



SCHWEIZERISCHE EIDGENOSSENSCHAFT
BUNDESAMT FÜR GEISTIGES EIGENTUM

(51) Int. Cl.³: C 07 C 103/52

Erfindungspatent für die Schweiz und Liechtenstein

Schweizerisch-liechtensteinischer Patentschutzvertrag vom 22. Dezember 1978



(12) PATENTSCHRIFT A5

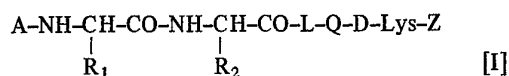
(11)

636 598

(21) Gesuchsnummer:	8525/77	(73) Inhaber:	Akzo N.V., Arnhem (NL)
(22) Anmeldungsdatum:	11.07.1977		
(30) Priorität(en):	12.07.1976 NL 7607684	(72) Erfinder:	Hendrik Marie Greven, Heesch (NL) David de Wied, Bilthoven (NL)
(24) Patent erteilt:	15.06.1983		
(45) Patentschrift veröffentlicht:	15.06.1983	(74) Vertreter:	Fritz Isler, Patentanwaltsbureau, Zürich

(54) Verfahren zur Herstellung neuer psychopharmakologisch aktiver Peptide.

(57) Peptide der Formel I



in welcher

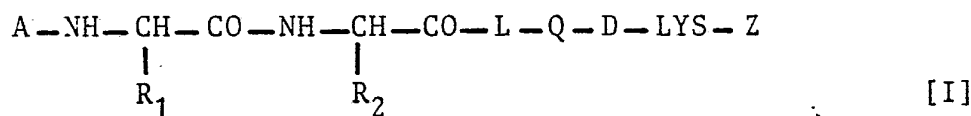
- A R_4 -(L oder D)-Met, R_4 -(L oder D)-Met($\rightarrow\text{O}$), R_4 -(L oder D)-Met($\rightarrow\text{O}_2$), Desamino-Met, Desamino-Met($\rightarrow\text{O}$), Desamino-Met($\rightarrow\text{O}_2$) oder die Gruppe $\text{R}_4\text{NH}-\text{B}-\text{CO}-$,
 R_4 Wasserstoff oder eine von einer aliphatischen (C_1 - C_6)-Carbonsäure abgeleitete Acylgruppe,
 B eine verzweigt- oder geradkettige C_1 - bis C_6 -Alkyl- oder C_1 - bis C_6 -Alkylidengruppe,
 Q den Aminosäurerest $-\text{NH}-\text{CHR}-\text{CO}-$,
 R eine C_1 - bis C_6 -Alkylgruppe, eine p-Hydroxyphenylmethyl-, 3-Indolylmethyl- oder Phenylmethylgruppe,
 R_1 und R_2 jeweils ein Wasserstoffatom oder eine C_1 - bis C_6 -Alkylgruppe,
 Z N-(Phenylalkyl)-amino, N-(β -Indolylalkyl)-amino, L-Trp-Y, L-Phe-Y, L-Trp-Gly-Y oder L-Phe-Gly-Y und
 Y Hydroxy, eine alkylsubstituierte oder nichtsubstituierte Amidogruppe oder eine aliphatische oder araliphatische Oxygruppe mit 1 bis 18 C-Atomen bedeuten,

oder deren Säureadditionssalze werden erhalten durch Kondensation der entsprechenden Säuren oder deren Sulfoxide, oder Sulfone und Amine und/oder Peptide oder deren aktivierte Derivate in beliebiger zeitlicher Reihenfolge unter intermediärem Schutz von jeweils von der Reaktion auszuschliessenden reaktiven Gruppen.

Die neuen Peptide sind psychopharmakologisch wirksam.

PATENTANSPRÜCHE

1. Verfahren zur Herstellung neuer psychopharmakologisch aktiver Peptide der allgemeinen Formel I



in welcher

A R₄-(L oder D)-Met, R₄-(L oder D)-Met (→O), R₄-(L oder D)-Met (→O₂), Desamino-Met, Desamino-Met (→O), Desamino-Met (→O₂) oder die Gruppe R₄NH-B-CO-,

R₄ Wasserstoff oder eine von einer aliphatischen (C₁-C₆)-Carbonsäure abgeleitete Acylgruppe,

B eine verzweigt- oder geradkettige C₁- bis C₆- Alkylen- oder C₁- bis C₆-Alkyldengruppe,

Q den Aminosäurerest -NH-CHR-CO-,

R eine C₁- bis C₆-Alkylgruppe, eine p-Hydroxyphenylmethyl-, 3-Indolylmethyl- oder Phenylmethylgruppe,

R₁ und R₂ jeweils ein Wasserstoffatom oder eine C₁- bis C₆-Alkylgruppe,

Z N-(Phenylalkyl)-amino, N-(β-Indolylalkyl)-amino, L-Trp-Y, L-Phe-Y, L-Trp-Gly-Y oder L-Phe-Gly-Y und

Y Hydroxy, eine alkylsubstituierte oder nichtsubstituierte Amidogruppe oder eine aliphatische oder araliphatische Oxygruppe mit 1 bis 18 C-Atomen bedeuten,

oder deren Säureadditionssalze, dadurch gekennzeichnet, dass man die entsprechenden Säuren oder deren Sulfoxide oder Sulfone bzw. Amine und/oder Peptide, wobei die Aminosäure vom Basenende in Form eines aliphatischen N-Acylderivates und vom Säureende in Form eines Säureamides oder aliphatischen oder araliphatischen Esters eingesetzt werden kann, oder deren aktivierten Derivate, in beliebiger zeitlicher Reihenfolge und unter intermediärem Schutz von jeweils von der Reaktion auszuschliessenden reaktiven, funktionellen Gruppen unter Bildung von Peptidbrücken miteinander kondensiert und gegebenenfalls anschliessend mit einer pharmakologisch unbedenklichen anorganischen oder organischen Säure in ein Säureadditionssalz überführt.

2. Verfahren nach Patentanspruch 1, dadurch gekennzeichnet, dass man in dem erhaltenen Peptid eine freie Carboxylgruppe verestert.

3. Verfahren nach Patentanspruch 1, dadurch gekennzeichnet, dass man in dem erhaltenen Peptid eine freie Carboxylgruppe mit einer anorganischen Base in ein Salz überführt.

4. Verfahren nach Patentanspruch 1, dadurch gekennzeichnet, dass man das erhaltene Peptid, in welchem R₄ Wasserstoff ist, acyliert.

5. Verfahren nach einem der Patentansprüche 1 bis 4, dadurch gekennzeichnet, dass man ein Methionin oder Desaminomethionin enthaltendes erhaltenes Peptid durch Oxidation in ein Sulfoxid oder Sulfon überführt.

6. Verfahren nach einem der Patentansprüche 1 bis 5 zur Herstellung eines Peptides, in welchem Z die Gruppe -L-Phe-OH bedeutet.

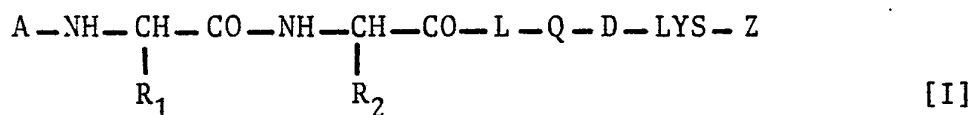
7. Verfahren nach einem der Patentansprüche 1 bis 6 zur Herstellung eines Peptides, in welchem A R₄-L-Met, Desamino-Met oder deren Sulfoxide oder Sulfone bedeutet und R₄ Wasserstoff ist.

8. Verfahren nach einem der Patentansprüche 1 bis 7 zur Herstellung eines Peptides, in welchem Q Phe oder Ala bedeutet.

9. Verfahren nach einem der Patentansprüche 1 bis 8 zur Herstellung eines Peptides, in welchem R₁ und R₂ jeweils eine Methylgruppe bedeuten.

10. Verfahren zur Herstellung von Metallkomplexverbindungen der Peptide der Formel I, die eine verlängerte pharmakologische Wirkung besitzen, dadurch gekennzeichnet, dass man nach dem Verfahren gemäss Patentanspruch 1 ein Peptid der Formel I herstellt und das erhaltene Peptid mit einem schwerlöslichen Metallsalz, -hydroxid oder -oxid umsetzt.

Die Erfindung betrifft ein Verfahren zur Herstellung neuer psychopharmakologisch aktiver Peptide der allgemeinen Formel I



in welcher

A R₄-(L oder D)-Met, R₄-(L oder D)-Met (→O), R₄-(L oder D)-Met (→O₂)-Desamino-Met, Desamino-Met (→O), Desamino-Met (→O₂) oder die Gruppe R₄-NH-B-CO-,

R₄ Wasserstoff oder eine von einer aliphatischen (C₁-C₆)-Carbonsäure abgeleitete Acylgruppe,

B eine verzweigt- oder geradkettige C₁- bis C₆- Alkylen- oder C₁- bis C₆-Alkyldengruppe,

Q den Aminosäurerest -NH-CHR-CO-,

R eine C₁- bis C₆-Alkylgruppe, eine p-Hydroxyphenylmethyl-, 3-Indolylmethyl- oder Phenylmethylgruppe,

R₁ und R₂ jeweils ein Wasserstoffatom oder eine C₁- bis C₆-Alkylgruppe,

Z N-(Phenylalkyl)-amino, N-(β-Indolylalkyl)-amino, L-Trp-Y, L-Phe-Y, L-Trp-Gly-Y oder L-Phe-Gly-Y und

Y Hydroxy, eine alkylsubstituierte oder nichtsubstituierte Amidogruppe oder eine aliphatische oder araliphatische Oxygruppe mit 1 bis 18 C-Atomen bedeuten, sowie deren Säureadditionssalze.

Die angegebenen Peptide besitzen wertvolle psychopharmakologische Eigenschaften. Besonders hemmen sie die Auslöschung der erworbenen Fluchtreaktion und sind dadurch ausserordentlich geeignet zur Behandlung bestimmter psychischer Störungen, bei denen eine Stimulierung der Hirnfunktion erwünscht wird, wie bei Senilität oder anderen Altersstörungen.

Aus Eur. J. Pharmacol, Band 2, Seite 14 (1967) ist bekannt, dass bestimmte Peptidfragmente der natürlichen adrenocorticotropen Hormone (ACTH) die Auslöschung der erworbenen Fluchtreaktion verzögern. Speziell haben sich Peptide, die aus der Aminosäuresequenz 4 bis 10 von ACTH bestehen, als die kleinsten Peptidfragmente erwiesen, die in dieser Beziehung wirksam sind.

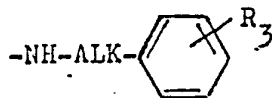
Neben den festgestellten psychopharmakologischen Eigenschaften besitzt das Peptid mit der Aminosäuresequenz 4 bis 10 ACTH auch eine leichte MSH-Aktivität, wie sie bei derartigen ACTH-Fragmenten üblich ist. Obwohl die Wirkung einer geringen Dosis eines Peptids mit MSH-Aktivität noch nicht vollständig bekannt ist, wurde trotzdem nach Peptiden gesucht, die mindestens die gleiche psychopharmakologische Wirksamkeit besitzen, jedoch keine oder eine stark verringerte MSH-Aktivität.

In der US-PS 3 853 836 ist erwähnt, dass die Aminosäuresequenz 4 bis 10 ACTH nicht wesentlich ist für die psychopharmakologische Aktivität und dass diese Aktivität einem kürzeren Peptid, nämlich 4 bis 6 ACTH, zuzuschreiben ist. Es scheint ferner, dass die N-terminale Aminosäure L-Met ohne Aktivitätsverlust ersetzt werden kann durch D-Met, L- oder D-Met ($\rightarrow O$), L- oder D-Met ($\rightarrow O_2$), Desamino-Met, Desamino-Met ($\rightarrow O$) oder Desamino-Met ($\rightarrow O_2$) oder durch die Gruppe $H_2N-B-C-$, in der B eine gerad- oder ver-

zweigt-kettige Alkylengruppe mit 1 bis 6 Kohlenstoffatomen bedeuten.

In der US-PS 3 856 770 ist ferner angegeben, dass ein Ersatz des C-terminalen Peptidrestes -L-Trp-Gly-OH in dem ursprünglichen 4 bis 10 ACTH-Peptid durch eine der Gruppen -L-Phe-OH, L-Phe-Gly-OH, eine Phenylalkylaminogruppe oder eine (3-Indolyl)-alkyl-aminogruppe zu einer Zunahme der psychopharmakologischen Aktivität führt.

Ferner ist in der US-PS 3 842 064 erwähnt, dass eine bedeutende Zunahme der psychopharmakologischen Aktivität



zu verstehen, bei denen Alk eine Alkylengruppe mit 1 bis 6 Kohlenstoffatomen, vorzugsweise eine Äthylengruppe und R_3 ein Wasserstoffatom oder Halogenatom, eine Hydroxy-, C_1 - bis C_4 -Alkyl- oder C_1 - bis C_4 -Alkoxygruppe bedeutet.

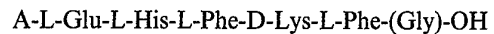
Die Peptide der allgemeinen Formel I werden erfindungsgemäss dadurch hergestellt, dass man die entsprechenden Säuren oder deren Sulfoxide oder Sulfone bzw. Amine und/oder Peptide, wobei die Aminosäure vom Basenende in Form eines aliphatischen N-Acylderivates und vom Säureende in Form eines Säureamides oder aliphatischen oder araliphatischen Esters eingesetzt werden kann, oder deren aktivierten Derivate, in beliebiger zeitlicher Reihenfolge und unter intermediärem Schutz von jeweils von der Reaktion auszuschliessenden reaktiven, funktionellen Gruppen unter Bildung von Peptidbrücken miteinander kondensiert und gegebenenfalls anschliessend mit einer pharmakologisch unbedenklichen anorganischen oder organischen Säure in ein Säureadditionssalz überführt.

Verfahren zur Aktivierung der Carboxylgruppe, umfassen die Umwandlung dieser Gruppe in ein Säurehalogenid, ein Azid, Anhydrid, Imidazolid oder einen aktivierten Ester, wie den N-Hydroxy-succinimidester oder den p-Nitrophenylester.

Die Aminogruppe kann aktiviert werden durch Um-

erreicht werden kann durch Ersatz von L-Arginin in dem ursprünglichen 4 bis 10 ACTH-Peptid oder in einem der in den oben erwähnten Patentschriften angegebenen modifizierten Peptide durch D-Lysin.

In der zuletzt genannten Patentschrift sind die wirksamsten Peptide angegeben, nämlich, solche der allgemeinen Formel



in der A die oben angegebene Bedeutung hat. Diese Peptide besitzen eine Aktivität, die ungefähr 1000mal stärker ist als diejenige des ursprünglichen 4 bis 10 ACTH.

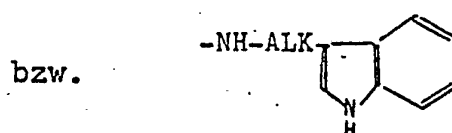
Überraschenderweise hat es sich jetzt gezeigt, dass die Aminosäurereste Glu und His, die bis jetzt als für die Aktivität wesentlich angesehen worden sind, ohne Aktivitätsverlust durch niedere aliphatische Aminosäurereste ersetzt werden können, wie Ala, Leu, Val und Ile, die wesentlich einfacher und billiger angewandt werden können als Glu und His für die Peptidsynthese.

Es konnte auch nachgewiesen werden, dass die Aminosäure L-Phe in 7-Stellung des ursprünglichen 4 bis 10 ACTH durch andere links-drehende Aminosäuren ersetzt werden kann, einschliesslich den niederen aliphatischen Aminosäuren, die oben angegeben sind.

Die Erfindung betrifft daher ein Verfahren zur Herstellung von Peptiden der allgemeinen Formel I oder deren Säureadditionssalze.

Die bei der Definition von Z als terminale Gruppen genannten Gruppen, nämlich N(Phenylalkyl)-amino und N(β -Indolylalkyl)-amino, sind Gruppen, die sich hauptsächlich von den verwandten Aminosäureresten durch die Abwesenheit der Carboxylgruppe unterscheiden.

Unter N(Phenylalkyl)-amino oder, je nachdem, N(β -Indolylalkyl)-aminogruppen sind Gruppen



wandlung dieser Gruppe in ein Phosphitamid oder unter Anwendung des «Phosphorazo»-Verfahrens.

Die üblichsten Verfahren für die Kondensationsreaktionen sind: das Carbodiimid-Verfahren, das Azid-Verfahren, das gemischte Anhydrid-Verfahren und das Verfahren des aktivierten Esters, wie sie beschrieben sind in «The Peptides», Band I, 1965 (Academic Press), E. Schröder und K. Lübke. Das sogenannte «Festphasen-»Verfahren von Merrifield (J. Am. Chem. Soc. 85, 2149 (1963)) kann ferner angewandt werden zur Herstellung der erfindungsgemässen Peptide oder Peptidderivate.

Die reaktionsfähigen Gruppen, die vor einer Teilnahme an der Kondensationsreaktion geschützt werden sollen, können wirksam geschützt werden durch sogenannte Schutzgruppen, die leicht wieder entfernt werden können, z. B. durch Hydrolyse oder Reduktion. Zum Beispiel kann eine Carboxylgruppe wirksam geschützt werden durch Veresterung mit Methanol, Äthanol, tert.-Butanol, Benzylalkohol oder p-Nitrobenzylalkohol oder durch Umwandlung in ein Amid. Diese zuletzt genannte Schutzgruppe kann jedoch ziemlich schwer entfernt werden, und es ist daher empfehlenswert, diese Gruppe nur anzuwenden, um die Carboxylgruppe der C-terminalen Aminosäure in dem endgültigen Peptid zu schützen.

In diesem Falle führt die Peptidsynthese direkt zu dem Amid des Peptids der Formel I.

Gruppen, die wirksam eine Aminosäure schützen können, sind üblicherweise Säuregruppen, z. B. eine Säuregruppe, die abgeleitet ist von einer aliphatischen, aromatischen, araliphatischen oder heterocyclischen Carbonsäure, wie die Acetyl-, Benzoyl- oder eine Pyridin-carboxylgruppe, oder eine Säuregruppe, die abgeleitet ist von Kohlensäure, wie die Äthoxycarbonyl-, Benzyloxycarbonyl-, tert.-Butyloxycarbonyl oder p-Methoxybenzyloxycarbonylgruppe, oder eine Gruppe, die abgeleitet ist von einer Sulfonsäure, wie die Benzol-sulfon- oder p-Toluol-sulfonsäuregruppe, aber andere Gruppen, wie substituierte oder nicht substituierte Aryl- oder Aralkylgruppen, z. B. die Benzyl- und Triphenylmethylgruppe, oder Gruppen, wie die o-Nitrophenylsulphenyl- und die 2-Benzoyl-1-methylvinylgruppe, können ebenfalls angewandt werden.

Es ist häufig empfehlenswert, dass die ϵ -Aminogruppe von Lysin und gegebenenfalls die phenolische Hydroxylgruppe von Tyrosin ebenfalls geschützt werden. Dieser zuletzt genannte Schutz ist jedoch nicht immer erforderlich. Übliche Schutzgruppen in diesem Zusammenhang sind eine tert.-Butyloxycarbonyl- oder eine Tosylgruppe für die ϵ -Aminogruppe von Lysin und eine Benzylgruppe für die phenolische Hydroxylgruppe von Tyrosin.

Die Schutzgruppen können auf verschiedene übliche Weise abgespalten werden, je nach der Art der betreffenden Gruppe, z. B. mit Hilfe von Trifluoressigsäure oder durch milde Reduktion, z. B. mit Wasserstoff und einem Katalysator, wie Palladium oder mit HBr in Eisessig.

Peptide mit endständigen Resten (L oder D)-Met (\rightarrow O) oder Desamino-Met (\rightarrow O) können hergestellt werden aus dem entsprechenden Met oder Desamino-Met-Peptid durch milde Oxidation auf bekannte Weise, z. B. mit verdünntem Wasserstoffperoxid oder einer Persäure. Eine derartige Oxidation führt zu einem Gemisch von S- und R-Sulfoxiden, das aufgespalten werden kann unter Bildung der getrennten Diastereo-Isomeren in an sich bekannter Weise, z. B. durch selektive Kristallisation. Die einzelnen Diastereo-Isomeren können auch direkt erhalten werden durch Kupplung von (L oder D)-Methionin-S(oder R-)-sulfoxid, oder dessen entsprechendem Desamino-Derivat mit dem Rest des Peptidfragments.

Die erfindungsgemässen Peptide mit endständigen (L oder D)-Met (\rightarrow O₂) oder Desamino-Met (\rightarrow O₂) am Stickstoffatom können erhalten werden durch Oxidation des (Desamino)-Met-Peptids I oder durch Kupplung von (Desamino)-Met-sulfon mit dem Rest des Peptidfragments.

Unter funktionellen Derivaten der Peptide der Formel I sind zu verstehen:

1. Säureadditionssalze oder Metallsalze, vorzugsweise Alkalisalze, wie die Natriumsalze,
2. Peptide der allgemeinen Formel I, bei denen die freie terminale Aminogruppe substituiert ist durch eine Acylgruppe, die abgeleitet ist von einer aliphatischen C₁- bis C₆-Carbonsäure, z. B. eine Acetyl-, Propionyl-, Butyrylgruppe usw.,
3. gegebenenfalls alkyl-substituierte Amide der Peptide der Formel I wie die unsubstituierten oder Mono- oder Dialkyl(1 bis 6 C)-amide, z. B. die Mono- oder Dimethylamide,
4. Ester der Peptide der Formel I, die abgeleitet sind von aliphatischen oder araliphatischen Alkoholen mit 1 bis 18 Kohlenstoffatomen,
5. Metallkomplexe, die gebildet worden sind durch Zusammenbringen der erwähnten Peptide mit einem schwerlöslichen Salz, Hydroxid oder Oxid eines Metalls, vorzugsweise von Zink.

Die Säureadditionssalze werden vorzugsweise erhalten

durch Umsetzung der hier erwähnten Peptide mit einer pharmakologisch verträglichen Säure, wie einem Wasserstoffhalogenid, Phosphorsäure, Essigsäure, Maleinsäure, Weinsäure oder Citronensäure.

- 5 Die erfindungsgemäss erhaltenen Peptide und die oben erwähnten Derivate können oral oder parenteral verabreicht werden. Die Peptide werden vorzugsweise in Form von Injektionszubereitungen angewandt, wofür sie in einem geeigneten flüssigen Medium gelöst, suspendiert oder emulgiert werden. Wenn sie mit geeigneten Exzipientien oder Füllstoffen vermischt werden, können sie auch zu geeigneten Dosismformen zur oralen Verabreichung verarbeitet werden, wie zu Pillen, Tabletten oder Dragees. Die hier erwähnten Peptide können auch in Form von Suppositorien oder als Spray verabreicht werden.

Die erfindungsgemäss erhaltenen Peptide werden vorzugsweise parenteral in einer täglichen Dosis von 0,01 (μ g bis 1 mg und oral in einer täglichen Dosis von 0,1 bis 50 mg/kg Körpergewicht verabreicht, je nach der Aktivität des Peptids.

Besonders wertvolle Zubereitungen können erhalten werden, wenn die neuen Peptide zu einer bestimmten Form mit verlängerter Aktivität verarbeitet werden. Die Metallkomplexe der Peptide sind in diesem Zusammenhang besonders zu erwähnen. Diese Metallkomplexe werden erhalten durch Zusammenbringen der Peptide mit schwerlöslichen Metallsalzen, Metallhydroxiden oder Metalloxiden. Die Metallphosphate, Metallpyrophosphate und Metallpolyphosphate werden im allgemeinen als schwerlösliche Metallsalze verwendet.

Metalle, die für dieses Verfahren angewandt werden können, sind die zu den Übergangselementen gehörenden Metalle, z. B. Kobalt, Nickel, Kupfer, Eisen und vorzugsweise Zink, sowie Metalle, die zu den Hauptgruppen des Periodensystems gehören und die imstande sind, Komplexe zu bilden, wie Magnesium und Aluminium. Die Herstellung dieser Metallkomplexe findet auf übliche Weise statt.

Ein Metallkomplex kann z. B. erhalten werden durch Zugabe des Peptids und eines schwerlöslichen Metallsalzes, Metallhydroxids oder Metalloxids zu einem wässrigen Medium. Der Metallkomplex kann auch erhalten werden durch Zugabe eines alkalischen Mediums zu einer wässrigen Lösung des Peptids und eines löslichen Metallsalzes, wobei der unlösliche Peptid-Metallhydroxid-Komplex entsteht.

Der Metallkomplex kann ferner erhalten werden durch Zugabe des Peptids, eines löslichen Metallsalzes und eines weiteren löslichen Salzes zu einem wässrigen, vorzugsweise alkalischen Medium, was zu der in situ-Bildung eines unlöslichen Peptid-Metallsalz-Komplexes führt.

Die Metallkomplexe können unmittelbar als Suspensionen verwendet werden oder sie können z. B. gefriergetrocknet und später verwendet werden.

Die Definition von A umfasst die Reste Met, Desamino-Met, das entsprechende Sulfoxid und Sulfon von Met und Desamino-Met, aber auch den Aminosäurerest R₄-NH-B-CO, bei dem B eine verzweigte oder nichtverzweigte Alkyl- oder Alkylidengruppe mit 1 bis 6 Kohlenstoffatomen und vorzugsweise mit 1 bis 5 Kohlenstoffatomen ist, und R₄ Wasserstoff oder eine von einer niederen aliphatischen Carbonsäure abgeleitete Acylgruppe ist. Der Aminosäurerest umfasst vorzugsweise die natürlichen α -Aminosäurereste Gly, Ala, Val, Leu und Ile, kann aber auch andere Reste, wie β -Ala oder (α -Me)-Ala umfassen.

Die α -Aminosäurereste NH-CHR₁-CO und NH-CHR₂-CO in den erfindungsgemäss hergestellten Peptiden sind gleiche oder unterschiedliche aliphatische α -Aminosäurereste. Bevorzugte Aminosäurereste in diesem Zusammenhang sind solche, bei denen R₁ und R₂ jeweils ein Wasserstoffatom

oder eine C₁- bis C₄-Alkylgruppe bedeuten, und besonders die natürlich vorkommenden Aminosäurereste Gly, Val, Leu, Ile und besonders Ala.

Der α -Aminosäurerest Q, der in den Peptiden definiert ist als HN-CHR-CO umfasst die natürlichen Aminosäuren Ala, Val, Leu, Ile, Tyr, Trp und Phe. Die Aminosäurereste Phe, Leu und solche Reste, bei denen R eine niedere Alkylgruppe (1 bis 4 C) bedeutet, besonders Ala (R = CH₃) sind bevorzugt.

Ester der erfindungsgemäss erhaltenen Peptide sind vorzugsweise abgeleitet von Alkanolen mit 1 bis 8 Kohlenstoffatomen und besonders mit 1 bis 4 Kohlenstoffatomen, wie Methanol, Äthanol, Propanol und Butanol und können erhalten werden durch Veresterung der entstehenden Peptide oder durch Veresterung der Ausgangsaminosäure, wobei die Estergruppe gleichzeitig während der Peptidsynthese als Schutzgruppe dienen kann.

Amide können auf ähnliche Weise hergestellt werden, entweder durch Aminolyse des entstehenden Esters oder indem man ausgeht von dem Amid der fraglichen Aminosäure bei der Peptidsynthese.

Peptide der allgemeinen Formel I, die bevorzugt sind, sind solche, bei denen R₁ und R₂ gleiche Gruppen bedeuten, z. B. Methylgruppen (wobei der Aminosäurerest Ala entsteht), Isopropyl (wobei der Aminosäurerest Val entsteht) oder 2-Methylpropyl (wobei der Aminosäurerest Leu entsteht).

«A» in der allgemeinen Formel I ist vorzugsweise L-Met oder Desamino-Met oder ein davon abgeleitetes Sulfoxid oder Sulfon.

Das Symbol «Q» in der allgemeinen Formel I stellt vorzugsweise einen der Aminosäurereste L-Phe oder L-Ala dar.

Das Symbol «Z» in der allgemeinen Formel I ist vorzugsweise der Aminosäurerest L-Phe-OH oder gegebenenfalls der Peptidrest L-Phe-Gly-OH, obwohl im letzteren Falle eine Verlängerung der Kette ohne weitere Zunahme der Aktivität auftritt.

Besonders bevorzugte Peptide sind:

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

Im Zusammenhang mit den folgenden Beispielen wurde folgendes festgelegt:

I. Wenn keine optische Konfiguration angegeben ist, ist die L-Form gemeint.

II. Die folgenden Abkürzungen werden für die Schutzgruppen und Aktivierungsgruppen angewandt:

Boc = tert.-Butyloxycarbonyl
tBu = tert.-Butyl
Me = Methyl
ONP = p-Nitrophenyloxy
Bzl = Benzyl
ONB = Nitrobenzyloxy
OSu = Succinimido-N-oxyl
Z = Benzyloxycarbonyl.

III. Die folgenden Abkürzungen werden für die Lösungsmittel oder Reagentien angewandt:

Bz = Benzol
To = Toluol
EtOH = Äthanol
Bu = Butanol
Py = Pyridin

Ac = Essigsäure
EtOAc = Äthylacetat
Fo = Ameisensäure
Am = Amylalkohol
iPro = Isopropanol
DMF = Dimethylformamid
THF = Tetrahydrofuran
DCCI = Dicyclohexylcarbodiimid
DCHU = Dicyclohexylharnstoff
TAA = Triäthylamin
TFA = Trifluoressigsäure
Wa = Wasser
NEM = N-Äthylmorpholin
HOBt = N-Hydroxybenzotriazol

IV. Die folgenden Abkürzungen werden für die Aminosäuregruppen angewandt:

Met = Methionyl
Met (\rightarrow O) = Sulfoxid von Methionyl
Met (\rightarrow O₂) = Sulfon von Methionyl
Phe = Phenylalanyl
Tyr = Tyrosyl
Lys = Lysyl
Trp = Tryptophyl
Gly = Glycyl
Val = Valyl
Leu = Leucyl
Ala = Alanyl
Ile = Isoleucyl
 β -Ala = β -Alanyl
 α -(Me)Ala = α -Methylalanyl.

V. Die folgenden Abkürzungen werden für Gruppen angewandt, die mit den Aminosäureresten verwandt sind:

PPA = N-(3-Phenylpropyl)-amin
PEA = N-(2-Phenyläthyl)-amin
HPEA = N-(p-Hydroxyphenyläthyl)-amin
Amf = N-(2-Phenylisopropyl)-amin, abgeleitet von Amphetamin
Tra = N-(β -Indolyläthyl)-amin, abgeleitet von Tryptamin
Desamino-Met = Desamino-methionyl
Desamino-Met (\rightarrow O) = Sulfoxid von Desamino-methionyl (oder 4-Methylsulfinylbutyryl)
Desamino-Met (\rightarrow O₂) = Sulfon von Desamino-methionyl (oder 4-Methylsulfonylbutyryl).

Herstellung der Ausgangssubstanzen

I. N-terminaler Teil

1. Boc-Met-Ala-Ala-N₂H₃

(a) Boc-Ala-Ala-OME: 20,79 g Boc-Ala-OH wurden in 150 ml DMF gelöst. Nach dem Kühlen auf -10°C wurden 15,84 ml TAA zugegeben und anschliessend 10,45 ml Äthylchlorformiat. Das Ganze wurde 10 Minuten bei -10°C gerührt und anschliessend eine Lösung von 13,9 g H-Ala-OME.HCl in 150 ml DMF und 14,4 ml TAA zu dem Reaktionsgemisch gegeben und das Ganze 15 Minuten bei -10°C , 2 Stunden bei 0°C und schliesslich 8 Stunden bei Raumtemperatur gerührt. Nach dem Abkühlen auf -10°C wurde das TAA.HCl abfiltriert und das Filtrat zur Trockne eingedampft. Der Rückstand wurde in 250 ml Äthylacetat gelöst und nacheinander mit Wasser, 0,05n HCl, 5prozentiger K₂CO₃-Lösung und 30prozentiger NaCl-Lösung gewaschen. Nach dem Trocknen über Na₂SO₄ wurde das Filtrat zur Trockne eingedampft und der Rückstand aus Äther/Petroläther umkristallisiert.

Ausbeute 19,3 g, Fp. 108–110 $^{\circ}\text{C}$

Rf in To: EtOH (8:2) = 0,50 auf SiO₂.

(b) H-Ala-Ala-OME.HCl: 18,75 g Boc-Ala-Ala-OME (a)

wurden in 150 ml Methylenchlorid gelöst und HCl 45 Minuten unter konstantem Kühlen im Eisbad durch die Lösung geleitet. Ausbeute des von der Schutzgruppe befreiten Produktes 14,3 g, Rf in To:EtOH (8:2) = 0,01 auf SiO₂.

(c) Boc-Met-Ala-Ala-OMe: 15,8 g Boc-Met-N₂H₃ in 150 ml DMF wurden bei -20 °C mit 28,0 ml 4,2 n HCl in THF und 8,10 ml Isoamylnitrit aktiviert. Nach 20 Minuten langem Aktivieren bei -15 °C wurde die Lösung mit 14,5 ml NEM neutralisiert und anschliessend eine Lösung von 14,3 g H-Ala-Ala-OMe.HCl (b) in 75 ml DMF und 1 Äqu. NEM zugegeben. Nachdem der pH-Wert mit NEM auf 7,2 eingestellt worden war, wurde das Reaktionsgemisch 48 Stunden bei ungefähr 4 °C gehalten. Nach 48 Stunden wurde das NEM.HCl abfiltriert und das Filtrat zur Trockne eingedampft.

Der Rückstand wurde in 300 ml Äthylacetat gelöst, anschliessend mit Wasser, 0,05n HCl, 5% NaHCO₃ und wieder mit Wasser gewaschen.

Nach Trocknen über Na₂SO₄ wurde das Filtrat zur Trockne eingedampft und der Rückstand aus Äthylacetat/Petroläther (1:1) umkristallisiert.

Ausbeute 16,2 g; Fp. 128–129 °C;

Rf in To:EtOH (8:2) = 0,46 auf SiO₂.

(d) Boc-Met-Ala-Ala-N₂H₃: 15,9 g Boc-Met-Ala-Ala-OMe (c) wurden in 160 ml Methanol gelöst und 16,0 ml Hydrazinhydrat zugegeben. Nach 3,5 Stunden langem Rühren wurden 200 ml trockener Äther zugegeben. Nach Kühlen auf 0 °C wurde die feste Substanz abfiltriert.

Ausbeute 12,6 g;

Fp. 207–208 °C;

Rf in Am:iPro:Wa (10:4:5) = 0,41 auf SiO₂.

Die folgenden Peptide wurden auf ähnliche Weise wie unter I.1 angegeben hergestellt:

2. Boc-Ala-Ala-Ala-N₂H₃; Rf in Am:iPro:Wa (10:4:5) = 0,44

3. Boc-Val-Ala-Ala-N₂H₃; Rf in Am:iPro:Wa (10:4:5) = 0,40

4. Boc-Ala-Leu-Leu-N₂H₃; Rf in Am:iPro:Wa (10:4:5) = 0,38

5. Boc-Met-Ala-Leu-N₂H₃; Rf in Am:iPro:Wa (10:4:5) = 0,39

6. Boc-Met-Val-Val-N₂H₃; Rf in Am:iPro:Wa (10:4:5) = 0,38

7. Boc-Met(O₂)-Ala-Ala-N₂H₃; Rf in Am:iPro:Wa (10:4:5) = 0,30

8. Desamino-Met-Ala-Ala-N₂H₃; Rf in Am:iPro:Wa (10:4:5) = 0,34

9. Desamino-Met(O₂)-Ala-Ala-N₂H₃; Rf in Am:iPro:Wa (10:4:5) = 0,23

II. C-terminaler Teil

1. Synthese von H-Phe-D-Lys(Boc)-Phe-OtBu

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

10,03 g Z-D-Lys(Boc)-ONP wurden in 50 ml DMF gelöst und die Lösung nach dem Kühlen auf -20 °C zu einer Lösung von 4,1 g H-Phe-OtBu in 75 ml DMF gegeben. Nach einstündigem Rühren bei 0 °C und weiteren 20 Stunden bei 20 °C wurde das Reaktionsgemisch zur Trockne eingedampft. Der gelbe Rückstand wurde in Äthylacetat/Wasser gelöst und mit 5prozentigem Kaliumcarbonat, Wasser, 5prozentiger Citronensäure und wieder mit Wasser gewaschen. Die organische Phase wurde getrocknet und zur Trockne eingedampft. Der Rückstand wurde in Äthylacetat gelöst und Petroläther (40–60) zugegeben, bis die Lösung wolkig wurde. Der entstehende Niederschlag wurde anschliessend abfiltriert.

Rf in To:EtOH (9:1) = 0,63 (SiO₂).

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

3 g des Dipeptids wurden in 60 ml Methanol gelöst.

Nach Zugabe von 10% Palladium auf Aktivkohle wurde Wasserstoff durchgeleitet, bis die CO₂-Entwicklung aufhörte (2 Stunden). Nach Abfiltrieren über Filterhilfe (Hyflo) wurde das Filtrat zur Trockne eingedampft. Es blieb ein schaumartiger Stoff zurück. Rf in To:EtOH (9:1) = 0,21

Rf in To:EtOH (9:1) = 0,21 (SiO₂).

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

2,18 g Z-Phe-ONP wurden in 15 ml DMF gelöst. Nach Zugabe einer Lösung von 2,24 g H-D-Lys(Boc)-Phe-OtBu (2) in 30 ml DMF wurde das Ganze 15 Stunden bei 20 °C gerührt.

Nach Eindampfen der gelben Lösung zur Trockne wurde der Rückstand in 15 ml Äthylacetat gelöst und anschliessend 50 ml Petroläther zugegeben. Das Gemisch wurde anschliessend 8 Stunden bei 0 °C stehengelassen und anschliessend der entstandene Niederschlag abfiltriert.

Fp. 135–138 °C.

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

2,5 g des unter (3) erhaltenen Tripeptids wurden auf die unter (2) beschriebene Weise hydriert.

Rf in To:EtOH (8:2) = 0,38 (SiO₂).

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

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

3,2 g Z-Leu-ONP wurden in 40 ml DMF gelöst. 3,6 g H-D-Lys(Boc)-Phe-OtBu wurden zu der Lösung gegeben und das Gemisch anschliessend 20 Stunden bei Raumtemperatur gerührt. Nach Eindampfen des Reaktionsgemisches zur Trockne wurde der Rückstand in 100 ml Äthylacetat gelöst und die entstehende Lösung mit 10% K₂CO₃-Lösung, 30% NaCl-Lösung, Citronensäurelösung und wieder mit 30% NaCl-Lösung gewaschen. Die Äthylacetatlösung wurde getrocknet und eingedampft und anschliessend Petroläther zu dem Konzentrat zugegeben. Der entstehende Niederschlag wurde abfiltriert.

Fp. 102–105 °C, Ausbeute 4,8 g.

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

Das unter (1) erhaltene Tripeptid wurde mit 10% Pd/C als Katalysator auf die unter II.1.2 angegebene Weise hydriert.

Rf in To:EtOH (8:2) = 0,41 auf SiO₂.

3. H-Ala-D-Lys(Boc)-Phe-OtBu

2,8 g Z-Ala-ONP wurden mit 3,6 g H-D-Lys(Boc)-Phe-OtBu auf ähnliche Weise wie unter 2 beschrieben gekuppelt und das entstehende geschützte Tripeptid anschliessend hydriert.

Rf in To:EtOH (8:2) = 0,37 auf SiO₂.

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

1. Z-Leu-D-Lys(Boc)-Tra

Z-Leu-D-Lys(Boc)Tra wurde auf die unter II.1.3 beschriebene Weise erhalten, ausgehend von 3,1 g Z-Leu-ONP und 3 g H-D-Lys(Boc)-Tra (hergestellt aus Z-D-Lys(Boc)-Tra).

Ausbeute 65%; Rf in To:EtOH (8:2) = 0,72 auf SiO₂.

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

2 g des Peptids (1) wurden in 25 ml Methanol gelöst und in Gegenwart von 10% Pd/C auf die unter II.1.2 beschriebene Weise hydriert. Beim Eindampfen zur Trockne erhielt man ein schaumartiges Produkt.

Ausbeute 95%. Rf in To:EtOH (8:2) = 0,47 (SiO₂).

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

entsprechend 4. Rf in To:EtOH (8:2) = 0,33

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

entsprechend 4. Rf in To:EtOH (8:2) = 0,35

7. H-Tyr-D-Lys(Boc)-Tra
entsprechend 4. Rf in To:EtOH (8:2) = 0,24

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

1. Z-Leu-D-Lys(Boc)-Trp-OMe

5,57 g Z-Leu-OH wurden in 50 ml DMF gelöst und nach dem Kühlen der Lösung auf 0 °C wurden 3,0 ml TAA und 2,0 ml Äthylchlorformiat zugegeben. Das Reaktionsgemisch wurde 15 Minuten gerührt und anschliessend 8,64 g H-D-Lys(Boc)-Trp-OMe in 50 ml DMF bei -10 °C zugegeben und das Gemisch bei dieser Temperatur 30 Minuten gerührt. Nach 2stündigem Rühren bei 0 °C und anschliessend ungefähr 5 Stunden bei Raumtemperatur wurde das Gemisch filtriert und das Filtrat zur Trockne eingedampft. Der Rückstand wurde in Äthylacetat gelöst und die entstehende Lösung nacheinander mit Wasser, 5% NaHCO₃-Lösung, Wasser, 0,1n HCl und 30% NaCl-Lösung gewaschen.

Die Lösung wurde getrocknet und zur Trockne eingedampft (Öl).

Rf in To:EtOH (9:1) = 0,41 auf SiO₂;

Ausbeute 10,5 g.

2. Z-Leu-D-Lys(Boc)-Trp-OH

5 g des Tripeptidesters (1) wurden in 100 ml Dioxan gelöst, anschliessend 15,3 ml 0,94n NaOH zugegeben. Das Reaktionsgemisch wurde 2 Stunden bei Raumtemperatur gerührt, dann mit 2n HCl auf einen pH-Wert von 7 gebracht. Das Dioxan wurde anschliessend abgedampft und Äthylacetat/Wasser zu dem Rückstand gegeben. Das Gemisch (wässrige Schicht) wurde dann ohne Trennung der Schichten auf einen pH-Wert von 2 angesäuert. Die organische Phase wurde mit 10% NaCl-Lösung gewaschen und getrocknet. Bei Entfernung des Lösungsmittels durch Destillation erhielt man ein schaumartiges Produkt.

Rf in To:EtOH (8:2) = 0,38 auf SiO₂;

Ausbeute 3,8 g.

3. H-Leu-D-Lys(Boc)-Trp-OH

3,15 g des unter 2 erhaltenen Tripeptids wurden in 50 ml DMF gelöst und 1,67 ml 4n HCl zugegeben, dann wurden 50 mg Pd/C (10%) zu der Lösung gegeben und 4 Stunden Wasserstoff durchgeleitet. Der Katalysator wurde abfiltriert und das Filtrat zur Trockne eingedampft (Öl).

Rf in To:EtOH (9:1) = 0,10 auf SiO₂.

4. H-Leu-D-Lys(Boc)-Trp-OMe

Der unter 1 erhaltene Peptidester wurde entsprechend 3 hydriert, wobei man ein Öl erhielt. Rf in Am:Py:Wa (5:3:2) = 0,29 auf SiO₂.

9. Herstellung von H-Leu-D-Lys(Boc)-phenylalkylamiden

1. Z-D-Lys(Boc)-PPA

10,33 g (20,6 mMol) Z-D-Lys(Boc)-ONP wurden in 80 ml Methylenchlorid bei ungefähr 0 °C gelöst, dann wurden 2,7 g 3-Phenylpropylamin zu der Lösung gegeben und das Gemisch anschliessend 1,5 Stunden bei 0 °C gerührt und 18 Stunden bei Raumtemperatur. Das Lösungsmittel wurde abgedampft und der Rückstand in 200 ml Äthylacetat gelöst. Die Äthylacetatlösung wurde nacheinander mit 10% Natriumcarbonatlösung, 30% NaCl-Lösung, 0,1n HCl und 30% NaCl-Lösung gewaschen und anschliessend die Äthylacetatschicht getrocknet und auf ein Volumen von ungefähr 80 ml eingeeengt. Es wurde ausreichend Äther zugegeben, bis eine Trübung eintrat und dann das Gemisch in den Kühlschrank gestellt. Der entstehende Niederschlag wurde nach 2 Stunden abfiltriert.

Rf in Bz:EtOH (9:1) = 0,50 auf SiO₂.

2. H-D-Lys(Boc)-PPA

8,75 g der unter 1 erhaltenen Verbindung wurden in 120 ml Methanol gelöst und 1,2 g 10% Pd/C zugegeben. Dann

wurde unter Rühren 3,5 Stunden Wasserstoff durchgeleitet und der Katalysator anschliessend abfiltriert. Beim Eindampfen des Filtrats zur Trockne erhielt man ein nahezu farbloses Öl, das sofort für weitere Umsetzungen verwendet wurde.

Rf in Am:Fo:Wa (7:2:1) = 0,54 auf SiO₂.

3. Z-Leu-D-Lys(Boc)-PPA

6,39 g des unter 2 erhaltenen geschützten Aminosäurederivats wurden in 68 ml Dimethylformamid gelöst und eine Lösung von 7,0 g Z-Leu-ONP in 20 ml DMF zugegeben. Das Gemisch wurde 20 Stunden bei Raumtemperatur gerührt und anschliessend das Lösungsmittel unter Vakuum abgedampft. Der Rückstand wurde in 170 ml Äthylacetat gelöst und nacheinander mit 5% Kaliumcarbonatlösung, 30% NaCl-Lösung, 0,1n HCl und 30% NaCl-Lösung gewaschen. Die Äthylacetatschicht wurde dann über Na₂SO₄ getrocknet und zur Trockne eingedampft.

Rf in Bz:EtOH (8:2) = 0,64 auf SiO₂.

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

9,0 g des unter 3 erhaltenen Peptidderivats wurden in 300 ml Dimethylformamid gelöst zu dem 4 ml 4n HCl und 1,5 g 10% Pd/C zugegeben worden waren. Dann wurde 3,5 Stunden unter Rühren Wasserstoff durch das Gemisch geleitet, der Katalysator anschliessend abfiltriert und das Filtrat zur Trockne eingedampft, wobei man ein nahezu farbloses Öl erhielt.

Rf in Bu:Ac:Wa (4:1:1) = 0,55 auf SiO₂.

5. Die folgenden Verbindungen wurden auf ähnliche Weise hergestellt:

1. H-Leu-D-Lys(Boc)-L-Amf; Rf in To:EtOH (8:2) = 0,50 SiO₂

2. H-Leu-D-Lys(Boc)-PEA; Rf in To:EtOH (8:2) = 0,42 SiO₂

3. H-Leu-D-Lys(Boc)-HPEA; Rf in To:EtOH (8:2) = 0,34 SiO₂.

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

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

29,9 g Z-Phe-OH und 14,8 g HOBt wurden in 200 ml DMF gelöst. Nach Kühlen auf -22 °C wurden nacheinander zugegeben: Eine Lösung von 32,6 g H-D-Lys(Boc)-OMe.HCl in 210 ml DMF und 1 Äqu. TAA und eine Lösung von 22,7 g DCCI in 100 ml DMF. Das Ganze wurde dann 15 Minuten bei -22 °C, 2 Stunden bei 0 °C und 16 Stunden bei Raumtemperatur gerührt. Nach Kühlen wurde das entstandene DCHU abfiltriert und das Filtrat zur Trockne eingedampft. Der Rückstand wurde in Äthylacetat gelöst und mit Wasser, 5% Citronensäure, 5% Natriumbicarbonat und erneut mit Wasser gewaschen und anschliessend die Lösung zur Trockne eingedampft und kristallisiert.

Ausbeute 51,6 g; Fp. 122–123 °C.

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

13,7 g Z-Phe-D-Lys(Boc)-OMe (a) wurden in 180 ml Dioxan/H₂O (9:1) gelöst und 15 ml 2n NaOH zugegeben. Das Ganze wurde 2 Stunden bei Raumtemperatur gerührt und anschliessend der pH-Wert des Reaktionsgemisches mit 1n HCl auf 7 gebracht. Das Reaktionsgemisch wurde anschliessend auf ungefähr 50 ml (Dioxan-frei) eingeeengt und 250 ml Äthylacetat zugegeben. Das Gemisch wurde dann mit Wasser gewaschen und über Na₂SO₄ getrocknet. Das Na₂SO₄ wurde abfiltriert und das Filtrat zur Trockne eingedampft. Der Rückstand wurde aus Äther/Petroläther (1:2) umkristallisiert.

Ausbeute 11,3 g, Fp. 72–75 °C;

Rf in To:EtOH (8:2) = 0,12 auf SiO₂ und in Am:-

Py:Wa (5:3:2) = 0,69 auf SiO₂.

(c) Boc-Phe-Gly-OBzl

1 Äqu. NEM und anschliessend eine Lösung von 25,5 g

Boc-Phe-ONP in 100 ml DMF wurde zu einer Lösung von 12,6 g H-Gly-OBzl.HCl in 100 ml DMF gegeben. Nach Rühren über Nacht bei Raumtemperatur wurde das Reaktionsgemisch zur Trockne eingedampft. Der Rückstand wurde in 300 ml Äthylacetat/Wasser (5:1) gelöst und mit Wasser gewaschen.

Nach dem Trocknen über Na_2SO_4 wurde das Filtrat auf ungefähr 100 ml eingedampft und anschliessend 50 ml Petroläther und 250 ml trockener Äther zugegeben.

Ausbeute 16,7 g; Fp. 126–127 °C;

Rf in To:EtOH (8:2) = 0,56 auf SiO_2 .

(d) H-Phe-Gly-OBzl.HCl

8,25 g Boc-Phe-Gly-OBzl wurden in 120 ml Methylenchlorid gelöst und HCl-Gas unter Rühren und Kühlen (Eis/Wasser) 1 Stunde durch die Lösung geleitet.

Nach 1 Stunde wurde die Zufuhr von HCl abgebrochen und das Reaktionsgemisch zur Trockne eingedampft. Ausbeute 6,98 g eines schaumartigen Produktes

Rf in To:EtOH (8:2) = 0,33 auf SiO_2 .

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

Es wurde entsprechend (a) gearbeitet, wobei die folgenden Reagentien angewandt wurden. 9,25 g Z-Phe-D-Lys(Boc)-OH (b), 2,92 g HOBt, 6,98 g H-Phe-Gly-OBzl.HCl und 4,12 g DCCl.

Es wurde aus Äthylacetat/Petroläther umkristallisiert.

Ausbeute: 12,0 g; Fp. 157–159 °C.

Rf in To:EtOH (8:2) = 0,39 auf SiO_2 .

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

4,11 g Z-Phe-D-Lys(Boc)-Phe-Gly-OBzl wurden in 75 ml DMF gelöst. Nach Zugabe von Pd/C wurde 3 Stunden Wasserstoff durchgeleitet. Der Katalysator wurde über Filterhilfe (Hyflo/Asbest) filtriert und das Filtrat zur Trockne eingedampft. Ausbeute 2,9 g; Rf in Bu:Py:Ac:Wa (4:0,75:0,25:1) = 0,46 auf SiO_2 .

Die folgende Peptide wurden auf ähnliche Weise wie in dem vorigen Beispiel beschrieben hergestellt:

11. H-Trp-D-Lys(Boc)-Phe-Cly-CH₃;

Rf in Bu:Py:Ac:Wa (4:0,75:0,25:1) = 0,52 SiO_2

12. H-Leu-D-Lys(Boc)-Phe-Gly-CH₃;

Rf in Bu:Py:Ac:Wa (4:0,75:0,25:1) = 0,40 SiO_2

13. H-Val-D-Lys(Boc)-Phe-Gly-CH₃;

Rf in Bu:Py:Ac:Wa (4:0,75:0,25:1) = 0,42 SiO_2

14. H-Ala-D-Lys(Boc)-Phe-Gly-CH₃;

Rf in Bu:Py:Ac:Wa (4:0,75:0,25:1) = 0,37 SiO_2

15. H-Tyr-D-Lys(Boc)-Phe-Gly-CH₃;

Rf in Bu:Py:Ac:Wa (4:0,75:0,25:1) = 0,48 SiO_2 .

Die Erfindung wird durch die folgenden Beispiele näher erläutert:

Beispiel I

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

(a) Boc-Met-Ala-Ala-Ala-D-Lys(Boc)-Phe-Gly-OH (I.1 + II.14) 1,62 g Boc-Met-Ala-Ala-N₂H₃ wurden in 20 ml DMF gelöst, nach Kühlen auf –20 °C 1,68 ml 4,74n HCl/THF zugegeben und anschliessend 0,60 ml Isoamylnitrit und das Ganze 20 Minuten bei –15 °C gerührt, anschliessend 0,6 ml NEM zugegeben und daraufhin eine Lösung von 2,3 g H-Ala-D-Lys(Boc)-Phe-Gly-OH in 20 ml DMF und 1,68 ml 4,74n HCl/THF. Der pH-Wert des Reaktionsgemisches wurde mit NEM auf 7,2 eingestellt und das Reaktionsgemisch anschliessend 2 Tage bei ungefähr 4 °C gehalten. Das NEM.HCl wurde abfiltriert und das Filtrat zur Trockne eingedampft. Der Rückstand wurde in 125 ml sec.-Butanol/CHCl₃ (2:3) und 25 ml Wasser gelöst und die entstehende Lösung nacheinander mit Wasser, 5% Citronensäure und wieder mit Wasser gewaschen. Nach dem Trocknen über Na_2SO_4 wurde das Filtrat zur Trockne eingedampft. Der Rückstand wurde in 50 ml Methanol gelöst, zu dem an-

schliessend 160 ml Wasser zugegeben wurden, und der Feststoff abfiltriert und getrocknet.

Ausbeute 2,6 g;

Rf in Bu:Py:Ac:Wa (4:0,75:0,25:1) = 0,62 auf SiO_2 ;

Fp. 202–203 °C (Zers.).

(b) H-Met-Ala-Ala-Ala-D-Lys-Phe-Gly-OH-acetat

2,6 g des unter (a) erhaltenen Peptids wurden in 26 ml 90prozentigem TFA gelöst. Nach 45 Minuten langem Rühren bei Raumtemperatur unter Stickstoffatmosphäre wurde die Lösung zu 250 ml trockenem Äther getropft. Der entstandene Niederschlag wurde abfiltriert und getrocknet und der Feststoff in 40 ml tert.-Butanol/Wasser (1:1) gelöst und die Lösung mit einem Ionenaustauscherharz in Acetatform gerührt. Nach 30 Minuten langem Rühren wurde das Ionenaustauscherharz abfiltriert und das Filtrat zur Trockne eingedampft. Der Rückstand wurde dann durch Gegenstromverteilung gereinigt. Ausbeute 78%;

Rf in Bu:Py:Ac:Wa (4:0,75:0,25:1) = 0,25 auf SiO_2 .

20

Beispiel II

Die folgenden Peptide wurden in Form ihrer Acetate entsprechend dem Beispiel I hergestellt:

1. H-Met-Ala-Ala-Phe-D-Lys-Phe-Gly-OH (I.1 + II.10)

25 Rf = 0,25

2. H-Met-Ala-Ala-Trp-D-Lys-Phe-Gly-OH (I.1 + II.11)

Rf = 0,27

3. H-Met-Ala-Ala-Leu-D-Lys-Phe-Gly-OH (I.1 + II.12)

Rf = 0,22

4. H-Met-Ala-Ala-Val-D-Lys-Phe-Gly-OH (I.1 + II.13)

30 Rf = 0,18

5. H-Met-Ala-Ala-Tyr-D-Lys-Phe-Gly-OH (I.1 + II.15)

Rf = 0,23

6. H-Ala-Ala-Ala-Phe-D-Lys-Phe-Gly-OH (I.2 + II.10)

35 Rf = 0,21

7. H-Val-Ala-Ala-Phe-D-Lys-Phe-Gly-OH (I.3 + II.10)

RF = 0,26

8. H-Ala-Ala-Ala-Ala-D-Lys-Phe-Gly-OH (I.2 + II.14)

Rf = 0,20

9. H-Ala-Leu-Leu-Leu-D-Lys-Phe-Gly-OH (I.4 + II.12)

40 Rf = 0,19

10. H-Met-Ala-Leu-Phe-D-Lys-Phe-Gly-OH (I.5 + II.10)

Rf = 0,18

11. H-Met-Val-Val-Phe-D-Lys-Phe-Gly-OH (I.6 + II.10)

45 Rf = 0,22

12. H-Met(O₂)-Ala-Ala-Phe-D-Lys-Phe-Gly-OH (I.7 + II.10)

50 Rf = 0,16

13. Desamino-Met-Ala-Ala-Phe-D-Lys-Phe-Gly-OH (I.8 + II.10)

Rf = 0,36

14. Desamino-Met(O₂)-Ala-Ala-Phe-D-Lys-Phe-Gly-OH

55 Rf = 0,28

Beispiel III

Die folgenden Peptide wurden in Form ihrer Acetatsalze entsprechend Beispiel I hergestellt:

1. H-Met-Ala-Ala-Phe-D-Lys-Phe-OH (I.1 + II.1)

Rf = 0,27

2. H-Met-Ala-Ala-Leu-D-Lys-Phe-OH (I.1 + II.2)

Rf = 0,28

3. H-Met(O₂)-Ala-Ala-Ala-D-Lys-Phe-OH (I.7 + II.3)

65 Rf = 0,18

4. H-Met(O₂)-Ala-Ala-Leu-D-Lys-Tra (I.7 + II.4)

Rf = 0,11

5. Desamino-Met-Ala-Ala-Phe-D-Lys-Tra (I.8 + II.5)
Rf = 0,14

6. Desamino-Met(O₂)-Ala-Ala-Ala-D-Lys-Tra (I.9 + II.6)

Rf = 0,18

7. H-Met-Ala-Leu-Tyr-D-Lys-Tra (I.5 + II.7)

Rf = 0,17

8. H-Met-Ala-Ala-Leu-D-Lys-Trp-OMe (I.1 + II.8)

Rf = 0,31

9. H-Met-Ala-Ala-Leu-D-Lys-Trp-OH (I.1 + II.8.3)

Rf = 0,18

10. H-Met-Ala-Ala-Leu-D-Lys-PPA (I.1 + II.9.4)

Rf = 0,22

11. H-Met-Ala-Ala-Leu-D-Lys-L-Amf (I.1 + II.9.5.1)

Rf = 0,24

12. H-Met-Ala-Ala-Leu-D-Lys-PEA (I.1 + II.9.5.2)

Rf = 0,21

13. H-Met-Ala-Ala-Leu-D-Lys-HPEA (I.1 + II.9.5.3)

Rf = 0,26

14. H-Met(O₂)-Ala-Ala-Phe-D-Lys-Phe-OH (I.7 + II.1)

Rf = 0,19

15. H-Ala-Leu-Leu-Phe-D-Lys-Phe-OH (I.4 + II.1)

Rf = 0,32

16. Desamino-Met-Ala-Ala-Phe-D-Lys-Phe-OH (I.8 + II.1)

Rf = 0,35

Soweit nicht anders angegeben, wurden die Rf-Werte in den Beispielen II und III mit dem Lösungsmittelgemisch Bu:Py:Ac:Wa (4:0,75:0,25:1) auf SiO₂ bestimmt.

Beispiel IV

Sulfoxide

0,06 mMol des Peptids wurden in 5 ml Essigsäure gelöst und 25 µl 30% Wasserstoffperoxid zu der Lösung zugegeben, die dann 1 Stunde bei Raumtemperatur gerührt wurde. Eine Suspension von 20 ml Platinmoor in 2,5 ml Eisessig wurde dann zugegeben, das Gemisch 30 Minuten gerührt und anschliessend filtriert. Das Filtrat wurde unter Vakuum zur Trockne eingedampft und der Rückstand zu 10 ml tert.-Butanol/Wasser gegeben. Das Gemisch wurde lyophilisiert. Das Acetat der folgenden Peptide wurde auf diese Weise hergestellt:

1. H-Met(O₂)-Ala-Ala-Ala-D-Lys-Phe-Gly-OH

Rf = 0,12

2. H-Met(O)-Ala-Ala-Phe-D-Lys-Phe-Gly-OH

Rf = 0,10

3. H-Met(O)-Ala-Leu-Phe-D-Lys-Phe-Gly-OH

Rf = 0,11

4. Desamino-Met(O)-Ala-Ala-Phe-D-Lys-Phe-Gly-OH

Rf = 0,26

5. H-Met(O)-Ala-Ala-Phe-D-Lys-Phe-OH

Rf = 0,13

6. Desamino-Met(O)-Ala-Ala-Phe-D-Lys-Tra

Rf = 0,15

7. H-Met(O)-Ala-Ala-Leu-D-Lys-PPA

Rf = 0,08

5 8. Desamino-Met(O)-Ala-Ala-Phe-D-Lys-Phe-OH

Rf = 0,19

9. H-Met(O₂)-Ala-Ala-Leu-D-Lys-Trp-OMe

Rf = 0,21

Die Rf-Werte sind gemessen worden in Bu:Py:Ac:Wa 10 (4:0,75:0,25:1) auf SiO₂.

Beispiel V

Sulfone

0,2 mMol des Peptids wurden in einem Gemisch von 0,5 15 ml Wasser, 0,1 ml 4n Perchlorsäure und 0,02 ml 0,5m Ammoniummolybdat gelöst und anschliessend 0,06 ml 30% Wasserstoffperoxid zu dem Gemisch gegeben. Das Gemisch wurde 2 Stunden bei einer Temperatur von ungefähr 10 °C gerührt und anschliessend mit 25 ml tert.-Butanol/Wasser 20 verdünnt. Ein Ionenaustauscherharz (Dowex X-8 in Acetat-form) wurde zu dem Gemisch gegeben und 30 Minuten gerührt und das Gemisch anschliessend filtriert und das Filtrat lyophilisiert. Man erhielt die folgenden Acetate:

1. H-Met(O₂)-Ala-Ala-Phe-D-Lys-Phe-Gly-OH

25 Rf = 0,18

2. H-Met(O₂)-Ala-Ala-Phe-D-Lys-Phe-OH

Rf = 0,20

3. Desamino-Met(O₂)-Ala-Ala-Phe-D-Lys-Phe-OH

Rf = 0,23

30 Die Rf-Werte sind angegeben für Bu:Py:Ac:Wa (4:0,75:0,25:1) auf SiO₂.

Beispiel VI

Zinkkomplex

35 1,5 ml einer Lösung von Zinkchlorid, enthaltend 50 mg Zink/ml wurden zu einer Lösung von 31,5 mg Na₂HPO₄·2H₂O in 30 ml destilliertem Wasser gegeben. Der entstehende Niederschlag von Zinkphosphat wurde erneut gelöst durch Zugabe von 4n HCl und anschliessend wurden 40 175 mg NaCl und 0,5 g Benzylalkohol zu dem Gemisch gegeben. 1,5 mg des Hexapeptids H-Met-Ala-Ala-Phe-D-Lys-Phe-OH (Beispiel III.1) wurden in diesem Gemisch gelöst und ausreichend in Natriumhydroxid zugegeben, um den pH-Wert des Gemisches auf 8,5 einzustellen. Das Gemisch 45 wurde dann mit destilliertem Wasser auf 50 ml gebracht.

1 ml Suspension enthielt:

30 µg Hexapeptid

1,5 mg Zink

0,63 mg Na₂HPO₄·2H₂O

50 3,5 mg NaCl

10 mg Benzylalkohol