

301459

PATENTE DE INVENCION

Ref: Case 1812. 37/BA/MK.

301459



## *Memoria Descriptiva*

*sobre:*

"Procedimiento para la producción de polipepturos"

=====

*Solicitante:* SANDOZ; A.G., entidad suiza, residente en Basilea, Suiza.

=====

La presente invención se relaciona con nuevos polipepturos y con un nuevo procedimiento para la producción de polipepturos.

La presente invención proporciona el pentacosapepturo L-seril-L-tirosil-L-seril-L-norleucil-L-gluta-

5.



mil-L-histidil-L-fenilalanil-L-arginil-L-triptofanil-glicil-L-lisil-L-prolil-L-valil-glicil-L-lisil-L-lisil-L-arginil-L-arginil-L-prolil-L-valil-L-lisil-L-valil-L-tirosil-L-prolil-L-valinamida y sus sales de adición de ácido.

5.

La presente invención proporciona además N-carbobenzoxi- $\gamma$ -O-butil-terc.-L-glutamil-L-histidil-L-fenilalanil-(guanido)-N-tosil-L-arginil-L-triptofanil-glicil- $\xi$ -N-formil-L-lisil-L-prolil-L-valil-glicil- $\xi$ -

10.

N-formil-L-lisil- $\xi$ -N-formil-L-lisil-(guanido)-N-tosil-L-arginil-(guanido)-N-tosil-L-arginil-L-prolil-L-valil- $\xi$ -N-formil-L-lisil-L-valil-L-tirosil-L-prolil-L-valinamida, L-glutamil-L-histidil-L-fenilalanil-L-arginil-L-triptofanil-glicil- $\xi$ -N-formil-L-lisil-L-prolil-L-valil-glicil- $\xi$ -N-formil-L-lisil- $\xi$ -N-formil-L-lisil-L-arginil

15.

L-arginil-L-prolil-L-valil- $\xi$ -N-formil-L-lisil-L-valil-L-tirosil-L-prolil-L-valinamida, el éster butil terc. de (guanido)-N-tosil-L-arginil-L-triptofanil-glicil- $\xi$ -N-formil-L-lisil-L-prolina, L-valil-glicil- $\xi$ -N-formil-L-lisil- $\xi$ -N-formil-L-lisil-(guanido)-N-tosil-L-arginil

20.

-(guanido)-N-tosil-L-arginil-L-prolil-L-valil- $\xi$ -N-formil-L-lisil-L-valil-L-tirosil-L-prolil-L-valinamida y sus sales de adición de ácido,  $\xi$ -N-formil-L-lisil- $\xi$ -N-formil-L-lisil-(guanido)-N-tosil-L-arginil-(guanido)-N-tosil-L-arginil-L-prolina y L-valil- $\xi$ -N-formil-L-lisil-L-valil-L-tirosil-L-prolil-L-valinamida, así como los correspondientes pepturos libres y grupo protector conteniendo derivados fuera de los ya especificados más arriba.

25.

El pentacosapepturo del invento puede ser obtenido

30.



nido por métodos para la síntesis de compuestos de este tipo actualmente en uso o descritos en la literatura sobre el asunto, siendo posible el unir entre sí los aminoácidos en el orden indicado en el nombre del pentacosapepturo, ya sea uno a la vez o formando primero unidades elementales de pepturo y uniendo éstas entre sí.

5. Un método para producir el pentacosapepturo del invento consiste en tratar el derivado de henecosapeptuo N-carbobenzoxi- $\gamma$ -O-butyl-terc.-L-glutamyl-L-histidil-L-fenilalanil-(guanido)-N-tosil-L-arginil-L-triptofanil-glicil- $\xi$ -N-formil-L-lisil-L-prolil-L-valil-glicil- $\xi$ -N-formil-L-lisil- $\xi$ -N-formil-L-lisil-(guanido)-N-tosil-L-arginil-(guanido)-N-tosil-L-arginil-L-prolil-L-valil- $\xi$ -N-formil-L-lisil-L-valil-L-tirosil-L-prolil-L-valinamida con sodio en amoniaco líquido seco, condensar la L-glutamyl-L-histidil-L-fenilalanil-L-arginil-L-triptofanil-glicil- $\xi$ -N-formil-L-lisil-L-prolil-L-valil-glicil- $\xi$ -N-formil-L-lisil- $\xi$ -N-formil-L-lisil-L-arginil-L-arginil-L-prolil-L-valil- $\xi$ -N-formil-L-lisil-L-valil-L-tirosil-L-prolil-L-valinamida resultante con un derivado del tetrapepturo L-seril-L-tirosil-L-seril-L-norleucina, en cuyo tetrapepturo el radical amino del primer radical serina está substituido por un grupo protector adecuado y el radical carboxilo del radical norleucina se halla presente en forma de un derivado de ácido funcional capaz de reaccionar con radicales amino libres, disociar todos los grupos protectores del pentacosapepturo protegido resultante en una o más etapas y, cuando se desea producir una sal de
- 10.
- 15.
- 20.
- 25.
- 30.



- adición de ácido, haciendo reaccionar el compuesto resultante con un ácido orgánico o inorgánico en forma de por sí conocida. Los grupos protectores pueden ser disociados del pentacosapepturo protegido, por ejemplo,
5. mediante tratamiento con ácido clorhídrico acuoso diluído, caliente, o mediante tratamiento primero con ácido trifluoroacético, ácido acético acuoso o ácido clorhídrico metanólico y luego con ácido fuerte acuoso, diluído, caliente.
  10. Constituyen ejemplos de derivados de ácido funcionales adecuados del tetrapepturo L-seril-L-tirosil-L-seril-L-norleucina que pueden ser usados el azuro, los anhídruos mixtos o el producto de la reacción del ácido con carbodiimida dicitclohexílica o diimidazolcarbónilo.
  15. Ejemplos de radicales para proteger el radical amino del radical serina en este tetrapepturo son los radicales carbobenzoxi, carboalquiloxi, trifluoroacetilo, acetilo, cloroacetilo, formilo, carbo-butoxi-terc., p-nitrocarbobenzoxi o trifenilmetilo.
  20. La selección adecuada de los radicales protectores es particularmente difícil en la síntesis del pentacosapepturo del invento. Hemos encontrado inesperadamente que es posible en este caso usar radicales tosilo (por ejemplo p-toluensulfonilo) para la protección de los radicales guanido de los radicales arginina durante la síntesis y disociar estos radicales antes de la última condensación mediante tratamiento con sodio en amoníaco líquido seco, sin una ruptura simultánea del enlace que une al radical lisina en la posición 11 con el radical prolina en la posición 12,
  - 25.
  - 30.

301459



cuando el radical -amino del radical lisina en la posición 11 está protegido por un radical formilo.

Al sintetizar el pentacosapepturo del invento, es preferible usar ésteres 2,4,5-triclorofenilicos de aminoácidos carbobenzoxi o en ocasiones pepturos carbobenzoxi

5. para formar la cadena de pepturo durante la síntesis.

Debe tenerse presente que el pentacosapepturo protegido no tiene que ser producido en la manera arriba descrita, sino que también puede ser producido median-

10. te la condensación de dos polipepturos que no sean los arriba indicados (o un polipepturo y un aminoácido) en forma de sus derivados protegidos.

Los materiales iniciales para producir el derivado de nonapepturo protegido, si es que han sido desconocidos hasta ahora, pueden ser obtenidos mediante métodos para la síntesis de los pepturos en uso actual o descritos en la literatura sobre el asunto, siendo posible el unir entre si los aminoácidos ya sea uno a la vez o formando primero unidades elementales de pepturo y uniendo éstas entre si.

- 20.

Debe tenerse presente que el pentacosapepturo del invento también puede ser obtenido o usado en forma de sus sales de adición de ácido. Los siguientes son ejemplos de ácidos adecuados para la formación

- 25.

de sales de adición de ácido: los ácidos acético, propiónico, glicólico, láctico, pirúvico, malónico, succínico, maleico, fumárico, tartárico, cítrico, benzoico, cinámico, salicílico, 2-fenoxi- o 2-acetoxi-

- 30.

hidroxietanosulfónico, bencenosulfónico o tolueno-

301459



- sulfónico, naftalenosulfónico y sulfanílico, y los hidrácidos de halógeno, por ejemplo ácido clorhídrico o bromhídrico, nítrico, tiociánico, sulfúrico y fosfórico. Además, pueden usarse para la formación de sales
5. macromoléculas ácidas, por ejemplo ácidos poliurónicos naturales (por ejemplo ácido poligalacturónico, pectina, pectina cítrica, algina), mucopolisacáridos ácidos (por ejemplo heparina, sulfato de condritina) y derivados de celulosa obtenidos sintéticamente o microbiológicamente, conteniendo radicales ácidos (por ejemplo celulosa carboximetilica o sulfato de dextrana), o de almidón u otros polisacáridos.
- 10.

- El pentacosapepturo del invento y sus sales poseen propiedades biológicas y terapéuticas similares
15. a aquellas de la corticotropina natural (también denominada ACTH en la presente descripción); por lo tanto, su uso está indicado para el tratamiento de uno o más de los siguientes: reumatismo articular, asma bronquial, artritis, alergias, gota, urticaria, shock anafiláctico, colitis ulcerosa, lupus eritematoso, quemaduras, dermatitis exfoliativa, leucemia linf-ática, escleroderma, eczema y condiciones de intoxicación en el alcoholismo crónico. El pentacosapepturo del invento, al ser medido
20. de acuerdo con el método de Sayer, indica una actividad que corresponde substancialmente a aquella de la corticotropina natural.
- 25.

- La corticotropina natural requiere el uso de métodos de purificación laboriosos y costosos y aún así no puede ser obtenida completamente libre de impurezas
30. de tipo proteico de alto valor molecular que pueden

- 7 -  
301459



- causar reacciones anafilácticas peligrosas; el pentacosapepturo del invento, un compuesto sintético, sin embargo, puede ser obtenido con un alto grado de pureza y libre de impurezas de tipo proteico. Además, la
5. producción del pentacosapepturo del invento no depende de la disponibilidad de glándulas hipofisarias de las que solo hay un suministro limitado a un costo muy elevado. Una ventaja especial es que el pentacosapepturo del invento, a diferencia de la ACTH natural, está
10. exento de un radical metionina, cuyo radical (presente en la posición 4 de la ACTH) es fácilmente oxidable por lo cual se vuelve inactiva la hormona; el pentacosapepturo del invento contiene un radical norleucina en lugar del radical metionina presente en la ACTH, cuyo
15. radical norleucina tiene las mismas propiedades estéricas como el radical metionina, pero no es fácilmente oxidable. Además, el pentacosapepturo tiene un radical valinamida en la posición 25 que no se halla presente en esta posición en la ACTH natural. Este radical
20. valinamida en la terminación carboxílica protege a la cadena de pepturo contra las enzimas disgregadoras. En comparación con la porción correspondiente de la ACTH, el pentacosapepturo del presente invento tiene una alta estabilidad, la que es de ventaja especial para la
25. aplicación subcutánea o intramuscular.

El pentacosapepturo del invento puede ser usado como base libre o como sal de adición con un ácido orgánico o inorgánico, ya sea solo o en forma de preparaciones medicinales apropiadas para aplicarse, por ejemplo, en forma oral, parentérica, entérica o intranasal.

30.

30145



Con el fin de producir tales preparaciones medicinales se trabaja el compuesto con adyuvantes orgánicos o inorgánicos que sean inertes y fisiológicamente aceptables. Los siguientes son ejemplos de tales adyuvantes:-

- 5.      Tabletas y grageas           : lactosa, almidón, talco y ácido esteárico.
- Jarabes                    : soluciones de azúcar de caña, azúcar invert y glucosa.
- Soluciones inyectables   : agua, alcoholes, glicerina y aceites vegetales.
- 10.     Supositorios                   : aceites naturales o endurecidos y ceras.

Las preparaciones pueden además contener adecuados agentes de conservación, estabilización o humectación, facilitadores de la solución, sustancias edulcorantes y colorantes o aromatizantes.

15.     El pentacosapepturo de la presente invención puede ser administrado en forma de una preparación depósito como es el caso con la ACTH natural.

20.     La presente invención también proporciona, por lo tanto, composiciones farmacéuticas que contengan, además de un soporte fisiológicamente aceptable, el pentacosapepturo del presente invento o una sal de adición de ácido del mismo.

25.     Como el pentacosapepturo del invento tiene una actividad que es substancialmente igual a la de la ACTH, las unidades de dosificación de dicho pentacosapepturo, que pueden ser administradas pueden también ser substancialmente similares a las administradas en el caso de ACTH, es decir de aproximadamente 40 a 60 U.I. por día

30.

301459



y en casos excepcionales de 10 a 100 U.I. por día. Las unidades internacionales aquí indicadas concuerdan con el tercer Standard Internacional.

5. El pentacosapepturo del invento y sus sales también pueden ser usados como intermedios para la producción de preparaciones farmacéuticas.

En el texto y en los dibujos se han usado las siguientes abreviaturas:

- |     |       |   |  |
|-----|-------|---|--|
|     | CBO-  | = | carbobenzoxi-  |
| 10. | tri-  | = | tritilo- = trifenilmetilo-   |
|     | (For) | = | formilo (en el radical $\xi$ -amino del radical lisina)                  |
|     | (Tos) | = | tosilo = p-toluensulfonilo (en el radical guanido del radical arginina). |
| 15. | -OCP  | = | 2,4,5-triclorofenoxi   |
|     | -OTB  | = | butiloxi- <u>terc.</u>   |
|     | -Ome  | = | metoxi   |
|     | -OEt  | = | etoxi  |
| 20. | -Arg- | = | -L-arginil-  |
|     | -Glu- | = | -L-glutamil-   |
|     | -Gli- | = | -glicil-   |
|     | -His- | = | -L-histidil-   |
|     | -Lis- | = | -L-lisil-  |
| 25. | -Nle- | = | -L-norleucil-  |
|     | -Fe-  | = | -L-fenilalanil-  |
|     | -Pro- | = | -L-prolil-   |
|     | -Ser- | = | -L-seril-  |
|     | -Tri- | = | -L-triptofanil-  |
| 30. | -Tir- | = | -L-tirosil-  |



-Val- 301459 -L-valil-

En los siguientes Ejemplos todas las temperaturas están indicadas en grados centígrado.

EJEMPLO 1: Ester O,N-dicarbобензохи-L-тиросина-2,4,5-трихлорофениlico. [CBO-(CBO)Tir-OCP\_7

5.

Se disuelven 45 g de O,N-dicarbобензохи-L-тиросина y 24 g de 2,4,5-трихлорофениол en 200 cc de cloroformo y 200 cc de acetонитрило, se enfria hasta -10°, se añaden 25 g de carbodiimida dicitclohexilica, se deja reposar la mezola a 20° durante 3 horas, se filtra se evapora el filtrado, se recoge el residuo en 650 ml de etanol hirviente, se enfria y se filtra. Se obtienen 57 g de éster O,N-dicarbобензохи-L-тиросина-2,4,5-трихлорофениlico. Punto de fusión 144°.

10.

15.

$[\alpha]_D^{21} = -36°$  en formamida dimetilica.

EJEMPLO 2: Ester α-N-carbобензохи-ξ-N-formil-L-ли-сина-2,4,5-трихлорофениlico.

[CBO-(For)Lis-OCP\_7

20.

Se disuelven 157 g de α-N-carbобензохи-ξ-N-formil-L-ли-сина y 117 g de 2,4,5-трихлорофениол en 900 cc de cloroformo y 90 cc de acetонитрило y se añaden 103 g de carbodiimida dicitclohexilica a -10°. Se sacude durante 2 horas y separa la urea por filtración.

25.

Después de evaporar el disolvente, se recristaliza el residuo de etanol. Se obtienen 224 g de éster α-N-carbобензохи-ξ-N-formil-L-ли-сина-2,4,5-трихлорофениlico. Punto de fusión 142-144°.  $[\alpha]_D^{21} = -18°$  en formamida dimetilica.

30.

EJEMPLO 3: Ester N-carbобензохи-(guanido)N-tosil-L-аргинина-2,4,5-трихлорофениlico.



∟CBO(tos)Arg-OCP\_7

5. Se disuelven 113 g de N-carbobenzoxi-(guanido)-tosil-L-arginina y 65 g de 2,4,5-triclorofenol en 800 cc de acetato etílico y se añaden 51 g de carbodiimida dicitclohexílica a -10°. Se sacude durante una hora y luego se filtra. Después de evaporar el disolvente, se reprecipita el residuo con benceno/éter. Se obtienen 124 g de éster N-carbobenzoxi-(guanido)-tosil-L-arginina-2,4,5-triclorofenílico.

10. EJEMPLO 4: Ester N-carbobenzoxi-L-fenilalanina-2,4,5-triclorofenílico. ∟CBO-Phe-OCP\_7

15. Se disuelven 90 g de N-carbobenzoxi-L-fenilalanina y 80 g de 2,4,5-triclorofenol en 100 cc de acetato etílico y se añaden 62 g de carbodiimida dicitclohexílica a -10°. Después de 2 horas a la temperatura ambiente, se separa la urea dicitclohexílica por filtración y se evapora hasta sequedad. Después de recrystalizar de etanol, se obtienen 120 g de éster N-carbobenzoxi-L-fenilalanina-2,4,5-triclorofenílico. Punto de fusión 142°.

20.  $\left[\alpha\right]_D^{21} = -42^\circ$  en formamida dimetífica.

EJEMPLO 5: Ester 2,4,5-triclorofenílico del ácido N-carbobenzoxi-γ-O-butil-terc.-L-glutámico.

∟CBO-Glu (OTB)-OCP\_7

25. Se añaden 28 g de carbodiimida dicitclohexílica a 40 g de ácido N-carbobenzoxi-γ-O-butil-terc.-L-glutámico y 35 g de 2,4,5-triclorofenol en 350 cc de acetonitrilo a -10°. Se sacude durante 2 horas a la temperatura ambiente, se añaden 350 cc de acetato etílico y se separa la urea dicitclohexílica por filtración. Se evapora la solución hasta sequedad y se recrystaliza

30.

301459



el residuo de acetonitrilo. Se obtienen 55 g de éster 2,4,5-triclorofenílico del ácido N-carbobenzoxi- $\gamma$ -O-butil-terc.-L-glutámico. Punto de fusión 108°.

$[\alpha]_D^{21} = -21^\circ$  en formamida dimetífica.

5. EJEMPLO 6: Éster N-carbobenzoxi-L-triptofanil-glicina-2,4,5-triclorofenílico. [CBO-Tri-Gli-OCP]

10. Se disuelven 79 g de N-carbobenzoxi-L-triptofanil-glicina y 50 g de 2,4,5-triclorofenol en 500 cc de acetato etílico y se añaden 41 g de carbodiimida dicitclohexífica a -10°. Se filtra y se evapora hasta sequedad. Después de recristalizar de metanol, se obtienen 100 g de éster N-carbobenzoxi-L-triptofanil-glicina-2,4,5-triclorofenílico. Punto de fusión 180°,  $[\alpha]_D^{21} = -22^\circ$  en formamida dimetífica.

15. EJEMPLO 7: Éster N-carbobenzoxi-L-valil-glicina-2,4,5-triclorofenílico. [CBO-Val-Gli-OCP]

20. Se disuelven 26 g de N-carbobenzoxi-L-valil-glicina y 20 g de 2,4,5-triclorofenol en 150 cc de cloroformo y se añaden 17 g de carbodiimida dicitclohexífica a -10°. Después de sacudir durante dos horas, se separa la urea por filtración, se evapora el disolvente en un vacío y se recristaliza el residuo de etanol. Se obtienen 35 g de éster N-carbobenzoxi-L-valil-glicina-2,4,5-triclorofenílico. Punto de fusión 180°,  $[\alpha]_D^{21} = -23^\circ$  en formamida dimetífica.

25. EJEMPLO 8: Éster N-carbobenzoxi-L-valina-2,4,5-triclorofenílico. [CBO-Val-OCP]

30. Se disuelven 50 g de N-carbobenzoxi-L-valina en 300 cc de acetobitrilo, se añaden 44 g de 2,4,5-

301459



- triclorofenol y luego 41 g de carbodiimida dicitclohexílica a  $-10^{\circ}$ . Se sacude durante 2 horas a  $20^{\circ}$ , se separa la urea dicitclohexílica por filtración y se evapora en un vacío. Después de recristalizar de éter/éter de petróleo, se obtienen 65 g de éster N-carbobenzoxi-L-valina-2,4,5-triclorofenílico. Punto de fusión  $93^{\circ}$ .  $[\alpha]_D^{21} = -8^{\circ}$  en formamida dimetílica.
5. EJEMPLO 9: L-valil- $\epsilon$ -N-formil-L-lisil-L-valil-L-tirosil-L-prolil-L-valinamida.
10.  $[\text{H-Val(For)Lis-Val-Tir-Pro-Val-NH}_2]$   
(compárese la figura A)
- Se disuelven 50 g de L-prolil-L-valinamida y 100 g de éster dicarbobenzoxi-L-tirosina-triclorofenílico (Ejemplo 1) en 100 cc de formamida dimetílica, se deja reposar la solución a  $20^{\circ}$  durante 48 horas y se filtra. Se añaden 500 cc de ácido clorhídrico N a la solución y se disuelve el residuo oleoso en acetato etílico. Después de lavar con ácido clorhídrico diluido y solución de bicarbonato sódico, se evapora hasta sequedad. Después de recristalizar de acetato etílico/éter, se obtienen 100 g de CBO-(CBO)Tir-Pro-Val-NH<sub>2</sub>. Se añaden a ésta 90 cc de solución de hidróxido sódico 2 N y 200 cc de etanol. Se deja reposar durante una hora a la temperatura ambiente y se añaden 1000 cc de ácido clorhídrico N. Se lava el residuo primero con agua y después del secado, con acetato etílico. Se obtienen 60 g de CBO-Tir-Pro-Val-NH<sub>2</sub>. Punto de fusión  $218-220^{\circ}$ .  $[\alpha]_D^{21} = -23^{\circ}$  en formamida dimetílica.
15. Se disuelve el producto obtenido en 200 cc de una solución de bromuro de hidrógeno 4 N en ácido acético
- 20.
- 25.
- 30.

301459



glacial y se deja reposar durante una hora a 20°. Después de la adición de éter/acetato etílico, la H-Tir-Pro-Val-NH<sub>2</sub> precipita en forma del bromhidrato. Rendimiento 50 g.

Se disuelven 42 g de bromhidrato de H-Tir-Pro-

5. Val-NH<sub>2</sub> en 200 cc de formamida dimetífica y 33 g de CBO-Val-OCP (Ejemplo 8) y se añaden 12 cc de amina trietífica. Se sacude durante 48 horas a la temperatura ambiente y se añaden 500 cc de ácido clorhídrico N. Se disuelve el producto precipitado en acetato etílico y se lava con ácido clorhídrico diluido y solución de bicarbonato sódico. Se precipita la solución de acetato etílico con éter. Se obtienen 39 g de CBO-Val-Tir-Pro-Val-NH<sub>2</sub>.

$[\alpha]_D^{21} = -26^\circ$  en formamida dimetífica.

10. Se disuelve el producto obtenido en 200 cc de una solución de bromuro de hidrógeno 4 N en ácido acético glacial y se deja reposar durante una hora a 20°. Después de la adición de éter/acetato etílico, precipitan 32 g de bromhidrato de H-Val-Tir-Pro-Val-NH<sub>2</sub>.

15. Se disuelven 39 g de bromhidrato de H-Val-Tir-Pro-Val-NH<sub>2</sub> y 29 g de CBO-(For)Lis-OCP (Ejemplo 2) en 100 cc de formamida dimetífica y se añaden 7.5 cc de amina trietífica. Se sacude durante 48 horas a 20°, se añaden 500 cc de ácido acético N y se lava el producto precipitado con agua y luego con acetato etílico. Se obtienen 36 g de CBO-(For)Lis-Val-Tir-Pro-Val-NH<sub>2</sub>.

$[\alpha]_D^{21} = -24^\circ$  en formamida dimetífica.

20. Se disuelve el producto obtenido en 200 cc de una solución de bromuro de hidrógeno 4 N en ácido acético glacial y se deja reposar durante una hora a 20°. Después de la adición de éter/acetato etílico, se ais-

30.

301459



lan 33 g de bromhidrato de H-(For)Lis-Val-Tir-Pro-Val-NH<sub>2</sub>.

5. Se disuelven 32 g de bromhidrato de H-(For)Lis-Val-Tir-Pro-Val-NH<sub>2</sub> y 21 g de CBO-Val-OCP en 50 cc de formamida dimetilica y se añaden 8.7 cc de amina trietífica. Se sacude durante 48 horas a 20° y se añaden 1000 cc de ácido acético N. Se separa el producto precipitado por filtración y se lava con agua y acetato etílico. Se obtienen 30 g de N-CBO-Val-(For)Lis-Val-Tir-Pro-Val-NH<sub>2</sub>.  $[\alpha]_D^{21} = -34°$  en formamida dimetífica.

10.

Se disuelve el producto obtenido en 500 cc de metanol y se hidrogena durante 3 horas a presión normal y en presencia de un catalizador de paladio. Se filtra, se evapora en un vacío y se seca a 50°. Se obtienen 21 g de H-Val-(For)Lis-Val-Tir-Pro-Val-NH<sub>2</sub>.

15.

$[\alpha]_D^{21} = -33°$  en formamida dimetífica.

EJEMPLO-10:  $\xi$ -N-formil-L-lisil- $\xi$ -N-formil-L-lisil-(guanido) N-tosil-L-arginil-(guanido)N-tosil-L-arginil-L-prolina.  $\int$ H-(For)Lis-(For)Lis-(Tos)Arg-(Tos)Arg-Pro-OH<sub>7</sub>

20.

(compárese la figura B)

25. Se disuelven 54 g de CBO-(Tos)Arg-OCP (Ejemplo 3) y 19 g de éster de L-prolina-butyl-terc. (H-Pro-OTB) en 70 cc de acetato etílico y se deja reposar a 20° durante 16 horas. Se lava con solución diluida de hidróxido sódico, ácido fosforoso diluido y solución saturada de cloruro sódico, se seca sobre sulfato sódico y se evapora en un vacío. Después de recristalizar de benceno/éter, se obtienen 49 g de CBO-(Tos)Arg-Pro-OTB. Punto de fusión

30.

127°.  $[\alpha]_D^{21} = -29°$  en formamida dimetífica.



301459

- Se disuelven 115 g de CBO-(Tos)Arg-Pro-OTB en 150 cc de ácido trifluoroacético y se deja reposar durante 2 horas a 20°. Se añade éter y se disuelve el precipitado resultante en amoníaco N. Se lava con acetato etílico, se acidifica con ácido sulfúrico 4 N y se disuelve el precipitado en acetato etílico. Después de secar sobre sulfato sódico, se evapora en un vacío. Se obtienen 98 g de CBO-(Tos)Arg-Pro-OH.  $[\alpha]_D^{21} = -11^\circ$  en formamida dimetílica.
5. Se disuelve el producto obtenido en 500 cc de una solución de bromuro de hidrógeno 4 N en ácido acético glacial y se deja reposar durante una hora a 20°. Después de la adición de éter, se aíslan 83 g de bromhidrato de H-(Tos)Arg-Pro-OH.
10. Se disuelven 60 g de bromhidrato de H-(Tos)Arg-Pro-OH y 80 g de CBO-(Tos)Arg-OCP (Ejemplo 3) en 200 cc de formamida dimetílica y se añaden 52 cc de amina trietílica. Se sacude durante 48 horas a 20°, se filtra y se añaden 500 cc de ácido acético 4 N.
15. Se disuelve el aceite que se separa en amoníaco N, se lava con acetato etílico y se acidifica con ácido sulfúrico 4 N. Se extrae el producto precipitado con una mezcla de acetato etílico/n-butanol y se evapora el extracto en un vacío. Se obtienen 86 g de CBO-(Tos)Arg-(Tos)Arg-Pro-OH.  $[\alpha]_D^{21} = -40^\circ$  en formamida dimetílica.
20. Se disuelve el producto obtenido en 500 cc de una solución de bromuro de hidrógeno 4 N en ácido acético glacial y se deja reposar durante una hora a 20°. Después de la adición de éter, se aíslan 86 g
- 25.
- 30.



de bromhidrato de H-(Tos)Arg-(Tos)Arg-Pro-OH.

5. Se disuelven 61 g de bromhidrato de H-(Tos)Arg-(Tos)Arg-Pro-OH y 32 g de CBO-(For)Lis-OGP (Ejemplo 2) en 200 cc de formamida dimetilica y se añaden 90 cc de amina trietilica. Se sacude durante 48 horas a 20<sup>o</sup>, se filtra y se añaden 500 cc de ácido acético 4 N. Se disuelve el producto precipitado en amoníaco N, se lava con acetato etílico y se acidifica con ácido sulfúrico 4 N. Se extrae el aceite separado con una mezcla de acetato etílico/n-butanol y se seca el extracto sobre sulfato sódico y se evapora en un vacío. Se obtienen 42 g de CBO-(For)Lis-(Tos)Arg-(Tos)Arg-Pro-OH.
10.  $[\alpha]_D^{21} = +23^{\circ}$  en formamida dimetilica.
15. Se disuelve el producto obtenido en 300 cc de una solución de bromuro de hidrógeno 4 N en ácido acético glacial y se deja reposar durante una hora a 20<sup>o</sup>. Después de la adición de éter, se aíslan 39 g de bromhidrato de H-(For)Lis-(Tos)Arg-(Tos)Arg-Pro-OH.
20. Se disuelven 37g de bromhidrato de H-(For)Lis-(Tos)Arg-(Tos)Arg-Pro-OH y 19 g de CBO-(For)Lis-OGP (Ejemplo 2) en 100 cc de formamida dimetilica y se añaden 68 cc de amina trietilica. Se sacude durante 48 horas a 20<sup>o</sup>, se filtra y se añaden 500 cc de ácido acético 4 N. Se disuelven el aceite separado en amoníaco N y se lava con acetato etílico. A continuación se acidifica con ácido sulfúrico diluido y se extrae con una mezcla de n-butanol/acetato etílico. Después de secar sobre sulfato sódico y de evaporar en un vacío, se obtienen 28 g de CBO-(For)Lis-(For)Lis-(Tos)Arg-(Tos)Arg-Pro-OH.  $[\alpha]_D^{21} = -18^{\circ}$  en formamida dimetilica.
- 25.
- 30.





- sacude durante 16 horas a 20° y se separa la urea diciclohexílica por filtración. Se añade ácido clorhídrico diluído a la solución y se lava el producto precipitado con agua y acetato etílico. A continuación se disuelve en etanol caliente y después de enfriar se separa el producto por filtración. Se obtienen 22 g de CBO+ Val-Gli-(For)Lis-(For)Lis-(Tos)Arg-(Tos)Arg-Pro-Val-(For)Lis-Val-Tir-Pro-Val-NH<sub>2</sub>.  $\left[ \frac{67}{D} \right]^{21} = -29^{\circ}$  en formamida dimetílica.
- 5.
10. Se disuelve el producto obtenido en 400 cc de solución de bromuro de hidrógeno 4 N en ácido acético glacial y se deja reposar durante una hora a 20°, Después de la adición de éter, se aislan 20 g de bromhidrato de H-Val-Gli-(For)Lis-(For)Lis-(Tos)Arg-(Tos)Arg-Pro-Val-(For)Lis-Val-Tir-Pro-Val-NH<sub>2</sub>.
15. EJEMPLO 12: Estar (guanido)N-tosil-L-arginil-L-triptofanil-glicil-Σ-N-formil-L-lisil-L-prolina-butyl-terciario. [ H-(Tos)Arg-Tri-Gli-(For)Lis-Pro-OTB\_7
20. (compárese la figura D)
- Se disuelven 97.4 g de CBO-(For)Lis-OCP (Ejemplo 2) y 40 g de éster L-prolina-butyl-terciario, (H-Pro-OTB) en 200 cc de formamida dimetílica, se deja reposar la solución durante 16 horas, se añaden a la misma 500 cc de acetato etílico, se lava la solución resultante con ácido fosfórico diluído y solución de bicarbonato potásico. Después de secar con sulfato sódico, se evapora la solución y se lava el residuo oleoso resultante con éter de petróleo. Se disuelve el residuo en 600 cc de metanol y 12 cc de ácido acético
- 25.
- 30.

3044



- glacial y se disocia el radical CBO mediante hidrogenación a presión normal y en presencia de un catalizador de paladio. Se separa el catalizador por filtración y se evapora el metanol. Después de secar en un alto vacío
5. se obtienen 77 g de ácido H-(For)Lis-Pro-OTB acético en forma de un aceite viscoso. Este se disuelve en 200 cc de formamida dimetílica, se añaden 96 g de CBO-Tri-Gli-OGP y 30 cc de amina trietílica y se calienta durante 6 horas hasta 50°. Después de la adición de 1000 cc de acetato etílico y del lavado con ácido fosfórico diluido y solución de bicarbonato potásico, se seca la solución con sulfato sódico y se evapora. Se lava el residuo con éter y se seca. Se obtienen 110 de CBO-Tri-Gli-(For)~~Lis~~-Pro-OTB. Punto de fusión 105-112°. ~~107~~  $\frac{21}{D}$
10. - 53° en formamida dimetílica.
15. Se disuelven 106 g de CBO-Tri-Gli-(For)Lis-Pro-OTB y 9 cc de ácido acético glacial en 1000 cc de metanol y se hidrogena en presencia de un catalizador de paladio con el fin de disociar el radical CBO. Se separa el catalizador por filtración, se evapora el disolvente y se seca el residuo en un alto vacío. Se disuelve el residuo en 150 cc de formamida dimetílica, se añaden 105 g de CBO-(Tos)Arg-OGP y 22 de amina trietílica y se agita durante 16 horas a 20° y durante 6 horas a
20. 50°. Se añaden 1500 cc de acetato etílico, se lava con ácido sulfúrico diluido, solución de carbonato sódico y agua. Se seca sobre sulfato sódico, se concentra la solución y se precipita el producto mediante la adición de éter. Después de filtrar y de secar, se obtienen 108
25. g de CBO-(Tos)Arg-Tri-Gli-(For)Lis-Pro-OTB. Punto de
- 30.

301459



fusión 102° (con descomposición).  $[\alpha]_D^{21} = -29°$  en formamida dimetflica.

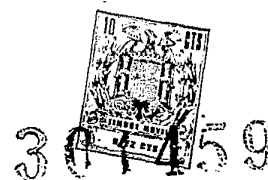
- 5. Se disuelve el producto obtenido en 1600 cc de metanol y se hidrogena en presencia de un catalizador de paladio a presión normal hasta que se haya disociado completamente el radical CBO. Se separa el catalizador mediante filtración con succión, se descolora la solución con carbón animal, se filtra y se evapora. Se lava el residuo con éter y se seca a 60° en un alto vacío. Se obtienen 64 g de H-(Tos)Arg-Tri-Gli-(For)Lis-Pro-OTB.  $[\alpha]_D^{21} = -34°$  en formamida dimetflica.

EJEMPLO 13: L-glutamil-L-histidil-L-fenilalanil-L-arginil-L-triptofamil-glicil- $\Sigma$ -N-formil-L-lisil-L-prolil-L-valil-glicil- $\Sigma$ -N-formil-L-lisil- $\Sigma$ -N-formil-L-lisil-L-arginil-L-arginil-L-prolil-L-valil- $\Sigma$ -N-formil-L-lisil-L-valil-L-tirosil-L-prolil-L-valinamida.  $[\alpha]_D^{21} = -34°$  en formamida dimetflica.

H-Glu-His-Fe-Arg-Tri-Gli-(For)Lis-Pro-Val-Gli-(For)Lis-(For)Lis-Arg-Arg-Pro-Val-(For)Lis-Val-Tir-Pro-Val-NH<sub>2</sub> 7

(compárese la figura E)

- 25. Se disuelven 57 g de H-(Tos)Arg-Tri-Gli-(For)Lis-Pro-OTB y 42 g de CBO-Fe-OCP (Ejemplo 4) en 100 cc de formamida dimetflica, se deja reposar la solución durante 16 horas a la temperatura ambiente, se añaden a la misma 2000 cc de acetato etílico, se lava con ácido sulfúrico diluido y solución de carbonato sódico, se seca sobre sulfato sódico, se evapora y se lava el residuo con éter. Después de secar en un alto vacío,
- 30. se obtienen 85 g de CBO-Fe-(Tos)Arg-Tri-Gli-(For)Lis-



Pro-OTB. Punto de fusión 180° (con descomposición).

$[\alpha]_D^{21} = -32^\circ$  en formamida dimetífica.

5. Se disuelve el producto arriba obtenido en 1600 cc de metanol y se hidrogena en presencia de un catalizador de paladio a presión normal hasta que se haya disociado completamente el radical CBO. Después de filtrar, se concentra la solución y se precipita el producto con éter. Después de secar en un alto vacío a 60°, se obtienen 57 g de H-Fe-(Tos)Arg-Tri-Gli-(For) Lis-Pro-OTB.  $[\alpha]_D^{21} = -48^\circ$  en formamida dimetífica.
10. Se disuelven 54 g de H-Fe-(Tos)Arg-Tri-Gli-(For) Lis-Pro-OTB y 20 g de CBO-His-N<sub>3</sub> en una mezcla de 60 cc de acetato etílico y 60 cc de formamida dimetífica y se deja reposar durante 48 horas a 0°. Se evapora, se trata el residuo con 500 cc de acetato etílico, se filtra y se seca el producto sólido en un alto vacío. Se obtienen 74 g de CBO-His-Fe-(Tos)Arg-Tri-Gli-(For)Lis-Pro-OTB. Punto de fusión 160-180°.  $[\alpha]_D^{21} = -41^\circ$  en formamida dimetífica.
15. Se disuelve el producto obtenido en 740 cc de ácido trifluoroacético y se mantiene durante una hora a 20°. Se evapora y se lava el residuo con éter, se disuelve en una mezcla de dioxano/agua (4:1) y se filtra sobre una columna de una resina intercambiadora de iones, básica, con el fin de separar los últimos vestigios de ácido trifluoroacético. Se evapora el filtrado en un vacío. Se obtienen 62 g de CBO-His-Fe-(Tos)Arg-Tri-Gli-(For)Lis-Pro-OH.
20. Se disuelve el producto obtenido en 1500 cc de metanol y se hidrogena en presencia de un catalizador
- 25.
- 30.



301459

- de paladio a presión normal hasta que se haya disociado completamente el radical CBO. Se filtra, se lava el catalizador con 100 cc de formamida dimetflica, se concentran los filtrados combinados y se precipita el hepta-
5. pepturo con éter. Después de secar, se obtienen 40 g de H-His-Fe-(Tos)Arg-Tri-Gli-(For)Lis-Pro-OH. Punto de fusión 220-225°.  $\alpha_D^{21} = -34^\circ$  en formamida dimetflica.
- Se disuelve el producto obtenido en 300 cc de formamida dimetflica, se añaden 28,5 g de CBO-Glu(OTB)-OCP,
10. se deja reposar la mezcla durante 3 días a 20°, se concentra y se añaden 1000 cc de éter. Después de filtrar se lava el precipitado con acetato etílico, se disuelve en una mezcla de dioxano/agua (4:1), se filtra a través de una columna de una resina intercambiadora de iones,
15. ácida, y se evapora. Se disuelve el residuo en una pequeña cantidad de formamida dimetflica y se precipita con acetato etílico. Después de filtrar y de secar en un alto vacío, se obtienen 39 g de CBO-Glu(OTB)-His-Fe-
20. -(Tos)Arg-Tri-Gli-(For)Lis-Pro-OH. Punto de fusión 175-180°.  $\alpha_D^{21} = -31^\circ$  en formamida dimetflica.
- Se disuelve el producto obtenido en 60 cc de piridina, se añaden 30 g de tri(2,4,5-triclorofenil) fosfito. Este último se produce como sigue: se suspenden
25. 88 g de 2,4,5-triclorofenolato sódico en 500 cc de benceno y se añaden 12 cc de tricloruro fosfórico a 0°. Después de 3 horas a 80°, se separa el cloruro sódico por filtración y se evapora la solución, Después de recristalizar de acetato etílico, se obtienen
30. 52 g de tri(2,4,5-triclorofenil)fosfito con un punto de fusión de 122°. Se deja reposar durante 16 horas a



301459

20<sup>o</sup>, se añade éter, se filtra, se lava con acetato etílico caliente y se seca. Se obtienen 42 g de CBO-Glu(OTB)-His-Fe-(Tos)Arg-Tri-Gli-(For)Lis-Pro-OCP.

$\alpha_{D}^{21} = -28.1^{\circ}$  en formamida dimetífica.

5. Se disuelven 19 g de CBO-Glu(OTB)-His-Fe-(Tos)Arg-Tri-Gli-(For)Lis-Pro-OCP y 20 g de H-Val-Gli-(For)Lis-(for)Lis-(Tos)Arg-(Tos)Arg-Pro-Val-(For)Lis-Val-Tir-Pro-Val-NH<sub>2</sub> en 40 cc de formamida dimetífica y 2 cc de amina trietífica y se calienta la solución resultante hasta 50<sup>o</sup> durante 18 horas. Se añaden a la misma 1000 cc de acetona hirviente y luego se lava cuidadosamente el producto precipitado con acetona y se seca en un vacío. Se disuelve éste en una mezcla de diozano/agua (4:1), se filtra a través de una resina intercambiadora de iones, ácida, y se evapora hasta sequedad. Se lava el residuo con acetato etílico y se evapora en un vacío. Se obtienen 27 g de CBO-Glu(OTB)-His-Fe-(Tos)Arg-Tri-Gli-(For)Lis-Pro-Val-Gli-(For)Lis-(For)Lis-(Tos)Arg-(Tos)Arg-Pro-Val-(For)Lis-Val-Tir-Pro-Val-NH<sub>2</sub>. Punto de fusión 210-220<sup>o</sup>.  $\alpha_{D}^{21} = -38^{\circ}$  en formamida dimetífica.
10. Se disuelven 5 g del henecosapepturo protegido obtenido en 7.5 litros de amoníaco seco y se añaden pedazos de sodio, mientras se agita vigorosamente, hasta que resulta una coloración azul oscura estable. Se añaden luego 2 g de cloruro amónico, se evapora el amoníaco, se seca el residuo en un alto vacío y se disuelve en 250 cc de ácido acético 0.2 N. Después de liberar de la sal, se evapora la solución hasta sequedad, se lava el residuo con metanol y se seca en un vacío.
- 15.
- 20.
- 25.
- 30.



Se obtienen 4.4 g de H-Glu-His-Fe-Arg-Tri-Gli-(For)Lis-Pro-Val-Gli-(For)Lis-(For)Lis-Arg-Arg-Pro-Val-(For)Lis-Val-Tir-Pro-Val-NH<sub>2</sub>.

5.  EjemPLO 14: N-tritil-L-seril-L-tirosil-L-seril-L-nor-leucil-L-glutamil-L-histidil-L-fenil-alanil-L-arginil-L-triptofanil-glicil- $\Sigma$ -N-formil-L-lisil-L-prolil-L-valil-glicil- $\Sigma$ -N-formil-L-lisil-L-prolil-L-valil- $\Sigma$ -N-formil-L-lisil-L-arginil-L-arginil-L-prolil-L-valil- $\Sigma$ -N-formil-L-lisil-L-valil-L-tirosil-L-prolil-L-valinamida.  $\sphericalangle$  Tri-Ser-Tir-Ser-Mle-Glu-His-Fe-Arg-Tri-Gli-(For)Lis-Pro-Val-Gli-(For)Lis-(For)Lis-Arg-Arg-Pro-Val-(For)Lis-Val-Tir-Pro-Val-NH<sub>2</sub> 7
- 10.

15. (compárese la figura F)

Se disuelven 174 g de Tri-Ser-OH y 117 g de H-Tir-Ole en una mezcla de 2 litros de acetonitrilo, 1 litro de cloroformo y 50 cc de formamida dimetílica, se enfría hasta -10°, se añaden 124 g de carbodiimida dicitclohexílica y se agita a 20° durante 5 horas. Se filtra, se lava con 1.5 litro de pirídina, se evaporan los filtrados combinados hasta sequedad y se cristaliza el residuo acetato etílico caliente. Se obtienen 221 g de Tri-Ser-Tir-Ole. punto de fusión 232°.

20.  $[\alpha]_D^{21} = -34^\circ$  en formamida dimetílica.

Se disuelve el producto obtenido en 500 cc de formamida dimetílica y se añaden 100 cc de hidracina. Después de 24 horas a 20°, se vierte la solución dentro de 5 litros de agua, se centrifuga, se disuelve el residuo oleoso en 2 litros de acetato etílico y se lava

30.



01459

la solución resultante con agua hasta neutro. Se seca con sulfato sódico, se evapora hasta sequedad y se lava el residuo con éter. Se obtienen 182 g de Tri-Ser-Tir-NHNH<sub>2</sub>. Punto de fusión 120° (con descomposición).

5.  $[\alpha]_D^{21} = -30^\circ$  en formamida dimetílica.

Se disuelven 131 g de CBO-Ser-OH y 95 g de clorhidrato de H-Nle-OMe en 2 litros de cloroformo y 70 cc de amina trietílica, se enfría hasta -10°, se añaden 124 g de carbodiimida dicitclohexílica y se agita a 20°

10. durante 5 horas. Se filtra, se evapora el filtrado, se lava el residuo con éter de petróleo y agua y se seca. Se cristaliza de acetato etílico/éter de petróleo y se obtienen 151 g de CBO-Ser-Nle-OMe. Punto de fusión 71°.

15.  $[\alpha]_D^{22} = -19^\circ$  en metanol. Se disocia el radical CBO mediante hidrogenación catalítica en metanol en presencia de un catalizador de paladio y una cantidad equivalente de cloruro de hidrógeno. Después de separar el catalizador, de evaporar y de añadir éter etílico, se obtiene un rendimiento cuantitativo de clorhidrato de H-Ser-Nle-OMe.

20. Se disuelven 46 g de Tri-Ser-Tir-NHNH<sub>2</sub> en una mezcla de 120 cc de formamida dimetílica, 120 cc de isopropanol y 120 cc de agua, se enfría hasta -10°, se añaden 44 cc de ácido clorhídrico 6 N y luego 3,5 g de nitrito sódico mientras se agita vigorosamente. Después de 5 minutos, se añaden 250 cc de bicarbonato potásico N y 1500 cc de agua. Se filtra con succión, se disuelve el producto sólido en 200 cc de formamida dimetílica, se añaden 24 g de clorhidrato de H-Ser-Nle-OMe y 23 cc de amina trietílica y se deja reposar la

30.



301459

- mezcla a 20° durante 16 horas. Se vierte la solución dentro de 1000 cc de agua, se extrae con acetato etílico, se seca sobre sulfato sódico y se evapora. Después de lavar el residuo con éter, se obtienen 56,5 g
5. de Tri-Ser-Tir-Ser-Nle-Ole. Punto de fusión 130-140°, (con descomposición).
- Se disuelve el producto obtenido en 200 cc de etanol caliente, se añaden 3 cc de hidracina, se deja reposar la mezcla durante 24 horas a 20°, se añaden 200
10. cc de éter, se filtra, se lava con éter y se seca en un vacío sobre pentóxido de fósforo y ácido sulfúrico concentrado. Se obtienen 51 g de Tri-Ser-Tir-Ser-Nle-NH-NH<sub>2</sub>. Punto de fusión 205°.
- Se disuelven 8,8 g de Tri-Ser-Tir-Ser-Nle-NH-NH<sub>2</sub>
15. en 30 cc de formamida dimetílica, se añaden 10 cc de agua, se enfría hasta -10°, se añaden 5 cc de ácido clorhídrico 6 N y luego 750 mg de nitrito sódico, se agita a -5° durante 5 minutos, se añaden 300 cc de solución de bicarbonato potásico 0.2 N y se centrifuga.
20. Se disuelve el Tri-Ser-Tir-Ser-Nle-N<sub>3</sub> resultante en 50 cc de formamida dimetílica, se añaden 20 g de H-Glu-His-Pe-Arg-Tri-Gli-(For)Lis-Pro-Val-Gli-(For)Lis-(For)Lis-Arg-Arg-Pro-Val-(For)Lis-Val-Tir-Pro-Val-NH<sub>2</sub> y 5 cc de agua y luego se añade amina trietílica hasta que se obtiene una reacción alcalina. Se deja reposar la mezcla durante 12 horas a 0°, se añade una cantidad adicional de azuro de tetrapepturo, producido de 4.8 g de Tri-Ser-Tir-Ser-Nle-NH-NH<sub>2</sub>, se deja reposar durante 6 horas a 20°, se evapora hasta sequedad en un alto vacío, se lava con acetona caliente,
- 25.
- 30.



301459

acetato etílico y cloruro metilénico y se seca en un vacío. Se obtienen 23 g de Tri-Ser-Tir-Ser-Mle-Glu-His-Fe-Arg-Tri-Gli-(For)Lis-Pro-Val-Gli-(For)Lis-(For)Lis-Arg-Arg-Pro-Val-(For)Lis-Val-Tir-Pro-Val-NH<sub>2</sub>.

- 5. EJEMPLO 15: L-seril-L-tirosil-L-seril-L-norleucil-L-glutamil-L-histidil-L-fenilalanil-L-arginil-L-triptofanil-glicil-L-lisil-L-prolil-L-valil-glicil-L-lisil-L-lisil-L-arginil-L-arginil-L-prolil-L-valil-L-lisil-L-valil-L-tirosil-L-prolil-L-valina-  
 10. mida. /H-Ser-Tir-Ser-Mle-Glu-His-Fe-Arg-Tri-Gli-Lis-Pro-Val-Gli-Lis-Lis-Arg-Arg-Pro-Val-Lis-Val-Tir-Pro-Val-NH<sub>2</sub>-7

(compárese la figura F)

- 15. a) Se calientan 10 g de pentacosapepturo protegido en 5000 cc de ácido clorhídrico 0.1N hasta 100° durante 3 horas mientras se agita y en ausencia de oxígeno, se evapora en un vacío, se lava el residuo con acetona y éter etílico y se seca en un vacío. Después de una
- 20. distribución a contracorriente en el sistema ácido trifluoroacético/butanol secundario/agua (1:120:160), se obtienen 7.4 g de una fracción principal, la que muestra la misma efectividad como la corticotropina y un comportamiento homogéneo en la cromatografía y en la
- 25. electrofóresis. Migración en la electrofóresis sobre papel a un valor pH de 5.8 y 40 V/cm: 56 mm en 60 minutos, (la histidina usada como norma migra 61 mm). Migración en electrofóresis sobre papel a un valor pH de
- 30. 1.9 y 40 V/cm: 121 mm en 60 minutos (el ácido glutámico usado como norma migra 97 mm bajo las mismas con-



1459

- diciones). Rf en cromatografía sobre papel en el sistema n-butanol/ácido acético/agua (70:10:20) : 0.01. (La hidrólisis total da la siguiente composición de aminoácidos Ser<sub>1.8</sub>Tri<sub>1.9</sub>Nle<sub>1.0</sub>Glu<sub>0.9</sub>His<sub>1.1</sub>Fe<sub>1.0</sub>Arg<sub>3.2</sub>Gli<sub>2.0</sub>Lis<sub>4.1</sub>Pro<sub>2.9</sub>Val<sub>4.0</sub>; como es sabido, Tir se descompone mediante la hidrólisis ácida total). El producto puede ser usado directamente o después de convertirse en otra sal. Puede ser almacenado en forma sólida, en solución o como adsorbato.
5. b) Se disuelven 10 g de pentacosapepturo protegido en una mezcla de 500 cc de ácido acético glacial y 500 cc de agua, se calienta la solución durante 10 minutos hasta 100°, se evapora, se disuelve en 5000 cc de ácido clorhídrico 0.1 N, se calienta durante 3 horas a 100° y se continúa el procedimiento en la forma indicada en a).
10. c) Se disuelven 10g de pentacosapepturo protegido en 1200 cc de ácido trifluoroacético, se deja reposar la solución durante 30 minutos a 20°, se evapora, se disuelve en 5000 cc de ácido clorhídrico 0.2 N, se calienta durante 90 minutos a 100° y se continúa el procedimiento en la forma indicada en a).
15. d) Se disuelven 10 g de pentacosapepturo protegido en 4500 cc de ácido clorhídrico metanólico 0.5 N, se deja reposar la solución durante 24 horas a 20° mientras se agita, se evapora, se disuelve en 1000 cc de ácido clorhídrico 0.1 N, se calienta durante una hora a 100° y se continúa el procedimiento en la forma indicada en a).
- 20.
- 25.



Fig. A. Producción de H-Val-(For)Lis-Val-Tir-Pro-Val-NH<sub>2</sub>

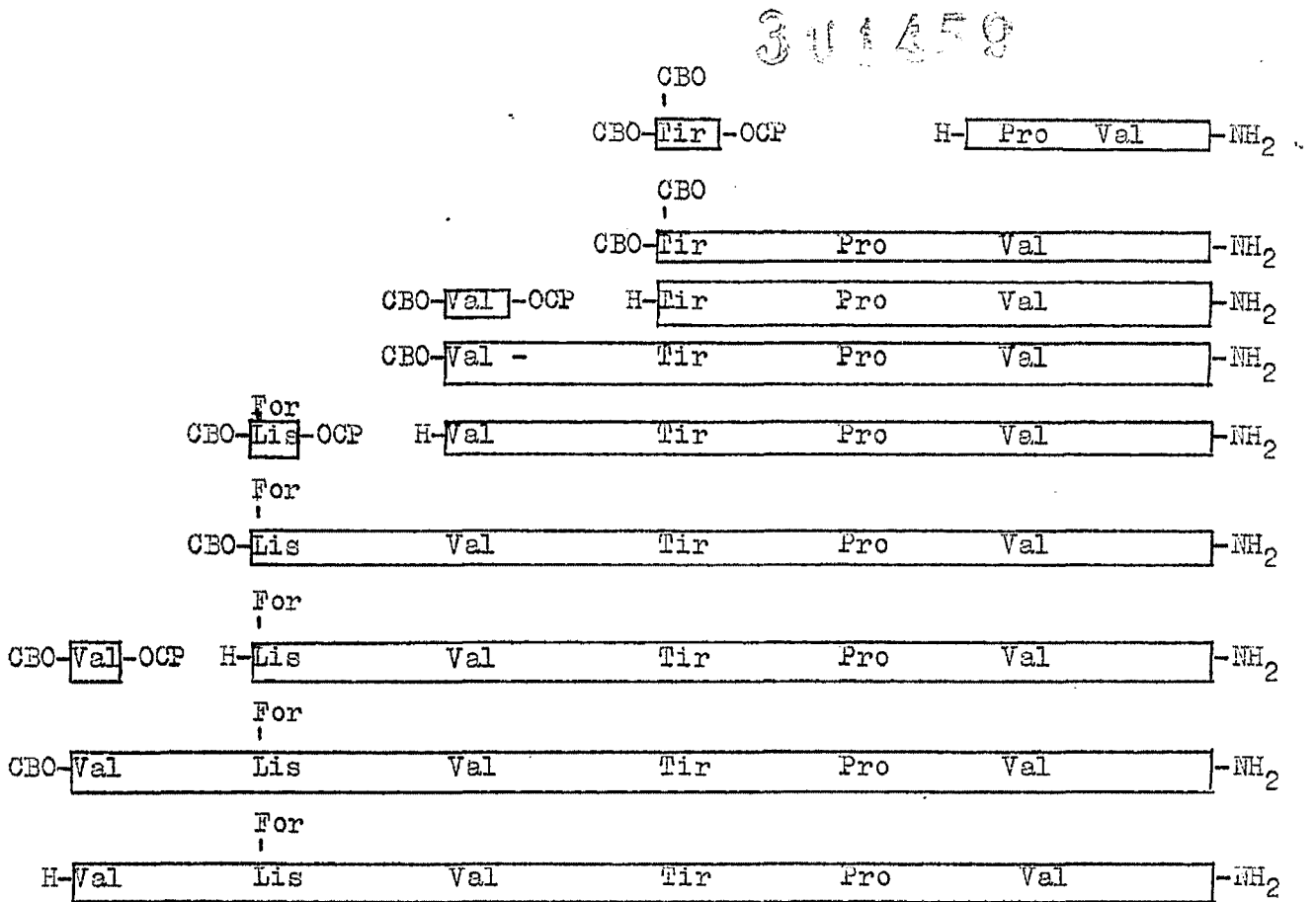






Fig. 0 Producción de H-Val-Gli-(For)Lis-(For)Lis-(For)Arg-(For)Arg-  
Pro-Val-(For)Lis-Val-Tir-Pro-Val-MH2

=====

301459

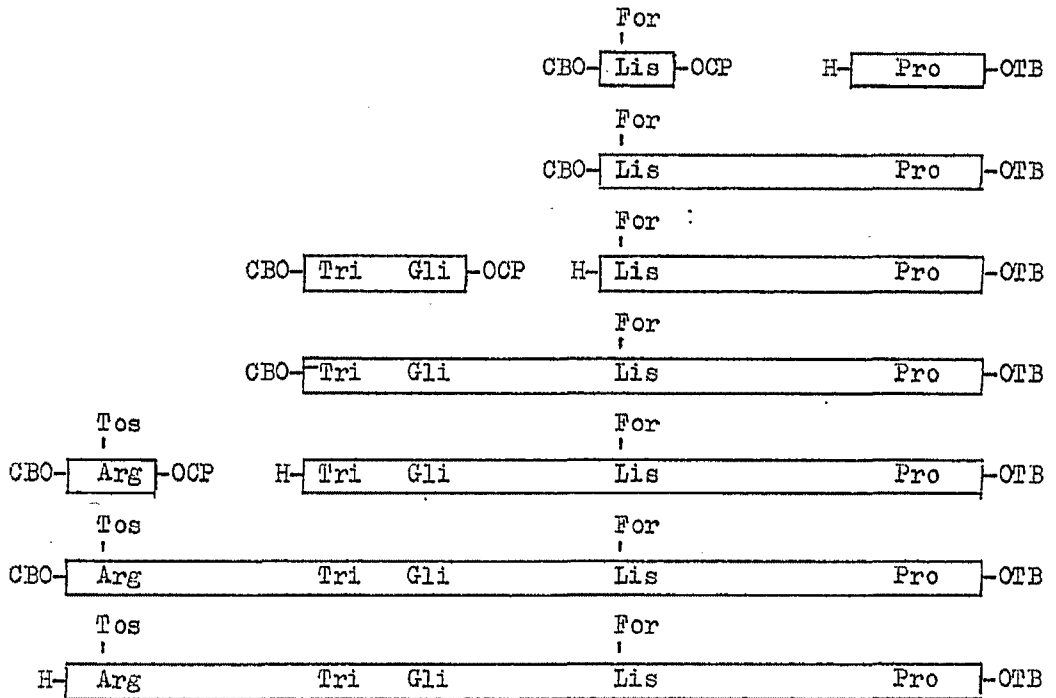
CEO-Val-Gli-CCP	H-	For Lis Arg Pro	For Tos Arg Pro	
CEO-Val-Gli	H-	For Lis Arg Pro	For Tos Arg Pro	For
CEO-Val-Gli	H-	Lis Lis Arg Arg Pro	Lis Lis Val Tir Pro Val	MH2
CEO-Val-Gli	H-	For For Tos	For	
CEO-Val-Gli	H-	Lis Lis Arg Arg Pro	Val Lis Val Tir Pro Val	MH2
H-Val-Gli	H-	For For Tos	For	
H-Val-Gli	H-	Lis Lis Arg Arg Pro	Val Lis Val Tir Pro Val	MH2



Fig. D Producción de H-(Tos)Arg-Tri-Gli-(For)Lis-Pro-OTB

=====

361459







301459

NOTA



- Descrita suficientemente la naturaleza del invento, así como la manera de realizarlo en la práctica, debe hacerse constar que las disposiciones anteriormente indicadas son susceptibles de modificaciones de detalle, en cuanto no alteren su principio fundamental. También se hace constar que el invento se refiere a una Solicitud de Patente, presentada en Suiza, con fecha 28 de junio de 1963, nº 8021/63, acogiendo por lo tanto a los beneficios que conceden los Convenios Internacionales en vigor, siendo lo que constituye la esencia del referido invento, y por lo que se solicita Patente de Invención por 20 años en España, sobre: "PROCEDIMIENTO PARA LA PRODUCCION DE POLIPEPTUROS"; caracterizándose por lo siguiente:
- 1ª.- "Procedimiento para la producción de polipepturos", especialmente del pentacosapepturo L-seril-L-tirosil-L-seril-L-norleucil-L-glutamil-L-histidil-L-fenilalanil-L-arginil-L-triptofanil-glicil-L-lisil-L-prolil-L-valil-glicil-L-lisil-L-lisil-L-arginil-L-arginil-L-prolil-L-valil-L-lisil-L-valil-L-tirosil-L-prolil-L-valinamida y sus sales de adición de ácido, caracterizado porque se trata el derivado de henecosa-pepturo N-carbobenzoxi- $\gamma$ -O-butil-terc.-L-glutamil-L-histidil-L-fenilalanil-(guanido)-N-tosil-L-arginil-L-triptofanil-glicil- $\xi$ -N-formil-L-lisil-L-prolil-L-valil-glicil- $\xi$ -N-formil-L-lisil- $\xi$ -N-formil-L-lisil-(guanido)-N-tosil-L-arginil-(guanido)-N-tosil-L-arginil-L-prolil-L-valil- $\xi$ -N-formil-L-lisil-L-valil-L-tirosil-L-prolil-L-valinamida con sodio en amoníaco



301459

- líquido seco, se condensa la L-glutamil-L-histidil-L-fenilalanil-L-arginil-L-triptofanil-glicil- $\Sigma$ -N-formil-L-lisil-L-prolil-L-valil-glicil- $\Sigma$ -N-formil-L-lisil- $\Sigma$ -N-formil-L-lisil-L-arginil-L-arginil-L-prolil-L-valil- $\Sigma$ -N-Formil-L-lisil-L-valil-L-tirosil-L-prolil-L-valinamida resultante con un derivado del tetrapepturo L-seril-L-tirosil-L-seril-L-norleucina, en cuyo tetrapepturo el radical amino del primer radical serina está substituido por un grupo protector adecuado y el radical carboxilo del radical norleucina se halla presente en forma de un derivado de ácido funcional capaz de reaccionar con radicales amino libres, se disocian todos los grupos protectores del pentacosapepturo protegido resultante en una o más etapas y, cuando se desea producir una sal de adición de ácido, se hace reaccionar el compuesto resultante con un ácido orgánico o inorgánico.
- 5.
- 10.
- 15.
- 20.
- 25.
- 30.
- 2ª.- Procedimiento según la reivindicación 1ª, caracterizado porque se disocian los grupos protectores del pentacosapepturo protegido mediante tratamiento con ácido clorhídrico acuoso diluido, caliente.
- 3ª.- Procedimiento según la reivindicación 1ª, caracterizado porque se disocian los grupos protectores del pentacosapepturo protegido mediante tratamiento con ácido trifluoroacético, ácido acético acuoso o ácido clorhídrico metanólico y luego con ácido fuerte acuoso diluido, caliente.
- 4ª.- Procedimiento para la producción del nuevo polipepturo de la fórmula L-seril-L-tirosil-L-seril-L-norleucil-L-glutamil-L-histidil-L-fenilalanil-L-arginil



301459

5. L-triptofanil-glicil-L-lisil-L-prolil-L-valil-glicil-L-lisil-L-lisil-L-arginil-L-arginil-L-prolil-L-valil-L-lisil-L-valil-L-tirosil-L-prolil-L-valinamida, caracterizado porque se disocian los grupos protectores del pentacosapepturo de fórmula N-A-L-seril-L-tirosil-L-seril-L-norleucil-L-glutamil-L-histidil-L-fenilalanil-L-arginil-L-triptofanil-glicil- $\Sigma$ -N-formil-L-lisil-L-prolil-L-valil-glicil- $\Sigma$ -N-formil-L-lisil- $\Sigma$ -N-formil-L-lisil-L-arginil-L-arginil-L-prolil-L-valil- $\Sigma$ -N-formil-L-lisil-L-valil-L-tirosil-L-prolil-L-valinamida en la que A representa un grupo protector del radical amino libre generalmente usado en la síntesis de los pepturos, en un medio ácido en una o más etapas.

15. 5ª.- Procedimiento de acuerdo con la reivindicación 4ª, caracterizado porque el grupo A significa el grupo carbobenzoxi-, carboalkyloxi, trifluoroacetil, acetil, chloracetil, formil, carbo-butoxi-terc., p-nitrocarbobenzoxi o trifenilmetil.

20. 6ª.- Procedimiento para la producción de polipepturo, tal y como queda sustancialmente descrito en la presente Memoria.

Esta Memoria consta de 38 hojas escritas a máquina por una sola cara.

25. Madrid  
SANDOZ, A.G. 26 JUN. 1964  
J. GOMEZ ACEBO Y MOSES  
R.R.

