



CONFÉDÉRATION SUISSE

OFFICE FÉDÉRAL DE LA PROPRIÉTÉ INTELLECTUELLE

 (51) Int. Cl.³: C 07 C 103/87
 A 61 K 31/16

Brevet d'invention délivré pour la Suisse et le Liechtenstein

Traité sur les brevets, du 22 décembre 1978, entre la Suisse et le Liechtenstein



(12) FASCICULE DU BREVET A5

(11)

635 571

(21) Numéro de la demande: 10205/78

 (73) Titulaire(s):
 Eli Lilly and Company, Indianapolis/IN (US)

(22) Date de dépôt: 02.10.1978

(30) Priorité(s): 03.10.1977 US 838516

 (72) Inventeur(s):
 Edward Lee Smithwick, jun., Indianapolis/IN (US)
 Robert Curtis Arthur Frederickson,
 Indianapolis/IN (US)
 Robert Theodore Shuman, Greenwood/IN (US)

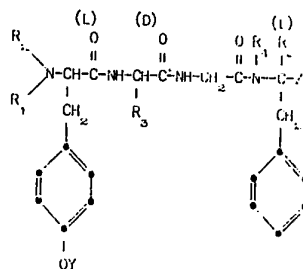
(24) Brevet délivré le: 15.04.1983

 (45) Fascicule du brevet
 publié le: 15.04.1983

 (74) Mandataire:
 E. Blum & Co., Zürich

(54) Tétrapeptides et composition thérapeutique les contenant.

(57) On divulgue des composés de formule générale



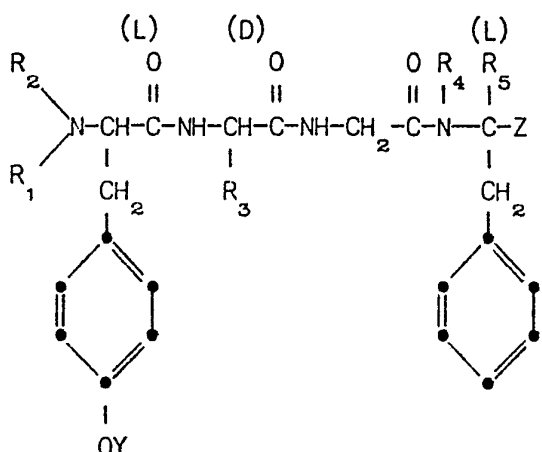
et leurs sels d'addition d'acide non toxiques pharmaceutiquement acceptables, où R_1 et R_2 sont H ou des groupements alkyle primaire en C_1 - C_3 ; R_3 est un groupement alkyle primaire ou secondaire en C_1 - C_4 ou $-CH_2CH_2-S-CH_3$; R_4 et R_5 sont des atomes d'hydrogène ou des groupements alkyle primaire en C_1 - C_3 ; Y est H ou $-CH_3CO$;

et Z est $-C(=O)NH_2$, $-CH_2OH$ ou $-CN$ pourvu que l'un de R_4 et R_5 soit un groupement alkyle et l'autre un atome d'hydrogène.

Ces composés ont une activité thérapeutique et en particulier une activité analgésique.

REVENDECATIONS

1. Composé thérapeutiquement actif de formule générale



et ses sels d'addition d'acide non toxiques pharmaceutiquement acceptables, dans laquelle L et D définissent l'asymétrie quand elle existe;

R₁ et R₂ sont indépendamment des atomes d'hydrogène ou des groupements alkyle primaire en C₁-C₃;

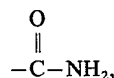
R₃ est un groupement alkyle primaire ou secondaire en C₁-C₄ ou un groupement -CH₂CH₂-S-CH₃;

R₄ est un atome d'hydrogène ou un groupement alkyle primaire en C₁-C₃;

R₅ est un atome d'hydrogène ou un groupement alkyle primaire en C₁-C₃;

Y est un atome d'hydrogène ou un groupement acétyle, et

Z est un groupement

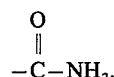


-CH₂OH ou -CN, pourvu que l'un de R₄ et R₅ soit un groupement alkyle primaire en C₁-C₃ et l'autre un atome d'hydrogène.

2. Composé selon la revendication 1, où R₄ est un groupement alkyle primaire en C₁-C₃.

3. Composé selon la revendication 1, où R₅ est un groupement alkyle primaire en C₁-C₃.

4. Composé selon la revendication 1, où Z est un groupement



5. Composé selon la revendication 1, où Y est un atome d'hydrogène.

6. Composé selon la revendication 1, où R₁ et R₂ sont des atomes d'hydrogène.

7. Composé selon la revendication 1, où R₃ est un groupement méthyle.

8. Acétate du L-tyrosyl-D-alanylglycyl-Nα-méthyl-L-phényl-alanylamide selon la revendication 1.

9. Acétate du L-tyrosyl-D-alanylglycyl-L-α-méthylphényl-alanylamide selon la revendication 1.

10. Acétate du L-tyrosyl-D-alanylglycyl-Nα-n-propyl-L-phényl-alanylamide selon la revendication 1.

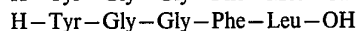
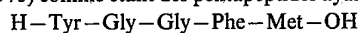
11. Acétate du L-tyrosyl-D-alanylglycyl-Nα-éthyl-L-phényl-alanylamide selon la revendication 1.

12. Procédé de préparation d'un composé selon la revendication 1, qui consiste à couper les agents de blocage du groupement amino et, si présent, du groupement hydroxy d'un composé protégé correspondant de formule (I) à l'aide d'un milieu acide.

13. Composition pharmaceutique comprenant un excipient et, comme ingrédient actif, un composé selon la revendication 1.

Cette invention concerne une nouvelle catégorie de composés qui présentent une activité analgésique par administration parentérale.

Récemment, des substances endogènes ayant des propriétés similaires à celles de la morphine ont été extraites du cerveau des mammifères ou du liquide cérébro-spinal. Ces substances, nommées enképhalines, ont été identifiées par Hughes *et al.*, «Nature», 258, 577 (1975) comme étant des pentapeptides ayant les structures suivantes:

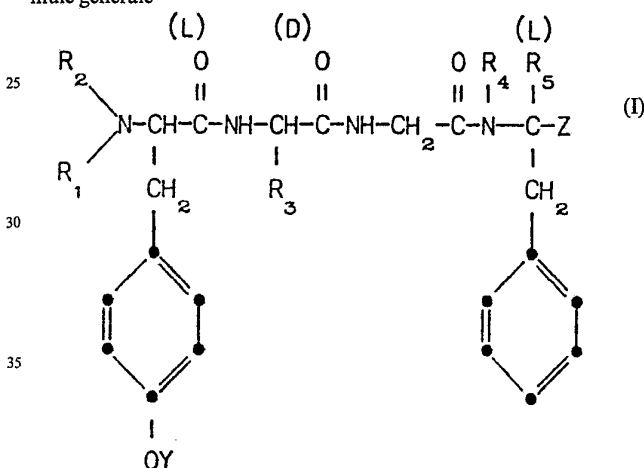


Ces composés sont appelés respectivement méthionine-enképhaline et leucine-enképhaline.

Bien que ces composés se soient révélés présenter une activité analgésique chez les souris par administration par voie intracérébro-ventriculaire [Buscher *et al.*, «Nature», 261, 423 (1976)], ils sont pratiquement exempts de toute activité analgésique utilisable quand ils sont administrés par voie parentérale.

On a maintenant découvert une nouvelle catégorie de composés qui présentent une activité analgésique significative et démontrable quand ils sont administrés par voie systémique. C'est cette catégorie de composés que la présente invention concerne.

Ainsi, cette invention concerne une catégorie de composés de formule générale



et leurs sels d'addition d'acide non toxiques pharmaceutiquement acceptables, où L et D définissent l'asymétrie, quand elle existe;

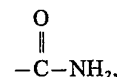
R₁ et R₂ sont indépendamment des atomes d'hydrogène ou des groupements alkyle primaire en C₁-C₃;

R₃ est un groupement alkyle primaire ou secondaire en C₁-C₄ ou un groupement -CH₂CH₂-S-CH₃;

R₄ est un atome d'hydrogène ou un groupement alkyle primaire en C₁-C₄;

R₅ est un atome d'hydrogène ou un groupement alkyle primaire en C₁-C₃;

Y est un atome d'hydrogène ou un groupement acétyle, et Z est



-CH₂OH ou -CN, pourvu que l'un de R₄ et R₅ soit un groupement alkyle primaire en C₁-C₃ et l'autre un atome d'hydrogène.

On prépare les composés de formule (I) en coupant les agents de blocage des composés protégés de façon correspondante de formule (I) à l'aide d'un milieu acide essentiellement sec.

Les sels d'addition d'acide non toxiques pharmaceutiquement acceptables comprennent les sels d'addition d'acides organiques et minéraux, par exemple ceux préparés à partir des acides comme les acides chlorhydrique, sulfurique, sulfonique, tartrique, fumarique, bromhydrique, glycolique, citrique, maléique, phosphorique, succinique, acétique, nitrique, benzoïque, ascorbique, p-toluènesulfonique, benzenesulfonique, naphthalènesulfonique et propionique. De préférence, les sels d'addition d'acide sont ceux préparés à partir de l'acide

chlorhydrique, de l'acide acétique ou de l'acide succinique. Tous les sels précédents sont préparés par des procédés classiques.

Comme on le verra d'après la définition des divers substituants qui apparaissent dans la formule (I), les composés qui sont définis par cette formule développée sont des dérivés amide primaire, alcool primaire ou nitrile de tétrapeptides définis de façon particulière. La configuration stéréochimique des composés de formule (I) est une de leurs caractéristiques essentielles. Pour des raisons de commodité, les restes aminoacides des tétrapeptides modifiés de formule (I) sont numérotés séquentiellement en partant du reste à la fonction aminoterminal. L'asymétrie des restes aminoacides, en allant de la position 1 à la position 3, est L, D et aucune. Le reste en position 3 est un reste glycine et il n'existe donc pas d'asymétrie concernant ce reste. Quant à la position 4 (position à C terminal) qui est un amide primaire, un alcool primaire ou un nitrile, son asymétrie est définie comme celle qui est compatible avec le reste L-aminoacide putatif correspondant.

Les groupements R_1 , R_2 , R_4 , et R_5 tels qu'utilisés ici sont définis pour désigner des groupements alkyle primaire en C_1 - C_3 . Par cette expression, on désigne les groupements méthyle, éthyle et n-propyle.

Le groupement R_3 apparaissant dans la formule développée précédente comprend les groupements alkyle primaire ou secondaire en C_1 - C_4 . Par cette expression, on désigne des groupements méthyle, éthyle, n-propyle, isopropyle, n-butyle, isobutyle et s-butyle.

En ce qui concerne les restes particuliers en chacune des positions des tétrapeptides modifiés de formule (I), les considérations suivantes existent :

A. Position 1

Cette position représente la portion aminoterminal du peptide. Le reste est celui qui provient de la L-tyrosine ou de la L-(O-acétyl)-tyrosine. Dans chaque cas, le reste peut être non substitué sur l'azote, auquel cas R_1 et R_2 sont tous deux des atomes d'hydrogène. En outre, le reste peut être substitué par un ou deux groupements alkyle primaire, auquel cas R_1 et/ou R_2 sont des groupements alkyle primaire en C_1 - C_3 . Des illustrations types de la substitution par un groupement alkyle primaire en C_1 - C_3 comprennent les dérivés à groupements N-méthyle, N-éthyle, N-n-propyle, N,N-diméthyle, N,N-diéthyle, N,N-di-n-propyle, N-méthyl-N-éthyle, N-méthyl-N-n-propyle et N-éthyl-N-n-propyle. De préférence, le reste tyrosyle ou O-acétyltyrosyle qui est présent en position 1 du peptide de formule (I) est non substitué sur l'azote. En outre, on préfère que le reste soit un reste tyrosyle.

B. Position 2

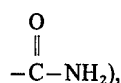
Le reste aminoacide qui est présent en seconde position du peptide de formule (I) doit être le stéréo-isomère D et peut être l'un quelconque de plusieurs restes aminoacide. Ils comprennent les restes provenant de la D-alanine (Ala) (R_3 est un groupement méthyle), de l'acide D- α -aminobutyrique (Abu) (R_3 est un groupement éthyle), de la D-norvaline (Nva) (R_3 est un groupement n-propyle), de la D-valine (Val) (R_3 est un groupement isopropyle), de la D-norleucine (Nle) (R_3 est un groupement n-butyle), de la D-leucine (Leu) (R_3 est un groupement isobutyle), de la D-isoleucine (Ile) (R_3 est un groupement s-butyle), et de la D-méthionine (Met) (R_3 est un groupement $-\text{CH}_2\text{CH}_2-\text{S}-\text{CH}_3$). De préférence, le reste provient de la D-alanine.

C. Position 3

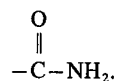
Le reste aminoacide présent dans cette position est celui dérivé de la glycine (Gly).

D. Position 4

Le reste présent dans la position à C terminal est celui provenant de la L-phénylalanine (Phe) ou de son dérivé alcool primaire ou nitrile. Le reste peut être un amide primaire ($\text{Phe}-\text{NH}_2$) (Z est



un alcool primaire ($\text{Phe}-\text{A}$) (Z est $-\text{CH}_2\text{OH}$), ou un nitrile ($\text{Phe}-\text{CN}$) (Z est $-\text{CN}$). Une catégorie préférée de composés comprend ceux dans lesquels Z est

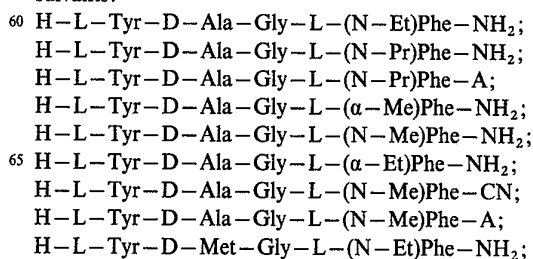


Le reste peut être non substitué ou substitué sur l'atome d'azote du groupement amino (R_4). Au cas où le reste est substitué sur l'azote, il s'agit d'un groupement N-méthyle, N-éthyle ou N-n-propyle. En outre, au cas où le reste est non substitué sur l'atome d'azote, il doit être substitué sur l'atome de carbone α (R_5). Dans de tels cas, R_5 est un groupement méthyle, éthyle ou n-propyle. La seule limitation est que l'un de R_4 et R_5 soit un groupement alkyle primaire en C_1 - C_3 et l'autre un atome d'hydrogène. De préférence, le groupement alkyle primaire en C_1 - C_3 est un groupement méthyle. Ainsi, les composés nettement préférés sont ceux dans lesquels R_4 ou R_5 est un groupement méthyle et, mieux encore, ceux dans lesquels R_4 est un groupement méthyle.

Dans cette description, on utilise les abréviations suivantes dont la plupart sont bien connues et couramment utilisées dans le domaine :

Abu:	acide α -aminobutyrique
Ala:	alanine
Cys:	cystéine
Gly:	glycine
Hse:	homosérine
Ile:	isoleucine
Leu:	leucine
Met:	méthionine
Nle:	norleucine
Nva:	norvaline
Phe:	phénylalanine
$\text{Phe}-\text{NH}_2$:	amide de phénylalanine
$\text{Phe}-\text{A}$:	dérivé alcool primaire de la phénylalanine
$\text{Phe}-\text{CN}$:	dérivé nitrile de la phénylalanine
Ser:	sérine
Tyr:	tyrosine
Val:	valine
Ac:	acétyle
Me:	méthyle
Et:	éthyle
Ip:	isopropyle
Pr:	n-propyle
Bu:	n-butyle
i-Bu:	isobutyle
t-Bu:	t-butyle
s-Bu:	s-butyle
BOC:	t-butyloxycarbonyl
Bzl:	benzyle
DCC:	N,N'-dicyclohexylcarbodiimide
HBT:	1-hydroxybenzotriazole
DMF:	N,N-diméthylformamide
TFA:	acide trifluoroacétique
THF:	tétrahydrofuranne
DEAE:	diéthylaminoéthyle
DCHA:	dicyclohexylamine

Des exemples de composés types de formule (I) comprennent les suivants :



$H-L-Tyr-D-Met-Gly-L-(N-Me)Phe-NH_2$;
 $H-L-Tyr-D-Met-Gly-L-(N-Me)Phe-A$;
 $H-L-Tyr-D-Met-Gly-L-(N-Et)Phe-CN$;
 $H-L-Tyr-D-Met-Gly-L-(\alpha-Et)Phe-NH_2$;
 $H-L-Tyr-D-Met-Gly-L-(\alpha-Pr)Phe-NH_2$;
 $H-L-Tyr(Ac)-D-Ala-Gly-L-(N-Me)Phe-NH_2$;
 $H-L-Tyr(Ac)-D-Nle-Gly-L-(\alpha-Me)Phe-NH_2$;
 $(N-Et)-L-Tyr-D-Abu-Gly-L-(N-Et)Phe-NH_2$;
 $(N,N-Di-Pr)-L-Tyr-D-Val-Gly-L-(\alpha-Me)Phe-NH_2$;
 $(N-Pr)-L-Tyr-D-Leu-Gly-L-(\alpha-Et)Phe-NH_2$;
 $(N,N-Di-Et)-L-Tyr-D-Met-Gly-L-(\alpha-Pr)Phe-NH_2$;
 $(N-Me,N-Et)-L-Tyr(Ac)-D-Nle-Gly-L-(\alpha-Me)Phe-NH_2$;
 $(N,N-Di-Me)-L-Tyr(Ac)-D-Ile-Gly-L-(\alpha-Et)Phe-NH_2$;
 $(N-Me)-L-Tyr(Ac)-D-Leu-Gly-L-(\alpha-Me)Phe-CN$;
 $(N-Me)-L-Tyr(Ac)-D-Nva-Gly-L-(\alpha-Pr)Phe-A$;
 $(N-Me)-L-Tyr-D-Ala-Gly-L-(\alpha-Me)Phe-NH_2$;
 $(N-Et)-L-Tyr(Ac)-D-Abu-Gly-L-(\alpha-Pr)Phe-NH_2$;
 $H-L-Tyr-D-Ala-Gly-L-(\alpha-Me)Phe-CN$;
 $H-L-Tyr-D-Ala-Gly-L-(\alpha-Me)Phe-A$;
 $H-L-Tyr-D-Ala-Gly-L-(\alpha-Et)Phe-A$;
 $H-L-Tyr-D-Ala-Gly-L-(\alpha-Pr)Phe-NH_2$;
 $H-L-Tyr-D-Ala-Gly-L-(\alpha-Pr)Phe-CN$;
 $(N,N-Di-Me)-L-Tyr-D-Ala-Gly-L-(\alpha-Et)Phe-A$;
 $(N,N-Di-Me)-L-Tyr-D-Ala-Gly-L-(N-Me)Phe-NH_2$;
 $(N,N-Di-Et)-L-Tyr-D-Ala-Gly-L-(N-Et)Phe-CN$;
 $(N-Me)-L-Tyr-D-Ala-Gly-L-(N-Me)Phe-A$;
 $(N-Me)-L-Tyr-D-Ala-Gly-L-(N-Me)Phe-NH_2$;
 $(N,N-Di-Me)-L-Tyr-D-Val-Gly-L-(N-Me)Phe-NH_2$;
 $(N,N-Di-Pr)-L-Tyr-D-Ala-Gly-L-(N-Pr)Phe-NH_2$;
 $(N-Me)-L-Tyr-D-Ala-Gly-L-(\alpha-Et)Phe-NH_2$;
 $(N,N-Di-Me)-L-Tyr(Ac)-D-Ala-Gly-L-(N-Et)-Phe-CN$;
 $(N,N-DiPr)-L-Tyr(Ac)-D-Met-Gly-L-(N-Me)Phe-A$;
 $(N-Et)-L-Tyr(Ac)-D-Met-Gly-L-(N-Pr)Phe-NH_2$, et
 $(N-Me)-L-Tyr(Ac)-D-Met-Gly-L-(\alpha-Me)Phe-NH$.

On prépare les composés de formule (I) par des procédés classiques de synthèse des peptides. Il est possible, pendant la synthèse de certains des composés de formule (I), qu'une racémisation partielle puisse se produire. Cependant, le degré de racémisation, si elle se produit, n'est pas suffisant pour modifier de façon importante l'activité analgésique des composés de formule (I).

Les procédés de préparation des composés de formule (I) comprennent le couplage d'acides aminés ou de fragments peptidiques par réaction de la fonction carboxyle de l'un avec la fonction amino de l'autre pour produire une liaison amide. Pour obtenir efficacement le couplage, il est indiqué d'abord que toutes les fonctions réactives ne participant pas directement à l'action soient inactivées en utilisant des groupements de blocage appropriés, et ensuite que la fonction carboxyle qui est à coupler soit activée de façon appropriée pour permettre au couplage de se faire. Tout cela implique une sélection soignée de l'ordre de réaction et des conditions de réaction ainsi que l'utilisation de groupements de blocage spécifiques de façon à pouvoir obtenir le produit peptidique désiré. Chacun des acides aminés qui est utilisé pour produire les composés de formule (I) et qui a les groupements protecteurs choisis de façon particulière est préparé par des techniques bien connues dans le domaine.

On utilise des combinaisons choisies de groupements de blocage à chaque point de la synthèse globale des composés de formule (I). On a trouvé que ces combinaisons particulières fonctionnaient le plus régulièrement. D'autres combinaisons fonctionneraient dans la synthèse des composés de formule (I), bien que peut-être avec un degré de succès moindre. Ainsi, les groupements benzyloxycarbonyle (CBz), t-butyloxycarbonyle (BOC), t-amylloxycarbonyle (AOC), p-

méthoxybenzyloxycarbonyle (MBOC), adamantyloxycarbonyle (AdOC) et isobornyloxycarbonyle peuvent être diversement utilisés comme groupements de blocage du groupement amino dans la synthèse des composés de formule (I). En outre, le groupement benzyle (Bzl) est généralement utilisé comme groupement protecteur du groupement hydroxy du reste tyrosyle, même si d'autres groupements, comme les groupements p-nitrobenzyle (PNB) et p-méthoxybenzyle (PMB), peuvent être utilisés également.

Les groupements de blocage du groupement carboxyle utilisés pour préparer les composés de formule (I) peuvent être l'un quelconque des groupements formateurs d'esters types comprenant par exemple des groupements méthyle, éthyle, benzyle, p-nitrobenzyle, p-méthoxybenzyle et 2,2,2-trichloroéthyle.

Le couplage de l'acide aminé ou fragment peptidique N-bloqué protégé de façon appropriée avec un acide aminé ou un fragment peptidique à groupement carboxy bloqué protégé de façon appropriée dans la préparation des composés de formule (I) consiste à rendre la fonction carboxy libre de l'acide aminé ou du fragment peptidique active vis-à-vis de la réaction de couplage. Cela peut être effectué en utilisant l'une quelconque de techniques bien connues. L'une de ces techniques d'activation implique la transformation de la fonction carboxy en un anhydride mixte. On active la fonction carboxy libre par réaction avec un autre acide, typiquement un dérivé de l'acide carbonique, comme un de ses chlorures d'acide. Des exemples des chlorures d'acide utilisés pour former des anhydrides mixtes sont le chloroformiate d'éthyle, le chloroformiate de phényle, le chloroformiate de s-butyle, le chloroformiate d'isobutyle et le chlorure de pivaloyl. On utilise de préférence le chloroformiate d'isobutyle.

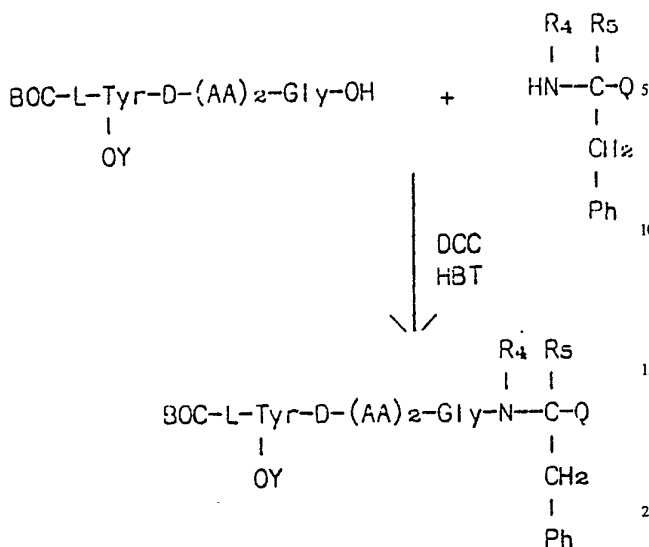
Un autre procédé d'activation de la fonction carboxy pour effectuer la réaction de couplage est la transformation en son dérivé d'ester actif. De tels esters actifs comprennent, par exemple, les esters 2,4,5-trichlorophényliques, les esters pentachlorophényliques et les esters p-nitrophényliques. Un autre procédé de couplage disponible est le procédé de couplage par l'azide bien connu.

Le procédé de couplage préféré dans la préparation des composés de formule (I) implique l'utilisation du N,N'-dicyclohexylcarbodiimide (DCC) pour activer la fonction carboxy libre en permettant ainsi au couplage de se faire. Cette technique d'activation et de couplage est effectuée en utilisant une quantité équimolaire de DCC par rapport à l'acide aminé ou au fragment peptidique et est effectuée en présence d'une quantité équimolaire de 1-hydroxybenzotriazole (HBT). La présence de HBT supprime les réactions secondaires indésirables, y compris la possibilité de racémisation.

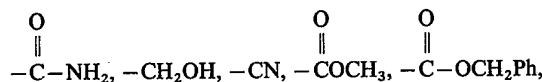
La coupure de groupements de blocage choisis est nécessaire à des points particuliers de la séquence de synthèse utilisée dans la préparation des composés de formule (I). L'homme de l'art peut facilement choisir à partir de groupements protecteurs types les groupements qui sont compatibles au sens que la coupure sélective du produit peut être effectuée en permettant l'élimination de un ou plusieurs, mais pas de la totalité des groupements protecteurs présents sur l'acide aminé ou le fragment peptidique. Ces techniques sont bien connues dans le domaine. On trouvera une discussion plus complète des techniques dont on dispose pour une coupure sélective dans Schröder et Lübke, «The Peptides», vol. I, Academic Press, New York (1965), et plus particulièrement dans le tableau que l'on y trouve pp. 72 à 75.

La coupure des groupements protecteurs du groupement carboxy peut être effectuée par saponification alcaline. On utilise généralement, pour désesterifier le groupement carboxy protégé, des conditions alcalines relativement fortes, en utilisant typiquement un hydroxyde de métal alcalin comme l'hydroxyde de sodium, l'hydroxyde de potassium et l'hydroxyde de lithium. Les conditions de réaction dans lesquelles on effectue la saponification sont bien connues dans le domaine. On peut également éliminer les groupements de blocage du groupement carboxy par hydrogénéolyse catalytique comprenant, par exemple, l'hydrogénéolyse en présence d'un catalyseur comme le palladium sur charbon. En outre, dans le cas où le groupement de blocage est un groupement p-nitrobenzyle ou 2,2,2-trichloroéthyle, le

B. Couplage du tripeptide et du groupement phénylalanyle terminal.

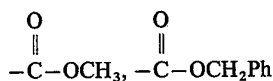


Dans la réaction précédente, Ph représente un groupement phényle et Q représente un groupement



et d'autres groupements similaires.

Quand Q est un groupement



ou d'autres groupements esters similaires, il peut être transformé, après couplage, en groupement $-\text{CH}_2\text{OH}$ par traitement par NaBH_4 . Cette technique de réduction est décrite dans le brevet des EUA N° 3700651. Quand Q représente un groupement ester benzylique ou un autre ester comprenant un groupement facilement éliminable par hydrogénolyse, il peut être transformé en un acide libre par hydrogénolyse en présence de palladium sur charbon. L'acide libre est transformable en amide par traitement par l'ammoniac en présence de DCC et HBT.

La partie amide peut être déshydratée en nitrile par traitement par le chlorure de p-toluènesulfonyl et la pyridine selon le procédé décrit par Yamada *et al.*, «Bull. of the Chem. Soc. of Japan», 50, 1088-1093 (1977).

Pour préparer les composés de formule (I) par la séquence décrite précédemment, on préfère nettement utiliser comme réactif à C ter-

minal un composé qui contient le groupement Z du produit final recherché.

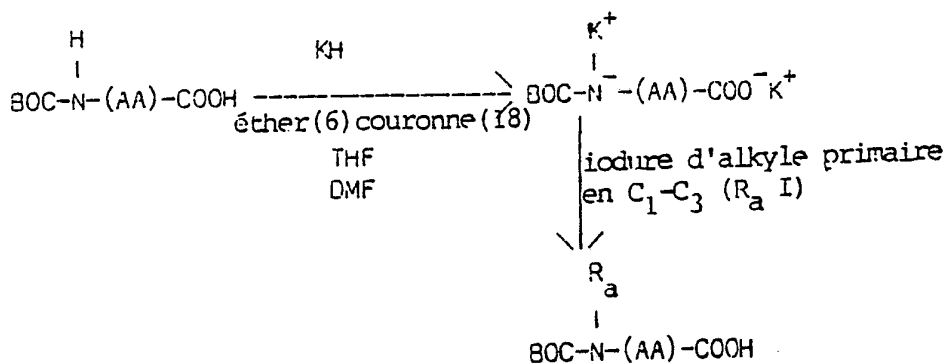
Une fois que l'on a préparé le tétra-peptide modifié recherché ayant un groupement à C terminal, on peut enlever le groupement protecteur de l'oxygène sur le groupement tyrosyle (s'il y en a) par hydrogénolyse et enlever le groupement protecteur N-BOC par traitement par l'acide trifluoroacétique.

Ce qui précède représente seulement une séquence permettant de préparer des composés de formule (I). D'autres séquences réactionnelles sont possibles. Un autre procédé que l'on peut utiliser comprend l'addition séquentielle par étape d'acides aminés ou de leurs dérivés pour construire la chaîne peptidique en partant de la partie carboxamide, alcool ou nitrile terminale. Des techniques de réaction similaires à celles décrites précédemment seraient utilisées dans cette séquence réactionnelle, ainsi que dans toute autre séquence de préparation envisagée.

Un autre procédé de préparation de composés de formule (I) est la synthèse en phase solide. Dans ce procédé, le reste à C terminal est fixé à un support polymère approprié, et on prolonge le peptide d'un reste à la fois jusqu'à ce qu'on synthétise le peptide désiré encore fixé à son support polymère. Puis on enlève le peptide du support en utilisant un réactif de déblocage approprié. Par exemple, le groupement à C terminal, protégé sur le groupement α -amino par un groupement t-butyloxycarbonyl, est couplé à un polymère de benzhydrylamine par activation par DCC. On enlève le groupement N-BOC par réaction du reste fixé au polymère avec l'acide trifluoroacétique dans le chlorure de méthylène. On neutralise le sel résultant avec une amine tertiaire appropriée et l'on répète la séquence par addition de chaque acide aminé successif. Une fois terminée la préparation de la séquence peptidique recherchée, on enlève le peptide bloqué du support polymère par traitement par HF à 0°C. Puis on purifie le produit par chromatographie. Les conditions de la synthèse, par exemple les durées de réaction, les températures de réaction, les durées de lavage, les réactifs, les groupements protecteurs, etc., sont celles que l'homme de l'art connaît bien.

La coupure du peptide et du support polymère permet l'élimination de tous les groupements protecteurs avec formation du tétra-peptide intermédiaire. Comme il est fortement indiqué de conserver de tels groupements protecteurs dans la transformation du produit en dérivé nitrile, la synthèse en phase solide n'est pas un procédé indiqué pour préparer les composés de formule (I) dans laquelle Z est un groupement $-\text{CN}$.

Dans certains des composés de formule (I), un ou plusieurs des groupements R_1 , R_2 et R_4 sont des groupements alkyle primaire en C_1-C_3 . Dans ce cas, on utilise, dans la séquence de préparation, l'acide aminé N-substitué approprié. On peut préparer l'un quelconque des acides aminés N-monosubstitués par la même séquence que celle qui est décrite ci-dessous en utilisant un acide aminé N-protégé comme substance de départ:



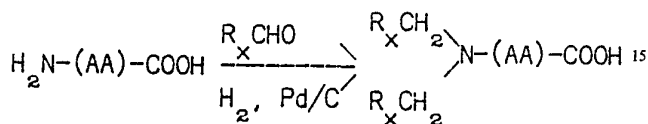
Comme le schéma précédent l'indique, on traite d'abord l'acide aminé N α -protégé par l'hydruide de potassium en présence d'un éther en couronne approprié pour former le dianion. Puis on traite l'intermédiaire par l'iodure d'alkyle approprié pour obtenir l'acide aminé N-substitué désiré.

L'homme de l'art verra que la racémisation sur l'atome de carbone α peut se produire dans des conditions fortement alcalines comme celles utilisées dans le mode opératoire d'alkylation précédent. Le degré de racémisation peut varier selon l'acide aminé particulier qui est utilisé. On peut minimiser la racémisation en utilisant

un excès d'agent d'alkylation et en maintenant la durée de réaction aussi courte que possible. Néanmoins, même au cas où une racémisation excessive se produit, on peut purifier le produit par recristallisation sous la forme du sel d'une amine asymétrique appropriée, par exemple sous la forme du sel de la d(+) - α - phényléthylamine.

L'acide aminé résultant, dans lequel R_4 est un groupement alkyle primaire en C_1 - C_3 , peut être transformé en son amide, alcool ou nitrile correspondant par l'une quelconque des techniques décrites précédemment.

Dans le cas où R_1 et R_2 sont tous deux le même groupement alkyle primaire, on peut préparer la tyrosine N,N-disubstituée désirée par la réaction suivante:



Dans ce qui précède, R_xCHO représente le formaldéhyde, l'acétaldéhyde, le propionaldéhyde.

Dans le cas où R_1 et R_2 sont des groupements alkyle primaire différents, on obtient la tyrosine N,N-disubstituée en traitant la tyrosine N-monosubstituée appropriée, préparée selon le schéma précédent, par le formaldéhyde ou l'acétaldéhyde comme décrit ci-avant.

Dans certains des composés de formule (I), le groupement R_3 est un groupement alkyle primaire en C_1 - C_3 . Dans ce cas, on utilise dans la séquence de préparation l'acide aminé substitué sur le carbone α de façon appropriée ou son dérivé ester, amide, alcool ou nitrile correspondant. La phénylalanine substituée sur l'atome de carbone α particulière peut être préparée en utilisant le procédé décrit par Stein *et al.*, «Journal of the American Chemical Society», vol. 77, 700-703 (1955). Le dédoublement du mélange racémique est effectué selon Turk *et al.*, «J. Org. Chem.», vol. 40, No 7, 953-955 (1975). La phénylalanine α -substituée résultante peut être transformée en amide, alcool ou nitrile correspondant selon le procédé décrit précédemment. Cela peut être effectué avant ou après son utilisation dans la préparation du tétrapeptide; cependant, on préfère nettement que cela soit effectué avant la préparation du tétrapeptide.

On prépare les composés de formule (I) dans laquelle Y est un groupement acétyle à partir du peptide correspondant, dans lequel Y est un atome d'hydrogène, et le groupement amino terminal est bloqué de façon appropriée. On traite ce dernier composé par l'anhydride acétique en présence de pyridine pour obtenir le O-acétyl-peptide N-bloqué correspondant. Par déblocage avec un mélange d'acide chlorhydrique et d'acide acétique, on obtient le composé désiré.

Les composés de formule (I) sont des agents pharmaceutiques intéressants. Ils présentent une activité analgésique et sont particulièrement utiles par administration parentérale aux mammifères, y compris l'homme.

Les composés de formule (I) peuvent être administrés tels quels ou bien ils peuvent être transformés en préparations pharmaceutiques sous forme d'unité posologique pour l'administration parentérale. Dans la préparation, on peut utiliser les solides et/ou les liquides organiques ou minéraux qui sont des supports pharmaceutiquement acceptables. De tels supports appropriés sont bien connus de l'homme de l'art. Les compositions peuvent prendre la forme de comprimés, de poudres, de granulés, de capsules, de suspensions, de solutions, etc.

Les composés de formule (I), quand on les administre en une quantité efficace, produiront un effet analgésique. Les doses peuvent aller de manière générale d'environ 0,1 à environ 100 mg par kilo de poids corporel. La dose préférée est généralement comprise entre environ 1,0 et environ 20 mg par kilo de poids corporel.

Les exemples suivants sont donnés pour illustrer la préparation et l'activité des composés de formule (I). Ils ne doivent pas être considérés comme limitant le domaine de l'invention.

Exemple 1:

Préparation de l'acétate du L-tyrosyl-D-alanylglycyl-Na-méthyl-L-phénylalaninamide.

5 A. p-Toluènesulfonate du D-alinate de benzyle

A un mélange de 100 ml d'alcool benzylique et de 200 ml de benzène contenant 55,1 g (0,29 mol) d'acide p-toluènesulfonique monohydraté, on ajoute 25 g (0,281 mol) de D-alanine. On porte le mélange à reflux et on enlève de l'eau de façon azeotrope dans un piège Dean-Stark. On chauffe le mélange pendant 15 h, puis on le refroidit à la température ambiante et on le dilue avec de l'éther. On recueille le précipité résultant et on le recristallise dans un mélange de méthanol et d'éther, et l'on obtient 55,3 g (56%) du composé cité en titre, p.f. 112-115°.

Analyse pour $C_{17}H_{21}NO_5S$ (351,42):

Calculé: C 58,10 H 6,02 N 3,99%

Trouvé: C 58,19 H 6,06 N 3,82%

20 B. Na-t-butyloxycarbonyl-O-benzyl-L-tyrosyl-D-alinate de benzyle.

A 200 ml de N,N-diméthylformamide sec (DMF), on ajoute 35,1 g (0,1 mol) du produit de la partie A. On agite et on refroidit à 0°C le mélange résultant et on ajoute 11,2 g (0,1 mol) de diazabicyclo-octane (DABCO). On agite le mélange pendant 10 min à 0°C, puis on ajoute 37,1 g (0,1 mol) de Na-t-butyloxycarbonyl-O-benzyl-L-tyrosine, puis 13,5 g (0,1 mol) de 1-hydroxybenzotriazole (HBT) et 20,6 g (0,1 mol) de N,N'-dicyclohexylcarbodiimide (DCC). On agite le mélange à 0°C pendant 3 h, puis à la température ambiante pendant 24 h. Puis on refroidit le mélange à 0°C, on filtre la suspension résultante et on concentre le filtrat sous vide. On redissout ensuite le résidu résultant dans de l'acétate d'éthyle et on le lave successivement avec $NaHCO_3$ 1N, de l'eau, de l'acide citrique froid 0,75N, et de l'eau. Puis on sèche la couche organique sur sulfate de magnésium, on filtre et on concentre sous vide. On dissout alors le résidu résultant dans de l'éthanol chaud. La cristallisation se fait au cours du refroidissement. Après une recristallisation dans l'éthanol, on obtient 41,5 g (80%) du composé cité en titre pur, p.f. 121-123°C.

Analyse pour $C_{30}H_{36}N_2O_6$ (520,63):

Calculé: C 69,21 H 6,97 N 5,38%

Trouvé: C 68,99 H 6,75 N 5,17%

40 C. Na-t-butyloxycarbonyl-O-benzyl-L-tyrosyl-D-alanine

A un mélange de 200 ml de tétrahydrofurane (THF) et de 20 ml d'eau, on ajoute 31,2 g (0,06 mol) du produit de la partie B. On refroidit à 0°C la solution résultante et on ajoute lentement 13,2 ml (1,1 Eq) d'hydroxyde de sodium 5N. On agite le mélange résultant et on le laisse lentement se réchauffer jusqu'à la température ambiante. Après 5 h, on répartit le mélange entre de l'eau et de l'éther. On sépare et on refroidit la couche aqueuse, on ajuste le pH à 2 par addition d'acide citrique et on extrait le mélange avec de l'acétate d'éthyle. On lave l'extrait d'acétate d'éthyle avec de l'eau, on le sèche sur sulfate de magnésium, on le filtre et on le dilue avec de l'éther. On recueille le précipité résultant et l'on obtient 17,7 g (67%) du composé cité en titre, p.f. 160-162°C.

Analyse pour $C_{24}H_{30}N_2O_6$ (442,51):

Calculé: C 65,14 H 6,83 N 6,63%

Trouvé: C 64,73 H 6,70 N 6,20%

60 D. Na-t-butyloxycarbonyl-O-benzyl-L-tyrosyl-D-alanylglycinate de benzyle.

A 70 ml de DMF sec on ajoute 6,74 g (0,02 mol) du sel de l'acide p-toluènesulfonique du glycinate de benzyle. On refroidit le mélange résultant à 0°C et on ajoute 2,24 g (0,020 mol) de DABCO. On agite le mélange pendant quelques minutes, puis on ajoute 8,84 g (0,020 mol) du produit de la partie C, puis 2,7 g (0,020 mol) de HBT et 4,12 g (0,020 mol) de DCC. On agite le mélange réactionnel pen-

dant 2 h à 0°C, puis pendant 24 h à la température ambiante. On refroidit la suspension résultante à 0°C, on la filtre et on concentre le filtrat sous vide. On dissout le résidu résultant dans de l'acétate d'éthyle et on le lave successivement avec du bicarbonate de sodium 1N, de l'eau, de l'acide citrique 0,75N froid et de l'eau. On sèche la phase organique sur sulfate de magnésium, on la filtre et on la concentre sous vide. On cristallise le résidu résultant dans l'éthanol, ce qui donne 10,8 g (92%) du composé cité en titre pur, p.f. 145-147°C.

Analyse pour $C_{33}H_{39}N_3O_7$ (589,69):

Calculé: C 67,22 H 6,67 N 7,13%

Trouvé: C 67,32 H 6,83 N 6,91%

E. Na-t-butyloxycarbonyl-O-benzyl-L-tyrosyl-D-alanylglycine.

A 150 ml d'un mélange 9:1 de tétrahydrofurane et d'eau, on ajoute 15,95 g (27 mmol) du produit de la partie D. On refroidit le mélange à 0°C en agitant et on ajoute goutte à goutte au mélange résultant 30 ml d'hydroxyde de sodium 1N. On agite le mélange pendant 2 h une fois terminée l'addition goutte à goutte, puis on l'extrait deux fois avec de l'éther. On acidifie à pH 2,5 la couche aqueuse séparée, par addition de 30 ml d'acide chlorhydrique 1N. Le composé cité en titre cristallise, on le recueille par filtration et on le recristallise une fois dans un mélange de méthanol et d'eau et deux fois dans l'acétate d'éthyle, ce qui donne 11,43 g (85% du rendement théorique), p.f. 104-107°C, $[\alpha]_D^{25} = +31,4^\circ$ (C=0,5, MeOH).

Analyse pour $C_{26}H_{33}N_3O_7$ (499,54):

Calculé: C 62,51 H 6,66 N 8,41%

Trouvé: C 62,31 H 6,83 N 8,12%

F. Sel de d(+) - α -méthylbenzylamine de la Na-t-butyloxycarbonyl-Na-méthyl-L-phénylalanine.

A 75 ml de tétrahydrofurane on ajoute 13,26 g (0,05 mol) de Na-t-butyloxycarbonyl-L-phénylalanine. On ajoute le mélange résultant goutte à goutte en 30 min à une suspension agitée de façon mécanique de 0,15 mol d'hydrure de potassium et de 0,5 g d'éther (6)-couronne (18) à 0°C sous atmosphère d'azote. On agite le mélange pendant 1 h supplémentaire à 0°C. On ajoute goutte à goutte en 15 min une solution de 6,23 ml (0,1 mol) d'iodure de méthyle dans 15 ml de tétrahydrofurane. On maintient le mélange pendant 2 h, puis on ajoute goutte à goutte un mélange de 10 ml d'acide acétique et de 10 ml de tétrahydrofurane, puis 20 ml d'éthanol. On verse alors le mélange sur 400 ml de glace. On amène à 12-13 le pH de la phase aqueuse résultante, par addition d'hydroxyde de sodium 2N. On extrait le mélange aqueux deux fois avec l'éther, puis on l'acidifie jusqu'à pH 3,0 par addition d'acide citrique solide. Puis on extrait le mélange aqueux trois fois avec 200 ml d'éther. On réunit les extraits étherés, on les extrait avec de l'eau, on les sèche sur sulfate de magnésium et on les évapore sous vide jusqu'à un sirop. On dissout le sirop dans 50 ml d'éther et l'on ajoute 6,44 ml (0,05 mol) de d(+) - α -méthylbenzylamine. On dilue la solution résultante avec 350 ml d'hexane et on gratte les parois du récipient. On recueille le produit par filtration, ce qui donne 15,83 g (79% du rendement théorique) du composé cité en titre. Une recristallisation dans l'acétate d'éthyle donne 13,70 g (68% du rendement théorique) du composé cité en titre, p.f. 136-139°C. $[\alpha]_D^{25} = -28,2^\circ$ (C=1, EtOH).

Analyse pour $C_{23}H_{32}N_2O_4$ (400,50):

Calculé: C 68,97 H 8,05 N 6,99%

Trouvé: C 68,75 H 7,81 N 6,74%

G. Na-t-butyloxycarbonyl-Na-méthyl-L-phénylalaninamide.

On dissout dans 20 ml de N,N-diméthylformamide (DMF) 4,0 g de Na-t-butyloxycarbonyl-Na-méthyl-L-phénylalanine (0,01 mol, préparé par acidification du sel de d(+) - α -méthylbenzylamine et extraction dans l'éther). On refroidit le mélange à -15°C et on ajoute 1,56 ml (0,012 mol) de chloroformiate d'isobutyle, puis 1,32 ml

(0,012 mol) de N-méthylmorpholine. On agite le mélange réactionnel pendant 10 min à -15°C et on fait barboter de l'ammoniac anhydre dans le mélange réactionnel pendant 1 1/2 h. On agite le mélange résultant pendant 1 h à -15°C, puis on verse le mélange dans un récipient contenant 200 ml de glace. On extrait la solution aqueuse avec de l'acétate d'éthyle. On sépare la couche organique et on la lave successivement avec de l'acide citrique 1,5N, de l'eau, du bicarbonate de sodium 1N et de l'eau. Puis on sèche la solution d'acétate d'éthyle sur sulfate de magnésium et on l'évapore sous vide jusqu'à un sirop que l'on cristallise dans un mélange d'éther et d'éther de pétrole, ce qui donne 2,12 g (76% du rendement théorique) du composé cité en titre, p.f. 91-92°C. $[\alpha]_D^{25} = -111,2^\circ$ (C=0,5, $CHCl_3$).

Analyse pour $C_{15}H_{22}N_2O_3$ (278,33):

Calculé: C 64,73 H 7,97 N 10,06%

Trouvé: C 64,95 H 7,81 N 9,79%

H. Na-t-butyloxycarbonyl-O-benzyl-L-tyrosyl-D-alanylglycyl-Na-méthyl-L-phénylalaninamide.

A 20 ml d'acide acétique glacial fraîchement préparé contenant du chlorure d'hydrogène anhydre 1N et 2 ml d'anisole, on ajoute 1,95 g (0,007 mol) de Na-t-butyloxycarbonyl-Na-méthyl-L-phénylalaninamide. On agite le mélange résultant à la température ambiante pendant 30 min. Puis on verse le mélange dans de l'éther et on recueille et on sèche le précipité résultant (1,5 g). Puis on dissout le chlorhydrate dans 30 ml de DMF. On refroidit la solution à 0°C et l'on ajoute 1,4 ml (0,007 mol) de dicyclohexylamine. On agite le mélange pendant quelques minutes, puis on ajoute 3,5 g (0,007 mol) de Na-t-butyloxycarbonyl-O-benzyl-L-tyrosyl-D-alanylglycine, 950 mg (0,007 mol) de HBT et 1,4 g (0,007 mol) de DCC. Puis on agite le mélange réactionnel à 0°C pendant 2 h, puis à 4°C pendant 24 h. On refroidit le mélange à 0°C et on le filtre. On concentre le filtrat sous vide jusqu'à une huile que l'on redissout dans de l'acétate d'éthyle. On extrait la solution d'acétate d'éthyle successivement avec du bicarbonate de sodium 1N, de l'eau, de l'acide citrique 0,75N froid et de l'eau. On sèche la phase organique sur sulfate de magnésium et on la concentre sous vide jusqu'à une huile. On chromatographie l'huile sur une colonne de 40 x 3 cm de gel de silice Grace and Davison qualité 62 dans du chloroforme. On élue le produit en utilisant un gradient par degrés allant du chloroforme à un mélange de 10% de méthanol dans du chloroforme. On isole le produit selon le profil en chromatographie sur couche mince des fractions recueillies et l'on obtient 3,55 g (77% du rendement théorique) du composé cité en titre. $[\alpha]_D^{25} = -9,2^\circ$ (C=0,5, MeOH).

Analyse pour $C_{36}H_{45}N_5O_7$ (659,8):

Calculé: C 65,54 H 6,57 N 10,61%

Trouvé: C 65,46 H 6,58 N 10,36%

I. Na-t-butyloxycarbonyl-L-tyrosyl-D-alanylglycyl-Na-méthyl-L-phénylalaninamide.

On dissout 3,2 g (0,0485 mol) du produit de la partie H dans 60 ml d'éthanol et on ajoute au mélange, sous la forme d'une suspension aqueuse, 1,5 g de 5% de palladium sur charbon. On fait barboter de l'azote dans le mélange réactionnel par un tube de dispersion de gaz pendant environ 5 min, puis on fait barboter de l'hydrogène gazeux pendant 6 h. Puis on purge le mélange réactionnel avec de l'azote et on enlève par filtration le catalyseur au palladium. On concentre le mélange sous vide jusqu'à un sirop. On dissout le sirop dans du chloroforme et on l'absorbe sur une colonne chromatographique de 40 x 3 cm contenant du gel de silice Grace and Davison qualité 62. On élue le produit en utilisant un gradient par degrés allant du chloroforme à 10% de méthanol dans le chloroforme et on l'isole selon le profil en chromatographie sur couche mince des fractions recueillies, et l'on obtient 2,0 g de produit (74% du rendement théorique). $[\alpha]_D^{25} = -9,9^\circ$ (C=0,5, MeOH).

Analyse des aminoacides, trouvé: Gly, 1,01; Ala, 0,99; Tyr, 0,99; NH_3 , 1,14.

J. Acétate du L-tyrosyl-D-alanylglycyl-Na-méthyl-L-phénylalanilamide.

On dissout 1,6 g (0,00281 mol) du produit de la partie I dans 10 ml d'acide trifluoroacétique contenant 0,5 ml d'anisole. On agite le mélange à 0°C pendant 30 min. Puis on verse le mélange dans de l'éther et l'on recueille et on sèche le précipité résultant (1,1 g). On dissout le solide dans suffisamment d'une solution-tampon aqueuse (1% de pyridine et 0,05% d'acide acétique) pour obtenir 15 ml et l'on applique la solution sur une colonne de 2,5 × 99 cm de DEAE-Sephadex A-25 (acétate) qui a été équilibrée avec le même tampon. On contrôle l'éluat à 280 nm et l'on combine les fractions appropriées qu'on lyophilise. Une nouvelle lyophilisation dans de l'acide acétique à 10%, puis une autre dans un mélange 75/25 d'eau et d'acétonitrile, donnent 0,84 g du composé cité en titre. $[\alpha]_D^{25} = +27,8^\circ$ (C = 1, HCl 1N).

Analyse des aminoacides, trouvée: Tyr, 0,98; Ala, 1,03; Gly, 1,00; NH₃, 1,05.

Exemple 2:

Préparation de l'acétate du L-tyrosyl-D-alanylglycyl-L-α-méthylphénylalanilamide.

A. Tosylate de l'ester benzylique de la L-α-méthylphénylalanine.

A 100 ml de benzène on ajoute 3,0 g (0,0168 mol) de L-α-méthylphénylalanine. A la suspension résultante on ajoute alors 3,5 g (1,1 Eq) d'acide p-toluènesulfonique hydraté et 10 ml d'alcool benzylique. On chauffe le mélange à reflux en présence d'un piège à eau Dean-Stark pendant 4 d. Puis on refroidit le mélange à la température ambiante et on ajoute de l'éther pour faire précipiter le tosylate. On recueille le précipité résultant et on le sèche, ce qui donne 7,0 g (94%) du composé cité en titre, p.f. 129-131°C. $[\alpha]_D^{25} = -10,7^\circ$ (C = 0,5, MeOH 1N).

Analyse pour C₂₄H₂₇NO₃S (441,5):

Calculé: N 3,17%

Trouvé: N 2,87%

B. Ester benzylique de la Na-t-butyloxycarbonyl-O-benzyl-L-tyrosyl-D-alanylglycyl-L-α-méthylphénylalanine.

A 80 ml de DMF on ajoute 5,74 g (0,013 mol) du produit de la partie A. On refroidit le mélange résultant à 0°C pendant 5 min et on ajoute 6,5 g (13 mmol) de Na-t-butyloxycarbonyl-O-benzyl-L-tyrosyl-D-alanylglycine (préparée comme dans l'exemple 1), 1,8 g (13 mmol) de HBT et 2,7 g (13 mmol) de DCC. On agite le mélange à 0°C pendant 2 h, puis à la température ambiante pendant 24 h. Puis on refroidit le mélange à 0°C et l'on recueille par filtration le précipité résultant. On évapore le filtrat sous vide. On dissout le résidu résultant dans de l'acétate d'éthyle et on extrait la solution d'acétate d'éthyle successivement avec du bicarbonate de sodium 1N, de l'eau, de l'acide citrique 0,75N et de l'eau. Puis on sèche la phase organique sur sulfate de magnésium et on l'évapore sous vide jusqu'à une huile. On cristallise l'huile dans l'éther et on la recristallise dans un mélange d'acétate d'éthyle et d'éther, ce qui donne 7,0 g (72%) de composé cité en titre $[\alpha]_D^{25} = +7,9^\circ$ (C = 0,5, MeOH).

Analyse pour C₄₃H₅₀N₄O₈ (750,86):

Calculé: C 68,78 H 6,71 N 7,46%

Trouvé: C 68,75 H 6,46 N 7,21%

C. Sel de dicyclohexylamine de la Na-t-butyloxycarbonyl-L-tyrosyl-D-alanylglycyl-L-α-méthylphénylalanine.

A 50 ml d'éthanol on ajoute 4,0 g (0,0053 mol) du produit de la partie B. Puis on ajoute une suspension de 2,0 g de palladium sur charbon à 5% dans du DMF. On fait barboter l'azote dans le mélange par un tube de dispersion de gaz pendant 5 min, puis on fait barboter de l'hydrogène gazeux pendant 4 h. Puis on purge le mélange avec de l'azote et on enlève par filtration le catalyseur au palladium. On concentre le filtrat sous vide jusqu'à un sirop. On applique

le sirop dans du chloroforme à une colonne de 10 × 2 cm contenant du gel de silice Grace and Davison qualité 62. On élue la colonne avec un gradient par degrés allant du chloroforme à un mélange 9,5/0,5 de chloroforme et de méthanol. On réunit les fractions principales et on évapore le solvant. On dissout l'huile résultante dans de l'acétate d'éthyle et on ajoute 1 ml de dicyclohexylamine. On recueille le précipité résultant et on le sèche, ce qui donne 2,6 g (65%) du composé cité en titre, p.f. 142-146°C. $[\alpha]_D^{25} = +46,3^\circ$ (C = 0,5, MeOH).

D. Na-t-butyloxycarbonyl-L-tyrosyl-D-alanylglycyl-L-α-méthylphénylalanilamide.

On neutralise le produit de la partie C (2,0 g, 0,0027 mol) avec un mélange d'acétate d'éthyle et d'acide citrique 0,75N. On sépare la couche organique résultante, on l'extrait avec de l'eau, on la sèche sur sulfate de magnésium et on l'évapore sous vide jusqu'à une huile (1,5 g). On dissout l'acide libre résultant dans 30 ml de DMF et on refroidit la solution à 0°C dans un flacon sous pression. On ajoute 560 mg (0,0027 mol) de DCC et on agite le mélange pendant 4 h à 0°C, puis pendant 3 h à la température ambiante. Puis on refroidit le flacon à -78°C et l'on ajoute 30 ml d'ammoniac anhydre. On ferme à nouveau hermétiquement le flacon et on laisse le mélange sous agitation à la température ambiante pendant 48 h. On refroidit le mélange à -78°C, on ouvre le flacon et on laisse l'ammoniac s'évaporer à la température ambiante. Puis on évapore le solvant sous vide. On dissout le résidu résultant dans de l'acétate d'éthyle et on extrait d'abord la solution d'acétate d'éthyle avec de l'acide citrique 0,75N puis avec de l'eau. On sèche la solution sur sulfate de magnésium et on évapore le solvant sous vide. On dissout le résidu dans du chloroforme et on l'applique sur une colonne de 3 × 45 cm de gel de silice Grace and Davison qualité 62. On élue la colonne avec un gradient par degrés allant du chloroforme à un mélange 9/1 de chloroforme et de méthanol. On réunit les fractions sur la base du profil en CCM, et l'on obtient après évaporation du solvant 1,1 g (72%) du composé cité en titre. $[\alpha]_D^{25} = -26^\circ$ (C = 0,4, MeOH).

Analyse des aminoacides, trouvée: Gly, 0,99; Ala, 1,00; Tyr, 0,99; NH₃, 1,12.

E. Acétate du L-tyrosyl-D-alanylglycyl-L-α-méthylphénylalanilamide.

A 20 ml d'un mélange de gaz chlorhydrique 1N dans de l'acide acétique glacial et contenant 0,3 ml d'anisole, on ajoute 900 mg (0,0016 mol) du produit de la partie D. On agite le mélange à la température ambiante pendant 30 min, puis on le verse dans de l'éther. On recueille le précipité résultant et on le sèche (720 mg). On dissout le solide dans suffisamment de solution-tampon aqueuse (1% de pyridine et 0,05% d'acide acétique) pour obtenir un volume de 5 ml et on applique la solution sur une colonne de 2,5 × 99 cm de DEAE-Sephadex A-25 (acétate) qui a préalablement été équilibrée avec le même tampon. On contrôle l'éluat à 280 nm et l'on combine les fractions appropriées qu'on lyophilise. Une nouvelle lyophilisation dans de l'acide acétique à 10% puis une lyophilisation dans un mélange à 75/25 d'eau et d'acétonitrile donne 400 mg du composé cité en titre. $[\alpha]_D^{25} = +23,9^\circ$ (C = 0,5, HCl 1N).

Analyse pour C₂₆H₃₅N₃O₇ (529,60):

Calculé: C 58,97 H 6,66 N 13,22 O 21,15%

Trouvé: C 59,02 H 6,36 N 12,99 O 21,41%

Analyse des aminoacides, trouvée: Tyr, 0,96; Ala, 1,01; Gly, 1,00; NH₃, 1,03.

Exemple 3:

Préparation de l'acétate du L-tyrosyl-D-alanylglycyl-Na-n-propyl-L-phénylalanilamide.

A. Na-t-butyloxycarbonyl-Na-n-propyl-L-phénylalanine.

A 70 ml de tétrahydrofurane on ajoute 10,6 g (0,04 mol) de Na-t-butyloxycarbonyl-L-phénylalanine. On ajoute le mélange résultant goutte à goutte en 30 min à une suspension mécaniquement agitée de 0,12 mol d'hydrure de potassium dans 220 ml de tétrahydrofurane

et 0,5 g d'éther(6)-couronne(18) à 0°C sous atmosphère d'azote. On agite le mélange pendant 10 min supplémentaires à 0°C. On ajoute goutte à goutte en 20 min une solution de 23,3 ml (0,24 mol) de 1-iodopropane dans 40 ml de tétrahydrofurane. On maintient le mélange pendant 2 ½ h à 0°C, puis on ajoute goutte à goutte au mélange 11,5 ml supplémentaires (0,12 mol) de 1-iodopropane. On agite le mélange pendant 2 h supplémentaires à 0°C, on ajoute 10 ml d'acide acétique glacial et l'on agite le mélange pendant 10 min. Puis on verse le mélange sur de la glace pilée. Puis on élève à 8,0 le pH de la solution aqueuse résultante avec de l'hydroxyde de sodium 2N. On extrait le mélange aqueux deux fois avec de l'éther, puis on l'acidifie à pH 2,5 par addition de HCl 2N froid. Puis on extrait le mélange aqueux avec de l'acétate d'éthyle. On extrait l'acétate d'éthyle une fois avec de l'eau, on le sèche sur MgSO_4 et on l'évapore sous vide jusqu'à un sirop. On dissout le sirop dans 200 ml d'éther et on ajoute 8 ml (0,04 mol) de DCHA. On filtre le précipité et on extrait le filtrat une fois avec de l'acide citrique 1,5N et de l'eau. On sèche la couche étherée sur MgSO_4 et on l'évapore sous vide jusqu'à une huile. On chromatographie l'huile sur une colonne de 40 × 3 cm de gel de silice Grace and Davison qualité 62 dans du chloroforme. On élue le produit avec un gradient par degrés allant du chloroforme à un mélange de 5% de méthanol dans du chloroforme. On isole le produit selon le profil en chromatographie sur couche mince des fractions recueillies, et l'on obtient 3,6 g (31% du rendement théorique) du composé cité en titre. $[\alpha]_D^{25} = -153,3^\circ$ ($C = 1$, MeOH). RMN δ ($-\text{CO}_2\text{H}$) = 10,47; δ ($\text{Me}_3\text{C}-$) = 1,50.

Analyse pour $\text{C}_{17}\text{H}_{25}\text{NO}_4$ (307,4):

Calculé: C 66,43 H 8,20 N 4,56%

Trouvé: C 66,16 H 7,99 N 4,45%

B. Na-t-butyloxycarbonyl-Na-n-propyl-L-phénylalanilamide.

On dissout la Na-t-butyloxycarbonyl-Na-n-propyl-L-phénylalanine (préparée dans la partie A) dans le N,N-diméthylformamide (DMF). On refroidit le mélange à -15°C et on ajoute un équivalent de chloroformiate d'isobutyle, puis un équivalent de N-méthylmorpholine. On agite le mélange pendant 10 min à -15°C et l'on fait barboter de l'ammoniac anhydre dans le mélange pendant 30 min. On agite le mélange résultant pendant 1 h à -15°C , puis on verse le mélange dans un récipient contenant 200 ml de glace. On extrait la solution aqueuse avec de l'acétate d'éthyle. On sépare la couche organique et on la lave successivement avec de l'acide citrique 1,5N, de l'eau, du bicarbonate de sodium 1N et de l'eau. Puis on sèche la solution d'acétate d'éthyle sur MgSO_4 et on l'évapore sous vide pour obtenir le composé cité en titre.

C. Na-t-butyloxycarbonyl-L-tyrosyl-D-alanylglycyl-Na-n-propyl-L-phénylalanilamide.

A 20 ml d'acide acétique glacial fraîchement préparé contenant du chlorure d'hydrogène anhydre (1N) et 2 ml d'anisole on ajoute un équivalent de Na-t-butyloxycarbonyl-Na-n-propyl-L-phénylalanilamide. On agite le mélange résultant à la température ambiante pendant 30 min. Puis on verse le mélange dans de l'éther et on recueille et on sèche le précipité résultant. Puis on dissout le chlorhydrate dans 30 ml de DMF. On refroidit la solution à 0°C et on ajoute un équivalent de dicyclohexylamine. On agite le mélange pendant quelques minutes, puis on ajoute un équivalent de Na-t-butyloxycarbonyl-O-benzyl-L-tyrosyl-D-alanylglycine (préparée comme dans l'exemple 1E), un équivalent de HBT et un équivalent de DCC. Puis on agite le mélange réactionnel à 0°C pendant 2 h, puis à 4°C pendant 24 h. On refroidit le mélange à 0°C et on le filtre. On concentre le filtrat sous vide jusqu'à une huile que l'on redissout dans de l'acétate d'éthyle. On extrait la solution d'acétate d'éthyle successivement avec du bicarbonate de sodium 1N, de l'eau, de l'acide citrique 0,75N froid et de l'eau. On sèche la phase organique sur sulfate de magnésium et on la concentre sous vide jusqu'à une huile. On chromatographie l'huile sur une colonne de 40 × 3 cm de gel de silice Grace and Davison qualité 62 dans du chloroforme. On élue le produit en utilisant un gra-

dient par degrés allant du chloroforme à un mélange de 10% de méthanol dans du chloroforme. On isole le produit selon le profil en chromatographie sur couche mince des fractions recueillies et l'on obtient le Na-t-butyloxycarbonyl-O-benzyl-L-tyrosyl-D-alanylglycyl-Na-n-propyl-L-phénylalanilamide.

On dissout le produit du paragraphe précédent dans 60 ml d'éthanol et l'on ajoute au mélange 1,5 g de 5% de palladium sur charbon sous la forme d'une suspension aqueuse. On fait barboter de l'azote dans le mélange réactionnel par un tube de dispersion de gaz pendant environ 5 min, puis on fait barboter de l'hydrogène gazeux pendant 6 h. Puis on purge le mélange réactionnel avec de l'azote et on enlève par filtration le catalyseur au palladium. On concentre le mélange sous vide jusqu'à un sirop. On dissout le sirop dans du chloroforme et on l'adsorbe sur une colonne chromatographique de 40 × 3 cm contenant du gel de silice Grace and Davison de qualité 62. On élue le produit en utilisant un gradient par degrés allant du chloroforme à 10% de méthanol dans du chloroforme et on l'isole selon le profil en CCM des fractions recueillies et l'on obtient le composé cité en titre. $[\alpha]_D^{25} = -34,8^\circ$ ($C = 0,5$, MeOH).

Analyse pour $\text{C}_{31}\text{H}_{43}\text{N}_5\text{O}_7$ (597,7):

Calculé: C 62,29 H 7,25 N 11,72%

Trouvé: C 62,13 H 7,24 N 11,70%

D. Acétate du L-tyrosyl-D-alanylglycyl-Na-n-propyl-L-phénylalanilamide.

On dissout 800 mg (1,34 mmol) du produit de la partie C dans 10 ml d'acide trifluoroacétique contenant 0,5 ml d'anisole. On agite le mélange à 0°C pendant 30 min. On lyophilise le mélange réactionnel. On dissout le solide dans suffisamment d'une solution-tampon aqueuse (1% de pyridine et 0,05% d'acide acétique) pour faire 10 ml et on applique la solution sur une colonne de 2,5 × 99 cm de DEAE-Sephadex A-25 (acétate) que l'on a équilibrée avec le même tampon. On contrôle l'éluat à 280 nm et l'on combine les fractions appropriées qu'on lyophilise. Une nouvelle lyophilisation à partir d'acide acétique 1M donne 655 mg du composé cité en titre. $[\alpha]_D^{25} = -11,0^\circ$ ($C = 0,5$, HCl 1N).

Analyse pour $\text{C}_{28}\text{H}_{39}\text{N}_5\text{O}_7$ (557,6):

Calculé: C 60,31 H 7,05 N 12,56%

Trouvé: C 60,23 H 6,98 N 12,49%

Analyse des aminoacides, trouvée: Tyr, 0,99; Ala, 1,00; Gly, 1,01; NH_3 , 0,96.

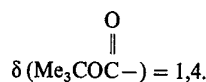
Exemple 4:

Préparation de l'acétate du L-tyrosyl-D-alanylglycyl-Na-éthyl-L-phénylalanilamide.

A. Na-butyloxycarbonyl-Na-éthyl-L-phénylalanine.

A 70 ml de tétrahydrofurane on ajoute 10,6 g (0,04 mol) de Na-butyloxycarbonyl-L-phénylalanine. On ajoute le mélange résultant goutte à goutte en 30 min à une suspension agitée mécaniquement de 0,12 mol d'hydrure de potassium dans 220 ml de tétrahydrofurane et 0,5 g d'éther(6)-couronne(18) à 0°C sous atmosphère d'azote. On agite le mélange pendant 10 min supplémentaires à 0°C. On ajoute goutte à goutte en 20 min une solution de 19,4 ml (0,24 mol) d'iodure d'éthyle dans 40 ml de tétrahydrofurane. On maintient le mélange pendant 4 h à 0°C. On ajoute au mélange en deux portions égales 19,4 ml (0,24 mol) supplémentaires d'iodure d'éthyle. On agite le mélange pendant 2 h supplémentaires à 0°C, puis on ajoute 10 ml d'acide acétique glacial. Après avoir agité le mélange pendant 10 min, on le verse sur 400 ml de glace pilée. On élève à 8,0 le pH de la phase aqueuse résultante par addition d'hydroxyde de sodium 2N. On extrait le mélange aqueux deux fois avec de l'éther, puis on l'acidifie à pH 2,5 par addition d'acide chlorhydrique 2N froid. Puis on extrait le mélange aqueux avec de l'acétate d'éthyle. On lave l'extrait avec de l'eau, on le sèche sur MgSO_4 et on l'évapore sous vide jusqu'à un sirop. On dissout le sirop dans 200 ml d'éther et l'on ajoute

8 ml (0,04 mol) de DCHA. On filtre le précipité et on extrait le filtrat avec de l'acide citrique 1,5N et de l'eau. On sèche la couche étherée sur MgSO_4 et on l'évapore sous vide, ce qui donne 4,6 g (39% du rendement théorique) du composé cité en titre. RMN δ (phényle) = 7,2;



B. Na-t-butyloxycarbonyl-Na-éthyl-L-phénylalanylamide.

On dissout 4,3 g (0,0146 mol, préparé dans la partie A) de Na-t-butyloxycarbonyl-Na-éthyl-L-phénylalanine dans 60 ml de N,N-diméthylformamide. On refroidit le mélange à 0°C et on ajoute 3,0 g (0,0146 mol) de N,N'-dicyclohexylcarbodiimide. On agite le mélange réactionnel pendant 2 h à 0°C, puis pendant 72 h à la température ambiante. Puis on refroidit le mélange à 0°C et on le filtre. On concentre le filtrat sous vide jusqu'à une huile que l'on redissout dans de l'acétate d'éthyle. On extrait la solution avec du bicarbonate de sodium 1N, de l'eau, de l'acide citrique 1,5N froid et de l'eau. On sèche la phase organique sur MgSO_4 et on la concentre, ce qui donne 3,93 g (91% du rendement théorique) du composé cité en titre. $[\alpha]_D^{25} = -101,51^\circ$ (C = 1, MeOH).

Analyse pour $\text{C}_{16}\text{H}_{24}\text{N}_2\text{O}_3$ (292,4):

Calculé: C 65,73 H 8,27 N 9,58%

Trouvé: C 66,03 H 8,13 N 9,85%

C. Chlorhydrate du Na-éthyl-L-phénylalanylamide.

On dissout 3,5 g (11,95 mmol, préparé dans la partie B) de Na-t-butyloxycarbonyl-Na-éthyl-L-phénylalanylamide dans 40 ml d'acide acétique glacial fraîchement préparé contenant du chlorure d'hydrogène anhydre (1N) et 1,5 ml d'anisole, et 1,5 ml de $(\text{C}_2\text{H}_5)_3\text{SiH}$. On agite le mélange résultant à la température ambiante pendant 30 min. Puis on verse le mélange dans de l'éther et on recueille le précipité résultant que l'on sèche, ce qui donne 2,6 g (96% du rendement théorique) du composé cité en titre, p.f. 276-277°C.

Analyse pour $\text{C}_{11}\text{H}_{16}\text{N}_2\text{OCl}$ (227,7):

Calculé: C 58,02 H 7,08 N 12,30%

Trouvé: C 57,97 H 7,26 N 12,54%

D. Na-t-butyloxycarbonyl-L-tyrosyl-D-alanylglycyl-Na-éthyl-L-phénylalanylamide.

A 50 ml de DMF, on ajoute 1,14 g (0,005 mol) du chlorhydrate de Na-éthyl-L-phénylalanylamide (préparé dans la partie C). On refroidit le mélange à 0°C, puis on ajoute 2,95 g (0,005 mol) du sel de DCHA de Na-t-butyloxycarbonyl-L-tyrosyl-D-alanylglycine. On agite le mélange à 0°C pendant 5 min, puis on ajoute 675 mg (0,005 mol) de HBT et 1,03 g (0,005 mol) de DCC. On agite le mélange réactionnel à 0°C pendant 6,5 h, puis à la température ambiante pendant 20 h. On refroidit le mélange à 0°C et on le filtre. On concentre le filtrat sous vide jusqu'à une huile que l'on redissout dans de l'acétate d'éthyle, on l'extrait avec du bicarbonate de sodium 1N, de l'eau, de l'acide citrique 1,5N froid et de l'eau. On sèche la phase organique sur MgSO_4 et on la concentre sous vide jusqu'à une huile. On chromatographie l'huile sur une colonne de 40 x 3 cm de gel de silice Grace and Davison qualité 62 dans du chloroforme. On élue le produit en utilisant un gradient par degrés allant du chloroforme à un mélange de 15% de méthanol dans du chloroforme. On isole le produit selon le profil en CCM des fractions recueillies et l'on obtient

1,13 g (39% du rendement théorique) du composé cité en titre. $[\alpha]_D^{25} = -21,0^\circ$ (C = 0,5, MeOH).

Analyse pour $\text{C}_{30}\text{H}_{41}\text{N}_5\text{O}_7$ (583,7):

Calculé: C 61,73 H 7,08 N 12,00%

Trouvé: C 60,35 H 7,26 N 11,25%

E. Acétate de L-tyrosyl-D-alanylglycyl-Na-éthyl-L-phénylalanylamide.

On dissout le produit de la partie D (1 g; 1,71 mmol) dans 1 ml d'acide trifluoroacétique contenant 3 ml d'anisole et 3 ml de $(\text{C}_2\text{H}_5)_3\text{SiH}$. On agite le mélange à 0°C pendant 30 min. Puis on verse le mélange dans de l'éther et on recueille le précipité résultant que l'on sèche (660 mg). On dissout le solide dans suffisamment d'une solution-tampon aqueuse (1% de pyridine et 0,05% d'acide acétique) pour faire 10 ml et on applique la solution sur une colonne de 2,5 x 90 cm de DEAE-Sephadex A-25 (acétate) que l'on a équilibrée avec le même tampon. On contrôle l'éluate à 280 nm et l'on réunit les fractions appropriées qu'on lyophilise. On dissout le solide dans 10 ml d'acide acétique 0,2M et on chromatographie la solution sur une colonne de 2,5 x 99 cm de Sephadex G-10 que l'on a équilibrée avec le même solvant. On contrôle l'éluate à 280 nm et l'on combine les fractions appropriées qu'on lyophilise pour obtenir 448 mg (48% du rendement théorique) du composé cité en titre. $[\alpha]_D^{25} = -10,6^\circ$ (C = 0,5, HCl 1N).

Analyse pour $\text{C}_{27}\text{H}_{37}\text{N}_5\text{O}_7$ (543,6):

Calculé: C 59,65 H 6,86 N 12,88%

Trouvé: C 59,41 H 7,26 N 13,18%

Analyse des aminoacides, trouvée: Tyr, 1,03; Ala, 0,99; Gly, 0,97; NH_3 , 0,98.

Les composés de formule (I) sont utiles en tant qu'analgésiques. L'activité analgésique des composés de formule (I) est démontrée par l'essai de plaque chauffante sur la souris. Dans cet essai, on place une souris à l'intérieur d'un cylindre vertical en matière acrylique comprenant, comme base, une plaque chauffante qui est maintenue à 52°C. Dans cet essai, on administre à la souris par injection sous-cutanée une quantité prédéterminée du composé d'essai dissous ou en suspension dans un support approprié. On laisse s'écouler une période prédéterminée après l'administration du composé d'essai, puis on place la souris sur la plaque chauffante. On enregistre les temps de latence en secondes avant l'apparition de deux phénomènes distincts. On enregistre d'abord le temps de latence avant que la souris ne soulève ses pattes arrière et ensuite le temps de latence avant que la souris ne saute de la plaque chaude. Un agent qui présente une activité analgésique produit une augmentation de ces deux temps de latence par rapport à des souris témoins qui reçoivent des injections seulement du support. Cela doit se produire dans un intervalle de doses qui ne produit pas d'incoordination motrice ou d'impossibilité physiologique. Les tableaux suivants donnent les résultats obtenus dans cet essai, en les comparant avec un témoin de solution saline. Le tableau I donne le temps de latence jusqu'au soulèvement des pattes arrière et le tableau II donne le temps de latence jusqu'au saut que fait la souris pour tenter d'échapper à la plaque chauffante. Les critères pour un effet analgésique affirmatif sont les suivants: le temps de latence pour le soulèvement de la patte arrière ou le saut pour un animal traité doit être égal ou supérieur au temps de latence témoin moyen plus deux écarts types de la moyenne. Chaque résultat fourni dans les tableaux I et II représentent la valeur moyenne plus ou moins l'erreur type.

Tableau I
Activité analgésique
Temps de latence jusqu'au soulèvement des pattes arrière (s)

Composé ^b	Temps écoulé (min)	Dose (mg/kg) ^a					
		Témoin	0,3	1	3	10	30
A	15	26,6 ± 1,7	—	—	33,2 ± 2,2 ³	114,4 ± 24,4 ²	—
	15	31,4 ± 3,1	—	33,3 ± 2,2	48,1 ± 7,6 ³	—	—
	15	33,4 ± 2,2	—	—	—	101,7 ± 15,9 ¹	—
	30	32,0 ± 2,7	—	—	—	71,2 ± 7,1 ¹	—
	60	28,2 ± 0,9	—	—	—	46,2 ± 6,3 ²	—
	90	28,2 ± 0,9	—	—	—	32,0 ± 3,5	—
	15	26,9 ± 3,1	29,4 ± 2,7	—	—	—	—
	15	25,0 ± 1,9	34,0 ± 1,5 ¹	—	—	—	—
	120	28,0 ± 1,7	—	—	—	30,2 ± 2,9	—
	120	28,0 ± 1,7	—	—	—	30,2 ± 2,9	—
B	15	29,2 ± 1,7	—	—	35,7 ± 2,3 ³	63,4 ± 12,6 ³	—
	15	31,4 ± 1,7	—	34,8 ± 2,5	40,5 ± 2,7 ²	—	—
	30	29,8 ± 6,9	—	—	—	59,4 ± 10,0 ³	—
	60	29,8 ± 6,9	—	—	—	43,4 ± 6,1	—
	15	25,0 ± 1,9	31,9 ± 1,9 ³	—	—	—	—
	60	30,0 ± 2,6	—	—	—	37,0 ± 3,8	—
	90	30,0 ± 2,6	—	—	—	30,1 ± 3,9	—
	120	23,7 ± 1,4	—	—	—	29,6 ± 3,6	—
	120	28,0 ± 1,7	—	—	—	25,8 ± 1,6	—
	120	28,0 ± 1,7	—	—	—	25,8 ± 1,6	—
C	15	26,4 ± 1,8	32,9 ± 2,3 ³	32,4 ± 2,4 ³	—	—	—
	15	26,1 ± 1,7	—	—	35,2 ± 2,7 ²	58,1 ± 5,1 ¹	—
D	15	30,2 ± 2,7	32,0 ± 2,7	42,2 ± 3,9 ³	—	—	—
	15	25,7 ± 1,1	—	—	54,2 ± 7,2 ¹	240,0 ± 0 ¹	—

Tableau II
Activité analgésique
Temps de latence jusqu'au saut (s)

Composé ^b	Temps écoulé (min)	Dose (mg/kg) ^a					
		Témoin	0,3	1	3	10	30
A	15	48,4 ± 4,7	—	—	133,1 ± 14,8 ¹	222,2 ± 9,1 ¹	—
	15	62,1 ± 9,1	—	126,5 ± 5,7 ¹	140,4 ± 19,0 ¹	—	—
	15	80,2 ± 7,4	—	—	—	237,3 ± 2,7 ¹	—
	30	60,2 ± 6,1	—	—	—	189,2 ± 12,8 ¹	—
	60	80,5 ± 8,8	—	—	—	105,0 ± 14,2	—
	90	80,5 ± 8,8	—	—	—	110,2 ± 9,8 ³	—
	15	73,7 ± 6,9	126,2 ± 14,7 ²	—	—	—	—
	15	63,7 ± 9,1	107,0 ± 8,1 ¹	—	—	—	—
	120	69,8 ± 4,2	—	—	—	104,7 ± 7,0 ¹	—
	120	69,8 ± 4,2	—	—	—	104,7 ± 7,0 ¹	—
B	15	43,8 ± 5,5	—	—	152,4 ± 17,5 ¹	226,2 ± 7,7 ¹	—
	15	62,9 ± 10,3	—	112,2 ± 21,2 ³	144,3 ± 13,2 ¹	—	—
	30	73,8 ± 14,6	—	—	—	218,3 ± 16,4 ¹	—
	60	73,8 ± 14,6	—	—	—	89,4 ± 16,7	—
	15	63,7 ± 9,1	130,7 ± 15,8 ¹	—	—	—	—
	60	59,2 ± 5,8	—	—	—	84,3 ± 13,2 ³	—
	90	59,2 ± 5,8	—	—	—	89,4 ± 7,5 ²	—
	120	79,4 ± 5,7	—	—	—	104,1 ± 5,8 ²	—
	120	69,8 ± 4,2	—	—	—	126,4 ± 11,7 ¹	—
	120	69,8 ± 4,2	—	—	—	126,4 ± 11,7 ¹	—

Tableau II (suite)

Composé ^b	Temps écoulé (min)	Dose (mg/kg) ^a					
		Témoin	0,3	1	3	10	30
C	15	62,7 ± 7,5	118,9 ± 15,5 ²	120,6 ± 14,2 ¹	—	—	—
	15	75,6 ± 5,7	—	—	155,0 ± 17,9 ¹	237,6 ± 2,4 ¹	—
D	15	63,8 ± 7,7	121,2 ± 15,7 ²	185,1 ± 15,0 ¹	—	—	—
	15	79,1 ± 7,7	—	—	218,4 ± 16,2 ¹	240,0 ± 0 ¹	—

^a Les numéros 1, 2 et 3 apparaissant en indices supérieurs indiquent que le résultat est significatif respectivement à $P < 0,001$, $P < 0,01$ et $P < 0,05$.

^b Les lettres représentent les composés suivants:

A Acétate du L-tyrosyl-D-alanylglycyl-N α -méthyl-L-phénylalanylamide.

B Acétate du L-tyrosyl-D-alanylglycyl-L- α -méthylphénylalanylamide.

C Acétate du L-tyrosyl-D-alanylglycyl-N α -n-propyl-L-phénylalanylamide.

D Acétate du L-tyrosyl-D-alanylglycyl-N α -éthyl-L-phénylalanylamide.