

A1

**DEMANDE  
DE BREVET D'INVENTION**

⑫ **N° 80 14195**

---

⑤④ Nouveaux tripeptidamides actifs sur le système nerveux central et procédé de préparation de ceux-ci.

⑤① Classification internationale (Int. Cl. 3). C 07 C 103/52; A 61 K 37/02.

②② Date de dépôt..... 26 juin 1980.

③③ ③② ③① Priorité revendiquée : Hongrie, 28 juin 1979, n° RI-717.

④① Date de la mise à la disposition du  
public de la demande..... B.O.P.I. — « Listes » n° 4 du 23-1-1981.

---

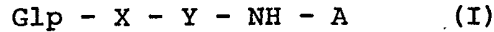
⑦① Déposant : Société dite : RICHTER GEDEON VEGYESZETI GYAR RT, Société régie par les  
lois en vigueur en Hongrie, résidant en Hongrie.

⑦② Invention de : Lajos Kisfaludy, Tamás Szirtes, Lajos Baláspiri, Éva Pálosi, László Sporny, et  
Ádám Sarkadi.

⑦③ Titulaire : *Idem* ⑦①

⑦④ Mandataire : Cabinet Ores,  
6, av. de Messine, 75008 Paris.

La présente invention est relative à la préparation de nouveaux tripeptidamides actifs sur le système nerveux central, qui répondent à la formule générale I ci-après :



5 dans laquelle :

X représente un groupe L-norleucyle, L-leucyle, L-norvalyle, D-leucyle, L-prolyle, L-2-aminobutyryle, L-valyle, L-thréonyle, L-isoleucyle, L-2-aminodécanoyle, L-cyclohexyl-alanyle ou L-tert.-butyl-séryle et

10 Y représente un groupe L-prolyle, ou

X représente un groupe L-histidyle et

Y représente un groupe L-homoprolyle ou D-pipécolyle ; de plus

A représente un atome d'hydrogène ou un groupe alcoyle comportant de 1 à 10 atomes de carbone ou un groupe alcoyle

15 comportant 1 à 3 atomes de carbone, substitué par un groupe diméthylamine, mais lorsque X représente un groupe L-leucyle, A est différent d'un atome d'hydrogène, ainsi qu'à la préparation de complexes de ces composés.

20 Les nouveaux tripeptidamides qui correspondent à la formule générale définie ci-dessus sont des analogues du L-pyroglutamyl-L-histidyl-L-prolinamide (Glp-His-Pro-NH<sub>2</sub>) connu également sous le nom d' "hormone libérant la thyrotropine" (TRH), dans lesquels, cependant, un amino-acide et plus précisément le groupe L-histidyle qui se

25 trouve en position 2- ou le groupe L-histidyle qui se trouve en position 3- est remplacé par un autre amino-acide indiqué dans la définition ci-dessus.

L'existence de la TRH était déjà connue dans les années 1960, mais sa structure n'a été élucidée que dans

30 les années 1969 ou 1970 par les groupes de chercheurs de R. GUILLEMIN et de A. SCHALLY, respectivement, presque simultanément, mais indépendamment l'un de l'autre [cf. Bowers, C.Y., etc., Endocrinology 86, 1143 (1970) et R. Burgus, etc., C.R. Acad. Sci. (PARIS) 269, 1870 (1969)].

35 Le tripeptide TRH a été décrit à l'origine comme un facteur régularisant la libération de la TSH (ou thyrostimuline) dans l'hypophyse des mammifères ; la recherche s'intéressant à cette hormone s'est orientée cependant

dans une nouvelle direction lorsqu'il fut reconnu que la fonction biologique de ce tripeptide n'était pas limitée à la régularisation de la libération de la thyrostimuline, mais consistait également en une action sur le système nerveux central [Cf. N.P. Plotnikoff et ses collaborateurs, Science 178, 417 (1972) et A.J. Prange et ses collaborateurs, Lancet 2, 999 (1972)] . On a alors constaté que la TRH, à côté de la fonction hormonale déjà mentionnée, diminue considérablement la durée du sommeil provoqué par des barbituriques ou par l'alcool et réduit également l'hypothermie provoquée par différents médicaments et accroît l'activité locomotrice. Un autre facteur important de l'action exercée par la TRH sur le système nerveux central est l'inhibition de la catalepsie provoquée par l'halopéridol. Il a semblé, par conséquent, désirable pour la pratique thérapeutique de préparer des analogues de la TRH qui n'aient qu'une faible action sur l'hypophyse, mais qui aient par contre et même surpassent l'action de la TRH sur le système nerveux central. C'est en vue de cet objectif qu'ont été préparés les composés décrits dans les Demandes de Brevets Allemands publiées avant examen 2 343 035, 2 343 037, 2 449 167, 2 514 381, 2 609 154 et 2 639 393 ainsi que dans le Brevet Belge 819 198. La recherche y relative effectuée jusqu'ici, dont les expériences et les résultats ont été résumés par A.J. Prange et collaborateurs ("The Role of hormones in Depression", Life Sciences 20, 1305 (1977)) et par A.V. Schally et collaborateurs ["Hypothalamic Regulatory Hormones", Ann. Rev. Biochem. 47, 89 (1978)], n'a pu cependant conduire à des résultats satisfaisants à tous les points de vue pour les besoins de la pratique thérapeutique.

Il a été trouvé à présent par la Demanderesse que l'on peut par le remplacement systématique de certains amino-acides de la molécule de la TRH édifiée à partir de trois amino-acides, obtenir que l'action hormonale du tripeptide soit totalement supprimée ou du moins considérablement réduite, tandis que l'action exercée sur le système nerveux central est conservée ou même considéra-

blement augmentée. Les analogues de la TRH qui contiennent en position 2- à la place du groupe L-histidyle, un groupe amino-acide aliphatique comportant une chaîne carbonée droite ou ramifiée, se sont avérés particulièrement avantageux de ce point de vue. De tels analogues de la TRH présentent, pour une absence pratiquement complète de l'action hormonale, une action sur le système nerveux central qui dépasse plusieurs fois l'action de cette nature de la TRH. Les analogues de la TRH dans lesquels le groupe L-histidyle reste inchangé en position 2-, mais où le groupe L-prolyle de la TRH qui se trouve en position 3- est remplacé par un groupe L-homoprolyle ou D-pipécolyle, se sont, en outre, également avérés avantageux.

Pour préparer les nouveaux tripeptidamides de formule générale I, on part, conformément à l'invention, d'un amide d' amino-acide substitué de formule générale Y-NH-A, dans laquelle Y et A ont les significations indiquées à propos de la formule générale I, qui contient à la place de Y le groupe amino-acide du produit final désiré ; à cet amide, on couple tout d'abord pas à pas, en mettant en oeuvre les méthodes peptidochimiques usuelles, le L-amino-acide désiré à la place de X, puis le groupe L-pyroglytamyle qui se trouve en position 1- dans le produit final, après quoi l'on sépare éventuellement les groupes protecteurs introduits dans les réactions de couplage mentionnées plus haut. Pour préparer les tripeptidamides de formule générale I contenant un groupe L-histidyle à la place de X, on peut également procéder à l'acylation du composé de départ de formule générale Y-NH-A directement à l'aide de l'azide protégé préparé à partir de l'hydrazide Z-Gln-His-NH-NH<sub>2</sub>, où Z signifie un groupe protecteur benzyloxycarbonyle et soumettre le tripeptidamide protégé de formule générale Z-Gln-His-Y-NH-A obtenu à une hydrogénation catalytique, puis chauffer la solution dans l'acide acétique obtenue à 60-70°C, après séparation du catalyseur par filtration, le groupe glutamyle étant cyclisé dans un temps de réaction d'environ 30 minutes pour donner un acide pyroglutamique.

Les tripeptidamides de formule générale I préparés de cette manière peuvent être isolés par cristallisation ou lyophilisation à partir du mélange réactionnel ; si on le désire, les produits obtenus peuvent être transformés en des complexes à la manière habituelle.

Lors de l'édification de la molécule du tripeptide de formule générale I, qui a lieu pas à pas, le composé de départ de formule générale Y-NH-A qui est avantageusement introduit en excès est acylé à l'aide d'un dérivé activé, avantageusement à l'aide d'un pentafluorophénylester, ou bien on le fait réagir, le cas échéant, avec un anhydride mixte d'un L-amino-acide protégé de formule générale Boc-Y-OH. Lorsque l'on utilise des pentafluorophénylesters, les dérivés dipeptides protégés correspondants de formule générale Boc-X-Y-NH-A sont obtenus dans un temps de réaction extrêmement court, en l'espace de quelques minutes, le produit pouvant être isolé facilement et le plus souvent sous une forme ne requérant pas de purification ultérieure. On peut alors obtenir des dipeptides correspondants, libres à leur groupe terminal, par acidolyse à partir des dérivés dipeptides protégés obtenus de cette manière ; on fait alors réagir ces dipeptides libres avec des pentafluorophénylesters de l'acide L-pyroglutamique protégé de formule générale Z-Glp-OPFP, permettant ainsi l'obtention du tripeptide protégé de formule générale Z-Glp-X-Y-NH-A, d'où le groupe protecteur Z peut être éliminé, avantageusement par hydrogénation catalytique.

Les amides libres de formule générale H-Y-NH-A contenant un groupe L-homopropyle ou un groupe D-pipécolyle à la place de Y peuvent également être avantageusement acylés à l'aide des azides préparés à partir des hydrazides de formule générale Z-Gln-His-N<sub>2</sub>-H<sub>3</sub>. Ce processus offre l'avantage particulier que les hydrazides sont des produits intermédiaires facilement cristallisables qui sont, de ce fait, susceptibles d'être isolés sous une forme très pure. Au cours de la dernière étape du procédé, le groupe protecteur Z peut également, dans ce cas, avantageusement être

séparé par hydrogénation catalytique, la solution étant ensuite chauffée à 60-70°C et le groupe glutamyle étant, par suite, transformé en groupe pyroglutamyle.

La purification du produit final obtenu peut avoir lieu par simple cristallisation ou reprécipitation ou si c'est nécessaire, par chromatographie sur colonne. Dans certains cas, le produit final peut également être terminé par simple lyophilisation après l'élimination des produits secondaires.

Les activités pharmacologiques des tripeptides préparés conformément à l'invention, ont été examinées à l'aide des méthodes biologiques décrites dans ce qui suit :

1. Inhibition de la catalepsie par l'halopéridol sur les rats

(cf. J. Delay et P. Deniker, Compt. Rend. Cong. Méd. aliénistes neurologistes, 19, 497, Luxembourg 1952).

40 mg/kg d'halopéridol, c'est-à-dire de 4-(p-chlorophényl)-1- $\beta$ -(p-fluorobenzoyl-propyle)-pipéridine-4-ol ont été administrés aux animaux par voie sous-cutanée et l'apparition de la catalepsie a été contrôlée au bout de 120 minutes ; les rats ont ensuite été divisés en groupe de dix et on leur a administré par voie intraveineuse des doses de TRH et des nouveaux tripeptides analogues à la TRH, respectivement. Les animaux des groupes témoins ont été traités par une solution physiologique de chlorure de sodium. L'effet de suppression de la catalepsie des différents composés a été vérifié 15, 30, 90 et 120 minutes après le traitement. Les animaux qui, après que l'on ait placé leurs pattes antérieures sur une colonne d'une hauteur de 7 cm n'ont pas corrigé leur position en l'espace de 30 secondes, ont été considérés cataleptiques.

Les valeurs de DE<sub>50</sub> correspondantes ont été déterminées par analyse "Probit" pour les différents constituants actifs, à partir du nombre des animaux ne présentant pas de catalepsie.

Ces expériences ont été exécutées sur des rats Wistar mâles d'un poids de 160 à 180 g.

2. Potentialisation de l'activité locomotrice provoquée par le L-Dopa sur des souris

(cf. "The Thyroid Axis, Drugs and Behavior" p. 116, A.J. Prage Jr., Raven Press, New York, 1974).

5 On a administré aux animaux tout d'abord 40 mg/kg de N-méthyl-N-propargyl-benzilamine (Pargyline), puis 20 mg/kg de TRH et, respectivement, les mêmes doses des nouveaux tripeptides à étudier, puis enfin 400 mg/kg de L-Dopa, tous par voie intrapéritonéale. L'activité locomotrice des animaux a été mesurée 30, 60, et 90 minutes après ce traitement ; les valeurs obtenues sont indiquées dans le Tableau ci-après, en pourcentages rapportés aux valeurs obtenues sur les animaux traités par la TRH. 15 souris mâles d'un poids de 18 à 22 g ont été utilisées dans chacune de ces expériences.

3. Action d'inversion de l'hypothermie provoquée par la réserpine sur des souris

[cf. B.M. Askew, Life Sci. 2, 725-730 (1963)].

20 On administre à des souris mâles d'un poids de 18 à 22 g divisées en groupes de dix, 5 mg/kg de réserpine par voie intrapéritonéale ; après 16 heures, on administre aux animaux des doses de 20 mg/kg de TRH et du tripeptide à étudier, respectivement.

25 La température rectale des animaux est mesurée avant le traitement par la réserpine (dans le tableau sous "norm"), après 16 heures de traitement par la réserpine (dans le tableau sous "rés") et une ou deux heures après l'administration du tripeptide à étudier (dans le tableau sous "après le traitement"). Le tableau donne les valeurs moyennes des températures rectales mesurées sur 10 souris.

4. Influence de la durée du sommeil provoqué par l'hexobarbital

35 On administre à des souris mâles divisées en groupes de dix, 60 mg/kg d'hexobarbital-Na ("Evipan Bayer", Marque déposée) par voie intraveineuse ; au bout de 10 minutes, on administre aux animaux des doses de 20 mg/kg du tripeptide à examiner, par voie intrapéritonéale. Les durées du sommeil sont indiquées dans le tableau ci-dessous en

pourcentages rapportés aux valeurs mesurées sur les animaux du groupe témoin (valeurs moyennes de 10 animaux chaque fois).

5. Narcose provoquée par l'éthanol

5 [cf. J.M. Cott et autres, J. Pharmacol. Exp. Ther. 196, 594 (1976)].

On administre 4,5 g d'éthanol par voie intrapéritonéale à des souris des deux sexes d'un poids de 18 à 22 g, divisées en groupes de 20 ; au bout de 10 minutes, on administre aux animaux, par voie intrapéritonéale, des doses de 20 mg/kg du tripeptide à étudier. Les durées du sommeil sont indiquées dans le tableau ci-dessous en pourcentages rapportés aux valeurs mesurées sur les animaux du groupe témoin (valeurs moyennes sur 20 animaux chaque fois).

15 6. Activité hormonale (action TSH) sur les rats

Des rats Wistar mâles, d'un poids d'environ 200 g, sont divisés en groupes de 7 à 8 animaux et on leur administre par voie intraveineuse, des doses de 20 mg/kg de TRH et du tripeptide à étudier, respectivement. On détermine par radioimmuno essai à partir du plasma des animaux, la réaction TSH des animaux 15 minutes après le traitement par la TRH et par les nouveaux composés analogues à la TRH, respectivement. Les taux d'action relatifs sont calculés selon la méthode des quatre points à l'aide d'un calculateur TOA 101, le taux d'action de la TRH étant considéré comme égal à 100.

Les données relatives aux actions biologiques des composés de formule générale I les plus importants, déterminées selon les méthodes pharmacologiques décrites ci-dessus, sont rassemblées dans le tableau qui va suivre.



T A B L E A U

X Y A	Glp-X-Y-NH-A	inhibition de la catalepsie provoquée par l'halopéridol DE <sub>50</sub> mg/kg min	Potentialisation de l'activité loco- motrice provoquée par le L-dopa après		Inversion de l'hypo- thermie provoquée par la résérpine ; température rectale, °C		Durée du sommeil provoqué par l'éthano- l & des ani- maux té- moins	Action de la TRH					
			30'	60'	90'	normale rés. après trai- tement 1h			2h	Durée du sommeil pro- voqué par l'hexobarbital & des animaux témoins			
Iva Pro	H	11,4	120	254	156	214	36,2	25,9	36,4	32,0	114	77	0
Ileu Pro	H	16,8	120	249	105	112	36,3	27,1	37,6	32,2	77	74	3,8
Ieu Pro	Et	56,6	30	102	90	201	36,2	28,7	30,7	33,4	126	65	0
Hls HPro	H	13,7	120	209	85	110	36,5	28,5	35,3	35,4	63	114	68,6
Aeu Pro	H	80	15	27	14	18	36,3	19,7	22,2	25,4	84	39	0,02
TRH		80	15	100	100	100	36,2	25,9	35,5	30,2	56	35	100,0

Durée du sommeil provoquée par l'hexobarbital ( $\bar{X} \pm SE$ ) : 38,4  $\pm$  1,36 min.Durée du sommeil provoquée par l'éthanol ( $\bar{X} \pm SE$ ) : 46,9  $\pm$  2,17 min.

Il ressort des données qui figurent dans ce tableau que le remplacement de l'His par un amino-acide aliphatique comportant des chaînes carbonées droites ou ramifiées, dans la molécule de TRH provoque l'arrêt ou au moins une réduction considérable de la libération de la TSH, par exemple l'inhibition de la catalepsie provoquée par l'halopéridol est de 2 à 7 fois plus forte. Certains des nouveaux analogues de la TRH présentent également une potentialisation importante de l'activité locomotrice ou, respectivement, une réduction importante de la durée du sommeil provoqué par l'hexobarbital ou par l'éthanol. Il est également remarquable que les nouveaux analogues du TRH qui contiennent l'His, s'ils conservent environ 70 % de l'action hormonale, présentent en même temps, en contrepartie, des effets notables sur le système nerveux central.

Les nouveaux tripeptides qui peuvent être préparés conformément à l'invention ainsi que leurs sels ou leurs complexes utilisables en pharmacie, peuvent être utilisés en thérapeutique sous la forme de préparations médicamenteuses usuelles. Ces préparations pharmaceutiques contiennent les constituants actifs conformes à l'invention accompagnés de substances de support minérales ou organiques qui conviennent à l'administration par voie digestive ou parentérale. Les préparations médicamenteuses peuvent, par exemple, être préparées sous la forme de lyophilisats solides, dans lesquels des composés qui ne réagissent pas avec les peptides, par exemple des hydrates de carbone, peuvent être utilisés ; elles peuvent, cependant, également, être préparées sous la forme de suspensions concentrées ou diluées ou d'émulsions ou encore de comprimés ou de préparations à injecter.

La mise en oeuvre pratique du procédé conforme à l'invention, à savoir la fabrication chimique des nouveaux analogues de la TRH conformes à l'invention, sera mieux comprise à l'aide des exemples qui vont suivre. Les abréviations utilisées dans ces exemples correspondent aux abréviations classiques en usage dans la chimie des peptides. Cf. J. Biol. Chem. 247, 977 (1972). On utilisera, en outre, les

autres abréviations suivantes :

	Ada	acide L-2-amino-décanoïque
	Abu	acide L-2-amino-butyrique
	Cha	L-cyclohexylalanine
5	Pip	acide L-pipécolinique
	HPro	L-homoproline
	DAE	2-diméthylamino-éthyl
	DCC	dicyclohexylcarbodiimide
	PFPOH	pentafluorophénol
10	DCU	dicyclohexylurée
	DMFA	diméthylformamide

Les points de fusion des composés indiqués dans les exemples ont été déterminés au moyen d'un appareil de mesure des points de fusion selon le Dr. Tottoli (Büchi). Les pouvoirs rotatoires optiques ont été mesurés à l'aide d'un polarimètre du type Perkin-Elmer 141. Dans les examens et les séparations par chromatographie en couche mince, on a utilisé des plaques de gel de silice "Kiesel G nach Stahl" (E. Merck, Darmstadt). Pour le développement des chromatogrammes, on a fait appel aux mélanges de solvants suivants :

15

(1) Chloroforme : méthanol 9:1

(2) Acétate d'éthyle : (pyridine:acide acétique:eau 20:6:11) 9:1

(3) Acétate d'éthyle : (pyridine:acide acétique:eau 20:6:11) 8:2

25

(4) Acétate d'éthyle : (pyridine:acide acétique:eau 20:6:11) 3:2

Une solution de ninhydrine a été utilisée pour le développement des taches ; après la pulvérisation, les plaques ont été séchées pendant environ 5 minutes à 105°C. Les chromatogrammes ont ensuite été placés dans une atmosphère gazeuse de chlore et développés, après aération, à l'aide d'une solution de o-tolidine-iodure de potassium.

30

Pour la purification par chromatographie sur colonne des produits, on a utilisé le gel de silice "Kieselgel G" (E. Merck) d'une granulométrie de 0,062 à 0,2 mm.

35

Un évaporateur à vide "Rotavapor R" (Büchi) a été utilisé pour l'évaporation sous vide des solutions ; l'éva-

poration a été exécutée à des températures ne dépassant pas 50°C.

Les pentafluorophénylesters des amino-acides protégés par le Boc ont été préparés par la méthode de L.Kisfaludy et autres, Ann. 1973, 1421.

Il doit être bien entendu, toutefois, que ces exemples sont donnés uniquement à titre d'illustration de l'objet de l'invention, dont ils ne constituent en aucune manière une limitation.

10 EXEMPLE 1 : L-pyroglutamyl-L-norleucyl-L-prolinamide  
1ère étape :

Chlorhydrate de L-norleucyl-L-prolinamide

2,28 g (20 mMoles) de H-Pro-NH<sub>2</sub> et 3,97 g (10 mMoles) de BOC-Nle-OPFP [cf. Kisfaludy et Coll. Hoppe-Sayler :  
15 Z. Physiol. Chemie 359, 887 (1978)] sont dissous dans 40 ml de DMFA et après 5 minutes de repos, la solution est évaporée sous vide. L'huile obtenue en tant que résidu est dissoute dans 50 ml de chloroforme, la solution est épuisée en la secouant trois fois avec 10 ml de solution N d'acide  
20 chlorhydrique, puis trois fois avec 10 ml de solution N de carbonate acide de sodium et finalement une fois avec 10 ml d'eau, puis elle est séchée à l'aide de sulfate de sodium anhydre et évaporée. Le résidu d'évaporation est dissous dans 5 ml d'acétate d'éthyle et la solution est  
25 additionnée de 10 ml de solution 5 N d'acide chlorhydrique dans de l'acétate d'éthyle. Au bout de 30 minutes, le mélange réactionnel est dilué par de l'éther, le précipité formé est séparé par filtration et séché sous vide sur de  
30 2,48 g de H-Nle-Pro-NH<sub>2</sub>.HCl (94 % du rendement théorique calculé par rapport au BOC-Nle-OPFP ; R<sub>f</sub><sup>(4)</sup> = 0,20).  
2ème étape :

Benzyloxycarbonyl-L-pyroglutamyl-L-norleucyl-L-prolinamide

35 1,05 g (4 mMoles) de H-Nle-Pro-NH<sub>2</sub>.HCl sont dissous dans 10 ml de DMFA et la solution est additionnée, sous refroidissement par la glace et agitation, de 0,56 ml (4 mMoles) de triéthylamine et de 1,89 g (4,4 mMoles) de

Z-Glp-OPFP. Après 5 minutes d'agitation, on ajoute encore 0,56 ml (4 mmoles) de triéthylamine ; le mélange est agité pendant 20 autres minutes et est ensuite évaporé sous vide jusqu'à siccité. Le résidu d'évaporation est dissous dans 40 ml de chloroforme, la solution est épuisée en la secouant deux fois avec 10 ml de solution N d'acide chlorhydrique, trois fois avec 10 ml de solution N de carbonate acide de sodium et finalement une fois avec 10 ml d'eau, puis elle est séchée sur du sulfate de sodium anhydre et évaporée sous vide. On cristallise l'huile obtenue en tant que résidu dans de l'éther et le produit brut obtenu de cette manière (1,52 g) est recristallisé dans 8 ml d'acétate d'éthyle. On obtient 1,36 g de Z-Glp-Nle-Pro-NH<sub>2</sub> (72 % de la théorie); F. 146-148°C ;  $R_f^{(3)} = 0,32$   $[\alpha]_D^{25} = -79,8^\circ$  (c = 1, dans l'acide acétique).

Analyse pour C<sub>24</sub>H<sub>32</sub>O<sub>6</sub>N<sub>4</sub> (poids moléculaire 472,55)  
calculé : C 61,00 %, H 6,83 %, N 11,86 % ;  
trouvé : C 60,90 %, H 7,04 %, N 11,87 %.

3ème étape :

L-pyroglutamyl-L-norleucyl-L-prolinamide  
1,16 g (2,46 mmoles) de Z-Glp-Nle-Pro-NH<sub>2</sub> sont dissous dans 25 ml de méthanol, la solution est additionnée de 0,2 g de catalyseur à base de charbon actif à 10 % de palladium et on fait circuler de l'hydrogène pendant 30 minutes à travers la solution. Le catalyseur est ensuite séparé par filtration et le filtrat est évaporé. Le résidu amorphe solide est trituré avec de l'éther et séparé par filtration. Le produit brut obtenu de cette manière (0,72 g) est dissous dans de l'eau, la solution est clarifiée au charbon actif et la solution limpide est lyophilisée. On obtient 0,66 g de Glp-Nle-Pro-NH<sub>2</sub> (79,5 % de la théorie) ;  $R_f^{(4)} = 0,43$  ;  $[\alpha]_D^{25} = -77,1^\circ$  (c = 1, dans l'acide acétique).

Analyse de l'acide amino : Glu 0,96 (1,0),  
Nle 1,00 (1,0), Pro 1,00 (1,01).

EXEMPLE 2 : L-pyroglutamyl-L-norvalyl-L-prolinamide

1ère étape :

Chlorhydrate de L-norvalyl-L-prolinamide

2,2 g (20 mMoles) de H-Pro-NH<sub>2</sub> et 3,83 g (10 mMoles)  
 5 de BOC-Nva-OPFP [cf. L. Kisfaludy et coll. Hoppe-Seyler :  
 Z. Physiol. Chemie 395, 887 (1978)] sont dissous dans 40 ml  
 de DMFA, on laisse reposer la solution pendant 5 minutes  
 et on l'évapore ensuite sous vide. L'huile obtenue en tant  
 que résidu est dissoute dans 50 ml de chloroforme, la solu-  
 10 tion est épuisée en la secouant trois fois avec 10 ml de  
 solution N d'acide chlorhydrique, trois fois avec 10 ml  
 de solution N de carbonate acide de sodium et finalement  
 une fois avec 10 ml d'eau, puis elle est séchée sur du sul-  
 fate de sodium anhydre et évaporée. Le résidu d'évaporation  
 15 est dissous dans 5 ml d'acétate d'éthyle et additionné de  
 10 ml d'une solution 5 N d'acide chlorhydrique dans de  
 l'acétate d'éthyle. Après 30 minutes, le mélange réaction-  
 nel est dilué par de l'éther, le précipité obtenu est séparé  
 par filtration et séché sous vide sur de l'hydroxyde de so-  
 20 dium anhydre. On obtient de cette manière 1,83 g de  
 H-Nva-Pro-NH<sub>2</sub>.HCl (73 % du rendement théorique calculé par  
 rapport au BOC-Nva-OPFP) ; R<sub>F</sub><sup>(4)</sup> = 0,10).

2ème étape :

25 Benzyloxycarbonyl-L-pyroglutamyl-L-norvalyl-L-  
 prolinamide

1,25 g (5 mMoles) de H-Nva-Pro-NH<sub>2</sub>.HCl sont mis en  
 suspension dans 15 ml de DMFA et additionnés, sous refroi-  
 dissement par de la glace et agitation, de 0,7 ml (5 mMoles)  
 de triéthylamine et de 2,15 g (5 mMoles) de Z-Glp-OPFP. Au  
 30 bout de 5 minutes, on ajoute encore 0,7 ml (5 mMoles) de  
 triéthylamine, le mélange est agité pendant 20 autres minu-  
 tes et est ensuite évaporé sous vide. Le résidu d'évapura-  
 tion est dissous dans 50 ml de chloroforme, la solution est  
 épuisée en la secouant trois fois avec 10 ml de solution  
 35 N d'acide chlorhydrique, trois fois avec 10 ml de solution  
 N de carbonate acide de sodium anhydre et finalement une  
 fois avec 10 ml d'eau, puis elle est séchée à l'aide de  
 sulfate de sodium anhydre et évaporée. On fait cristalliser

l'huile obtenue en tant que résidu, dans de l'éther et le produit brut obtenu de cette manière (1,80 g) est recristallisé dans un mélange d'éthanol et d'éther. On obtient 1,66 g de Z-Glp-Nva-Pro-NH<sub>2</sub> (72 % de la théorie) ;  
 5 F. 166-167°C ; R<sub>f</sub><sup>(3)</sup> = 0,29 ; (α)<sub>D</sub><sup>25</sup> = -87,5° (C = 1 dans l'acide acétique).

Analyse pour C<sub>23</sub>H<sub>30</sub>O<sub>6</sub>N<sub>4</sub> (poids moléculaire 458,52) calculé : C 60,25 %, H 6,59 %, N 12,22 % ;  
 trouvé : C 60,08 %, H 6,70 %, N 12,15 %.

10 3ème étape :

L-pyroglutamyl-L-norvalyl-L-prolinamide

1,42 g (3,1 mmoles) de Z-Glp-Nva-Pro-NH<sub>2</sub> sont dissous dans 30 ml de méthanol, la solution est additionnée de 0,2 g de catalyseur à base de charbon actif à 10 % de palladium et on fait circuler de l'hydrogène pendant 30 minutes  
 15 à travers la solution. Le catalyseur est ensuite séparé par filtration et le filtrat est évaporé. Le résidu amorphe solide est trituré avec de l'éther et séparé. Le produit brut obtenu de cette manière est dissous dans l'eau, la solution est clarifiée à l'aide de charbon actif et la solution limpide est lyophilisée. On obtient 0,95 g de  
 20 Glp-Nva-Pro-NH<sub>2</sub> (94 % de la théorie) : R<sub>f</sub><sup>(4)</sup> = 0,36 ;  
 [α]<sub>D</sub><sup>25</sup> = -87° (c = 1, dans l'acide acétique).

Analyse de l'acide-amino : Glu 0,97 (1,0), Nva 1,09  
 25 (1,0), Pro 1,00 (1,0).

EXEMPLE 3 : L-pyroglutamyl-L-prolyl-L-prolinamide  
 1ère étape :

Chlorhydrate de L-prolyl-L-prolinamide

2,28 g (20 mmoles) de H-Pro-NH<sub>2</sub> et 3,81 g (10 mmoles) de BOC-Pro-OPFP sont dissous dans 40 ml de DMFA, la solution est épuisée en la secouant trois fois avec 10 ml d'une solution N d'acide chlorhydrique, trois fois avec 10 ml d'une solution N de carbonate acide de sodium et finalement une fois avec 10 ml d'eau, puis elle est séchée à l'aide de sulfate de sodium anhydre et évaporée. Le résidu d'évaporation est dissous dans 5 ml d'acétate d'éthyle et additionné de 10 ml de solution 5 N d'acide chlorhydrique dans l'acétate d'éthyle. Au bout de 30 minutes, le mélange réactionnel

15

est dilué par de l'éther, le précipité obtenu est séparé par filtration et séché sous vide sur de l'hydroxyde de sodium anhydre. On obtient de cette manière 2,06 g de H-Pro-Pro-NH<sub>2</sub>.HCl (83 % du rendement théorique calculé par rapport au BOC-Pro-OPFP) ;  $R_f^{(4)} = 0,05$ .

2ème étape :

Benzyloxycarbonyl-L-pyroglutamyl-L-prolyl-L-prolinamide

0,75 g (3 mmoles) de H-Pro-Pro-NH<sub>2</sub>.HCl sont mis en suspension dans 10 ml de DMFA et additionnés, sous refroidissement par de la glace et agitation, de 0,42 ml (3 mmoles) de triéthylamine et de 1,35 g (3,15 mmoles) de Z-Glp-OPFP. Au bout de 5 minutes, on ajoute encore 0,42 ml (3 mmoles) de triéthylamine et au bout de 10 autres minutes d'agitation la suspension épaisse obtenue est évaporée sous vide. Le résidu d'évaporation cristallin est trituré avec 8 ml d'éthanol et abandonné pendant 3 heures au réfrigérateur. Le précipité obtenu est ensuite séparé par filtration et séché. On obtient de cette manière 1,0 g de Z-Glp-Pro-Pro-NH<sub>2</sub> (73 % de la théorie) ; F. 247-248°C (décomposition) ;  $R_f^{(3)} = 0,19$  ;  $[\alpha]_D^{25} = -82,8^\circ$  (c = 1, dans l'acide acétique).

Analyse pour C<sub>23</sub>H<sub>28</sub>O<sub>6</sub>N<sub>4</sub> (poids moléculaire 456,50) ; calculé : C 60,52 %, H 6,18 %, N 12,27 % ; trouvé : C 60,03 %, H 6,20 %, N 12,20 %.

25 3ème étape :

L-pyroglutamyl-L-prolyl-L-prolinamide

1,0 g (2,2 mmoles) de Z-Glp-Pro-Pro-NH<sub>2</sub> est dissous dans 50 ml d'acide acétique, on ajoute 0,2 g de catalyseur à base de charbon actif à 10 % de palladium et on fait circuler de l'hydrogène pendant une heure à travers le mélange. Le catalyseur est alors séparé par filtration, le filtrat est évaporé et le résidu d'évaporation est trituré avec de l'éther. Le produit brut amorphe obtenu de cette manière (0,60 g) est dissous dans l'eau, la solution est clarifiée à l'aide de charbon actif et la solution limpide est lyophilisée. On obtient 0,50 g de Glp-Pro-Pro-NH<sub>2</sub> (70 % de la théorie) ;  $R_f^{(4)} = 0,10$  ;  $[\alpha]_D^{25} = -223^\circ$  (c = 1 dans l'acide acétique).



EXEMPLE 4 : L-pyroglutamyl-L-valyl-L-prolinamide

1ère étape :

Chlorhydrate de L-valyl-L-prolinamide

0,49 g (4,2 mMoles) de H-Pro-NH<sub>2</sub> et 0,82 g (2,14 mMoles)

5 de BOC-Val-OPFP sont dissous dans 10 ml de DMFA et après  
30 minutes de repos, la solution est évaporée sous vide.  
L'huile obtenue en tant que résidu d'évaporation est dis-  
soute dans 10 ml de chloroforme, la solution est épuisée  
10 en la secouant deux fois avec 3 ml de solution N d'acide  
chlorhydrique, trois fois avec 3 ml de solution N de car-  
bonate acide de sodium et finalement une fois avec 3 ml  
d'eau, puis elle est séchée à l'aide de sulfate de sodium  
anhydre et évaporée. Le résidu d'évaporation est dissous  
15 dans 3 ml d'acétate d'éthyle et additionné de 3 ml de solu-  
tion N d'acide chlorhydrique dans l'acétate d'éthyle. Après  
une heure de repos, le mélange réactionnel est dilué par  
20 de l'éther, le précipité est séparé par filtration et séché  
sous vide sur de l'hydroxyde de sodium anhydre. On obtient  
de cette manière 0,51 g de H-Val-Pro-NH<sub>2</sub>.HCL (95 % du ren-  
dement théorique calculé par rapport au BOC-Val-OPFP- ;  
R<sub>f</sub><sup>(4)</sup> = 0,10).

2ème étape :

Benzylloxycarbonyl-L-pyroglutamyl-L-valyl-L-  
prolinamide

25 On met 0,38 g (1,52 mMoles) de H-Val-Pro-NH<sub>2</sub>.HCL en  
suspension dans 10 ml de DMFA et on ajoute à cette suspension  
sous refroidissement par de la glace et agitation, 0,22 ml  
(1,52 mMoles) de triéthylamine et 0,69 g (1,6 mMoles) de  
Z-Clp-OPFP. Au bout de 10 minutes, on ajoute encore 0,22 ml  
30 (1,52 mMoles) de triéthylamine et après 30 autres minutes  
d'agitation, le mélange réactionnel est évaporé sous vide.  
Le résidu d'évaporation est dissous dans 15 ml de chloro-  
forme, la solution est épuisée en la secouant deux fois avec  
5 ml de solution N d'acide chlorhydrique, trois fois avec  
35 5 ml de solution N de carbonate acide de sodium et finale-  
ment une fois avec 5 ml d'eau, puis elle est séchée à l'aide  
de sulfate de sodium anhydre et évaporée sous vide. On fait  
cristalliser le résidu huileux dans de l'éther ; on obtient

de cette manière 0,54 g de Z-Glp-Val-Pro-NH<sub>2</sub> (77 % de la théorie) ; F. 116-118°C ;  $R_f^{(3)} = 0,30$  ;  $[\alpha]_D^{25} = -100,5^\circ$  (c = 1 dans l'acide acétique).

3ème étape :

5 L-pyroglutamyl-L-valyl-L-prolinamide

9,65 g (21,2 mMoles) de Z-Glp-Val-Pro-NH<sub>2</sub> sont dissous dans 300 ml d'eau et après addition de 2 g de catalyseur à base de charbon actif à 10 % de palladium, on fait circuler de l'hydrogène pendant 5 heures à travers la solution. Le catalyseur est ensuite séparé par filtration et le filtrat est évaporé. On dissout l'huile obtenue en tant que résidu dans l'éthanol, on évapore la solution et cette opération est encore répétée à deux reprises. Le résidu amorphe solide finalement obtenu est trituré avec de l'éther ; on obtient de cette manière 4,47 g de Glp-Val-Pro-NH<sub>2</sub> (85 % de la théorie) ;  $R_f^{(4)} = 0,34$  ;  $[\alpha]_D^{25} = -104,9^\circ$  (c = 1 dans l'acide acétique).

Analyse de l'acide-amino : Glu 1,03 (1,01), Val 1,00 (1,0), Pro 0,94 (1,0).

20 EXEMPLE 5 : L-pyroglutamyl-L-isoleucyl-L-prolinamide  
1ère étape :

Benzyloxycarbonyl-L-isoleucyl-L-prolinamide

51,4 g (0,1 mole) de Z-Ile-OPFP et 12,5 g (0,11 mole) de H-Pro-NH<sub>2</sub> sont dissous dans 250 ml de DMFA et on ajoute à la solution 14,0 ml (0,1 mole) de triéthylamine. On laisse reposer le mélange réactionnel pendant une nuit et on l'évapore sous vide le jour suivant. L'huile obtenue en tant que résidu est dissoute dans 500 ml de chloroforme, la solution est épuisée en la secouant deux fois avec 100 ml d'une solution N d'acide chlorhydrique, deux fois avec 100 ml d'une solution N de carbonate acide de sodium et finalement une fois avec 100 ml d'eau, puis elle est séchée à l'aide de sulfate de sodium anhydre et évaporée. On fait cristalliser le résidu huileux à l'aide d'un mélange de 100 ml d'éther et 100 ml de n-hexane. Le produit brut obtenu de cette manière (31,7 g) est recristallisé dans un mélange de 60 ml d'acétate d'éthyle et 60 ml de n-hexane. On obtient 30,32 g de Z-Ile-Pro-NH<sub>2</sub> (84 % de la théorie) ; F. 127-128°C ;

$R_F^{(2)} = 0,54.$

2ème étape :

Chlorhydrate de L-isoleucyl-L-prolinamide

24,0 g (66,5 mMoles) de Z-Ile-Pro-NH<sub>2</sub> sont dissous dans 470 ml de méthanol, on ajoute 30 ml de solution 2,4 N d'acide chlorhydrique méthanolique et 4 g de catalyseur à base de charbon actif à 10 % de palladium à la solution et on fait circuler de l'hydrogène pendant une heure à travers le mélange. Le catalyseur est ensuite séparé par filtration et le filtrat évaporé. Le résidu d'évaporation est trituré avec de l'éther et le produit brut obtenu de cette manière (20 g) est recristallisé dans un mélange de méthanol et d'éther. On obtient 16,05 g de H-Ile-Pro-NH<sub>2</sub>.HCl (81 % de la théorie) ; F. 135-140°C ;  $R_F^{(4)} = 0,15.$

3ème étape :

Benzyloxycarbonyl-L-pyroglutamyl-L-isoleucyl-L-prolinamide

On met 0,90 g (3,5 mMoles) de H-Ile-Pro-NH<sub>2</sub>.HCl en suspension dans 20 ml de DMFA et on ajoute à cette suspension sous refroidissement par de la glace et agitation, 0,49 ml (3,5 mMoles) de triéthylamine et 1,57 g (3,7 mMoles) de Z-Glp-OPFP. Au bout de 5 minutes, on ajoute encore 0,49 ml (3,5 mMoles) de triéthylamine et après 20 autres minutes d'agitation, le mélange réactionnel est évaporé sous vide. Le résidu d'évaporation est dissous dans 30 ml de chloroforme, la solution est épuisée en la secouant trois fois avec 7 ml d'une solution N d'acide chlorhydrique, trois fois avec 7 ml d'une solution N de carbonate acide de sodium et finalement une fois avec 7 ml d'eau, puis elle est séchée à l'aide de sulfate de sodium anhydre et évaporée. L'huile obtenue en tant que résidu est taitée à plusieurs reprises avec de l'éther et l'éther est décanté ; on fait enfin cristalliser le produit brut à l'aide d'éther, puis on le sépare, on le dissout dans de l'acétate d'éthyle et on le précipite à nouveau, par addition d'éther. On obtient de cette manière 1,18 g de Z-Glp-Ile-Pro-NH<sub>2</sub> (71,5 % de la théorie) ; F. 87-89°C ;  $R_F^{(3)} = 0,36$  % ;  $[\alpha]_D^{25} = -91,4^\circ$  (c = 1, dans l'acide acétique).

Analyse pour  $C_{24}H_{32}O_6N_4$  (poids moléculaire 427,55) :  
calculé : C 61,00 %, H 6,83 %, N 11,6 %  
trouvé : C 59,19 %, H 6,88 %, N 11,16 %.

4ème étape :

- 5 L-pyroglutamyl-L-isoleucyl-L-prolinamide  
4,72 g (10 mMoles) de Z-Glp-Ile-Pro-NH<sub>2</sub> sont dissous dans 100 ml de méthanol. On ajoute à cette solution 1 g de catalyseur à base de charbon actif à 10 % de palladium et on fait circuler de l'hydrogène pendant une heure à tra-
- 10 vers le mélange. Le catalyseur est alors séparé par filtration, le filtrat est évaporé et le résidu est trituré avec de l'éther. Le produit brut obtenu de cette manière (3,22 g) est dissous dans l'eau et la solution est clarifiée à l'aide de charbon actif. La solution limpide est lyophilisée ; on
- 15 obtient 3,03 g de Glp-Ile-Pro-NH<sub>2</sub> (98 % de la théorie) ;  
 $R_f^{(4)} = 0,45$  ;  $[\alpha]_D^{25} = -100,7^\circ$  (c = 1 dans l'acide acétique).  
Analyse de l'acide-amino : Glu 0,95 (1,0), Ile 1,00 (1,0), Pro 1,02 (1,0).

- 20 EXEMPLE 6 : L-pyroglutamyl-L- $\alpha$ -aminobutyryl-L-prolinamide  
lère étape :

- Pentafluorophénylester de l'acide tert.-butyloxy-carbonyl-L- $\alpha$ -aminobutyrique
- On met 7,7 g (20 mMoles) de BOC-Abu-OH.DCMA en suspension dans 60 ml d'éther, on ajoute à cette suspension
- 25 20 ml de solution 2 N d'acide sulfurique et on agite jusqu'à la dissolution de la substance en suspension. La phase étherée est ensuite séparée, épuisée en la secouant avec 20 ml de solution 2 N d'acide sulfurique, puis avec 20 ml d'eau, séchée à l'aide de sulfate de sodium anhydre et évaporée.
- 30 L'huile obtenue en tant que résidu (4,14 g) et 3,7 g (20 mMoles) de PFPOH sont dissous dans 25 ml d'acétate d'éthyle, la solution est refroidie au-dessous de 5°C et additionnée, sous agitation, de 3,92 g (19 mMoles) de DCC. Le mélange réactionnel est agité pendant une heure au bain
- 35 glacé, puis le DCU est séparé par filtration et le filtrat est évaporé. L'huile obtenue en tant que résidu est dissoute dans le n-hexane et on laisse reposer la solution pendant

une heure au réfrigérateur. Le DCU qui s'est encore déposé, est séparé par filtration et le filtrat est concentré jusqu'à un volume de 20 ml. Après le commencement de la séparation des cristaux, la suspension est placée dans un ré-

5 frigérateur et y est abandonnée pendant une nuit ; les cristaux sont séparés par filtration le jour suivant. On obtient de cette manière 5,57 g de BOC-Abu-OPFP (76 % de la théorie): F. 83-84°C ;  $R_f^{(1)} = 0,86$  ;  $[\alpha]_D^{25} = -32,8^\circ$  (c = 1, dans l'acétate d'éthyle).

10 Analyse pour  $C_{15}H_{16}O_4NF_5$  (poids moléculaire 369,29) :  
calculé : C 48,79 %, H 4,37 %, N 3,79 %, F 25,72 % ;  
trouvé : C 48,55 %, H 4,28 %, N 3,70 %, F 25,44 %.

2ème étape :

Chlorhydrate de L- $\alpha$ -aminobutyryl-L-prolinamide

15 3,2 g (28 mMoles) de H-Pro-NH<sub>2</sub> et 5,16 g (14 mMoles) de BOC-Abu-OPFP sont dissous dans 60 ml de DMFA et après 5 minutes de repos, la solution est évaporée sous vide. L'huile obtenue en tant que résidu est dissoute dans 100 ml de chloroforme, la solution est épuisée en la secouant deux

20 fois avec 20 ml d'une solution N d'acide chlorhydrique et deux fois avec 20 ml d'une solution N de carbonate acide de sodium, puis elle est séchée à l'aide de sulfate de sodium anhydre et évaporée. L'huile obtenue en tant que résidu est dis-

25 soute dans 20 ml d'acétate d'éthyle et additionnée de 20 ml d'une solution 6 N d'acide chlorhydrique dans l'acétate d'éthyle. Au bout d'une heure, le mélange réactionnel est dilué par de l'éther, le précipité obtenu est séparé par filtration et séché sous vide sur de l'hydroxyde de sodium

30 anhydre. Le produit brut obtenu de cette manière (3,86 g) est trituré avec 20 ml de DMFA froid. On obtient 2,40 g de H-Abu-Pro-NH<sub>2</sub>.HCl (73 % du rendement théorique calculé par rapport au BOC-Abu-OPFP) ;  $R_f^{(4)} = 0,10$ .

3ème étape :

35 Benzyloxycarbonyl-L-pyroglutamyl-L- $\alpha$ -aminobutyryl-L-prolinamide

On met 2,13 g (9 mMoles) de H-Abu-Pro-NH<sub>2</sub>.HCl en suspension dans 30 ml de DMFA et on ajoute à cette suspension

sous refroidissement par de la glace et agitation, 1,26 ml (9mMoles) de triéthylamine et 3,95 g (9,2 mMoles) de Z-Glp-OPFP. Au bout de 5 minutes, on ajoute encore 1,26 ml (9 mMoles) de triéthylamine et après 20 minutes encore d'agi-  
 5 tation, le mélange réactionnel est évaporé sous vide. Le résidu cristallin est trituré avec 20 ml d'éthanol, abandonné pendant une nuit au réfrigérateur, puis séparé par filtra-  
 tion. On obtient de cette manière 3,30 g de Z-Glp-Abu-Pro-NH<sub>2</sub> (82 % de la théorie) ; F. 175-176°C ; R<sub>f</sub><sup>(3)</sup> = 0,28 ;  
 10  $[\alpha]_D^{25} = -99,6^\circ$  (c = 1 dans l'acide acétique).

4ème étape :

L-pyroglutamyl-L- $\alpha$ -aminobutyryl-L-prolinamide

2,67 g (6 mMoles) de Z-Glp-Abu-Pro-NH<sub>2</sub> sont dissous dans 100 ml d'acide acétique, on ajoute à la solution 0,5 g  
 15 de catalyseur à base de charbon actif à 10 % de palladium et on fait circuler de l'hydrogène pendant une heure à travers le mélange. Après séparation du catalyseur par filtra-  
 tion, le filtrat est évaporé et le résidu est trituré avec de l'éther. Le produit brut amorphe obtenu de cette manière  
 20 (1,82 g) est dissous dans l'eau, la solution est clarifiée à l'aide de charbon actif et la solution limpide est lyophilisée. On obtient 1,70 g de Glp-Abu-Pro-NH<sub>2</sub> (91 % de la  
 théorie) : R<sub>f</sub><sup>(4)</sup> = 0,24 ;  $[\alpha]_D^{25} = -102,5^\circ$  (c = 1, dans l'acide acétique).

25 EXEMPLE 7 : L-pyroglutamyl-L- $\alpha$ -aminodécanoyl-L-prolinamide  
 1ère étape :

Chlorhydrate de L- $\alpha$ -aminodécanoyl-L-prolinamide

On dissout 1,37 g (12 mMoles) de H-Pro-NH<sub>2</sub> et 2,72 g (6 mMoles) de BOC-Ada-OPFP dans 20 ml de DMFA et après 5 mi-  
 30 nutes de repos, on évapore la solution sous vide. L'huile obtenue en tant que résidu est dissoute dans 50 ml de chloroforme, la solution est épuisée en la secouant trois fois  
 avec 10 ml d'une solution N d'acide chlorhydrique, trois fois avec 20 ml d'une solution N de carbonate acide de so-  
 35 dium et finalement deux fois avec 10 ml d'eau, puis on la sèche à l'aide de sulfate de sodium anhydre et on l'évapore. L'huile obtenue en tant que résidu est dissoute dans 3 ml

d'acétate d'éthyle et la solution est additionnée de 5 ml de solution 6 N d'acide chlorhydrique. Après une heure de repos, le mélange réactionnel est dilué par de l'éther, le précipité qui se forme est séparé par filtration et séché

5 sous vide sur de l'hydroxyde de sodium anhydre. On obtient de cette manière 1,75 g de H-Ada-Pro-NH<sub>2</sub>.HCl (91 % du rendement théorique calculé par rapport au BOC-Ada-OPFP) ;

$$R_f^{(3)} = 0,11.$$

2ème étape :

10 Benzyloxycarbonyl-L-pyroglutamyl-L- $\alpha$ -aminodécanoyl-L-prolinamide

1,75 g (5,5 mMoles) de H-Ada-Pro-NH<sub>2</sub>.HCl et 2,58 g (6 mMoles) de Z-Glp-OPFP sont dissous dans 30 ml de DMFA et la solution est additionnée de 0,77 ml (5,5 mMoles) de

15 triéthylamine. Au bout de 5 minutes, on ajoute encore 0,77 g (5,5 mMoles) de triéthylamine et après 20 minutes encore d'agitation, le mélange réactionnel est évaporé sous vide. Le résidu d'évaporation est dissous dans 50 ml de chloro-

20 forme, la solution est épuisée en la secouant trois fois avec 10 ml d'une solution N d'acide chlorhydrique, trois fois avec 20 ml d'une solution N de carbonate acide de sodium et finalement deux fois avec 20 ml d'eau, puis elle

25 est séchée à l'aide de sulfate de sodium anhydre et évaporée. L'huile moussante obtenue en tant que résidu est triturée avec de l'éther, la suspension sous forme de gel obtenue est abandonnée pendant environ 2 heures au réfrigérateur, puis le précipité est séparé par filtration et séché. Le produit brut obtenu de cette manière (2,61 g) est recristallisé dans 20 ml d'acétate d'éthyle. On obtient

30 2,45 g de Z-Glp-Ada-Pro-NH<sub>2</sub> (84 % de la théorie) :

F. 103-105°C ;  $R_f^{(2)} = 0,19$  ;  $[\alpha]_D^{25} = -63,7^\circ$  (c = 1, dans l'acide acétique).

Analyse pour C<sub>28</sub>H<sub>40</sub>O<sub>6</sub>N<sub>4</sub> (poids moléculaire 528,65) :  
calculé : C 63,62 %, H 7,63 %, N 10,60 % ;

35 trouvé : C 63,24 %, H 7,81 %, N 10,57 %.

3ème étape :

L-pyroglutamyl-L- $\alpha$ -aminodécanoyl-L-prolinamide

On dissout 1,9 g (3,6 mmoles) de Z-Glp-Ada-Pro-NH<sub>2</sub> dans 40 ml d'acide acétique, on ajoute à la solution 0,2 g  
 5 de catalyseur à base de charbon actif à 10 % de palladium et on fait circuler de l'hydrogène pendant une demi-heure à travers le mélange. Le catalyseur est alors séparé par filtration, le filtrat est évaporé et le résidu d'évaporation dissous dans l'eau. La solution aqueuse est clarifiée  
 10 à l'aide de charbon actif et évaporée. L'huile obtenue en tant que résidu est dissoute dans 30 ml de chloroforme, la solution est séchée à l'aide de sulfate de sodium anhydre et évaporée. Le résidu amorphe solide moussant est trituré avec de l'éther, séparé par filtration et séché. On obtient  
 15 de cette manière 1,20 g de Glp-Ada-Pro-NH<sub>2</sub> (82 % de la théorie) ;  $R_f^{(4)} = 0,55$  ;  $[\alpha]_D^{25} = -66,2^\circ$  (c = 1, dans l'acide acétique).

EXEMPLE 8 : L-pyroglutamyl-L-cyclohexylalanyl-L-prolinamide  
 1ère étape :

20 Pentafluorophénylester de tert.-butyloxycarbonyl-L-cyclohexylalanine  
 On met 9,04 g (20 mmoles) de BOC-Cha-OH-DCHA en suspension dans 80 ml d'éther et on ajoute à la suspension 20 ml de solution 2 N d'acide sulfurique. Le mélange est  
 25 agité jusqu'à la dissolution de la substance solide, puis la phase étherée est séparée, lavée avec 20 ml de solution 2 N d'acide sulfurique et ensuite avec 20 ml d'eau, séchée à l'aide de sulfate de sodium anhydre et évaporée. L'huile obtenue en tant que résidu (5,7 g) est dissoute dans 30 ml  
 30 d'acétate d'éthyle, additionnée de 3,7 g (20 mmoles) de PFPOH, le mélange est refroidi jusqu'à 5°C au maximum et additionné de 4,12 g (20 mmoles) de DCC. Le mélange réactionnel est agité à cette température pendant une heure, puis le DCU précipité est séparé par filtration, le filtrat  
 35 est évaporé et l'huile obtenue en tant que résidu est dissoute dans 30 ml de n-hexane. La solution est abandonnée pendant une heure au réfrigérateur, le DCC qui s'est encore



déposé est lui aussi séparé par filtration et le filtrat est dilué par 70 ml de n-hexane. La solution diluée est épuisée en la secouant cinq fois avec 40 ml d'une solution N de carbonate acide de sodium et deux fois avec 40 ml d'eau, puis elle est séchée à l'aide de sulfate de sodium anhydre et évaporée. L'huile obtenue en tant que résidu cristallise au repos. On obtient de cette manière 8,48 g de BOC-Cha-OPFP (97 % de la théorie) ; F. 75-77°C ;  $R_f^{(1)} = 0,88$ .

Analyse pour  $C_{20}H_{24}O_4NF_5$  (poids moléculaire 437,41) :  
 10 calculé : C 54,92 %, H 5,53 %, N 3,20 %, F 21,72 % ;  
 trouvé : C 54,67 %, H 5,66 %, N 3,11 %, F 21,43 %.

2ème étape :

Chlorhydrate de L-cyclohexylalanyl-L-prolinamide  
 2,28 g (20 mMoles) de H-Pro-NH<sub>2</sub> et 4,37 g (10 mMoles)  
 15 de BOC-Cha-OPFP sont dissous dans 40 ml de DMFA et après  
 5 minutes de repos, la solution est évaporée sous vide.  
 L'huile obtenue en tant que résidu est dissoute dans 80 ml  
 de chloroforme, la solution est épuisée en la secouant trois  
 fois avec 20 ml de solution N d'acide chlorhydrique, trois  
 20 fois avec 20 ml de solution N de carbonate acide de sodium  
 et finalement une fois avec 20 ml d'eau, puis elle est  
 séchée à l'aide de sulfate de sodium anhydre et évaporée.  
 L'huile obtenue en tant que résidu est dissoute dans 8 ml  
 d'acétate d'éthyle, additionnée de 10 ml de solution 5 N  
 25 d'acide chlorhydrique dans l'acétate d'éthyle et au bout  
 d'une heure, le mélange réactionnel est dilué par de l'éther.  
 Le précipité qui se dépose est séparé par filtration et sé-  
 ché sous vide sur de l'hydroxyde de sodium anhydre. On ob-  
 tient de cette manière 2,98 g de H-Cha-Pro-NH<sub>2</sub>.HCl (97 %  
 30 du rendement théorique calculé par rapport au BOC-Cha-OPFP) ;  
 $R_f^{(4)} = 0,33$ .

3ème étape :

Benzyloxycarbonyl-L-pyroglutamyle-L-cyclohexylalanyl-  
 prolinamide  
 35 2,43 g (8 mMoles) de H-Cha-Pro-NH<sub>2</sub>-HCl et 3,60 g  
 (8 mMoles) de Z-Glp-OPFP sont dissous dans 25 ml de DMFA  
 et la solution est additionnée de 1,12 ml (8 mMoles) de

triéthylamine. Au bout de 5 minutes, on ajoute encore 1,12 ml (8 mmoles) de triéthylamine et au bout de 20 minutes encore d'agitation, le mélange réactionnel est évaporé sous vide. Le résidu d'évaporation est dissous dans 80 ml de chloroforme, la solution est épuisée en la secouant trois fois avec 20 ml de solution N d'acide chlorhydrique, trois fois avec 20 ml de solution N de carbonate acide de sodium et finalement avec 20 ml d'eau, puis elle est séchée à l'aide de sulfate de sodium anhydre et évaporée. On cristallise l'huile obtenue en tant que résidu à l'aide d'éther ; le produit brut obtenu de cette manière (3,88 g) est recristallisé dans 30 ml d'acétate d'éthyle. On obtient 3,32 g de Z-Glp-Cha-Pro-NH<sub>2</sub> (81 % de la théorie) ; F. 165-166°C ; R<sub>f</sub><sup>(2)</sup> = 0,17 ; [α]<sub>D</sub><sup>25</sup> = -67,3° (c = 1, dans l'acide acétique).

15 Analyse pour C<sub>27</sub>H<sub>36</sub>O<sub>6</sub>N<sub>4</sub> (poids moléculaire 512,61) :  
calculé : C 63,26 %, H 7,08 %, N 10,93 %  
trouvé : C 63,15 %, H 7,04 %, N 10,91 %.

4ème étape :

L-pyroglutamyl-L-cyclohexylalanyl-L-prolinamide  
20 3,07 g (6 mmoles) de Z-Glp-Cha-Pro-NH<sub>2</sub> sont dissous dans 60 ml d'éthanol, on ajoute à la solution 0,6 g de catalyseur à base de charbon actif à 10 % de palladium et on fait circuler de l'hydrogène pendant 2 heures à travers la solution. Après la séparation du catalyseur par  
25 filtration, le filtrat est évaporé et le résidu est trituré avec de l'éther. On obtient de cette manière 2,15 g de Glp-Cha-Pro-NH<sub>2</sub> amorphe solide (95 % de la théorie) ; R<sub>f</sub><sup>(4)</sup> = 0,50 ; [α]<sub>D</sub><sup>25</sup> = -70,9° (c = 1, dans l'acide acétique).

EXEMPLE 9 : L-pyroglutamyl-L-thréonyl-L-prolinamide

30 1ère étape :

Chlorhydrate de O-benzyl-L-thréonyl-L-prolinamide  
1,43 g (12,5 mmoles) de H-Pro-NH<sub>2</sub> et 2,98 g (6,27 mmoles) de BOC-Thr(Bzl)-OPFP sont dissous dans 20 ml de DMFA et, après 5 minutes de repos, la solution est évaporée sous vide. L'huile obtenue en tant que résidu est dissoute dans 30 ml de chloroforme, la solution est épuisée en la secouant deux fois avec 10 ml de solution N d'acide chlorhydrique, trois fois avec 10 ml de solution N de

carbonate acide de sodium, puis elle est séchée à l'aide de sulfate de sodium anhydre et évaporée. L'huile obtenue en tant que résidu d'évaporation est dissoute dans 4 ml d'acétate d'éthyle et additionnée de 5 ml de solution 5 N d'acide chlorhydrique. Après une heure de repos, le mélange réactionnel est dilué par de l'éther, le précipité qui se forme est séparé par filtration et séché sous vide sur de l'hydroxyde de sodium anhydre. On obtient de cette manière 2,05 g de H-Thr(Bzl)-Pro-NH<sub>2</sub>.HCl (95 % de la théorie) ; R<sub>f</sub><sup>(4)</sup> = 0,40.

10 2ème étape :

Benzyloxycarbonyl-L-pyroglutamyl-L-O-benzyl-thréonyl-L-prolinamide

2,05 g (6 mMoles) de H-Thr(Bzl)-Pro-NH<sub>2</sub>.HCl et 2,69 g (6,27 mMoles) de Z-Glp-OPFP sont dissous dans 20 ml de DMFA, on ajoute goutte-à-goutte à la solution, 0,84 ml (6 mMoles) de triéthylamine et après 5 minutes de repos, on ajoute encore 0,84 ml (6 mMoles) de triéthylamine. Après 20 minutes d'agitation, le mélange réactionnel est évaporé sous vide, le résidu est dissous dans 50 ml de chloroforme, la solution est épuisée en la secouant deux fois avec 10 ml de solution N d'acide chlorhydrique et trois fois avec 10 ml de solution N de carbonate acide de sodium, puis elle est séchée à l'aide de sulfate de sodium anhydre et évaporée. L'huile obtenue en tant que résidu est traitée par de l'éther et refroidie, provoquant ainsi la prise en masse du produit à l'état amorphe. Le produit brut obtenu de cette manière (2,76 g) est dissous dans l'acétate d'éthyle et clarifié à l'aide de charbon actif. Après séparation par filtration, le filtrat est évaporé et le résidu amorphe solide moussant est trituré avec de l'éther. On obtient 2,47 g de Z-Glp-Thr(Bzl)-Pro-NH<sub>2</sub> (75 % de la théorie).

3ème étape :

L-pyroglutamyl-L-thréonyl-L-prolinamide

2,04 g (3,7 mMoles) de Z-Glp-Thr(Bzl)-Pro-NH<sub>2</sub> sont dissous dans 40 ml d'acide acétique, on ajoute à la solution 0,4 g de catalyseur à base de charbon actif à 10 % de palladium et on fait circuler de l'hydrogène pendant 4 heures

à travers le mélange. Après la séparation du catalyseur par filtration, le filtrat est évaporé et le résidu est trituré avec de l'éther. Le produit brut amorphe obtenu de cette manière (1,31 g) est placé sur une colonne contenant  
 5 30 g de gel de silice (granulométrie : 0,063 - 0,2 mm) et élué par le mélange de solvants (3). Les fractions d'éluat contenant du produit pur sont réunies et évaporées et le produit brut obtenu comme résidu est traité par de l'éther. On obtient 0,72 g de Glp-Thr-Pro-NH<sub>2</sub> (59,5 % de la théorie) ;  
 10  $R_f^{(4)} = 0,16$  ;  $\alpha_D^{25} = -90,0^\circ$  (c = 1, dans l'acide acétique).  
 Analyse de l'acide-amino : Glu 1,00 (1,0), Thr 0,99 (1,0), Pro 1,03 (1,0).

EXEMPLE 10 : L-pyroglutamyl-O-tert.-butyl-L-séryl-L-prolinamide

15 1ère étape :

Hémioxalate d'O-tert.-butyl-L-séryl-L-prolinamide  
 8,0 g (70 mMoles) de H-Pro-NH<sub>2</sub> et 16,0 g (34,7 mMoles) de Z-Ser(<sup>t</sup>Bu)-OPFP sont dissous dans 120 ml de DMFA et après 5 minutes de repos, la solution est évaporée sous vide.  
 20 L'huile obtenue comme résidu est dissoute dans 300 ml de chloroforme, la solution est épuisée en la secouant trois fois avec 80 ml de solution N d'acide chlorhydrique, trois fois avec 80 ml de solution N de carbonate acide de sodium et finalement une fois avec 80 ml d'eau, puis elle est sé-  
 25 chée à l'aide de sulfate de sodium anhydre et évaporée. L'huile obtenue comme résidu (18 g) et 4,37 g (34,7 mMoles) d'acide oxalique dihydrate sont dissous dans 300 ml de méthanol, la solution est additionnée de 3 g de catalyseur à base de charbon actif à 10 % de palladium et on fait cir-  
 30 culer de l'hydrogène pendant une heure à travers le mélange. Après la séparation du catalyseur par filtration, le filtrat est évaporé, le résidu est trituré avec de l'acétate d'éthyle et séché sous vide. On obtient de cette manière 10,8 g de H-Ser(<sup>t</sup>Bu)-Pro-NH<sub>2</sub>.(COOH)<sub>2</sub> (90 % du rendement théorique  
 35 calculé par rapport au Z-Ser(<sup>t</sup>Bu)-OPFP) sous la forme d'une substance hygroscopique amorphe ;  $R_f^{(4)} = 0,22$ .

2ème étape :

Benzyloxycarbonyl-L-pyroglutamyl-O-tert.-butyl-L-séryl-L-prolinamide

6,43 g (18,5 mMoles) de H-Ser(<sup>t</sup>Bu)-Pro-NH<sub>2</sub>.(COOH)<sub>2</sub>  
 5 et 7,95 g (18,5 mMoles) de Z-Glp-OPFP sont dissous dans  
 80 ml de DMFA et la solution est additionnée de 5,18 ml  
 (37 mMoles) de triéthylamine. Après 5 minutes de repos, le  
 mélange réactionnel est évaporé sous vide et le résidu  
 cristallin est trituré avec de l'éther. Le produit brut  
 10 obtenu de cette manière (9,53 g) est recristallisé dans  
 120 ml de méthanol. On obtient 7,70 g de Z-Glp-Ser(<sup>t</sup>Bu)-Pro-NH<sub>2</sub>  
 (83 % de la théorie) ; F. 226-229°C ; R<sub>f</sub><sup>(3)</sup> = 0,40 ;  
 $[\alpha]_D^{25} = 71,6^\circ$  (c = 1, dans l'acide acétique).

Analyse pour C<sub>25</sub>H<sub>34</sub>O<sub>7</sub>N<sub>4</sub> (poids moléculaire 502,57) :  
 15 calculé : C 59,75 %, H 6,82 %, N 11,15 %  
 trouvé : C 59,55 %, H 6,95 %, N 11,09 %.

3ème étape :

L-pyroglutamyl-O-tert.-butyl-L-séryl-L-prolinamide

4,02 g (8 mMoles) de Z-Glp-Ser(<sup>t</sup>Bu)-Pro-NH<sub>2</sub> sont  
 20 dissous dans 160 ml de méthanol, la solution est addition-  
 née de 0,8 g de catalyseur à base de charbon actif à 10 %  
 de palladium et on fait circuler l'hydrogène pendant 30  
 minutes à travers le mélange. Après la séparation du cata-  
 lyseur par filtration, le filtrat est évaporé. L'huile  
 25 obtenue comme résidu est cristallisée dans de l'éther ;  
 les cristaux sont séparés par filtration et séchés. On ob-  
 tient de cette manière 2,50 g de Glp-Ser(<sup>t</sup>Bu)-Pro-NH<sub>2</sub>  
 (85 % de la théorie) ; F. 186-187°C ; R<sub>f</sub><sup>(4)</sup> = 0,45 ;  
 $[\alpha]_D^{25} = -60,8^\circ$  (c = 1 dans l'acide acétique).

30 Analyse de l'amino-acide : Glu 1,03 (1,0), Ser 1,00  
 (1,0), Pro 1,00 (1,0).

Analyse pour C<sub>17</sub>H<sub>28</sub>O<sub>5</sub>N<sub>4</sub> (poids moléculaire 368,44) :  
 calculé : C 55,42 %, H 7,66 %, N 15,21 % ;  
 trouvé : C 55,07 %, H 7,61 %, N 14,94 %.

EXEMPLE 11 : L-pyroglutamyl-D-leucyl-L-prolinamide  
1ère étape :

Pentafluorophénylester de tert.-butyloxycarbonyl-D-leucine

- 5 4,62 g (20 mMoles) de BOC-D-leu-OH et 4,23 g  
(22 mMoles) de PFPOH sont dissous dans 50 ml d'acétate  
d'éthyle et la solution est additionnée, sous refroidisse-  
ment par de la glace et agitation, de 4,12 g (20 mMoles)  
de DCC. Le mélange réactionnel est agité pendant une heure  
10 dans un bain glacé, puis la dicyclohexylurée qui se dépose  
est séparée par filtration et le filtrat est évaporé.  
L'huile obtenue comme résidu est dissoute dans 100 ml de  
n-hexane, la solution est abandonnée pendant une heure au  
réfrigérateur et la dicyclohexylurée qui s'est encore dé-  
15 posée est, elle aussi, séparée par filtration. Le filtrat  
est épuisé en le secouant cinq fois avec 50 ml de solution N de carbonate  
acide de sodium et deux fois avec 50 ml d'eau, puis elle est séchée à  
l'aide de sulfate de sodium anhydre et évaporée. L'huile obtenue comme ré-  
sidu cristallise en l'espace d'une nuit. On obtient de cette manière 7,0g de  
20 BOC-D-Leu-OPFP (85 % de la théorie) ; F. 53-55°C ;  
 $R_f^{(1)} = +31,7^\circ$  (c = 1, dans l'acétate d'éthyle).

Analyse pour  $C_{17}H_{20}O_4NF_5$  (poids moléculaire 397,35) :  
calculé : C 51,39 %, H 5,07 %, N 3,53 %, F 23,91 % ;  
trouvé : C 51,51 %, H 4,68 %, N 3,66 %, F 23,65 %.

- 25 2ème étape :

Chlorhydrate de D-leucyl-L-prolinamide

- 3,42 g (30 mMoles) de H-Pro-NH<sub>2</sub> et 60,0 g (15 mMoles)  
de BOC-D-Leu-OPFP sont dissous dans 60 ml de DMFA et après  
5 minutes de repos, la solution est évaporée sous vide. Le  
30 résidu d'évaporation est dissous dans 100 ml de chloro-  
forme, la solution est épuisée en la secouant deux fois avec  
20 ml de solution N d'acide chlorhydrique, trois fois avec  
20 ml de solution N de carbonate acide de sodium et finale-  
ment une fois avec 20 ml d'eau, puis elle est séchée à l'ai-  
35 de de sulfate de sodium anhydre et évaporée. L'huile obtenue  
comme résidu est dissoute dans 10 ml d'acétate d'éthyle,  
la solution est additionnée de 15 ml de solution 4 N d'acide

chlorhydrique dans l'acétate d'éthyle ; au bout d'une heure, le mélange réactionnel est dilué par de l'éther, le précipité obtenu est séparé par filtration et séché sous vide sur de l'hydroxyde de sodium anhydre. On obtient de cette

5 manière 3,66 g de H-D-Leu-Pro-NH<sub>2</sub>.HCl (92,5 % du rendement théorique calculé par rapport au BOC-D-Leu-OPFP) ;

$$R_f^{(4)} = 0,26.$$

3ème étape :

10 Benzyloxycarbonyl-L-pyroglutamyl-D-Leucyl-L-prolinamide

3,66 g (13,9 mMoles) de H-D-Leu-Pro-NH<sub>2</sub>.HCl et 6,43 g (15 mMoles) de Z-Glp-OPFP sont dissous dans 50 ml de DMFA et on ajoute à la solution, sous refroidissement par de la glace et agitation, 1,95 ml (13,9 mMoles)

15 de triéthylamine. Le mélange est agité pendant 5 minutes et on lui ajoute encore 1,95 ml (13,9 mMoles) de triéthylamine. Après 20 autres minutes d'agitation, le mélange réactionnel est évaporé sous vide. Le résidu d'évaporation est dissous dans 120 ml de chloroforme, on épuise la solu-

20 tion en la secouant trois fois avec 30 ml de solution N d'acide chlorhydrique, trois fois avec 30 ml de solution N de carbonate acide de sodium et finalement une fois avec 30 ml d'eau, puis on la sèche à l'aide de sulfate de sodium anhydre et on l'évapore. On cristallise l'huile obtenue comme

25 résidu par traitement par de l'éther. Le produit brut obtenu de cette manière (6 g) est recristallisé dans 30 ml d'éthanol. On obtient 5,48 g de Z-Glp-D-Leu-Pro-NH<sub>2</sub> (77 % de la théorie) ; F. 189-194°C ; R<sub>f</sub><sup>(3)</sup> = 0,48 ;

$[\alpha]_D^{25} = -33,2^\circ$  (c = 1, dans l'acide acétique).

30 4ème étape :

L-pyroglutamyl-D-leucyl-L-prolinamide

3,78 g (8 mMoles) de Z-Glp-D-Leu-Pro-NH<sub>2</sub> sont dissous dans 150 ml de méthanol, on ajoute à la solution 0,8 g de catalyseur à base de charbon actif à 10 % de palladium et

35 on fait circuler de l'hydrogène pendant une heure à travers le mélange. Après la séparation du catalyseur par filtration, le filtrat est évaporé et le résidu est trituré

avec de l'éther. Le produit brut obtenu de cette manière (2,5 g) est dissous dans l'eau, clarifié à l'aide de charbon actif et la solution limpide est lyophilisée. On obtient 2,35 g de Glp-D-Leu-Pro-NH<sub>2</sub> (87 % de la théorie) ;  
 5  $R_f^{(4)} = 0,48$  ;  $[\alpha]_D^{25} = -83,3^\circ$  ( c = 1 dans l'acide acétique).

EXEMPLE 12 : L-pyroglutamyl-L-leucyl-L-proline-éthylamide  
 1ère étape :

Chlorhydrate de L-leucyl-L-proline-éthylamide

10 On met 1,67 g (7,2 mMoles) de H-Pro-NH-Et.(COOH)<sub>2</sub> en suspension dans 20 ml d'acétate d'éthyle et on ajoute à la suspension 2,0 ml (14,4 mMoles) de triéthylamine et 2,38 g (6 mMoles) de BOC-Leu-OPFP. Au bout de 5 minutes, on épuise le mélange réactionnel en le secouant deux fois  
 15 avec 5 ml de solution N d'acide chlorhydrique, trois fois avec 5 ml de solution N de carbonate acide de sodium et finalement une fois avec 5 ml d'eau, puis on le sèche à l'aide de sulfate de sodium anhydre et on l'évapore. L'huile obtenue comme résidu est traitée par 10 ml de solution 5 N  
 20 d'acide chlorhydrique dans l'acétate d'éthyle, au bout de 20 minutes le mélange est dilué par de l'éther, le précipité est séparé par filtration et séché sous vide sur de l'hydroxyde de sodium anhydre. On obtient de cette manière 1,46 g de H-Leu-Pro-NH-Et.HCl hygroscopique (83 % du rendement théorique calculé par rapport au BOC-Leu-OPFP) ;  
 25  $R_f^{(4)} = 0,43$ .

2ème étape :

Benzyloxycarbonyl-L-pyroglutamyl-L-leucyl-L-prolinamide

30 1,17 g (4 mMoles) de H-Leu-Pro-NH-Et.HCl et 1,72 g (4 mMoles) de Z-Glp-OPFP sont dissous dans 15 ml de DMFA et on ajoute à la solution 0,56 ml (4 mMoles) de triéthylamine. Au bout de 5 minutes, on ajoute encore 0,56 ml (4 mMoles) de triéthylamine et on évapore le mélange sous vide. On dissout l'huile obtenue comme résidu, dans 40 ml  
 35 de chloroforme, on épuise la solution en la secouant deux fois avec 10 ml de solution N d'acide chlorhydrique, trois



fois avec 10 ml de solution N de carbonate acide de sodium et finalement une fois avec 10 ml d'eau, puis elle est séchée à l'aide de sulfate de sodium anhydre et évaporée. Le résidu est trituré avec du n-hexane et filtré. On obtient

5 de cette manière 1,61 g de Z-Glp-Leu-Pro-NH-Et amorphe (80,5 % de la théorie) ;  $R_f^{(3)} = 0,50$  ;  $[\alpha]_D^{25} = -89,0^\circ$  (c = 1, dans l'acide acétique).

3ème étape :

L-pyroglutamyl-L-leucyl-L-proline-éthylamide

10 1,07 g (2,14 mmoles) de Z-Glp-Leu-Pro-NH-Et sont dissous dans 30 ml d'eau, on ajoute à la solution 0,25 g de catalyseur à base de charbon actif à 10 % de palladium et on fait circuler de l'hydrogène pendant une demi-heure à travers le mélange. Après la séparation du catalyseur

15 par filtration, le filtrat est évaporé, le résidu huileux est dissous dans 20 ml de chloroforme, la solution est séchée à l'aide de sulfate de sodium anhydre et évaporée. Le résidu qui se solidifie après le moussage, est trituré avec un mélange d'éther et de n-hexane. On obtient de

20 cette manière 0,52 g de Glp-Leu-Pro-NH-Et (66 % de la théorie) ;  $R_f^{(4)} = 0,57$  ;  $[\alpha]_D^{25} = -94,5^\circ$  (c = 1, dans l'acide acétique).

EXEMPLE 13 : L-pyroglutamyl-L-leucyl-L-proline-n-décylamide  
1ère étape :

25 Benzyloxycarbonyl-L-proline-n-décylamide

5,0 g (20 mmoles) de Z-Pro-OH sont dissous dans 50 ml de DMFA, on ajoute à la solution 2,8 ml (20 mmoles) de triéthylamine et on la refroidit à  $-10^\circ\text{C}$ . On ajoute tout d'abord, goutte-à-goutte, 2,8 ml (21,5 mmoles) d'isobutyl-

30 ester de l'acide chlorocarbonique à la solution, puis au bout de 10 minutes, également goutte-à-goutte, 4,4 ml (22 mmoles) de n-décylamine. Après la fin de l'addition, le mélange est agité pendant 30 minutes à  $0^\circ\text{C}$  puis pendant

35 2 heures à la température ambiante. La suspension obtenue est séparée par filtration, le filtrat est évaporé et le résidu est dissous dans 100 ml d'acétate d'éthyle. On épuise la solution en la secouant quatre fois avec 50 ml de solu-

tion N d'acide chlorhydrique, deux fois avec 50 ml de solution N de carbonate acide de sodium et finalement une fois avec 50 ml d'eau, puis on la sèche à l'aide de sulfate de sodium anhydre et on l'évapore. On cristallise l'huile obtenue comme résidu d'évaporation par traitement par du n-hexane. On obtient de cette manière 5,43 g de Z-Pro-NH-C<sub>10</sub>H<sub>21</sub> (70 % de la théorie) ; F. 78-80°C ; R<sub>f</sub><sup>(2)</sup> = 0,75.

2ème étape :

10 Hémioxalate de L-proline-n-décylamine

5,0 g (12,9 mMoles) de Z-Pro-NH-C<sub>10</sub>H<sub>21</sub> et 2,02 g (16 mMoles) d'acide oxalique dihydrate sont dissous dans 100 ml de méthanol, la solution est additionnée de 0,8 g de catalyseur à base de charbon actif à 10 % de palladium et on fait circuler de l'hydrogène pendant 2 heures à travers le mélange. Après la fin de l'hydrogénation, on chauffe le mélange réactionnel, on élimine le catalyseur par filtration et on évapore le filtrat. Le résidu cristallin est trituré avec de l'éther et filtré. On obtient de cette manière 3,9 g de H-Pro-NH-C<sub>10</sub>H<sub>21</sub>·(COOH)<sub>2</sub> (88 % de la théorie) F. 152-154°C ; R<sub>f</sub><sup>(3)</sup> = 0,16.

3ème étape :

Chlorhydrate de L-leucyl-L-proline-n-décylamide

3,44 g (10 mMoles) de H-Pro-NH-C<sub>10</sub>H<sub>21</sub>·(COOH)<sub>2</sub> et 2,0 g (5 mMoles) de BOC-Leu-OPFP sont dissous dans 30 ml de DMFA et la solution est additionnée de 2,8 ml (20 mMoles) de triéthylamine. Après 5 minutes de repos, on évapore le mélange réactionnel et l'huile obtenue comme résidu est dissoute dans 50 ml de n-hexane. On épuise la solution en la secouant cinq fois avec 30 ml de solution N d'acide chlorhydrique, trois fois avec 30 ml de solution N de carbonate acide de sodium et finalement une fois avec 30 ml d'eau, et on l'évapore. L'huile obtenue comme résidu est dissoute dans 10 ml d'une solution 5 N d'acide chlorhydrique dans l'acétate d'éthyle, on laisse reposer la solution pendant 30 minutes, après quoi on l'évapore. Le résidu amorphe moussant sous vide est trituré avec du n-hexane, séparé

par filtration et séché sous vide sur de l'hydroxyde de sodium anhydre. On obtient de cette manière 1,05 g de H-Leu-Pro-NH-C<sub>10</sub>H<sub>21</sub>.HCl (60 % du rendement théorique calculé par rapport au BOC-Leu-OPFP) ;  $R_f^{(3)} = 0,17$ .

5 4ème étape :

Benzyloxycarbonyl-L-pyroglutamyl-L-leucyl-L-proline-n-décylamide

1,03 g (2,55 mMoles de H-Leu-Pro-NH-C<sub>10</sub>H<sub>21</sub> sont dissous dans 10 ml de DMFA et la solution est additionnée  
 10 de 0,36 ml (2,55 mMoles) de triéthylamine et de 1,1 g (2,55 mMoles) de Z-Glp-OPFP. Le mélange est agité pendant 5 minutes et on lui ajoute encore 0,36 ml (2,55 mMoles) de triéthylamine et après 20 minutes encore d'agitation le mélange réactionnel est évaporé sous vide. Le résidu est dis-  
 15 sous dans 20 ml de chloroforme, on épuise la solution en la secouant cinq fois avec 10 ml de solution N d'acide chlorhydrique, deux fois avec 10 ml de solution N de carbonate acide de sodium et finalement une fois avec 10 ml d'eau, puis on le sèche à l'aide de sulfate de sodium anhydre et  
 20 on l'évapore ; on cristallise l'huile obtenue comme résidu à l'aide d'éther et on filtre les cristaux obtenus. On obtient de cette manière 1,22 g de Z-Glp-Leu-Pro-NH-C<sub>10</sub>H<sub>22</sub> (78 % de la théorie) ; F. 108-109°C ;  $R_f^{(2)} = 0,50$  ;  $[\alpha]_D^{25} = -74,5^\circ$  (c = 1 dans l'acide acétique).

25 Analyse pour C<sub>34</sub>H<sub>52</sub>O<sub>6</sub>N<sub>4</sub> (poids moléculaire 612,82) :  
 calculé : C 66,64 %, H 8,55 %, N 9,14 % ;  
 trouvé : C 66,43 %, H 8,84 %, N 9,13 %.

5ème étape :

L-pyroglutamyl-L-leucyl-L-proline-n-décylamide

30 1,22 g (2 mMoles) de Z-Glp-Leu-Pro-NH-C<sub>10</sub>H<sub>21</sub> sont dissous dans 30 ml de méthanol, on ajoute à la solution 0,2 g de catalyseur à base de charbon actif à 10 % de palladium et on fait circuler de l'hydrogène pendant 30 minutes à travers le mélange. Après la séparation du cata-  
 35 lyseur par filtration, le filtrat est évaporé et on cristallise l'huile obtenue comme résidu par traitement par du n-hexane. Le produit brut obtenu de cette manière (0,85 g)

est recristallisé dans 4 ml d'acétate d'éthyle. On obtient 0,74 g de Glp-Leu-Pro-NH-C<sub>10</sub>H<sub>21</sub> (77 % de la théorie) ; F. 140-141°C ;  $R_f^{(4)} = 0,76$  ;  $[\alpha]_D^{25} = -71,3^\circ$  (c = 1 dans l'acide acétique).

5 Analyse de l'acide-amino : Glu 0,97 (1,0), Leu 1,00 (1,0), Pro 1,01 (1,0).

EXEMPLE 14 : L-pyroglutamyl-L-leucyl-L-proline-(2-diméthyl-aminoéthyl)-amide

1ère étape :

10 Tert.-butyloxycarbonyl-L-proline-(2-diméthyl-aminoéthyl)-amide

11,43 g (30 mmoles) de BOC-Pro-OPFP sont dissous dans 100 ml d'éther et on ajoute à la solution 6,54 ml (60 mmoles) de N,N-diméthylaminoéthylamine. On laisse reposer la solution pendant 10 minutes, on l'épuise ensuite en la secouant trois fois avec 30 ml d'eau, on réunit les phases aqueuses, on ajuste leur pH à 10 par addition de carbonate de sodium solide et on l'extrait à quatre reprises avec 20 ml d'acétate d'éthyle. Les phases organiques séparées sont réunies à la solution organique initiale, lavées avec 20 ml d'eau, séchées à l'aide de sulfate de sodium anhydre et évaporées. L'huile obtenue comme résidu cristallise au repos. On obtient de cette manière 6,71 g de BOC-Pro-NH-CH<sub>2</sub>-CH<sub>2</sub>-N(CH<sub>3</sub>)<sub>2</sub> (78,5 % de la théorie) ;  $R_f^{(4)} = 0,29$ .

25 2ème étape :

Dichlorhydrate de L-leucyl-L-proline-(2-diméthyl-aminoéthyl)-amide

6,71 g (23,5 mmoles) de BOC-Pro-NH-CH<sub>2</sub>-CH<sub>2</sub>-N(CH<sub>3</sub>)<sub>2</sub> sont traités pendant 30 minutes par 30 ml de solution N d'acide chlorhydrique dans l'acétate d'éthyle, puis le mélange est évaporé. L'huile obtenue comme résidu est dissoute dans 50 ml de chloroforme et additionnée de 2,8 ml (20 mmoles) de triéthylamine. On ajoute à la solution limpide obtenue, 6,74 g (17 mmoles) de BOC-Leu-OPFP et après 35 une heure de repos, on lui ajoute goutte-à-goutte encore 2,8 ml (20 mmoles) de triéthylamine. On laisse reposer le mélange pendant une nuit et on l'évapore le jour suivant.

L'huile obtenue en tant que résidu est dissoute dans 50 ml d'eau, le pH de la solution est ajusté à 10 par addition de carbonate de sodium solide et le dipeptide protégé est extrait de la phase aqueuse à l'aide d'acétate d'éthyle. La phase dans l'acétate d'éthyle séparée est séchée à l'aide de sulfate de sodium anhydre et évaporée. L'huile obtenue comme résidu est traitée pendant une heure par 30 ml de solution 5 N d'acide chlorhydrique dans de l'acétate déthylique, puis le mélange réactionnel est évaporé et le résidu d'évaporation est trituré avec de l'éther. Après la séparation par filtration, le produit amorphe, fortement hygroscopique, est séché sous vide sur de l'hydroxyde de sodium anhydre. On obtient de cette manière 4,5 g de H-Leu-Pro-NH-CH<sub>2</sub>-CH<sub>2</sub>-N(CH<sub>3</sub>)<sub>2</sub>.2HCl (12,1 mmoles) ;

15  $R_f^{(4)} = 0,05$ .

3ème étape :

L-pyroglutamyl-L-leucyl-L-proline-(2-diméthyl-aminoéthyl)-amide

20 2,6 g (7 mmoles) de H-Leu-Pro-NH-CH<sub>2</sub>-CH<sub>2</sub>-N(CH<sub>3</sub>)<sub>2</sub>.2HCl sont dissous dans 30 ml de DMFA et la solution est additionnée de 1,96 ml (14 mmoles) de triéthylamine. Le précipité obtenu est séparé par filtration et le filtrat est ajouté goutte-à-goutte, sous refroidissement par de la glace et agitation, à une solution de 3,29 g (7,7 mmoles) de Z-Glp-OPFP dans 10 ml de DMFA. Après la fin de l'addition on laisse reposer le mélange réactionnel pendant 4 heures, puis on l'évapore sous vide. L'huile obtenue en tant que résidu est dissoute dans 50 ml d'eau, la solution est acidifiée à pH 3 à l'aide d'acide chlorhydrique concentré et elle est épuisée en la secouant trois fois avec 20 ml d'acétate d'éthyle. Le pH de la solution aqueuse est ensuite ajusté à 10 par addition de carbonate de sodium solide et la solution alcalinisée est extraite à cinq reprises par 30 ml d'acétate d'éthyle. Les phases organiques sont réunies, séchées à l'aide de sulfate de sodium anhydre et évaporées. Le dipeptide protégé huileux obtenu de cette manière (3,05 g, 5,6 mmoles) est dissous dans 60 ml d'eau, la solu-

tion est additionnée de 5,6 ml de solution N d'acide chlorhydrique et de 0,6 g de catalyseur à base de charbon actif à 10 % de palladium et on fait circuler de l'hydrogène pendant 30 minutes à travers le mélange. Après la séparation du catalyseur par filtration, le filtrat est évaporé, l'huile obtenue en tant que résidu est dissoute dans un mélange de 50 ml de chloroforme et 20 ml de solution N de carbonate acide de sodium. Les phases sont séparées, la phase dans le chloroforme est séchée à l'aide de sulfate de sodium anhydre et évaporée. Le résidu d'évaporation est trituré avec du n-hexane et séparé par filtration. Le produit brut amorphe obtenu de cette manière (2,0 g) est dissous dans l'eau, la solution est clarifiée à l'aide de charbon actif et la solution limpide est lyophilisée. On obtient 1,72 g de

15  $\text{Glp-Leu-Pro-NH-CH}_2\text{-CH}_2\text{-N(CH}_3\text{)}_2$  (60 % de la théorie) ;  
 $R_f^{(4)} = 0,06$  ;  $[\alpha]_D^{25} = -71,7^\circ$  ( $c = 1$ , dans l'acide acétique).  
 Analyse de l'acide-amino : Glu 1,02 (1,0), Leu 1,00 (1,0), Pro 1,03 (1,0).

EXEMPLE 15 : L-pyroglutamyl-L-histidyl-D-pipécolinamide

20 1ère étape :

Benzyloxycarbonyl-D-pipécolinamide

13,15 g (50 mMoles) de Z-D-Pip-OH [cf. L. Balaspiri et Coll. Monatsh. Chem. 101 1177 (1970)] sont dissous dans 100 ml d'acétate d'éthyle et additionnés de 7,0 ml (50 mMoles) de triéthylamine. Le mélange est refroidi à  $-20^\circ\text{C}$  et on lui ajoute goutte-à-goutte sous agitation, 6,5 ml (50 mMoles) d'isobutylester de l'acide chlorocarbonique, à cette température. Après 15 minutes encore d'agitation, on fait circuler du gaz ammoniac à  $-10^\circ\text{C}$  pendant une heure et demie dans le mélange. Après séparation du précipité par filtration, le filtrat est épuisé en le secouant avec une solution N d'acide chlorhydrique, puis avec une solution N de carbonate acide de sodium et finalement avec de l'eau, puis on le sèche à l'aide de sulfate de sodium anhydre et on l'évapore. Le résidu d'évaporation est cristallisé dans un mélange d'acétate d'éthyle et d'éther ; on obtient de cette manière 11,5 g de Z-D-Pip-NH<sub>2</sub> (88 % de la théorie) ;

38

F. 114-115°C ;  $R_f^{(2)} = 0,50$  ;  $[\alpha]_D^{25} = +32,0^\circ$  (c = 1 dans l'acide acétique).

Analyse pour  $C_{14}H_{18}O_3N_2$  (poids moléculaire 262,30) :  
calculé : N 10,68 % ;

5 trouvé : N 10,63 %.

2ème étape :

D-pipécolinamide

3,93 g (15 mMoles) de Z-D-Pip-NH<sub>2</sub> sont dissous dans 75 ml de méthanol, la solution est additionnée de 0,5 g de catalyseur à base de charbon actif à 10 % de palladium et on fait circuler de l'hydrogène pendant une heure à travers le mélange. Après la séparation du catalyseur par filtration, le filtrat est évaporé et le résidu d'évaporation est trituré avec de l'éther. On obtient de cette manière 1,70 g de H-D-Pip-NH<sub>2</sub> (90 % de la théorie) ; F. 161-163°C ;  $R_f^{(4)} = 0,10$  ;  $[\alpha]_D^{25} = +31,0^\circ$  (c = 1 dans le méthanol).

3ème étape :

Benzyloxycarbonyl-L-glutaminy-L-histidine-hydrazide

71,0 g (0,165 mMole) de Z-Gln-His-OMe [cf. H.Kappeler :  
20 Helv. Chim. Acta 44, 476 (1961)] sont dissous dans 700 ml de DMFA et la solution est additionnée de 33,6 ml (0,495 mMole) d'hydrate d'hydrazine. On laisse reposer le mélange réactionnel pendant 3 jours, puis on le dilue par 600 ml d'acétate d'éthyle et on le maintient pendant une nuit au réfrigérateur. Le précipité est séparé par filtration le jour  
25 suivant. Le produit brut obtenu de cette manière (71,65 g) est cristallisé dans 1800 ml de méthanol. On obtient 55,1 g de Z-Gln-His-N<sub>2</sub>H<sub>3</sub> (78 % de la théorie) ; F. 198-200°C ;  $R_f^{(4)} = 0,28$ .

30 Analyse pour  $C_{19}H_{25}O_5N_7$  (poids moléculaire 431,40) :  
calculé : C 52,90 %, H 5,84 %, N 22,72 % ;  
trouvé : C 52,21 %, H 5,73 %, N 22,78 %.

4ème étape :

35 Benzyloxycarbonyl-L-glutamyl-L-histidyl-D-pipécolinamide

On met 5,39 g (12,5 mMoles) de Z-Gln-His-N<sub>2</sub>H<sub>3</sub> en suspension dans 100 ml de DMFA et on ajoute à la suspension

4,6 ml (37,5 mMoles) de solution 8,1 N d'acide chlorhydrique dans du dioxane. La solution obtenue est refroidie à  $-20^{\circ}\text{C}$  et est ensuite additionnée goutte-à-goutte, sous agitation, à  $-15^{\circ}\text{C}$ , de 1,63 g (13,7 mMoles) de nitrite de tert-butyle.

5 Le mélange réactionnel est agité pendant 20 minutes à  $-10^{\circ}\text{C}$ , puis on lui ajoute goutte-à-goutte 3,5 ml (25 mMoles) de triéthylamine, puis une solution de 1,57 g (12,5 mMoles) de H-D-Pip-NH<sub>2</sub> et finalement encore 1,75 ml (12,5 mMoles) de triéthylamine. Après la fin de l'addition, le mélange réactionnel est agité pendant une heure à  $-10^{\circ}\text{C}$ , puis on le

10 laisse reposer pendant une nuit à  $2^{\circ}\text{C}$  au réfrigérateur. Le précipité est séparé par filtration le jour suivant et le filtrat est évaporé sous vide. Le résidu amorphe est trituré avec de l'acétate d'éthyle. Le produit brut obtenu

15 de cette manière est placé sur une colonne de gel de silice et élué à l'aide du mélange de solvants (2). Les fractions contenant du produit pur sont réunies et évaporées et le résidu est trituré avec de l'éther et séparé par filtration. On obtient 2,76 g de Z-Gln-His-D-Pip-NH<sub>2</sub> amorphe (42 % de

20 la théorie) ;  $R_F^{(4)} = 0,10$ .

5ème étape :

L-pyroglutamyl-L-histidyl-D-pipécolinamide

2,63 g (5 mMoles) de Z-Gln-His-D-Pip-NH<sub>2</sub> sont dissous dans 50 ml d'acide acétique, la solution est additionnée de 0,5 g de catalyseur à base de charbon actif à 10 %

25 de palladium et on fait circuler de l'hydrogène pendant une heure à travers la solution. Après la séparation du catalyseur par filtration, le filtrat est chauffé à  $60-70^{\circ}\text{C}$  et est ensuite évaporé sous vide. Le résidu d'évaporation est dilué

30 dans l'eau, la solution est traitée par de la résine Dowex-2 dans le cycle OH et est évaporée. Le produit brut obtenu de cette manière est placé sur une colonne de gel de silice et est élué à l'aide du mélange de solvants (1). Les fractions contenant du produit pur sont réunies et évaporées, le résidu est dissous dans l'eau, la solution est clarifiée à l'aide

35 de charbon actif et la solution limpide est évaporée. Le résidu amorphe est séché sous vide sur du pentoxyde de



phosphore. On obtient 704 mg de Glp-His-D-Pip-NH<sub>2</sub> (51 % de la théorie) ;  $R_f^{(4)} = 0,10$  ;  $[\alpha]_D^{25} = +16,0^\circ$  (c = 1 dans l'eau).

Analyse de l'acide-amino : Glu 1,03 (1,0), His 1,00 (1,0), Pip 0,96 (1,0).

5 EXEMPLE 16 : L-pyroglutamyl-L-histidyl-L-homoprolinamide  
1ère étape :

Tert.-butyloxycarbonyl-L-homoprolinamide

2,29 g (10 mmoles) de BOC-HPro-OH sont dissous dans  
30 ml d'acétate d'éthyle, la solution est additionnée de  
10 1,4 ml (10 mmoles) de triéthylamine et refroidie à -10°C.  
On lui ajoute goutte-à-goutte 1,3 ml (10 mmoles) d'isobutyl-  
ester de l'acide chlorocarbonique, à cette température. Après  
15 minutes d'agitation, on fait circuler du gaz ammoniac  
pendant une demi-heure à -10°C dans le mélange réactionnel,  
15 puis on laisse reposer le mélange pendant 2 heures à une  
température de 0°C - 5°C. Le précipité est ensuite séparé  
par filtration et l'huile obtenue comme résidu est dissoute  
dans 30 ml de chloroforme. On épuise la solution en la  
secouant deux fois avec 10 ml de solution N d'acide chlor-  
20 hydrique, deux fois avec 10 ml de solution N de carbonate  
acide de sodium et finalement une fois avec de l'eau, puis  
on la sèche à l'aide de sulfate de sodium anhydre et on  
l'évapore. On cristallise l'huile obtenue comme résidu par  
traitement par le n-hexane. Le produit brut obtenu de cette  
25 manière (1,96 g) est recristallisé dans un mélange d'acé-  
tate d'éthyle et d'éther. On obtient 1,78 g de  
BOC-HPro-NH<sub>2</sub> (78 % de la théorie) ; F. 138-140°C ;  
 $R_f^{(2)} = 0,43$  ;  $[\alpha]_D^{25} = -24,85^\circ$  (c = 1 dans l'acide acétique).  
Analyse pour C<sub>11</sub>H<sub>20</sub>O<sub>3</sub>N<sub>2</sub> (poids moléculaire 228,29) :  
30 calculé : C 57,87 %, H 8,83 %, N 12,27 % ;  
trouvé : C 57,60 %, H 8,89 %, N 12,11 %.

2ème étape :

Chlorhydrate de L-homoprolinamide

1,6 g (7 mmoles) de BOC-HPro-NH<sub>2</sub> sont dissous à chaud  
35 dans 10 ml d'acétate d'éthyle. La solution est refroidie  
jusqu'à la température ambiante et additionnée de 10 ml de  
solution 6 N d'acide chlorhydrique dans l'acétate d'éthyle.

On laisse reposer le mélange réactionnel pendant une heure, puis il est dilué par de l'éther, le précipité obtenu est trituré et séparé par filtration. On obtient de cette manière 1,05 g de H-HPro-NH<sub>2</sub>.HCl (91 % de la théorie) ;  
 5 F. 178-180°C ; R<sub>f</sub><sup>(6)</sup> = 0,32 ; [α]<sub>D</sub><sup>25</sup> = +26,2° ( c = 1, dans le méthanol).

3ème étape :

Benzyloxycarbonyl-L-glutamyl-L-histidyl-L-homoprolinamide

10 On met 5,39 g (12,5 mMoles) de Z-Gln-His-N<sub>2</sub>H<sub>3</sub> (voir exemple 15 3ème étape) en suspension dans 100 ml de DMFA et on ajoute à la suspension 4,6 ml (37,5 mMoles) de solution 8,1 N d'acide chlorhydrique dans du dioxane. La solution obtenue est refroidie à -20°C et est ensuite addition-  
 15 née goutte-à-goutte sous agitation à -15°C, de 1,63 ml (13,7 mMoles) de nitrite de tert.-butyle. Le mélange réactionnel est agité pendant 20 minutes à -10°C, puis il est additionné de 3,5 ml (25 mMoles) de triéthylamine. Entre-  
 20 temps, on dissout 2,07 g (12,5 mMoles) de H-HPro-NH<sub>2</sub>.HCl dans 10 ml de DMFA et on ajoute à cette solution 1,75 ml (12,5 mMoles) de triéthylamine. Après la séparation du précipité par filtration, la solution obtenue est ajoutée goutte-à-goutte à -10°C, à la solution d'azide ci-dessus et on ajoute encore finalement 1,75 ml (12,5 mMoles) de  
 25 triéthylamine au mélange. Le mélange réactionnel est ensuite agité pendant une heure à -10°C, puis on le laisse reposer pendant une nuit à 2°C. Le précipité est séparé par filtration le jour suivant, le filtrat est évaporé sous vide et le résidu amorphe est trituré avec de l'acé-  
 30 tate d'éthyle. Le produit brut obtenu de cette manière est placé sur une colonne de gel de silice et est élué à l'aide du mélange de solvants (2). Les fractions contenant du produit pur sont réunies et évaporées et le résidu d'évaporation est trituré avec de l'éther. On obtient 2,35 g de  
 35 Z-Gln-His-HPro-NH<sub>2</sub> (36 % de la théorie) ; R<sub>f</sub><sup>(4)</sup> = 0,30.

4ème étape :

L-pyroglutamyl-L-histidyl-L-homoprolinamide

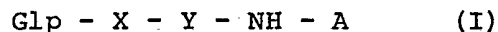
2,1 g (4 mMoles) de Z-Gln-His-HPro-NH<sub>2</sub> sont dissous dans 40 ml d'acide acétique, la solution est additionnée de 0,4 g de catalyseur à base de charbon actif à 10 % de palladium et on fait circuler de l'hydrogène pendant une heure à travers le mélange. Le catalyseur est ensuite séparé par filtration, on chauffe le filtrat à 60°C-70°C, on le maintient à cette température pendant 30 minutes, puis on l'évapore sous vide. Le produit brut obtenu comme résidu est traité de la manière décrite dans l'Exemple 15, 5ème étape, à l'aide d'une résine échangeuse d'ions et purifié sur une colonne de gel de silice. On obtient 618 g de Glp-His-HPro-NH<sub>2</sub> (56 % de la théorie) ;  $R_f^{(4)} = 0,08$  ;  $[\alpha]_D^{25} = -24^\circ$  (c = 1, dans le méthanol).

Analyse de l'acide-amino : Glu 0,97 (1,0), His 1,00 (1,0), HPro 0,91 (1,0).

Ainsi que cela ressort de ce qui précède, l'invention ne se limite nullement à ceux de ses modes de mise en oeuvre, de réalisation et d'application qui viennent d'être décrits de façon plus explicite ; elle en embrasse, au contraire, toutes les variantes qui peuvent venir à l'esprit du technicien en la matière, sans s'écarter du cadre, ni de la portée, de la présente invention.

REVENDICATIONS

1°- Tripeptidamides caractérisés en ce qu'ils répondent à la formule générale I ci-après :



5 dans laquelle :

X représente un groupe L-norleucyle, L-leucyle, L-norvalyle, D-leucyle, L-prolyle, L-2-aminobutyryle, L-valyle, L-thréonyle, L-isoleucyle, L-2-aminodécanoyle, L-cyclohexylalanyle ou L-tert.-butyl-séryle et

10 Y représente un groupe L-prolyle, ou

X représente un groupe L-histidyle et

Y représente un groupe L-homoprolyle ou D-pipécolyle ; en outre,

A représente un atome d'hydrogène ou un groupe alcoyle comportant de 1 à 10 atomes de carbone, ou un groupe alcoyle

15 comportant de 1 à 3 atomes de carbone substitué par un résidu amino-diméthyle, mais lorsque X représente un groupe L-leucyle, A est différent d'un atome d'hydrogène, ainsi que les complexes de ces tripeptidamides utilisables

20 en thérapeutique.

2°- Tripeptidamide de formule générale I selon la Revendication 1, caractérisé en ce qu'il s'agit du L-pyroglutamyl-L-prolyl-L-prolinamide.

3°-Tripeptidamide de formule générale I selon la 25 Revendication 1, caractérisé en ce qu'il s'agit du L-pyroglutamyl-L-norleucyl-L-prolinamide.

4°- Tripeptidamide de formule générale I selon la Revendication 1, caractérisé en ce qu'il s'agit du L-pyroglutamyl-L-norvalyl-L-prolinamide.

30 5°- Tripeptidamide de formule générale I selon la Revendication 1, caractérisé en ce qu'il s'agit du L-pyroglutamyl-L-leucyl-L-proline-éthylamide.

6°- Tripeptidamide de formule générale I selon la Revendication 1, caractérisé en ce qu'il s'agit du 35 L-pyroglutamyl-L-histidyl-L-homoprolinamide.

7°- Tripeptidamide de formule générale I selon la Revendication 1, caractérisé en ce qu'il s'agit du

L-pyroglutamyl-L- $\alpha$ -aminobutyryl-L-prolinamide.

8°- Tripeptidamide de formule générale I selon la Revendication 1, caractérisé en ce qu'il s'agit du L-pyroglutamyl-L-histidyl-D-pipécolinamide.

5 9°- Procédé de préparation de tripeptidamides de la formule générale I selon la Revendication 1, caractérisé en ce qu'on édifie des tripeptidamides de formule générale I, dans lesquels X, Y et A ont les significations indiquées ci-dessus, à partir des amino-acides correspondants ou des  
10 dérivés d'amino-acides à l'aide de méthodes peptidochimiques connues en elles-mêmes et en ce qu'on transforme, le cas échéant, le produit obtenu en un complexe utilisable en thérapeutique.

15 10°- Procédé selon la Revendication 9, caractérisé en ce qu'on N-acyle un amide d'amino-acide de formule générale Y-NH-A, dans laquelle Y et A ont les mêmes significations que ci-dessus, à l'aide d'un résidu L-amino-acide X éventuellement protégé, en mettant en oeuvre les méthodes peptidochimiques usuelles et en ce qu'on N-acyle le dipeptide  
20 obtenu à l'aide de l'acide L-pyroglutamique ou d'un dérivé protégé et/ou activé de celui-ci et en ce qu'on sépare éventuellement les groupes protecteurs présents.

25 11°- Procédé selon la Revendication 9 pour la préparation de tripeptidamides de formule générale I contenant un groupe L-histidyle à la place de X et dans lesquels Y et A ont les mêmes significations que ci-dessus, caractérisé en ce qu'on acyle un amide d'amino-acide de formule générale Y-NH-A, dans laquelle Y et A ont les mêmes significations que ci-dessus, à l'aide de l'azide protégé obtenu à partir  
30 de l'hydrazide de formule Z-Gln-His-NH-NH<sub>2</sub>, dans lequel Z représente un groupe benzyloxycarbonyle et en ce qu'on cyclise le groupe glutamyle : dans le tripeptidamide obtenu après la séparation du groupe protecteur Z, en un groupe pyroglutamyle : par traitement thermique.

35 12°- Procédé selon la Revendication 10, caractérisé en ce qu'on N-acyle le dipeptidamide obtenu au cours de la première étape de la réaction à l'aide d'acide

L-glutamique à la place de l'acide L-pyroglutamique et en ce qu'on cyclise le groupe glutamyle en groupe pyroglutamyle, dans le tripeptide obtenu.