃C-CO-Ser(Bzl)-Asp(OBzl)-Ala-Ala-Val-Asp(OBzl)-Thr(Bzl)-Ser(Bzl)-Ser(Bzl)-Thr(Bzl)-Ile-Thr(Bzl)-Thr(Bzl)-Lys(Z)-Asp(OBzl)-Leu-Lys(Z)-Glu(OBzl)-Lys(Z)-Lys(Z)-Glu(OBzl)-Val-Val-Glu(OBzl)-Ala-Glu(OBzl)-Asn-OBzl-t kapunk; a termék 300 °C-nál magasabb hőmérsékleten olvad.

2,21 g (0,435 mmól), a fentiek szerint kapott védett okta-koapeptidet 8 ml trifluorecetsav és 4 ml anizol elegyében oldjuk, az oldathoz vízmentes hidrogénfluoridot adunk, és az elegyet 30 percig 0 °C-on keverjük. Az elegyet vákuumban 0 °C-on bepároljuk, és a szilárd maradékot 200 ml vízben oldjuk. Az oldatot éterral kétszer mossuk, eredeti térfogatának felére bepároljuk, és a koncentrátumot fagyaszttva szárítjuk. A kapott 1,1 g nyers terméket tisztítás céljából 3 × 80 cm méretű Sephadex G—10 oszlopon (eluálószer: 0,2 mólos ecetsav-oldat), majd 3 × 75 cm méretű DEAE-Sephadex oszlopon bocsátjuk át; eluálószerként növekvő koncent-

rációjú ammóniumacetát-oldatokat (pH 7,0, 0,025 mól, 0,25 mól), majd hig vizes ecetsav-oldatot használunk. A kívánt terméket tartalmazó frakciókat egyesítjük és fagyaszttva szárítjuk. Amorf, fehér por formájában 0,281 g $\text{H}_3\text{C-CO-Ser-Asp-Ala-Ala-Val-Asp-Thr-Ser-Ser-Glu-Ile-Thr-Thr-Lys-Asp-Leu-Lys-Glu-Lys-Lys-Glu-Val-Val-Glu-Glu-Ala-Glu-Asn-t}$ (timozin α_1)₁ kapunk.

A fenti szintézissel előállított termék akrilamid-gélén végzett izoelektromos fókuszálás során a szarvasmarhathymusból elkülönített, természetes timozin α_1 -gyel azonosan vándorol [Proc. Natl. Acad. Sci. USA 74, 725 (1977)].

2. példa

7,23 g (27,8 mmól) Boc-Ala-Ala-OH 200 ml metanol és 20 ml víz elegyével készített oldathoz pH = 7,0 eléréséig 20%-os vizes Cs_2CO_3 -oldatot (kb. 30 ml) adunk, és a kapott, semleges kémhatású oldatot szárazra pároljuk. A maradékról 2 × 150 ml dimetilformamiddal párolunk le. A kapott kocsonyás anyaghoz 120 ml dimetilformamidot és 7,2 g (42 mmól) benzilbromidot adunk, és az elegyet 15 órán át keverjük. Az oldószert lepároljuk, és a maradékhoz 500 ml vizet adunk. Az olaj formájában kivált termék állás közben lassan megszilárdul. A terméket 400 ml etilacetátban felvesszük, az oldatot vízzel háromszor mossuk, nátriumszulfát fölött szárítjuk, és sziruppá bepároljuk. A szirupszerű maradék petroléteres kezelés hatására kristályosodni kezd. A terméket etilacetátból és petroléterből átkristályosítjuk. 7,2 g (73,8%) Boc-Ala-Ala-OBzl-t kapunk; op.: 71–73 °C.

6,0 g (17,15 mmól) Boc-Ala-Ala-OBzl-t 30 percig 380 ml frissen készített 4 n tetrahydrofurános sósavoldattal kezelünk. Az oldószert és a sav fölöslegét lepároljuk, és a szirupszerű maradékról két ízben friss tetrahydrofuránt párolunk le. A maradék éteres kezelés hatására azonnal megszilárdul. A terméket metanolból és éterből átkristályosítjuk. 4,30 g (76,4%) HCl · H-Ala-Ala-OBzl-t kapunk; $[\alpha]_D^{25} = -38,86^\circ$ (c = 1, metanol).

4,25 g (14,83 mmól) HCl · H-Ala-Ala-OBzl 60 ml dimetilformamiddal készített, 0 °C-os oldathoz 3,45 g (14,83 mmól) Boc-Asn-OH-t, 4,02 g (28,6 mmól) HOBT-t, 2 ml NMM-t és 3,37 g (16,35 mmól) DCC-t adunk, és az elegyet 2 órán át 0 °C-on, majd 20 órán át 25 °C-on keverjük. Az enyhén lúgos kémhatás fenntartására az elegyhez időről időre NMM-t adunk. A kivált oldhatatlan melléktermékeket kiszűrjük, és a szűrletet szárazra pároljuk. Az olajos maradék vizes kezelés hatására azonnal megszilárdul. A szilárd anyagot etilacetátban felvesszük, az oldatot vízzel háromszor mossuk, nátriumszulfát fölött szárítjuk, majd a kristályosodás megindulásáig bepároljuk. A koncentrátumhoz azonos térfogatú petrolétert adunk, és az elegyet éjszaka át állni hagyjuk. A nyers terméket tetrahydrofuránból és petroléterből átkristályosítjuk. 5,2 g (75,6%) Boc-Asn-Ala-Ala-OBzl-t kapunk; op.: 153–155 °C, $[\alpha]_D^{25} = -55,61^\circ$ (c = 1, metanol).

2,2 g (4,75 mmól) Boc-Asn-Ala-Ala-OBzl-t 30 percig 220 ml 4,0 n tetrahydrofurános sósavoldattal kezelünk. A sav fölöslegét és az oldószert lepároljuk, és a maradékról két ízben friss tetrahydrofuránt párolunk le. Az olajos maradék éteres kezelés hatására megszilárdul. A szilárd anyagot friss éterrel eldörzsöljük és leszűrjük. Az így kapott fehér, porszerű hidrokloridot (1,85 g) 40 ml dimetilformamidban oldjuk, az oldathoz 0 °C-on 1,97 g (4,75 mmól) $\text{H}_3\text{C-CO-Ser(Bzl)-OH-DCHA-t}$ adunk, és az elegyet 30 percig 0 °C-on keverjük. Ekkor megindul a diciklohexilamin-hidroklorid kiválása. Az elegyhez 1,19 g HOBT-t és 1,08 g (5,23 mmól) DCC-t adunk, néhány csepp NMM-el pH = 7,5 értékre lúgosítjuk, és 2 órán át 0 °C-on, majd éjszaka át 25 °C-on keverjük. Az oldhatatlan mellékterméket kiszűrjük, és a szűrletet bepároljuk. Enyhén színezett, szilárd maradékot kapunk. A maradékot vízzel és etilacetáttal alaposan mossuk, és a cserszínű, porszerű anyagot 40 ml dimetilformamidból és 500 ml izopropanolból kristályosítjuk. 1,57 g (56,9%) $\text{H}_3\text{C-CO-Ser(Bzl)-Asn-Ala-Ala-OBzl-t}$ kapunk; op.: 213–215 °C, $[\alpha]_D^{25} = -23,11^\circ$ (c = 1, DMSO).

1,57 g (2,69 mmól) $\text{H}_3\text{C-CO-Ser(Bzl)-Asn-Ala-Ala-OBzl}$ 20 ml dimetilformamiddal készített oldathoz 2 ml hidrazint adunk, és az elegyet 18 órán át keverjük. A kivált szilárd anyagot leszűrjük, és dimetilformamiddal, etanolal és éterrel alaposan mossuk. 1,22 g (89,6%) $\text{H}_3\text{C-CO-Ser(Bzl)-Asn-Ala-Ala-HNNH}_2$ -t kapunk; op.: 262–264 °C, $[\alpha]_D^{25} = -26,7^\circ$ (c = 1, DMSO).

0,698 g (0,358 mmól) Boc-Val-Asp(OBzl)-Thr(Bzl)-Ser(Bzl)-Ser(Bzl)-Glu(OBzl)-Ile-Thr(Bzl)-Thr(Bzl)-Lys(Z)-OH-t 30 percig 10 ml trifluorecetsavval kezelünk, és a peptidsót éterrel kicsapjuk. A sötét vákuumszűrőn leszűrjük, éterrel mossuk, és szárítjuk. 0,652 g (0,333 mmól) trifluorecetsavas sót kapunk.

Egy külön reakcióedényben 0,17 g (0,335 mmól) $\text{H}_3\text{C-CO-Ser(Bzl)-Asn-Ala-Ala-HNNH}_2$ -t 7 ml dimetilformamidban szuszpendálunk, és a szuszpenzióhoz –20 °C-on 0,27 ml 6,18 n tetrahydrofurános sósavoldatot adunk. Az elegyhez 0,68 ml 10%-os dimetilformamidos izoamilnitrit-oldatot adunk, és a kapott oldatot 30 percig ugyanezen a hőmérsékleten keverjük. Ezután az elegyet –30 °C-ra hűtjük, és 0,234 ml (1,67 mmól) $\text{Et}_3\text{N-t}$, majd 0,652 g, a fentiek szerint előállított dekaeptid-trifluoracetátot adunk hozzá. Az elegyet –20 °C-on 3 ml dimetilszulfoxiddal hígítjuk, és néhány csepp $\text{Et}_3\text{N-al}$ pH = 7,5-re lúgosítjuk. A reakcióelegyet 30 percig –20 °C-on, majd 5 napig 4 °C-on keverjük. Ezalatt az enyhén lúgos kémhatás fenntartására és a géleledés megakadályozására 5 ml dimetilszulfoxidot és $\text{Et}_3\text{N-t}$ adunk. A kapott oldatot 250 ml 5%-os vizes ecetsav-oldatba öntjük. A kivált fehér csapadékot leszűrjük, vízzel, metanolal és éterrel mossuk, majd szárítjuk. A kapott 0,702 g nyers terméket (op.: 290–291 °C) dimetilszulfoxidos oldatából metanolal újból kicsapjuk. 0,348 g (42,0%) $\text{H}_3\text{C-CO-Ser(Bzl)-Asn-Ala-Ala-Val-Asp(OBzl)-Thr(Bzl)-Ser(Bzl)-Ser(Bzl)-Glu(OBzl)-Ile-Thr(Bzl)-Thr(Bzl)-Lys(Z)-OH-t}$ kapunk; op.: 296–298 °C (bomlás), $[\alpha]_D^{25} = +3,77^\circ$ (c = 1, DMSO).

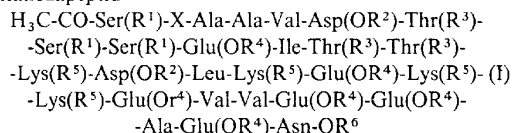
0,866 g (0,373 mmól), a fentiek szerint kapott termék, 0,126 g (0,82 mmól) HOBT · H_2O , 8 ml dimetilszulfoxid és 6 ml dimetilformamid elegyét jég-hűtés közben keverjük. Az elegyhez 0,085 g (0,411 mmól) DCC-t adunk, és 24 órán át 0 °C-on keverjük. Ezután az elegyhez 1,05 g (0,373 mmól), az 1. példa B. műveletsorozatának d) lépése szerint előállított tetradekaepetid-trifluoracetátot és 2 ml dimetilszulfoxidot adunk. Az elegyet néhány csepp NMM-el pH = 7,5–8,0 értékre lúgosítjuk, és 1 órán át 0 °C-on, majd 5 napig 25 °C-on keverjük. A reakcióelegyet az 1. példa B. műveletsorozatának d) lépésében közölték szerint dolgozzuk fel. 1,5775 g védett oktaokapeptidet, azaz $\text{H}_3\text{C-CO-Ser(Bzl)-Asn-Ala-Ala-Val-Asp(OBzl)-Thr(Bzl)-Ser(Bzl)-Ser(Bzl)-Glu(OBzl)-Ile-Thr(Bzl)-Thr(Bzl)-Lys(Z)-Asp(OBzl)-Leu-}$

-Lys(Z)-Glu(OBzl)-Lys(Z)-Lys(Z)-Glu(OBzl)-Val-Val-Glu(OBzl)-Glu(OBzl)-Ala-Glu(OBzl)Asn-OBzl-t kapunk.

1,57 g (0,32 mmól), a fentiek szerint kapott védett okta-kozeptidet 10 ml trifluoecetsav és 3 ml anizol elegyében oldunk. Az oldathoz 45 ml hidrogénfluoridot adunk, az elegyet 30 percig 0 °C-on keverjük, majd az 1. példa B. művelet-sorozatának d) lépésében közöltek szerint feldolgozzuk. A Sephadex G—10 és DEAE-Sephadex oszlopon végzett kromatografálás után fehér, amorf termékként 0,283 g H₃C-CO-Ser-Asn-Ala-Ala-Val-Asp-Thr-Ser-Ser-Glu-Ile-Thr-Thr-Lys-Asp-Leu-Lys-Glu-Lys-Lys-Glu-Val-Val-Glu-Glu-Ala-Glu-Asn-t [(Asn²)-timozin- α_1 -et] kapunk. A termék akrilamid-gélen végzett izoelektromos fókuszálás során a természetes timozin α_1 -nél kissé kevésbé savas jellegű anyagnak megfelelően mozdul el, ami jó összhangban van a szerkezeti eltéréssel.

Szabadalmi igénypontok

1. Eljárás timozin α_1 és (Asn²)-timozin α_1 előállítására azzal jellemezve, hogy valamely (I) általános képletű védett okta-kozeptid



— ahol

X Asn vagy Asp(OR²) csoportot jelent,

R¹ a szerin-maradék hidroxil-csoportjára felvihető szokásos védőcsoportot jelent,

R², R⁴ és R⁶ karboxil-csoportra felvihető szokásos védőcsoportot jelent,

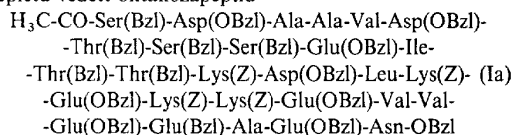
R³ a treonin-maradék hidroxil-csoportjára felvihető szokásos védőcsoportot jelent, és

5 R⁵ a lizin-maradék ω -amino-csoportjára felvihető szokásos védőcsoportot jelent —

védőcsoportjait lehasítjuk. (Elsőbbség: 1978. január 23.)

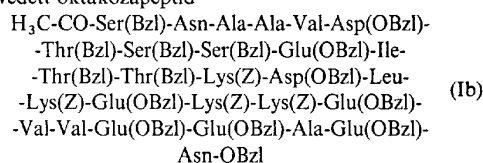
2. Eljárás timozin α_1 és (Asn²)-timozin α_1 előállítására azzal jellemezve, hogy

10 a) timozin α_1 előállítása esetén, valamely (Ia) általános képletű védett okta-kozeptid



15 — ahol Bzl benzil-csoportot és Z benziloxikarbonil-csoportot jelent — védőcsoportjait lehasítjuk; vagy

b) (Asn²)-timozin α_1 előállítása esetén, valamely (Ib) képletű védett okta-kozeptid



— ahol Bzl benzil-csoportot és Z benziloxikarbonil-csoportot jelent — védőcsoportjait lehasítjuk. (Elsőbbség: 1977. április 22.)

30 3. A 2. igénypont szerinti eljárás fogantatosítási módja timozin α_1 vagy (Asn²)-timozin α_1 előállítására, azzal jellemezve, hogy a védőcsoportokat vízmentes hidrogénfluoriddal hasítjuk le. (Elsőbbség: 1977. április 22.)