



ÚŘAD PRO VYNÁLEZY
A OBJEVY

POPIS VYNÁLEZU K AUTORSKÉMU OSVĚDČENÍ

198 060

(11) (B1)

(61)

(23) Výstavní priorita
(22) Přihlášeno 12 10 78
(21) (PV 6640-78)

(51) Int. Cl.¹ C 07 C 103/52

(40) Zveřejněno 31 08 79
(45) Vydáno 01 6 82

(75)
Autor vynálezu

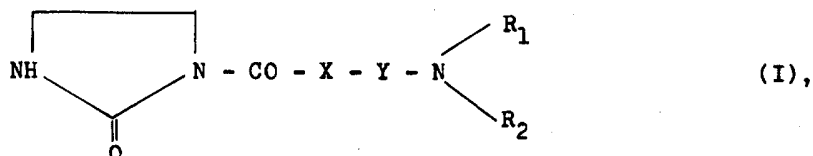
KASAFÍREK EVŽEN ing. CSc.
KREJČÍ IVAN RNDr. PhMr. CSc.
ROUBALOVÁ ALENA

SCHOŘÁLKOVÁ IVA
FELT VLADIMÍR MUDr. DrSc., PRAHA

(54) Biologicky účinné peptidy

1

Vynález se týká biologicky účinných peptidů obecného vzorce I



ve kterém X je zbytek leucinu nebo jiné alifatické aminokyseliny se 4 až 6 atomy uhlíku, zejména lysinu nebo argininu, Y je zbytek alifatické nebo aromatické aminokyseliny s 2 až 10 atomy uhlíku nebo zbytek di- nebo tripeptidu složeného z těchto aminokyselin, R₁ a R₂, stejné nebo různé, značí nezávisle na sobě atomy vodíku nebo alkylskupiny s 1 až 3 atomy uhlíku.

Peptidy obecného vzorce I mají výrazné biologické vlastnosti v oblasti hypothalamo-hypofysárních funkcí. Rozbor známých analeptických a amnestických účinků oxytocinu a vasopresinu a jejich fragmentů ukázal, že tyto účinky jsou lokalizovány v C-koncovém peptidu, tj. propyl-leucyl-glycinamidu, resp. prolyl-lysyl-glycin-amidu. Z toho vyplývá, že N-terminální prolin zaujímá významné místo z hlediska biologické aktivity těchto látek.

S překvapením bylo zjištěno, že v případě, kdy se prolin nahradí zbytkem 5-amidazolidon-1-karboxylové kyseliny, získají se nové látky obecného vzorce I, které mají vyšší

198 080

a specifitější biologickou aktivitu v uvedené oblasti.

Látky obecného vzorce I lze připravit metodami běžnými v syntéze peptidů, např. azidovou metodou, metodou aktivních esterů, metodou směsných anhydridů apod., za použití běžných standardních chránicích skupin.

Bližší podrobnosti jsou patrné z příkladů provedení.

Příklady provedení

Příklad 1

Methylester 5-imidazolidon-1-karbonyl-L-leucinu

K roztoku hydrochloridu methylesteru L-leucinu (5,46 g; 30 mmol) v methylenchloridu (150 ml) byl přidán N-ethylpiperidin (9,6 ml); po ochlazení roztoku na -10°C byl k reakčnímu roztoku přidán ve 3 dávkách během 20 minut 5-imidazolidon-1-karbonylchlorid (5,64 g). Po vnesení celé dávky byl roztok míchán dalších 30 minut při teplotě místnosti a odpařen. Odparek byl vyjmut směsí octan ethylnatý-voda a postupně byla organická fáze vytřepána 1 M kyselinou chlorovodíkovou, vodou, 5 %ním roztokem hydrogenuhličitanu sodného, vodou, vysušena síranem sodným a odpařena. Odparek byl krystalován z octanu ethylnatého (15 ml) a petroletheru (150 ml). Bylo získáno 3,6 g. Vzorek k analýze byl krystalován obdobně; t.t. 141 až 145 $^{\circ}\text{C}$ (slinuje při 130 $^{\circ}\text{C}$). $[\alpha]_{\text{D}}^{20} - 19,7^{\circ}$ (c = 0,3; methanol).

Amid 5-imidazolidon-1-karbonyl-L-leucinu

K roztoku methylesteru 5-imidazolidon-1-karbonyl-L-leucinu (1,3 g; 5 mmol) v methanolu (5 ml) byl přidán 17 %ní roztok amoniaku v methanolu (5 ml). Po 2 dnech stání při teplotě místnosti byl roztok vakuově odpařen a odparek byl krystalován v bensenu (20 ml). Bylo získáno 830 mg (69 %) produktu o t.t. 151 až 153 $^{\circ}\text{C}$. Vzorek k analýze byl krystalován z methanolu a etheru; t.t. 177 až 180 $^{\circ}\text{C}$. $[\alpha]_{\text{D}}^{20} + 5,8^{\circ}$ (c = 0,3; methanol).

Příklad 2

Amid 5-imidazolidon-1-karbonyl-L-leucyl-glycinu

K roztoku hydrobromidu ethylesteru L-leucyl-glycinu, získaného z odpovídajícího benzyloxykarbonyl-derivátu (3,5 g; 10 mmol) působením 35 %ní kyseliny bromovodíkové v le-
dové kyselině octové, v methylenchloridu (50 ml) byl přidán N-ethylpiperidin (2,8 ml). Po ochlazení reakčního roztoku na -10°C byl během 30 minut přidán ve 3 dávkách 5-imidazolidin-1-karbonylchlorid (1,49 g). Po vnesení celé dávky byla reakční směs míchána dalších 30 minut při teplotě místnosti a organická fáze byla postupně vytřepána 1 M kyselinou chlorovodíkovou, vodou, 5 %ním roztokem hydrogenuhličitanu sodného, vodou, vysušena

síranem sodným a vakuově odpařena. Odparek byl rozpuštěn v methanolu (5 ml) a přidán 17 %ní roztok amoniaku v methanolu (5 ml). Po 2 dnech stání při teplotě místnosti byl roztok vakuově odpařen a odparek byl krystalován z 2-propanolu. Bylo získáno 1,45 g produktu. Vzorek k analýze byl krystalován obdobným způsobem; t.t. 176 až 177 °C.

$[\alpha]_D^{20} + 4,2^\circ$ (c = 0,3; methanol).

Příklad 3

Hydrazid 5-imidazolidon-1-karbonyl-N⁻-benzyloxykarbonyl-L-lysinu

K suspenzi hydrochloridu methylesteru N⁻-benzyloxykarbonyl-L-lysinu (6,6 g; 20 mmol) v methylenchloridu (100 ml) byl přidán N-ethylpiperidin (6,4 ml). Po ochlazení roztoku na -10 °C byl během 30 minut přidán ve 3 dávkách 5-imidazolidon-1-karbonylchlorid (3,8 g). Po vnesení celé dávky byla reakční směs míchána dalších 30 minut při teplotě místnosti a organická fáze byla postupně vytřepána 1 M kyselinou chlorovodíkovou, vodou, 58 %ním roztokem hydrogenuhličitanu sodného, vodou, vysušena síranem sodným a odpařena. Nekrystalický odparek byl rozpuštěn v methanolu (30 ml) a byl přidán 80 %ní hydrazinhydrát (5 ml) a po 2 denním stání při teplotě místnosti byl reakční roztok odpařen; odparek po rozmíchání s vodou (20 ml) zkrystaloval. Získaný hydrazid byl krystalován z vody (60 ml). Bylo získáno 6,8 g produktu o t.t. 122 až 123 °C. Vzorek k analýze byl krystalován obdobným způsobem; t.t. 117 až 120 °C.

Ethylester 5-imidazolidon-1-karbonyl-N[±]-benzyloxykarbonyl-L-lysyl-glycinu

K roztoku hydrazidu 5-imidazolidon-1-karbonyl-N[±]-benzyloxykarbonyl-L-lysinu (1,22 g; 3 mmol) v dimethylformamidu (40 ml) a konc. kyselině chlorovodíkové (1,2 ml), ochlazenému na -15 °C, byl přidán dusitan sodný (210 mg) ve vodě (0,84 ml). Po 15 minutovém míchání a chlazení (-10 °C) bylo pH reakčního roztoku upraveno N-ethylpiperidinem na 6,9 a roztok smíchan s předchlazeným (asi -5 °C) roztokem ethylesteru glycinu v dimethylformamidu (20 ml), uvolněného in situ z jeho hydrochloridu (420 mg; 3 mmol) přidavkem N-ethylpiperidinu (0,42 ml). Po 12 hodinovém stání při 0 °C byl reakční vzorek vakuově odpařen a odparek byl rozpuštěn ve směsi octan ethylnatý-voda a organická fáze byla postupně vytřepána 1 M kyselinou chlorovodíkovou, vodou, 5 %ním roztokem hydrogenuhličitanu sodného, vodou, vysušena síranem sodným a odpařena. Odparek byl krystalován ze směsi 2-propanolu (3 ml) a petroletheru (50 ml). Bylo získáno 910 mg produktu o t.t. 85 až 87 °C. Vzorek k analýze byl krystalován z benzenu a etheru, t.t. 93 až 95 °C. $[\alpha]_D^{20} - 3,6^\circ$ (c = 0,3; methanol).

Amid 5-imidazolidon-1-karbonyl-N[±]-benzyloxykarbonyl-L-lysyl-glycinu

K roztoku ethylesteru 5-imidazolidon-1-karbonyl-N[±]-benzyloxykarbonyl-L-lysyl-glycinu (800 mg; 1,67 mmol) v methanolu (5 ml) byl přidán 17 %ní roztok amoniaku v methanolu (5 ml) a reakční roztok byl ponechán 3 dny při teplotě místnosti. Potom byl roztok vakuově odpařen a odparek byl krystalován z methanolu (30 ml) a etheru (75 ml). Bylo získáno

198 060

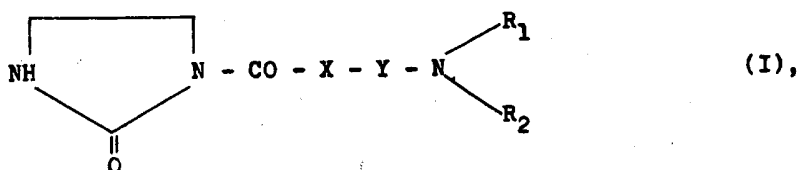
580 mg (77 %) produktu o t.t. 185 až 186 °C. Vzorek k analýze byl krystalován obdobným způsobem beze změny t.t. $[\alpha]_D^{20} + 5,9^\circ$ (c = 0,3; methanol).

Amid 5-imidazolidon-1-karbonyl-L-lysyl-glycinu

Roztok amidu 5-imidazolidon-1-karbonyl-N^E-benzyloxykarbonyl-L-lysyl-glycinu (250 mg; 0,5 mmol) v methanolu (30 ml) byl hydrogenován na Pd-černi 30 minut. Reakční roztok byl vakuově odpařen, odparek byl rozpuštěn v methanolu (0,5 ml) a produkt byl vysrážen etherem (50 ml) a petroletherem (60 ml). Bylo získáno 140 mg chromatograficky homogenní látky. R_F 0,07 (butanol-kyselina octová-voda 4 : 1 : 1) a R_F 0,43 (butanol-kyselina octová-pyridin-voda 15 : 3 : 10 : 6).

PŘEDMĚT VYNÁLEZU

Biologicky účinné peptidy obecného vzorce I



ve kterém X je zbytek leucinu nebo jiné alifatické aminokyseliny se 4 až 6 atomy uhlíku, zejména lysinu nebo argininu, Y je zbytek alifatické nebo aromatické aminokyseliny s 2 až 10 atomy uhlíku nebo zbytek di- nebo tripeptidu složeného z těchto aminokyselin, R_1 a R_2 je stejné nebo různé a značí nezávisle na sobě atomy vodíku nebo alkylskupiny s 1 až 3 atomy uhlíku.