

(19) HU

MAGYAR  
NÉPKÖZTÁRSASÁG



ORSZÁGOS  
TALÁLMÁNYI  
HIVATAL

# SZABADALMI LEÍRÁS

(11)

(13)

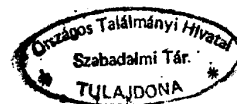
**193569 B**

(22) A bejelentés napja: 84.05.25. (21) 2048/84  
(33) GB:  
(32) 83.05.26.  
(31) 83 14646

(51) Int.Cl.<sub>4</sub>  
C 07 K 5/08  
C 07 K 5/10  
A 61 K 37/02

(41) (42) A közzététel napja: 1985.04.29.

(45) Megjelent: 1989.08.28.



(72) Feltalálók:  
HARDY George William, Biggin Hill, LOWE  
Lawrence Alfred, Swanley, SMITH Terence  
William, Orpington, GB

(73) Szabadalmaz:  
The Wellcome Foundation Ltd., London, GB

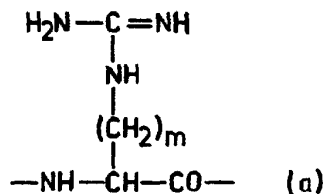
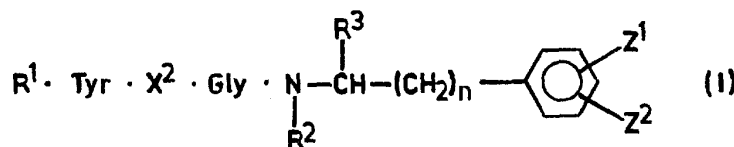
## (54) ELJÁRÁS ÚJ TRI- ÉS TETRAPEPTIDEK ÉS ILYENEKET TARTAL- MAZÓ GYÓGYSZERKÉSZÍTMÉNYEK ELOÁLLÍTÁSÁRA

### (57) KIVONAT

A találmány tárgya eljárás új (I) általános képletű új peptidek — a képletben  
 $R^1$  jelentése hidrogénatom, 1-2 szénatomos alkilcsoport vagy amidinocsoport,  
 $R^2$  jelentése 1-2 szénatomos alkilcsoport,  
 $R^3$  jelentése hidrogénatom vagy karbamilcsoport,  
 $X^2$  jelentése (a) általános képletű D-konfigurációjú csoport,  
 $Z^1$  és  $Z^2$  jelentése azonosan vagy különbözően hidrogénatom, halogénatom, nitro- vagy

trifluor-metil-csoport, és legalább az egyik hidrogénatomtól eltérő,  
 $m$  jelentése 3 vagy 4 és  
 $n$  jelentése 0, 1 vagy 2,  
feltéve, ha  $R^3$  jelentése karbamilcsoport,  
 $n$  jelentése mindig 1 —  
és farmakológiailag elfogadható savaddíciós sóik előállítására.

A találmány szerinti eljárással előállított új vegyületek perifériálisan ható fájdalomcsillapító szerek, továbbá alkalmasak még hasmenés, dizentéria és köhögés kezelésére is.



A találmány tárgya eljárás az ember- és állatgyógyászatban egyaránt hasznos gyógyhatású új peptidok, valamint ilyeneket tartalmazó gyógyszerkészítmények előállítására.

A találmány szerinti eljárás közelebről az (I) általános képletű vegyületek, valamint savaddíciós sóik előállítására vonatkozik, amelyek az ember- és állatgyógyászatban egyaránt, értékes fájdalomcsillapító hatásuk alapján hasznosíthatók.

Az (I) általános képletben

R<sup>1</sup> jelentése hidrogénatom, 1-2 szénatomos alkil- vagy amidinocsoport,

R<sup>2</sup> jelentése 1-2 szénatomos alkilcsoport, R<sup>3</sup> jelentése hidrogénatom vagy karbamilcsoport,

X<sup>2</sup> jelentése (a) általános képletű D-konfigurációjú csoport, amelyben m jelentése 3 vagy 4,

Z<sup>1</sup> és Z<sup>2</sup> jelentése lehet azonos vagy különböző, és mindegyik lehet hidrogénatom, halogénatom, nitro- vagy trifluor-metilcsoport és legalább az egyik jelentése hidrogénatomtól eltérő, és

n jelentése 0, 1 vagy 2, feltéve, hogy ha R<sup>3</sup> jelentése karbamilcsoport, n jelentése mindig 1.

X<sup>2</sup> előnyös jelentései a következő D-csoportok: arginil (m=3) és homoarginil (m=4).

Z<sup>1</sup> és Z<sup>2</sup> halogéncsoportok előnyös jelentései fluor-, klór-, bróm- vagy jódatom.

A hatásos mértékű fájdalomcsillapítás régóta tárgya a legkülönbözőbb kutatásoknak, amelyek során nagyszámú fájdalomcsillapító szert vizsgáltak meg ember- és állatgyógyászati felhasználásra. Ezekről a szerekről megállapították, hogy hatásukat két különböző mechanizmus szerint — amelyek közül vagy mindkettő, vagy csak az egyik hat — fejtik ki. Az egyik ilyen mechanizmus szerint a gyógyszerek úgynevezett központi fájdalomcsillapító hatásúak, és hatásukat a központi idegrendszer receptorainak tulajdonítják (agy és gerincvelő), míg a perifériális fájdalomcsillapítók más mechanizmus szerint ható szerek és működésüket e rendszeren kívüli területeken fejtik ki.

A központi közvetítéssel ható szerek közé tartoznak például a morfin, a heroin és más opiod jellegű vegyületek (lásd például Goodman és Gilman, „The Pharmacological Basis of Therapeutics“, 6. kiadás (1980), Macmillan Publishing Co., 22. fejezet 494—534). Ezek a vegyületek igen hatásosak erős és makacs fájdalmak esetében, így például rákos megbetegedések, műtétek utáni fájdalmak vagy szülési fájdalmak esetében. Ismeretes továbbá, hogy ezen szerek ismételt adagolása esetében

fizikai függőség, gyógyszermegszokás, valamint a megvonással kapcsolatos jelenségek léphetnek fel (lásd például a fentiekben idézett könyv 23. fejezete, 535—584). A kutatók során kimutatták, hogy ezek a jelenségek, valamint a további káros mellékhatások, mint például a légzési nehézségek, összefüggnek a központi idegrendszerrel és kapcsolatban vannak a gyógyszerek erősségével.

10 A találmány szerinti eljárással előállított vegyületek perifériális típusú fájdalomcsillapítók, és így nem opiod jellegűek.

Hughes és munkatársai 1975-ben beszámoltak (Nature, 1975, 225, 577—579) szerkezetileg hasonló pentapeptidről, amelyek erős opiat agonista hatásúak, és amelyek neve metionin-enkefalin és leucin-enkefalin. Ezeknek, valamint számos analógjuknak tulajdonságát megvizsgálva, megállapították, hogy

20 farmakológiai tulajdonságaik igen hasonlóak az opiodok tulajdonságaikhoz. Különösen kimutatható volt, hogy fájdalomcsillapító hatásmechanizmusuk alapján a fizikai függőség és a megszokás jelensége esetükben is

25 fentáll (Wei, J. Pharmacolog. Exp. Ther., 216, 12—18, 1981), továbbá a kereszt-megszokás opiodokkal (Waterfield et. al., Nature, 1976, 260, 624—625), valamint légzési nehézséget is okoznak [Isom és mtársai, Pharmacol. 21/3, 198 (1979)].

Ezzel ellentétben a találmány szerinti eljárással előállított (I) általános képletű peptidok csak perifériális fájdalomcsillapító hatásúak. A vegyületek központi fájdalomcsillapító hatással nem rendelkeznek, légzési nehézséget nem okoznak, és csak igen kis mértékű a veszélye a fizikai függőségnek és megszokásnak. Ezeket az előnyöket, valamint specifikus hatásukat annak tulajdonítjuk, hogy a vegyületek egyáltalán nem kereszteződnek vér-liquorgáttal [blood/brain barrier].

Az (I) általános képletű vegyületek alcsoportjai közül megemlítjük azokat a vegyületeket, amelyekben

45 i) R<sup>1</sup> jelentése amidinocsoport,

ii) R<sup>2</sup> jelentése etilcsoport,

iii) R<sup>3</sup> jelentése hidrogénatom,

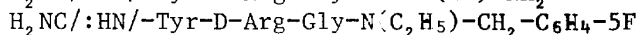
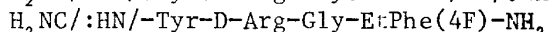
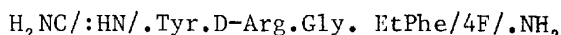
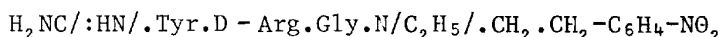
iv) X<sup>2</sup> jelentése D-arginil-csoport,

50 v) Z<sup>1</sup> és Z<sup>2</sup> jelentései közül az egyik hidrogénatom, a másik nitrocsoport vagy fluoratom, előnyösen a 4-es helyzetben,

vi) n jelentése 1.

55 Az (I) általános képletű vegyületek további előnyös alcsoportját képezik azok a vegyületek, amelyekben R<sup>1</sup> jelentése amidino- és R<sup>3</sup> jelentése karbamilcsoport.

60 A találmány szerinti eljárással előállított (I) általános képletű vegyületek közül előnyösek például a következő vegyületek:



A találmány leírása során alkalmazott rövidítések azonosak a szakterületen általánosan alkalmazott rövidítésekkel [például Biochem. J. (1972) 126, 773—780]. Az eddigi, valamint a további hivatkozásokban a királis aminosavak konfigurációja, hacsak másként nem jelöljük, L-konfiguráció.

A találmány szerinti eljárással előállított (I) általános képletű peptidok savaddíciós sóinak biológiai aktivitása a peptid-résznek tulajdonítható, így a sók előállításához alkalmazott savak fajtajának lényegében nincs különösebb jelentősége, bár a farmakológiailag elfogadható savakat előnyben részesítjük. Ilyen savak például a következők: sósav, foszforsav, metafoszforsav, salétromsav, kénsav, borkósav, ecetsav, citromsav, maleinsav, tejsav, fumársav, benzoosav, glikolsav, gulonsav, borostyánkősav és arilszulfonsavak, mint például p-toluolszulfonsavak. A farmakológiailag elfogadható, valamint egyéb savakkal alkotott sók a peptidok elválasztásánál és tisztításánál is alkalmazhatók, és természetesen a farmakológiailag nem elfogadható sók ismert eljárásokkal farmakológiailag elfogadható sókká alakíthatók át.

A találmány szerinti eljárással előállított (I) általános képletű peptidok fájdalomcsillapító hatását és különösen szelektív perifériális hatásukat a következő vizsgálatokkal bizonyítottuk.

(1) Mind a meleg-lemezes (hotplate) vizsgálat [Woolfe és MacDonald, J. Pharmacol. Exp. Ther., 80, 300, (1944)], valamint az irritálószer-kiváltotta rángatózás vizsgálat [Vander Wende és Margolin, Fed. Proc., 15, 494 (1956)] ismert eljárások a szakterületen a fájdalomcsillapító hatás vizsgálatára. Mint-hogy ez utóbbi vizsgálatnál a fájdalomcsillapítás kiinduló helye vagy centrális vagy perifériális, várható, hogy a meleg-lemezes vizsgálatnál az csak centrális lehet. A találmány szerinti eljárással előállított peptidok fenti eljárásokkal való vizsgálata során azt tapasztaltuk, hogy azok sokkal hatásosabbak a rángatózási vizsgálat során, mint a meleg-lemezes vizsgálatnál parenterális (azaz perifériális) adagolás esetén, azaz adott hatás eléréséhez a vizsgálatok során alacsonyabb dózis elegendő volt, jelezve a perifériás jellegű hatásmechanizmust.

(2) A találmány szerinti eljárással előállított peptidok által kiváltott fájdalomcsillapító hatás kialakulása mind a meleg-lemezes, mind a rángatózási vizsgálat esetében parenterális adagolást alkalmazva azt mutatja, hogy e vegyületek igen lassan és igen kis mértékben hatolnak be a vér-liquorgátba.

(3) A találmány szerinti eljárással előállított peptidok a rángatózási vizsgálatok során perifériális (parenterális) adagolás esetén antagonistá hatást mutatnak perifériáson (parenterálisan) adagolt kvaterner opioid N-allil-normorfin metiodiddal [N-metil-nalorfin, Koczka és munkatársai, Acta Chim. Acad,

Sci. Hung., 51, 393 (1967)], azaz a peptidekből azonos hatás eléréséhez nagyobb mennyiség szükséges opioidok jelenlétében, mint nélkülük. Mivel a kvaterner vegyület vér-liquorgátba való behatolása minimális [Tavani és munkatársai, European J. Pharmacol. 59, 151—154, (1979)], mind a peptid kiváltotta fájdalomcsillapító hatás, mind az antagonistá hatás a perifériás szinteken megy végbe.

A találmány szerinti eljárással előállított peptidekről a fentiekben túlmenően megállapítottuk, hogy még hasmenéscsökkentő és köhögéscsillapító hatással is rendelkeznek, melyeket ismert farmakológiai eljárásokkal vizsgáltunk.

Az (I) általános képletű új vegyületek és savaddíciós sóik előállítását hasonló szerkezetű vegyületek irodalomból ismert előállítási eljárásaihoz hasonló eljárásokkal állítjuk elő. Ilyen eljárásokat ismertetnek például a következő irodalmi helyeken:

- a) Schroder és Luebke, „**The Peptides**“ (Academic Press, 1965),
- b) Stewart és Young, „**Solid Phase Peptide Synthesis**“ (W H Freeman és Co., 1969),
- c) Belleau és Malek, **J. Am. Chem. Soc.** 90: 165, 1968,
- d) Beyerman, **Helv. Chim. Acta** 56: 1729, 1973,
- e) Tilak, **Tetrahedron Letters** 849 (1970),
- f) „**Methoden der Organischen Chemie**“ (Houben-Weyl), Vol. 15, „**Synthese von Peptiden**“, i. és 2. rész (Georg Thieme Verlag, 1974),
- g) „**The Peptides: Analysis, Synthesis, Biology**“, Gross, E. és Meienhofer, J. eds., 1—4. kötet (Academic Press, 1979),
- h) „**Peptides: Syntheses, Physical Data**“, Voelter, W. és Schmid-Siegmann, E., 1—6. kötet (Georg Thieme Verlag, 1983),
- i) Atherton, E. et al., **Bioorganic Chem.** 8, 351—370 (1979).
- j) Sheppard, R. C., **Chemistry in Britain**, 402—414 (1983),
- k) Atherton, E. et al., **J.C.S. Chem. Comm.**, 1151—1152 (1981).

(1) Az (I) általános képletű vegyületek előállítására egyik út, ha a megfelelő aminosavakat kapcsoljuk a kívánt sorrendben valamely ismert peptid szintézis vagy szilárd fázisú reakció egyikével, vagy pedig először előállítjuk, majd azután kapcsoljuk az egyes al-egységeket. A reakciókat úgy vihetjük végbe, hogy például aktiváljuk a kapcsolandó aminosavak karboxilcsoportját és védjük a nem reagáló amino-, illetve karboxilcsoportokat. Ezen reakciók részletes leírása, a megfelelő védőcsoportok, az alkalmas reakciókörülmények ismertetése (mind a kapcsolási, mind a védőcsoportok eltávolítására vonatkozó reakciókra vonatkozóan), megadva minimális racemizálódás feltételeit, megtalálhatók a fentiekben idézett irodalmi helyeken.

A fentiek szerint az (I) általános képletű vegyületeket előállíthatjuk, ha (II) általános képletű vegyületeket — a képletben R<sup>1</sup> jelenté-

se megegyezik az (I) általános képletnél megadottakkal, a  $Y^1$  jelentése egy olyan fragmens (gyök), amelynek szekvenciája azonos az (I) általános képletű vegyület megfelelő N-terminális fragmensének szekvenciájával — (III) általános képletű vegyülettel — a képletben  $Y^2$  jelentése azonos a fentiekben ismertetett peptid fentmaradó részével és magába foglalja annak megfelelő C-terminális fragmens (gyök) szekvenciáját — reagáltatunk: és a (II) és (III) általános képletű vegyületek adott esetben védettek és/vagy aktiváltak lehetnek, végül kívánt esetben a védőcsoportokat eltávolítjuk.

(2) Egy másik eljárás szerint az (I) általános képletű vegyületeket úgy állítjuk elő, hogy (IV/1) általános képletű C-terminális peptid karbonsavat — a képletben  $R^1$  és  $X^2$  jelentése azonos az (I) általános képletű megadottakkal és Q jelentése hidroxilcsoport — (VI) általános képletű aminnal — a képletben  $R^2$ ,  $Z^1$ ,  $Z^2$  és n jelentése azonos az (I) általános képletű megadottakkal — reagáltatunk, vagy

(IV/1) általános képletű C-terminális peptid karbonsavat — a képletben  $R^1$  és  $X^2$  jelentése a fenti és Q jelentése (IV/2) képletű csoport — a képletben  $R^2$ ,  $Z^1$ ,  $Z^2$  jelentése a fenti — amidálunk.

Azokat a peptideket állíthatjuk elő például ezzel a módszerrel, amelyekben  $R^3$  jelentése karbamilcsoport, és úgy járunk el, hogy például (IV) általános képletű vegyületeket — a képletben  $R^1$ ,  $R^2$ ,  $X^2$ ,  $Z^1$  és  $Z^2$  jelentése azonos az (I) általános képletű megadottakkal és  $OR^4$  jelentése alkalmas, cserélhető csoport, például alkoxi-, aralkoxi- vagy ariloxics csoport, így például 1-4 szénatomos alkoxics csoport, például metoxi-, etoxi-, propoxi-, butoxi-, benzil-oxi- vagy a peptidkémiaiából ismert más hasonló csoport — reagáltatunk ammóniával.

Azokat a vegyületeket, amelyekben  $R^3$  jelentése hidrogénatom, előállíthatjuk még, ha például (V) általános képletű peptid karbonsavat vagy annak reakcióképes származékát és (VI) általános képletű amin reagáltatunk. Az (V) és (VI) általános képletűekben  $R^1$ ,  $R^2$ ,  $X^2$ ,  $Z^1$ ,  $Z^2$  és n jelentései azonosak az (I) általános képletű megadottakkal. A reakciót kívánt esetben az 1.) pontnál leírt reakció szerint, azokkal a reagensekkel és eljárásokkal (beleértve az (V) általános képletű vegyület N-végcsoportjainak védését), a megfelelő peptid-kapcsolási eljárással is elvégezhetjük.

(3) A peptideket előállíthatjuk például a megfelelő peptid — amelyben  $X^2$  jelentése (b) képletű D-csoport, amelyben m jelentése azonos az (I) általános képletű megadottakkal és  $R^5$  jelentése hidrogénatom vagy amidinocsoport, feltéve, hogy  $R^1$  és  $R^5$  valamelyike hidrogénatom — amidinálásával, például 1-amidino-3,5-dimetil-pirazol vagy kémiai megfelelőjének alkalmazásával (pl. Means, G. és Feemy, R. Chemical Modification

4

of Proteins, 5. fej. 93—95; Holden Day Inc., 1971)

A D-arginil és D-homoarginil peptideket a megfelelő D-ornitil és D-lizil vegyületekből állíthatjuk elő, míg a D-(2-amino-4-guanidino-butiril) peptideket a megfelelő D-(2,4-diamino-butiril) vegyületekből nyerjük.

Belátható, ha a megfelelő peptidreagensben  $R^1$  és  $R^5$  is hidrogénatom és az előállítani kívánt vegyületben  $R^1$ -et végcsoportként hidrogénatomként kívánjuk megtartani, az amidálási lépés alatt a peptid N-végcsoportját védeni kell. Az ilyen reakciók részletezése, a megfelelő védőcsoportok ismertetése, az amidálási reakció utáni eltávolításuk lehetőségei az előzőekben ismertetett irodalmi helyeken részletezve vannak.

A (IV) általános képletű észtereket, az (V) általános képletű karbonsavakat, valamint a megfelelő D-ornitilt, D-lizilt és D-(2,4-diaminobutiril)-t az 1) pontnál leírtakhoz hasonló, ismert eljárásokkal állíthatjuk elő.

A találmány szerinti eljárással előállított (I) általános képletű vegyületek izolálását a szabad peptid vagy sója formájában egyaránt elvégezhetjük, és belátható, hogy a szabad peptidet sóvá, vagy a só ismét a szabad vegyületté alakíthatjuk a területen ismert eljárások szerint.

A találmány szerinti eljárással előállított (I) általános képletű új vegyületeket és farmakológiailag elfogadható savaddíciós sókat az ember- és állatgyógyászatban egyaránt alkalmazhatjuk hasmenés és dizentéria kezelésére, köhögés- és fájdalomcsillapítóként. Ez utóbbi területről megemlíthetjük például a 'agy-szöveti sérüléseknél, műtétek után, szülésnél és szülés után, menstruációs zavaroknál fellépő, neuralgia, myalgia, artritis és reumatikus, valamint csontváz-izomzattal összefüggő fájdalmak csökkentését.

A találmány szerinti vegyületeket adagolhatjuk orálisan, parenterálisan (szubkután, intradermálisan, intramuskulárisan, intravérásan), rektálisan, helyileg (dermálisan, bukkálisan, szublingválisan). Az adagolás mértéke igen sok tényezőtől függ, így például a kezelendő betegről, a betegség komolyságától, az adagolás módjától, és végső soron a kezelő orvos döntésére van bízva, bár bizonyos esetekben embereknél ön-adagolás is megengedhető.

Emberek esetében a hatásos dózis általában 0,5 és 50 g, előnyösen 1 és 25 mg, még előnyösebben 2 és 12,5 mg közötti érték, leggyakrabban 5 mg (szabad peptidre számolva). Az adagolás kívánt esetben egész napon át történhet, például háromszor vagy négy alkalommal ismételve.

Állatgyógyászatban emlős állatok kezelésénél, például macskák, kutyák, marhák, birkák, sertések és lovak esetében, a fenti mennyiségek az állatorvos döntésétől függően csökkenthetők vagy növelhetők.

Bár a találmány szerinti vegyületek önmagukban is adagolhatók, előnyös, ha gyógy-

szerkészítményekké alakítjuk őket. A találmány szerinti készítmény előállításának eljárásánál hatóanyagként (I) általános képletű új peptidet vagy farmakológiailag elfogadható savaddíciós sóját egy vagy több gyógyszerészeti célra alkalmas hordozóanyaggal és adott esetben más adalékanyaggal keverünk el és adagolásra alkalmas készítménnyé alakítjuk.

A készítmények lehetnek például orális, parenterális (szubkután, intradermális, intramuszkuláris, intravénás), rektális és helyi (dermális, bukkális, szublingvális) adagolásra alkalmas készítmények. A legalkalmasabb adagolási módot a kezelendő beteg és állapota határozza meg általában. A készítményeket általában egység-dózisok formájában állítjuk elő, oly módon hogy a hatóanyagot [(I) általános képletű vegyület vagy sója] a kívánt hordozóval és a szükséges egyéb adalékanyaggal jól elkeverjük, majd a kívánt formájú készítménnyé alakítjuk.

A találmány szerinti eljárással előállíthatunk például orális adagolásra alkalmas készítményeket, így például kapszulákat, osztyaburkolatú készítményeket vagy tablettákat, amelyek mindegyike meghatározott mennyiségű hatóanyagot tartalmaz, továbbá porokat vagy granulátumokat, vizes vagy nem vizes oldatokat vagy szuszpenziókat, olaj-a-vízben vagy víz-az-olajban típusú emulziókat. A hatóanyagot bolus, elektuárium vagy pasztakészítményekbe is foglalhatjuk.

A tablettákat előállíthatjuk sajtolással vagy öntéssel, adott esetben egy vagy több további adalék jelenlétében. Sajtolott tabletták esetében a sajtolást alkalmas gép segítségével végezzük a por vagy granulátum formájú anyagból, amely adott esetben kötő-, kenő-, inert hígító-, felületaktív- vagy diszpergálóanyagokat is tartalmaz. Öntési eljárásnál a poralakú anyagot alkalmas inert folyadékkal nedvesítjük. A tabletták adott esetben bevontos vagy bemetszett tabletták is lehetnek és készíthetők úgy is, hogy a hatóanyag bomlása lassú vagy szabályozott legyen.

A parenterális adagolású készítmények lehetnek például vizes vagy nem vizes steril injekció oldatok, amelyek tartalmazhatnak még anitoxidánsokat, puffereket, bakteriosztatokat és olyan anyagokat, amelyek a készítményt a vérrel izotóniássá teszik; vizes vagy nem vizes szuszpenziók, amelyek még tartalmazhatnak szuszpendáló vagy sűrítő anyagokat. A készítményeket kiszerezhetjük egység-dózisok vagy több dózist tartalmazó készítmények formájában, így például zárt ampullák vagy fiolák formájában vagy fagyaszttva szárított (liofilizált) formában, amelyeket közvetlenül a felhasználás előtt hígítunk steril folyadékkal, például injekció céljára alkalmas vízzel. Azonnal alkalmazható injekció készítményeket előállíthatunk az előzőekben leírt por-, granulátum- vagy tablettakészítményekből is.

Rektális adagolású készítményeket általában kúpok formájában állítjuk elő, és hordozó-

anyagként leginkább kakao-vajat, polietilén-glikolt vagy szilárd zsírokat alkalmazunk.

A helyileg alkalmazható készítmények közé tartoznak például a bukkális vagy szublingvális készítmények, például szopogatható tabletták, amelyek az aktív hatóanyagot ízanyagokkal, így például cukorral, akác- vagy fagant-mézzel elkeverve tartalmazzák, vagy pasztillák, amelyek a hatóanyagot zselatin, glicerin, cukor vagy akác-mézzel hordozóban tartalmazzák.

A készítmények egység-dózisának előnyös formái azok, amelyek egy adagban az előzőekben leírt mennyiségű hatóanyagot vagy annak megfelelő részét tartalmazzák.

Helyi alkalmazású készítmények közé tartoznak például a vizes vagy nem vizes formában kiszerezett dermális készítmények, például kenőcsök, lemosók, paszták, zselék, sprayk, aeroszólók vagy fürdőolajok. A kenőcsök lehetnek olajos, abszorpciós, vízben oldható vagy emulzió típusúak, és hordozóanyaguk lehet például vazelin, lanolin, polietilén-glikol vagy ezek keveréke. Ezek a készítmények különösen alkalmasak lokalizált helyi fájdalmak kezelésére, így például artritis vagy reumatikus fájdalmak esetében, és előnyösen naponta egyszer vagy többször használhatók a kívánt területen. Általában 0,05–2%, előnyösen 0,1–1,0%, még előnyösebben 0,2–0,5% hatóanyagot tartalmaznak.

A találmány szerinti eljárással előállított készítmények bármilyen más, az adott típusú készítményekhez egyébként alkalmazható ismert más adalékanyagot is tartalmazhatnak, így például az orális adagolású készítmények különböző ízjavító anyagokat.

Az előzőek alapján összefoglalva, a találmány a következőket foglalja magában:

- (I) általános képletű új peptid vegyületek és eljárás az (I) általános képletű vegyületek előállítására, valamint
- az új (I) általános képletű vegyületeket vagy farmakológiailag elfogadható savaddíciós sókat és gyógyszerészetileg elfogadható hordozóanyagot tartalmazó gyógyszerkészítmények és eljárás előállításukra.

A (II) – (VI) általános képletű vegyületek újjak.

A következő példákban a találmányt mutatjuk be közelebbről, anélkül, hogy azokra korlátoznánk azt. A hőmérsékletet mindenhol Celsius fokban adtuk meg.

#### Kísérleti rész

Alkalmazott rövidítések:  
DMF dimetil-formamid  
THF tetrahydrofuran  
DCCI diciklohexil-karbodiimid  
HOBT 1-hidroxi-benzo-triazol  
NMM N-metil-morfolin  
DCHA diciklohexil-amin  
DCU diciklohexil-karbamid  
Tlc. (Merck szilikagél lemez) a következő oldószer-rendszerekkel:

- SI n-butanol/ecetsav/víz 3:1:1 térfogatarányban  
 SII metil-etil-keton  
 SIII kloroform/metanol/ 32%-os vizes ecetsav 120:90:5 térfogatarányban  
 SIV kloroform/metanol 8:1 térfogatarányban  
 SV kloroform/metanol/0,880 ammónia 120:90:5 térfogatarányban  
 SVI kloroform/metanol/ 32%-os vizes ecetsav 120:90:40 térfogatarányban  
 SVII kloroform/metanol/0,880 ammónia 120:90:40 térfogatarányban  
 Hplc.  
 oszlop: Zorbax C-8, 4,6 mm belső  $\varnothing$  x 25 cm  
 mozgó fázis: acetonitril/0,1 mólos ammónium-acetát, pH 4,0  
 folyási sebesség: 2 ml/perc  
 detektálás: 254 nm

Az ismert intermediert, a védett BOC-Tyr-D-Arg.HCl dipeptidet az (1) vázlatnak megfelelően szintetizáltuk.

(A) **BOC-Tyr-D-Arg-OMe**

1,184 g BOC-Tyr<sup>1</sup>-t 20 ml THF-ban oldunk és hozzáadunk 5 ml THF-ban oldott 0,426 g NMM-t, majd a keveréket -25°C-ra hűtjük, hozzáadunk 5 ml THF-ban oldott 0,549 g klór-hangyasav-izobutil-észtert, és a reakciót -150°C-on 5 percig végezzük. Ezután hozzáadunk 1,0 g D-Arg-OMe.2HCl-at (Helv.Chim. Acta, 41, (1968), 1867) és 0,387 g NMM-et 20 ml DMF-ben és 2 ml vízben oldva, és a kapott keveréket -15°C-on 2,5 órán át keverjük. Ezután hozzáadunk 4,6 ml 2 mólos kálium-hidrogén-karbonát-oldatot, és a keverést 0°C-on további 30 percig folytatjuk, majd az oldószert vákuumban eltávolítjuk, és a maradékot etil-acetát és víz között megosztjuk. A szerves fázist elválasztjuk, vízzel kétszer mossuk, a vizes fázisokat egyesítjük, a pH-t ecetsav adagolásával 7-re beállítjuk, az oldatot sóval telítjük, 5:1 arányú kloroform/butanol eleggyel extraháljuk, majd kétszer kloroformmal mossuk. A szerves fázisokat egyesítjük, kétszer telített sóoldattal mossuk, vízmentes magnézium-szulfáton szárítjuk és vákuumban betöményítjük. A maradékot vízmentes éterben elkeverjük, a kitermelés 1,28 g (78%).

(B) **BOC-Tyr-D-Arg.HCl**

1,28 g védett dipeptidet 40 ml metanolban és 10 ml vízben oldunk, hozzáadunk 5,7 ml 1 mólos NaOH-ot, és a kapott keveréket szobahőmérsékleten 3,5 órán át keverjük. Ezután az oldatot 5,7 ml 1 mólos sósav adagolásával semlegesítjük, az oldószert vákuumban eltávolítjuk, és a visszamaradó vizes oldatot fagyasztással szárítjuk.

A nyers terméket tartalmazó oldatot Zorbax C-8 oszlopon sóalanítjuk, metanollal eluáljuk, az elválasztott dipeptidet vízben oldjuk, ekvivalens mennyiségű 1 mólos

sóssavval kezeljük és fagyasztva szárítjuk, a kitermelés 0,78 g (58%).  
 Elemanalízis a  $C_{20}H_{31}N_5O_6 \cdot HCl \cdot 2H_2O$  összegképletű vegyületre:

- 5 számított: C% 48,83; H% 6,91; N% 14,24;  
 mért: C% 49,06; H% 6,79; N% 13,73;  
 Tlc.: egy folt SI, SIII, SV-ben

**1. példa**

- 10 **H.Tyr.D-Arg.Gly.N(Et).CH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>-C<sub>6</sub>H<sub>4</sub>-4-NO<sub>2</sub>-diacetát előállítás**  
 (2 vázlat szerinti vegyület)

(A) **2-(4-nitro-fenil)-etil-etil-amin-hidrobromid**

- 15 1-bróm-2-(4-nitro-fenil)-etánt (Aldrich, 10 g, 50 mmól) egy éjszakán át szobahőmérsékleten keverünk etil-amin etanolos oldatával (33%, 25 ml, ~180 mmól), majd a kapott narancssárga oldatot bepároljuk, és a kristályos maradékot 10 ml etanolban felvesszük, a kapott anyagot szűrjük, és a szűrletet egy másik, azonos módon készült azonos termékkel egyesítjük.  
 20 Kitermelés 5 g (36%), o.p.: 211—213°C.

Elemanalízis a  $C_{10}H_{15}N_2O_2Br$  összegképletű vegyületre:

- 30 számított: C% 43,65; H% 5,50; N% 10,18;  
 Br% 29,04;  
 mért: C% 43,88; H% 5,73; N% 10,19;  
 Br% 28,82.

(B) **BOC-Gly-N-(Et).CH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>-C<sub>6</sub>H<sub>4</sub>-4-NO<sub>2</sub>**

- 35 3,89 g BOC-Gly-t (J.A.C.S., 79, (1957)6180) és 6,0 g HOBT-t 50 ml DMF-ben oldunk, lehűtjük -10°C-ra és hozzáadunk 4,58 g DCCL-1, a kapott reakciókeveréket -5°C-on 30 percig keverjük, majd 4,08 g 4-nitro-fenil-etil-amin-hidrokloridot és 1,5 g NMM-t adagolunk hozzá, és a keverést 5°C hőmérsékleten 72 órán át folytatjuk. A diciklohexil-karbamidot szűrővel eltávolítjuk, a szűrletet betöményítjük, a maradékot etil-acetátban felvesszük, háromszor 5%-os Na<sub>2</sub>CO<sub>3</sub> oldattal, egyszer vízzel, kétszer 5%-os citromsav oldattal és kétszer vízzel mossuk, magnézium-szulfáton szárítjuk és vákuumban betöményítjük. A kapott olajos maradékot éterben oldjuk, a még jelenlévő diciklohexil-karbamidtól szűrővel elválasztjuk, a szűrletet ismét betöményítjük, a kapott olajos anyag (4,76 g) benzinnel elkeverve nem szilárdul meg.

(C) **H.Gly-N(Et)-CH<sub>2</sub>-CH<sub>2</sub>-C<sub>6</sub>H<sub>4</sub>-4-NO<sub>2</sub>.HCl**

- 55 A 4,76 g védett amidot 35 ml jégecetben oldjuk és 45 perc alatt hozzáadunk 35 ml 2 mólos HCl/ecetsav oldatot szobahőmérsékleten. A kapott anyagot vákuumban betöményítjük és éterrel elkeverjük. Kitermelés 3,66 g (94%), o.p.: 191—194°C.

Elemanalízis a  $C_{12}H_{18}N_3O_3Cl$  összegképletű vegyületre

- 65 számított: C% 50,09; H% 6,26; N% 14,61;  
 mért: C% 49,85; H% 6,38; N% 14,56.

**(D) BOC-Tyr-D-Arg-Gly-N(Et)CH<sub>2</sub>-CH<sub>2</sub>-C<sub>6</sub>H<sub>4</sub>-4-NO<sub>2</sub> előállítás**

1,97 g BOC-Tyr-D-Arg-HCl-t 20 ml DMF-ben oldunk és hozzáadunk 1,13 g HOBT-t, majd az oldatot lehűtjük -10°C-ra és 0,86 g DCCL-t adagolunk hozzá. Ezután a reakciókeveréket -5°C hőmérsékleten tartjuk 30 percig, majd hozzáadjuk 1,2 g Gly-N(Et)-CH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>-C<sub>6</sub>H<sub>4</sub>-NO<sub>2</sub>-HCl-ot és 0,42 g NMM-t 5 ml DMF-ban oldva, majd a kapott keveréket 5°C-on 72 órán át keverjük. Ezután a diciklohexil-karbamidot szűréssel elválasztjuk, a szűrletet vákuumban betöményítjük, a maradékot 150 ml etil-acetát és 25 ml víz között megosztjuk, a szerves fázist ötször vízzel extraháljuk, a vizes fázisokat egyesítjük és háromszor 200-200 ml 5:1 arányú etil-acetát/n-butanol eleggyel kirázzuk. Az etil-acetát/n-butanol-os extraktumokat egyesítjük, háromszor 150 ml 5%-os Na<sub>2</sub>CO<sub>3</sub> oldattal, kétszer 100 ml 5%-os citromsav oldattal és kétszer 100 ml vízzel mossuk, vákuumban betöményítjük, majd vízből és kétszer etanolból szárazra pároljuk. A végző maradékot éterrel elkeverjük.

Tlc.: a fő folt reagál a Pauly reagenssel (tyrosin) és a Sakaguchi reagenssel (arginin).

**(E) H-Tyr-D-Arg-Gly-N(Et)CH<sub>2</sub>-CH<sub>2</sub>-C<sub>6</sub>H<sub>4</sub>-4-NO<sub>2</sub> diacetát előállítás**

1,9 g védett tripeptidet 15 ml jégcet és 7,5 ml anizol keverékében oldunk, majd szobahőmérsékleten 30 percig 22,5 ml 2 mólos HCl/ecetsav oldattal kezeljük, majd vákuumban betöményítjük, a maradékot éterrel elkeverjük, a kapott nyers terméket 20 ml vízbe oldjuk, majd vízzel és kétszer éterrel mossuk az anizol-maradék eltávolítására. A vizes fázist 5x50 cm-es karboxi-metil-cellulózzal töltött oszlopon kromatografáljuk, 5,1 pH-jú ammónium-acetáttal eluálva. A fő fázist C-18 szilikagéllal töltött oszlopon sőtalanítjuk, így nyerjük a kívánt terméket, amely Hplc-re és Tlc-re tiszta (SI, SVI, SVII). Elemanalízis a C<sub>27</sub>H<sub>38</sub>N<sub>8</sub>O<sub>6</sub>·2CH<sub>3</sub>CO<sub>2</sub>H·H<sub>2</sub>O összegképletű vegyületre:  
számított: C% 52,54; H% 6,78; N% 15,82;  
mért: C% 52,74; H% 7,06; N% 15,58;

$$\left. \begin{array}{l} [\alpha]_D^{26} + 32,1^\circ \\ [\alpha]_D^{26} + 37,9^\circ \end{array} \right\} (c=1, \text{ metanol})$$

**2. példa****N-amidino-Tyr-D-Arg-Gly-N(Et)-CH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>-C<sub>6</sub>H<sub>4</sub>-4-NO<sub>2</sub> diacetát előállítás**

708 mg H-Tyr-D-Arg-Gly-N(Et)-CH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>-C<sub>6</sub>H<sub>4</sub>-NO<sub>2</sub>-diacetátot 4 ml etanol és 1 ml DMF keverékében oldunk, majd hozzáadunk 246 mg 1-amidino-3,5-dimetil-pirazol-acetátot és 0,2 ml trietil-amint, és a kapott keveréket 55°C-on 7 órán át, és szobahőmérsékleten egy éjszakán át keverjük. Ezután a keverékből vákuumban az oldószert eltávolítjuk, a maradékot etil-acetáttal elkeverjük, és a ka-

pott nyers terméket karboxi-metil-cellulózzal töltött oszlopon kromatografáljuk, az eluálást lineáris gradiensű ammónium-acetáttal végezve (0,005 mól → 0,5 mól) 5,1 pH-n. A terméket tartalmazó frakciókat egyesítjük és háromszor fagyasztva szárítjuk az illékony puffer oldat eltávolítására.

A Tlc (SI, SVI, SVII) egy fő komponens jelez. A Hplc (30%-os acetonitril) egy fő csücsöt mutat.

Elemanalízis a

C<sub>28</sub>H<sub>40</sub>N<sub>10</sub>O<sub>6</sub>·2CH<sub>3</sub>CO<sub>2</sub>H·1,5H<sub>2</sub>O összegképletű vegyületre:

számított: C% 50,55; H% 6,72; N% 18,44;  
mért: C% 50,52; H% 6,72; N% 18,36;  
[α]<sub>D</sub><sup>25</sup> + 22,4°  
[α]<sub>546</sub><sup>25</sup> + 25,1° } (c=1, metanol)

**3. példa****H-Tyr-D-Arg-Gly-EtPhe(4NO<sub>2</sub>)-NH<sub>2</sub> diacetát előállítás (3 vázlat)****(A) BOC-Phe(4NO<sub>2</sub>)-NH<sub>2</sub> előállítás**

19,33 g BOC-Phe(4NO<sub>2</sub>)-at (J.Chem.Soc. Japan, 62, (1941), 31) DMF-ban oldunk, lehűtjük -15°C-ra és hozzáadunk 6,3 g NMM-t és 8,51 g klór-hangyasav-izobutl-észtert, majd a keveréket -15°C-on 5 percig keverjük. Ezután 1 órán át ammóniát buborékolatunk keresztül az oldaton és a -15°C-os hőmérsékletet még további egy órán át fenntartjuk. Ezután a maradék ammónia eltávolítására nitrogént buborékolatunk keresztül az oldaton, az oldószert vákuumban eltávolítjuk, és a visszamaradó szilárd anyagot etil-acetát és víz között megosztjuk. A szerves fázist 5%-os citromsav oldattal, vízzel, 5%-os nátrium-hidrogén-karbonát-oldattal, végül ismét vízzel mossuk, vízmentes magnézium-szulfáton szárítjuk, bepároljuk, és a maradékot etil-acetát/benzol elegyben elkeverjük. A kitermelés 16,94 g (88%).

Tisztítás Tlc-val (SI, SIII, SV).

Elemanalízis a

C<sub>14</sub>H<sub>19</sub>N<sub>3</sub>O<sub>5</sub> összegképletű vegyületre:

számított: C% 54,37; H% 6,15; N% 13,59;  
mért: C% 54,44; H% 6,12; N% 13,35.

**(B) H-Phe(4NO<sub>2</sub>)-NH<sub>2</sub>-HCl előállítás**

16,9 g BOC-Phe(4NO<sub>2</sub>)-NH<sub>2</sub>-ot 150 ml anizolban szuszpendálunk, majd 500 ml 1 mólos HCl/ecetsav eleggyel kezeljük 30 percig szobahőmérsékleten, majd 35°C-os vákuumban betöményítjük, és a maradékot éterben elkeverjük.

Kitermelés 13,6 g.

Tlc-re tiszta (SI, SIII, SV).

**(C) H-EtPhe(4NO<sub>2</sub>)-NH<sub>2</sub> előállítás**

13,6 g H-Phe(4NO<sub>2</sub>)-NH<sub>2</sub>-HCl-t 200 ml etanolban szuszpendálunk, majd 18,7 g nátrium-hidrogén-karbonát-tal kezeljük. A kapott szuszpenziót keverés közben vissza-

folytatás mellett melegítjük, hozzáadunk 4,45 ml etil-jodidot, és a visszafolytatást további 5 órán át folytatjuk, majd a reakciókeveréket lehűtjük és szűrjük. A szűrletet betöményítjük, és az olajos maradékot benzolal elkeverve megszilárdítjuk. Az így kapott anyagot szilikagélén kromatografáljuk 5% metanol/diklór-metán eleggyel eluálva. Kitermelés 2,75 g tisztított anyag.

(D) **BOC-Gly-EtPhe(4NO<sub>2</sub>)-NH<sub>2</sub> előállítása**

2,03 g BOC-Gly-t (J.A.C.S., 79, (1958) 6180) és 3,13 g HOBT-t 20 ml DMF-ban oldunk, és az oldatot lehűtjük -10°C-ra, hozzáadunk 2,39 DCCL-t, és a reakciókeveréket -10°C-on 30 percig hagyjuk állni, majd N-EtPhe(4NO<sub>2</sub>)-NH<sub>2</sub> DMF-os oldatát adagoljuk hozzá. A keveréket 5°C-on egy éjszakán át keverjük, majd még 2,03 g BOC-Gly-t és 2,39 g DCCL-t adagolunk, és a reakciókeveréket szobahőmérsékleten 48 órán át hagyjuk állni. Ezután a diciklohexán-karbamidot szűrővel elválasztjuk, a szűrletet vákuumban betöményítjük, az olajos maradékot etil-acetátban oldjuk, a diciklohexil-karbamidot ismét leszűrjük, szűrővel elválasztjuk, a szűrletet kétszer 5%-os nátrium-hidrogén-karbonát-oldattal és egyszer vízzel mosuk, szárítjuk, és az oldószert eltávolítjuk. Kitermelés 4,41 g (96%) amorf szilárd anyag. Tlc-vel (SI, SIII, SV) kevés diciklohexil-karbamid mutatható ki.

(E) **H-Gly-Et-Phe(4NO<sub>2</sub>)-NH<sub>2</sub>.HCl előállítás**

A 4,4 g védett dipeptidet 20 ml anizolban oldjuk, majd szobahőmérsékleten 30 percig 60 ml 1 mólos HCl/ecetsav oldattal reagáltatjuk, a kapott oldatot betöményítjük, és a kapott anyagot éterrel elkeverjük. Kitermelés 3,69 g (100%).

F) **BOC-Tyr-D-Arg-Gly-Et-Phe(4NO<sub>2</sub>)-NH<sub>2</sub> előállítás**

1,77 g BOC-Tyr-D-Arg-HCl-t, 0,98 g HOBT-t és 1,20 g Gly.EtPhe(4NO<sub>2</sub>)-NH<sub>2</sub>.HCl-t 130 ml DMF-ban oldunk és lehűtjük -10°C-ra. Ekkor hozzáadunk 0,75 g DCCL-t és 0,37 g NMM-t, és a reakciókeveréket 5°C-on 72 órán át keverjük, majd szűrés és bepárlás után az olajos maradékot 5:1 arányú etil-acetát/n-butanol elegy és NaCl-dal telített 5%-os nátrium-hidrogén-karbonát-oldat között megosztjuk. A szerves fázist a fenti összetételű oldószerezrel mossuk és vákuumban betöményítjük. A maradékot kétszer vízből és kétszer etanolból ismét bepároljuk, és a kapott terméket további tisztítás nélkül alkalmazuk a következő reakciólépésben.

G) **H-Tyr-D-Arg-Gly-Et-Phe(4NO<sub>2</sub>)-NH<sub>2</sub>-diacetát előállítás**

A 2,13 g védett tetrapeptid-amidot 10 ml anizollal és 100 ml 1 mólos HCl/ecetsav oldattal szobahőmérsékleten 40 percig reagáltatjuk, majd az oldószert elpárologtatása és a maradék vízmentes éterben való elkeverése után nyerjük a nyers terméket, amelyet

8

karboxi-metil-cellulózzal töltött ötször 50 cm-es oszlopon kromatografálunk, az eluálást 5,1 pH-n lineáris gradiensű ammónium-acetát oldattal végezve. A frakciókat egyesítés után háromszor fagyasztva szárítjuk.

Tlc-re tiszta (SI, SVI, SVII) és Hplc-re analitikailag tiszta.

Elemanalízis a

C<sub>32</sub>H<sub>47</sub>N<sub>9</sub>O<sub>11</sub>.H<sub>2</sub>O összegképletű vegyületre:  
számított: C% 49,93; H% 6,63; N% 16,38;  
mért: C% 50,18; H% 6,35; N% 16,33.  
[α]<sub>D</sub><sup>25</sup> -41,8° } (c=1, metanol)  
[α]<sub>546</sub><sup>25</sup> -51,2° }

4. példa

**N-amidino-Tyr-D-Arg-Gly-Et-Phe(4NO<sub>2</sub>)\*  
\*NH<sub>2</sub>-diacetát előállítás**

321 g H-Tyr-D-Arg-Gly-Et-Phe(4NO<sub>2</sub>)\*  
\*NH<sub>2</sub>-diacetátot 2 ml etanolban és 0,5 ml DMF-ben oldunk, majd hozzáadunk 108 mg l-amidino-3,5-dimetil-pirazol-acetátot és 0,09 ml trietil-amint, és a reakciókeveréket 55°C-on 5 órán át és szobahőmérsékleten egy éjszakán át keverjük. Ezután az oldószert eltávolítjuk, a kapott terméket karboxi-metil-cellulózzal töltött oszlopon kromatografáljuk, az eluálást 5,1 pH-n lineáris gradiensű ammónium-acetáttal (0,005 mól → 0,5 mól) végezve.

A kapott anyag Tlc-re (SI, SVI) és Hplc-re (30%-os acetónitril) tiszta.

Elemanalízis a

C<sub>29</sub>H<sub>41</sub>N<sub>11</sub>O<sub>7</sub>.2CH<sub>3</sub>CO<sub>2</sub>H.2,5H<sub>2</sub>O összegképletű vegyületre:  
számított: C% 48,29; H% 6,58; N% 18,78;  
mért: C% 47,92; H% 6,28; N% 18,61.  
[α]<sub>D</sub><sup>25</sup> = -44,2° } (c=1, metanol)  
[α]<sub>546</sub><sup>25</sup> = -53,6° }

A következőkben felsorolt peptideket a peptid-kémiában ismert és az előző példákban leírtakhoz hasonlóan állítottuk elő. Mindegyik vegyületet diacetát adíciós sója formájában izoláltuk, hacsak más utalást nem teszünk. Elemanalízis adatai azoknak a vegyületeknek, amelynél az optikai forgatóképesség adatai nem szerepelnek:

6. példa

számított: C% 53,17; H% 6,97; N% 15,50;  
mért: C% 53,03; H% 6,89; N% 15,58;

7. példa

számított: C% 51,81; H% 7,06; N% 16,99;  
mért: C% 52,00; H% 6,76; N% 17,06;

19. példa

számított: C% 51,88; H% 6,83; N% 15,34;  
mért: C% 51,50; H% 6,69; N% 15,75;

20. példa

számított: C% 54,62; H% 7,05; N% 14,39;  
mért: C% 54,80; H% 6,99; N% 14,50;

28. példa

számított: C% 47,88; H% 6,40; N% 13,96;  
mért: C% 47,68; H% 6,48; N% 14,08;



## 1. táblázat

Példa	R <sup>1</sup>	X <sup>2</sup>	R <sup>2</sup>	R <sup>3</sup>	n	Z <sup>1</sup>	Z <sup>2</sup> [α]	D <sup>25</sup> , /c = 1, metanol/	[α] <sup>25</sup> 546
5.	H	D-Arg	-C <sub>2</sub> H <sub>5</sub>	H	1	4-F	H	+35,0°	+40,6°
6.	H	D-Arg	-C <sub>2</sub> H <sub>5</sub>	H	2	4-NO <sub>2</sub>	H		
7.	H <sub>2</sub> NC/:HN/	D-Arg	-C <sub>2</sub> H <sub>5</sub>	H	1	4-F	H		
8.	H	D-Arg	-C <sub>2</sub> H <sub>5</sub>	H	0	4-NO <sub>2</sub>	H	+34,8°	+41,1°
9.	H <sub>2</sub> NC/:HN/	D-Arg	-C <sub>2</sub> H <sub>5</sub>	H	0	4-NO <sub>2</sub>	H	+26,4°	+31,7°
10.	H	D-Arg	-C <sub>2</sub> H <sub>5</sub>	H	0	4-F	H	+37,4°	+44,3°
11.	H	D-Arg	-C <sub>2</sub> H <sub>5</sub>	-CONH <sub>2</sub>	1	4-CF <sub>3</sub>	H	-27,7°	-32,7°
12.	H	D-Arg	-CH <sub>3</sub>	-CONH <sub>2</sub>	1	4-NO <sub>2</sub>	H	+32,0°	+37,6°
13.	H	D-Arg	-C <sub>2</sub> H <sub>5</sub>	-CONH <sub>2</sub>	1	4-F	H	-7,5°	-9,0°
14.	H	D-Arg	-C <sub>2</sub> H <sub>5</sub>	-CONH <sub>2</sub>	1	2-F	H	-11,1°	-13,7°
15.	H	D-Arg	-C <sub>2</sub> H <sub>5</sub>	-CONH <sub>2</sub>	1	3-F	H	-3,9°	-4,6°
16.	H	D-Arg	-C <sub>2</sub> H <sub>5</sub>	-CONH <sub>2</sub>	1	4-Cl	H	-31,1°	-38,1°
17.	H	D-Arg	-C <sub>2</sub> H <sub>5</sub>	H	0	2-NO <sub>2</sub>	H	+36,3°	-44,2°
18.	H	D-Arg	-C <sub>2</sub> H <sub>5</sub>	H	0	2-F	H	+38,7°	+42,7°
19.	H	D-Arg	-C <sub>2</sub> H <sub>5</sub>	H	1	2-NO <sub>2</sub>	H		
20.	H	D-Arg	-C <sub>2</sub> H <sub>5</sub>	H	1	2-F	H		
21.	H <sub>2</sub> NC/:HN/	D-Arg	-C <sub>2</sub> H <sub>5</sub>	H	0	2-NO <sub>2</sub>	H	+26,6°	+33,0°
22.	H <sub>2</sub> NC/:HN/	D-Arg	-C <sub>2</sub> H <sub>5</sub>	H	0	2-F	H	+25,8°	+30,6°
23.	H <sub>2</sub> NC/:HN/	D-Arg	-C <sub>2</sub> H <sub>5</sub>	H	1	2-NO <sub>2</sub>	H	+17,0°	+24,6°
24.	H <sub>2</sub> NC/:HN/	D-Arg	-C <sub>2</sub> H <sub>5</sub>	H	1	2-F	H	+20,7°	+27,6°
25.	-CH <sub>3</sub>	D-Arg	-C <sub>2</sub> H <sub>5</sub>	H	1	4-NO <sub>2</sub>	H	+32,8°	+39,1°
26.	H	D-Arg	-C <sub>2</sub> H <sub>5</sub>	H	1	4-NO <sub>2</sub>	2-NO <sub>2</sub>	+27,1°	+31,8°
27.	H <sub>2</sub> NC/:HN/	D-Arg	-C <sub>2</sub> H <sub>5</sub>	H	1	4-NO <sub>2</sub>	2-NO <sub>2</sub>	+22,2°	+26,2°
28.	H	D-Arg	-C <sub>2</sub> H <sub>5</sub>	CONH <sub>2</sub>	1	4-Cl	3-Cl		
29.	H	D-Arg	-C <sub>2</sub> H <sub>5</sub>	H	1	4-Cl	3-Cl	+33,3°	+39,2°
30.	H <sub>2</sub> NC/:HN/	D-Arg	-C <sub>2</sub> H <sub>5</sub>	H	1	4-Cl	3-Cl	+23,7°	+26,9°
31.	H	D-Arg	-C <sub>2</sub> H <sub>5</sub>	H	1	4-Br	H	+31,4°	+38,8°
32.	H <sub>2</sub> NC/:HN/	D-Arg	-C <sub>2</sub> H <sub>5</sub>	H	1	4-Br	H	+22,9°	+31,2°
33.	H <sub>2</sub> NC/:HN/	D-Arg	-C <sub>2</sub> H <sub>5</sub>	CONH <sub>2</sub>	1	4-F	H	-12,8°	-14,3°

## 34. példa

**H-Tyr-D-Har-Gly-N(Et)-CH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>-C<sub>6</sub>H<sub>4</sub>-4-NO<sub>2</sub>-diacetát előállítás**

## TFA

**(A) H-D-Lys-OH előállítása**

10 g D-lizin-hidrokloridot 55 ml 1 mólos NaOH-ban oldunk, majd hozzáadunk 11 ml s-etil-trifluor-tio-acetátot, és a kapott keveréket szobahőmérsékleten gyenge nitrogén-áramban 7 órán át erőteljesen keverjük, majd szobahőmérsékleten egy éjszakán át állni hagyjuk. Ezután a keveréket jéggel lehűtjük, a terméket szűrővel elválasztjuk, kevés hideg vízzel és etanollal mossuk, majd P<sub>2</sub>O<sub>5</sub>-on szárítjuk. Kitermelés: 4,5 g. Tlc.-vel egyetlen folt (SI, SIII).

Elemanalízis a

C<sub>8</sub>H<sub>13</sub>N<sub>2</sub>O<sub>3</sub>F<sub>3</sub> összegképletű vegyületre:

számított: C% 36,67; H% 5,41; N% 11,57;

mért: C% 39,69; H% 5,55; N% 11,43;

TFA jelentése trifluor-metil-csoport.

D-Har jelentése D-homoarginin

## TFA

**(B) BOC-Tyr-D-Lys-OH előállítása**

5,11 g BOC-Tyr-OH-t és 2,09 g N-hidroxiszukcinimidet 20 ml dioxán, 5 ml etil-acetát és 10 ml DMF elegyében oldunk, majd az oldatot lehűtjük -5°C-ra és hozzáadunk 3,75 g DCCl-t, -5°C-on 1 órán át keverjük, majd 1 óra alatt hagyjuk szobahőmérsékletre melegedni. Ekkor a DCU-ot szűrővel elválasztjuk, kétszer etil-acetáttal mossuk, a szűrleteket egyesítjük, jéggel lehűtjük, majd hozzáadunk 4,4 g H-D-Lys-OH-t, 90 ml víz-

## TFA

ben oldott 3,06 g nátrium-hidrogén-karbonátot és 15 ml DMF-ot, majd a kapott reakciókeveréket egy éjszakán át szobahőmérsékleten keverjük, szűrjük és vákuumban az illékony szerves oldószereket eltávolítjuk. A visszamaradó vizes DMF oldatot vízzel hígítjuk, a pH-t szilárd citromsav adagolásával 3,5-re beállítjuk és egyszer 150 ml, majd kétszer 75 ml etil-acetáttal extraháljuk, a szerves extraktumokat 50 ml 5%-os citromsav oldattal, majd kétszer 50 ml vízzel mossuk, vízmentes magnézium-szulfáton szárítjuk. Ily módon 10,6 g olajos terméket nyerünk.

**(C) BOC-Tyr-D-Lys-OH előállítása**

Az előző lépésben előállított terméket 56 ml metanolban oldjuk, hozzáadunk 56 ml 1 mólos NaOH-t és a reakciókeveréket 20 órán át szobahőmérsékleten állni hagyjuk, majd a pH értékét 1 mólos HCl-val 7,0-re állítjuk be. Az így kapott oldatot 250 ml vízzel hígítjuk és 1 mólos HCl-val 4,0-es pH-ra megsavanyítjuk, a reagálatlan kiindulási anyagokat háromszor 100 ml etil-acetáttal kimossuk, a terméket C18-szilikagéllel töltött 2,5 x 50 cm-es oszlopon való kromatografálással (eluálószer: víz, majd metanol) választjuk el, a metanolos eluátumokat egyesítjük, betömé-

10

nyítjük, a maradékot vízben oldjuk és fagyasztva szárítjuk.

Kitermelés 5,21 g.

Tlc re tiszta (SIII).

## 5 Elemanalízis a

C<sub>20</sub>H<sub>31</sub>N<sub>3</sub>O<sub>6</sub>·1,5H<sub>2</sub>O összegképletű vegyületre:

számított: C% 55,04; H% 7,80; N% 9,63;

mért: C% 55,02; H% 7,64; N% 9,73;

10 **(D) BOC-Tyr-D-Har-OH.HCl előállítása**

3,5 g BOC-Tyr-D-Lys-OH-t 20 ml etanolban oldunk, hozzáadunk 2,11 g l-amidino-3,5-dimetil-pirazol-acetátot és 1,7 ml trietil-amint, majd a keveréket 65 °C-on 7,5 órán át, majd szobahőmérsékleten egy éjszakán át hagyjuk állni. Ezután az oldószert eltávolítjuk, a maradékot 25 ml 4%-os ecetsav oldat és 25 ml etil-acetát között megosztjuk, a vizes fázist elválasztjuk, 20 ml etil-acetáttal mossuk, majd ötször 47 cm-es karboxi-metil-cellulózzal töltött oszlopon kromatografáljuk, az eluálószer ammónium-acetát (0,005 mól → 0,1 mól, pH 5,1). A terméket fagyasztva szárítással nyerjük, mennyisége 3,6 g. Ezt a terméket még tovább tisztítjuk reverz fázisú kromatográfiával (C8-szilikagélen), majd végül hidroklorid sóvá alakítjuk.

Kitermelés 2,86 g.

## 30 Elemanalízis a

C<sub>21</sub>H<sub>34</sub>N<sub>5</sub>O<sub>6</sub>Cl·H<sub>2</sub>O összegképletre:

számított: C% 49,85; H% 7,12; N% 13,85;

mért: C% 49,69; H% 7,02; N% 14,06;

35 **(E) BOC-Tyr-D-Har-Gly-N(Et)-CH<sub>2</sub>-CH<sub>2</sub>-C<sub>6</sub>H<sub>4</sub>-4-NO<sub>2</sub> előállítása**

487,5 mg BOC-Tyr-D-Har-OH.HCl-t és 270 mg HOBT-t 10 ml DMF-ban oldunk, az oldatot -5°C-ra hűtjük és hozzáadunk 206 g DCCl-t. A keveréket ezután 0°C-on 30 percig állni hagyjuk, majd hozzáadunk 287,5 mg Gly-N(Et)-CH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>-C<sub>6</sub>H<sub>4</sub>-4-NO<sub>2</sub>-t és 101 mg NMM-t és 5°C-on 72 órán át keverjük. Ezután a DCU-ot eltávolítjuk, az oldatot betöményítjük, és a maradékot 75 ml 5%-os citromsav oldat és 50 ml etil-acetát között megosztjuk, a vizes fázist elválasztjuk, kétszer 50 ml etil-acetáttal mossuk, és a pH-t szilárd kálium-karbonáttal 6,0-os értékre beállítjuk. A terméket háromszor 75 ml etil-acetát/n-butanol eleggyel (4:1) kiextraháljuk, az extraktumokat egyesítjük, szárazra pároljuk, majd egyszer vízből és háromszor etanolból ismét bepároljuk.

## 55 Kitermelés 800 mg habszerű anyag.

Tlc.-vel egy fő komponens (SI, SIII).

**(F) H-Tyr-D-Har-Gly-N(Et)-CH<sub>2</sub>-CH<sub>2</sub>-C<sub>6</sub>H<sub>4</sub>-4-NO<sub>2</sub> előállítása**

60 A 800 mg védett peptidet 5 ml anizol és 10 ml ecetsav elegyében oldjuk, majd hozzáadunk 10 ml 2 mólos HCl-t. 30 perc elteltével az oldószert vákuumban eltávolítjuk, a maradékot vízben oldjuk és éterral mossuk.

65 A nyers terméket karboxi-metil-cellulózon ioncserés kromatográfiával tisztítjuk.

Tlc-re tiszta (SI, SVI).

Elemanalízis a

$C_{28}H_{40}N_8O_6 \cdot 2CH_3CO_2H \cdot 0,5H_2O$  összegképletre:

számított: C% 53,86; H% 6,87; N% 15,71;  
mért: C% 53,59; H% 6,98; N% 15,92;

$$\left. \begin{array}{l} [\alpha]_D^{25} = +36,6^\circ \\ [\alpha]_{546}^{25} = +44,6^\circ \end{array} \right\} (c=1, \text{ metanol})$$

### 35. példa

**N-amidino-Tyr-D-Har-Gly-N(Et)-CH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>-C<sub>6</sub>H<sub>4</sub>-4-NO<sub>2</sub>.diacetát előállítás**

263 mg Tyr-D-Har-Gly-N(Et)-CH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>-C<sub>6</sub>H<sub>4</sub>-4-NO<sub>2</sub>.diacetátot 2 ml etanolban oldunk és hozzáadunk 115 mg 1-amidino-3,5-dimetilpirazol-acetátot és 0,1 ml trietil-amint, és a reakciókeveréket 10 órán át 60°C-on állni hagyjuk. Ezután az etanolt eltávolítjuk, a nyers terméket víz és etil-acetát között megosztjuk, a vizes fázist 2,5x45 cm-es karboxi-metil-cellulóz oszlopon tisztítjuk.

Tlc-re tiszta (SI, SVI, SVII).

Elemanalízis a

$C_{29}H_{42}N_{10}O_6 \cdot 2CH_3CO_2H \cdot 2,5H_2O$  összegképletre:

számított: C% 50,06; H% 6,95; N% 17,70;  
mért: C% 50,21; H% 6,72; N% 17,65;

### 36. példa

**H-Tyr-D-Arg-Gly-N(Et)-CH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>-C<sub>6</sub>H<sub>4</sub>-4-NO<sub>2</sub>.diacetát előállítás**

(A) **BOC-Tyr-D-Arg-Gly-OBzl.HCl előállítása**

1,42 g BOC-Tyr-D-Arg-OH.HCl-at, 0,81 g HOBT-t, H-Gly-OBzl-t, 1,06 g toluol-szulfonátot és 0,303 g NMM-t 15 ml DMF-ben, oldunk, lehűtjük -15°C-ra és hozzáadunk 0,618 g DCCl-t, majd a keveréket 4°C-on 24 órán át keverjük. Ezután szűrjük, vákuumban betöményítjük, a maradékot 100 ml etil-acetát és 100 ml jéghideg 1 mólos HCl között megosztjuk, a vizes fázist egyszer 100 ml, majd kétszer 50 ml etil-acetáttal extraháljuk, az extraktumokat egyesítjük, háromszor 50 ml nátrium-hidrogén-karbonát, majd 50 ml telített nátrium-klorid-oldattal mossuk, szárítjuk és betöményítjük.

A kitermelés 1,44 g.

Tlc. kevés DCU jelenlétét mutatja ki.

(B) **BOC-Tyr-D-Arg-Gly-OH.HCl előállítás**

1,44 g benzil-étert 50 ml metanolban oldunk és 140 mg csontszén hordozós 10%-os palládium katalizátor jelenlétében 4 órán át hidrogénezzük. Ezután a katalizátort szűréssel elválasztjuk, az oldószert vákuumban eltávolítjuk, és a kapott anyagot éterrel elkeverjük.

Kitermelés 1,15 g.

(C) **BOC-Tyr-D-Arg-Gly-N(Et)-CH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>-C<sub>6</sub>H<sub>4</sub>-4-NO<sub>2</sub> előállítás**

530,5 g BOC-Tyr-D-Arg-Gly-OH.HCl-ot, 270 mg HOBT-t, 275 mg HN.(Et).CH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>-

-C<sub>6</sub>H<sub>4</sub>-4-NO<sub>2</sub>-t és 101 mg Et<sub>3</sub>N-t 10 ml DMF-ban oldunk, az oldatot -5°C-ra lehűtjük, és hozzáadunk 206 mg DCCl-t. A reakciókeveréket 5°C-on 72 órán át keverjük, és a terméket előzőekhez hasonlóan nyerjük ki. Kitermelés 640 mg.

(D) **H-Tyr-D-Arg-Gly-N(Et)-CH<sub>2</sub>-CH<sub>2</sub>-C<sub>6</sub>H<sub>4</sub>-4-NO<sub>2</sub>.diacetát előállítás**

A 640 mg védett peptidet 11 ml anizol és 16 ml ecetsav elegyében oldjuk, majd hozzáadunk 16 ml 2 mólos HCl/ecetsav oldatot. Szobahőmérsékleten 34 percig hagyjuk a reakciókeveréket, majd vákuumban betöményítjük, és a maradékot víz és éter között megosztjuk. A nyers terméket a vizes fázisból fagyaszta szárítással nyerjük ki és ioncsérés kromatográfiával (karboxi-metil-cellulóz) tisztítjuk.

Tlc: SI-re tiszta

Hplc.: azonos a más módszerrel izolált termékével.

$$[\alpha]_D^{24,5} = +33,5^\circ$$

(c=1, metanol)

$$[\alpha]_{546}^{24,5} = +40,4^\circ$$

Elemanalízis a

$C_{27}H_{38}N_8O_6 \cdot 2CH_3CO_2H \cdot H_2O$  összegképletre:

számított: C% 52,54; H% 6,78; N% 15,82;  
mért: C% 52,46; H% 7,32; N% 16,08.

### 37 példa

**H-Tyr-D-Arg-Gly-EtPhe(4NO<sub>2</sub>)-NH<sub>2</sub>.diacetát előállítás**

(A) **H-EtPhe(4NO<sub>2</sub>)-OH.HCl előállítás**

5 g H-EtPhe(4NO<sub>2</sub>).NH<sub>2</sub>-t 100 ml 6 mólos HCl-ban visszafolyatás mellett 4 órán át melegítjük, majd a halványsárga oldatot lehűtjük és hűtőszekrényben egy éjszakán át állni hagyjuk. Ily módon nyerjük a cím szerinti terméket fehéres színű túalakú kristályok formájában (4,6 g), amely 272-276°C-on bomlás közben olvad.

Elemanalízis a

$C_{11}H_{15}N_2O_4Cl$  összegképletre:

számított: C% 48,09; H% 5,46; N% 10,2;  
mért: C% 48,22; H% 5,47; N% 10,2;

(B) **H-Et Phe(4NO<sub>2</sub>)-OMe.HCl előállítás**

50 ml metanolt 2 g tionil-kloriddal kezelünk -15°C-on, majd hozzáadunk 4,12 g H-Et Phe(4NO<sub>2</sub>)-OH.HCl-ot, és a keveréket 2 órán át 20°C-on, majd visszafolyatás mellett összesen 24 órán át keverjük. Ezután az oldószert vákuumban eltávolítjuk, a nyers terméket 40 ml metanolból és 40 ml éterből átkristályosítjuk.

Kitermelés 3,4 g.

(C) **BOC-Gly.EtPhe(4NO<sub>2</sub>)-OMe előállítás**

3,0 g BOC-Gly-t és 3,5 g HOBT-t 20 ml DMF-ben oldunk, az oldatot jéggel lehűtjük, és hozzáadunk 3,3 g DCCl-t, majd 30 perc elteltével 30 ml DMF-ben és 1 ml vízben oldott 3,3 g H-EtPhe(4NO<sub>2</sub>)-OMe.HCl-ot és

1,27 g NMM-t, majd a reakciókeveréket 0°C-on 1 órán át és szobahőmérsékleten egy éjszakán át keverjük. Ekkor Tlc-vel kimutatható, hogy a reakció teljesen végbement. Ezután további 1,18 g DCCI-t adunk a keverékhez, és a keverést még 24 órán át folytatjuk. A DCU-ot szűrővel elválasztjuk, a DMF-ot vákuumban eltávolítjuk, a maradékot etil-acetátban felvesszük és 2 órán át hűtőszekrényben tartjuk. A DCU-t ismét leszűrjük és az etil-acetátos oldatot négyszer 5%-os nátrium-hidrogén-karbonát-oldattal, kétszer 10%-os citromsav oldattal, kétszer vízzel, és egyszer telített sóoldattal mossuk, az oldatot szárítjuk és betöményítjük. Az ily módon nyert 2,69 g nyers terméket további tisztítás nélkül használjuk fel a következő reakciólépésben. Tlc-vel kevés DCU mutatható ki.

(D) **H-Gly-EtPhe(4NO<sub>2</sub>)-OMe.HCl előállítása**

A 2,3 g védett dipeptidet 33 ml 1 mólos HCl/ecetsav oldattal kezeljük szobahőmérsékleten 1 órán át, a kapott anyagot vákuumban betöményítjük, a maradékot vízben oldjuk, háromszor éterrel mossuk és fagyaszta szárítjuk. Ily módon 1,42 g cím szerinti terméket nyerünk.

(E) **BOC-Tyr-D-Arg-Gly-EtPhe(4NO<sub>2</sub>)-OMe előállítása**

1,96 g BOC-Tyr-D-Arg-HCl-ot és 1,11 g HOBT-t 17 ml DMF-ban oldunk, jéggel lehűtjük és hozzáadunk 0,93 g DCCI-t. A keveréket 0°C-on 1 órán át keverjük, majd hozzáadunk 17 ml DMF-ban oldott 1,42 g H-Gly-xEtPhe(4NO<sub>2</sub>)-OMe.HCl-ot és 0,42 g NMM-t, és a reakciókeveréket szobahőmérsékleten 24 órán át állni hagyjuk. Ezután még további 0,42 g DCCI-t adagolunk, és a keveréket 24 órán át keverjük. A szokásos feldolgozás után 3,6 g terméket nyerünk.

(F) **H-Tyr-D-Arg-Gly-EtPhe(4NO<sub>2</sub>)-OMe-diacetát előállítása**

A 3,6 g védett tetrapeptid-metil-észterrel a védőcsoportot ismert eljárás szerint eltávolítjuk és karboxi-metil-cellulózzal, kromatografálással tisztítjuk.

Kitermelés 1,55 g.

Elemanalízis a

$C_{29}H_{40}N_8O_8 \cdot 2CH_3CO_2H \cdot 1,5H_2O$  összegképletre: számított: C% 51,09; H% 6,62; N% 14,44; mért: C% 51,15; H% 6,44; N% 14,70;

(G) **H-Tyr-D-Arg-Gly-EtPhe(4NO<sub>2</sub>)-NH<sub>2</sub>-diacetát előállítása**

0,5 g tetrapeptid-metil-észtert 25 ml metanolban oldunk, az oldatot jégben lehűtjük és vízmentes ammóniával telítjük. Ezután a lombikot lezárjuk és szobahőmérsékleten 24 órán át állni hagyjuk. Tlc-vel kimutatható, hogy a reakció teljesen végbement. Az ammónia-felesleget elpárologtatjuk, és a kapott nyers terméket karboxi-metil-cellózzal kromatografáljuk.

12

Elemanalízis a

$C_{28}H_{39}N_9O_7 \cdot 2CH_3CO_2H \cdot 1H_2O$  összegképletre: számított: C% 51,09; H% 6,62; N% 14,44; mért: C% 51,15; H% 6,44; N% 14,70.

5

**38 példa**

(4) vázlat szerinti vegyület

A) **N-Etil-2-fluor-benzil-amin-hidrobromid**

14,6 g 2-fluor-benzil-bromidot (Aldrich, 77 mmól) 150 ml 33%-os etanolos etil-amminnal elkeverünk és gőzfürdőn 1,5 órán át visszafolytatás mellett melegítjük. Ezután az oldószert vákuumban eltávolítjuk, a maradékot izopropanol és diizopropil-éter elegyből átkristályosítjuk, amikor is 10,4 g (58%) terméket nyerünk.

15

Op.: 165—166°C.

Elemanalízis a

$C_9H_{13}NBrF$  összegképletű vegyületre:

számított: C% 46,17; H% 5,60; N% 5,98; mért: C% 46,42; H% 5,59; N% 5,99;

20

B) **BOC-Gly-N(Et)-CH<sub>2</sub>-C<sub>6</sub>H<sub>4</sub>-2F**

9,68 g (55,3 mmól) BOC-Gly-t, 12,94 g (120 mmól) N-etil-fluor-benzil-amin-hidrobromidot, 14,92 g HOBT-t és 7,7 ml trietil-amint 120 ml DMF-ban oldunk, jéggel lehűtjük, hozzáadunk 12,53 g DCCI-t és a kapott keveréket szobahőmérsékleten 48 órán át keverjük. Ezután a DCU-t szűrővel eltávolítjuk, a szűrőtet betöményítjük és a visszamaradó anyagot etil-acetát és 5%-os nátrium-hidrogén-karbonát között megosztjuk. A szerves fázist háromszor 5%-os nátrium-hidrogén-karbonát-oldattal, telített nátrium-kloriddal, majd kétszer 5%-os citromsav-oldattal és végül kétszer telített nátrium-kloriddal mossuk, vízmentes magnézium-szulfáton szárítjuk, aktív szénen szűrjük és betöményítjük. A gumyszerű termék mennyisége 16,8 g (98%) és Tlc-vel kimutathatóan DCU nyomokat tartalmaz.

25

30

35

40

C) **H-Gly-N(C<sub>2</sub>H<sub>5</sub>)-CH<sub>2</sub>-C<sub>6</sub>H<sub>4</sub>-2F**

Az első lépés szerinti nyert terméket (16,8 g, 54,2 mmól) 150 ml jégecetben oldjuk és szobahőmérsékleten 150 ml 2 mólos ecetsavas sósavval kezeljük 30 percig, szobahőmérsékleten. Ezután a keveréket betöményítjük, a maradékot víz és éter között megosztjuk, a vizes fázist az étertől elválasztjuk, fagyaszta szárítjuk, és a kapott gumyszerű anyagot izopropanol-diizopropil-éter elegyből átkristályosítjuk.

50

55

A termék mennyisége 10,15 g (76%). Tlc-vel SI, SIII, SV-ben tisztá.

Op.: 111—113°C.

Elemanalízis a

$C_{11}H_{16}N_2OFCl$  összegképletű vegyületre:

számított: C% 53,55; H% 6,50; N% 11,35; mért: C% 53,50; H% 6,54; N% 11,37.

60

D) **BOC-Tyr-D-Arg-Gly-N(C<sub>2</sub>H<sub>5</sub>)-CH<sub>2</sub>-C<sub>6</sub>H<sub>4</sub>-2F**

4,26 g (9 mmól) BOC-Tyr-D-Arg.HCl-ot, 2,43 g HOBT-t, 2,22 g (9 mmól) H-Gly-N(C<sub>2</sub>H<sub>5</sub>)-CH<sub>2</sub>-C<sub>6</sub>H<sub>4</sub>-2F.HCl-ot és NMM-t 20 ml DMF-ban oldunk, -5°C-ra lehűtjük

65

és hozzáadunk 1,85 g DCCI-t. A kapott reakciókeveréket 4°C-on 48 óráig keverjük, a DCU-t szűréssel elválasztjuk, a szűrletet vákuumban betöményítjük, és a nyers terméket etil-acetát és 5%-os citromsav között megosztjuk. A vizes fázist elválasztjuk, kétszer etil-acetáttal mossuk, a pH értékét szilárd kálium-karbonáttal 6-os értékre beállítjuk, és a kiváló csapadékot etil-acetát-n-butanol 4:1 arányú elegyével extraháljuk. A terméket az etanol vákuumban való eltávolítása és többszöri etanolos oldás és ismételt bepárlás után nyerjük, mennyisége 6,3 g.

**E) H-Tyr-D-Arg-Gly-N(C<sub>2</sub>H<sub>5</sub>)-CH<sub>2</sub>-C<sub>6</sub>H<sub>4</sub>-2F-diacetát**

6,3 g védett tripeptidet 25 ml anizol és 75 ml ecetsavas sósavval 30 percig szobahőmérsékleten kezeljük, majd a reakcióelegyet vákuumban betöményítjük, a maradékot vízben oldjuk és kétszer étérrel mossuk. A vizes fázist fagyasztva szárítjuk, a kapott 5,63 g nyers terméket ötször 50 cm-es karboxi-metil-cellulózzal töltött oszlopon lineáris gradiensű ammónium-acetáttal pH 5,1-es értéken eluáljuk.

**F) H<sub>2</sub>NC(:HN)-Tyr-D-Arg-Gly-N(C<sub>2</sub>H<sub>5</sub>)-CH<sub>2</sub>-C<sub>6</sub>H<sub>4</sub>-2F-diacetát**

7,3 g (10,9 mmól) előző lépés szerint nyert terméket 30 ml etanolban oldunk, hozzáadunk 3,24 g (16,4 mmól) 1-amidino-3,5-dimetil-pirazol acetátot és 3 ml (22 mmól) trietil-amint, és a kapott keveréket 65°C-on 4 órán át keverjük és egy éjszakán át szobahőmérsékleten állni hagyjuk. Ezután az etanolt vákuumban eltávolítjuk, a nyers terméket vízben oldjuk, etil-acetáttal mossuk és az előző lépésben leírtak szerint ioncserés kromatográfiával tisztítjuk.

**Elemanalízis a**

C<sub>27</sub>H<sub>38</sub>N<sub>9</sub>O<sub>4</sub>F<sub>2</sub>·2CH<sub>3</sub>CO<sub>2</sub>H·H<sub>2</sub>O képletű vegyületre:

számított: C% 52,47; H% 6,77; N% 17,77;  
mért: C% 52,31; H% 6,72; N% 17,54;

**Farmakológiai vizsgálatok**

**(A) Forró-lemezes vizsgálat**

Hím egereket (CFLP törzs, Hacking, Churchil) egyenként 55°C-os meleg víz-fürdőbe merített rézlemez-aljú dobozba helyeztünk és megfigyeltük a reakcióidőt (max. 30 másodperces ideig), amely után a mancsaik rázásával vagy nyalogatásával kifejezték kellemetlen fájdalomérzetüket. Ezután ötös csoportokba osztva szubkután injekcióval vagy vizsgálendő vegyületet vagy 0,85%-os sóoldatot adagoltunk a kísérleti állatoknak, és a vizsgálatot 15 perc elteltével megismételtük. A vizsgálendő vegyület ED<sub>50</sub> értékét azon állatok számából határoztuk meg, amelyeknél a reakcióidő kétszeresre nőtt a kezelés után.

**B) Irritálószer által kiváltott rángatózás vizsgálata**

i) **Ecetsav.** Nőstény egerek (CDL, Charles River) ötös csoportjainak vizsgálandó anyagot, illetve 0,85%-os sóoldatot adagoltunk szubkután, 15 perccel az intraperitoneálisan, 25 ml/kg mennyiségben adagolt 0,6%-os ecetsav előtt. 20 perc elteltével 2 és fél percen át számoltuk az irritálószer által kiváltott rángatózó vagy kinyújtózkodó mozdulatokat, amelyeket a hátsó lábuk kinyújtása és a has összehúzódása alapján határoztunk meg.

ii) **Fenil-benzokinon (PBQ).** A vizsgálatot a fentiekben leírtakhoz hasonlóan végeztük, azzal az eltéréssel, hogy rángási/nyújtózkodási mozgások meghatározását 10 perccel az irritálószer beadagolása után kezdtük meghatározni, és az irritálószerrel 2,5 mg/kg mennyiségben, 10 ml/kg térfogatban adagoltuk. Az ED<sub>50</sub> értékeket regressziós analízis útján határoztuk meg, és értéke azonos azzal a dózismennyiséggel, amelynél a rángási/kinyújtózkodási mozdulatok száma fele a kontrollnál meghatározott értéknek.

**C) Antagonizmus kvaterner opioiddal**

Hím egerek (TFW, Tuck) hatos csoportjának intraperitoneálisan 16 mg/kg dózisban N-metil-narolpint vagy 0,85%-os sóoldatot adagoltunk [10 ml/kg dózisban], majd 20 perc elteltével szubkután adagoltuk a vizsgálandó anyagot [sóoldatban, 10 ml/kg dózisban], majd újabb 30 perc elteltével intraperitoneálisan 0,65%-os ecetsav oldatot [25 ml/kg dózisban]. Ezután minden csoportnál 15 perc elteltével 5 percen keresztül számoltuk a rángási/nyújtózkodási mozdulatokat, majd regressziós analízis segítségével meghatároztuk a vizsgált vegyületre vonatkozó ED<sub>50</sub> értékeket (azonosan a B) pontban leírtakhoz), valamint meghatároztuk azokat a dózisarányokat is, amelyek az azonos anti-nociceptív hatás eléréséhez szükségesek a kvaterner vegyület jelenlétében, illetve hiányában.

**D) Köhögés-ellenes hatás**

A vizsgálatot Boura és munkatársai [Br.J. Pharmac., 39/1 (1970), 225] módosított vizsgálati eljárása szerint végeztük. Tengermalacokat 30%-os citromsav aeroszóllal kezeltük 30 perccel a vizsgálandó vegyület beadagolása után [szubkután, 0,85% (s/s), sóoldatban], majd 12 és fél percen keresztül számoltuk a köhögések számát. A vegyületek ED<sub>50</sub> értékeit regressziós analízis segítségével határoztuk meg, és értéke azonos azzal a dózismennyiséggel, amely a köhögések számát felére csökkenti a kontrollhoz viszonyítva. Kontrollként sóoldatot adagoltunk a kísérleti állatoknak.

A fenti vizsgálatok eredményeit a következő táblázatban foglaltuk össze. Az értékek

mg vegyület/testsúly kilogrammot jelentenek, szabad peptidben kifejezve.  
A jelölések értelmezése: NE: nincs hatás, p.o.: per os (szájon át),

\* a vizsgálandó vegyületet 30 perccel az ecetsav/PBQ adagolás előtt adagoltuk,  
\*\* a vizsgálatot 30 perccel a kezelés után megismételtük.

2. táblázat

Vegyület	Meleg-lemez /A/	/B/ Rángatódózis		PBQ	N-metil- nalorfin /a/	/C/ Rángatódózis		/D/ Kőhögés- ellenesség
		Ecetsav				Sóoldat	Dózis arány	
						/b/	/a/ : /b/	
dextro- propoxi- fen	25,9	4,2		2,6	6,9	6,8	1,0	
indomet- acin	NE @100			0,9				
morfin	1,8	0,45*		0,38 p.o. 3,5*	0,24	0,4	0,9	
pentazocin	NE @100	2,3						
1. példa	NE @100	14,0		6,2 p.o. 43,5*	12,5	2,8	4,5	3,0
2. példa	NE @50	p.o. 30,6*		0,18 p.o. 10,0*	1,2	0,12	9,6	0,06
3. példa	1,0	0,03		0,02 p.o. 14,0*	0,08	0,03	3,4	0,001
4. példa	p.o. 159,9** 1,5	p.o. 0,9* 0,009*		0,008 p.o. 1,9*	0,007	0,001	5,1	0,01
33. példa	1,5 p.o. NE @100*	0,008*		0,08 p.o. 25,6*	0,01	0,002	6,5	0,004

**(E) Hasmenés ellenes hatás**

Nőstény patkányokat (Cobs Wistar, Charles River) 24 órán át koplaltattunk, majd orálisan 10 ml/kg dózisban a vizsgálandó vegyület vizes oldatát adagoltuk. 15 perc elteltével mindegyik patkánynak 1 ml ricinusolajat adtunk orálisan, majd megfigyel-

tük a hasmenés megjelenését. A vegyületek ED<sub>50</sub> értéke azonos azzal a dózissal, amely a hasmenést megszünteti a kísérleti állatok 50%-ánál és ezt a ricinusolaj adagolása után különböző idők elteltével határoztuk meg. A kapott eredményeket a következő 3. táblázatban foglaltuk össze.

3. táblázat

Vegyület	1,0 óra*	1,5 óra*	2,0 óra*	2,5 óra*
1. példa	8,5	30,3	40,5	
2. példa	1,9	3,2	16,7	28,6
3. példa		0,11	0,31	0,46
33. példa	0,02	0,03	0,02	0,05

\* ricinusolaj adagolása után

**(F) Kardiovaszkuláris hatás**

A vizsgálatnál a 2. példa szerint előállított vegyület oldatát (0,85%-os sóoldatban) adagoltuk 300–400 gr-os hím patkányoknak (Wistar) intravénás bolus injekciók formájában, 0,1 ml/100 g dózisban. A vizsgált vegyületek között, a dózistól függő hipotenziós bradycardiával kísért hipotenziós hatást mutatott.

**(G) Toxicitás**

Egereknél a 2. példa szerinti eljárással előállított vegyület a következő mértékben mutatott toxikus hatást: 500 mg bázis vegyület/kg p.o. adagolás esetén: az állatok 1/5-e elpusztult

200 mg bázis vegyület/kg s.c. adagolás esetén: az állatok 5/5 része elpusztult.

**Gyógyszerkészítmények előállítása**

A következő formulázási példákban a „vegyület“ megnevezés minden esetben valamely előzők szerint definiált (I) általános képletű vegyületet jelent, és mennyisége a szabad peptidre vonatkozik.

- 55 a) Kapszula-készítmény  
Összetétel: Vegyület 5,0 mg  
Magnézium-  
sztearát 0,75 mg  
Laktóz BP 200 mg-ig
- 65 Az összetevőket elkeverjük, kemény zselatinkapszulákba töltjük úgy, hogy minden

kapszula 5 mg hatóanyagot tartalmazzon (szabad peptidre számítva).

b) Tablettakészítmény

Összetétel:

Vegyület	5,0 mg	5
Avicel PH 101	22,5 mg	
Hidroxi-propil-cellulóz	9,0 mg	
Polivinil-pirrolidon K30	6,0 mg	
Magnézium-sztearát	0,75 mg	
Laktóz BP	150,0 mg-ig	10

c) Fagyasztva szárított injekciőkészítmény

Összetétel:

Vegyület	5,0 mg	
Mannitol	62,5 mg	15
Víz (injekció céljára)	2,0 ml-ig	

Az összetevőket a víz 9/10 részében feloldjuk, majd a teljes mennyiségre kiegészítjük. Ezután steril körülmények között a szűrővel sterilizált oldatot megfelelő steril fiolákba töltjük, fiolánként 2,5 ml mennyiségben, majd részlegesen bezárjuk fagyasztott dugóval és megfagyasztjuk, végül alumínium fedővel lezárjuk inert gáz atmoszférában.

d) Kúp-készítmény

Összetétel:

Vegyület	5,0 mg	
Szilárd zsír BP	1000,0 mg-ig	

e) Dermális lemosófolyadék

Összetétel:

Vegyület	0,4 g	
Szorbitán-monolaurát	0,6 g	
Poliszorbát	0,6 g	
Ketosztearil-alkohol	1,2 g	
Glicerín	6,0 g	
Metil-p-hidroxi-benzoát	0,2 g	
Tisztított víz BP	100,0 ml-ig	

A metil-p-hidroxi-benzoátot és a glicerint 75°C-on 70 ml vízben oldjuk, a szorbitán-mono-laurátot, a poliszorbát 20-at és a ketosztearil-alkoholt 75°C-on összeolvasztjuk és a vizes oldathoz adagoljuk. A kapott emulziót homogenizáljuk, állandó keverés közben lehűtjük, hozzáadjuk a maradék vízben oldott hatóanyagot, és a teljes homogenitásig keverjük.

SZABADALMI IGÉNYPONTOK

1. Eljárás (I) általános képletű peptidek — a képletben

$R^1$  jelentése hidrogénatom, 1-2 szénatomos alkilcsoport vagy amidinocsoport,

$R^2$  jelentése 1-2 szénatomos alkilcsoport,

$R^3$  jelentése hidrogénatom vagy karbamilcsoport,

$X^2$  jelentése (a) általános képletű D-konfigurációjú csoport,

$Z^1$  és  $Z^2$  jelentése azonosan vagy különbözően hidrogénatom, halogénatom, nitro- vagy trifluor-metil-csoport, és legalább az egyik hidrogénatomtól eltérő,

m jelentése 3 vagy 4 és

n jelentése 0, 1 vagy 2,

feltéve, ha  $R^3$  jelentése karbamilcsoport, n jelentése mindig 1 —

és farmakológiailag elfogadható savaddíciós sóik előállítására, *azzal jellemezve*, hogy

a) valamely (II) általános képletű vegyület — a képletben  $R^1$  jelentése a fenti és  $Y^1$  jelentése olyan gyök, amelynek szekvenciája azonos az (I) általános képletű vegyület megfelelő N-terminális részgyökének szekvenciájával — valamely (III) általános képletű vegyülettel reagáltatunk — a képletben  $Y^2$  jelentése azonos a fenti peptid fenmaradó részével, és szekvenciája azonos a megfelelő C-terminális részgyök szekvenciájával — a (II) és (III) általános képletű vegyületek kívánt esetben a megfelelő helyen védve és/vagy aktiválva lehetnek, majd adott esetben a védőcsoportokat eltávolítjuk,

b) valamely (IV/1) általános képletű C-terminális peptidkarbonsavat — a képletben  $R^1$  és  $X^2$  jelentése a tárgyi kör szerinti és Q jelentése hidroxilcsoport — vagy reakcióképes származékát valamely (VI) általános képletű aminovegyülettel — a képletben  $R^2$ ,  $Z^1$ ,  $Z^2$  és n jelentése a tárgyi kör szerinti — reagáltatunk, vagy

c) valamely (IV/1) általános képletű C-terminális peptidkarbonsavat — a képletben  $R^1$  és  $X^2$  jelentése a tárgyi kör szerinti és Q jelentése (IV/2) általános képletű csoport, amelyben  $R^2$ ,  $Z^1$  és  $Z^2$  jelentése a tárgyi kör szerinti — vagy reakcióképes származékát am dälunk, vagy

d) olyan (I) általános képletű vegyületet, amelynek képletében  $R^1$ ,  $R^2$ ,  $R^3$ ,  $Z^1$ ,  $Z^2$  és n jelentése a fenti és  $X^2$  jelentése (b) képletű csoport — a képletben  $R^5$  jelentése hidrogénatom — amidinálunk, és

kívánt esetben a fenti eljárások bármelyikével nyert (I) általános képletű peptidet — a képletben  $R^1$  jelentése hidrogénatom,  $R^2$ ,  $R^3$ ,  $X^2$ ,  $Z^1$ ,  $Z^2$  és n jelentése a tárgyi kör szerinti — amidinálunk, és kívánt esetben a fenti eljárások bármelyikével nyert terméket savaddíciós sóvá alakítjuk.

2. Az 1. igénypont szerinti c) eljárás olyan (I) általános képletű vegyületek előállítására, amelyben  $R^1$ ,  $R^2$ ,  $X^2$ ,  $Z^1$ ,  $Z^2$  jelentése az 1. igénypont tárgyi köre szerinti, n jelentése 1 és  $R^3$  jelentése karbamoilcsoport, *azzal jellemezve*, hogy valamely (IV) általános képletű peptidésztert — a képletben  $R^1$ ,  $R^2$ ,  $X^2$ ,  $Z^1$ ,  $Z^2$  jelentése a fenti és  $OR^4$  jelentése alkalmas helyettesíthető alkoxi-, aralkoxi- vagy ariloxicssoport — ammóniával reagáltatunk.

3. Az 1. igénypont szerinti b) eljárás olyan (I) általános képletű vegyületek előállítására, amelyben  $R^1$ ,  $R^2$ ,  $X^2$ ,  $Z^1$ ,  $Z^2$  jelentése az 1. igénypont tárgyi köre szerinti,  $R^3$  jelentése hidrogénatom és n jelentése 1, *azzal jellemezve*, hogy valamely (V) általános képletű vegyületet — a képletben  $R^1$  és  $X^2$  jelentése a fenti — vagy annak reakcióképes származékát valamely (VI) általános képletű vegyü-

lettel — a képletben  $R^1$ ,  $R^2$ ,  $X^2$ ,  $Z^1$ ,  $Z^2$  és  $n$  jelentése a fenti — reagáltatunk.

4. Az 1—3. igénypontok bármelyike szerinti eljárás, *azzal jellemezve*, hogy olyan (I) általános képletű vegyületet, amelyben  $R^1$  jelentése hidrogénatom,  $R^2$ ,  $R^3$ ,  $X^2$ ,  $Z^1$  és  $Z^2$  jelentése az 1. igénypont szerinti és  $n$  jelentése 1 — amidinálunk.

5. Az 1. igénypont szerinti eljárás, *azzal jellemezve*, hogy olyan kiindulási vegyületet alkalmazunk, amelyben  $X^2$  jelentése D-arginil és  $R^1$ ,  $R^2$ ,  $R^3$ ,  $Z^1$ ,  $Z^2$  és  $n$  jelentése az 1. igénypont szerinti.

6. Az 1. vagy 5. igénypontok bármelyike szerinti eljárás, *azzal jellemezve*, hogy olyan kiindulási vegyületet alkalmazunk, amelyben  $R^2$  jelentése etilcsoport és  $R^1$ ,  $R^3$ ,  $Z^1$ ,  $Z^2$  és  $n$  jelentése az 1. igénypont szerinti.

7. Az 1. vagy 5—6. igénypontok bármelyike szerinti eljárás, *azzal jellemezve*, hogy olyan kiindulási vegyületet alkalmazunk, amelyben  $R^3$  jelentése karbamoilcsoport és  $R^1$ ,  $R^2$ ,  $X^2$ ,  $Z^1$ ,  $Z^2$  és  $n$  jelentése az 1. igénypont szerinti.

8. Az 1. vagy 5—6. igénypontok bármelyike szerinti eljárás, *azzal jellemezve*, hogy olyan kiindulási vegyületet alkalmazunk, amelyben  $R^3$  jelentése hidrogénatom és  $R^1$ ,  $R^2$ ,  $X^2$ ,  $Z^1$ ,  $Z^2$  és  $n$  jelentése az 1. igénypont szerinti.

9. Az 1. vagy 5—8. igénypontok bármelyike szerinti eljárás, *azzal jellemezve*, hogy olyan kiindulási anyagot alkalmazunk, amelyben  $n$  jelentése 1 és  $R^1$ ,  $R^2$ ,  $R^3$ ,  $X^2$ ,  $Z^1$  és  $Z^2$  jelentése az 1. igénypont szerinti.

10. Az 1—9. igénypontok bármelyike szerinti eljárás, *azzal jellemezve*, hogy olyan kiindulási anyagot alkalmazunk, amelyben  $Z^1$  és  $Z^2$  közül az egyik hidrogénatom és a másik nitrocsoport vagy fluoratom és  $R^1$ ,  $R^2$ ,  $R^3$ ,  $X^2$  és  $n$  jelentése az 1. igénypont szerinti.

11. Az 1—9. igénypontok bármelyike szerinti eljárás, *azzal jellemezve*, hogy olyan kiindulási vegyületet alkalmazunk, amelyben  $Z^1$  és  $Z^2$  jelentései közül az egyik hidrogénatom, a másik jelentése az 1. igénypont szerinti és 4-es helyzetben van, és  $R^1$ ,  $R^2$ ,  $R^3$ ,  $X^2$  és  $n$  jelentése az 1. igénypont szerinti.

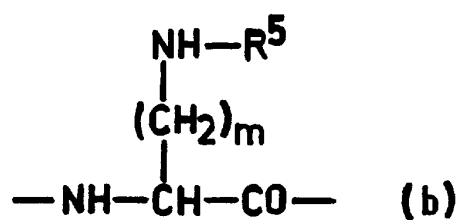
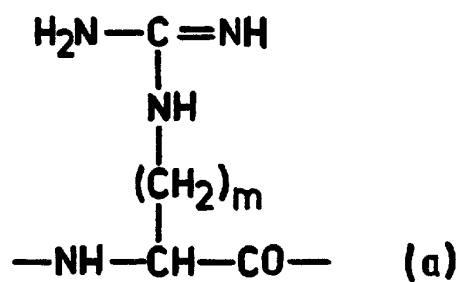
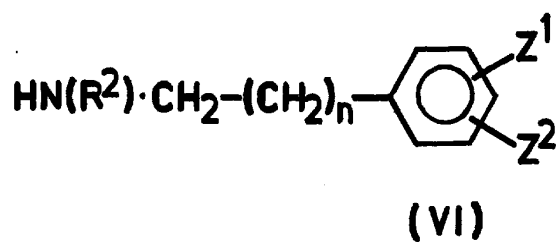
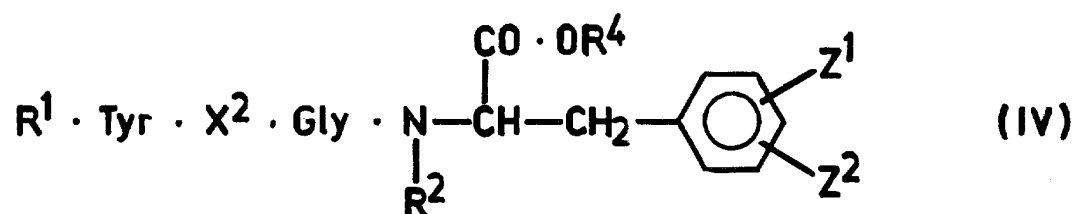
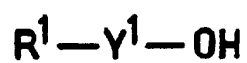
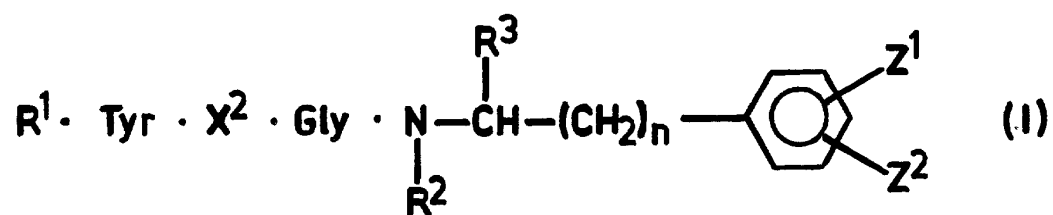
12. Eljárás gyógyszerkészítmények előállítására, *azzal jellemezve*, hogy hatóanyagként 1. igénypont szerinti eljárással előállított új (I) általános képletű peptidet — a képletben  $R^1$ ,  $R^2$ ,  $R^3$ ,  $X^2$ ,  $Z^1$ ,  $Z^2$  és  $n$  jelentése az 1. igénypont szerinti — vagy farmakológiaiilag elfogadható savaddíciós sóját gyógyszerészeti hordozóanyaggal és kívánt esetben alkalmas adalékanyaggal összekeverjük és adagolásra alkalmas készítménnyé alakítjuk.

---

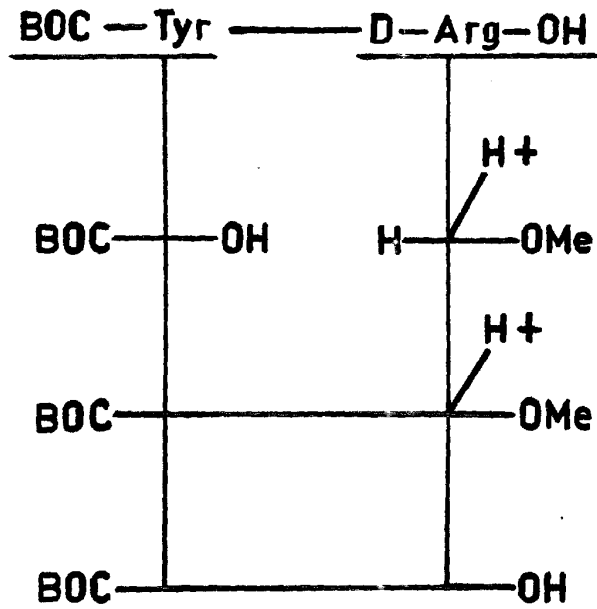
6 lap rajz képletekkel

---

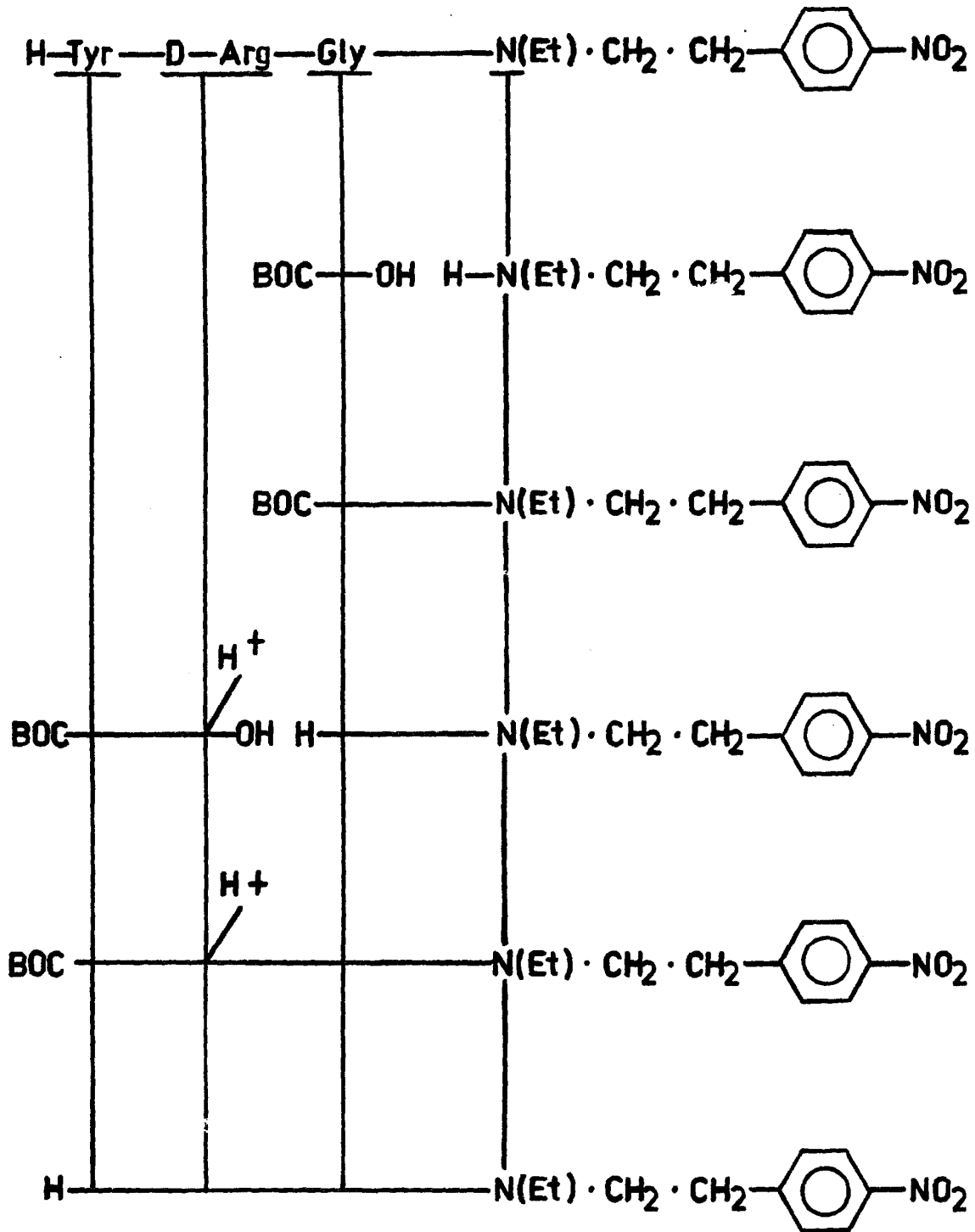


Int.Cl<sub>4</sub> C 07 K 5/08, C 07 K 5/10, A 61 K 37/02

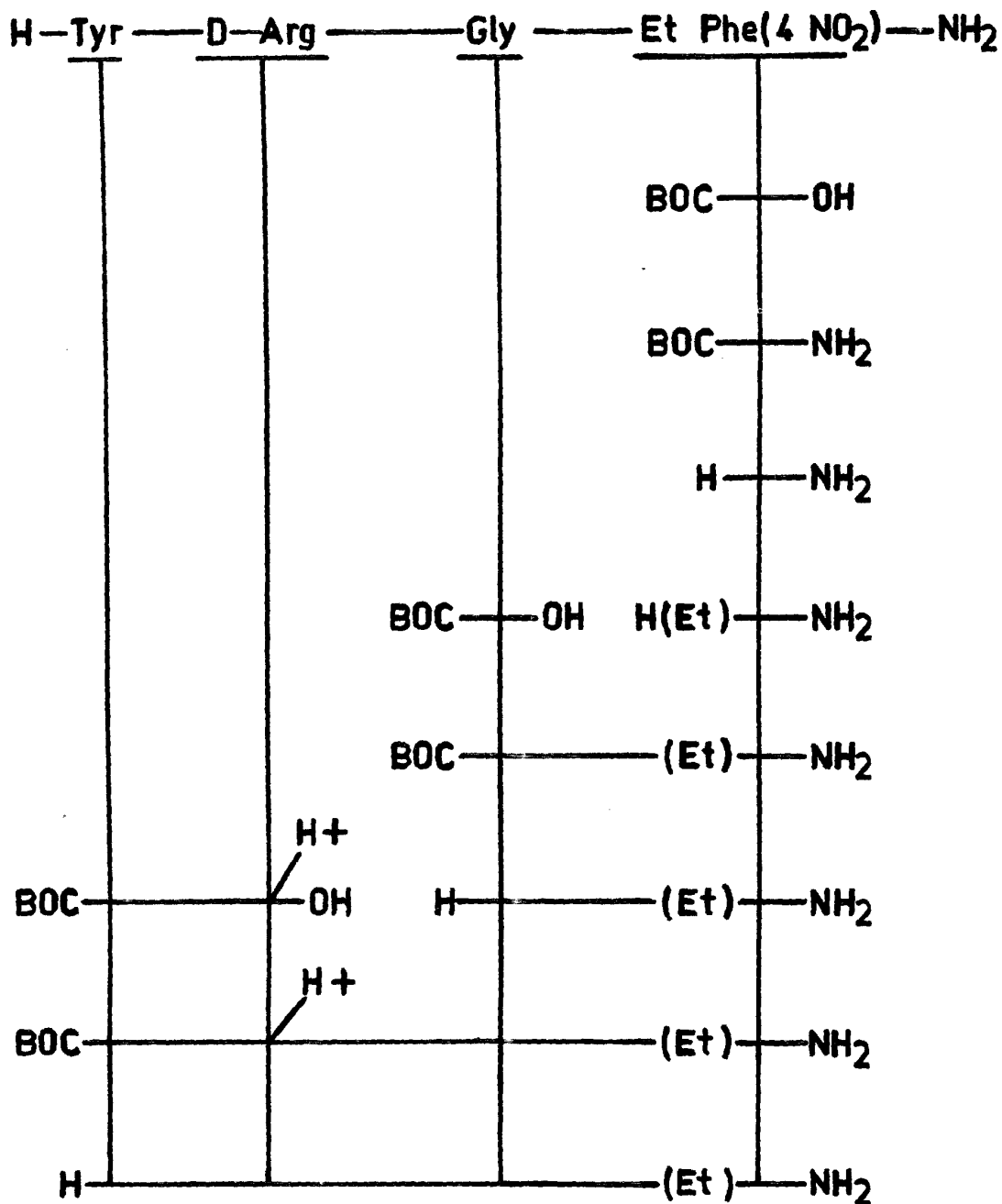
## 1. vázlat



## 2. vázlat



## 3. vázlat



## 4. Vázlat

