



12 DIC 1951

432826

P A T E N T E D E I N V E N C I Ó N
=====

por VEINTE años

cuyo privilegio se solicita para España,
sus territorios y plazas de soberanía, a
favor de

Laboratorios PREM, S.A.

entidad de nacionalidad española, domici-
liada en Barcelona, calle Bertrán, 140,
relativa a:

"PROCEDIMIENTO PARA LA PREPARACIÓN DE L-
-PIROGLUTAMIL PÉPTIDOS"

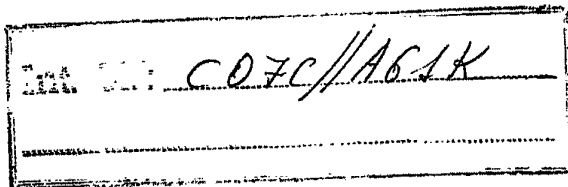
=====

Inventores: D. Arturo Bladé Font y D. José
Ma. Torres Esteban

432726



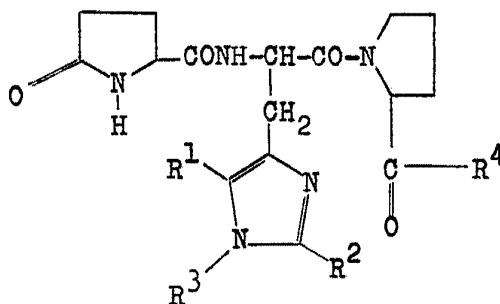
FC 11-5-76



MEMORIA DESCRIPTIVA

La presente invención tiene por objeto un nuevo procedimiento para la preparación de L-pirolglutamil péptidos y en particular de la L-pirolglutamil-L-histidil-L-prolinamida y sus análogos de la fórmula general: - - - -

(Fórmula I)



donde R¹ y R² representan un átomo de hidrógeno o de halógeno, R³ representa un átomo de hidrógeno o un resto alcohilo de 1 a 4 átomos de carbono y R⁴ representa un radical alcoholoxi o un radical alcoholamino de 1 a 4 átomos de carbono o un grupo amino, siendo todos los restos aminoaci-
10. lo de configuración L. - - - -

Cuando R¹=R²=R³=H y R⁴=NH₂ la fórmula representa la L-pirolglutamil-L-histidil-L-prolinamida, tripéptido recientemente identificado como la hormona liberadora o re-

432726



5. reguladora de la tirotrofina (abreviadamente TRH) en el hombre y en varias especies animales [R.Burgus y col., a) Nature, 226, 321 (1.970); b) Endocrinology, 86, 573 (1.970); K. Folker y col., Journal of Medicinal Chemistry, 14, 469 (1.971)]. - - - - -
- Farmacológicamente la TRH actúa en el hombre como un poderoso estimulante de la secreción de tirotrofina [M. S. Anderson y col., New England Journal of Medicine, 285, 1279 (1.971)]. - - - - -
10. Actualmente la TRH tiene en medicina importantes aplicaciones. Numerosos trabajos han puesto en evidencia el interés de los ensayos con TRH en la exploración del eje hipotálamo-hipófisis-tiroides [C. Beckers y col. Annales d'Endocrinologie, Paris 33, 642 (1.972)]. - - - - -
15. En endocrinología y medicina interna la utilización de la TRH resulta de especial importancia en: a) el estudio del nivel de afectación en el disfuncionalismo tiroideo [T. Le Marchand-Béraud y col., Schweizerische Medizinische Wochenschrift (Basel), 103, 831 (1.973)]; b) la medición de la reserva de tirotrofina hipofisiaria como método de diagnóstico clínico en hiper e hipofuncionalismos de la glándula tiroidea [P.P.A. Smyth y col., Journal of the Irish Medical Association, 66, 670 (1.973); M.S. Anderson y col., New England Journal of Medicine, 285, 1279 (1.971); E. David Haigler, Jr. y col., Journal of Clinical
- 20.
- 25.

432726



Endocrinology and Metabolism, 33, 573 (1.971)] y en enfermedades del sistema hipofisario [A.R. Hajjar y col., Archives of Internal Medicine, 132, 836 (1.973); B. E. Karlberg y col., Acta Endocrinológica, 72, 697 (1.973)]; c) el diagnóstico diferencial entre hipotiroidismos primarios y secundarios [B.J. Ormston y col. The Lancet, II, 10 (1.971)]; d) el test de incremento de liberación de prolactina [L.S. Jacobs y col., The Journal of Clinical Endocrinology and Metabolism, 36, 1.069 (1.973)]. - - - - -

10. En psiquiatría y medicina general la TRH se ha mostrado eficaz en el tratamiento de los síndromes depresivos. Su efecto no es solamente intenso sino muy rápido en casos graves de depresión endógena, con excelente tolerancia y escasos o nulos efectos secundarios. [A.J. Prange, Jr. y

15. col. The Lancet, II, 999 (1.972); Obiols Vié, J. y col. Medicina Clínica, 62, 52 (1.974)]. Su posible uso como medicamento natural de acción antidepresiva ha despertado lógicamente un gran interés dado su rápido efecto por vía parenteral y la ausencia de efectos secundarios no deseados tan

20. frecuentemente encontrados en el caso de otros antidepresivos de síntesis. - - - - -

En cuanto a sus análogos, entre aquellos que presentan substituciones en el grupo imidazol, la L-pirolglutamil-L-3-metil-histidil-L-prolinamida, es decir el producto representado por la fórmula I cuando $R^1=R^2=H$, $R^3=CH_3$ y $R^4=NH_2$, tiene especial importancia por su actividad liberado-

432726



ra de la tirotofina sensiblemente superior a la de la misma TRH [J. Rivier y col. Journal of Medicinal Chemistry, 15, 479 (1.972)] y el derivado 2,4-diyodado de la TRH, es decir, el producto representado por la fórmula I cuando

5. $R^1=R^2=$ Yodo; $R^3=H$; $R^4=NH_2$, resulta de interés por presentar en animales de laboratorio efectos tireostáticos muy superiores a los de la diyodotirosina [Ger. Offen 2.212.549, 12 Octubre 1.972]. - - - - -

Por otra parte los análogos de la TRH en los que se presenta el resto de L-prolinamida substituído en el nitrógeno amídico primario o alifático por radicales alcohilo (Fórmula I: $R^1=R^2=R^3= H$; $R^4=$ alcoholamino) tienen también actividad hormonal aunque inferior a la de la propia TRH [F. Bowers y col., Biochemical and Biophysical Research Communications, 40, 683 (1.970)] y lo mismo puede decirse de los análogos con un resto de L-prolinéster como grupo aminoacilo terminal, (Fórmula I: $R^1=R^2=R^3= H$; $R^4=$ alcoholoxi) [R. Burgus, Nature, 226, 321 (1.970)]. -

10.

15.

Por su gran interés en medicina y su estructura tripeptídica relativamente simple la TRH ha sido sintetizada siguiendo numerosos procedimientos basados en los métodos clásicos bien conocidos de la química de péptidos o en las técnicas más modernas de síntesis peptídicas en fase sólida [D. Guillesen y col., Helvetica Chimica Acta, 53, 63 (1.970); G. Flouret y col., Journal Medicinal Chemistry, 13, 843 (1.970); K. Inouye y col., Bulletin of

20.

25.

432726



12016

the Chemical Society of Japan, 44, 1689 (1.971); S. Bajusz y col., Acta Chimica Academiae Scientiarum Hungaricae, 75, 419 (1.973); P.G. Pietta y col., Journal of Organic Chemistry, 39, 44 (1.974)7. - - - - -

5. Sin embargo son contadas las síntesis en las que se emplea directamente el ácido L-piroglutámico, producto fácilmente accesible, en las reacciones de condensación peptídica que conducen a la TRH. La dificultad de utilización de dicho ácido estriba en las frecuentes reacciones secundarias que su grupo NH lactámico ocasiona cuando se emplean los clásicos reactivos de síntesis peptídica. Para evitar tales problemas muchas de las síntesis descritas en la literatura recurren al empleo de derivados del ácido L-piroglutámico en los cuales ^{el} el NH lactámico está bloqueado por algún grupo protector que es eliminado en alguna fase posterior de la síntesis. Sin embargo por lo general dichos derivados no se obtienen directamente a partir del ácido L-piroglutámico sino que se preparan normalmente a partir del ácido L-glutámico con rendimiento no siempre buenos y tanto su preparación como el desbloqueo posterior del grupo NH lactámico en alguna fase de la síntesis peptídica representan etapas suplementarias, que repercuten en el coste y facilidad de las síntesis. - - - -
- 10.
- 15.
- 20.

25. Es por ello de gran importancia poder utilizar directamente el ácido L-piroglutámico en dichos procesos.

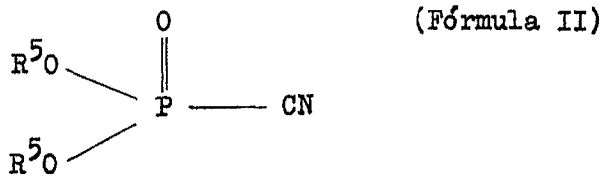
Recientemente hemos descrito en la patente de so-

452726



licitud nº 407222 un método de preparación de la TRH en el cual el empleo de las 1-alkiloxycarbonil-2-alkiloxi-1,2-dihidroquinoleínas como reactivos de condensación peptídica permite, aplicado por primera vez a la preparación de piroglutamil-péptidos, la utilización del ácido L-pirolutámico. - - - - -

Hemos encontrado ahora que otros reactivos, los cianuros de dialcohol o diarilfosforilo [S. Yamada y col., Tetrahedron Letter, 1595 (1.973)], de fórmula

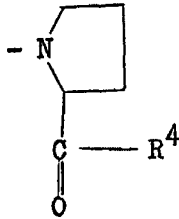


10. donde R⁵ representa un radical alcoholo o arilo, permiten de manera inesperada la preparación de amidas y péptidos del ácido L-pirolutámico directamente a partir de este ácido sin que se observen reacciones secundarias debidas a la presencia de su grupo NH lactámico ni racemización de los centros asimétricos. Además con el empleo de tales fosforil cianuros se pueden realizar, tal como se explica más adelante en esta memoria, las otras fases de condensación peptídica que conducen finalmente a los L-pirolutamil-péptidos de la fórmula general señalada I, y todo ello sin racemización de los centros asimétricos. - - - - -

Otra gran ventaja inherente al empleo de estos reactivos es que permite la recuperación de los péptidos,



432726



donde R⁴ representa un radical alcohiloxi o alcohilamino de 1 a 4 átomos de carbono, o un grupo amino. - - - - -

5. Dado que los L-piroglutamil péptidos de la fórmula General I son tripéptidos lineales, el procedimiento según la invención puede ser efectuado siguiendo 2 procesos operatorios diferentes según el orden en que combinen los 3 aminoácidos que compondrán el péptido, sin que ello deje de constituir un único procedimiento. - - - - -

10. Estos 2 procesos operatorios difieren en la necesidad de proteger el grupo carboxilo o el amino del aminoácido de la parte media de la molécula, es decir, el derivado de L-histidina o la L-histidina misma. - - - - -

15. De un modo esquemático los 2 procesos operatorios para la ejecución del procedimiento son los que se indican a continuación, haciendo uso de las representaciones corrientes en química de péptidos y de las siguientes abreviaciones: - - - - -

20. DAFC = dialcohol o diarilfosforil cianuro
 L-(Piro) Glu-OH = ácido L-piroglutámico
 L-Ac-His-OH = L-Nα-acil-histidina, substituída o no en el ciclo imidazólico.

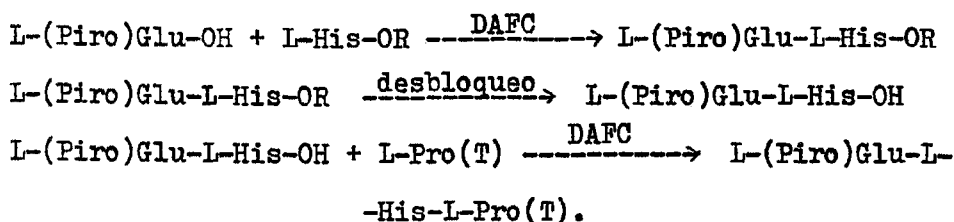
432726



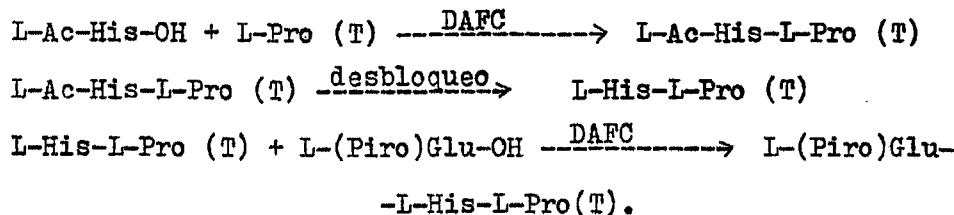
L-His-OR = éster de L-histidina substituída o no en el ciclo imidazólico.

L-Pro (T) = L-prolin éster o L-prolinamida substituída o no en el nitrógeno amídico.

5. PROCESO 1



10. PROCESO 2



15. En estos esquemas el tipo de desbloqueo es evidentemente función del grupo R ó Ac que haya que eliminar y en general estos radicales son los corrientemente empleados en las condensaciones peptídicas para proteger respectivamente los grupos carboxílicos o amino de los aminoácidos. -

20. Para obtener los mejores resultados en las condensaciones peptídicas realizadas con la ayuda de los dialcohil o diarilfosforil cianuros resulta ventajoso trabajar en medio de dimetilformamida, en presencia de un equivalente de trietilamina por cada equivalente de ácido L-piroglutámico y a bajas temperaturas. Cuando la molécula cuyo gru

1432726



po amino se quiere hacer reaccionar se halle disponible en forma de sal, generalmente un clorhidrato o un diclorhidrato, puede utilizarse directamente dicha sal en la condensación peptídica a condición de añadir al medio reaccionante los equivalentes necesarios de trietilamina que hagan falta para neutralizar totalmente su componente ácido. - -

5. Para facilitar la comprensión de las precedentes ideas se describen seguidamente unos ejemplos del referido procedimiento, los cuales, dado su carácter ilustrativo, deberán ser considerados como desprovistos de todo alcance limitativo respecto a la protección legal que se solicita. - - - - -

Ejemplo 1: L-Piroglutamil-L-histidina metil éster.

15. Se trata una suspensión de 2,0 g (8,25 mM) de L-histidina metil éster diclorhidrato y 1,3 g (10 mM) de ácido L-piroglutámico en 8 ml de dimetilformamida con 1,2 ml (8,6 mM) de trietilamina. Se enfría la suspensión a -13º, se añaden 1,7 ml (11,2 mM) de dietilfosforil cianuro y se agregan lentamente y agitando 3,2 ml (23 mM) de trietilamina procurando que la temperatura no sobrepase los 20. -5ºC. - - - - -

25. Se deja después agitando durante 30 minutos a menos de 0º y durante 1,5 horas a temperatura ambiente. Se filtra el precipitado de clorhidrato de trietilamina y se lava con un poco de dimetilformamida. Al filtrado se le

432726



5. agregan 70 ml de éter etílico con lo cual precipita el producto en forma gomosa. Se decanta el líquido sobrenadante y se trata el producto con 40 ml de dioxano. Se observa la disolución seguida de la cristalización del dipéptido. Se enfría, filtra y lava con un poco de cloruro de metileno. - - - - -

10. Se obtiene 1,3 g (rendimiento 56%) de L-piroglutamil-L-histidina metil éster con un punto de fusión de 216°. El producto se muestra homogéneo a la cromatografía en capa fina sobre gel de sílice (disolvente de elución: acetato de etilo/etanol de 96%). Su espectro infrarrojo presenta bandas características a 3300 cm^{-1} y 3195 cm^{-1} (NH); 1745 cm^{-1} (carbonilo); 1665 cm^{-1} (amida I) y 1535 cm^{-1} (amida II). - - - - -

15. Su pureza óptica se determinó transformándolo en hidracida por tratamiento con hidrato de hidracina en solución metanólica. La hidracida obtenida presenta un poder rotatorio de -18° (concentración: 1% en agua) comparado con el de $-14,7^\circ$ indicado en la literatura [D. Guillesen y col., Helvetica Chimica Acta, 53, 70 (1970)]. La pureza óptica del producto es pues superior al del dipéptido obtenido en la síntesis cuya referencia se indica. - - - - -

Ejemplo 2: L-piroglutamil-L-histidina.

25. Se disuelven 1,1 g (3,93 mM) de L-piroglutamil-L-histidina metil éster en 10 ml de metanol y se añaden, gota a gota y agitando, 4,15 ml de NaOH 1N. (5% exceso). Una

432726



5. vez añadido todo el hidróxido sódico se continúa agitando durante 20 minutos, se añaden 4,15 ml de ácido clorhídrico 1 N, y se evapora a sequedad al vacío de la trompa de agua, calentando en baño maría a una temperatura inferior a 60°. El residuo se acaba de deshidratar añadiendo una mezcla 1 : 1 de etanol - tolueno y volviendo a evaporar a sequedad. ---

10. Se añaden 20 ml de etanol al residuo y se filtra el cloruro sódico insoluble. Por evaporación del etanol se obtiene la L-piroglutamil-L-histidina que se emplea sin ulterior purificación en las reacciones siguientes de condensación. ---

Ejemplo 3: L-piroglutamil-L-histidil-L-prolinamida.

15. A la L-piroglutamil-L-histidina obtenida según se describe en el ejemplo 2 se le añaden 5 ml de dimetilformamida y 0,5 g (3,34 mM) de L-prolinamida clorhidrato. Se enfría la disolución a -10°, se le agregan 0,56 ml (3,70 mM) de dietilfosforil cianuro y se inicia inmediatamente la adición lenta de 1,1 ml (7,9 mM) de trietilamina disuelta en 2 ml de dimetilformamida.

20. Se agita 30 minutos a menos de 0° y después 1,5 horas a temperatura ambiente. Se filtra y lava el precipitado de clorhidrato de trietilamina con 2 ml de dimetilformamida. A los filtrados se les agrega 30 ml de éter etílico precipitando el producto en

25. forma de goma que solidifica lentamente. Se decanta, se disgrega el producto con más éter etílico, se vuelve a de-

432726



cantar y se disgrega finalmente en acetona. Se filtra y lava con acetona y el producto se seca inmediatamente al vacío sobre pentóxido de fósforo. - - - - -

5. Se obtienen 1,56 g de L-piroglutamil-L-histidil-L-prolinamida bruta que se purifica por cromatografía sobre alúmina neutra (elución con mezclas de cloruro de metileno-metanol). Las fracciones que contienen el producto se reúnen y se evaporan a sequedad. El residuo cristaliza al añadir acetona. - - - - -

10. Se filtra el producto blanco y se seca inmediatamente al vacío. - - - - -

15. Se obtienen 0,5 g de TRH (Rendimiento 41%) pura a la cromatografía en capa fina. Sobre el banco de Kofler no presenta un punto de fusión definido. Su poder rotatorio es de -56° (concentración 1,67% en agua). En la literatura se encuentran, para el poder rotatorio de la TRH, valores que oscilan entre -50° y -69° [J.L.M. Syrier y col., Recueil Journal of the Royal Netherlands Chemical Society, 93/4, 117 (1.974)]. El valor encontrado es sensiblemente superior al indicado (-33°) para la TRH obtenida según el procedimiento descrito en la solicitud de patente 407.222. - - - - -

20. La identidad del producto se ha confirmado comparándolo con la TRH obtenida siguiendo una de las síntesis descritas en la literatura [K. Folkers y col. Journal of

432726



Medicinal Chemistry, 14, 476 (1.971)]]. -----

Ejemplo 4: L-piroglutamil-L-histidil-L-prolinamida.

5. Se disuelve una mezcla de 1,0 g (4mM) de L-histidil-L-prolinamida [G. Flouret Journal of Medicinal Chemistry 13, 843 (1.970)] y 0,570 g (4,4mM) de ácido L-piroglutámico en 5 ml de dimetilformamida. -----

10. Se enfría a -10°, se añaden 0,67 ml (4,4mM) de dietilfosforil cianuro y después gota a gota y agitando, 0,61 ml (4,4mM) de trietilamina. Se agita después de 30 minutos a 0° y 1 hora a temperatura ambiente. -----

El producto se recupera de la manera indicada en el ejemplo 3. -----

Ejemplo 5: L-piroglutamil-L-3-metil-histidina.

15. Procediendo de la manera indicada en el ejemplo 1 se prepara la L-piroglutamil-L-3-metil-histidina metil éster partiendo de 2,10 g (8,20 mM) de L-3-metil-histidina metil éster diclorhidrato [J. Rivier y col., Journal of Medicinal Chemistry, 15, 479 (1.972)]], y 1,3 g (10 mM) de ácido L-piroglutámico. -----

20. El dipéptido éster bruto se somete a una hidrólisis alcalina de acuerdo con el procedimiento descrito en el ejemplo 2 y la L-piroglutamil-3-metil-histidina bruta obtenida se utiliza sin ulterior purificación en las reacciones siguientes de condensación. -----

432726



Ejemplo 6: L-piroglutamil-L-3-metil-histidil-L-prolinamida.

5. A la L-piroglutamil-L-3-metil-histidina obtenida según se describe en el ejemplo 5 se le añaden 5 ml de dimetilformamida y 0,6 ml (4 mM) de L-prolinamida clorhidrato. Se enfría la disolución a -10°, se le agrega 0,67 ml (4,4 mM) de dietilfosforil cianuro y seguidamente se añade, gota a gota, 1,2 ml (8,6 mM) de trietilamina disuelta en 2 ml de dimetilformamida. - - - - -

10. Se agita 30 minutos a 0° y después 1 h a temperatura ambiente. El producto se recupera siguiendo el procedimiento descrito en el ejemplo 3. Se ha verificado su estructura por comparación con el tripéptido obtenido siguiendo el método descrito en la literatura. [J. Rivier y col., Journal of Medicinal Chemistry, 15, 479 (1.972)]. -

15. Ejemplo 7: L-piroglutamil-L-histidil-L-prolina metil éster.

20. A la L-piroglutamil-L-histidina obtenida según se describe en el ejemplo 2 se le añaden 5 ml de dimetilformamida y 0,56 g (3,4 mM) de L-prolina metil éster clorhidrato. Seguidamente se hace reaccionar con dietilfosforil cianuro y trietilamina siguiendo la técnica y las cantidades de reactivos descritos en el ejemplo 3. - - - - -

El producto se purifica finalmente por cromatografía sobre alúmina neutra. - - - - -

25. Se ha verificado su estructura por comparación con el producto preparado de acuerdo con la síntesis descrita

432726



en la literatura [J.K. Chang y col., Journal of Medicinal Chemistry, 14, 484 (1.971)]. - - - - -

Ejemplo 8: L-piroglutamil-L-histidil-L-N-metil-prolina-mida.

- 5. Se hace reaccionar la L-piroglutamil-L-histidina obtenida según se describe en el ejemplo 2 con 0,56 g. (3,4 mM) de L-N-metil-prolinamida clorhidrato [J.K. Chang y col., Journal of Medicina Chemistry, 14, 484 (1.971)] y 0,56 (3,70 mM) de dietilfosforil cianuro en presencia de 1,1 ml (7,9 mM) de trietilamina. - - - - -

Se recupera y purifica el producto siguiendo igualmente el procedimiento del ejemplo 3. - - - - -

- 15. Se ha verificado la estructura del tripéptido por comparación con el producto obtenido según la síntesis descrita en la literatura [J.K. Chang y col., Journal of Medicinal Chemistry, 14, 484 (1.971)]. - - - - -

Ejemplo 9: L-piroglutamil-L-2,4-diyodo-histidina.

- 20. Se hacen reaccionar en medio de dimetilformamida 4,1 g. (8,25 mM) de L-2,4-diyodo-histidina-metil éster clorhidrato obtenido a partir de L-2,4-diyodo histidina [Brunings, Journal of American Chemical Society, 69, 205 (1.947)] con 1,3 g (10 mM) de ácido L-piroglutámico y 1,7 ml (11,2 mM) de dietilfosforil cianuro en presencia de 4,2 ml (30 mM) de trietilamina siguiendo el procedimiento del ejemplo 1. - - - - -

25.

El L-piroglutamil-L-2,4-diyodo-histidina metil és-

432726



ter se hidroliza a dipéptido ácido de acuerdo con lo descrito en el ejemplo 2 y el producto bruto se emplea sin ulterior purificación para las condensaciones peptídicas siguientes. - - - - -

5. Ejemplo 10: L-piroglutamil-L-2,4-diyodo-histidil-L-prolinamida.

El dipéptido ácido obtenido según se describe en el ejemplo 9 se hace reaccionar con 0,54 g (3,6 mM) de L-prolinamida clorhidrato y 0,58 ml (3,80 mM) de dietilfosforil cianuro en presencia de 1,1 ml (7,9 mM) de trietilamina y en medio de dimetilformamida siguiendo el procedimiento descrito en el ejemplo 3. - - - - -

15. El producto, purificado por cromatografía sobre columna de alúmina, es idéntico a la diyodo-TRH obtenido por yodación de la TRH (Ger Offen. 2.212.549, 12 Oct. 1.972). - - - - -

Ejemplo 11: L-piroglutamil-L-histidina metil éster.

20. Se procede como se describe en el ejemplo 1, utilizando en lugar de 1,7 ml de dietilfosforil cianuro 2,85 g (11,0 mM) de difenilfosforil cianuro como agente de condensación. El producto se recupera de la manera indicada en el ejemplo citado. - - - - -

25. Describas convenientemente las características de la invención, se hace constar que en la misma se podrán introducir cuantas variantes de detalle pueda aconsejar la experiencia, siempre que con ello no se alteren las ca-

432726



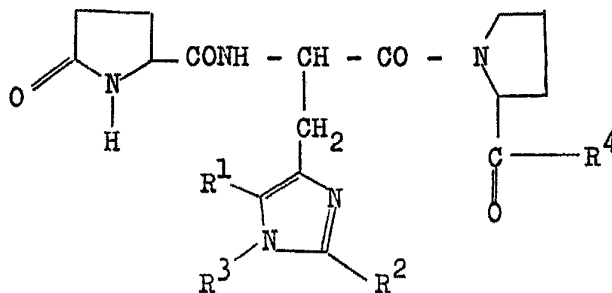
racterísticas esenciales que son las que se reivindicán en la siguiente. - - - - -

N O T A

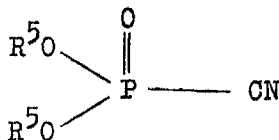
5. Se declaran de novedad y propiedad para España, sus territorios y plazas de soberanía, las siguientes: - -

R E I V I N D I C A C I O N E S

1.- Procedimiento para la preparación de L-pirolglutamil péptidos, de la fórmula: - - - - -



10. donde R¹ y R² representan un átomo de hidrógeno o de halógeno, R³ representa un átomo de hidrógeno o un resto alcohilo de 1 a 4 átomos de carbono y R⁴ representa un radical, alcoholoxi o alcoholamino de 1 a 4 átomos de carbono o un grupo amino, caracterizado por comprender el empleo de dialcoholil o diarilfosforil cianuros de la fórmula general:



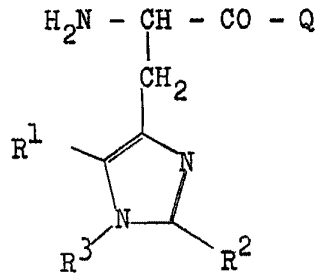
[Handwritten signature]

432726

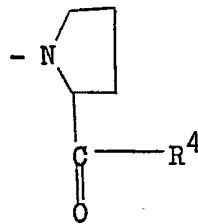


en la que R⁵ representa un radical alcoholo o arilo, y en particular un grupo etilo o fenilo, como agentes de condensación peptídica entre las unidades peptídicas que integran la molécula y en particular entre el ácido L-piroglutámico y los derivados de la histidina de la fórmula general: -

5.



en la cual R¹ y R² representan un átomo de hidrógeno o de halógeno, R³ un hidrógeno o un radical alcoholo de 1 a 4 átomos de carbono y Q un radical alcoholo de 1 a 4 átomos de carbono o un resto L-prolilo de fórmula: - - - - -



10. donde R⁴ representa un radical alcoholoxi o alcoholamino de 1 a 4 átomos de carbono o un grupo amino. - - - - -

2.- Procedimiento según la reivindicación 1, caracterizado por comprender la reacción del ácido L-piroglutámico con la L-histidina metil éster, utilizando como agen-

432726



te de condensación el dietilfosforil cianuro. - - - - -

5. 3.- Procedimiento según la reivindicación 1, caracterizado por comprender la reacción del ácido L-piroglutámico con la L-histidil-L-prolinamida utilizando como agente de condensación el dietilfosforil cianuro. - - - - -

4.- Procedimiento según la reivindicación 1, caracterizado por comprender la reacción de la L-piroglutamil-L-histidina con L-prolinamida utilizando como agente de condensación dietilfosforil cianuro. - - - - -

10. 5.- Procedimiento según la reivindicación 1, caracterizado por comprender la reacción de la L-piroglutamil-L-histidina con L-prolina metil éster utilizando como agente de condensación el dietilfosforil cianuro. - - - - -

15. 6.- Procedimiento según la reivindicación 1, caracterizado por comprender la reacción de la L-piroglutamil-L-histidina con L-N-metilprolinamida, utilizando como agente de condensación dietilfosforil cianuro. - - - - -

20. 7.- Procedimiento según la reivindicación 1, caracterizado por comprender la reacción del ácido L-piroglutámico con L-2,4-diyodo histidina-metil éster utilizando como agente de condensación dietilfosforil cianuro. - - - - -

25. 8.- Procedimiento según la reivindicación 1, caracterizado por comprender la reacción de la L-piroglutamil-L-2,4-diyodo histidina con L-prolinamida utilizando dietilfosforil cianuro como agente de condensación. - - - - -

432726



- 9.- Procedimiento según la reivindicación 1, caracterizado por comprender la reacción del ácido L-pirolutámico con L-histidina metil éster, utilizando como agente de condensación el difenilfosforil cianuro. - - - - -
- 5. 10.- Procedimiento según la reivindicación 1, caracterizado por efectuar las condensaciones en medio de di metilformamida y a bajas temperaturas comprendidas entre los -11º y los 5ºC. - - - - -
- 10. 11.- "PROCEDIMIENTO PARA LA PREPARACIÓN DE L-PIRO-GLUTAMIL PÉPTIDOS". - - - - -

Todo ello conforme se describe y reivindica en la presente memoria que consta de veintidos hojas, foliadas y mecanografiadas por una sola de sus caras.

MADRID, 12 DIC. 1974

P. A. M. CURELL SUÑOL