

2423/90

közvetlen
példány



51.352/ZE

-53597-

K I V O N A T

Eljárás védett aminosavak előállítására

Bejelentő: CIBA-GEIGY AG., BASEL, SVÁJC

A bejelentés napja : 1990. 04. 12.

← E
Unió elsőbbsége : 1989. 04. 17. (1439/89-6)

1989. 06. 20. (2300/89-2) SVÁJC

találékony

A leírás ismerteti az (I) általános képletű vegyületeket és az R_2 szimbólum helyén hidrogénatomot tartalmazó (I) általános képletű vegyületek reakcióképes karbonsavszármazékait, továbbá mindezek előállítási eljárásait *vonalon*.

Az (I) általános képletben

n értéke 1 vagy 2 ;

R_1 hidrogénatom vagy valamilyen amino-védőcsoport ;

R_2 hidrogénatom vagy valamilyen karboxil-védőcsoport és

R_3 trifenil-metil-, 4-mometoxi-tritil- vagy 4,4'-dimetoxi-tritil-csoportot jelent.

A szóban forgó vegyületeket peptidok előállításához lehet kiindulási anyagként alkalmazni. ~~A mondott célra ezek sokkal jobban megfelelnek, mint az (I) általános képletű vegyületek azon analógjai, melyekben R_3 hidrogénatomot vagy valamilyen eddig használatos karboxil-védőcsoportot jelent.~~

szöveg

2423/90

00700

~~51.352/28~~

S.B.G. & K.
BUDAPESTI NEMZETKÖZI ÜGYVÉDI
ÉS SZABADALMI IRODA
1061 BUDAPEST, DALSZÍNHÁZ U. 10.
TELEFON: 183-3733

-53597-

A

Közzétételi példány
NSZ0_g-

COFC 237/04

Eljárás védett aminosavak előállítására

(Bejelentő) CIBA-GEIGY AG., BASEL, SVAJC

Feltalálók : SIMBER Peter, vegyész

REINACH,

dr. RINIKER Bernhard, vegyész, FRENKENDORF,

SVAJC

A bejelentés napja : 1990. 04. 12.

← E
Ünő-elsőbbsege : 1989. 04. 17. (1439/89-6)

1989. 06. 20. (2300/89-2) SVAJC

A találmány különféle N-tritil-karbamoid-csoportokat tartalmazó aminosav-származékokra, ezek előállítási eljárására és peptidszintézisnél történő alkalmazásukra vonatkozik.

Az aszparagin és a glutamin olyan aminosavak, melyek

amidcsoportjai a peptidszintézisnél gyakran nem kívánt mellékreakciókhoz vezetnek. Ilyen például a dehidratáció nitrillé, az intramolekuláris gyűrűzáródás (ciklizáció) imidde, valamint a glutamin esetében a pirrolidonképződés. Ezen túlmenően glutaminnal végzett szilárd fázisu szintézisnél gyakran megfigyelhető, hogy a peptidgyanták intramolekuláris hidrogénhidak kialakulása miatt többé már nem duzzadnak, aminek az a következménye, hogy a kapcsolási kiterelés rossz lesz.

A fenti hátrányokat el lehet kerülni az aszparagin és a glutamin karbamoilcsoportjának megvédésével. Védőcsoportként a következőket szokták alkalmazni : 4,4'-dimetoxi-difenil-metil-, azaz(di-[4-metoxi-fenil]-metil)-csoport, 4,4'-dimetoxi-benzhidril-(rövidítve: Mbh) és 2,4,6-trimetoxi-benzil-(rövidítve: Tmob)-csoport.

A jelen találmány feltalálójától származik az a felismerés, hogy az eddig ismertté vált karbamoil-védőcsoportok a lehasításuk során bizonyos esetekben önmaguktól is nem kívánt mellékreakciókat okoznak. Az acidolízissel történő lehasításnál képződő karbokationok ugyanis nagyon könnyen és irreverzibilis módon reagálnak triptofánnal.

Ezen felismerésből kiindulva — amely bizonyos mértékben a jelen találmány kiindulási pontja — a találmány feladata és célkitűzése az volt, hogy olyan karbamoil-védőcsoportot (vagyis karbamoilcsoport megvédésére szolgáló csoportot)

tot) találjanak, melynek alkalmazása esetén a fent nevezett mellékreakciók nem fordulnak elő és megfelelően védett aminosav-származékokat lehessen előállítani.

A találmány így az (I) általános képletű vegyületekre, továbbá a sóképzésre alkalmas csoporttal rendelkező (I) általános képletű vegyületek sóira, valamint az R_2 szimbólum helyén hidrogénatomot tartalmazó (I) általános képletű vegyületek reakcióképes karbonsavszármazékaira vonatkozik, ahol

n értéke 1 vagy 2 ;

R_1 hidrogénatom vagy valamilyen amino-védőcsoport ;

R_2 hidrogénatom vagy valamilyen karboxil-védőcsoport és

R_3 trifenil-metil-, 4-metoxi-tritil- vagy 4,4'-dimetoxi-tritil-csoportot jelent.

Az aszimmetriás szénatomon ($H\alpha$) a konfiguráció: (D,L), (D) vagy előnyösen (L).

Az (I) általános képletű vegyületeknek a peptidszintézis során nincs alkilező hatásuk a triptofán indoljának oldalláncára. Ezen túlmenően az olyan analóg vegyületekhez képest, ahol R_3 trimetoxi-benzil-(Tmob) vagy di-(4-metoxi-fenil)-metil-(Mbh)-csoportot képvisel, könnyebben hozzáférhető, szerves oldószerekben jobban oldhatók és amid-védőcsoportjukat is könnyebben le lehet hasítani trifluor-ecetsav-

val. Így például trifluor-ecetsavval [trifluor-ecetsav : 1,2-diklór-etán (1:1)] 22 °C-on történő hasításnál a felezési idő Fmoc-Gln(Trt)-OH, Fmoc-Gln(Fmob)-OH és Fmoc-Gln(Mbh)-OH vonatkozásában 2 perc, 9 perc, illetve 27 perc.

Az (I) általános képletű vegyületek reakcióképes karbonsavszármazékai kapcsolási körülmények között — vagyis kapcsolási katalizátorok, mint például 1-hidroxi-4H-benzotriazol (HOBT) és a peptidszintézis kapcsolási reakciójához szokásosan alkalmazott oldószerek, mint például dimetil-acetamid (DMA) vagy 1,2-diklór-etán (DIEA) jelenlétében — lényegesen stabilabbak az olyan analóg vegyületeknél, ahol R_3 hidrogénatomot jelent. Így például az Fmoc-Asn-O-Tcp és az Fmoc-Asn-O-Pfp bomlási idejének félertéke (Fmoc = 9-fluor-enil-metoxi-karbonil-csoport, Pfp = pentafluor-fenil-csoport, Tcp = 2,4,5-triklór-fenil-csoport) DMA + 1 ekvivalens HOBT + + 1,7 ekvivalens DIEA elegyben csupán 2 perc, illetve még 1 percnél is kevesebb, miközben az olyan analóg vegyületek, ahol R_3 tritilcsoportot jelent, ugyanilyen körülmények között teljesen stabilak.

Meglepő módon a teret kitöltő tritil-védőcsoportok nem lassítják a kapcsolási reakciókat, hanem a kapcsolási sebességet gyakorlatilag nem befolyásolják.

Védőcsoportokat, bevitelüket és lehasításukat ismertettek például az alábbi irodalmi forrásokban: "Protective

Groups in Organic Chemistry", Plenum Press, London, New York 1973 ; "Methoden der organischen Chemie", Houben-Weyl, 4. kiadás, 15/1 kötet, Georg Thieme Verlag, Stuttgart, 1974 ; Theodora W. Greene, "Protective Groups in Organic Synthesis", John Wiley and Sons, New York 1981. A védőcsoportok jellemző tulajdonsága, hogy könnyen, vagyis nem kívánt mellékreakciók bekövetkezése nélkül, például szolvólizissel, redukcióval, fotolitikusan, továbbá fiziológiai körülmények között is lehasíthatók.

Egy védett aminocsoport (R_1-NH-) példának okáért valamilyen könnyen lehasítható acil-amino-csoport, aril-metil-amino-csoport, éterezett merkaptó-amino-csoport, 2-acil-(rövidszénláncu)-alk-1-enil-amino- vagy szilil-amino-csoport alakjában fordulhat elő.

Egy megfelelő acil-amino-csoportban az acilcsoport például egy legfeljebb 18 szénatomos szerves karbonsav, így különösen egy adott esetben például halogénatommal vagy arilcsoporttal helyettesített alkánkarbonsav, vagy adott esetben például halogénatommal, rövidszénláncu alkoxycsoporttal vagy nitrocsoporttal helyettesített benzoesav, vagy pedig egy szénsav-félezster acilcsoportját jelenti. Ilyen acilcsoportok példának okáért a rövidszénláncu alkanoilcsoportok, így a formil-, az acetil- vagy a propionilcsoport, a halogén-(rövidszénláncu)-alkanoil-csoportok, így a 2-halogén-acetil-csoportok, különösen a 2-klór-, a 2-bróm-, a 2-jód-, a

2,2,2-trifluor- vagy a 2,2,2-triklór-acetil-csoport, az adott esetben például halogénatommal, rövidszénláncu alkoxi-csoporttal vagy nitrocsoporttal helyettesített benzoilcsoport, így a benzoilcsoport, a 4-klór-benzoil-, a 4-metoxi-benzoil- vagy a 4-nitro-benzoil-csoport. További acil-csoportok a rövidszénláncu alkilrész 1-helyzetében elágazó, illetve az 1- vagy 2-helyzetben alkalmas módon helyettesített rövidszénláncu alkoxi-karbonil-csoportok, különösen a terciér-(rövidszénláncu)-alkoxi-karbonil-csoportok, mint pl. a terc-butil-oxi-karbonil-csoport, még továbbá az egy vagy két arilcsoportot tartalmazó aril-metoxi-karbonil-csoportok, ahol az arilrész adott esetben előnyösen például rövidszénláncu alkilcsoporttal, különösen egy terc-(rövidszénláncu)-alkil-csoporttal, így terc-butil-csoporttal, rövidszénláncu alkoxicssoporttal, így metoxicssoporttal, hidroxilcsoporttal, halogénatommal, pl. klóratommal és/vagy nitrocsoporttal egyszeresen vagy többszörösen helyettesített fenilcsoportot képvisel. Ez utóbbiakra példaképpen az adott esetben helyettesített benzil-oxi-karbonil-csoportokat, így pl. a 4-nitro-benzil-oxi-karbonil-csoportot, illetve a helyettesített difenil-metoxi-karbonil-csoportokat, így a benzhidril-oxi-karbonil- vagy a di-(4-metoxi-fenil)-metoxi-karbonil-csoportot említjük. Alkalmas acilcsoportok még az aroil-metoxi-karbonil-csoportok, melyek aroilcsoportja adott esetben előnyösen pl. halogénatommal, így brómatommal helyettesített benzoilcsoport, mint például a fenacil-oxi-karbonil-csoport,

valamint a 2-halogén-(rövidszénláncu)-alkoxi-karbonil-csoportok, így például a 2,2,2-triklór-etoxi-karbonil-, a 2-bróm-etoxi-karbonil- vagy a 2-jód-etoxi-karbonil-csoport. Alkalmas acilcsoportok végül a 2-(triszubsztituált szilil)-etoxi-karbonil-csoportok, ahol a szubsztituensek egymástól függetlenül maguk is helyettesítve lehetnek például rövid-halogénatómmal, szénláncu alkil-, rövidszénláncu alkoxi-, aril- vagy nitro-csoporttal, mimellett a szubsztituens valamilyen legfeljebb 15 szénatomot tartalmazó alifás, aralifás, cikloalifás vagy aromás szénhidrogéngyök, így egy megfelelő, adott esetben helyettesített rövidszénláncu alkilcsoport, fenil-(rövidszénláncu)-alkilcsoport, cikloalkilcsoport vagy fenilcsoport. Ilyenek például a 2-tri-(rövidszénláncu)-alkil-szilil-etoxi-karbonil-csoportok, így pl. a 2-trimetil-szilil-etoxi-karbonil-csoport vagy a 2-(di-n-butyl-metil-szilil)-etoxi-karbonil-csoport, vagy pedig a 2-triaril-szilil-etoxi-karbonil-csoportok, így pl. a 2-trifenil-szilil-etoxi-karbonil-csoport.

Még további amino-védő R_1 csoportként a megfelelő szerves foszfor-, foszfon- vagy foszfinsavakból származó acilcsoportok is szóba jönnek. Ilyenek pl. a di-(rövidszénláncu)-alkil-foszforil-csoportok, mint például a dimetil-foszforil-, a dietil-foszforil-, a di-n-propil-foszforil- vagy a diisopropil-foszforil-csoport ; a dicikloalkil-foszforil-csoportok, például a diciklohexil-foszforil-csoport ; az adott esetben helyettesített difenil-foszforil-csoportok, így például maga

a difenil-foszforil-csoport ; az adott esetben például nitrocsoporttal helyettesített di-[fenil-(rövidszénláncu)-alkil]-foszforil-csoportok, mint például a dibenzil-foszforil- vagy a di-(4-nitro-benzil)-foszforil-csoport; továbbá az adott esetben helyettesített fenil-oxi-fenil-foszfonil-csoportok, így például a fenil-oxi-fenil-foszfonil-csoport ; valamint a di-(rövidszénláncu)-alkil-foszfinil-csoportok, mint például a dietil-foszfinil-csoport, illetve az adott esetben helyettesített difenil-foszfinil-csoportok, így például a difenil-foszfinil-csoport.

Az aril-metil-amino-csoport valamilyen monoaril-, diaril- vagy különösen triaril-metil-amino-csoport lehet, ahol az arilcsoport különösképpen fenilcsoportot jelent, amely helyettesítőt is hordozhat. Ilyen például a benzil-amino-, a difenil-metil-amino- és különösen a tritil-amino-csoport.

Az éterezett merkaptocsoport — ilyen csoporttal védett aminocsoportban — elsősorban egy aril-tio-csoport vagy egy aril-(rövidszénláncu)-alkil-tio-csoport lehet, melyekben az arilcsoport különösen adott esetben például rövidszénláncu alkilcsoporttal, mint pl. metilcsoporttal vagy terc-butil-csoporttal, rövidszénláncu alkoxicsoporttal, így metoxicsoporttal, halogénatommal, így klóratommal és/vagy nitrocsoporttal helyettesített fenilcsoportot jelent. Egy ilyen megfelelő amino-védőcsoport pl. a 2-nitro-

-fenil-tio-csoport.

Az aminocsoport védőcsoportjaként alkalmazható 2-acil-(rövidszénláncu)-alk-1-en-1-il-csoportokban levő acilcsoport például egy rövidszénláncu alkánkarbonsavnak megfelelő csoport, továbbá a benzoésav acilcsoportja lehet, mely utóbbi adott esetben például rövidszénláncu alkilcsoporttal, így metilcsoporttal vagy ter^c-butil-csoporttal, rövidszénláncu alkoxicssoporttal, így metoxicssoporttal, halogénatommal, így klóratommal és/vagy nitrocsoporttal helyettesítve is lehet, de a szóban forgó acilcsoport különösen egy szénsav-félesztérből, így egy szénsav-(rövidszénláncu)-alkil-félesztérből származó csoportot jelent. Megfelelő védőcsoportok első sorban az 1-(rövidszénláncu)-alkanoil-prop-1-en-2-il-csoportok, így pl. az 1-acetil-prop-2-en-2-il-csoportok, így pl. az 1-acetil-prop-1-en-2-il-csoport, vagy pedig az 1-(rövidszénláncu)-alkoxi-karbonil-prop-1-en-2-il-csoportok, így pl. az 1-etoxi-karbonil-prop-1-en-2-il-csoport.

Aminocsoport védőcsoportjaként előnyösek a szénsav-félesztérekéből származó acilcsoportok, különösen a terc-butil-oxi-karbonil-csoport, az adott esetben például a már megadott módon helyettesített benzil-oxi-karbonil-csoportok, így pl. a 4-nitro-benzil-oxi-karbonil-csoport vagy a difenil-metoxi-karbonil-csoport. Ugyancsak előnyösek a 2-halogén-(rövidszénláncu)-alkoxi-karbonil-csoportok, így a 2,2,2-triklór-etoxi-karbonil-csoport, vagy az allil-oxi-



-karbonil-csoport, valamint a felsoroltakkal rokonszerkezettü védőcsoportok, mindenekelőtt a 9-fluorenil-metoxi-karbonil-csoport.

A karboxilcsoportot védő R_2 védőcsoportok rendszerint észterező csoportok, elsősorban az 1-helyzetben elágazó, illetve az 1- vagy 2-helyzetben megfelelő módon helyettesített rövidszénláncu alkilcsoportok. Az észterezett formában levő karboxilcsoportok közül előnyösek — többek között — a terc-(rövidszénláncu)-alkoxi-karbonil-csoportok, mint például a terc-butil-oxi-karbonil-csoport, az aril-metoxi-karbonil-csoportok, melyek egy vagy két arilcsoportot tartalmaznak, mimellett az arilcsoport egy vagy két fenilcsoport, amely(ek) adott esetben például rövidszénláncu alkilcsoporttal, így egy terc-(rövidszénláncu)-alkil-csoporttal, mint például terc-butil-csoporttal, rövidszénláncu alkoxicssoporttal, így metoxicssoporttal, hidroxilcsoporttal, halogénatommal, mint pl. klóratommal és/vagy nitrocssoporttal egyszeresen vagy többszörösen helyettesítve lehet(nek). Ilyenek például az adott esetben a fentiekben már megadott módon helyettesített benzil-oxi-karbonil-csoportok, mint pl. a 4-metoxi-benzil-oxi-karbonil- vagy a 4-nitro-benzil-oxi-karbonil-csoport, illetve a fentiekben szintén megadott módon helyettesített difenil-metoxi-karbonil-csoportok, így pl. maga a difenil-metoxi-karbonil-csoport vagy a di-(4-metoxi-fenil)-metoxi-karbonil-csoport. További védőcsoportok az 1-(rövid-



szénláncu)-alkoxi-(rövidszénláncu)-alkoxi-karbonil-csoportok, így a metoxi-metoxi-karbonil-, az 1-metoxi-etoxi-karbonil- vagy az 1-etoxi-metoxi-karbonil-csoport. Itt kell megemlíteni az 1-(rövidszénláncu)-alkil-tio-(rövidszénláncu)-alkoxi-karbonil-csoportokat, így az 1-metil-tio-metoxi-karbonil- és az 1-etil-tio-etoxi-karbonil-csoportot, továbbá az aroil-metoxi-karbonil-csoportokat, melyek aroilcsoportja adott esetben például halogénatommal, így brómatommal helyettesített benzoilcsoport, mint például a fenacil-oxi-karbonil-csoport, illetve a 2-halogén-(rövidszénláncu)-alkoxi-karbonil-csoportokat, így például a 2,2,2-triklór-etoxi-karbonil-, a 2-bróm-etoxi-karbonil- vagy a 2-jód-etoxi-karbonil-csoportot. Alkalmos acilcsoportok végül a 2-(trisubsztituált szilil)-etoxi-karbonil-csoportok, ahol a szubsztituensek egymástól függetlenül maguk is helyettesítve lehetnek például rövidszénláncu alkilcsoporttal, rövidszénláncu alkoxycsoporttal, aroilcsoporttal, halogénatommal és/vagy nitrocsoporttal, mellettt maga a szubsztituens a megadott módon helyettesített alifás, aralifás, cikloalifás vagy aromás szénhidrogényök, így egy megfelelő, adott esetben helyettesített rövidszénláncu alkilcsoport, fenil-(rövidszénláncu)-alkil-csoport, cikloalkilcsoport vagy fenilcsoport. Ilyenek például a 2-tri-(rövidszénláncu)-alkil-szilil-etoxi-karbonil-csoportok, így pl. a 2-trimetil-szilil-etoxi-karbonil-csoport vagy a 2-(di-n-butil-metil-szilil)-etoxi-karbonil-csoport, vagy pedig a 2-triaril-szilil-etoxi-

-karbonil-csoportok, így pl. a 2-trifenil-szilil-etoxi-karbonil-csoport.

A védett karboxilcsoportok előnyös képviselői a következők: terc-(rövidszénláncu)-alkoxi-karbonil-csoportok, így a terc-butoxi-karbonil-csoport és elsősorban a fentiekben már említett módon helyettesített benzil-oxi-karbonil-csoportok, így a 4-nitro-benzil-oxi-csoport, valamint a difenil-metoxi-karbonil-csoport, de mindenképp a 2-(trimetil-szilil)-etoxi-karbonil-csoport.

As (I) általános képletű vegyületekben a sóképzésre alkalmas csoport például egy szabad aminos csoport (R_1-H) vagy egy szabad karboxilcsoport (R_2-H) lehet. Azokból az (I) általános képletű vegyületekből, melyekben R_1 hidrogénatomot képvisel, például szervetlen savakkal, így sósavval, kénsavval vagy foszforsavval, illetőleg alkalmas szerves karbonsavakkal vagy szulfonsavakkal, példának okáért trifluor-ecetsavval savaddíciós sókat képezhetünk. Azon (I) általános képletű vegyületekből, ahol R_2 hidrogénatomot jelent, fém sókat vagy ammóniumsókat, így például alkálifém sókat vagy alkáliföldfém-sókat, mint pl. nátrium-, kálium-, magnézium- vagy kalciumsókat képezhetünk. Ugyanezen vegyületekből ammóniával vagy megfelelő szerves aminokkal ammóniumsókat is lehet képezni, minemlett ezen sóképzésre elsősorban az alifás, cikloalifás, cikloalifás-alifás vagy aralifás primer, szekunder vagy terciér mono-, di- vagy poliaminok, valamint heterociklusos

bázisok jönnek tekintetbe. Ilyen aminok a rövidszénláncu alkil-aminok, például a trietil-amin, a hidroxil-(rövidszénláncu)-alkil-aminok, mint például a 2-hidroxi-etil-amin, a biss-(2-hidroxi-etil)-amin, a 2-hidroxi-etil-dietil-amin vagy a tri-(2-hidroxi-etil)-amin, továbbá bizonyos karbonsavak bázisos jellegű alifás észterei, mint például a 4-amino-benzoesav-2-dietil-amino-etil-észter. Itt kell megemlíteni továbbá a rövidszénláncu alkilénaminokat, például az 1-etil-piperidint, a cikloalkil-aminokat, így például a diciklohexil-amint, valamint a benzil-aminokat, mint például az N,N'-dibenzil-etilén-diamint, végül a piridintípusú bázisokat, így például a piridint, a kollidint vagy a kinolint.

Azokból az (I) általános képletű vegyületekből, melyekben mind R_1 , mind R_2 hidrogénatomot jelent, belső sók képződhetnek.

Ezeket a sókat, ahol R_1 és/vagy R_2 hidrogénatomot jelent — egyebek mellett — az (I) általános képletű vegyületek izolálására vagy tisztítására lehet alkalmazni.

Az R_2 helyén hidrogénatomot tartalmazó (I) általános képletű karbonsavak reakcióképes karbonsavszármazékai első sorban reakcióképesen aktivált észterek vagy reakcióképes anhidridek, továbbá ugyancsak reakcióképes ciklikus amidok lehetnek.

A savak aktivált észterei különösen az észterező cso-

port kapcsolási szémata tekintetében telítetlen észterek lehetnek, például valamilyen vinil-észter-típusu észter, így a tulajdonképpeni vinil-észter (melyet például egy megfelelő észternek vinil-acetáttal végzett átészterezésével kaphatunk meg ; aktivált vinil-észteres módszer), karbamoil-vinil-észterek (melyeket például a megfelelő savnak valamilyen izoxazolium-reagenssel végzett kezelésével kaphatunk meg ; 1,2-oxazolium- vagy Woodward-módszer), vagy 1-(rövidszénláncu)-alkoxi-vinil-észterek (ezeket például úgy kaphatjuk meg, hogy a megfelelő savat egy rövidszénláncu alkoxi-acetilénnel kezeljük; etoxiacetilén-módszer), amidotípusu észterek, így például N,N'-diszubsztituált amidino-észterek (melyeket például a megfelelő savnak valamilyen alkalmas N,N'-diszubsztituált karbodiimiddel, mint pl. N,N'-diciklohexil-karbodiimiddel végzett reagáltatásával kaphatjuk meg ; karbodiimid-módszer), vagy N,N'-diszubsztituált amidino-észterek (ezeket például úgy kaphatjuk meg, hogy a megfelelő savat valamilyen N,N'-diszubsztituált-ciánamiddal reagáltatjuk; ciánamid-módszer), alkalmas aril-észterek, különösen elektronvonzó szubsztituensekkel alkalmas módon helyettesített fenil-észterek (ezeket például a megfelelő savnak valamilyen alkalmas módon helyettesített fenollal, mint például 4-nitro-fenollal, 4-metil-szulfonil-fenollal, 2,4,5-triklór-fenollal, 2,3,4,5,6-pentaklór-fenollal, 2,3,4,5,6-pentafluor-fenollal vagy 4-fenil-diazo-fenollal valamilyen kondenzálószer, mint például N,N'-diciklohexil-karbodiimid jelenlétében végzett reagáltatás

utján kaphatjuk meg ; aktivált aril-észter^es módszer), ciánmetil-észter (ezt például a megfelelő savnak valamilyen bázis jelenlétében klór-acetonitrillel végzett reagáltatásával kaphatjuk meg ; ciánmetil-észteres módszer), tioészterek, különösen adott esetben például nitrocsoporttal helyettesített fenil-tioészterek (ezeket például úgy kaphatjuk meg, hogy a megfelelő savat adott esetben például nitrocsoporttal helyettesített tiofenolekkel reagáltatjuk — egyebek között az anhidrides vagy a karbodiimides módszerrel —; aktivált tiolészteres módszer), amino- vagy amido-észterek (ezeket például a megfelelő savnak valamilyen N-hidroxi-amino- illetve N-hidroxi-amido-vegyülettel, mint például N-hidroxi-szukcinimiddal, N-hidroxi-5-norbornen-2,3-dikarboximiddal, N-hidroxi-piperidinnel, N-hidroxi-ftálimiddal, 1-hidroxi-benzotriazolal vagy 3,4-dihidro-3-hidroxi-4-oxo-1,2,3-benzotriazinallal végzett reagáltatásával állíthatjuk elő, például az anhidrides vagy a karbodiimides módszerrel; aktivált N-hidroxi-észteres módszer), végül a szilil-észterek (melyeket például a megfelelő savnak valamilyen szililezőszerrel, például hexametil-diszilazánnal végzett reagáltatásával kaphatjuk meg és ezek hidroxilcsoporttal könnyen reagálnak, míg aminocsoportokkal egyáltalán nem lépnek reakcióba).

A savak anhidridjei lehetnek szimmetrikus anhidridek, vagy előnyösen az említett savak vegyes anhidridjei, így például szervetlen savakkal alkotott anhidridek, így savhalogénidek, különösképpen savkloridok lehetnek (ez utóbbiakat

például a megfelelő savnak foszfor-triklorid-oxiddal /tionilkloriddal/, foszfor-pentakloriddal vagy oxalil-kloriddal végzett kezelésével kaphatjuk meg ; savkloridos módszer), azidok (ezeket például valamilyen megfelelő savészterből a megfelelő hidrazidon keresztül és ez utóbbinak salétrososavval végzett kezelése útján kaphatjuk meg ; azid-módszer), szénsav-félszármazékokkal, például szénsav-(rövidszénláncu)-alkil-félszterekkel alkotott anhidridek (ezeket például a megfelelő savnak valamilyen halogén-hangyasav-(rövidszénláncu)-alkil-észterrel, így klór-hangyasav-(rövidszénláncu)-alkil-észterrel vagy valamilyen 1-(rövidszénláncu)-alkoxikarbonil-2-(rövidszénláncu)-alkoxi-1,2-dihidrokinolinnal, mint például 1-(rövidszénláncu)-alkoxikarbonil-2-etoxi-1,2-dihidrokinolinnal végzett reagáltatásával kaphatjuk meg ; vegyes O-alkil-szénsav-anhidrides módszer), továbbá dihalogénezett, különösen diklórozott foszforsavval képezett anhidridek (ezeket például a megfelelő savból állítjuk elő foszfor-triklorid-oxiddal (foszforoxikloriddal) végzett kezeléssel ; foszforoxikloridos módszer), még továbbá szerves savakkal, így szerves karbonsavakkal képezett vegyes anhidridek (ezeket például a megfelelő savnak adott esetben helyettesített rövidszénláncu alkánkarbonsav-halogeniddal vagy fenil-alkánkarbonsav-halogeniddal, mint például fenil-ecetsav-kloriddal, pivalinsav-kloriddal vagy trifluor-ecetsav-kloriddal végzett kezelésével állítjuk elő; vegyes karbonsavanhidride^S-módszer), vagy pedig szerves szulfonsavakkal

képezett vegyes anhidridek (ezeket például úgy állíthatjuk elő, hogy a megfelelő sav valamilyen sóját, így alkálifémsó-ját egy alkalmas szerves szulfonsav-halogeniddel, így egy rövidszénláncú alkánszulfonsav-kloriddal vagy arilszulfonsav-kloriddal, mint pl. metánszulfonsav-kloriddal vagy p-toluolszulfonsav-kloriddal reagáltatjuk; vegyes szulfonsav-anhidrid-módszer), végül a szimmetrikus anhidrideket (ezeket például a megfelelő savnak valamilyen karbodiimid vagy l-dietil-amino-propin jelenlétében végzett kondenzálásával kaphatjuk meg; szimmetrikus anhidrid-módszer) említjük meg.

Az alkalmas ciklusos amidok különösen aromás karakterű öttagú diazociklénekkel képezett amidok lehetnek. Ilyenek az imidazolokkal, mint pl. az imidazollal képezett amidok (ezeket például a megfelelő savnak N,N'-karbonil-diimidazollal végzett kezelésével lehet megkapni; imidazolid-módszer), vagy pirazolokkal képezett amidok, mint pl. a 3,5-dimetil-pirazollal képezett amidok (ezeket például savhidrazidokon keresztül, acetil-acetonnal végzett kezeléssel kaphatjuk meg; pirazolid-módszer).

A jelen leírás szövegében használt és aminosavakra vonatkozó rövidítések az általában szokásosak. Így Asp = aszparaginsav, Asn = aszparagin, Gln = glutamin, Ser = szerin, Leu = leucin, Gly = glicin, Lys = lizin, His = hisztidin, Pro = prolin, Tyr = tirozin, Trp = triptofán, Arg = arginin, Val = valin és Ile = izoleucin.

A nemzetközileg elismert nomenklaturaszabályokkal összhangban a jelen bejelentés szövegében levő aminosav-rövidítések, mint pl. a fentiekben megnevezett rövidítések szabad savakra vonatkoznak, melyek más megjelölés hiányában L-konfigurációval rendelkeznek. Ugy kell elképzelni, hogy az α -aminocsoport van a rövidítés bal oldalán, míg a karboxilcsoport a rövidítés jobb oldalán helyezkedik el. Ha az α -aminocsoportból egy hidrogénatom hiányzik, úgy ezt az aminosav rövidítésétől balra álló kötőjel, míg a két hidrogénatom hiányát ugyancsak balra mutató két kötőjel fejezi ki. Ha a karboxilcsoportból hiányzik a hidroxilcsoport, úgy ezt a tényt jobbra mutató kötőjel fejezi ki. Az aminosavak oldalláncában levő szubsztituensek közvetlenül az aminosav-szimbólum után zárójelekbe téve szerepelnek. Így például a Z-Asn(Trt)-OH képletű vegyület a csatolt rajzon levő (Ia) szerkezeti képletnek felel meg.

Az (I) általános képletű vegyületek peptidszintézisnél történő alkalmazásának előnyeit a leírás azon részében mutatjuk be, ahol a kiviteli példák vannak. Így például a H-Gln-Gln-Gln-Gln-Ser-Leu-Gly-OH képletű peptidet nyers termék formájában 92 %-os tisztasággal kapjuk meg, ha a Gln-csoportok karbamoilcsoportját az előállítási eljárás során tritilcsoporttal védjük. Ilyen védelem nélkül, Merrifield-szintézissel a nyers termék nem a fentiekben megadott 92 %, hanem csupán csak 30 % kivánt terméket tartalmaz.

A Fmoc-Lys-Gln-His-Asn-Pro-Lys-Tyr-Gln-Trp-Asn-OH kép-

letű peptid szintézisének kapott nyers termék, ha az Asn és a Gln karbamoilcsoportjait tritilcsoporttal védjük ("A" nyers termék) egyfelől, és 2,4,6-trimetoxi-benzil-csoporttal történő védeés esetén ("B") nyers termék) másfelől, az "A" nyers termékben kb. 95 %, míg a "B" nyers termékben csupán kb. 8 % mennyiségben fordul elő a kívánt termék.

Az (I) általános képletű vegyületeket glutamin- és/vagy aszparaginmaradékot tartalmazó tetszőleges peptidok szintézisének építőelemként, vagy ezen építőelemek előállításánál köztiterméként lehet alkalmazni. Merrifield szerinti peptid-szintézishez olyan (I) általános képletű vegyületeket és reakcióképes karbonsavszármazékaikat használunk, melyekben R_1 egy amino-védőcsoportot, különösen 9-fluorenil-metoxi-karbonil- vagy terc-butil-oxi-karbonil-csoportot, R_2 hidrogénatomot és R_3 trifenil-metil-, 4-monometoxi-tritil- vagy 4,4'-dimetoxi-tritil-csoportot jelent.

Előnyösek az olyan (I) általános képletű vegyületek, ahol R_1 benzil-oxi-karbonil-csoportot, 9-fluorenil-metoxi-karbonil-csoportot, allil-oxi-karbonil-csoportot vagy terc-butil-oxi-karbonil-csoportot, R_2 hidrogénatomot és R_3 trifenil-metil-csoportot jelent.

Különösen előnyösek a kiviteli példákban leírt (I) általános képletű vegyületek.

A fentiekben közelebbről is leírt reakcióképes karbonsav-

származékok közül különösen a 2,4,5-triklór-fenil-észtere-
ket, a pentafluor-fenil-észtereket, az 1-hidroxi-benzotriazol-
al, a 3,4-dihidro-3-hidroxi-4-oxo-1,2,3-benzotriazinnal vagy
az N-hidroxi-5-norbornen-2,3-dikarboximiddel képezett észte-
reket, valamint a savkloridokat és a szimmetrikus anhidri-
deket, de kiváltképpen azokat a reakcióképes karbonsavszár-
mazékokat kell megemlíteni, melyek az előbbieken már elő-
nyösnek mondott (I) általános képletű vegyületek ilyen szár-
mazékai.

Meglepő módon a találmány szerinti R_3 amid-védőcsoport
katalitikus hidrogénezéskor stabilan viselkedik olyan kö-
rülmények között, amikor az R_3 benzil-oxi-karbonil-csoport
amino-védőcsoportként, vagy a benzilcsoport mint karboxil-
védőcsoport már lehasad. Az R_3 védőcsoportot például tri-
fluor-ecetsav — viz — 1,2-etánditiol (90:5:5) eleggyel
szobahőmérséklet és $+50\text{ }^\circ\text{C}$ közötti hőmérséklet-tartomány-
ban, így például $+30\text{ }^\circ\text{C}$ -on lehet lehasítani.

Az (I) általános képletű vegyületeket önmagukban véve
ismert módszerekkel állítjuk elő. A találmány szerinti elő-
állítás módszerre jellemző, hogy

a) valamely (II) általános képletű vegyületet, ahol
 R_4 hidrogénatomot vagy a reakciókörülmények között stabil
amino-védőcsoportot jelent, míg n és R_2 jelentése a fenti-
ekben megadott, egy (III) általános képletű vegyülettel
— ebben a képletben R_3 a fentiekben megadott jelentésű —

reagáltatunk, majd a kapott termékből lehasítjuk mindazokat a védőcsoportokat, melyek a kivánt (I) általános képletű vegyületnek nem képezik alkotó részét, vagy

b) olyan (I) általános képletű vegyületek előállítására, ahol R_1 valamilyen amino-védőcsoportot képvisel, egy (IV) általános képletű vegyületbe, ahol n , R_2 és R_3 a fentiekben megadott jelentésű, beviszünk egy amino-védőcsoportot, vagy

c) valamely (V) általános képletű vegyületet, ahol n jelentése a fentiekben megadott, R_5 a reakció körülményei között stabil amino-védőcsoportot és R_6 a reakció körülményei között stabil karboxil-védőcsoportot jelent, egy (VI) általános képletű vegyülettel — ebben a képletben R_3 a fentiekben megadott jelentésű — reagáltatunk, majd a kapott termékből lehasítjuk mindazokat a védőcsoportokat, melyek a kivánt (I) általános képletű vegyületnek nem képezik alkotó részét, és ezt követően az a), b) vagy c) eljárás megvalósítása után kivánt esetben a kapott és sóképzésre alkalmas csoporttal rendelkező (I) általános képletű vegyületet ennek sójává alakítjuk át, vagy egy kapott sót szabad vegyületté, vagy pedig egy olyan (I) általános képletű vegyületet, melyben R_2 hidrogénatomot jelent, valamilyen reakcióképes karbonsavszármazékká alakítunk át.

A fentnevezett eljárásváltozatokat az alábbiakban közelebbről is megmagyarázzuk ;

a) eljárás :

Az a) eljárást valamilyen alkalmas szerves oldószerben, katalitikus mennyiségű így például ecetsavban valósítjuk meg, valamilyen vízmentes erős Lewis-sav, mint például bór-trifluorid, trifluor-metán-szulfonsav vagy előnyösen kénsav, valamint egy vízelvonószert, mint például ecetsavanhidrid jelenlétében és körülbelül 0°C és $+100^{\circ}\text{C}$ közötti, előnyösen szobahőmérséklet (kb. 20°C) és $+70^{\circ}\text{C}$ közötti hőmérséklet-tartományban, így pl. $+50^{\circ}\text{C}$ -on dolgozunk. Amennyiben R_4 hidrogénatomot jelent, úgy célszerűen több vízmentes kénsavat használunk, mint abban az esetben, amikor R_4 valamilyen amino-védőcsoportot jelent. Így például 1,1 ekvivalens mennyiségű vízmentes kénsavat használunk és a reakciót előnyösen kb. $+60^{\circ}\text{C}$ -on valósítjuk meg, különösen akkor, ha olyan (II) általános képletű vegyületből indulunk ki, melyben R_4 hidrogénatom és n értéke : 1.

Az R_4 amino-védőcsoport valamilyen savas körülmények között stabil amino-védőcsoport lehet, így például allil-oxi-karbonil-, trifluor-acetil-, vagy előnyösen benzil-oxi-karbonil- vagy 9-fluorenil-metoxi-karbonil-csoport.

Amennyiben olyan (I) általános képletű végterméket kívánunk előállítani, melyben R_1 és/vagy R_2 egyaránt hidrogénatomot jelent, úgy az R_4 és/vagy R_2 védőcsoportokat le kell hasítani.

A legtöbb R_2 karboxil-védőcsoport már a reakció körül-

ményei között is lehasad. Az R_2 karboxil-védőcsoportok közül csupán a metil-, az etil- vagy az allilcsoport stabil, ezeket például bázissal katalizált hidrolizissel lehet lehasítani.

Az R_4 amino-védőcsoportként használt trifluor-acetil-csoportot enyhe alkálikus hidrolizissel, így például vizes ammóniaoldattal, nátrium- vagy bárium-hidroxiddal, továbbá bázisos ioncserélő gyantákkal hasítjuk le.

Az R_4 amino-védőcsoportként használt benzil-oxi-karbonil-csoportot hidrogénezéssel hasítjuk le, melyet vizet tartalmazó metanolos-sósavas oldatban, szobahőmérsékleten és normális nyomáson végzünk palládium/szén katalizátor jelenlétében.

Az R_4 amino-védőcsoportként használt 9-fluorenil-metoxi-karbonil-csoportot piperidin — dimetil-acetamid (1:4) eleggyel szobahőmérsékleten hasítjuk le.

Az a) eljárásnál elérhető kitermelés az elméletinek 60 - 95 %-a.

b) eljárás:

A b) eljárást valamilyen alkalmas, adott esetben vizet tartalmazó oldószerben vagy oldószerelegyben valósítjuk meg, kb. $0\text{ }^{\circ}\text{C}$ és $+80\text{ }^{\circ}\text{C}$ közötti hőmérséklet-tartományban, előnyösen szobahőmérséklettől $+50\text{ }^{\circ}\text{C}$ -ig terjedő hőmérsékleten, de szuszpenzióban is dolgozhatunk. Így például a 9-fluorenil-metoxi-

-karbonil-csoportot R_1 aminosvédőcsoportként úgy visszük be, hogy a (IV) általános képletű kiindulási vegyületet valamilyen szerves oldószerben, így tetrahydrofuranban vagy dioxánban, víz és valamilyen szervetlen bázis, mint például nátrium-hidrogén-karbonát vagy nátrium-hidroxid, valamint szükséges esetben egy tercier szerves amin, így trietil-amin jelenlétében 9-fluorenil-metil-N-szukcinimid^{il}-karbonáttal reagáltatjuk. A terc-butyl-oxi-karbonil-csoportot — mint R_1 aminosvédőcsoportot — például 90 %-os vizes tetrahydrofuranban, trietil-amin jelenlétében, szobahőmérsékleten vihetjük be, ekvimoláris mennyiségű di-terc-butyl-dikarbonáttal. A b) eljárás során az elméleti kitermelés 90 - 99 %-át lehet elérni.

Az a) eljáráshoz képest különbség, hogy a b) eljárás tetszőleges R_1 aminosvédőcsoport bevitelét teszi lehetővé.

c) eljárás :

A c) eljárást valamilyen alkalmas szerves oldószerben, így 1,2-diklór-étánban valósítjuk meg, $-20\text{ }^{\circ}\text{C}$ és $+70\text{ }^{\circ}\text{C}$ közötti hőmérséklettartományban, így pl. $0\text{ }^{\circ}\text{C}$ hőmérsékleten és előnyösen valamilyen védőgáz, pl. argonatmoszféra alatt dolgozunk. Ehhez szükséges, hogy az (V) általános képletű kiindulási vegyületben levő szabad karboxil csoportot in situ aktiváljuk, például 1-klór-N,N,2-trimetil-prop-1-enil-amin segítségével. A c) eljárásnál az elméletire számítva kb.

40 - 70 %-os kitermelés érhető el.

A reakciókörülmények között stabilan viselkedő R_5 aminosvédőcsoportok közül például a 9-fluorenil-metoxi-karbonilcsoportot, míg hasonló körülmények között stabil R_6 karboxilvédőcsoportként például a benzilcsoportot említjük meg.

Azokat a karboxil- és/vagy aminosvédőcsoportokat, melyek nem alkotóelemei a kívánt (I) általános képletű végterméknek, önmagában véve ismert módszerekkel, így például szolvólizissel, különösen hidrolizissel, továbbá alkoholizissel vagy acidolizissel, valamint redukcióval, így különösen hidrogenolizissel vagy kémiai redukcióval hasítjuk le, amit adott esetben lépésenként vagy egyidejűleg végzünk, de erre a célra enzimátikus módszereket is alkalmazhatunk.

Igy különösen egy R_6 benzilcsoportot szobahőmérsékleten végzett hidrogénezéssel lehet lehasítani palládium/szén katalizátor jelenlétében, miközben a 9-fluorenil-metoxi-karbonilcsoport (R_5), valamint az R_3 védőcsoport érintetlenül megmaradnak. A 9-fluorenil-metoxi-karbonilcsoport (R_5) lehasítását az a) eljárással kapcsolatban leírtak szerint véghezvitjük el. A védőcsoportok lehasításánál elérhető kitermelések az elméletileg számítottak 90 - 99 %-át teszik ki.

Az (I) általános képletű vegyületeket előnyösen a b), de leginkább az a) eljárással állítjuk elő.

Utólagos műveletek:

A sóképzésre alkalmas csoportokkal rendelkező (I) álta-

lános képletű vegyületek sóit önmagában véve ismert módszerekkel lehet előállítani. Így a savas csoportokkal rendelkező (I) általános képletű vegyületek sóit valamilyen alkalmas bázissal történő reagáltatással állítjuk elő. A bázisokra példaképpen az alkalmas fémvegyületeket, így a megfelelő szerves karbonsavak alkálifém-sóit, mint például az α -etil-kapronsav nátriumsóját, továbbá az alkalmas szervetlen alkálifém- vagy alkáliföldfém-sókat nevezzük meg, különösen az olyanokat, melyeket valamilyen gyenge és előnyösen illékony savból lehet levezetni, ilyen például a nátrium-hidrogén-karbonát, de ammóniával vagy valamilyen alkalmas szerves ammóniával is képezhetünk sókat és a sóképzésre használt szerből előnyösen sztöchiometrikus mennyiséget vagy csak csekély felesleget használunk. Az (I) általános képletű vegyületek savaddíciós sóit is szokásos módon kapjuk meg, így például valamilyen savval, vagy alkalmas anioncserélő-reagenssel történő reagáltatás útján. Azon (I) általános képletű vegyületekből, melyek például egy szabad karboxilcsoportot és egy szabad aminocsoportot tartalmaznak, belesókat képezhetünk, például sóik, így savaddíciós sóik izoelektromos pontra történő semlegesítésével, melyet például gyenge bázisokkal vagy folyékony ioncserélővel történő kezeléssel végzünk. A sóképzési reakció gyakorlatilag kvantitatív eredménnyel megy végbe.

A sókat a szokásos módon, kvantitatív kitermeléssel, szabad vegyületekké lehet átalakítani; így a fém-sókat és az ammóniumsókat például valamilyen alkalmas savval, míg a savaddi-

ciós sókat például egy alkalmas bázisos szerrel kezeljük.

Azon (I) általános képletű vegyületekből, melyekben R_2 hidrogénatomot jelent, reakcióképes karbonsavszármazékokat lehet előállítani, amit úgy végzünk, ahogyan azt az előbbiekben a reakcióképes karbonsavszármazékok tüzetesebb jellemzése kapcsán már leírtuk. Ennek érdekében például olyan (I) általános képletű vegyületből indulhatunk ki, ahol R_1 valamilyen alkalmas aminosvédőcsoportot és R_2 hidrogénatomot jelent. A reakcióképes karbonsavszármazékokra nézve az elméleti kitermelés 85 - 98 %-át lehet elérni.

Amennyiben nincs másféle utalás, úgy a fentiekben leírt eljárásokat — a védőcsoportok lehasítását és az utólagos műveleteket is beleértve — önmagában véve ismert módon valósítjuk meg, így például előnyösen inert oldószerek és higítószerke jelenlétében vagy ilyenek távollétében és ha szükséges kondenzálószerke vagy katalizátorok jelenlétében, továbbá csökkentett vagy felemelt hőmérsékleten, így például kb. $-20\text{ }^{\circ}\text{C}$ és kb. $150\text{ }^{\circ}\text{C}$ közötti hőmérséklet-tartományban, különösen kb. $0\text{ }^{\circ}\text{C}$ és $+70\text{ }^{\circ}\text{C}$ közötti, előnyösen kb. $+10\text{ }^{\circ}\text{C}$ és kb. $+50\text{ }^{\circ}\text{C}$ közötti hőmérsékleten, főleg szobahőmérsékleten dolgozunk, valamilyen megfelelően alkalmas edényben és szükséges esetben valamilyen inertgás, mint pl. nitrogénatmoszféra alatt.

Emellett tekintettel kell lenni a molekulában levő valamennyi szubsztituensre és ha ez szükséges, így például könny-

nyen hidrolizálható csoportok esetén, különösen kiméletes reakciókörülményeket, így rövid reakcióidőket, enyhén savas vagy bázisos szereket alkalmazunk alacsony koncentrációban, továbbá a mennyiségi viszonyokat sztöchiometrikusnak, a katalizátorokat, az oldószereket, a hőmérsékleti és/vagy nyomásviszonyokat pedig alkalmas módon választjuk meg.

A találmány az eljárásnak azon megvalósítási formáira is vonatkozik, melyeknél az eljárás bármelyik fokozatában köztiterméként megkapható vegyületből indulunk ki és a még hátralevő eljárási lépéseket valósítjuk meg, vagy az eljárást annak bármelyik lépésénél megszakítjuk, vagy pedig egy kiindulási anyagot a reakciókörülmények között képezünk, vagy azt valamilyen reakcióképes származéka vagy sója alakjában alkalmazzuk. Emellett előnyösen olyan kiindulási anyagokat alkalmazunk, amelyek az eljárás értelmében a fentiekben különösen értékesnek mondott vegyületekhez vezetnek.

A találmány még az (I) általános képletű vegyületek, valamint ezen vegyületek reakcióképes karbonsavszármazékainak alkalmazására, így peptidek, különösen szilárd fázison történő szintéziséknél, mint például a Merrifield-szintéziséknél történő alkalmazására ^(is) vonatkozik. Így különösképpen azon (I) általános képletű vegyületek alkalmazására, melyekben R_1 valamilyen amino-védőcsoportot, így benzil-oxi-karbonil-, allil-oxi-karbonil-, terc-butil-oxi-karbonil- vagy különösen 9-fluorenil-metoxi-karbonil-csoportot, R_2 hidrogénatomot

és R_3 4-monometoxi-tritil-, 4,4'-dimetoxi-tritil- vagy különösen trifenil-metil- (vagyis tritil-) csoportot jelent.

A találmány az olyan anyagokra is vonatkozik, melyek legalább egy (VII) általános képletű bivalens csoportot tartalmaznak, ahol n értéke 1 vagy 2 és R_3 trifenil-metil-, 4-monometoxi-tritil- vagy 4,4'-dimetoxi-tritil-csoportot jelent. A találmány az ilyen anyagok előállítására és peptidszintézisnél történő alkalmazására is vonatkozik. Ezen anyagok esetében elsősorban peptidszármazékokról van szó, ahogyan azok például peptidszintézis során köztiterméként keletkeznek. Ennek megfelelően ezek a peptidszármazékok valamilyen szintézisgyantán megkötve is lehetnek.

A következő példák a találmány szerinti eljárást közelebbről bemutatják anélkül, hogy a találmány csupán ezekre korlátozódna. A hőmérsékleti adatok Celsius-fokokban vannak megadva.

Rövidítések:

- But = terc-butil-
- Boc = terc-butoxi-karbonil-
- Bzl = benzil-
- ill. = illetve vagy illetőleg
- Dhbt = 3,4-dihidro-3-hidroxi-4-oxo-1,2,3-benzotriazinil-
- FAB-MS = gyorsított atomokkal történő bombázással meghatározott tömegspektrum (Fast atom bombardment Massenspektrum)

- Fmoc = 9-fluorenil-metoxi-karbonil-
 HPLC = nagy nyomáson végzett folyadékkromatografálás
 konc. = koncentrált vagy tömény
 Pfp = penta-fluor-fenil-
 Pmc = 2,2,5,7,8-pentametil-kromán-6-szulfonil-
 Op vagy
 O.p. = olvadáspont
 Tep = 2,4,5-triklór-fenil-
 THF = tetrahidrofurán
 Tmob = 2,4,6-trimetoxi-benzil-
 Trt = tritil- (vagyis trifenil-metil-)
 Z = benzil-oxi-karbonil-

1. példa : Z-Asn(Trt)-OH

13,3 g Z-Asn-OH (50 mmól), 26 g trifenil-metanol (100 mmól), 150 ml ecetsav és 9,5 ml (100 mmól) ecetsavanhidrid elegyét 50 ° hőmérsékleten 15 percig keverjük. 0,25 ml tömény kénsav hozzáadása után 5 perc múlva tiszta sárga oldat keletkezik. Ezt 1 1/2 óra múlva lehütjük és 1,5 liter jeges vízre öntjük. A csapadékot szűréssel elkülönítjük, vízzel alaposan mossuk, majd körülbelül 500 ml etil-acetátban oldjuk. A szerves fázist telített vizes nátrium-klorid-oldattal mossuk, nátrium-szulfát felett szárítjuk és csökkentett nyomás alatt 250 g súlyra betöményítjük. A Z-Asn(Trt)-OH-t 125 ml hexán hozzáadásával kristályosodásra készítjük, o.p. : 195 - 196 °.

2. példa : H-Asn(Trt)-OH

10,2 g Z-Asn(Trt)-OH (20 mmól) 120 ml metanol és 20 ml 1n vizes sósav elegyével készített szuszpenzióját 0,5 g 10 %-os palládium/szén katalizátor jelenlétében szobahőmérsékleten és normális nyomáson hidrogénezzük. A hidrogénfelvétel befejeződése után a katalizátort leszűrjük, metanollal kimossuk, majd a szűrletet csökkentett nyomás alatt 100 g sulyura betöményítjük. Ekkor 2,8 ml trietil-amin (20 mmól) adunk hozzá és a betöményítést 50 g sulyig tovább folytatjuk. A kapott kristályos csapadékot ekkor leszűrjük, majd metanol-víz (1:1) eleggyel és ezt követően vízzel kloridmentesre mossuk. A H-Asn(Trt)-OH 0,5 mól vizet tartalmaz és a vegyület 220 ° hőmérséklettől fogva lassan bomlik.

3. példa : Fmoc-Asn(Trt)-OH

3,8 g H-Asn(Trt)-OH . 0,5 H₂O-t (10 mmól) feloldunk 20 ml tetrahidrofuran, 10 ml víz és 1,4 ml trietil-amin (10 mmól) elegyében, majd az oldathoz erőteljes keverés közben 3,4 g 9-fluorenil-metil-N-szukcinimidil-karbonátot (10 mmól) adunk és ezzel egyidejűleg 1,4 ml trietil-amin csepegtetünk a reakcióelegyhez, hogy annak pH-értéke 8,3 - 8,7 legyen. 20 perc múlva a reakcióelegyet jégfürdőben lehütjük, majd etil-acetátot és 25 ml 1 mólos vizes kálium-hidrogén-szulfát -oldatot adunk hozzá. Ezután a szerves fázist vízzel szulfátmentesre mossuk, nátrium-szulfát felett szárítjuk és csökkentett nyomás alatt mintegy 50 g suly el-

éréséig betöményitjük. Diizopropil-éter lassu hozzáadására kristályok formájában megkapjuk a Fmoc-Asn(Trt)-OH-t amelynek o.p.-ja : 210 - 211 ° (bomlás közben).

4. példa : Fmoc-Asn(Trt)-OH

3,54 g Fmoc-Asn-OH-t (10 mmól) és 5,2 g trifenil-metanol (20 mmól) feluszpendálunk 30 ml ecetsav és 1,9 ml ecetsavanhidrid (20 mmól) elegyében, majd a szuszpenziót 15 percig 50 °-on keverjük és ezután hozzáadunk 5 ml ecetsavban levő 0,05 ml konc. kénsavat. Körülbelül egy óra múlva 50 °-on oldat keletkezik, melyből 1 1/2 óra múlva csapadék kezd kiválni. További 3 óra múlva a szuszpenziót jeges hűtés közben lassan 200 ml jéghideg vízzel elegyítjük, rövid ideig keverjük, majd a csapadékot leszűrjük és vízzel alaposan kimossuk. A nedves anyagot etil-acetátban oldjuk, a szerves fázist teletített vizes nátrium-klorid-oldattal mossuk, nátrium-szulfát felett szárítjuk és csökkentett nyomás alatt betöményitjük. Mielőtt a termék kikristályosodása megkezdődne az etil-acetátos oldatot 1,2-diklór-etánnal higitjuk, újból betöményitjük és 50 g szilikagélen keresztül szűrjük. Ezután a trifenil-metanol feleslegét 200 ml 1,2-diklór-etánnal eluáljuk, majd előbb 500 ml 98:2, majd ugyancsak 500 ml 96:4 arányu 1,2-diklór-etán — metanol eleggyel eluáljuk a Fmoc-Asn(Trt)-OH-t. A szárazra történő bepárlással kapott maradékot 10 ml tetrahidrofuránban oldjuk, 30 ml etil-acetátot adunk hozzá, mindent 20 g sulyura betöményitjük és diizopropil-éter hozzá-

adásával kristályosítjuk. Az így kapott Fmoc-Asn(Trt)-OH 210 - 211 °-on (bomlás közben) olvad.

5. példa : Fmoc-Asn(Trt)-OH

0,69 g Fmoc-Asn(Trt)-OBzl 10 ml metanol-víz (9:1) elegy-
gyel készített oldatát 0,07 g 10 %-os palládium-szén katali-
zátor jelenlétében szobahőmérsékleten és normális nyomá-
son hidrogénezziük mindaddig, amíg a vékonyréteg-kromatogram-
mon [oldószer : toluol-aceton (1:1) elegy] kiindulási anya-
got már nem látunk. A katalizátort kiszűrjük, a szűrletet
bepároljuk, majd a maradékot 1,2-diklór-etán -- metanol
(96:4) elegyben oldjuk és kevés szilikagélen keresztül szűr-
jük. A szűrlet bepárlása után megkapjuk a Fmoc-Asn(Trt)-OH-t,
melynek olvadáspontja : 210 - 211 ° (bomlás közben).

A kiindulási anyagot a következőképpen lehet előállítani:

5.1 lépés : 1,12 g H-Asp-OBzl-t (5 mmól) és 1,05 g ná-
trium-hidrogén-karbonátot felzussuspendálunk 25 ml 9:1 arányu
dioxán-víz elegyben, ehhez szilárd állapotban 1,85 g 9-fluo-
renil-metil-N-szukeinimidil-karbonátot adunk és a reakció-
keveréket 15 órán át szobahőmérsékleten keverjük. Az oldatot
ezután betöményítjük, majd etil-acetáttal hígítjuk, a szerves
fázist 0,5 mólos vizes kálium-hidrogén-szulfát-oldattal és
vízzel mossuk, végül nátrium-szulfát felett szárítjuk és be-
pároljuk. Petroléter hozzáadására kikristályosodik az
Fmoc-Asp-OBzl.

5.2 lépés : 2,09 g Fmoc-Asp-OBzl 20 ml 1,2-diklór-etán-
 nal készített oldatához 0 °-on és argonatmoszféra alatt vég-
 zett keverés közben 0,8 ml 1-klór- N,N,2-trimetil-prop-1-enil-
 -amint (A. Devos és mások, J. Chem. Soc., Chem. Commun., Bd.
 1979, 1180. oldal) adagolunk. Ehhez 10 perc múlva 4 ml 1,2-
 -diklór-etánban oldva 1,2 g tritil-amint adunk és a reakció-
 elegyet 2 óra hosszat keverjük, majd etil-acetáttal hígítjuk
 és vízzel mossuk. A szerves fázist szárítjuk és bepároljuk.
 A maradékot kloroformba felvesszük és 250 g szilikagélen kro-
 matografáljuk. A Fmoc-Asn(Trt)-OBzl-tartalmu frakciókat egye-
 sitjük, majd bepároljuk. A terméket amorf hab alakjában kap-
 juk meg.

6. példa : Z-Gln(Trt)-OH

30 ml ecetsavban levő 2,8 g Z-Gln-OH (10 mmól) és 5,2 g
 trifenil-metanol (20 mmól) elegyhez 1,1 ml ecetsavanhidridet
 adunk és ezt a reakcióelegyet 15 percig 50 °-on keverjük,
 majd 0,05 ml konc. kénsavat (kb. 1 mmól) adunk hozzá. Néhány
 perc múlva tiszta sárga színű oldat keletkezik. Ezt 2 óra el-
 teltével keverés és jeges hűtés közben 500 ml vízbe csepeg -
 tetjük, a kapott csapadékot szűrővel elkülönítjük és vízzel
 alaposan mossuk. Ezután a nedves anyagot etil-acetátban old-
 juk, a vizes fázist elválasztjuk, a szerves fázist telített
 vizes nátrium-klorid-oldattal egyszer mossuk, majd nátrium-
 -szulfát felett szárítjuk és csökkentett nyomás alatt 20 g
 súly eléréséig betöményítjük. A Z-Gln(Trt)-OH hexán részletek-

ben történő hozzáadásának hatására kristályosan kiválik ;
o.p. : 161 - 162 °.

7. példa : H-Gln(Trt)-OH

180 ml metanol-víz (9:1) elegyben és 20 ml 1n sósavban felfuszpendálunk 10,4 g Z-Gln(Trt)-OH-t (20 mmól) és ezt a szuszpenziót szobahőmérsékleten és normális nyomáson hidrogénezzük 0,5 g 10 %-os palládium-szén katalizátor jelenlétében. A hidrogénfelvétel befejeződése után a kiindulási anyag oldatba megy. Ezután a katalizátort kiszűrjük és metanollal mossuk, majd a szűrletet 200 g súlyra betöményítjük és ehhez 60 °-on 2,8 ml trietil-amint (20 mmól) adunk, mire a termék azonnal kristályosodni kezd. Az oldatot ekkor 100 g súlyra betöményítjük és egy ideig kb. 4 °-on állni hagyjuk, majd a kristályokat szűréssel elkülönítjük és metanol-víz eleggyel kloridmentesre mossuk. Az ilyen módon megkapott H-Gln(Trt)-OH 0,5 mól vizet tartalmaz és 233 °-on (bomlás közben) olvad.

8. példa : Fmoc-Gln(Trt)-OH

20 ml tetrahidrofuran és 10 ml 1n vizes nátrium-hidroxid-oldat elegyében feloldunk 4 g H-Gln(Trt)-OH-félhidrátot (10 mmól) és ehhez erőteljes keverés közben 3,4 g 9-fluorenil-metil-N-szukcinimidil-karbonátot (10 mmól) adunk és ekközben 1,4 ml trietil-amint csepegtetünk hozzá úgy, hogy a pH-érték körülbelül 8,5 legyen. 20 perc múlva a reakcióele-

gyet jégfürdőben lehütjük, majd etil-acetátot rétegesünk föléje és 25 ml 1 mólos vizes kálium-hidrogén-szulfát-oldattal 2 - 2,5 pH-értékre megsavanyítjuk. A szerves fázist ezután vízzel semlegesre mossuk, nátrium-szulfát felett szárítjuk és csökkentett nyomás alatt 30 g súlyura betöményítjük. A terméket 35 ml diizopropil-éter részletekben történő hozzáadásával kristályosodásra készítjük. Hidegen történő hosszabb állás után ezt a kristályos anyagot szűréssel elkülönítjük és előbb egyszer etil-acetát — diizopropil-éter (1:4) elegyben, majd három alkalommal diizopropil-éterrel mossuk. A Fmoc-Gln(Trt)-OH nagy vákuumban 60 °-on történő hosszabb szárítás után is még 0,5 mól diizopropil-étert tartalmaz. Az olvadáspont 125 °-nál kezdődik (az olvadás lassu és eközben az anyag diizopropil-étert ad le).

9. példa : Fmoc-Gln(Trt)-OH

7,4 g Fmoc-Gln-OH (20 mmól) és 10,4 g trifenil-metanol (40 mmól) keverékét 300 ml ecetsavban 10 percen át 100 ° hőmérsékleten keverjük. Ezután 0,1 ml konc. kénsavat adunk hozzá és további 15 percen át 100 °-on keverjük, amikor is sárga színű oldat keletkezik. Ezt csökkentett nyomás alatt 60 ° hőmérsékleten bepároljuk és a kapott maradékot még 10 percig csökkentett nyomás alatt szárítjuk. A szilárd maradékot 60 °-on 60 ml ecetsavban feloldjuk és továbbra is 60 ° hőmérsékleten 20 percig állni hagyjuk az oldatot, ezt köve-

tően 2 ml ecetsavanhidridet (20 mmól) adunk hozzá és egy óra múlva, továbbra is 60 °-on, csökkentett nyomás alatt bepároljuk. Az olajos maradékot 10 percig 60 ° hőmérsékleten szárítjuk, majd feloldjuk 100 ml ecetsavban és az oldatot belecsepegtetjük 500 ml jéghideg vízbe. A kapott csapadékot szűréssel elkülönítjük, vízzel alaposan mossuk, majd etil-acetátban oldjuk. A vizes fázist elválasztjuk és a szerves fázist telített vizes nátrium-klorid-oldattal mossuk. Nátrium-szulfát felett végzett szárítás után a szerves oldatot szárazra pároljuk. A maradékot 50 ml 1,2-diklór-etánban oldjuk és ezt felvisszük 100 g szilikagélre. Az eluálást 1,2-diklór-etánnal, majd 2 % és ezt követően 4 % metanolt tartalmazó 1,2-diklór-etánnal végezzük. A Fmoc-Gln(Trt)-OH-t tartalmazó frakciót csökkentett nyomás alatt bepároljuk és a terméket etil-acetát — diizopropil-éter elegyből kristályosítjuk. 0.p. 125 °-tól kezdődően.

10. példa : H-Gln-Gln-Gln-Gln-Gln-Ser-Leu-Gly-OH

A peptidet kétszer állítjuk elő a Merrifield-féle szilárdfázis-szintézissel, mimellett az egyik szintézis során Fmoc-Gln-OH-t, míg a másikonál Fmoc-Gln(Trt)-OH-t alkalmazunk.

1 g ugynevezett Fmoc-Gly-p-benzil-oxi-benzil-észter-polisztirolgyantából (1 % mértékben térhálósított) indulunk ki. A nevezett gyanta a Novabiochem cég (Läufelfingen, Svájc) terméke, melyben a glicin karboxilcsoportja

4-metoxi-benzil-alkohollal észterezve van és aminocsoportja 9-fluorenil-metoxi-karbonil-csoporttal (Fmoc) védett, mivellett a metoxicsoport szénatomja össze van kötve az 1 % divinilbenzollal térhálósított polisztirolgyanta egyik aromás gyűrűjével, amely gyanta egyuttal hordozóanyagként szolgál. A fentiekben ismertetett kiindulóanyagból a peptidmolekulát Merrifield-szintézis szerint építjük fel. Ehhez egy automatikus peptidszintézis-készüléket alkalmazunk, amely alkalmas az amino-védőcsoportok váltakozó lehasítására — jelen esetben a Fmoc-csoport lehasítására — valamint az N-Fmoc-csoporttal védett aminosavvegyületek kapcsolására. Az első lépésben emellett a Fmoc-Gly-p-benzil-oxi-benzil-észter-polisztirolgyantában lévő Fmoc-védőcsoportot eltávolítjuk és a Fmoc-Leu-OH-t az így kapott H-Gly-p-benzil-oxi-benzil-észter-polisztirolgyantával kapcsoljuk és azután a további N-Fmoc-aminosavakat fokozatosan a következő sorrendben : Fmoc-Ser(But)-OH, majd vagy Fmoc-Gln-OH, Fmoc-Gln-OH, Fmoc-Gln-OH, Fmoc-Gln-OH és Fmoc-Gln-OH, vagy pedig Fmoc-Gln(Trt)-OH, Fmoc-Gln(Trt)-OH, Fmoc-Gln(Trt)-OH, Fmoc-Gln(Trt)-OH és Fmoc-Gln(Trt)-OH, a kapott mindenkori peptid/gyanta-köztitermékre kapcsoljuk. Az egyes lépéseket az alábbi séma szerint végezzük, mivellett esetenként kb. 10 ml mosófolyadékot alkalmazunk és az egyes műveleteket — hacsak nincs más megadva — szobahőmérsékleten végezzük és a reakcióelegyet minden esetben szabályszerűen rázatjuk.

1 g fentiekben leírt Fmoc-Gly/gyanta kiindulási anyag-

ból (terhelés: 0,47 mmól/g) kiindulva az alábbiakban következő és minden fokozatnál ismétlődő eljárási lépéseket végessük :

1. izopropanollal végzett egyszeri mosás 0,8 percig ;
2. háromszori mosás csökkentett nyomás alatt gázmentesített dimetil-acetamiddal (dimetil-amintól mentes), esetenként 0,5 percig ;
3. ötszöri kezelés 1:4 arányu piperidin — dimetil-acetamid eleggyel, alkalmanként 1,7 percig (a Fmoc-védőcsoport lehasítása) ;
4. izopropanollal végzett egyszeri mosás 0,8 percig ;
5. háromszori mosás csökkentett nyomás alatt gázmentesített dimetil-acetamiddal (dimetil-amintól mentes), esetenként 0,5 percig ;
6. izopropanollal végzett egyszeri mosás 0,8 percig ;
7. háromszori kezelés 1:4 arányu piperidin — dimetil-acetamid eleggyel, alkalmanként 1,7 percig (a Fmoc-védőcsoport teljes lehasítása céljából) ;
8. kétszeri mosás csökkentett nyomás alatt gázmentesített dimetil-acetamiddal (dimetil-amintól mentes), esetenként 0,5 percig ;
9. izopropanollal végzett egyszeri mosás 0,8 percig ;
10. hatszor végzett mosás csökkentett nyomás alatt gázmente-

sitett dimetil-acetamiddal (dimetil-amintól mentes),
esetenként 0,5 percig ;

11. Az időközben elkészített kapcsolási reagens hozzáadása [ezt a reagenst következőképpen kapjuk meg : 1,4 mmól mindenkori Fmoc-L-aminosavat, 1,4 mmól l-hidroxi-lH-benztriazolt és 1,55 mmól diizopropil-karbodiimidet 4 ml (dimetil-amintól mentes) dimetil-acetamidban körülbelül 30 percig szobahőmérsékleten állni hagyjuk, majd utána ezt alkalmazzuk]. Maga a kapcsolási reakció szobahőmérsékleten 60 percig tart ;
12. egyszeri acetilezés 5 percig, 1:1:8 arányu ecetsavanhidrid — piridin — dimetil-acetamid (dimetil-amintól mentes) eleggyel ;
13. háromszori mosás csökkentett nyomás alatt gázmentesített dimetil-acetamiddal (dimetil-amintól mentes), esetenként 0,5 percig ;
14. izopropanollal végzett egyszeri mosás 0,8 percig és
15. kétszeri mosás csökkentett nyomás alatt gázmentesített dimetil-acetamiddal (dimetil-amintól mentes), esetenként 0,5 percig.

Az utolsó aminosav kapcsolása után a fenti 1.-10. kezelési lépéseket a Fmoc-csoport lehasítása végett ismételtén véghezvisszük. A Fmoc-Gln-OH-val, ill. a Fmoc-Gln(Trt)-OH-val

végzett utolsó öt kapcsolási lépés kitermelését a Fmoc-csoport mindenkori lehasításánál melléktermékként képződő 1-(9-fluorenil-metil)-piperidin alapján határozzuk meg. Ennek érdekében a mindenkori 3. - 10. lépés egyesített szűrleteit egy bizonyos térfogatra hígítjuk és UV-ban fotometriánál értékeljük. ($\lambda_{\max} = 299,8 \text{ nm}$, $\epsilon = 7800$). A Fmoc-Gln-OH-val végzett sorozat kitermelése: 99 %, 97 %, 98 %, 49 % és 72 %, míg a Fmoc-Gln(Trt)-OH-val végzett sorozaté : 100 %, $\frac{99\%}{100\%}$, 99 % és 100 %.

A peptidet a gyantáról körülbelül 10 ml trifluor-ecetsav — viz — 1,2-etánditiol (90:5:5) eleggyel 8 percig végzett kezeléssel hasítjuk le. A reakcióelegyet szűrjük, a szűrletet csökkentett nyomás alatt betöményítjük és a peptidet diizopropil-éter — hexán (1:1) eleggyel kicsapjuk, majd megszáritjuk. A fentiekben megnevezett, trifluor-ecetsav — viz — etánditiol eleggyel végzett kezeléssel részben már a tritilcsoportokat (amennyiben ilyenek vannak) és a terc-butil-csoportokat is lehasítjuk. Ezt a lehasítást a peptidesapadéknak 30 percen át 30 °-on trifluor-ecetsav — viz — 1,2-etánditiol (90:5:5) eleggyben történő melegítésével teljessé tesszük. A tritil-védőcsoportokkal és ilyen védőcsoportok nélküli szintézisekből kapott nyers termékeket HPLC-módszerrel vizsgáljuk (oszlop : Nucleosil 5018, 250 x 4,6 mm, futtatószer "A" = 0,1 % trifluor-ecetsav vízben ; "B" = 0,1 % trifluor-ecetsav acetonitrilben. Gradiens : 0 - 40 % "B" 30 perc alatt ; folyás 1 ml/perc. Detektálás : 215 nm).

A kívánt cím szerinti termék retenciós ideje 17,98 perc. A glutamincsoportok tritil-védelmével végzett szintéziséből kapott nyers terméknek HPLC-profilja a cím szerinti vegyület (92 %) mellett egy további jelet mutat (8%), melynek retenciós ideje : 18,65 perc. A glutaminmaradékok tritil-védelem nélküli szintéziséből származó nyers termék HPLC-profilja a cím szerinti vegyület (csak 30 %) mellett egy további jelet mutat (70 %), melynek retenciós ideje : 18,38 perc.

11. példa: H-Arg-Arg-Ser-Asn-Gln-Val-Ser-Gln-Asn-Tyr-
-Pro-Ile-Val-Gln-Asn-Ile-Gln-Gly-Arg-Arg-OH

A cím szerinti peptidet kétszer állítjuk elő a 10. példában leírt szintézisséma szerint ; először nem védett Fmoc-Asn-OH-val, ill. Fmoc-Gln-OH-val és másodszer Fmoc-Asn(Trt)-OH-val, illetve Fmoc-Gln(Trt)-OH-val. Fmoc-Arg(Pmc)-gyantából (Novabiochem) kiindulva egymást követően a következő aminosavakat kondenzáljuk hozzá: Fmoc-Arg(Pmc), Fmoc-Gly, Fmoc-Gln ill. Fmoc-Gln(Trt), Fmoc-Ile, Fmoc-Asn ill. Fmoc-Asn(Trt), Fmoc-Gln ill. Fmoc-Gln(Trt), Fmoc-Val, Fmoc-Ile, Fmoc-Pro, Fmoc-Tyr(But), Fmoc-Asn ill. Fmoc-Asn(Trt), Fmoc-Gln ill. Fmoc-Gln(Trt), Fmoc-Ser(But), Fmoc-Val, Fmoc-Gln ill. Fmoc-Gln(Trt), Fmoc-Asn ill. Fmoc-Asn(Trt), Fmoc-Ser(But), Fmoc-Arg(Pmc) és Fmoc-Arg(Pmc).

A peptidet az N-terminális Fmoc-csoport lehasítása után 8 percig trifluor-ecetsav — víz — 1,2-etánditiol (90:5:5)

eleggyel kezelve lehasítjuk a gyantáról és ezt követően trifluor-ecetsav — viz — 1,2-etánditiol — 4-metil-merkaptó-fenol (90:5:3:2) eleggyel 90 percig tartó 30 °-on történő kezeléssel megszabadítjuk a még megmaradt védőcsoportoktól. Az a szintézisből (tritol-védelem) származó nyers termék FAB-MS vizsgálatnál 2414,1-nél mutat (M+H)⁺-jelet (számított molekulaszúly : 2413,7). A HPLC-profilokat (Oszlop: Nucleosil 7C18, 125 x 4,6 mm ; futtatószer : "A" = 0,1 % trifluor-ecetsav vízben, "B" = 0,1 % trifluor-ecetsav acetonitrilben. Gradiens : 0 - 90 % "B" 30 perc alatt, 1,5 ml/perc. Detektálás : 215 nm) mindkét szintézis nyers termékének vonatkozásában az 1. ábra ábrázolja (a : az Asn és a Gln tritol-védelmével ; b az Asn és a Gln tritol-védelme nélkül), ahol az abszcisszaskálán a retenció idő van megadva percekben.

12. példa : Fmoc-Lys-Gln-His-Asn-Pro-Lys-Tyr-Gln-Trp-
-Asn-OH

10 g ugynevezett 4-benzil-oxi-benzil-alkonol-polisztirol (0,78 mmól OH/g ; 1 % divinil-benzollal térhálósítva ; a polisztirol fenilcsoportjai a 4-helyzetben 4-hidroxi-metil-fenil-oxi-metil-csoporttal helyettesítve vannak ; Novabiochem), 9,3 (15,6 mmól) Fmoc-Asn(Trt)-OH és 3,1 ml (38,5 mmól) piridin 60 ml dimetil-acetamiddal készült szuszpenziójához négy részletben, 5 óra leforgása alatt hozzáadunk 3,35 ml (23,4 mmól) 2,6-diklór-benzoil-kloridot (Fluka) és a reakcióelegyet ezután 24 óra hosszat keverjük. A gyantát kiszűrjük.

majd metanollal és 1,2-diklór-etánnal igen alaposan kimosuk. A gyanta 0,48 mmól/g terhelést mutat (fotometriás Fmoc-meghatározás). A megmaradt hidroxilcsoportokat a peptidszintézis megkezdése előtt 2 óra hosszat acetilezzük ecetsav-anhidrid — piridin — dimetil-acetamid (1:1:8) eleggyel. Analóg módon (a Fmoc-Asn(Trt)-OH helyett Fmoc-Asn(Tmob)-OH-t használunk) állítjuk elő a Fmoc-Asn(Tmob)-gyantát. Ennek terhelése 0,44 mmól/g. 0,5 g Fmoc-Asn(Trt)-gyantát (0,24 mmól Asn), ill. 0,5 g Fmoc-Asn(Tmob)-gyantát (0,22 mmól Asn), a 10.példában leírt szintézisséma szerint egymás után az alábbi aminosavakkal kapcsoljuk: Fmoc-Trp, Fmoc-Gln(Trt) ill. Fmoc-Gln(Tmob), Fmoc-Tyr(But), Fmoc-Lys(Boc), Fmoc-Pro, Fmoc-Asn(Trt) ill. Fmoc-Asn(Tmob), Fmoc-His(Trt), Fmoc-Gln(Trt) ill. Fmoc-Gln(Tmob) és Fmoc-Lys(Boc).

A kapott peptidgyantákat 15 percig trifluor-ecetsav — dimetil-szulfid — 1,2-etánditiol (77:20:3) elegyben rázatjuk, a peptidnek a gyantáról való lehasítása végett. A még megmaradt védőcsoportokat azután szobahőmérsékleten trifluor-ecetsav — víz — etánditiol (90:5:5) eleggyel végzett 40 percig tartó kezeléssel hasítjuk le.

Az Asn és a Gln tritilcsoporttal történő védelmével végzett szintéziséből kapott nyers terméket egyfelől (- "A" nyers termék) és az Asn és a Gln tekintetében Tmob-védelemmel kapott nyers terméket (- "B" nyers termék) másfelől HPLC-módszerrel vizsgáltuk (Oszlop: Nucleosil 5018, 250 x

4,6 nm ; futtatószer : A = 0,1 % trifluor-ecetsav vízben ;
B = 0,1 % trifluor-ecetsav acetonitrilben. Gradiens 0 - 90 %
B 30 perc alatt, 1 ml/perc; detektálás : 215 nm). A cím sze-
rinti kívánt termék retenciós ideje: 29,8 perc. A tritilvé-
delemmel véghezvitt szintézisből származó nyers termék ("A"
nyers termék) a cím szerinti termék mellett (95 %, (M+H)⁺
FAB-MS-ben = 1565,4 ; számított molekulaszám: 1564,7) még
egy másik jelet (5 %) is mutat, melynek retenciós ideje :
30,9 perc, ami a csatolt rajz (1) képletének megfelelő peptid.

A "B" nyers termék (Tmob-védelem) HPLC-profilja a cím
szerinti vegyület (csak kb. 8%) jele mellett, továbbá a
fentnevezett jel (kb. 3 %, a retenciós idő = 30,9 perc)
mellett még egy további jelet (89 %) is mutat, melynek re-
tenciós ideje : 33,7 perc és ez a csatolt rajzon szereplő
(2) képletű peptidnek felel meg. [A FAB-MS-ben (M+H)⁺ =
= 1745,6 ; számított molekulaszám : 1744,9]. A HPLC-profil
még további nagyon kicsiny jeleket is mutat.

13. példa : Fmoc-Asn(Trt)-OTcp

1,5 g (2,51 mmól) Fmoc-Asn(Trt)-OH és 0,54 g (2,75
mmól) 2,4,5-triklór-fenol 10 ml tetrahidrofuránnal készi-
tett oldatát 0 °-ra lehűtjük. Ehhez hozzáadunk szilárd alak-
ban levő 0,57 g (2,75 mmól) diciklohexil-karbodiimidet és
az elegyet 0 °-on 30 percig, ezután 2 órán át szobahőmér-
sékleten, majd ismét 0 °-on 30 percig keverjük és a kelet-

kezett diciklohexil-karbamidot kiszűrjük. A szűrletből 60 ml hexán hozzáadásának hatására kikristályosodik az Fmoc-Asn(Trt)-OTcp, melynek olvadáspontja : 133 - 135 °, $[\alpha]_D^{20} = + 51,1^\circ$ (THF).

14. példa : Fmoc-Gln(Trt)-OTcp

10 g (15,1 mmól) Fmoc-Gln(Trt)-OH x 0,5 diizopropil-étert és 3,26 g (16,6 mmól) 2,4,5-triklór-fenolt feloldunk 100 ml tetrahydrofuranban és az oldatot 0 °-ra lehütjük. 3,41 g (16,6 mmól) szilárd formában levő diciklohexil-karbodiimid hozzáadása után az elegyet egy órán át 0 °-on, 2 órán keresztül szobahőmérsékleten és ismét 0 °-on 30 percig keverjük. Ezután a kristályosan kivált diciklohexil-karbamidot kiszűrjük és a szűrlethez 750 ml petrolétert adunk, aminek hatására a Fmoc-Gln(Trt)-OTcp kocsonyás anyag formájában kiválik. Ezt szűrővel elkülönítjük, szárítjuk és metiléndiklorid — hexán elegyből kristályosítjuk. O.p. : 166 °, $[\alpha]_D^{20} = -16,1^\circ$ (THF).

15. példa : Fmoc-Asn(Trt)-OPfp

1,5 g (2,51 mmól) Fmoc-Asn(Trt)-OH-t feloldunk 15 ml tetrahydrofuranban. Ehhez 0,51 g (2,76 mmól) pentafluor-fenolt adunk, az oldatot 0 °-ra lehütjük, majd 0,57 g (2,76 mmól) szilárd formában levő diciklohexil-karbodiimidet adunk hozzá. Ezt a reakcióelegyet 30 percig 0 °-on,

majd 2 óra hosszat szobahőmérsékleten és ismét 30 percig 0 °-on keverjük. A kristályosan kivált diciklohexil-karbamidot kiszűrjük, majd a szűrletet szárazra pároljuk és az anyagot 40 ml diizopropil-éterrel porrá dörzsöljük. A poralaku maradékot ezután szűréssel elkülönítjük, szárítjuk és metilén-diklorid — petroléter elegyből átkristályosítjuk. Így megkapjuk az Fmoc-Asn(Trt)-OPfp terméket, melynek olvadáspontja : 154 - 156 °, $[\alpha]_D^{20} = -7,8^\circ$ (THF).

16. példa : Fmoc-Gln(Trt)-OPfp

1,5 g (2,27 mmól) Fmoc-Gln(Trt)-OH x 0,5 diizopropil-étert és 0,46 g (2,5 mmól) pentafluor-fenolt feloldunk 35 ml etil-acetátban. Az oldatot 0 °-ra lehütjük és keverés közben 0,52 g (2,5 mmól) diciklohexil-karbodimidet adunk hozzá. A reakcióelegyet 1 órán át 0 °-on, majd 3 órán keresztül szobahőmérsékleten keverjük, ezután az oldhatatlan anyagot szűréssel elkülönítjük és azt tetrahidrofuránnal mossuk. A szűrletet ezután szárazra pároljuk és a maradékot feloldjuk 30 ml tetrahidrofuránban. Az Fmoc-Gln(Trt)-OPfp petroléter keverés közben történő lassu hozzáadásának hatására kikristályosodik. O.p. : 185 - 187 °, $[\alpha]_D^{20} = -16,4^\circ$ (THF).

17. példa : Fmoc-Asn(Trt)-ODhbt

1,5 g (2,51 mmól) Fmoc-Asn(Trt)-OH-t feloldunk 10 ml tetrahidrofuránban és ehhez hozzáadunk 0,45 g (2,76 mmól)

3,4-dihidro-3-hidroxi-4-oxo-1,2,3-benzotriazint 5 ml dime-
til-formamidban oldva. A reakcióelegyet 0 °-ra lehütjük,
majd szilárd formában levő 0,57 g (2,76 mmól) diciklohexil-
-karbodiimidet adunk hozzá és 1 órán át 0 °-on, 3 órán ke-
resztül szobahőmérsékleten, majd újból 1 óra hosszat 0 °-on
keverjük. A kivált diciklohexil-karbamidot kiszűrjük és a
szűrletet szárazra pároljuk. A maradékot 30 ml diizopropil-
-éterrel eldörzsöljük, szűrjük és szárítjuk. A nyers termé-
ket metilén-diklorid — hexán elegyből végzett átcsapással
tisztítjuk. Így amor^f por formájában megkapjuk a Fmoc-Asn(Trt)-
-ODhbt terméket, melynek olvadáspontja körülbelül 140 °,
 $[\alpha]_D^{20} = -40,8^\circ$ (THF).

18. példa : Fmoc-Gln(Trt)-ODhbt

1 g (1,51 mmól) Fmoc-Gln(Trt)-OH x 0,5 diizopropil-
-étert feloldunk 10 ml etil-acetátban. Ehhez porított for-
mában 0,27 g (1,66 mmól) 3,4-dihidro-3-hidroxi-4-oxo-1,2,3-
-benzotriazint adunk, majd a szuszpenziót 0 °-ra lehütjük
és szilárd alakban 0,34 g (1,66 mmól) diciklohexil-karbo-
diimidet adunk hozzá. Egy órán át tartó 0 °-on történő
keverés után az elegyhez további 10 ml etil-acetátot adunk,
majd 3 óra hosszat szobahőmérsékleten keverjük. Ezután ki-
szűrjük a diciklohexil-karbamidot és azt etil-acetáttal
moszuk. A szűrletet körülbelül 10 ml térfogatra betöményít-
jük és ebből 50 ml petroléter hozzáadására kikristályoso-
dik az Fmoc-Gln(Trt)-ODhbt. O.p. : 130 - 133 °, $[\alpha]_D^{20} =$
 $-53,7^\circ$ (THF).

19. példa : H-Asn(Trt)-OH . 0,5 H₂O

20 g (0,1515 mól) H-Asn-OH-t és 78,8 g (0,303 mól) Trt-OH-t felszuszpendálunk 455 ml jégcetben. Ehhez 9,28 ml (0,174 mól) koncentrált kénsavat, majd 28,6 ml (0,303 mól) ecetsavanhidridet adunk és az elegyet 75 percig 60 ° hőmérsékleten keverjük. Körülbelül 40 - 50 perc múlva az összes anyag feloldódik. A reakcióterméket 910 ml jéggel hűtött vízbe történő lassu beadagolással csapjuk ki. Ezután a pH-értéket mintegy 850 ml 10n nátrium-hidroxid-oldattal kb. 6-ra beállítjuk. Körülbelül egy órán át tartó 0 °C-on végzett keverés után az elegyet szűrjük, a szilárd anyagot vízzel, majd toluollal addig mossuk, amíg a szűrletben már nincs több Trt-OH. A kapott cím szerinti termék 220 °-tól fogva lassan bomlik.

20. példa : Boc-Asn(Trt)-OH

3,83 g (10 mmól) H-Asn(Trt)-OH . 0,5 H₂O-t és 1,37 ml (10 mmól) trietil-amint feloldunk 38 ml 90 %-os tetrahydrofuranban. Ehhez 2,2 ml (10 mmól) di-terc-butyl-dikarbonátot és ezt követően további 1,37 ml trietil-amint adunk. Az elegyet hagyjuk 2 és 1/2 órán át ^{szobahőmérsékleten} reagálni, majd azt 250 ml etil-acetáttal és 125 ml 1 mólos vizes kálium-hidrogén-szulfát-oldattal extraháljuk. A szerves fázist senlegesre mossuk, nátrium-szulfát felett szárítjuk és szárazra pároljuk. A maradékot metanol — etil-acetát — hexán elegyből kris-

tályosítjuk. A cím szerinti termék olvadáspontja : 201 -
- 203 ° , $[\alpha]_D^{20} = -17,7 \pm 1^\circ$ (THF).

21. példa : Boc-Gln(Trt)-OH

3,98 g (10 mmól) H-Gln(Trt)-OH . 0,5 H₂O-t és 1,38 ml
(10 mmól) trietil-amint felszuszpendálunk 60 ml 90 %-os tet-
rahidrofuránban, ezután a szuszpenzióhoz 2,28 ml (10,2 mmól)
(Boc)₂ O-t és további 1,38 ml trietil-amint adunk, majd az
elegyet 2 óra hosszat szobahőmérsékleten keverjük, miközben
kb. 30 perc múlva valamennyi anyag tisztán oldatba megy. A
továbbiakban a 20. példában leírtakkal analóg módon dolgo-
zunk, azaz az eltéréssel azonban, hogy a maradékot metanol —
— metilén-diklorid — petroléter elegyből kristályosítjuk.
A kapott cím szerinti termék olvadáspontja : kb. 112 ° ,
 $[\alpha]_D^{20} = -2 \pm 1^\circ$ (THF).

SZABADALMI IGÉNYPONTOK:

1. Eljárás az (I) általános képletű vegyületek, a sóképzésre alkalmas csoporttal rendelkező (I) általános képletű vegyületek sói, valamint az R_2 szimbólum helyén hidrogénatomot tartalmazó (I) általános képletű vegyületek reakcióképes karbonsavszármazékaik előállítására — ebben a képletben

n értéke 1 vagy 2 ;

R_1 hidrogénatom vagy valamilyen amino-védőcsoport ;

R_2 hidrogénatom vagy valamilyen karboxil-védőcsoport és

R_3 trifenil-metil-, 4-monometoxi-tritil- vagy 4,4'-dimetoxi-tritil-csoportot jelent —

— azsal jellemezve, hogy

a) valamely (II) általános képletű vegyületet, ahol R_4 hidrogénatomot vagy a reakciókörülmények között stabil amino-védőcsoportot jelent, míg n és R_2 jelentése a fentiekben megadott, egy (III) általános képletű vegyülettel —
— ebben a képletben R_3 a fentiekben megadott jelentésű —
reagáltatunk, majd a kapott termékből lehasítjuk mindazokat a védőcsoportokat, melyek a kívánt (I) általános képletű vegyületnek nem képezik alkotó részét, vagy

b) olyan (I) általános képletű vegyületek előállítására, ahol R_1 valamilyen amino-védőcsoportot képvisel, egy (IV) általános képletű vegyületbe, ahol n , R_2 és R_3 a fen-

tiekből megadott jelentésű, beviszünk egy amino-védőcsoportot, vagy

c) valamely (V) általános képletű vegyületet, ahol n jelentése a fentiekben megadott, R_5 a reakció körülményei között stabil amino-védőcsoportot és R_6 a reakció körülményei között stabil karboxil-védőcsoportot jelent, egy (VI) általános képletű vegyülettel — ebben a képletben R_3 a fentiekben megadott jelentésű — reagáltatunk, majd a kapott termékből lehasítjuk mindazokat a védőcsoportokat, melyek a kívánt (I) általános képletű vegyületnek nem képezik alkotó részét,

és ezt követően az a), b) vagy c) eljárás megvalósítása után kívánt esetben a kapott és a sóképzésre alkalmas csoporttal rendelkező (I) általános képletű vegyületet ennek sójává alakítjuk át, vagy egy kapott só szabad vegyületté, vagy pedig egy olyan (I) általános képletű vegyületet, melyben R_2 hidrogénatomot jelent, valamilyen reakcióképes karbonsavszármazékká alakítunk át.

2. Az 1. igénypont szerinti a) eljárás azzal jellemezve, hogy R_4 helyén benzil-oxi-karbonil- vagy 9-fluorenil-metoxi-karbonil-csoportot tartalmazó (II) általános képletű vegyületet valamilyen alkalmas szerves oldószerben, továbbá katalitikus mennyiségben levő vízmentes erős Lewis-sav és valamilyen vízelvonószer jelenlétében reagáltatunk $+20\text{ }^\circ\text{C}$ és

+70 °C közötti hőmérsékleten.

3. Az 1. vagy a 2. igénypont szerinti eljárás olyan (I) általános képletű vegyületek, illetve fém- vagy ammóniumsók előállítására, ahol R_1 valamilyen amino-védőcsoportot, R_2 hidrogénatomot és R_3 trifenil-metil-, 4-monometoxi-tritil- vagy 4,4°-dimetoxi-tritil-csoportot jelent, azzal jellemezve, hogy a fentieknek megfelelően helyettesített vegyület(ek)ből indulunk ki és a megfelelő reagens(ek)e)t alkalmazzuk, majd kívánt esetben az (I) általános képletű vegyületből valamilyen fém- vagy ammóniumsót képezünk.

4. Az 1. vagy a 2. igénypont szerinti eljárás olyan (I) általános képletű vegyületek, illetve fém- vagy ammóniumsók előállítására, ahol R_1 benzil-oxi-karbonil-, 9-fluorenil-metoxi-karbonil-, allyl-oxi-karbonil- vagy terc-butyl-oxi-karbonil-csoportot, R_2 hidrogénatomot és R_3 trifenil-metil-csoportot jelent, azzal jellemezve, hogy a fentieknek megfelelően helyettesített vegyület(ek)ből indulunk ki és a megfelelő reagens(ek)e)t alkalmazzuk, majd kívánt esetben az (I) általános képletű vegyületből valamilyen fém- vagy ammóniumsót képezünk.

5. Az 1. vagy a 2. igénypont szerinti eljárás olyan (I) általános képletű vegyületek, ahol R_1 9-fluorenil-metoxi-csoportot jelent, illetve az R_2 helyén hidrogénatom

helyettesítőt hordozó vegyületek fém- és ammóniumsói előállítására, azzal jellemezve, hogy a fentieknek megfelelően helyettesített vegyület(ek)ből indulunk ki és a megfelelő reagens(eke)t alkalmazzuk, majd kívánt esetben az (I) általános képletű vegyületből valamilyen fém- vagy ammóniumsót képezünk.

6. Az 1. vagy a 2. igénypont szerinti eljárás benzil-oxi-karbonil-Asn(trifenil-metil)-OH, illetve ennek valamilyen fém- vagy ammóniumsója előállítására, azzal jellemezve, hogy a fentieknek megfelelően helyettesített vegyület(ek)ből indulunk ki és a megfelelő reagens(eke)t alkalmazzuk, majd kívánt esetben a kapott vegyületből fém- vagy ammóniumsót képezünk.

7. Az 1. vagy a 2. igénypont szerinti eljárás 9-fluorenil-metoxi-karbonil-Asn(trifenil-metil)-OH, illetve ennek valamilyen fém- vagy ammóniumsója előállítására, azzal jellemezve, hogy a fentieknek megfelelően helyettesített vegyület(ek)ből indulunk ki és a megfelelő reagens(eke)t alkalmazzuk, majd kívánt esetben a kapott vegyületből fém- vagy ammóniumsót képezünk.

8. Az 1. vagy a 2. igénypont szerinti eljárás H-Asn(trifenil-metil)-OH vagy ennek valamilyen sója előállítására, azzal jellemezve, hogy a fentieknek megfelelő kiindulási vegyületet az alkalmas reagenssel reagáltatjuk, majd a kapott vegyületből kívánt esetben sót képezünk.

9. Az 1. vagy a 2. igénypont szerinti eljárás terc-butil-oxi-karbonil-Asn(trifenil-metil)-OH vagy ennek valamilyen sója előállítására, azzal jellemezve, hogy a fentieknek megfelelő kiindulási vegyületet az alkalmas reagenssel reagáltatjuk, majd a kapott vegyületből kívánt esetben sót képezünk.

10. Az 1. vagy a 2. igénypont szerinti eljárás benzil-oxi-karbonil-Gln(trifenil-metil)-OH, illetve ennek valamilyen fém- vagy ammóniumsója előállítására, azzal jellemezve, hogy a fentieknek megfelelően helyettesített vegyület(ek)ből indulunk ki és a megfelelő reagens(ek)e)t alkalmazzuk, majd kívánt esetben a kapott vegyületből fém- vagy ammóniumsót képezünk.

11. Az 1. vagy a 2. igénypont szerinti eljárás 9-fluorenil-metoxi-karbonil-Gln(trifenil-metil)-OH, illetve ennek valamilyen fém- vagy ammóniumsója előállítására, azzal jellemezve, hogy a fentieknek megfelelően helyettesített vegyület(ek)ből indulunk ki és a megfelelő reagens(ek)e)t alkalmazzuk, majd kívánt esetben a kapott vegyületből fém- vagy ammóniumsót képezünk.

12. Az 1. vagy a 2. igénypont szerinti eljárás H-Gln(trifenil-metil)-OH vagy ennek valamilyen sója előállítására, azzal jellemezve, hogy a fentieknek megfelelő kiindu-

lási vegyületet az alkalmas reagenssel reagáltatjuk, majd a kapott vegyületből kivánt esetben sót képezünk.

13. Az 1. vagy a 2. igénypont szerinti eljárás terc-butil-oxi-karbonil-Gln(trifenil-metil)-OH vagy ennek valamilyen sója előállítására, azzal jellemezve, hogy a fentieknek megfelelően helyettesített vegyület(ek)ből indulunk ki és a megfelelő reagens(eke)t alkalmazzuk, majd kivánt esetben a kapott vegyületből sót képezünk.

14. Az 1. vagy a 2. igénypont szerinti eljárás az (I) általános képletű vegyületek reakcióképes karbonsavszármazékainak előállítására, azzal jellemezve, hogy az R_2 helyén hidrogénatomot tartalmazó (I) általános képletű vegyületeket reakcióképes származékaikká, így előnyösen reakcióképesen aktivált észterekké, reakcióképes anhidridekké vagy reakcióképes ciklusos amidokká alakítjuk át.

15. Az 1. vagy a 2. igénypont szerinti eljárás az (I) általános képletű vegyületek reakcióképes karbonsavszármazékainak előállítására, azzal jellemezve, hogy ezeket 2,4,5-triklór-fenil-észterek, pentafluor-fenil-észterek, savkloridok, szimmetrikus anhidridek, valamint 1-hidroxibenzotriazolal, 3,4-dihidro-3-hidrox-4-oxo-1,2,3-benzotriazinnal vagy N-hidrox-5-norbornen-2,3-dikarboximiddel képezett észterek formájában állítjuk elő.

16. Az 1. vagy a 2. igénypont szerinti eljárás 9-fluorenil-metoxi-karbonil-Asn(trifenil-metil)-O-2,4,5-triklór-fenil-észter előállítására, azzal jellemezve, hogy a megfelelő védett aminosavat 2,4,5-triklór-fenil-észterre alakítjuk át.

17. Az 1. vagy a 2. igénypont szerinti eljárás 9-fluorenil-metoxi-karbonil-Gln(trifenil-metil)-O-2,4,5-triklór-fenil-észter előállítására, azzal jellemezve, hogy a megfelelő védett aminosavat 2,4,5-triklór-fenil-észterre alakítjuk át.

18. Az 1. vagy a 2. igénypont szerinti eljárás 9-fluorenil-metoxi-karbonil-Asn(trifenil-metil)-O-pentafluor-fenil-észter előállítására, azzal jellemezve, hogy a megfelelő védett aminosavat pentafluor-fenil-észterre alakítjuk át.

19. Az 1. vagy a 2. igénypont szerinti eljárás 9-fluorenil-metoxi-karbonil-Gln(trifenil-metil)-O-pentafluor-fenil-észter előállítására, azzal jellemezve, hogy a megfelelő védett aminosavat pentafluor-fenil-észterre alakítjuk át.

20. Az 1. vagy a 2. igénypont szerinti eljárás 9-fluorenil-metoxi-karbonil-Asn(trifenil-metil)-O-3,4-dihidro-3-

-hidroxi-4-oxo-1,2,3-benzotriazinil-észter előállítására, azzal jellemezve, hogy a megfelelő védett aminosavat 3,4-dihidro-3-hidroxi-4-oxo-1,2,3-benzotriazinil-észterre alakítjuk át.

21. Az 1. vagy a 2. igénypont szerinti eljárás 9-fluorenil-metoxi-karbonil-Gln(trifenil-metil)-O-3,4-dihidro-3-hidroxi-4-oxo-1,2,3-benzotriazinil-észter előállítására, azzal jellemezve, hogy a megfelelő védett aminosavat 3,4-dihidro-3-hidroxi-4-oxo-1,2,3-benzotriazinil-észterre alakítjuk át.

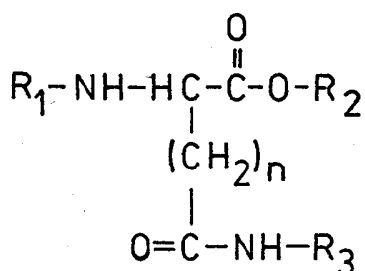
22. Eljárás bármilyen anyag előállítására, amely legalább egy (VII) általános képletű bivalens csoportot — ahol n értéke : 1 vagy 2 és R₃ trifenil-metil-, 4-monometoxi-tritil- vagy 4,4'-dimetoxi-tritil-csoportot jelent — tartalmaz, azzal jellemezve, hogy a peptidszintézist szilárd fázison valósítjuk meg.

rajz képlettel A bejelentő helyett
a meghatalmazott :

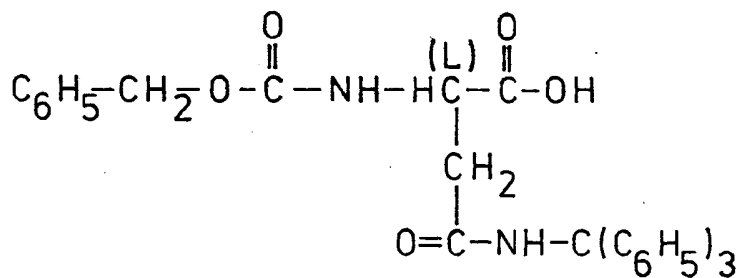
SBG & K
KÖZVETLEN KÖZLETKÖZÉSI ÜGYVÉDI
SZERZŐI ÉS VÉDELMI IRODA
1051 BUDAPEST, DALMÁSI UTCA 10.
TELEFON: 453-3733

3 lap m. n.
4

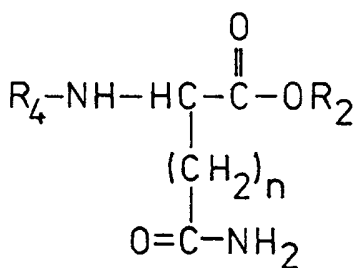
- 53597 -



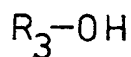
(I)



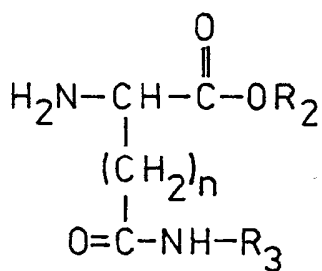
(Ia)



(II)

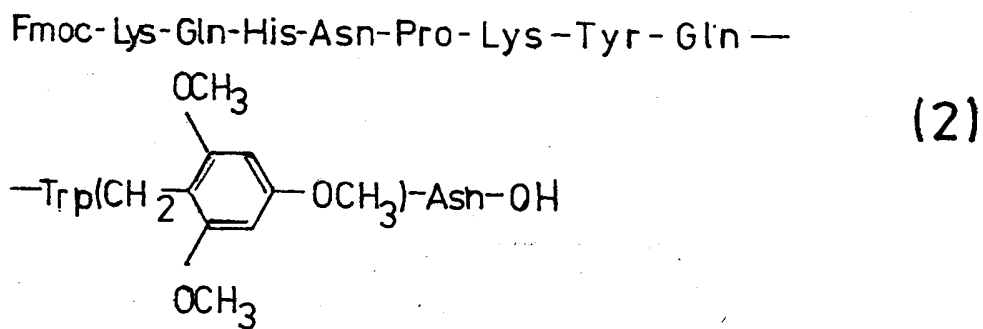
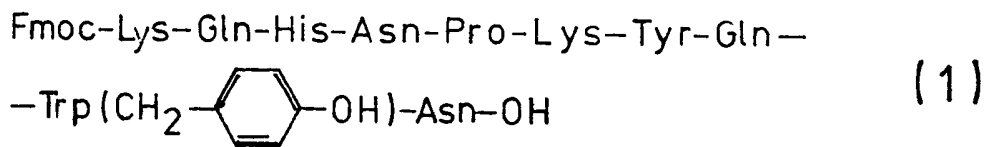
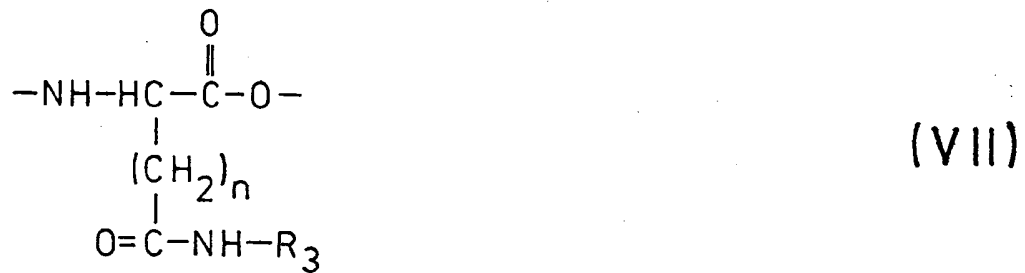


(III)

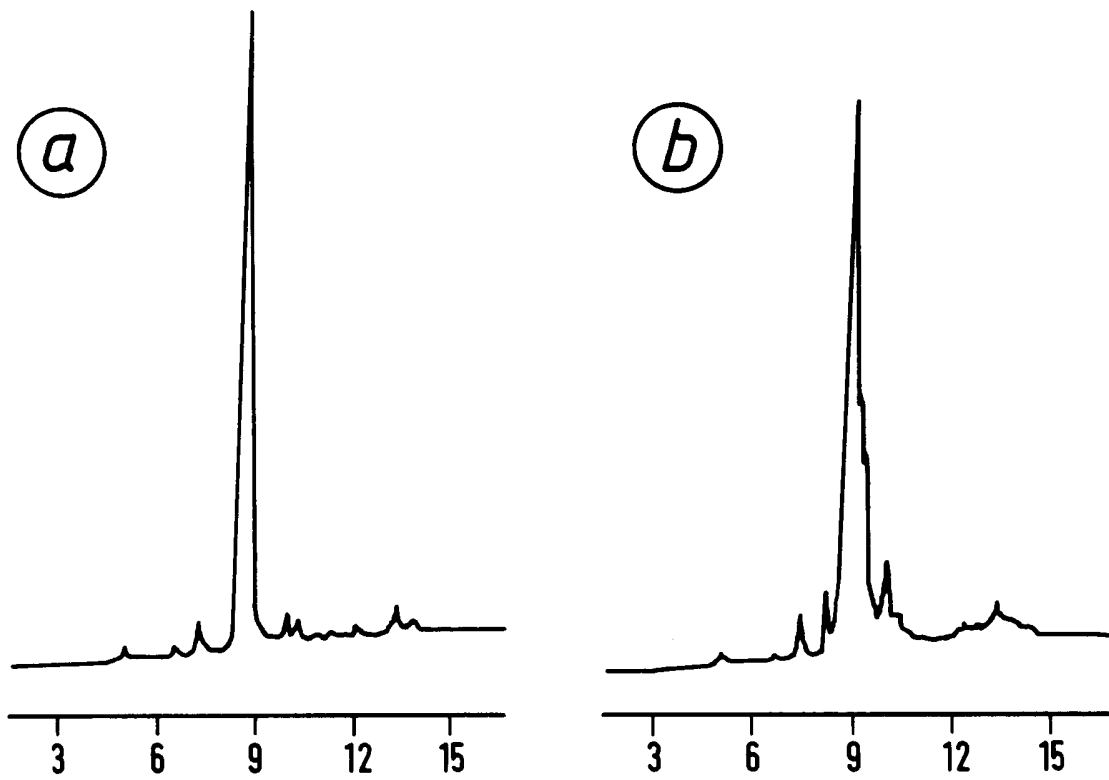


(IV)

Handwritten signature



Wolfe Wolfe



1. ABRA

Kovács István