

(19) HU

MAGYAR  
NÉPKÖZTÁRSASÁG



ORSZÁGOS  
TALÁLMÁNYI  
HIVATAL

# SZABADALMI LEÍRÁS

B

(11) 189 127

A bejelentés napja: (22) 82. 03. 23.

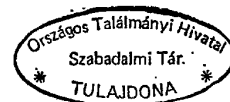
(21) 880/82

A bejelentés elsőbbsége: (33) (32) (31)  
US: 81. 03. 24. (247 008);  
81. 11. 16. (322 071)

A közzététel napja: (41) (42) 1983. 09. 28.

Megjelent: (45) 1988. 04. 29.

Nemzetközi  
osztályjelzet:  
(51) NSZO,  
C 07 K 7/16



Feltaláló(k): (72)

MANNING Maurice, egyetemi tanár, Toledo, SAWYER Wilbur Henderson, egyetemi tanár, Scarsdale, US

Szabadalmas: (73)

Medical College of Ohio, Toledo, 67%, The Trustees of Columbia University, New York, 33%, US

(54) **ELJÁRÁS AZ ARGININ-VAZOPRESSZIN ANTIDIURETIKUS ÉS/VAGY VAZOPRESSZOR HATÁSÁT ANTAGONIZÁLÓ ÚJ OKTAPÉPTID-SZÁRMAZÉKOK ELŐÁLLÍTÁSÁRA**

(57) KIVONAT

A találmány tárgya eljárás a (VIII) általános képletű, ahol

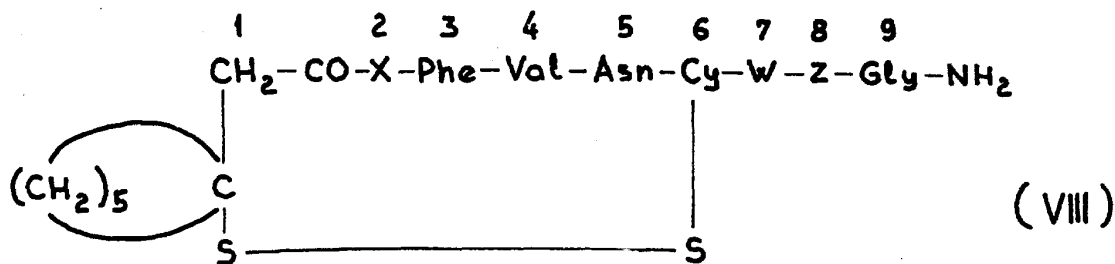
X jelentése Tyr(X'), D-Phe, D-Val, D-Leu, D-Ile, D-Arg, ahol a tirozin D- vagy L-konfigurációjú,

W jelentése L-Pro,

Z jelentése D- vagy L-Arg, és

X' hidrogénatom, metil-, etil-, n-propil-, izopropil- vagy butilcsoport, oktapeptid-származékok előállítására.

A találmány szerinti eljárás során (VI) általános képletű, a peptidkémiaiában ismert módon védett  $\beta$ -(S-benzil-merkaptó)- $\beta$ , $\beta$ -ciklopentametilén-propionil-oktapeptid-amidot a peptidkémiaiában ismert módon redukálunk, majd a keletkezett két merkaptocsoportot tartalmazó oktapeptidet oxidatív úton gyűrűzárásnak vetünk alá.



A találmány tárgya eljárás olyan új peptidek előállítására, amelyek antagonizálják az arginin-vazopresszin in vivo (az élő szervezetben megmutató) antidiuretikus (a diurézist, más szóval a vízajtást gátló) és/vagy vazopresszor (érszűkítő) hatását (más szóval az arginin-vazopresszin említett hatásaival ellentétesen hatnak).

Az arginin-vazopresszin, más néven antidiuretikus hormon (rövidítése: ADH) in vivo antidiuretikus és/vagy vazopresszor hatását antagonizáló, klinikailag alkalmazható, szintetikus vegyületek keresése során a neurohipofízisben (az agyalapi mirigy hátsó lebenyében) található két peptid, az oxitocin és vazopresszin többszáz analógját állították elő, és elvégezték ezek farmakológiai vizsgálatát is.

Az antidiuretikus hormon in vivo vazopresszor hatását hatékonyan antagonizáló analógokat írtak le az alábbi szerzők:

Dyckes és munkatársai, *J. Med. Chem.* 17 (1974), 250;

Manning és munkatársai, *J. Med. Chem.* 20 (1977), 1228;

Bankowski és munkatársai, *J. Med. Chem.* 21 (1978), 850;

Kruszynski és munkatársai, *J. Med. Chem.* 23 (1980), 364 és

Lowbridge és munkatársai, *J. Med. Chem.* 21 (1978); 313; e közleményekre itt utalunk.

Kruszynski és munkatársai leírták, hogy az [1-( $\beta$ -merkaptó- $\beta$ , $\beta$ -ciklopentametilénpropionsav), 2-(0-metil)-tirozin]-arginin-vazopresszin és az [1-( $\beta$ -merkaptó- $\beta$ , $\beta$ -ciklopentametilénpropionsav)-arginin]-vazopresszin hatékony vazopresszor-antagonisták, és emellett igen csekély az antidiuretikus hatásuk.

Manning és munkatársai (1977) leírták az [1-dezaminopenicillamin, 4-valin, 8-D-arginin]-vazopresszin előállítását, Lowbridge és munkatársai pedig az [1-( $\beta$ -merkaptó- $\beta$ , $\beta$ -ciklopentametilénpropionsav), 4-valin, 8-D-arginin]-vazopresszin előállítását. E két vegyület gyenge antidiuretikus hatással rendelkezik, és hatékonyan antagonizálják az arginin-vazopresszin érszűkítő hatását.

A vazopresszinnek és oxitocinnak az antidiuretikus hormon hatását antagonizáló analógjait írtak le az alábbi szerzők:

Chan és munkatársai, *Science*, 161 (1968), 280 és *J. Pharmacol. Exp. Ther.*, 174 (1970), 541, továbbá 196 (1976), 746; Nestor és munkatársai, *J. Med. Chem.*, 18 (1975), 1022 és Larsson és munkatársai, *J. Med. Chem.*, 21 (1978), 746, e közleményekre itt utalunk. A leírt vegyületek közül egyiket sem lehetett farmakológiailag vagy klinikailag az antidiuretikus hatás antagonistájaként alkalmazni.

Sawyer és munkatársai [*Science*, 212 (1981), 49], valamint Manning és munkatársai [*J. Med. Chem.*, 24 (1981), 701] leírták olyan vazopresszin-analóg előállítását és vizsgálatát, amelyekben a 2-es helyzetben éteresített tirozint, a 4-es helyzetben valint és a 8-as helyzetben D- vagy L-arginint tartalmaznak, e vegyületek in vivo antagonizálják az antidiuretikus hormon hatását, e közleményekre itt utalunk.

Szintetikus vazopresszin-analógokat írtak le az alábbi amerikai szabadalmi leírásokban:

3 371 080 Boissonnas és munkatársai,

3 415 805 Siedel és munkatársai,

3 418 307 Boissonnas és munkatársai,

3 454 549 Boissonnas és munkatársai,

3 497 491 Zaoral,

4 148 787 Mulder és munkatársai.

Ezek közül a 3 371 080 számú amerikai szabadalmi leírásban Boissonnas és munkatársai leírták, hogy a 2-fenil-alanin-8-ornitin-vazopresszinnek a természetes vazopresszinnel azonos erősségű érszűkítő hatása van, viszont antidiuretikus hatása csekély. Az említett többi szabadalmi leírás olyan szintetikus vazopresszin-analógok előállítását ismerteti, amelyeknek erős vagy viszonylag specifikus antidiuretikus hatásuk van.

Az oxitocin szintetikus analógjainak előállítását ismerteti Manning a 3 691 147 számú és a 3 700 652 számú amerikai szabadalmi leírásokban.

Nyilvánvaló tehát, hogy szükség van az arginin-vazopresszin antidiuretikus hatását farmakológiailag és klinikailag hatékonyan antagonizáló szerekre.

Célkitűzésünk az volt, hogy az antidiuretikus hormon antidiuretikus hatását in vivo körülmények között antagonizáló hatóanyagokat keressünk. További célunk az volt, hogy az antidiuretikus hormon érszűkítő hatását antagonizáló szereket keressünk, amelyeknek antidiuretikus hatása csekély.

A találmány tárgya eljárás az antidiuretikus hormon antidiuretikus hatását antagonizáló új vegyületek előállítására, e vegyületek az (I) általános képlettel, ahol

X' jelentése metil-, etil-, n-propil-, izopropil- vagy butilcsoport; a tirozin D- vagy L-konfigurációjú;

W jelentése L-Pro és

Z jelentése L- vagy D-Arg, jellemezhetjük.

A találmány tárgya továbbá az arginin-vazopresszin antidiuretikus hatását antagonizáló, (II) általános képletű, ahol

X jelentése D-Phe, D-Val, D-Leu, D-Ile, D-Arg, és

Z jelentése D- vagy L-Arg, vegyületek előállítására.

A találmány szerinti vegyületek alkalmazhatók az antidiuretikus hormon in vivo hatásának antagonizálására, oly módon, hogy valamely állatot a találmány szerinti, fent említett vegyületek valamelyikének az antidiuretikus hormon antidiuretikus hatásának antagonizálásához szükséges mennyiségével kezelünk, mégpedig oly módon, hogy a hatóanyagot valamely élettanilag és gyógyászatilag elfogadható vivőanyaggal keverve adjuk be.

A találmány tárgya továbbá eljárás az antidiuretikus hormon vazopresszor hatását antagonizáló, (III) általános képletű, ahol

X' jelentése hidrogénatom, metil- vagy etilcsoport és

Z jelentése L- vagy D-Arg, vegyületek előállítására. E vegyületeket arra használhatjuk, hogy a kezelt állatban a vazopresszor hormon érszűkítő hatását in vivo körülmények között antagonizáljuk.

A leíráshoz csatolt rajzok magyarázata:

A találmány szerinti valamely vegyülettel intra-peritoneálisan (a hasüregbe adva) kezelt patkányok vizeletének ozmolalitása az idő függvényében.

2. ábra: a találmány szerinti valamely vegyülettel kezelt patkányok vizelet-ürítése az idő függvényében.

A találmány szerinti vegyületek az arginin-vazopresszin (rövidítése: AVP) származékai. A bennük szereplő aminosavak L-konfigurációjúak, illetve az ettől való eltérést külön jelezzük. A jelen leírásban az alábbi rövidítéseket alkalmazzuk:

dAVP:	1-dezamino-arginin-vazopresszin
dPAVP:	[1-dezamino-penicillamin]-arginin-vazopresszin
d(CH <sub>2</sub> ) <sub>5</sub> AVP:	[1-(β-merkaptó-β,β-ciklopentametilén-propionsav)]-arginin-vazopresszin
dVDAVP:	1-dezamino-[4-valin, 8-D-arginin]-vazopresszin
dPVDAVP:	[1-dezamino-penicillamin, 4-valin, 8-D-arginin]-vazopresszin
d(CH <sub>2</sub> ) <sub>5</sub> VDAVP:	[1-(β-merkaptó-β,β-ciklopentametilén-propionsav), 4-valin, 8-D-arginin]-vazopresszin
dTyr(Me)AVP:	1-dezamino-[2-(O-metil-tirozin)]-arginin-vazopresszin
dPTyr(Me)AVP:	[1-dezamino-penicillamin, 2-(O-metil-tirozin)]-arginin-vazopresszin
d(CH <sub>2</sub> ) <sub>5</sub> Tyr(Me)VDAVP:	[1-(β-merkaptó-β,β-ciklopentametilén-propionsav), 2-(O-metil-tirozin, 4-valin, 8-D-arginin)-vazopresszin
d(CH <sub>2</sub> ) <sub>5</sub> Tyr(Et)VDAVP:	[1-(β-merkaptó-β,β-ciklopentametilén-propionsav), 2-(O-etil-tirozin, 4-valin, 8-D-arginin)-vazopresszin
d(CH <sub>2</sub> ) <sub>5</sub> Tyr(Me)VAVP:	[1-(β-merkaptó-β,β-ciklopentametilén-propionsav), 2-(O-metil-tirozin, 4-valin]-arginin-vazopresszin
d(CH <sub>2</sub> ) <sub>5</sub> Tyr(Et)VAVP:	[1-(β-merkaptó-β,β-ciklopentametilén-propionsav), 2-(O-etil-tirozin, 4-valin]-arginin-vazopresszin
d(CH <sub>2</sub> ) <sub>5</sub> Tyr(i-Pr)VDAVP:	[1-(β-merkaptó-β,β-ciklopentametilén-propionsav), 2-O-(izopropil)-tirozin, 4-valin-8-D-arginin]-vazopresszin
d(CH <sub>2</sub> ) <sub>5</sub> Tyr(n-Pr)VDAVP:	[1-(β-merkaptó-β,β-ciklopentametilén-propionsav), 2-(O-n-propil)-tirozin, 4-valin, 8-D-arginin]-vazopresszin
d(CH <sub>2</sub> ) <sub>5</sub> Tyr(i-Pr)VAVP:	[1-(β-merkaptó-β,β-ciklopentametilén-propionsav), 2-(O-izopropil)-tirozin, 4-valin]-arginin-vazopresszin
d(CH <sub>2</sub> ) <sub>5</sub> Tyr(Et)V(Δ <sup>3</sup> -Pro) <sup>7</sup> AVP:	[1-(β-merkaptó-β,β-ciklopentametilén-propionsav), 2-(O-etil)-

5	d(CH <sub>2</sub> ) <sub>5</sub> -D-Tyr VDAVP:	-tirozin, 4-valin, 7-(3,4-dehidro-prolin)]-arginin-vazopresszin [1-(β-merkaptó-β,β-ciklopentametilén-propionsav), 2-D-tirozin, 4-valin, 8-D-arginin]-vazopresszin
10	d(CH <sub>2</sub> ) <sub>5</sub> -D-Tyr VAVP:	1-[(β-merkaptó-β,β-ciklopentametilén-propionsav), 2-D-tirozin, 4-valin]-arginin-vazopresszin
15	d(CH <sub>2</sub> ) <sub>5</sub> -D-Phe <sup>2</sup> VDAVP:	[1-(β-merkaptó-β,β-ciklopentametilén-propionsav), 2-D-fenil-alanin, 4-valin, 8-D-arginin]-vazopresszin
20	d(CH <sub>2</sub> ) <sub>5</sub> -D-Phe VAVP:	[1-(β-merkaptó-β,β-ciklopentametilén-propionsav), 2-D-fenil-alanin, 4-valin]-arginin-vazopresszin
25	d(CH <sub>2</sub> ) <sub>5</sub> -Gly <sup>2</sup> VAVP:	[1-(β-merkaptó-β,β-ciklopentametilén-propionsav), 2-glicin, 4-valin]-arginin-vazopresszin
30	d(CH <sub>2</sub> ) <sub>5</sub> -D-Ala <sup>2</sup> VAVP:	[1-(β-merkaptó-β,β-ciklopentametilén-propionsav), 2-D-alanin, 4-valin]-arginin-vazopresszin
35	d(CH <sub>2</sub> ) <sub>5</sub> -D-Val <sup>2</sup> VAVP:	[1-(β-merkaptó-β,β-ciklopentametilén-propionsav), 2-D-valin, 4-valin]-arginin-vazopresszin
40	d(CH <sub>2</sub> ) <sub>5</sub> -D-Leu <sup>2</sup> VAVP:	[1-(β-merkaptó-β,β-ciklopentametilén-propionsav), 2-D-leucin, 4-valin]-arginin-vazopresszin
45	d(CH <sub>2</sub> ) <sub>5</sub> -D-Ile <sup>2</sup> VAVP:	[1-(β-merkaptó-β,β-ciklopentametilén-propionsav), 2-D-izoleucin, 4-valin]-arginin-vazopresszin
50	d(CH <sub>2</sub> ) <sub>5</sub> -D-Arg <sup>2</sup> VAVP:	[1-(β-merkaptó-β,β-ciklopentametilén-propionsav), 2-D-arginin, 4-valin]-arginin-vazopresszin.
55		Az aktív peptideket az alábbi közleményekben leírt, szilárd fázisú szintézissel állítottuk elő: Bankowsky és munkatársai (1978), lásd fent; Merrifield, <i>J. Am. Chem. Soc.</i> , <b>85</b> (1963), 2149 és <i>Biochemistry</i> , <b>3</b> (1964), 1385; Manning, <i>J. Am. Chem. Soc.</i> , <b>90</b> (1968), 1348; Manning és munkatársai, <i>J. Med. Chem.</i> , <b>19</b> (1976), 376; Lowbridge és munkatársai, <i>J. Med. Chem.</i> , <b>20</b> (1977), 1173; Manning és munkatársai, <i>J. Med. Chem.</i> , <b>16</b> (1973), 975; Kruszynski és munkatársai (1980), lásd fent; Sawyer és munkatársai (1981), lásd fent; és Manning és munkatársai (1981), lásd fent.
60		E módszerrel előállíthatók olyan peptidek is, amelyek a 7-es helyzetben 3,4-dehidro-prolint tartalmaznak. A 3,4-dehidro-prolinnak peptidekbe való beépítését Felix és munkatársai [ <i>J. Peptide Protein Res.</i> , <b>10</b> (1977), 299] és Botos és munkatársai [ <i>J. Med. Chem.</i> , <b>22</b> (1979), 926] írták le.
65		Az arginin-vazopresszin antidiuretikus hatását antagonizáló vegyületek keresésére irányuló kuta-

tások elején Manning és munkatársai [(1977), lásd fent] előállították az [1-dezamino-penicillamin, 4-valin, 8-D-arginin]-vazopresszint [d(PVDAVP), Lowbridge és munkatársai pedig [(1978), lásd fent] az [1-( $\beta$ -merkaptó- $\beta$ , $\beta$ -ciklopentametilénpropionsav), 4-valin, 8-D-arginin]-vazopresszint [d(CH<sub>2</sub>)<sub>5</sub>VDAVP].

E vegyületek tervezése során a Manning és munkatársai által előállított [J. Med. Chem., 16 (1973), 975], erős és szelektív antidiuretikus hatást mutató 1-dezamino-[4-valin, 8-D-arginin]-vazopresszin (dVDAVP) egyes helyzetében lévő aminosav  $\beta$ -szénatomján lévő két hidrogénatomot két metilcsoporttal, illetve egy ciklopentametilén-csoporttal helyettesítették. E helyettesítő csoportokról korábban kimutatták, hogy a nagyon erős oxitocin-agonista hatású 1-dezamino-oxitocint (dOT) az oxitocin hatását hatékonyan antagonizáló szerekké alakítják át, így állították elő az [1-dezamino-penicillamin]-oxitocint (dPOT) és az [1-( $\beta$ -merkaptó- $\beta$ , $\beta$ -ciklopentametilénpropionsav)]-oxitocint [d(CH<sub>2</sub>)<sub>5</sub>OT]. Lásd Hope és munkatársai, J. Biol. Chem., 237 (1962), 1563; Schulz és munkatársai, J. Med. Chem., 9 (1966), 647; és Nestor és munkatársai, J. Med. Chem., 18 (1975), 284.

Meglepő módon sem az [1-dezamino-penicillamin, 4-valin, 8-D-arginin]-vazopresszin, sem az [1-( $\beta$ -merkaptó- $\beta$ , $\beta$ -ciklopentametilén-propionsav), 4-valin, 8-D-arginin]-vazopresszin nem antagonizálta az arginin-vazopresszin antidiuretikus hatását, habár az [1-dezamino-[4-valin, 8-D-arginin]-vazopresszin hatásához képest 0,1-szeres, illetve mindössze 0,0001-szeres antidiuretikus hatást mutattak. Ezzel szemben mindkét vegyület hatékonyan antagonizálta az arginin-vazopresszin vazopresszor hatását, e hatás mértékét a pA<sub>2</sub>-értékkel jellemezzük. A pA<sub>2</sub>-érték valamely antagonistá hatású vegyület átlagos moláris koncentrációjának 10-es alakú negatív logaritmus, amely egy adott agonista specifikus biológiai válasz-reakcióját felére csökkenti. Az [1-dezamino-penicillamin, 4-valin, 8-D-arginin]-vazopresszin és az [1-( $\beta$ -merkaptó- $\beta$ , $\beta$ -ciklopentametilén-propionsav), 4-valin, 8-D-arginin]-vazopresszin antivazopresszor pA<sub>2</sub>-értékei: 7,82, illetve 7,68.

E két vazopresszor-antagonista, az [1-dezamino-penicillamin, 4-valin, 8-D-arginin]-vazopresszin és az [1-( $\beta$ -merkaptó- $\beta$ , $\beta$ -ciklopentametilén-propionsav), 4-valin, 8-D-arginin]-vazopresszin felfedezése vezetett oda, hogy az arginin-vazopresszin további analógjainál is bevezették az 1-es helyzetben a  $\beta$ , $\beta$ -dimetil- és a  $\beta$ , $\beta$ -ciklopentametilén-helyettesítőket. E helyettesítők bevezetésével, továbbá a rendkívül aktív antidiuretikus és vazopresszor agonista 1-dezamino-arginin-vazopresszin 2-es helyzetében az O-metil-tirozin beépítésével azt kívánták elérni, hogy az [1-dezamino-penicillamin, 4-valin, 8-D-arginin]-vazopresszinnél és az [1-( $\beta$ -merkaptó- $\beta$ , $\beta$ -ciklopentametilén-propionsav), 4-valin, 8-D-arginin]-vazopresszinnél is hatékonyabb és szelektívebb hatású antivazopresszor peptideket állítsanak elő. Lásd Huguenin és munkatársai, Helv. Chem. Acta., 49 (1966), 695; Manning és munkatársai, J. Med. Chem., 19 (1976) 842 és Law és munkatársai, J. Am. Chem. Soc., 82 (1960), 4579.

A d(CH<sub>2</sub>)<sub>5</sub>Tyr(alkil)VAVP típusú antidiuretikus antagonisták felfedezése nyomán [Sawyer és munkatársai (1981), lásd fent; Manning és munkatársai (1981), lásd fent] további, a 2-es helyzetben helyettesített analógokat is előállítottak. A különböző O-alkil-D-tirozin-analógok különösen erősen antagonizálták az antidiuretikus hatást, lásd Manning és munkatársai, a Peptides, Structure, Function (Peptidek, szerkezet, funkció), szerkesztette: Dan H. Rich és E. Gross, Pierce Chemical Co. (leközlés alatt), és J. Med. Chem. (leközlés alatt). Az [1-( $\beta$ -merkaptó- $\beta$ , $\beta$ -ciklopentametilén-propionsav), 4-valin, 8-D-arginin]-vazopresszin és az [1-( $\beta$ -merkaptó- $\beta$ , $\beta$ -ciklopentametilén-propionsav), 4-valin]-arginin-vazopresszin alkilezeten D-tirozint tartalmazó izomerjeiről, vagyis az [1-( $\beta$ -merkaptó- $\beta$ , $\beta$ -ciklopentametilén-propionsav), 2-D-tirozin, 4-valin, 8-D-arginin]-vazopresszinnél és az 1-( $\beta$ -merkaptó- $\beta$ , $\beta$ -ciklopentametilén-propionsav), 2-D-tirozin, 4-valin]-arginin-vazopresszinnél kimutatták, hogy antagonizálják az antidiuretikus hatást. Az antidiuretikus hatást antagonizáló aktivitás erősségének és szelektivitásának növelése reményében állítottuk elő az [1-( $\beta$ -merkaptó- $\beta$ , $\beta$ -ciklopentametilén-propionsav), 2-D-tirozin, 4-valin, 8-D-arginin]-vazopresszin 1-( $\beta$ -merkaptó- $\beta$ , $\beta$ -ciklopentametilén-propionsav), 2-D-tirozin, 4-valin]-arginin-vazopresszin jelen találmány szerinti olyan analógjait, amelyek a 2-es helyzetben D-tirozin helyett más, D-aminosavakat tartalmaznak.

Bankowski és munkatársai (1978), lásd fent, meglepő módon azt találták, hogy az [1-dezamino-penicillamin]-arginin-vazopresszin és az [1-dezamino-penicillamin, 2-(O-metil)-tirozin]-arginin-vazopresszin közül az [1-dezamino-penicillamin]-arginin-vazopresszin kevésbé hatásos, mint akár az [1-dezamino-penicillamin, 4-valin, 8-D-arginin]-vazopresszin, akár az [1-( $\beta$ -merkaptó- $\beta$ , $\beta$ -ciklopentametilén-propionsav), 4-valin, 8-D-arginin]-vazopresszin, viszont az [1-dezamino-penicillamin, 2-(O-metil)-tirozin]-arginin-vazopresszin antivazopresszor aktivitására jellemző pA<sub>2</sub>-érték: 7,96, ez volt az addig ismert leghatékonyabb antivazopresszor hatású peptid.

Az 1-dezamino-arginin-vazopresszinbe a  $\beta$ , $\beta$ -ciklopentametilén-csoportot és O-metil-tirozint beépítve kívántuk az antivazopresszor hatást erősíteni. E céllal állítottuk elő a jelen találmány szerinti eljárással az [1-( $\beta$ -merkaptó- $\beta$ , $\beta$ -ciklopentametilén-propionsav), 2-(O-metil)-tirozin]-arginin-vazopresszint [d(CH<sub>2</sub>)<sub>5</sub>Tyr(Me)AVP]. E vegyület nagyon erős antivazopresszor hatást, és ugyanakkor nagyon gyenge antidiuretikus hatást mutat, hasonlóan a metilezeten 2-tirozin-származékhoz [1-( $\beta$ -merkaptó- $\beta$ , $\beta$ -ciklopentametilén-propionsav)]-arginin-vazopresszinhez [d(CH<sub>2</sub>)<sub>5</sub>AVP].

Az arginin-vazopresszin antidiuretikus hatását antagonizáló, a jelen találmány szerinti vegyületek az 4-valin-8-arginin-vazopresszin-analógok közé tartoznak, és az (V) általános képlettel jellemezhetők, ahol az (V) általános képletben a tirozin lehet D- vagy L-konfigurációjú, és X' és Z jelentése:

X'	Z
Me	D-Arg
Et	D-Arg
Me	L-Arg
Et	L-Arg
i-Pr	D-Arg
n-Pr	D-Arg
i-Pr	L-Arg
n-Pr	L-Arg
Bu	L- vagy D-Arg.

Az (V) általános képletű vegyületek szerkezeti rokonságban állnak egy korábban leírt, az antidiuretikus hormon vazopresszor hatását antagonizáló vegyülettel, az [1-( $\beta$ -merkaptó- $\beta$ , $\beta$ -ciklopentametilén-propionsav), 4-valin, 8-D-arginin]-vazopresszinnel [Lowbridge és munkatársai (1978)]. Az említett vegyület in vivo körülmények között nem antagonizálta ugyan az antidiuretikus hormon antidiuretikus hatását, viszont in vitro körülmények között kompetitíve antagonizálta a vese velőállományában jelenlévő cikláz-enzimnek az antidiuretikus hormon hatására bekövetkező aktiválását. [Butlen és munkatársai, *Mol. Pharmacol.*, 14 (1978), 1006]. Larsson és munkatársai (1978, lásd fent) munkája ugyancsak azt jelezte, hogy az ilyen típusú peptideket könnyen átalakíthatjuk az antidiuretikus hatást in vivo körülmények között antagonizáló vegyületekké oly módon, hogy O-alkil-tirozint építünk e vegyületekbe.

A találmány szerinti ezen vegyületeket a szokásos mennyiségű vízzel ellátott, éber patkányoknak intraperitoneálisan (a hasüregbe) adagolva kimutattuk, hogy ha az (V) általános képletű vegyületek 2-es helyzetébe (O-etil)-tirozint építünk be, akkor hatékonyabb vegyületeket kapunk, mint a megfelelő (O-metil)-tirozin beépítése esetében.

Azon (V) általános képletű vegyületek, amelyek (O-propil)-tirozint tartalmaznak, ugyancsak figyelemreméltóan antagonizálják az antidiuretikus hormont. Az antidiuretikus hormon eddig ismert leghatékonyabb antagonistája egy (O-etil)-tirozint tartalmazó (VI) általános képletű vegyület. A 8-L-arginin-analógok a hatékonyabbak, mint megfelelő 8-D-arginin-analógok.

Úgy tűnik, hogy az [1-( $\beta$ -merkaptó- $\beta$ , $\beta$ -ciklopentametilén-propionsav), 2-(O-etil)-tirozin, 4-valin]-arginin-vazopresszin nagy dózisa majdnem teljesen gátolja az endogén (a szervezetben keletkező) antidiuretikus hormon antidiuretikus hatását. Így például [1-( $\beta$ -merkaptó- $\beta$ , $\beta$ -ciklopentametilén-propionsav), 2-(O-etil)-tirozin, 4-valin]-arginin-vazopresszin 30  $\mu$ /kg-os dózisa a beadást követő második órában ürített vizelet mennyiségét 27 ml/kg-ra növelte. Az antidiuretikus hormont egyáltalán nem termelő Brattleboro-törzssel homozigóta nőstény patkányok spontán vizelet ürítése óránként 32 ml/kg [Sawyer és munkatársai, *Endocrinology*, 95 (1974), 140].

A kismértékű szerkezeti változtatások jelentőségét mutatja, hogy az [1-( $\beta$ -merkaptó- $\beta$ , $\beta$ -ciklopentametilén-propionsav), 2-(O-etil)-tirozin, 4-valin]-arginin-vazopresszin  $\beta$ , $\beta$ -dimetil-analógjai intravénás adagolásban a patkányokon végzett antidiure-

tikus teszten nem mutatnak kimutatható antagonistát. A 4-valin jelenléte ugyancsak hozzájárul az antagonistához; ha az [1-( $\beta$ -merkaptó- $\beta$ , $\beta$ -ciklopentametilén-propionsav), 2-(O-etil)-tirozin, 4-valin]-arginin-vazopresszin 4-es helyére valin helyett glutamint építünk be, akkor az antagonistát hatás megszűnik.

A 4-es helyzetben glutamint tartalmazó, találmány szerinti azon vegyületeket, amelyek az arginin-vazopresszin érszűkítő hatását antagonizálják, arra használhatjuk, hogy farmakológiai tanulmányokat végezzünk arra nézve, mi a szerepe az arginin-vazopresszinnel a vérnyomás szabályozásában, normális és kóros körülmények között. Klinikailag e vegyületeket diagnosztikai szerekként, valamint a kórosan magas vérnyomás kezelésére használhatjuk. E vegyületeket gyógyászati célokra ugyanúgy használjuk, mint a Captopril nevű, a kórosan magas vérnyomás kezelésére használható gyógyszert [D. B. Case és munkatársai, *Progress in Cardiovascular Diseases*, 21 (1978), 195].

Az (V) általános képletű vegyületek nagyon hatékonyan antagonizálják az antidiuretikus hormon antidiuretikus hatását. Ezért e vegyületeket arra használhatjuk, hogy farmakológiai tanulmányokat végezzünk velük arra nézve, milyen mértékben játszik szerepet az antidiuretikus hormon bizonyos, víz-retenciával járó kóros állapotok létrejöttében. Megfontolandó továbbá, hogy e vegyületek hatékony és specifikus szerek lehetnek az antidiuretikus hormon nem megfelelő kiválasztásával kapcsolatos tünetegyüttes, vagyis a Schwarz-Bartter-szindróma kezelésében. Ez a szindróma számos betegséget komplikálhat, például rákot, tüdőmegbetegedéseket, koponyamegbetegedéseket és fejsérüléseket [Bartter és munkatársai, *Am. J. Med.* 42 (1967), 790].

Azt találtuk, hogy az [1-( $\beta$ -merkaptó- $\beta$ , $\beta$ -ciklopentametilén-propionsav), 4-valin]-arginin-vazopresszin egyes olyan származékai, amelyek a 2-es helyzetben tirozintól eltérő, és az alaninnál nagyobb méretű D-aminosavat tartalmaznak, hatékonyabban antagonizálják az arginin-vazopresszin antidiuretikus hatását, mint azok a vegyületek, amelyek az [1-( $\beta$ -merkaptó- $\beta$ , $\beta$ -ciklopentametilén-propionsav), 4-valin]-arginin-vazopresszin vagy az [1-( $\beta$ -merkaptó- $\beta$ , $\beta$ -ciklopentametilén-propionsav), 4-valin, 8-D-arginin]-vazopresszin 2-es helyzetében D- vagy L-tirozin-étereket vagy D-tirozint tartalmaznak.

A találmány szerinti előnyös vegyületek azok, amelyekben Z Arg és X D-Phe, D-Val, D-Leu vagy D-Ile van.

A találmány szerinti vegyületeket a szokásos vízmennyiséggel ellátott, éber patkányoknak, valamint etanollal altatott, vízterhelés alatt álló patkányoknak intravénásan beadva kimutattuk, hogy az X helyén D-Phe, D-Val, D-Leu vagy D-Ile csoportokat tartalmazó vegyületek  $pA_2$ -értékei igen magasak, és a hatás kifejtéséhez szükséges dózisaik azonosak vagy alacsonyabbak, mint az eddig ismert leghatékonyabb vegyületeknek a hatás kifejtéséhez szükséges dózisaik.

Az X szubsztituensként D-Phe, D-Val, D-Leu vagy D-Ile csoportokat tartalmazó, és Z csoport-

ként Arg-t tartalmazó vegyületek tisztán antagonizálják az anti-diuretikus hatást, más szóval e vegyületek nem mutatnak átmeneti anti-diuretikus agnosta hatást. Továbbá, e vegyületek hatása szelektívebb, miután, mint az ismert, hasonló hatású szerké, ugyanis az anti-diuretikus hormont antagonizáló hatásuk sokkal erősebb, mint antivazopresszor hatásuk.

A találmány szerinti vegyületeket a szokásos hígítószerrel keverve adagolhatjuk, e hígítószernek élettanilag és gyógyászatilag elfogadható szerves vagy szervetlen vívíóanyagok, amelyeket parenterálisan (a gyomor- és bélrendszer megkerülésével) vagy enterálisan (a gyomor- és bélrendszeren keresztül) adagolhatunk, és amelyek nem lépnek káros kölcsönhatásba a hatóanyagokkal.

Alkalmos, gyógyászatilag elfogadható vívíóanyagok például a víz, só-oldatok, alkoholok, növényi olajok, polietilén-glikolok, zselatin, laktóz, amilóz, magnézium-sztearát, talkum, kovasav, viszkózus paraffin, parfüm-olaj, zsírsavak monogliceridjei és digliceridjei, pentaeritrit zsírsav-észterei, hidroximetil-cellulóz, polivinil-pirrolidon és más hasonlók. A gyógyászati készítményeket sterilizálhatjuk, és kívánt esetben segédanyagokat adhatunk hozzájuk, ilyen segédanyagok például a csúsztatószer, konzerválószer, stabilizálószer, nedvesítőszerek, emulgeálószer, az ozmózisnyomást befolyásoló sók, pufferek, színezőanyagok, ízesítőanyagok és/vagy aromaanyagok és más hasonlók, amelyek nem gyakorolnak káros hatást a hatóanyagra.

Parenterális és intranazális (az orron keresztül való) adagolásra különösen alkalmasak az oldatok, előnyösen a vizes oldatok, továbbá a szuszpenziók, emulziók vagy beültetésre szánt készítmények, beleértve a kúpokat is. Alkalmos dózis-egységformák az ampullák.

A találmány szerinti vegyületeket például adagolhatjuk embernek vagy haszonállatoknak, kedvtelésből tartott állatoknak, szarvasmarháknak, macskának és kutyának. A hatóanyagoknak a diuretikus hatás kifejtéséhez szükséges dózist parenterálisan beadhatjuk naponta egyszeri dózisként, vagy több részre felosztva.

A jelen találmány szerinti, az anti-diuretikus hatást antagonizáló vegyületeket előnyösen parenterálisan vagy intranazálisan adagoljuk, e vegyületek különösen jól alkalmazhatók bármilyen eredetű víz-retencióban szenvedő emberek kezelésében. Élettani hatásuk kifejtése céljából e vegyületeket lényegében ugyanúgy adagolhatjuk, mint az ismert oxitocint és vazopresszint.

Nyilvánvaló, hogy a hatóanyag tényleges, előnyösen alkalmazandó mennyisége az alkalmazni kívánt vegyülettől, a gyógyszerformától, az alkalmazás módjától és a kezelni kívánt szervezettől függ. A szakmában járatos szakemberek előtt ismeretes, hogyan kell adott körülmények között a szokásos dózis-meghatározási módszerekkel, a fenti irányelvek alapján a legmegfelelőbb dózist meghatározni.

A találmány szerinti, az anti-diuretikus hatást antagonizáló, előnyös vegyület az [1-( $\beta$ -merkaptó- $\beta$ , $\beta$ -ciklopentametilén-propionsav), 2-(O-etil)-tiro-

zin, 4-valin]-arginin-vazopresszin, legelőnyösebb a 8-L-arginin-származék.

További előnyös vegyületek azok, ahol X jelentése D-Phe, D-Val, D-Leu vagy D-Ile és Z jelentése L-Arg. Legelőnyösebbek a D-Ile- és a D-Phe-származékok.

Úgy véljük, hogy a szakemberek a fenti leírás alapján, a téma további részletes kifejtése nélkül, teljes mértékben alkalmazni tudják a jelen találmányt.

A találmány szerinti eljárást a továbbiakban – a találmány oltalmi körének szűkítése nélkül – példákval szemléltetjük. A példákban megadott hőmérséklet-értékek nem-korrigáltak, és Celsius-fokokban adjuk meg.

A találmány szerinti vegyületeket például úgy állíthatjuk elő, hogy szilárd fázisú szintézisben Boc-Gly-gyantát hat egymás utáni ciklusban a védőcsoportok eltávolítására hasítunk, semlegesítünk, majd a megfelelő aminosavat kapcsoljuk, így a megfelelő Boc-Phe-Val-, illetve -Gln-Asn-Cy(Bzl)-W-(D- vagy L)-Arg(Tos)-Gly-gyanta képletű védett heptapeptidil-gyanta-vegyületet kapjuk, melyet szilárd fázisban védőcsoport-hasításnak vetünk alá, semlegesítünk, majd Boc-X védett aminosav-származékkal kezelve, a megfelelő Boc-X-Phe-Val-, illetve -Gln-Asn-Cy(Bzl)-W-(D- vagy L)-Arg(Tos)-Gly-gyanta képletű terc-butoxi-karbonil-oktapeptidil-gyanta-vegyületet nyerjük, melyet a megfelelő Boc-oktapeptid-amiddá ammonolizálunk, az így kapott vegyületet védőcsoport-hasításnak vetjük alá, és semlegesítjük, majd p-nitro-fenil- $\beta$ -(S-benzil-merkaptó)- $\beta$ , $\beta$ -ciklopentametilén-propionáttal N-hidroxi-benzotriazol-monohidráttal jelenlétében reagáltatva a megfelelő (VI), illetve (IV) általános képletű  $\beta$ -(S-benzilmerkaptó)- $\beta$ , $\beta$ -ciklopentametilén-propionil-oktapeptid-amiddá alakítjuk, ezt folyékony ammóniában nátriummal redukáljuk, végül a kapott dimerkaptó-vegyületet kálium-ferricianiddal oxidatív úton ciklizáljuk.

Klórmetilezett gyantát (Bio-Rad Bio-Beads SX-1) Gisin [Helv. Chim. Acta, 56 (1973), 1476] módszerével Boc-Gly-vel észtereszítettünk, míg a gyanta 0,47 mmól/g és körülbelül 0,64 mmól/g-ot nem tartalmazott. A Boc-Tyr(Me) szerkezeti elemet tartalmazó aminosav-származékokat [Rf (A) 0,7; Rf (B) 0,8] a Bachem Inc. cégtől vásároltuk vagy szintetizáltuk.

A trietil-amint és az N-metil-morfolint ninhidrinről ledesztilláltuk.

A peptid lehasításához alkalmazott ecetsavas só-sav-oldathoz használt ecetsavat bór-triacéttal forraltuk, majd az ecetsavat a reagensről ledesztilláltuk. A dimetil-formamidot közvetlenül felhasználása előtt csökkentett nyomáson ledesztilláltuk. A metanolt magnézium-metiláton szárítottuk és ledesztilláltuk. A többi oldószer és reagens analitikai tisztaságú volt.

A vékonyréteg-kromatográfiás vizsgálatokhoz szilikagél lemezeket (0,25 mm, Brinkmann Silplate) használtunk, az alábbi futtató elegyeket alkalmaztuk:

- A. ciklohexán-kloroform-ecetsav = 2 : 8 : 1;  
B. 1-propanol-ammónia (34%-os) = 2 : 1;

- C. etanol (95%-os)-ammónia (34%) = 3 : 1;  
 D. kloroform-metanol = 7 : 3;  
 E. 1-butanol-ecetsav-víz = 4 : 1 : 5, felső fázis;  
 F. 1-butanol-ecetsav-víz-piridin = 15 : 3 : 3 : 10.

A lemezekre 10–50 µg-nyi mintákat vittünk fel. A kromatogramokat legalább 10 cm magasságig futtattuk. A kromatogramok előhívására kloroplatinát-reagenst és jódgőzöket használtunk.

A peptidek aminosav-analízisét Spackman és munkatársai [Anal. Chem., 30 (1958), 1190] módszerével végeztük, amely szerint légritkított ampullákba bemértünk körülbelül 0,5 mg peptidet és állandó forrponotú sósavat (400 µl), majd az ampullákat leforrasztottuk és 18 órán át 120 °C hőmérsékleten tartottuk. Az analízist egy Beckman-féle automatikus aminosav-analizátorral (Model 121) végeztük. Az aminosavak arányát a glicinre vonatkoztatva adjuk meg (Gly = 1,00). Az elemi analíziseket a Galbraith Laboratories, Inc., Knoxville, Tenn. végezte. A megadott elemekre nézve a talált értékek ±0,4%-os határon belül megegyeztek az elméletileg számított értékekkel. Az optikai forgatóképességet egy Bellingham Stanley, Ltd., Model A polariméterrel (p1-típus) határoztuk meg.

#### 1. példa

*β*-(*S*-Benzilmerkaptó)-*β*,*β*-ciklopentametilén-propionil-Tyr(Me)-Phe-Gln-Asn-Cys(Bzl)-Pro-Arg(Tos)-Gly-NH<sub>2</sub>

#### A) módszer

A szilárd fázisú szintézis és az oldatban kivitelezett szintézis kombinációja

319 mg (0,26 mmól), Bankowski és munkatársai módszerével [J. Med. Chem., 21 (1976), 842] előállított Boc-Tyr(Me)-Phe-Gln-Asn-Cys(Bzl)-Pro-Arg(Tos)-Gly-NH<sub>2</sub>-t feloldunk 6,5 ml trietil-aminban, és az oldatot 40 percig szobahőmérsékleten keverjük. Utána hozzáadunk 20 ml lehűtött dietil-étert, és a szilárd csapadékot kiszűrjük és ötször 10 ml dietil-éterrel mossuk. A terméket nátriumhidroxid fölött, csökkentett nyomáson szárítjuk. Az így kapott terméket (súlya: 318,5 mg) feloldjuk 0,8 ml dimetil-formamidban, és az oldathoz hozzáadunk 10 µl N-metil-morfolint. Megnedvesített pH-papíron mérve az oldat pH-ja: 7–8. Ezt a semlegesített oldatot szobahőmérsékleten félórán át keverjük, majd hozzáadjuk 445 mg (1,155 mmól), Nestor és munkatársai módszerével [J. Med. Chem., 18 (1975), 284] előállított *β*-(*S*-benzilmerkaptó)-*β*,*β*-ciklopentametilén-propionsav-p-nitro-fenil-észterrel 0,4 ml dimetil-formamiddal készült oldatát. A reakcióelegyet 72 órán át szobahőmérsékleten keverjük. Ekkor a D-jelű futtató eleggyel végzett vékonyréteg-kromatográfias vizsgálat azt mutatja, hogy a reakcióelegyben nyomokban még jelen van a szabad oktapeptid-amid. Ekkor az eleggyhez hozzáadunk 39,3 mg (0,26 mmól), Konig és munkatársai módszerével [Chem. Ber., 103 (1970), 788] előállított N-hidroxi-benzotriazolmonohidrátot. A kapcsolási reakció 5 óra alatt teljesen lejátszódik. Az elegyből kivált csapadékot

kiszűrjük, négyszer 10 ml lehűtött etil-acetáttal mossuk és csökkentett nyomáson megszáritjuk. A kapott nyersteget (súlya: 330 mg) dimetil-formamid és metanol elegyből kétszer átsapjuk, és így 295,2 mg (hozam: 77,3%) acilpeptid-amidot kapunk, op.: 209–211 °C;

$[\alpha]_D^{24} = -43,6^\circ$  (c = 0,5, dimetil-formamid);

$R_f(E) = 0,45$ ;  $R_f(F) = 0,63$ .

Aminosav-analízis: Tyr: 0,80; Phe: 1,01; Glu: 1,04; Asp: 1,02; Cys(Bzl): 0,98; Pro: 1,06; Arg: 1,01; Gly: 1,00; NH<sub>3</sub>: 2,91.

#### B) módszer

#### Gyantán végrehajtott totálszintézis

1,11 g (0,4 mmól), a szilárd fázisú szintézis módszerével gyantához kötött Boc-Gly-ből kiindulva előállított, gyantához kötött Boc-Tyr(Me)-Phe-Gln-Asn-Cys(Bzl)-Pro-Arg(Tos)-Gly-ből kiindulva, és arról a védőcsoportot lehasítva, a terméket semlegesítve, majd *β*-(*S*-benzilmerkaptó)-*β*,*β*-ciklopentametilén-propionsav-p-nitro-fenil-észterrel (lásd Nestor és munkatársai fent idézett művét) kapcsolva állítjuk elő a gyantához kötött acil-oktapeptidet (súlya: 1,167 g, súlynövekedés: 57 mg, az elméleti súlynövekedés 97,6%-a). Ezután a gyantát ammonolízisnek vetjük alá [Manning, J. Am. Chem. Soc., 90 (1968), 1348]. A terméket dimetil-formamiddal kivonatoljuk. Az oldószert csökkentett nyomáson ledesztilláljuk és a maradékot víz hozzáadásával kicsapjuk. A 410 mg súlyú nyersteget dimetil-formamid és etanol elegyből kétszer átsapjuk, ily módon 302 mg (hozam: a gyantához kötött kiindulási glicinre számítva: 50,7%) acil-oktapeptidet kapunk, op.: 206–208 °C (bomlik);

$R_f(E) = 0,45$ ,  $R_f(F) = 0,63$ ;

$[\alpha]_D^{24} = -43,1^\circ$  (c = 1, dimetil-formamid).

Aminosav-analízis: Tyr: 0,79; Phe: 1,01; Glu: 1,03; Asp: 1,04; Cys(Bzl): 0,97; Pro: 1,03; Arg: 0,99; Gly: 1,00; NH<sub>3</sub>: 2,95.

#### 2. példa

*β*-(*S*-Benzilmerkaptó)-*β*,*β*-ciklopentametilén-propionil-Tyr(Bzl)-Phe-Gln-Asn-Cys(Bzl)-Pro-Arg(Tos)-Gly-NH<sub>2</sub>

1,46 g (0,5 mmól) Boc-Tyr(Bzl)-Phe-Gln-Asn-Cys(Bzl)-Pro-Arg(Tos)Gly-t az 1. példában leírt módon, a védőcsoport lehasítása, semlegesítés és *β*-(*S*-benzilmerkaptó)-*β*,*β*-ciklopentametilén-propionsav-p-nitro-fenil-észterrel kapcsolva gyantához kötött acil-oktapeptiddé alakítunk. (Súlya: 1,55 g, súlynövekedés: 70 mg, az elméleti súlynövekedés 95,9%-a). A gyanta ammonolízise útján kapott terméket dimetil-formamiddal kivonatoljuk. Az oldószert csökkentett nyomáson ledesztilláljuk és a maradékot víz hozzáadásával kicsapjuk. A 723 mg súlyú nyersteget dimetil-formamid és etanol eleggyével, majd dimetil-formamid és 2%-os, vizes ecetsav eleggyével átsapjuk. Ily módon 488 mg cím szerinti terméket kapunk, hozam a gyantához kötött glicin mennyiségére számítva:

62,4%, op.: 183–185 °C;

$R_f(E)=0,38$ ;  $R_f(D)=0,41$ ;

$[\alpha]_D^{23} = -32,9^\circ$  ( $c=1$ , dimetil-formamid).

Aminosav-analízis: Tyr: 0,97; Phe: 1,02; Glu: 1,05; Asp: 1,01; Cys(Bzl): 0,98; Pro: 1,04; Arg: 0,98; Gly: 1,00;  $NH_3$ .

### 3. példa

[1-( $\beta$ -Merkapto- $\beta$ , $\beta$ -ciklopentametilén-propion-sav), 2-(0-metil)-tirozin]-arginin-vazopresszin

#### A) módszer

Nonapeptid-amidból kiindulva

170 mg (0,114 mmól), az 1. példában leírt módon kapott, védett nonapeptid-amid 400 ml, nátriumon szárított és kétszer desztillált ammóniával készült oldatát az ammónia forráspontján keverjük, és az oldatba beletartunk egy fém-nátriummal töltött, kis átmérőjű üvegcsövet. Az elegyet addig keverjük, míg az oldatban 30 másodpercig megmarad a világoskék szín [lásd duVigneaud, J. Am. Chem. Soc., 76 (1959), 3115]. Ezután a kék szín eltüntetése céljából az elegyhez hozzáadunk 0,4 ml ecetsavat, majd az oldószer ledesztilláljuk. A maradékot feloldjuk 800 ml, 0,2%-os, vizes ecetsav-oldatban, majd az oldat pH-ját 2 mólos ammónium-hidroxid-oldattal 7,5-re állítjuk. Az oldathoz keverés közben, kis részletekben, kis fölöslegben vett kálium-ferricianid-oldatot [0,01 mólos oldat, 11,4 ml, Hope és munkatársai, J. Biol. Chem., 237 (1962), 1563]. Ezután a sárgaszínű oldatot további másfél órán át keverjük, majd hozzáadunk 10 g nedves súlyú, klorid-formában lévő BioRad AG-3 anioncserélő gyantát, és az elegyet további 1 órán át keverjük. Ezután a szuszpenziót lassan átszűrjük 80 g nedves súlyú gyantából készült szűrőágyon, és a szűrőágyat 300 ml, 0,2%-os, vizes ecetsav-oldattal mossuk. Az egyesített szűrletet és mosófolyadékot fagyasztva szárítjuk. Az így kapott, 1386 mg súlyú, porszerű anyagot egy 110 × 2,7 cm méretű, Sephadex G-15 oszlopon sómentesítjük, az oszlopot 50%-os, vizes ecetsav-oldattal 4 ml/óra sebességgel, Manning és munkatársai [J. Chromatog., 38 (1968), 396] módszerével eluáljuk. Az elutumot frakciókban gyűjtjük, és a frakciók abszorpcióját 280 nm-nél mérjük. A fő csúcsot tartalmazó frakciókat egyesítjük és fagyasztva szárítjuk. Az így kapott, 55,5 mg súlyú maradékot újabb gélszűrővel tisztítjuk, egy 100 × 1,5 cm méretű Sephadex G-15 oszlopon, az oszlopot 0,2 mólos, vizes ecetsav-oldattal, 2,5 ml/óra sebességgel eluáljuk. Így módon a peptidet egyetlen csúcs formájában kapjuk (a 280 nm-nél végzett abszorpciómérések alapján). A megfelelő frakciókat fagyasztva szárítva 49 mg (hozam: 37,3%) cím szerinti vazopresszin-analógot kapunk.

$R_f(E)=0,19$ ;  $R_f(F)=0,30$ ;

$[\alpha]_D^{23} = -59,6^\circ$  ( $c=0,19$ , 1 mólos ecetsav-oldat).

Aminosav-analízis: Tyr: 0,81; Phe: 1,01; Glu: 1,04; Asp: 0,98; Pro: 1,04; Arg: 0,95; Gly: 1,00;  $NH_3$ : 3,10.

A Moore [J. Biol. Chem., 238 (1963), 235] módszerével, a peptidet perhangyasavval oxidálva,

majd ezután hidrolizálva kapott Cys( $O_3H$ )-Gly-arány: 1,03 : 1,00.

#### B) módszer

Acil-oktapeptidből kiindulva

160 mg (0,107 mmól) acil-oktapeptidből kiindulva, és azt a fenti A) módszerben leírt módon kezelve 64 mg (hozam: 51,7%), az A) módszerrel kapott terméktől vékonyréteg-kromatográfiásan nem megkülönböztethető termékhez jutunk;

$[\alpha]_D^{23} = -59,1^\circ$  ( $c=0,5$ , 1 mólos ecetsav-oldat).

Aminosav-analízis: Tyr: 0,80; Phe: 1,02; Glu: 1,02; Asp: 0,98; Pro: 1,03; Arg: 0,96; Gly: 1,00;  $NH_3$ : 3,05.

A peptidet perhangyasavval oxidálva, majd ezután hidrolizálva a Cys-( $O_3H$ )-Gly-arány: 1,02 : 1,00.

### 4. példa

[1-( $\beta$ -Merkapto- $\beta$ , $\beta$ -ciklopentametilén-propion-sav)]-arginin-vazopresszin

173 mg (0,111 mmól) acil-oktapeptidből kiindulva, és azt a 3. példa A) módszerében leírt módon kezelve 66 mg (hozam: 52,5%) megfelelő cím szerinti analógot kapunk;

$R_f(E)=0,19$ ,  $R_f(F)=0,43$ .

$[\alpha]_D^{23} = -58,7^\circ$  ( $c=0,5$ , 1 mólos ecetsav-oldat).

Aminosav-analízis: Tyr: 0,96; Phe: 0,98; Glu: 1,01; Asp: 1,01; Pro: 1,05; Gly: 1,00;  $NH_3$ : 2,95.

A peptidet perhangyasavval oxidálva, majd ezután hidrolizálva a Cys( $O_3H$ )-Gly-arány: 1,01 : 1,00.

### 5. példa

[1-( $\beta$ -Merkapto- $\beta$ , $\beta$ -ciklopentametilén-propion-sav), 2-(O-alkil)tirozin, 4-valin]-(L- és D-)-arginin-vazopresszin

E vegyületeket a Manning és munkatársai [J. Med. Chem., 16 (1973), 975] és Kruszynski és munkatársai [J. med. Chem., 23 (1980), 364] által módosított, szilárd fázisú szintézissel állítottuk elő, e módszerrel kaptuk a megfelelő analógok köztitermékeit. E köztitermékeket  $\beta$ -(S-benzilmerkapto)- $\beta$ , $\beta$ -ciklopentametilén-propionsavval (lásd Nestor és munkatársai fent idézett közleményét) kapcsoltuk, a kapcsoláshoz Bodanszky és munkatársai [J. Am. Chem. Soc., 81 (1959), 5688 és J. Org. Chem., 39 (1974), 444] módszerét használtuk, e kapcsoláshoz a p-nitrofenil-észtert, és segédanyagként hidroxibenzotriazol (lásd König és munkatársai fent idézett közleményét) alkalmaztunk. Az így kapott vegyületekről a védőcsoportot duVigneaud és munkatársai fent idézett közleménye szerint, cseppfolyós ammóniában nátriummal hasítottuk le. A kapott dimerkapto-származékokat Hope és munkatársai fent idézett közleményében leírt módon, kálium-ferricianiddal oxidatív úton ciklizáltuk. Az így kapott vazopresszin-analógokat kétlépcsős eljárásban, Sephadex G-15 oszlopon, gélszűrővel sómentesítjük és tisztítjuk, a Sephadex G-15 oszlopot 50%-os ecetsavval, majd 0,2 mólos

ecetsav-oldattal eluáljuk. Az így kapott termékek tisztaságát és azonosságát három különféle futtató eleggyel végzett vékonyréteg-kromatográfiás vizsgálattal ellenőriztük [Kruszynski és munkatársai, J. Med. Chem., 23 (1980), 364], továbbá a fent leírt módon végzett aminosav-analízissel.

*Boc-Phe-Val-Asn-Cys(Bzl)-Pro-D-Arg(Tos)-Gly*  
(gyantához kötött)

1,562 g (1,0 mmól) glicint tartalmazó, gyantához kötött Boc-Gly-ből kiindulva, hat egymást követő ciklusban (védőcsoport-lehasítás, semlegesítés, kapcsolás) kapjuk a védett, gyantához kötött, A-jelű cím szerinti heptapeptidet (súlya: 2,522 g, 1,0 mmól).

*Gyantához kötött*

*Boc-Phe-Asn-Cys(Bzl)-Pro-D-Arg(Tos)-Gly*

1,562 g (1,0 mmól) gyantához kötött Boc-Gly-ből kiindulva, a szilárd fázisú szintézis módszerével kapjuk a védett, gyantához kötött, B-jelű cím szerinti heptapeptidet (súlya: 2,522 g, 1,0 mmól).

*Gyantához kötött*

*Boc-Tyr(Me)-Phe-Val-Asn-Cys(Bzl)-Pro-D-Arg(Tos)-Gly*

1,261 g (0,5 mmól) gyantához kötött, A-jelű heptapeptidet a szilárd fázisú szintézis egy ciklusában, karboxil-komponensként Boc-Tyr(Me)-t használva állítjuk elő a megfelelő, gyantához kötött, C-jelű cím szerinti tercier-butoxi-karbonil-oktapeptidet (súlya: 1,35 g, 0,5 mmól).

*Gyantához kötött*

*Boc-Tyr(Et)-Phe-Val-Asn-Cys(Bzl)-Pro-D-Arg(Tos)-Gly*

1,261 g (0,5 mmól), A-jelű heptapeptidből kiindulva, és karboxil-komponensként Boc-Tyr(Et)-et használva a szilárd fázisú szintézis egy ciklusával állítjuk elő a gyantához kötött, D-jelű cím szerinti tercier-butoxi-karbonil-oktapeptidet (súlya: 1,357 g, 0,5 mmól).

*Gyantához kötött*

*Boc-Tyr(Me)-Phe-Val-Asn-Cys(Bzl)-Pro-Arg(Tos)-Gly*

1,261 g (0,5 mmól) gyantához kötött, B-jelű heptapeptidet egy ciklusban [védőcsoport-lehasítás, semlegesítés, majd kapcsolás Boc-Tyr(Me)-vel] alakítjuk át a védett, gyantához kötött, E-jelű cím szerinti oktapeptidre (súlya: 1,35 g, 0,5 mmól).

*Gyantához kötött*  
 *$\beta$ -(S-benzil-merkaptó)- $\beta,\beta$ -ciklopenta-metilén-propionil-Tyr(Et)-Phe-Val-Asn-Cys(Bzl)-Pro-Arg-(Tos)-Gly*

1,261 g (0,5 mmól) gyantához kötött, B-jelű heptapeptidet a szilárd fázisú szintézis két ciklusában, karboxil-komponensként az első ciklusban Boc-Tyr(Et)-et, a második ciklusban pedig  $\beta$ -(S-benzil-merkaptó)- $\beta,\beta$ -ciklopentametilén-propionsav-p-nitro-fenil-észtert használva alakítjuk át és gyantához kötött cím szerinti acil-oktapeptidre (súlya: 1,43 g, 0,5 mmól).

*Boc-Tyr(Me)-Phe-Val-Asn-Cys(Bzl)-Pro-D-Arg(Tos)-Gly-NH<sub>2</sub>*

1,35 g (0,5 mmól) védett, gyantához kötött, C-jelű oktapeptidet ammonolizálunk, majd a terméket meleg dimetil-formammal kivonatoljuk. A terméket az oldatból víz hozzáadásával csapjuk ki. A nyersteget dimetil-formamid, etanol és dietil-éter eleggyel újra kicsapjuk, ily módon fehér színű, porszerű anyag formájában 0,581 g (hozam a gyanta kiindulási glicin-tartalmára számítva: 88,52%) tiszta, cím szerinti terméket kapunk, op.: 239–240 °C;

$[\alpha]_D^{24} = -14,9^\circ$  (c = 1, dimetil-formamid);

$R_f(E) = 0,54$ ,  $R_f(D) = 0,73$ .

Aminosav-analízis: Tyr: 1,02; Phe: 0,98; Val: 1,02; Asp: 1,00; Cys(Bzl): 0,98; Pro: 1,01; Arg: 0,97; Gly: 1,00; NH<sub>3</sub>: 2,1.

*Boc-Tyr(Et)-Phe-Val-Asn-Cys(Bzl)-Pro-D-Arg(Tos)-Gly-NH<sub>2</sub>*

1,357 g (0,5 mmól) védett, gyantához kötött, D-jelű oktapeptidet a fent leírt módon kezelve 0,535 g (hozam a kiindulási gyanta glicin-tartalmára számítva: 80,69%) cím szerinti Boc-oktapeptid-amidot kapunk, op.: 211–213 °C;

$[\alpha]_D^{24} = -16,4^\circ$  (c = 1, dimetil-formamid);

$R_f(E) = 0,61$ ;  $R_f(D) = 0,83$ .

Aminosav-analízis: Tyr: 0,99; Phe: 1,00; Val: 1,01; Asp: 1,02; Cys(Bzl): 0,98; Pro: 1,00; Arg: 0,98; Gly: 1,00; NH<sub>3</sub>: 2,13.

*Boc-Tyr(Me)-Phe-Val-Asn-Cys(Bzl)-Pro-Arg(Tos)-Gly-NH<sub>2</sub>*

1,35 g (0,5 mmól) gyantához kötött, védett E-jelű oktapeptidet a fent leírt módon kezelve 0,597 g (hozam a gyanta kiindulási glicin-tartalmára számítva: 90,96%) megfelelő cím szerinti Boc-oktapeptid-amidot kapunk, op.: 216–217 °C (bomlik);

$[\alpha]_D^{24} = -34,82^\circ$  (c = 1, dimetil-formamid);

$R_f(E) = 0,54$ ,  $R_f(D) = 0,73$ .

Aminosav-analízis: Tyr: 0,99; Phe: 1,00; Val: 1,02; Asp: 1,01; Cys(Bzl): 0,98; Pro: 1,01; Arg: 0,98; Gly: 1,00; NH<sub>3</sub>: 2,09.

$\beta$ -(*S*-Benzilmerkaptó)- $\beta,\beta$ -ciklopentametilén-propionil-Tyr(*Et*)-Phe-Val-Asn-Cys(*Bzl*)-Pro-Arg(*Tos*)-Gly-NH<sub>2</sub>

1,43 g (0,5 mmól) gyantához kötött, védett acil-oktapeptidet ammonolizálunk, és a terméket meleg dimetil-formamiddal kivonatoljuk. A terméket az oldatból vízzel kicsapjuk, majd a nyersterméket dimetil-formamid, etanol és dietil-éter elegyével újra kicsapjuk. Ily módon 0,490 g (hozam a gyanta kiindulási glicin-tartalmára számítva: 66,54%) tiszta cím szerinti terméket kapunk, op.: 211–213 °C.

$[\alpha]_D^{24} = -39,8^\circ$  ( $c=1$ , dimetil-formamid);

$R_f(E)=0,59$ ,  $R_f(D)=0,75$ .

Aminosav-analízis: Tyr: 0,99; Phe: 1,01; Val: 1,01; Asp: 1,01; Cys(*Bzl*): 0,99; Pro: 1,02; Arg: 0,98; Gly: 1,00; NH<sub>3</sub>: 2,07.

$\beta$ -(*S*-benzilmerkaptó)- $\beta,\beta$ -ciklopentametilén-propionil-Tyr(*Me*)-Phe-Val-Asn-Cys(*Bzl*)-Pro-D-Arg(*Tos*)-Gly-NH<sub>2</sub>

0,270 g (0,206 mmól), fent leírt módon előállított tercier-butoxi-karbonil-oktapeptid-amidot feloldunk 3 ml trifluor-ecetsavban, és az oldatot 20 percig szobahőmérsékleten állni hagyjuk. Utána hozzáadunk lehűtött dietil-étert, a kivált csapadékot kiszűrjük és ötször 10 ml dietil-éterrel mossuk, majd csökkentett nyomáson, nátrium-hidroxid felett megszáritjuk. Az így kapott anyagot (súlya: 250 mg) feloldjuk 0,8 ml dimetil-formamidban, majd pH=7–8-ig (mérés nedves pH-papíron) N-metil-morfolint adunk. A semlegesített oldatot 20 percig szobahőmérsékleten keverjük, majd hozzáadjuk 0,135 g (0,37 mmól)  $\beta$ -(*S*-benzilmerkaptó)- $\beta,\beta$ -ciklopentametilén-propionsav-p-nitrofenil-észter és 57 mg (0,37 mmól) N-hidroxi-benzotriazol-monohidrát 1,0 ml dimetil-formamiddal készült oldatát. A reakcióelegyet éjszakán át szobahőmérsékleten keverjük, a másnap végzett vékonyréteg-kromatográfiás vizsgálat (E-jelű futtatóelegy) azt mutatja, hogy a reakció lejátszódott. Az elegyhez erélyes keverés közben hozzáadunk 80 ml metanolt és 20 ml dietil-étert. A kivált csapadékot kiszűrjük, metanol és dietil-éter 8 : 2 arányú elegyével mossuk és csökkentett nyomáson megszáritjuk. A nyers terméket (súlya: 270 mg) dimetil-formamidból metanollal kicsapva 263 mg (hozam: 75,2%) cím szerinti acil-peptid-amidot kapunk, op.: 220–221 °C;

$[\alpha]_D^{24} = -25,7^\circ$  ( $c=1$ , dimetil-formamid);

$R_f(E)=0,55$ ,  $R_f(D)=0,83$ .

Aminosav-analízis: Tyr: 0,98; Phe: 1,01; Val: 1,02; Asp: 1,02; Cys(*Bzl*): 0,97; Pro: 1,03; Arg: 1,0; Gly: 1,00; NH<sub>3</sub>: 2,06.

$\beta$ -(*S*-Benzilmerkaptó)- $\beta,\beta$ -ciklopentametilén-propionil-Tyr(*Et*)-Phe-Val-Asn-Cys(*Bzl*)-Pro-D-Arg(*Tos*)-Gly-NH<sub>2</sub>

0,398 g (0,2 mmól) tercier-butoxi-karbonil-oktapeptid-amidról a védőcsoportot a fent leírt módon

lehasítjuk, majd 0,232 g (0,6 mmól)  $\beta$ -(*S*-benzilmerkaptó)- $\beta,\beta$ -ciklopentametilén-propionsav-p-nitro-*fenil*-észterrel ugyancsak a fent leírt módon kapcsolva 0,361 g (hozam: 81,67%) cím szerinti acil-oktapeptid-amidot kapunk, op.: 222–224 °C;

$[\alpha]_D^{20} = -22,8^\circ$  ( $c=0,5$ , dimetil-formamid);

$R_f(E)=0,5$ ,  $R_f(D)=0,83$ .

Aminosav-analízis: Tyr: 1,0; Phe: 1,02; Val: 1,03; Asp: 1,02; Cys(*Bzl*): 0,98; Pro: 1,03; Arg: 0,98; Gly: 1,00; NH<sub>3</sub>: 2,11.

$\beta$ -(*S*-Benzilmerkaptó)- $\beta,\beta$ -ciklopentametilén-propionil-Tyr(*Me*)-Phe-Val-Asn-Cys(*Bzl*)-Pro-Arg(*Tos*)-Gly-NH<sub>2</sub>

0,394 g (0,3 mmól) tercier-butoxi-karbonil-oktapeptid-amidról a védőcsoportot a fent leírt módon lehasítjuk, majd 0,232 g (0,6 mmól)  $\beta$ -(*S*-benzilmerkaptó)- $\beta,\beta$ -ciklopentametilén-propionsav-p-nitro-*fenil*-észterrel ugyancsak a fent leírt módon kapcsolva 0,388 g (hozam: 88,65%) cím szerinti acil-oktapeptid-amidot kapunk, op.: 211–214 °C;

$[\alpha]_D^{21} = -39,2^\circ$  ( $c=1$ , dimetil-formamid);

$R_f(E)=0,47$ ,  $R_f(D)=0,85$ .

Aminosav-analízis: Tyr: 0,99; Phe: 1,02; Val: 1,03; Asp: 1,01; Cys(*Bzl*): 0,99; Pro: 1,02; Arg: 0,99; Gly: 1,00; NH<sub>3</sub>: 2,04.

[1-( $\beta$ -Merkaptó)- $\beta,\beta$ -ciklopentametilén-propionsav], 2-(*O*-etil)-tirozin, 4-valin]-arginin-vazopresszin

140 mg (0,095 mmól) védett acil-oktapeptid-amid 400 ml nátriumon szárított és kétszer desztillált ammóniával készült oldatát az ammónia forráspontján keverjük és beletartunk egy nátriummal töltött vékony üvegcsővet, mindaddig, míg az elegyben 30 másodpercig meg nem marad a világoskék szín. Utána a szín eltüntetésére hozzáadunk 0,4 ml vízmentes ecetsavat, majd az oldószert nitrogénáramban ledesztilláljuk. 5 percnyi állás után a maradékot feloldjuk 50 ml 10%-os, vizes ecetsav-oldatban, majd 800 ml vízzel hígítjuk. Az oldatot 2 mólos ammónium-hidroxid-oldattal pH=6,5-re állítjuk, majd keverés közben, kis részletekben hozzáadunk 16 ml, 0,01 mólos kálium-ferricianid-oldatot. A sárgaszínű oldatot további 10 percig keverjük, majd hozzáadunk 10 g nedves súlyú anioncserélő gyantát (Bio-Rad AG-3, klorid-forma), és az elegyet 10 percig keverjük. Utána a gyantát egy 50 g nedves súlyú gyantából készített szűrőágyon át lassan kiszűrjük, és a szűrőágyat 200 ml 0,2%-os, vizes ecetsav-oldattal mossuk. A szűrletet és mosófolyadékot egyesítjük és fagyaszttva szárítjuk. Az így kapott porszerű anyagot (súlya: 1,63 g) egy 110 × 2,7 cm méretű Sephadex G-15 oszlopon sómentesítjük, az oszlopot 50%-os, vizes ecetsavval eluáljuk, 5 ml/óra sebességgel. Az elutumot frakciókban gyűjtjük, és mérjük a frakciók abszorpcióját 280 nm hullámhossznál. A fő csúcsot tartalmazó frakciókat egyesítjük és fagyaszttva szárítjuk. A 28 mg súlyú maradékot egy 100 × 1,5 cm méretű

Sephadex G-15 oszlopon, gélszűrőssel tisztítjuk. A terméket 0,2 mólos vizes ecetsav-oldattal, 4 ml/óra sebességgel eluáljuk. A peptid egyetlen csúcs formájában jön le az oszlopról (a 280 nm hullámhossznál végzett abszorpció-mérés alapján). A megfelelő frakciókat fagyasztva szárítva 24 mg (hozam: 20,6%) megfelelő cím szerinti vazopresszin-analógot kapunk.

$$R_f(E) = 0,31, R_f(F) = 0,62;$$

$$[\alpha] = -65,1^\circ (c = 0,2, 1 \text{ mólos ecetsav-oldat}).$$

Aminosav-analízis: Tyr: 1,00; Phe: 1,01; Val: 1,01; Asp: 1,01; Pro: 1,01; Arg: 1,00; Gly: 1,00; NH<sub>3</sub>: 1,97.

A peptidet perhangyasavval oxidálva, majd ezután hidrolizálva a Cys (O<sub>3</sub>H)-Gly-arány: 1,01 : 1,00.

[1-(β-Merkapto-β,β-ciklopentametilén-propionsav), 2-(O-metil)-tirozin, 4-valin, 8-D-arginin-vazopresszin

168 mg (0,115 mmól) peptid-köztiterméket a fent leírt módon cseppfolyós ammóniában nátriummal redukálunk, újraoxidálunk, ionmentesítünk, majd tisztítunk, így módon 49,5 mg (hozam: 35,5%) cím szerinti terméket kapunk.

$$R_f(E) = 0,30, R_f(F) = 0,61;$$

$$[\alpha]_D^{25} = -46,4^\circ (c = 0,4, 1 \text{ mólos ecetsav-oldat}).$$

Aminosav-analízis: Tyr: 0,98; Phe: 1,01; Val: 0,98; Asp: 0,99; Pro: 1,03; Arg: 0,98; Gly: 1,00; NH<sub>3</sub>: 12,1.

A peptidet perhangyasavval oxidálva, majd ezután hidrolizálva a Cys (O<sub>3</sub>H)-Gly-arány: 1,03 : 1,00.

[1-(β-Merkapto-β,β-ciklopentametilén-propionsav), 2-(O-etil)-tirozin, 4-valin, 8-D-arginin]-vazopresszin

167 mg (0,113 mmól) megfelelő analóg-köztitermékből kiindulva 29 mg (hozam: 20,9%) cím szerinti terméket kapunk.

$$R_f(E) = 0,29, R_f(F) = 0,57;$$

$$[\alpha]_D^{25} = -41,1^\circ (c = 0,3, 1 \text{ mólos ecetsav-oldat}).$$

Aminosav-analízis: Tyr: 0,98; Phe: 1,01; Val: 1,03; Asp: 0,99; Pro: 1,03; Arg: 1,02; Gly: 1,00; NH<sub>3</sub>: 1,98.

A peptidet perhangyasavval oxidálva, majd ezután hidrolizálva a Cys (O<sub>3</sub>H)-Gly-arány: 1,01 : 1,00.

[1-(β-merkaptó-β,β-ciklopentametilén-propionsav), 2-(O-metil)-tirozin, 4-valin]-arginin-vazopresszin

174 mg (0,119 mmól) acil-oktapeptidet a fent leírt módon kezelve 51,5 mg (hozam: 35,6%) cím szerinti terméket kapunk.

$$R_f(E) = 0,28, R_f(F) = 0,60;$$

$$[\alpha]_D^{25} = -66,3^\circ (c = 0,4, 1 \text{ mólos ecetsav-oldat}).$$

Aminosav-analízis: Tyr: 0,99; Phe: 1,01; Val: 1,02; Asp: 1,01; Pro: 1,00; Arg: 1,01; Gly: 1,00; NH<sub>3</sub>: 2,11.

A peptidet perhangyasavval oxidálva, majd ezután hidrolizálva a Cys (O<sub>3</sub>H)-Gly-arány: 1,03 : 1,00.

#### 6. példa

[1-(β-Merkapto-β,β-ciklopentametilén-propionsav), 2-(O-etil)-tirozin, 4-valin, 7-(3,4-dehidroprolin)]-arginin-vazopresszin

A cím szerinti vegyületet az 5. példában leírt módon állítjuk elő, azzal az eltéréssel, hogy prolin helyett 3,4-dehidro-prolint használunk.

#### 7. példa

[1-(β-Merkapto-β,β-ciklopentametilén-propionsav), 2-helyettesített, 4-valin, 7-prolin]-(L- és D-)-arginin-vazopresszin

E vegyületeket az 5. példában leírt módon állítjuk elő. A termékek tisztaságát szilikagél-lemezen, két különböző futtató elegyen végzett vékonyréteg-kromatográfiás vizsgálattal ellenőrizzük. E futtató elegyek:

E.: butanol-ecetsav-víz 4 : 1 : 5 arányú elegye,

F.: butanol-ecetsav-víz-piridin 15 : 3 : 3 : 10 arányú elegye.

Az egyes vegyületek R<sub>f</sub>-értékei:

X	Z	R <sub>fE</sub>	R <sub>fF</sub>
D-Tyr	L-Arg	0,17	0,50
D-Phe	L-Arg	0,17	0,52
Gly	L-Arg	0,15	0,48
D-Ala	L-Arg	0,16	0,49
D-Val	L-Arg	0,17	0,49
D-Leu	L-Arg	0,17	0,53
D-Ile	L-Arg	0,17	0,51
D-Arg	L-Arg	0,08	0,30
D-Phe	D-Arg	0,16	0,51

#### 8. példa

A vazopresszor hatás antagonizálását Dyckes és munkatársai módszerével [J. Med. Chem., 17 (1974), 969] módszerével határoztuk meg. Az eredményeket a Schild és munkatársai által megadott [Br. J. Pharmacol., 2 (1947), 189] pA<sub>2</sub>-értékekben fejezzük ki.

Az antidiuretikus agonista hatást Sawyer és munkatársai [Endocrinology, 63 (1958), 694] módszerével, etanollal altatott, vízterheléses patkányokon, intravénás adagolásban határoztuk meg.

Meghatároztuk a vizsgált vegyületek antagonista hatását is, és ezt „hatásos dózis”-ban, illetve „pA<sub>2</sub>”-értékekben fejeztük ki. A „hatásos dózis” az a nanomól/kg egységekben kifejezett dózis, amely az antagonista beadás után 20 perccel beadott két egységnyi mennyiségű agonista hatását egy egységnyi agonista hatásával egyenlővé teszi. A becsült in vivo „pA<sub>2</sub>”-értékek a hatásos dózis és az eloszlás becsült térfogata (67 ml/kg) hányadosának negatív logaritmusai. Az eredményeket az I. táblázatban adjuk meg.

I. Táblázat  
Általános képlet; (VII)

Peptid	(R) <sub>2</sub>	X <sup>1</sup>	Y	Z	Antivazopresszor hatás pA <sub>2</sub>	Antidiuretikus hatás U/mg
dAVP	(H) <sub>2</sub>	Tyr	Gln	Arg	agonista	1745 ± 385
dPAVP	(CH <sub>3</sub> ) <sub>2</sub>	Tyr	Gln	Arg	7,45 ± 0,11	42 ± 3
d(CH <sub>2</sub> ) <sub>5</sub> AVP	(CH <sub>2</sub> ) <sub>5</sub>	Tyr	Gln	Arg	8,35 ± 0,99	0,033 ± 0,005
dVDAVP	(H) <sub>2</sub>	Tyr	Val	D-Arg	7,03 ± 0,11	1230 ± 170
dPVDAVP	(CH <sub>3</sub> ) <sub>2</sub>	Tyr	Val	D-Arg	7,82 ± 0,05	123 ± 22
d(CH <sub>2</sub> ) <sub>5</sub> VDAVP	(CH <sub>2</sub> ) <sub>5</sub>	Tyr	Val	D-Arg	7,68 ± 0,05	0,10 ± 0,02
dTyr(Me) AVP	H <sub>2</sub>	Tyr(Me)	Gln	Arg	agonista	830 ± 70
dPTyr(Me) AVP	(CH <sub>3</sub> ) <sub>2</sub>	Tyr(Me)	Gln	Arg	7,96 ± 0,05	3,5 ± 0,5
d(CH <sub>2</sub> ) <sub>5</sub> Tyr(Me) AVP	(CH <sub>2</sub> ) <sub>5</sub>	Tyr(Me)	Gln	Arg	8,62 ± 0,03	0,31 ± 0,07

Az I. táblázatban bemutatott eredmények azt mutatják, hogy a jelen találmány szerinti egyes vegyületek, és különösen [1-(β-merkaptó-β,β-ciklopentametilén-propionsav), 8-arginin]-vazopresszin és az [1-(β-merkaptó-β,β-ciklopentametilén-propionsav), 2-(O-metil)-tirozin, 8-arginin]-vazopresszin antagonizálják az arginin-vazopresszin érszűkítő hatását, és ugyanakkor jelentősen csökkentik az antidiuretikus hatást is.

### 9. példa

A 8. példában bemutatott [1-(β-merkaptó-β,β-ciklopentametilén-propionsav), 2-(O-alkil)-tirozin, 4-valin, 8-(L- és D-)-arginin]-vazopresszin-származékok gyenge antidiuretikus agonista hatást mutatnak. E vegyületek a vizelet-ürítést első, körülbelül 10 percen szubmaximális (a maximumnál kisebb) mértékben gátolták, majd ezután gátolták az antidiuretikus hormon hatását, mégpedig a dózistól függően 1-3 órán át. Ez a gátlás reverzibilis (megfordítható) volt, vagyis az antidiuretikus hormon

dózisának növekedésével megszüntethető volt. Minden egyes vazopresszin analóg „hatásos dózis”-át ismételt vizsgálatokkal becsültük meg. A „hatásos dózis” az a dózis, amely az antagonist beadása után 20 perccel beadott két egységnyi mennyiségű antidiuretikus hormonra bekövetkező válaszreakciót az antagonist előtt beadott antidiuretikus hormon egy egységnyi mennyiségére adott válaszreakció mértékére csökkenti. E vegyületek nanomól/kg egységben megadott, becsült hatásos dózisait és antivazopresszor hatását a II. táblázatban adjuk meg.

Míg az [1-(β-merkaptó-β,β-ciklopentametilén-propionsav), 2-(O-alkil)-tirozin, 4-valin, 8-(L- és D-)-arginin]-vazopresszin-származékok gyenge antidiuretikus agonista hatást mutattak, tehát a vizelet-ürítést az első, körülbelül 10 percen szubmaximális mértékben gátolták, majd a következő 1-3 óra során gátolták az antidiuretikus hormonra adott válaszreakciót, a találmány szerinti előnyös vegyületek, amelyeket az alábbi táblázatban csillogal jelöltünk, nem mutattak antidiuretikus agonista hatást.

II. Táblázat

Vegyület	Antidiuretikus antagonist hatás		Antivazopresszor hatás	
	Hatásos dózis nanomól/kg	pA <sub>2</sub>	Hatásos dózis nanomól/kg	pA <sub>2</sub>
d(CH <sub>2</sub> ) <sub>5</sub> D-Tyr VAVP	2,2 ± 0,2	7,5 ± 0,08 (4)	0,29 ± 0,09	8,41 ± 0,11 (4)
d(CH <sub>2</sub> ) <sub>5</sub> D-Phe VAVP	0,67 ± 0,13*	8,07 ± 0,09 (8)	0,58 ± 0,04	8,06 ± 0,03 (4)
d(CH <sub>2</sub> ) <sub>5</sub> [Gly <sup>2</sup> ] VAVP	agonista	-	agonista	-
d(CH <sub>2</sub> ) <sub>5</sub> [D-Ala <sup>2</sup> ] VAVP	agonista	-	177 ± 31	5,79 ± 0,08 (4)
d(CH <sub>2</sub> ) <sub>5</sub> [D-Val <sup>2</sup> ] VAVP	2,3 ± 0,3*	7,48 ± 0,06 (4)	27 ± 3	6,41 ± 0,05 (4)
d(CH <sub>2</sub> ) <sub>5</sub> [D-Leu <sup>2</sup> ] VAVP	1,2 ± 0,3*	7,79 ± 0,12 (4)	26 ± 5	6,45 ± 0,09 (4)
d(CH <sub>2</sub> ) <sub>5</sub> [D-Ile <sup>2</sup> ] VAVP	0,70 ± 0,0*	7,98 ± 0,05 (4)	8,2 ± 1,4	6,94 ± 0,08 (5)
d(CH <sub>2</sub> ) <sub>5</sub> [D-Arg <sup>2</sup> ] VAVP	> 90	< 5,9	~ 260	~ 5,4
d(CH <sub>2</sub> ) <sub>5</sub> D-Phe VDAVP	6,9 ± 1,3	7,07 ± 0,10 (9)	0,73	7,98 ± 0,07 (4)
d(CH <sub>2</sub> ) <sub>5</sub> Tyr-(Me) VDAVP	15 ± 3	6,68 ± 0,11 (4)	0,28 ± 0,05	8,44 ± 0,07 (8)
d(CH <sub>2</sub> ) <sub>5</sub> Tyr-(Et) VDAVP	5,7 ± 0,5	7,10 ± 0,08 (4)	0,34 ± 0,04	8,31 ± 0,05 (8)
d(CH <sub>2</sub> ) <sub>5</sub> Tyr(i-Pr) VDAVP	8,5 ± 0,07	6,88 ± 0,07 (4)	0,28 ± 0,07	8,41 ± 0,08 (8)
d(CH <sub>2</sub> ) <sub>5</sub> Tyr(n-Pr) VDAVP	14 ± 2	6,67 ± 0,05 (4)	1,1 ± 0,2	7,86 ± 0,10 (8)
d(CH <sub>2</sub> ) <sub>5</sub> Tyr(Me) VAVP	3,1 ± 0,4	7,35 ± 0,06 (4)	0,29 ± 0,06	8,32 ± 0,08 (4)
d(CH <sub>2</sub> ) <sub>5</sub> Tyr(Et) VAVP	1,9 ± 0,2	7,57 ± 0,06 (4)	0,49 ± 0,11	8,16 ± 0,09 (4)
d(CH <sub>2</sub> ) <sub>5</sub> Tyr(i-Pr) VAVP	3,6 ± 0,9	7,32 ± 0,06 (6)	0,31 ± 0,06	8,36 ± 0,09 (4)
d(CH <sub>2</sub> ) <sub>5</sub> Tyr(n-Pr) VAVP	3,5 ± 0,06	7,29 ± 0,07 (4)	0,40 ± 0,04	8,22 ± 0,04 (4)
d(CH <sub>2</sub> ) <sub>5</sub> -D-Tyr(Me) VAVP	1,2 ± 0,3	7,77 ± 0,07 (6)	0,23 ± 0,04	8,48 ± 0,08 (4)
d(CH <sub>2</sub> ) <sub>5</sub> -D-Tyr(Et) VAVP	1,1 ± 0,2	7,81 ± 0,07 (5)	0,45 ± 0,11	8,22 ± 0,12 (4)
d(CH <sub>2</sub> ) <sub>5</sub> -Tyr(Et)-V-Δ <sup>3</sup> -Pro <sup>7</sup> -AVP	1,5 ± 0,3			

A találmány szerinti előnyös vegyületek a korábban ismert antidiuretikus antagonisták hatású vegyületeknél szelektívebb hatást mutatnak, ha az antivazopresszor hatásokat is figyelembe vesszük, úgy mint ezt az antivazopresszor hatás és az antidiuretikus antagonisták hatás alábbi táblázatban bemutatott hányadosai is mutatják:

Vegyület	Hatásos dózis (antivazopresszor hatás)
	Hatásos dózis (antidiuretikus antagonisták hatás)
d(CH <sub>2</sub> ) <sub>5</sub> D-Tyr(Et) VAVP	0,41
d(CH <sub>2</sub> ) <sub>5</sub> D-Phe VAVP	0,87
d(CH <sub>2</sub> ) <sub>5</sub> [D-Val <sup>2</sup> ]VAVP	12
d(CH <sub>2</sub> ) <sub>5</sub> [D-Ile <sup>2</sup> ]VAVP	12

Vegyület	Dózis µg/kg	Vizeletterfogás ml/kg per óra	Ozmolalitás mOsm/kg H <sub>2</sub> O
d(CH <sub>2</sub> ) <sub>5</sub> Tyr-(Me)-VDAVP	100	1,5 ± 0,3	1341 ± 428
	300	2,2 ± 0,4*	961 ± 204**
d(CH <sub>2</sub> ) <sub>5</sub> Tyr-(Et)-VDAVP	30	2,8 ± 0,3**	640 ± 47**
	100	9,5 ± 1,8**	234 ± 25**
d(CH <sub>2</sub> ) <sub>5</sub> Tyr-(Me)-VAVP	10	1,1 ± 0,5	1303 ± 190
	30	3,4 ± 0,9*	514 ± 105**
d(CH <sub>2</sub> ) <sub>5</sub> Tyr-(Et)-VAVP	10	7,4 ± 1,0**	316 ± 38**
	30	13,3 ± 2,5**	194 ± 17**

b) Az 1-(β-merkaptó-β,β-ciklopentametilén-propionsav)-2-(O-etil)-tirozin-4-valin-arginin-vazopresszin hatását intraperitoneális adagolásban 200–240 g testsúlyú nőstény patkányokon, blokk-elrendezésű kísérletben határoztuk meg, ebben az elrendezésben minden egyes patkánynak beadtuk a kontrollként szolgáló oldószert, majd az antidiuretikus hormon antagonistájának mindkét dózist. Az egyes adagolások között legalább 2 nap szünetet tartottunk. A patkányok vizet ad libitum (tetszés szerint) kaptak. A vegyületeket délelőtt 11 órakor adtuk be, majd a spontán ürített vizelet térfogatát 4 órán keresztül óránként megmértük.

Az 1. példán bemutatjuk a vizelet ozmolalitását az idő függvényében. A (csak oldószerttel kezelt) kontroll csoport vizeletének ozmolalitását a vizelet-ürítés rendszertelensége miatt egy 2 órás időtartamra átlagoltuk.

A 2. ábrán bemutatjuk az ürített vizelet térfogatát az idő függvényében.

Mindkét ábrán a mérési pontokon átmenő függőleges szakaszok a standard szórást jelzik.

### 11. példa

A találmány szerinti azon vegyületeket, ahol a 2-es helyzetben D-tirozin van, és a tirozin nem éteresített (X' jelentése hidrogénatom), az 1–5. példákban leírt módon állítjuk elő. A Z helyén L-arginint tartalmazó vegyület nagyon erősen antagoni-

### 10. példa

a) [1-(β-merkaptó-β,β-ciklopentametilén-propionsav), 2-(O-alkil)-tirozin, 4-valin]-(L- és D-)-arginin-vazopresszin-származékoknak az endogén (a szervezetben jelenlévő) antidiuretikus hormon hatását antagonizáló aktivitását úgy mutatjuk ki, hogy e vegyületeket intraperitoneálisan (a hasüregbe adva) éber patkányoknak adtuk be. A vegyületek beadását követő 4 órán át gyűjtöttük a vizeletet. Az alábbi táblázatban megadjuk a 4–6 patkányból álló csoportokon kapott átlagértékeket és a standard szórást. A \*P kisebb 0,05 és \*\*P kisebb 0,005 jelzéseket az antagonistákkal kezelt állatokon kapott átlagértékek és az ugyanezen, de csak oldószerttel kezelt állatokon kapott átlagértékek különbségére adjuk meg. Az oldószerttel kezelt kontroll állatok átlagos vizelet-ürítése 0,9 ± 0,1 ml/kg per óra volt, és az átlagos ozmolalitás: mOsm/kg H<sub>2</sub>O (n = 32), 1544 ± 85.

zálja az arginin-vazopresszin antidiuretikus hatását.

A fenti példákkal szemléltetett eljárásokat hasonló sikerrel megismételhetjük akkor is, ha a fentiekben különösen megadott reagensek helyett ezekkel szerkezeti rokonságban álló más reagenseket használunk, és/vagy a reagensekkel a fenti példákban leírt reakciókörülmények között dolgozunk.

A szakemberek számára a fenti leírásból a jelen találmány lényeges jelei nyilvánvalóak, és a szakemberek előtt ismeretes, hogyan lehet a találmány szerinti eljárást különféle körülmények között alkalmazni anélkül, hogy eltérnének a találmány szerinti eljárás szellemétől és meghaladná oltalmi körét.

### Szabadalmi igénypontok

1. Eljárás a (VIII) általános képletű, ahol X jelentése Tyr(X'), D-Phe, D-Val, D-Leu, D-Ile, D-Arg, ahol a tirozin D- vagy L-konfigurációjú, W jelentése L-Pro, Z jelentése D- vagy L-Arg, és X' hidrogénatom, metil-, etil-, n-propil-, izopropil- vagy butilcsoport, oktapeptid-származékok előállítására, *azzal jellemezve*, hogy (VI) általános képletű, a peptidkémiai ismert módon védett β-(S-benzil-merkaptó)-β,β-ciklopentametilén-propionil-oktapeptid-amidot – ahol X, Z és W a fenti – a peptidkémiai ismert módon redukálunk, majd a keletkezett két merkaptocsoportot

tartalmazó oktapeptidet oxidatív úton gyűrűzárásnak vetünk alá. (Elsőbbsége: 1982. március 23.)

2. Az 1. igénypont szerinti eljárás olyan (VIII) általános képletű oktapeptid-származékok előállítására, ahol X Tyr(X'), X' metil-, etil-, n-propil-, izopropil- vagy butilcsoport, és W és Z az 1. igénypontban megadott, *azzal jellemezve*, hogy olyan (VI) általános képletű oktapeptid-származékokból indulunk ki, ahol X a fenti, és W és Z az 1. igénypontban megadott. (Elsőbbsége: 1981. március 24.)

3. A 2. igénypont szerinti eljárás olyan (VIII) általános képletű oktapeptid-származékok előállítására, ahol X (O-metil)-Tyr, és W és Z az 1. igénypontban megadott, *azzal jellemezve*, hogy olyan (VI) általános képletű oktapeptid-származékokból indulunk ki, ahol X a fenti, és W és Z az 1. igénypontban megadott. (Elsőbbsége: 1981. március 24.)

4. A 2. igénypont szerinti eljárás olyan (VIII) általános képletű oktapeptid-származékok előállítására, ahol X (O-etil)-Tyr, és W és Z az 1. igénypontban megadott, *azzal jellemezve*, hogy olyan (VI) általános képletű oktapeptid-származékokból indulunk ki, ahol X a fenti, és W és Z az 1. igénypontban megadott. (Elsőbbsége: 1981. március 24.)

5. A 2. igénypont szerinti eljárás olyan (VIII) általános képletű oktapeptid-származékok előállítására, ahol X (O-metil)-D-Tyr, és W és Z az 1. igénypontban megadott, *azzal jellemezve*, hogy olyan (VI) általános képletű oktapeptid-származékokból indulunk ki, ahol X a fenti, és W és Z az 1. igénypontban megadott. (Elsőbbsége: 1981. március 24.)

6. A 2. igénypont szerinti eljárás olyan (VIII) általános képletű oktapeptid-származékok előállítására, ahol X (Q-izopropil)-Tyr, és W és Z az 1. igénypontban megadott, *azzal jellemezve*, hogy olyan (VI) általános képletű oktapeptid-származékokból indulunk ki, ahol X a fenti, és W és Z az 1. igénypontban megadott. (Elsőbbsége: 1981. március 24.)

7. A 2. igénypont szerinti eljárás olyan (VIII) általános képletű oktapeptid-származékok előállítására, ahol X (O-n-propil)-Tyr, és W és Z az 1. igénypontban megadott, *azzal jellemezve*, hogy olyan (VI) általános képletű oktapeptid-származékokból indulunk ki, ahol X a fenti, és W és Z az 1. igénypontban megadott. (Elsőbbsége: 1981. március 24.)

8. Az 1. igénypont szerinti eljárás olyan (VIII) általános képletű oktapeptid-származékok előállítására, ahol X D-Phe, D-Val, D-Leu, D-Ile, D-Arg, W L-Pro és Z D- vagy L-Arg, *azzal jellemezve*, hogy olyan (VI) általános képletű oktapeptid-származékokból indulunk ki, ahol X, W és Z a fenti. (Elsőbbsége: 1981. november 16.)

9. A 8. igénypont szerinti eljárás olyan (VIII) általános képletű oktapeptid-származékok előállítására, ahol X-D-Phe, D-Val, D-Leu vagy D-Ile, és W és Z a 8. igénypontban megadott, *azzal jellemezve*, hogy olyan (VI) általános képletű oktapeptid-származékokból indulunk ki, ahol X a fenti, és W és Z a 8. igénypontban megadott. (Elsőbbsége: 1981. november 16.)

10. A 8. igénypont szerinti eljárás olyan (VIII) általános képletű oktapeptid-származékok előállítására, ahol Z L-Arg, és X és W a 8. igénypontban megadott, *azzal jellemezve*, hogy olyan (VI) általános képletű oktapeptid-származékokból indulunk ki, ahol Z a fenti, és W és X a 8. igénypontban megadott. (Elsőbbsége: 1981. november 16.)

11. A 8. igénypont szerinti eljárás olyan (VIII) általános képletű oktapeptid-származékok előállítására, ahol X D-Phe, Z Arg és W a 8. igénypontban megadott, *azzal jellemezve*, hogy olyan (VI) általános képletű oktapeptid-származékokból indulunk ki, ahol X és Z a fenti, és W a 8. igénypontban megadott. (Elsőbbsége: 1981. november 16.)

12. A 8. igénypont szerinti eljárás olyan (VIII) általános képletű oktapeptid-származékok előállítására, ahol X D-Val, Z Arg és W a 8. igénypontban megadott *azzal jellemezve*, hogy olyan (VI) általános képletű oktapeptid-származékokból indulunk ki, ahol X és Z a fenti, és W a 8. igénypontban megadott. (Elsőbbsége: 1981. november 16.)

13. A 8. igénypont szerinti eljárás olyan (VIII) általános képletű oktapeptid-származékok előállítására, ahol X D-Leu, Z Arg és W a 8. igénypontban megadott, *azzal jellemezve*, hogy olyan (VI) általános képletű oktapeptid-származékokból indulunk ki, ahol X és Z a fenti, és W a 8. igénypontban megadott. (Elsőbbsége: 1981. november 16.)

14. A 8. igénypont szerinti eljárás olyan (VIII) általános képletű oktapeptid-származékok előállítására, ahol X D-Ile, Z Arg és W a 8. igénypontban megadott, *azzal jellemezve*, hogy olyan (VI) általános képletű oktapeptid-származékokból indulunk ki, ahol X és Z a fenti, és W a 8. igénypontban megadott. (Elsőbbsége: 1981. november 16.)

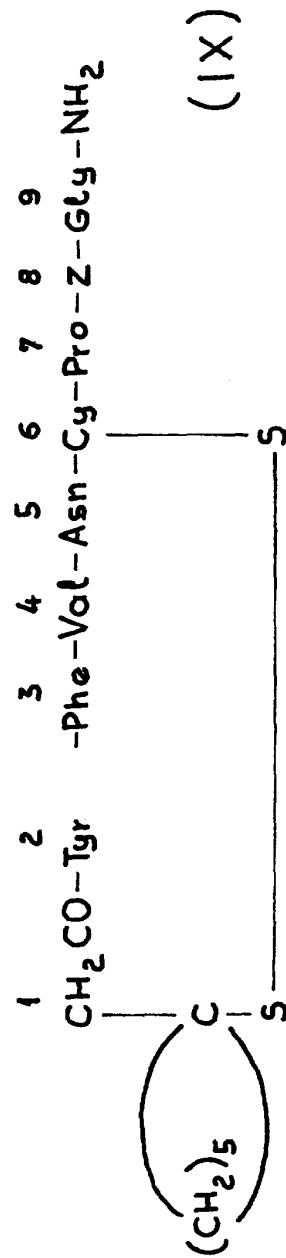
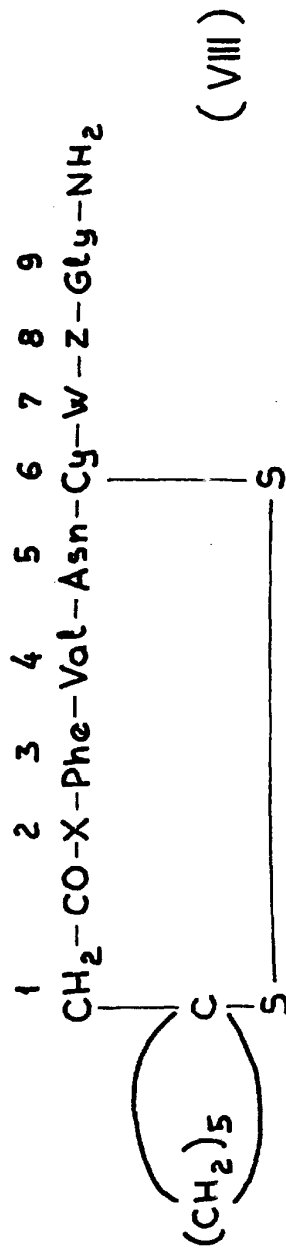
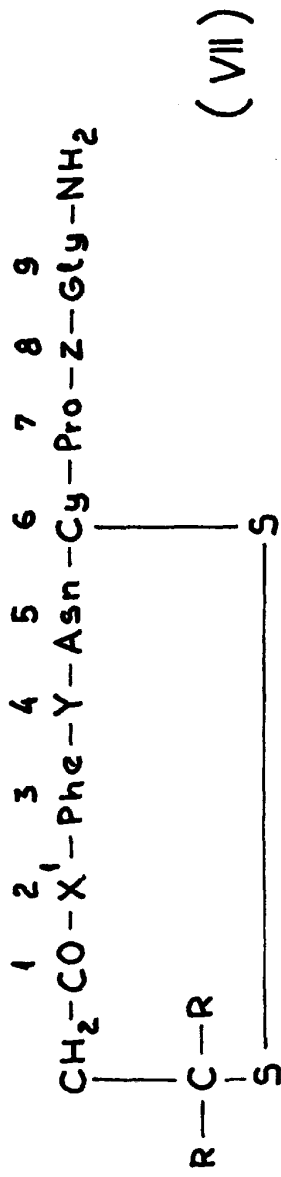
15. A 8. igénypont szerinti eljárás olyan (VIII) általános képletű oktapeptid-származékok előállítására, ahol X D-Phe, Z D-Arg és W a 8. igénypontban megadott, *azzal jellemezve*, hogy olyan (VI) általános képletű oktapeptid-származékokból indulunk ki, ahol X és Z a fenti, és W a 8. igénypontban megadott. (Elsőbbsége: 1981. november 16.)

16. Eljárás a (III) általános képletű oktapeptid-származékok előállítására, ahol X hidrogénatom, metil- vagy etilcsoport, és Z L- vagy D-Arg és Tyr D- vagy L- konfigurációjú, *azzal jellemezve*, hogy (IV) általános képletű, a peptidkémiaiában ismert módon védett  $\beta$ -(S-benzil-merkaptó)- $\beta$ , $\beta$ -ciklopentametilén-propionil-oktapeptid-amidot – a képletben X' és Z a fenti – a peptidkémiaiában ismert módon redukálunk, majd a keletkezett, két merkaptocsoportot tartalmazó oktapeptidet oxidatív úton gyűrűzárásnak vetjük alá. (Elsőbbsége: 1981. március 24.)

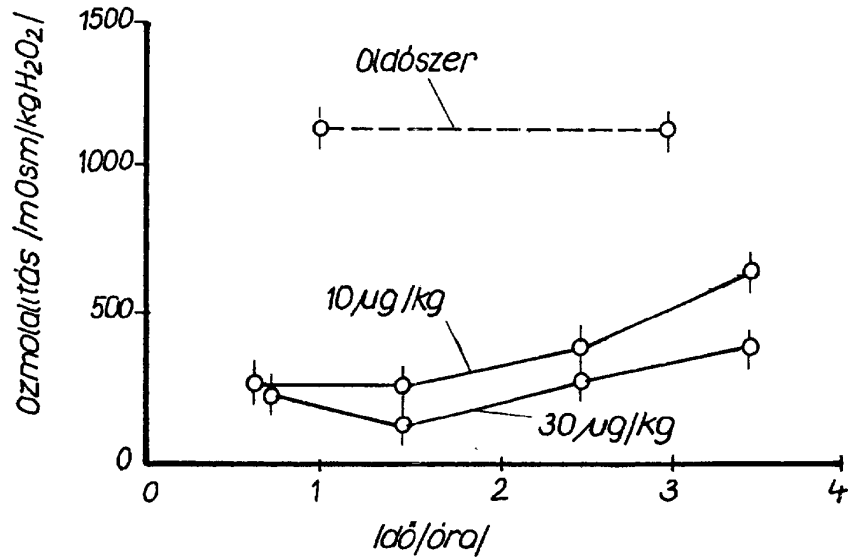
17. Az 1. igénypont szerinti eljárás (IX) általános képletű oktapeptid-származékok előállítására, ahol Tyr D-konfigurációjú és Z D- vagy L-Arg, *azzal jellemezve*, hogy olyan (VI) általános képletű oktapeptid-származékokból indulunk ki, ahol X D-Tyr, Z D- vagy L-Arg és W Pro. (Elsőbbsége: 1981. március 24.)



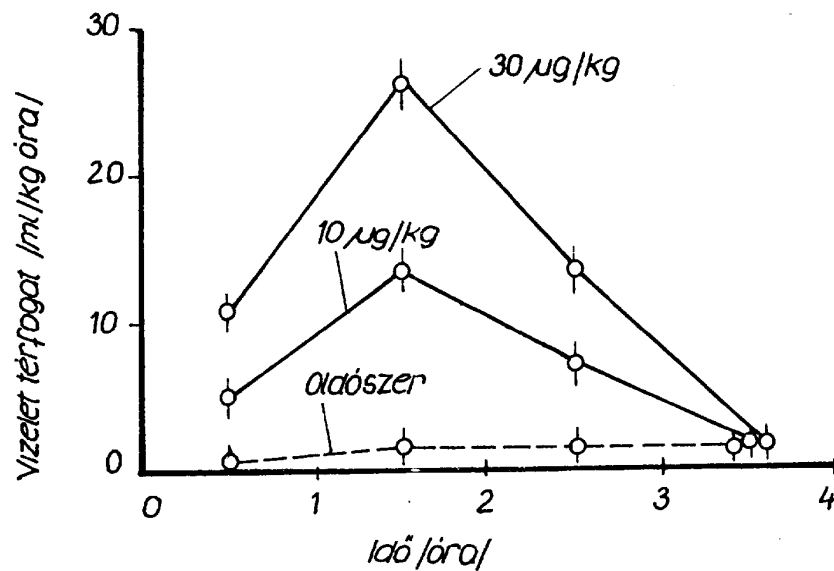




1. ábra



2. ábra



Kiadja az Országos Találmányi Hivatal  
 A kiadásért felel: Hímer Zoltán osztályvezető  
 Szedte a Nyomdaipari Fényszedő Üzem (877836/09)  
 88-0645 — Dabasi Nyomda, Budapest — Dabas  
 Felelős vezető: Bálint Csaba igazgató