

MEMORIA DESCRIPTIVA

correspondiente a la solicitud de concesión de una

437 091

PATENTE DE INVENCION

SOLICITANTE: (Zaidanhojin) Sagami Chemical Research Center, de nacionalidad japonesa.

RESIDENCIA: No. 4-5, Marunouchi 1-chome, Chiyoda-ku, Tokio - Japón.

Inventores: Yoshikazu Isowa, Takeshi Nagasawa, Katsunasa Kuroiwa y Koichi Narita, que ceden sus derechos a la empresa solicitante.

ENUNCIADO: "PROCEDIMIENTO PARA LA FABRICACION DE PEPTIDOS".

Prioridad: Patente japonesa n.º 46261/74 del 29-4-74.

1 La presente memoria descriptiva tiene como
fín la declaración del objeto sobre el que ha de recaer el pri
vilegio de explotación industrial y comercial, exclusivo en el
territorio nacional, de una Patente de Invención de acuerdo
5 con la vigente Legislación sobre Propiedad Industrial que, co-
mo el enunciado indica, se trata de "PROCEDIMIENTO PARA LA FA-
BRICACION DE PEPTIDOS".

La presente invención se refiere a un proce
dimiento para la fabricación de péptidos en presencia de pepsi
10 na. Más en particular, se refiere a un procedimiento para la
fabricación de un péptido que presenta la fórmula:

X - A - B - C - Y , donde:

- A representa Ala., Gln., Asn., ω -BOC-Lys., Leu.,
Gly., Glu., Glu., o Pro.;

OMe

A puede ser A_1 - A_2 y en este caso:

- A_1 representa un residuo aminoácido hidro
fílico, y

- A_2 representa Val., Met., Leu., o Gln.;

20 - B representa Phe., Tyr., Leu., Met., Glu., Asp.,
Gln., Asn., o Trp.;

- C representa Phe., Leu., Ilen., Tyr., Cis-SBzl.,
Ser-OBzl., Trp., o Met.;

25 - X representa un grupo protector α -aminoácido, un re
siduo aminoácido que incluye un grupo protector aca
bado en N, o un residuo péptido que incluye un gru
po protector acabado en N;

30 - Y representa un grupo protector carboxílico, un re
siduo aminoácido que incluye un grupo protector aca
bado en C, o un residuo péptido que incluye un gru-

1

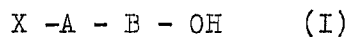
po protector acabado en C.

El residuo aminoácido hidrofílico de A₁ puede ser Ala., Gln., Asn., ω-BOC-Lys., Leu., Gly., Glu., Glu ó Pro. OMe

5

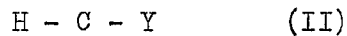
El citado procedimiento consiste en la reacción de:

- un péptido que presenta la fórmula:



- con un aminoácido o un péptido, de fórmula:

10



en presencia de la enzima pepsina.

En época reciente se han descubierto una serie de péptidos que presentan una actividad fisiológica, y se han desarrollado varios métodos de obtención sintética de péptidos.

15

Los procedimientos típicos de obtención de péptidos incluyen:

- el método de la azida;

- un método mixto ácido-anhídrido;

20

- un método a base de la dicitclohexil carbodi-imida; y

- un método a base de un ester activo.

25

Sin embargo, de acuerdo con estos procesos convencionales, se han encontrado una serie de inconvenientes debidos a la racemización - una reacción lateral - al difícil control de la temperatura, al excesivo tiempo de reacción, etc.

Especialmente en el método de condensación fragmentada, ha aparecido el inconveniente de una racemización inevitable.

30

En la síntesis de los péptidos, el problema

1 de la racemización constituye un serio inconveniente.

Al producirse la racemización, disminuye la pureza del producto, y la eliminación de la impureza de un isómero constituye una seria desventaja en plan industrial.

5 Además de los procesos químicos orgánicos, se han descubierto varios procedimientos de síntesis utilizando la enzima papaína. (Por ejemplo, O.K. Behrens y M. Bergmann J. Biol. Chem., 129,587 (1939) y H.B. Milne y Warren Kilday; J. Org. Che., 30,64 (1965)).

10 El término "péptido" significa la definición dada por Hary D. Law; "The Org. Chem. of Peptides" (Willy Interscience 1970) página 6, y es preferible utilizar péptidos (incluyendo polipéptidos y oligopéptidos) que tengan una ligera solubilidad en un medio, como producto inicial, a la utilización de un péptido que, al ser insoluble, es inactivo en el citado medio.

15 El término de "pepsina", y en particular la valoración de la pepsina, se ilustran en Anson, M., "J. Gen. Physiol." Vol. 22, P. 79, 1938.

20 El problema de la racemización se ha resuelto, pues ya existen preparados de di- ó tri-péptidos.

Al sintetizar un tetra- o mayor péptido, utilizando papaína, se presentan reacciones laterales consistentes en la hidrólisis del péptido, la transpeptidización y la formación de plasteína.

25 No existe ningún procedimiento industrial de síntesis de péptidos.

Los inventores han estudiado la formación de un enlace péptido con vistas a vencer los inconvenientes, y han completado la síntesis de polipéptidos de constitución, es

1 pecialmente, mayor que los tripéptidos. Esto lo han conseguido
utilizando la enzima pepsina, lo que diferencia a este procedi-
miento de los utilizados hasta el momento.

5 Las enzimas proteolíticas (proteasa) presen-
tan la propiedad característica de hidrolizar los péptidos en
condiciones fácilmente reproducibles y sin una reacción late-
ral. De acuerdo con esto, se han utilizado las enzimas proteo-
líticas en diferentes investigaciones acerca de la estructura
10 química de polipéptidos y proteínas. Se ha podido determinar,
así, la estructura preliminar de una serie de polipéptidos na-
turales, como la insulina. La pepsina se clasifica dentro de
las enzimas digestivas de las endopeptidasas (enzimas que son
activas frente a un enlace interno de la cadena péptida) como
una enzima proteolítica.

15 Hasta ahora no se había empleado la pepsina
en la síntesis de péptidos utilizables en gran escala, con una
operación simple y con elevada concentración; por lo que la
presente invención es notable en este sentido.

20 En particular, el procedimiento de la inven-
ción puede aplicarse según el método secuencial y en el método
de condensación fragmentada, en las condiciones descritas más
adelante.

25 Cuando el procedimiento de la presente in-
vención se aplica según el método de condensación fragmentada,
que presenta considerables ventajas en relación con el método
secuencial, las ventajas del proceso se hacen particularmente
significativas. En el procedimiento de la invención, los pépti-
dos que presentan la fórmula (I) (a los que se denominará en
lo sucesivo componente -C) se utilizan como material de parti-
30 da.

1 El componente -C habrá de poseer una estructura parcial de condensación de dos o tres aminoácidos específicos, unidos entre sí de forma específica, que consiste en el enlace -A-B- de la fórmula (I) en posición reactiva.

5 Mientras exista la estructura parcial específica, podrán utilizarse una serie de péptidos. El grupo terminal del componente -C, es decir, la posición α del grupo amino, debe estar protegido por un grupo protector del grupo amino, tal como el grupo carbobenzoxi (Z); grupo carbobenzoxi sustituido, por ejemplo, grupo p-metoxibenziloxicarbonil (pMZ); grupo t-butiloxicarbonil (BOC) ó grupo tosil (TOS), etc.

10 El aminoácido o péptido que presenta la fórmula (II) (a los que se denominará en lo sucesivo componente -N), que constituye el otro producto de partida, deberá presentar, en la posición reactiva, el aminoácido específico, tal como la fenilalanina, leucina, isoleucina, tirosina, S-bencilcisteína, O-bencilserina, triptofano o metionina.

15 El grupo terminal carboxílico del componente -N debe estar protegido por un grupo protector del grupo carboxílico, tal como el grupo del ester metílico, ester etílico, bencil ester, t-butil ester o el p-nitro-bencil ester; ó bien por un grupo amida, un grupo de amida sustituida, por ejemplo el grupo 2,4,6-trimetil bencilamida (TMB), el grupo hidracida ó un derivado de éstos.

20 El componente -N puede ser de constitución libre, o bien una sal, del tipo de un clorhidrato, bromohidrato, trifluoracetato, p-toluensulfonato, u otra sal orgánica o inorgánica.

25 El componente -N y el componente -C pueden seleccionarse dentro del marco arriba indicado, como una uni-

1 dad de péptido.

Los péptidos pueden obtenerse por condensación fragmentada.

5 En el procedimiento de la invención, el componente -C y el componente -N pueden utilizarse en cantidades estequiométricamente equivalentes, pero es posible la reacción con exceso de uno de ellos.

10 La relación molar del componente -N con relación al componente -C puede oscilar entre 1:5 a 5:1, preferentemente de 1:2 hasta 2:1.

En reacción, es preferible usar el componente -N disolviéndolo en un medio alcalino que contiene un alcali tal como un hidróxido de un metal alcalino, o un hidróxido alcalino-térreo.

15 Es necesario hacerlos reaccionar en una solución amortiguadora que presenta un pH de 2-6 a 20-50°C.

20 La solución amortiguadora puede ser una solución de ácido cítrico, una solución amortiguadora Michaelis, una solución amortiguadora Mc Ilvaine, u otra solución amortiguadora que tenga un pH de 2-6.

No es conveniente usar una solución amortiguadora que tenga un pH inferior a 2 ni superior a 6, pues el rendimiento es bajo. El pH preferible es 3 a 5, y el valor óptimo es pH = 4.

25 Cuando la temperatura es inferior a 20°C., se necesita una gran duración para finalizar la reacción. Si la temperatura es superior a 50°C., la actividad de la pepsina descende notablemente, y el rendimiento es bajo. La temperatura preferente es de 30-40°C.

30 La pepsina utilizada en la invención es la

1 enzima digestiva de las endopeptidasas. La pepsina que tiene una valoración en pepsina del 1:5.000; 1:10.000; y 1:60.000 puede obtenerse fácilmente.

5 Para conseguir una actividad elevada, puede usarse pepsina en bruto.

Se utiliza una proporción catalítica de pepsina, y con preferencia 0'4-400 mg. de pepsina por 1 mol del material inicial.

10 La reacción se realiza gradualmente en un medio acuoso, o en un medio miscible en agua, tal como el metanol, etanol, dioxano, dimetilformamida, etc. El producto es muy poco soluble en agua o en el medio miscible con agua, por lo que consiguientemente precipita del sistema reactivo, en forma de cristales. Los cristales precipitados se filtran a
15 continuación y se lavan con una disolución acuosa alcalina débil, solución acuosa ácida débil y agua, obteniendo el producto final en estado puro.

20 El grupo terminal protector del componente-N, y el grupo terminal protector del componente -C, pueden eliminarse del producto final, según una manera convencional, si se desea.

A continuación se ilustrará la presente invención con la ayuda de ciertos ejemplos.

EJEMPLO 1

25 Una solución de 0'735 g. (1'5 m mol) de HClH-Phe-Gly-Leu-Met-NH₂ (MW 502'1) en 40 ml. de solución amortiguadora de ácido cítrico (pH=4'0) se añadió a una solución de 1'26 g. (2'5 m mol) de α,ω -BOC-Lys-Phe-OH (MW 505'6) en 5ml de NaOH-1N; a continuación se añadieron 30 ml. de agua, con
30 agitación, y entonces se añadió 0'2 g. de pepsina (1:5.000 fa-

1 bricada por Mikuni Kagaku Sangyo K.K.) a la mezcla, bajo agita-
ción, a 40°C. y durante 24 horas, haciéndola reaccionar.

El precipitado blanco resultante se filtró
con un filtro de vidrio (G-3) y se lavó con agua amoniacal al
5 4%, una solución acuosa de ácido cítrico al 5% y agua, en un
orden secuencial, y a continuación se secó el producto sobre
P₂O₅, bajo una presión reducida y a 50°C, obteniéndose 1'25 g.
de α,ω-BOC-Lys-Phe-Phe-Gly-Leu-Met-NH₂, que presenta un punto
de fusión de 207-216°C (descomposición) y una rotación esféri-
ca de (α)_D²⁵ = -38'8 (C=0'5; DMF).

10 El rendimiento fué 88'2%.

Análisis elemental (C₄₇H₇₂O₁₀N₈S=941,210).

	C	H	N	S
Calculado (%)	59'98	7'71	11'91	3'41
15 Hallado (%)	59'74	7'71	11'74	3'42

OBSERVACION

Una cantidad de 4'0 g. de α,ω-BOC-Lys-Phe-
Phe-Gly-Leu-Met-NH₂ se disolvió en 100 ml. de ácido acético
glacial, y se inyectó ClH gas en la anterior solución, some-
20 tiéndola a agitado durante 40 minutos, para eliminar el grupo
protector de BOC. Después de la reacción, la mezcla de reac-
ción se añadió a 500 ml. de éter refrigerado, para formar un
precipitado.

El precipitado se filtro y secó sobre NaOH,
25 a presión reducida, obteniendo 2'70 g. de 2HClH-Lys-Phe-Phe-
Gly-Leu-Met-NH₂, que tiene una temperatura de fusión de 168-
170°C (descomposición) y (α)_D²⁵ = -16'0 (C=0'5; 50% MeOH).

El rendimiento fué 78'0%.

Análisis elemental (C₃₇H₅₆O₆N₈S.2HCl.1 1/2
30 H₂O = 841,915).

1		C	H	N	S	Cl
	Calculado (%)	52'97	7'04	13'31	3'52	8'66
	Hallado (%)	52'84	7'33	13'33	3'81	8'42

EJEMPLO 2

5 Una solución de 0'753 g. (1'5 m mol) de HClH-Phe-Gly-Leu-Met-NH₂ (Peso molecular 502'1) en 40 ml. de solución amortiguadora de ácido cítrico (pH=4'0), se añadió a una solución de 1'0 g. (2'5 m mol) de pMZ-Ala-Phe-OH (Peso molecular 400'4) en 5 ml. de NaOH, 1N, y entonces se adicionó 30 ml. de agua, agitando la mezcla, y a continuación se añadió 0'2 g. de pepsina (1:5.000 fabricada por Mikuni Kagaku Sangyo K.K.) a la mezcla anterior, sometiéndola a agitación en un incubador a 40°C. durante 24 horas, haciéndola reaccionar.

15 El precipitado blanco resultante se filtró, y se lavó con 5% agua NH₄OH, solución acuosa al 5% de ácido cítrico y agua, en orden secuencial, y se secó entonces el producto sobre P₂O₅, a presión reducida y 50°C., obteniendo 1'14 g. de pMZ-Ala-Phe-Phe-Gly-Leu-Met-NH₂, que presenta una temperatura de fusión de 229-233°C. y $(\alpha)_D^{25} = -55'0$ (C=0'5; DMF).

20 El rendimiento fué 89'2%.

El análisis elemental (C₄₃H₅₇O₉S = 847,031)

	C	H	N	S
Calculado (%)	60'81	6'92	11'43	3'92
Hallado (%)	60'90	6'77	11'56	3'78

EJEMPLO 3

25 En todo de acuerdo con el procedimiento del ejemplo 1. se usaron 1'14 g. (2'5 m mol) de pMZ-Gln-Phe-OH (Peso molecular 457,5) y 0'75 g. (1'5 m mol) de HClH-Phe-Gly-Leu-Met-NH₂ (peso molecular 502'1), desarrollándose la reacción a 40°C. durante 24 horas, obteniéndose así: 1'05 g. de pMZ-Gln-

30

1 Phe-Phe-Gly-Leu-Met-NH₂, que presenta una temperatura de fusión de 236-237°C., y $(\alpha)_D^{25} = -22'8$ (C=1; DMSO).

El rendimiento fué 77'5%.

Análisis elemental (C₄₅H₆₀O₁₀N₈S=905,092).

5

	C	H	N	S
Calculado (%)	59'71	6'68	12'38	3'54
Hallado (%)	59'89	6'58	12'31	3'46

EJEMPLO 4

10 En todo de acuerdo con el procedimiento del ejemplo 1, se usaron 1 g. (2'5 m mol) de pMZ-Ala-Phe-OH (peso molecular 400'4) y 0'93 g. (1'5 m mol) de HClH-Ileu-Gly-Leu-Met-NHDmB (peso molecular 618'2), obteniéndose después de la reacción 1'30 g. de pMZ-Ala-Phe-Ileu-Gly-Leu-Met-NHDmB, que presenta una temperatura de fusión de 225-227°C., y $(\alpha)_D^{25} =$

15 -25'4 (C=1; DMF), donde (DmB) representa 2,4-dimetoxibencil.

En este ejemplo se utilizaron 0'4 g. de pepsina.

El rendimiento fué 82'2%.

Análisis elemental (C₄₉H₆₉N₇O₁₁S = 964,192)

20

	C	H	N	S
Calculado (%)	61'04	7'21	10'17	3'33
Hallado (%)	61'17	7'35	10'09	3'33

EJEMPLO 5 - 7

De acuerdo con el procedimiento del ejemplo 1, a excepción de que los elementos en reacción fueron el componente -C (2'5 m mol) y el componente -N (2'5 m mol) de la Ta

25 bla 1, se obtuvieron los correspondientes péptidos.

Los resultados se representan en la siguiente Tabla 1.

30

1

5

10

15

20

25

30

TABLA I

Ejemp.	Componente-C	Componente-N	Producto	Rendi- miento (%)	Punto de fusión	Rotación óptica. (α) _D ²⁵	Análisis elemental (%) C H N S
5	α,ω-BOC-Lys- Phe-OH	H-Ileu-Gly- Leu-Met-NH ₂	α,ω-BOC-Lys- Phe-Ileu-Gly- Leu-Met-NH ₂	94,4	242~ 246±0.	-25,6± (C=0,5; (DMF)	C ₄₄ H ₇₄ N ₈ O ₁₀ S Calculado 58,26 8,22 12,25 3,53 Hallado 58,29 8,37 12,24 3,41
6	BOC-Ala-Phe- OH	"	BOC-Ala-Phe Ileu-Gly-Leu- Met-NH ₂	63,3	231~ 238±0.	-26,6± (C=0,5; (DMF)	C ₃₆ H ₅₉ N ₇ O ₈ S.l/3H ₂ O Calculado 57,20 7,96 12,97 4,23 Hallado 57,16 8,05 12,80 4,12
7	PMZ-Leu-Met- OH	"	PMZ-Leu-Met- Ileu-Gly-Leu- Met-NH ₂	96,9	247~ 250±0.	-39,2± (C=0,5; (DMF)	C ₃₉ H ₆₅ N ₇ O ₉ S Calculado 55,76 7,80 11,67 7,63 Hallado 55,58 7,83 11,57 7,84

TABLA I (Continuación)

Ejemp.	Componente-C	Componente-N	Producto	Rendimiento (%)	Punto de fusión	Rotación óptica (α) _D ²⁵	Análisis elemental (%)
8	BOC-Gly-Ala-Phe-OH	H-Ileu-Gly-Leu-Met-NH ₂	BOC-Gly-Ala-Phe-Ileu-Gly-Leu-Met-NH ₂	83,7	260 ~ 265°C.	-30,0° (C=0,5; DMF)	$C_{38}H_{62}O_9N_8S$ Calculado 56,56 7,74 13,88 3,97 Hallado 56,46 7,78 13,57 4,12
9	BOC-Gln-Gln-Phe-OH	H-Phe-Gly-Leu-Met-NH ₂	BOC-Gln-Gln-Phe-Phe-Gly-Leu-Met-NH ₂	62,0	249 ~ 252°C.	-19,6° (C=1; DMSO)	$C_{46}H_{68}N_{10}O_{11}S \cdot H_2O$ Calculado 55,97 7,15 14,19 3,52 Hallado 55,90 7,10 14,21 3,48
10	BOC-Ala-Phe-OH	H-Phe-Gly-Leu-Met-NH ₂	BOC-Ala-Phe-Phe-Gly-Leu-Met-NH ₂	47,9	240 ~ 245°C.	-53,4° (C=0,5; DMF)	$C_{39}H_{57}O_8N_7S$ Calculado 59,75 7,33 12,50 4,09 Hallado 59,49 7,33 12,24 4,18
11	BOC-Pro-Ala-Phe-OH	H-Ileu-Gly-Leu-Met-NH ₂	BOC-Pro-Ala-Phe-Ileu-Gly-Leu-Met-NH ₂	81,2	243 ~ 247°C.	-45,3° (C=0,5; DMSO)	$C_{41}H_{66}N_{10}O_9S \cdot H_2O$ Calculado 56,92 7,92 12,95 3,71 Hallado 56,80 7,68 13,00 3,46

EJEMPLO 12

Una solución de 0'539 g. (2'5 m mol) de HClH-Phe-OCH₃ (peso molecular 215'67) en 40 ml. de solución amortiguadora de ácido cítrico (pH=4'0), se adicionó a una solución de 1'00 g. (2'5 m mol) de PMZ-Ala-Phe-OH (peso molecular 400'42) en 5 ml. de NaOH-1N, añadiéndose a continuación 20 ml. de agua bajo fuerte agitación, y entonces se añadió 0'2 g. de pepsina (1:5'000) a la mezcla, bajo agitación de la misma, durante 24 horas y manteniéndola a 40°C. para hacerla reaccionar. El precipitado blanco resultante se filtró con un filtro de vidrio (G-3), se lavó a continuación con agua amoniacal al 4% y posteriormente con agua, en orden secuencial, y luego se secó el producto a baja presión y se recristalizó a partir del metanol obteniendo pMZ-Ala-Phe-Phe-OCH₃, que tiene un punto de fusión de 189-192°C. y $(\alpha)_D^{20} = -17'2$ (C=1; DMF).

El rendimiento fué 59'3%.

El análisis elemental produjo (C₃₁H₃₅N₃O₇ = 561,641)

	C	H	N
Calculado (%)	66'20	6'28	7'48
Hallado (%)	66'23	6'23	7'53

EJEMPLOS 13-21

De acuerdo con el procedimiento del ejemplo 12, a excepción de la reacción de 2'5 m mol del componente -C con 2'5 m mol del componente -N, se obtuvieron los correspondientes péptidos.

Los resultados se presentan en la Tabla 2.

TABLA 2 (1ª parte)

Ejem plo.	Componente - C	Componente - N	Producto
13	pMZ-Ala-Phe-OH	HClH-Tyr-OCH ₃	pMZ-Ala-Phe-Tyr-OCH ₃
14	"	HClH-Cys-OCH ₃ S-Bzl	pMZ-Ala-Phe-Cys-OCH ₃ S-Bzl
15	"	HClH-Ileu-OCH ₃	pMZ-Ala-Phe-Ileu-OCH ₃
16	"	HClH-Ser-OCH ₃ OCH ₂ φ	pMZ-Ala-Phe-Ser-OCH ₃ OCH ₂ φ
17	"	TosOH-H-Phe- OCH ₂ φ	pMZ-Ala-Phe-Phe-OCH ₂ φ
18	"	HBrH-Phe-NH ₂	pMZ-Ala-Phe-Phe-NH ₂
19	"	TFAH-Phe- NHCH ₂ φ	pMZ-Ala-Phe-Phe- NHCH ₂ φ
20	"	2HBrH-Phe-NHNH ₂	pMZ-Ala-Phe-Phe- NHNH ₂
21	"	HClH-Phe-Gly- NH ₂	pMZ-Ala-Phe-Phe-Gly- NH ₂

Nota: Bzl = grupo bencilo; φ = grupo fenilo

TABLA 2 (Continuación)

Ejem- plo.	Rendi- mien- to (%)	p.f. (°C)	$(\alpha)_D^{20}$	Análisis elemental				Recristali- zación.
				C	H	N	S	
13	45'6	179~ 183	+3'7° (C=0'5 DMF)	C: 63'80 6'16	7'70			DMF-MeOH-H ₂ O
14	48'4	164~ 166	-27'8° (")	C: 63'24 6'14	6'91	5'28		MeOH
15	7'0	170~ 175	-14'2° (C=1 DMF)	C: 64'15 6'98	8'08			etil acetato petróleo éter
16	18'8	158~ 163	-23'0° (C=1 MeOH)	C: 64'96 6'30	7'10			AcOEt - pe- tróleo éter
17	90'4	158~ 163	-14'6° (C=1 DMF)	C: 69'69 6'16	6'59			DMF-éter-pe- tróleo éter
18	55'6	241~ 242	-36'1° (")	C: 65'92 6'27	10'25			DMF-MeOH- Et ₂ O
19	13'9	242~ 244	-14'8° (C=0'5 DMF)	C: 68'08 6'18	8'58			DMF-MeOH- H ₂ O
20	52'9	228~ 230	-21'8° (C=1 DMF)	C: 64'16 6'28	12'47			DMF-MeOH- Et ₂ O
21	51'4	232~ 233	-34'1° (")	C: 63'69 6'18	11'60			DMF-MeOH- éter

C = calculado

H = hallado

1

EJEMPLO 22

Se repitió el procedimiento del ejemplo 12, con la diferencia de utilizarse 30 ml. de agua y 0'1 g. de pepsina (1:10.000), y la duración de la reacción de ahora fué de 18 horas, obteniéndose:

5

PMZ-Ala-Phe-Phe-OCH₃, de p.f.=189-193°C.

El rendimiento fué del 51'3%.

EJEMPLO 23

Se repitió el procedimiento del ejemplo 12, con la diferencia de utilizarse 30 ml. de agua, y la duración de la reacción fué de 18 horas, obteniéndose:

10

PMZ-Ala-Phe-Phe-OCH₃, de p.f.=187-192°C.

El rendimiento fué del 59%.

EJEMPLO 24

Se repitió el procedimiento del ejemplo 22, con la diferencia de utilizarse 0'2 g. de pepsina (1:1.000), obteniéndose:

15

PMZ-Ala-Phe-Phe-OCH₃, de punto de fusión

188-193°C.

20

El rendimiento fué del 65'8%.

EJEMPLO 25

Se repitió el procedimiento del ejemplo 12, con la diferencia de utilizarse 30 ml. de agua y la duración de la reacción, que ahora fué de 10 horas, obteniéndose el mismo producto final.

25

El rendimiento fué del 50'0%.

EJEMPLO 26

Una solución de 2'5 m mol de HClH-Leu-Met-NH₂ en 40 ml. de solución amortiguadora de ácido acético (pH=4'0), se añadió a una solución de 2'5 m mol de PMZ-Ala-Phe-OH

30

1 en 5 ml. de NaOH-1N, a continuación de lo cual se añadió 0'2 g de pepsina del ejemplo 8, manteniéndose la mezcla durante 24 horas a 40°C., produciendo la reacción de la misma.

5 El precipitado blanco resultante se sometió a lavado y secado, según el procedimiento del ejemplo 8, y se recrystalizó a partir de MeOH-H₂O, obteniéndose 1'02 g. de pMZ-Ala-Phe-Leu-Met-NH₂, que presenta un punto de fusión de 218-219°C y $(\alpha)_D^{20} = 31'6$ (C=0'5; DMF).

El rendimiento fué del 63'3%.

10 Análisis elemental (C₃₂H₄₅N₅O₇S=643,809).

	C	H	N	S
Calculado (%)	59'70	7'05	10'88	4'98
Hallado (%)	59'94	7'19	10'78	4'92

EJEMPLO 27

15 Una solución de 0'995 g. (2'5 m mol) de 2HBrH-Phe-Gly-NHNH₂ (peso molecular=398,105) en 40 ml. de solución amortiguadora de ácido cítrico del ejemplo 12, se añadió a una solución de 1'50 g. (3'75 m mol) de pMZ-Ala-Phe-OH en 7'5 ml. de NaOH-1N, y a continuación se añadió a la mezcla 30 ml. de agua, sometiendo la mezcla a agitación; la reacción tuvo lugar, a continuación, de acuerdo con el procedimiento del ejemplo 12.

25 El precipitado resultante se lavó y secó, y se recrystalizó a partir de DMF-MeOH-Et₂O, obteniéndose 0'945 g. de:

pMZ-Ala-Phe-Phe-Gly-NHNH₂,
que presenta un punto de fssión de 208-210°C, y $(\alpha)_D^{23} = -31'8$ (C=1; DMF).

El rendimiento fué del 61'2%.

30 Análisis elemental (C₃₂H₃₈N₆O₇·1/3H₂O = 624,701).

1		C	H	N
	Calculado (%)	61'52	6'23	13'45
	Hallado (%)	61'38	6'25	13'38

EJEMPLO 28

5 Una solución de 2'5 m mol de HClH-Phe-OCH₃ en 40 ml. de solución amortiguadora de ácido cítrico del ejemplo 8, se añadió a una solución de 1'47 g. (40 m mol) de pMZ-Ala-Leu-OH (peso molecular=366,4), desarrollándose el procedimiento, a continuación, de acuerdo con el ejemplo 26.

10 El precipitado resultante fué lavado y secado, obteniéndose 0'302 g. de pMZ-Ala-Leu-Phe-OCH₃, con un punto de fusión de 187-191°C, y $(\alpha)_D^{23} = -18'0$ (C=0'5; DMF).

El rendimiento fué del 22'9%.

15 Análisis elemental (C₂₈H₃₇N₃O₇·1/3H₂O = 533,628)

	C	H	N
Calculado (%)	63'02	7'11	7'87
Hallado (%)	62'90	6'97	7'97

EJEMPLO 29

20 Una solución de 0'793 g. (2'5 m mol) de HBrH-Phe-Gly-OCH₃ (peso molecular=317'18) en una solución amortiguadora de ácido cítrico del ejemplo 8, se añadió a una solución de 1'50 g. (3'75 m mol) de pMZ-Ala-Phe-OH en 5 ml. de NaOH-1N, añadiéndose a continuación 20 ml. de agua.

25 La reacción tuvo lugar de acuerdo con el procedimiento del ejemplo 8. El precipitado resultante se lavó, secó y recristalizó, obteniéndose 1'46 g. de pMZ-Ala-Phe-Phe-Gly-OCH₃, de un punto de fusión 227-229°C, y $(\alpha)_D^{23} = -26'7$ (C=1; DMF).

30 El rendimiento fué del 94'9%.

1

Análisis elemental ($C_{33}H_{35}N_4O_8=618,693$).

	C	H	N
Calculado (%)	64'04	6'19	9'06
Hallado (%)	63'79	6'32	8'96

5 EJEMPLO 30

De acuerdo con el procedimiento del ejemplo 28, se realizó la reacción utilizando 4'0 m mol de pMZ-Ala-Met OH y 2'5 m mol de HClH-Phe-OCH₃, obteniéndose 0'3413 g. de pMZ-Ala-Met-Phe-OCH₃, de un punto de fusión de 153-167°C, y

10 $(\alpha)_D^{23} = -17'4$ (C=0'5; DMF).

El rendimiento fué 24'6%.

El análisis elemental dió ($C_{27}H_{35}N_3O_7S = 545,660$).

15

	C	H	N	S
Calculado (%)	59'43	6'47	7'70	5'88
Hallado (%)	59'82	6'38	7'78	5'54

EJEMPLO 31

Se repitió la reacción del ejemplo 28, a excepción de utilizar HClH-Phe-Gly-OEt (2'5 m mol) en lugar de HClH-Phe-OCH₃ (2'5 m mol). El producto se lavó, en primer lugar, con agua amoniacal al 5% y luego con agua, secándose a continuación sobre P₂O₅, obteniéndose 0'8153 g. de pMZ-Ala-Leu-Phe-Gly-OEt, que presenta un punto de fusión de 175-192°C., y

20 $(\alpha)_D^{23} = -23'4$ (C=0'5; DMG).

25 El rendimiento fué 54'5%.

El análisis elemental dió ($C_{31}H_{42}N_4O_8 = 598,703$).

30

	C	H	N
Calculado (%)	62'19	7'07	9'36
Hallado (%)	62'06	7'01	9'20

1

EJEMPLO 32

Una solución de 1'5 m mol de HClH-Ileu-Gly-Leu-Met-NH₂ (peso molecular=468'1) en 40 ml. de solución amortiguadora de ácido cítrico del ejemplo 12, se añadió a una solución de 2'5 m mol de pmZ-Ala-Phe-OH en 5 ml. de NaOH-1N, y la reacción se mantuvo durante 48 horas, a 40°C., en presencia de 0'2 g. de pepsina del ejemplo 12.

5

El precipitado resultante se secó sobre P₂O₅, a 60°C y durante 18 horas, obteniéndose 1'10 g. de pmZ-Ala-Phe-Ileu-Gly-Leu-Met-NH₂, que presenta un punto de fusión de 253'5-255°C, y $(\alpha)_D^{23} = -42'4$ (C=1; AcOH).

10

El rendimiento fué 90%.

EJEMPLO 33

Una solución de 0'702 g. (1'5 m mol) de HClH-Ileu-Gly-Leu-Met-NH₂ (peso molecular=468'1) en 40 ml. de solución amortiguadora de ácido cítrico del ejemplo 12, se añadió a una solución de 1'15 g. (2'5 m mol) de BOC-Asn-Ala-Phe-OH (MW=450'5) en 5 ml. de NaOH-1N, de la misma forma que en el ejemplo 22 y, a continuación, se lavó el precipitado con agua amoniacal al 5%, una solución acuosa de ácido cítrico al 5% y agua, en un orden secuencial, secándose posteriormente el producto sobre P₂O₅, obteniéndose 1'052 g. de BOC-Asn-Ala-Phe-Ileu-Gly-Leu-Met-NH₂, que presenta un punto de fusión de 256-260°C., y $(\alpha)_D^{23} = -36'2$ (C=0'5; DMF).

15

20

25

El rendimiento fué 81'0%.

El análisis elemental dió (C₄₀H₆₅N₉O₁₁S = 864,082).

30

		C	H	N	S
Calculado (%)		55'60	7'58	14'59	3'71
Hallado (%)		55'43	7'69	14'31	3'65

EJEMPLO 34

Se repitió el procedimiento del ejemplo 28, a excepción de utilizar 1'32 g. (2'5 m mol) de pMZ-Gln-Ala-Phe-OH (peso molecular=528'5), y 0'702 g. (1'5 m mol) de 2HClH-Ileu-Gly-Leu-Met-NH₂ (MW=468'1) en sustitución de pMZ-Ala-Leu-OH y HClH-Phe-OCH₃, obteniendo 1'04 g. de pMZ-Gln-Ala-Phe-Ileu-Gly-Leu-Met-NH₂, que presenta un punto de fusión de 258-260°C. (descomposición).

El rendimiento fué 74'5%.

Análisis elemental (C₇₄H₆₇N₇O₁₁S=930,142).

	C	H	N	S
Calculado (%)	56'82	7'26	13'55	3'45
Hallado (%)	56'56	7'16	13'49	3'25

EJEMPLO 35

Se disolvió 1'60 g. (4 m mol) de pMZ-Ala-Phe-OH en NaOH-1N y, por otra parte, 0'54 g. (2'5 m mol) de HClH-Phe-OCH₃ se disolvió en una serie de soluciones amortiguadoras de ácido cítrico, teniendo cada una de ellas 40 ml., pero diferente pH. Se mezclaron ambas soluciones y se añadió 30 ml. de agua, adicionándose a continuación 0'2 g. de pepsina del ejemplo 12, manteniendo la mezcla durante 24 horas a 40°C, hasta conseguir en reacción. El precipitado resultante se lavó con agua amoniacal al 5%, una solución acuosa de ácido cítrico al 5% y agua, en orden secuencial, y acto seguido se secó el producto sobre P₂O₅ a 50°C., obteniéndose pMZ-Ala-Phe-Phe-OCH₃.

En la tabla 3, a continuación, se representa la relación de pH de las soluciones amortiguadoras de ácido cítrico, y el rendimiento correspondiente.

1

TABLA 3

pH	Rendimiento (%)	p.f. (°C)	$(\alpha)_D^{25}$ (C=1; DMF)
2'38	61'1	170-173	-18'4º
3'28	74'6	185-189	-16'7º
4'08	99'9	186-189	-18'0º
5'02	64'0	189-190	-17'2º

5

10

EJEMPLO 36

Una solución de 2 m mol de 2HBrH-Phe-Gln-NHNH₂ en 40 ml. de solución amortiguadora de ácido cítrico (pH=4'0), se añadió a una solución de 3'75 m mol de pMZ-Ala-Tyr-OH en NaOH-1N y, a continuación, se añadió 0'2 g. de pepsina a la mezcla, manteniéndola a 25°C durante 48 horas, haciéndola reaccionar de acuerdo con el procedimiento del ejemplo 8, obteniéndose pMZ-Ala-Tyr-Phe-Gln-NHNH₂ que presenta un punto de fusión de 245-248°C. (descomposición), y una rotación específica en solución de $(\alpha)_D^{22} = -4'6^\circ$ (C=1; DMSO).

15

20

El rendimiento fué de 57'8%.

Análisis elemental (C₃₃H₄₅N₇O₈H₂O=725,806).

	C	H	N
Calculado (%)	57'92	6'52	13'52
Hallado (%)	57'98	6'35	13'54

25

EJEMPLO 37

Se repitió el procedimiento del ejemplo 12, a excepción de utilizar 2'5 m mol de pMZ-Ala-Phe-Ala-Phe-OH y 2'5 m mol de HClH-Leu-Met-NH-DMB, manteniendo la reacción durante 14 horas, obteniéndose así pMZ-Ala-Phe-Ala-Phe-Leu-Met-NH-DMB, que presenta un punto de fusión de 250-268°C., y una

30

1 rotación específica en solución de $(\alpha)_D^{25} = -21'0$ (C=0'4; DMF).
El rendimiento fué 70%.

EJEMPLO 38

5 Se repitió el procedimiento del ejemplo 12,
a excepción de utilizar 2'5 m mol de pMZ-Ala-Phe-Ala-Phe-OH,
y 2'5 m mol de HClH-Ileu-Gly-OEt, manteniendo la reacción du-
rante 9 horas, obteniéndose pMZ-Ala-Phe-Ala-Phe-Ileu-Gly-OEt,
que presenta p.f. de 248-252°C.

El rendimiento fué 63%.

10 EJEMPLO 39

Una solución de 0'216 g. (10 m mol) de HClH
Phe-OCH₃ (peso molecular 215'5) en 40 ml. de solución amorti-
guadora de ácido cítrico (pH=4'0), se añadió a una solución de
0'495 g. (10 m mol) de Z-Pro-Val-Phe-OH (peso molecular 495)
15 en 10 ml. de NaOH-1N, añadiéndose a continuación 30 ml. de
agua y sometiendo la mezcla a agitación y, posteriormente, se
añadió 0'1 g. de pepsina (1:10.000) a la mezcla, sometiendo a
esta última a agitación durante 24 horas, a una temperatura de
40°C., haciéndola reaccionar.

20 El precipitado blanco resultante se filtró
con filtro de vidrio (G-3), y se lavó con agua amoniacal al
5%, una solución acuosa de ácido cítrico al 5% y agua, en or-
den secuencial, secándose después el producto sobre P₂O₅, a
presión reducida y 50°C., obteniéndose 0'244 g. de Z-Pro-Val-
25 Phe-Phe-OCH₃, que presenta un punto de fusión de 199-201°C. y
una rotación específica en solución de $(\alpha)_D^{30} = -33'2$ (C=1; DMF)
El rendimiento fué 37'2%.

EJEMPLO 40

30 Una solución de 0'216 g. (10m mol) de HClH-
Phe-OCH₃ (peso molecular de 215'5) en 40 ml. de solución amor-

1 tiguadora de ácido cítrico (pH=4'0), se añadió a una solución
de 0'421 g. de BOC-Gly-Val-Phe-OH (peso molecular 421) en 10
ml. de NaOH-1N, añadiéndose a continuación 30 ml. de agua, y
sometiendo a la mezcla a agitación, adicionándose posteriormen
5 te 0'1 g. de pepsina (1:10.000) a la mezcla, sometiendo a esta
última a agitación permanente en un incubador a 40°C. y duran-
te 24 horas, haciéndola reaccionar. Se obtuvo 0'414 g. de BOC-
Gly-Val-Phe-Phe-OCH₃, que presenta un punto de fusión de 193-
196°C. y una rotación específica en solución de $(\alpha)_D^{30} = -14'8$
10 (C=1; DMF). El rendimiento fué 71'2%.

EJEMPLO 41

Se repitió el procedimiento del ejemplo 39,
a excepción de modificar a 2:1 la relación molar de Z-Pro-Val-
Phe-OH:HClH-Phe-OCH₃, obteniéndose 0'297 g. del mismo producto
15 final que en el ejemplo 39.

El rendimiento fué 51%.

EJEMPLO 42

Se repitió el procedimiento del ejemplo 40,
a excepción de utilizar una solución amortiguadora de ácido
20 tartárico (pH=4), en lugar de la solución amortiguadora de áci-
do cítrico, obteniéndose 0'426 g. del mismo producto que en el
ejemplo 40.

El rendimiento fué 73'3%.

EJEMPLO 43

25 Se repitió el procedimiento del ejemplo 40,
a excepción de utilizar una solución amortiguadora de fosfato
disódico-ácido cítrico (pH=4), en lugar de la solución amorti-
guadora de ácido cítrico, obteniéndose 0'936 g. del mismo pro-
ducto que en el ejemplo 10.

30 El rendimiento fué 68%.

1

EJEMPLO 44

Se repitió el procedimiento del ejemplo 39, a excepción de que la reacción tuvo lugar con 0'2 g. de pepsina (1:5.000) y durante 20 horas, obteniéndose el mismo producto final que en el ejemplo 35. El rendimiento fué 35%.

5

EJEMPLOS 45-65

De acuerdo con el procedimiento seguido en el ejemplo 39, se hicieron reaccionar 10 m mol del componente-C, con 10 m mol del componente-N que aparecen en la siguiente Tabla 4, obteniéndose los correspondientes péptidos.

10

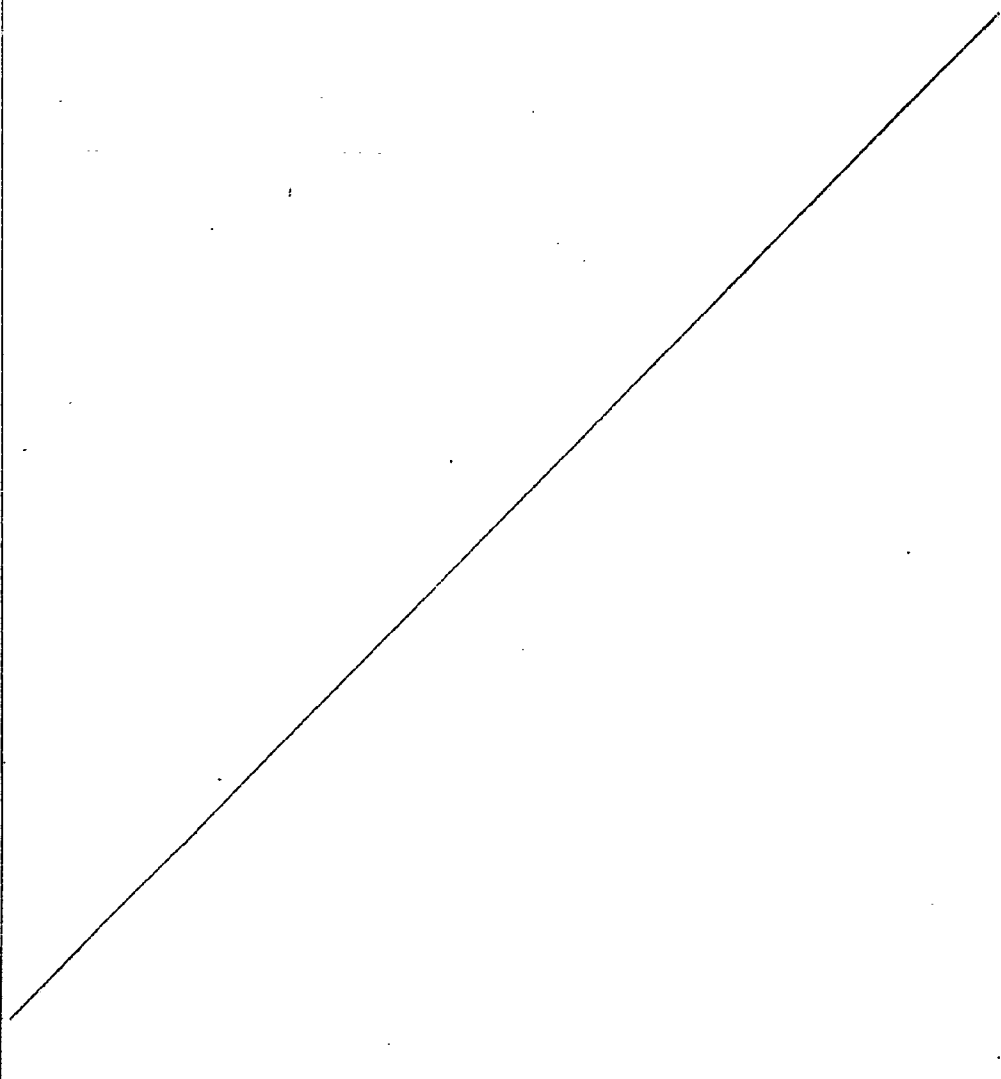
Los resultados se representan en la Tabla 4.

15

20

25

30



30 25 20 15 10 5 1

TABLA 4

Ej.	Componente-C	Componente-N	Producto	Rendimiento (%)	P. f.º (°C)	(α) _D ³⁰
45	pMZ-Gly-Val-Phe-OH	HClH-Phe-OCH ₃	pMZ-Gly-Val-Phe-Phe-OCH ₃	74'3	175- 178	-15'19 (C=1; DMF)
46	Z-Pro-Val-Phe-OH	HClH-Phe-Gly-OC ₂ H ₅	Z-Pro-Val-Phe-Phe-Gly-OC ₂ H ₅	67'2	215- 216	-31'29 (C=0'5; DMF)
47	BOC-Pro-Val-Phe-OH	HClH-Phe-Gly-OC ₂ H ₅	BOC-Pro-Val-Phe-Phe-Gly-OC ₂ H ₅	34'4	208- 210	-46'89 (C=0'5; DMF)
48	BOC-Gly-Val-Phe-OH	HClH-Phe-Gly-OC ₂ H ₅	BOC-Gly-Val-Phe-Phe-Gly-OC ₂ H ₅	45'1	185- 187	-14'49 (C=0'5; DMF)
49	pMZ-Gly-Val-Phe-OH	HClH-Phe-Gly-OC ₂ H ₅	pMZ-Gly-Val-Phe-Phe-Gly-OC ₂ H ₅	75'0	200- 212	-18'69 (C=0'5; DMF)
50	pMZ-Gly-Leu-Phe-OH	HClH-Phe-OCH ₃	pMZ-Gly-Leu-Phe-Phe-OCH ₃	77'0	178-	-26'49 (C=1 DMF)

1

5

10

15

20

25

30

TABLA 4 (Continuación)

Ej.	Componente-C	Componente-N	Producto	Rendimiento (%)	p.f. (°C)	(α) _D ³⁰
51	BOC-Pro-Leu-Phe-OH	HCLH-Phe-Gly-OC ₂ H ₅	BOC-Pro-Leu-Phe-Phe-Gly-OC ₂ H ₅	62'9	217-219	-48'2 _g (C=1; DMF)
52	BOC-Gly-Leu-Phe-OH	HCLH-Phe-Gly-OC ₂ H ₅	BOC-Gly-Leu-Phe-Phe-Gly-OC ₂ H ₅	54'5	160-164	-34'8 _g (C=0'5; DMF)
53	PMZ-Gly-Leu-Phe-OH	HCLH-Phe-Gly-OC ₂ H ₅	PMZ-Gly-Leu-Phe-Phe-Gly-OC ₂ H ₅	59'0	170-172	-29'2 _g (C=0'5; DMF)
54	BOC-Pro-Met-Phe-OH	HCLH-Phe-OCH ₃	BOC-Pro-Met-Phe-Phe-OCH ₃	45'7	145-149	-39'4 _g (C=0'5; DMF)
55	BOC-Gly-Met-Phe-OH	HCLH-Phe-OCH ₃	BOC-Gly-Met-Phe-Phe-OCH ₃	44'3	153-154	-12'6 _g (C=0'5; DMF)
56	PMZ-Gly-Met-Phe-OH	HCLH-Phe-OCH ₃	PMZ-Gly-Met-Phe-Phe-OCH ₃	69'6	175-179	-17'2 _g (C=1; DMF)

30 25 20 15 10 5 1

TABLA 4 (Continuación)

Ej.	Componente-C	Componente-N	Producto	Rendimiento (%)	p.f. (°C)	(α) _D ²⁰
57	BOC-Pro-Met-Phe-OH	HCLH-Phe-Gly-OC ₂ H ₅	BOC-Pro-Met-Phe-Phe-Gly-OC ₂ H ₅	51,2	208-210	-33,2° (C=0,5; DMF)
58	PMZ-Gly-Met-Phe-OH	HCLH-Phe-Gly-OC ₂ H ₅	PMZ-Gly-Met-Phe-Phe-Gly-OC ₂ H ₅	61,9	175-177	-27,0° (C=1; DMF)
59	BOC-Ala-Met-Phe-OH	HCLH-Phe-Gly-OC ₂ H ₅	BOC-Ala-Met-Phe-Phe-Gly-OC ₂ H ₅	60,8	211-214,5	-25,1° (C=1; DMF)
60	BOC-Asn-Met-Phe-OH	HCLH-Phe-Gly-OC ₂ H ₅	BOC-Asn-Met-Phe-Phe-Gly-OC ₂ H ₅	71,8	216-220	-60,0° (C=1; DMF)
61	BOC-Gln-Met-Phe-OH	HCLH-Phe-Gly-OC ₂ H ₅	BOC-Gln-Met-Phe-Phe-Gly-OC ₂ H ₅	72,0	220-222	-25,0° (C=1; DMF)

30 25 20 15 10 5 1

TABLA 4'

Ej.	Componente-C	Componente-N	Producto	Rendi- miento (%)	p.f. (°C)	(x) _D ²⁴
62	BOC-Ala-Leu-Tyr-OH	H-Leu-Val-OCH ₃	BOC-Ala-Leu-Tyr-Leu- Val-OCH ₃	37'1	199- 201	-40'6º (C=L; DMF)
63	BOC-Ala-Leu-Tyr-OH	H-Leu-Val- Cys-Gly-NHNH ₂ SPMBzl	BOC-Ala-Leu-Tyr-Leu- Val-Cys-Gly-NHNH ₂ SPMBzl	76'5	.250 (dec.)	-50'11º (C=L; DMF)
64	BOC-Arg-Gly-Phe-OH NO ₂	H-Phe-Tyr-NHNH ₂ OBzl	BOC-Arg-Gly-Phe-Phe- NO ₂ Tyr-NHNH ₂ OBzl	87'3	205- 207	-19'6º (C=L; DMF)
65	BOC-Arg-Gly-Phe-OH NO ₂	H-Phe-Tyr-Thr-NHNH ₂ OBzl	BOC-Arg-Gly-Phe-Phe- NO ₂ Tyr-Thr-NHNH ₂ OBzl	85'2	219- 220	-16'0º (C=L; DMF)

Nota: -SPMBzl significa -S-Para-metoxi bencil.

1

EJEMPLO 66

5

Una solución de 0'47 g. (10 m mol) de HClH-Ileu-Gly-Leu-Met-NH₂ (peso molecular=468'1) en 40 ml. de solución amortiguadora de ácido cítrico, se añadió a una solución de 0'38 g. (10m mol) de pmZ-Ala-Glu-OH (peso molecular=382'4)



10

en 10 ml. de NaOH-1N, añadiéndose a continuación 30 ml. de agua y sometiendo la mezcla a agitación, después de lo cual se añadió 0'1 g. de pepsina (1:10.000) a la mezcla, sometiéndola a agitación durante 24 horas a 40°C, al objeto de hacerla reaccionar.

15

El precipitado blanco resultante se filtró con filtro de vidrio (G-3), y se lavó con agua amoniacal al 5% una solución acuosa de ácido cítrico al 5% y agua, en orden secuencial. A continuación se secó el producto sobre P₂O₅, a reducida presión y a una temperatura de 50°C, obteniéndose 0'48 g. de pmZ-Ala-Glu-Ileu-Gly-Leu-Met-NH₂, que presenta un punto



20

de fusión de 214-217°C. y una rotación óptica específica en solución de $(\alpha)_D^{30} = -23'8^\circ$ (C=0'5; DMF).

El rendimiento fué 60'3%. El análisis elemental del producto final, correspondió con los valores teóricos, dentro de las desviaciones permisibles.

EJEMPLO 67

25

Se repitió el procedimiento del ejemplo 66, con la excepción de cambiar la relación molar de pmZ-Ala-Glu-



OH respecto a HClH-Ileu-Gly-Leu-Met-NH₂ a 2:1; obteniéndose 0'68 g. del mismo producto final que en el caso del ejemplo 66.

30

El rendimiento fué 85'3%.

1

EJEMPLO 68

5

Se repitió el procedimiento del ejemplo 67, con la excepción de utilizar una solución amortiguadora de fosfato disódico-ácido cítrico (pH=4), en lugar de la solución amortiguadora de ácido cítrico, obteniéndose el mismo producto final que en el caso del ejemplo 67. El rendimiento fué del 84%.

EJEMPLOS 69-75

10

De acuerdo con el procedimiento del ejemplo 66, se hicieron reaccionar 10 m mol del componente-C con 10 m mol del componente-N, obteniéndose los correspondientes péptidos.

Los resultados se representan en la Tabla 5

15

20

25

30

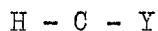
TABLA 5

Ej.	Componente-C	Componente-N	Producto	Rendimiento (%)	p.f. (°C)	(α) _D ³⁰
69	PMZ-Glu-Phe-OH OCH ₃	HClH-Phe-OCH ₃	PMZ-Glu-Phe-Phe-OCH ₃ OCH ₃	59'9	183- 187	-15'4° (C=1; DMF)
70	PMZ-Ala-Asn-OH	HClH-Ileu-Gly-Leu- Met-NH ₂	PMZ-Ala-Asn-Ileu- Gly-Leu-Met-NH ₂	31'0	252- 255	-41'8° (C=1; DMSO)
71	PMZ-Ala-Trp-OH	HClH-Phe-Val-OCH ₃	PMZ-Ala-Trp-Phe-Val- OCH ₃	60'0	210- 216	-32'0° (C=0'5; DMF)
72	PMZ-Ala-Trp-OH	HClH-Met-Gly-OCH ₃	PMZ-Ala-Trp-Met-Gly- OCH ₃	21'7	163- 167	-----
73	PMZ-Ala-Phe-OH	HClH-Trp-OCH ₃	PMZ-Ala-Phe-Trp-OCH ₃	65'7	186- 187	-1'4° (C=0'5; DMF)
74	Z-Glu-Phe-OH	HClH-Ileu-Gly-Leu- Met-NH ₂	Z-Glu-Phe-Ileu-Gly- Leu-Met-NH ₂	84	245- 248	-30'1° (C=1; DMF)
75	Z-Glu-Phe-OH	HClH-Phe-OCH ₃	Z-Glu-Phe-Phe-OCH ₃	63	181- 184	-19'7° (C=1; DMF)

1 A₂ a uno de los aminoácidos Val., Met., Leu. ó Gln;
B representa Phe., Tyr., Leu., Met., Glu., Asp., Gln., Asn. ó
Trp;
C representa Phe., Leu., Ileu., Tyr., Cys-SBzl., Ser-OBzl.,
5 Trp. ó Met;
X representa un grupo protector α-aminoácido;
un residuo aminoácido que tiene un grupo terminal-N protector,
o un residuo péptido que tiene un grupo protector terminal-N;
Y representa un grupo protector carboxílico;
10 un residuo aminoácido que tiene un grupo protector terminal-C,
o un residuo péptido que tiene un grupo protector terminal-C;
caracterizado porque el citado procedimiento comprende la reac-
ción de un péptido, que tiene de fórmula:

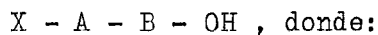


15 con un aminoácido o un péptido, que tiene de fórmula:



llevándose a cabo la citada reacción en presencia de la enzima
pepsina.

20 2ª) Procedimiento para la fabricación de
péptidos, en todo de acuerdo con la primera reivindicación, ca-
racterizado porque incluye la utilización de un péptido que
tiene de fórmula:



25 A representa Ala., Gln., Asn., ω-BOC-Lys., Leu. ó Gly.; y
B representa Phe., Tyr., Leu. ó Met;
X está definido en la reivindicación primera.

30 3ª) Procedimiento para la fabricación de
péptidos, en todo de acuerdo con la primera reivindicación, ca-
racterizado porque incluye la utilización de un péptido que
tiene de fórmula:

1 X - A - B - OH , donde:

A representa Glu., Glu. ó Pro.;

OMe

B y X están definidos en la reivindicación primera.

5 4ª) Procedimiento para la fabricación de péptidos, en todo de acuerdo con la primera reivindicación, ca racterizado porque incluye la utilización de un péptido que tiene de fórmula:

X - A₁ - A₂ - B - OH , donde:

10 A₁ representa un residuo aminoácido hidrofílico;

A₂ representa Val., Met., Leu. ó Gln.;

B y X están definidos en la reivindicación primera.

15 5ª) Procedimiento para la fabricación de péptidos, en todo de acuerdo con la primera reivindicación, ca racterizado porque incluye la utilización de un aminoácido o un péptido que tiene de fórmula:

H - C - Y , donde:

C representa Phe., Leu., Ileu., Tyr., Cys-SBzl. ó Ser-OBzl; e Y está definido en la reivindicación primera.

20 6ª) Procedimiento para la fabricación de péptidos, en todo de acuerdo con la primera reivindicación, ca racterizado porque la reacción se realiza a una temperatura de veinte-cincuenta grados centígrados, y en una solución amortiguadora que presenta un pH de dos-seis.

25 7ª) "PROCEDIMIENTO PARA LA FABRICACION DE PEPTIDOS".

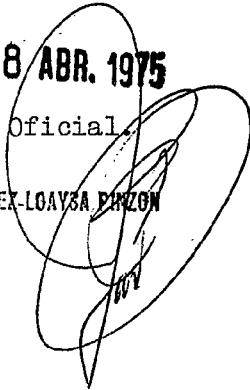
Según queda sustancialmente descrito en la presente memoria descriptiva que consta de treinta y siete hojas, mecanografiadas por una sólo cara.

30

Madrid, 28 ABR. 1975

El Agente Oficial

MIGUEL FERNANDEZ LOAYSA PINZON
P. P.



1

5

10

15

20

25

30