



10 ES	11 21	NUMERO 460.620	10 A1
	22	FECHA DE PRESENTACION 11.7.77	

PATENTE DE INVENCION

30 PRIORIDADES: 31 NUMERO 76/07684			32 FECHA 12.7.76			33 PAIS Holanda		
47 FECHA DE PUBLICIDAD			51 CLASIFICACION INTERNACIONAL C07C//A61K			62 PATENTE DE LA QUE ES DIVISIONARIA		
54 TITULO DE LA INVENCION "PROCEDIMIENTO PARA LA PREPARACION DE PEPTIDOS Y DERIVADOS DE PEPTIDOS"								
71 SOLICITANTE (S) AKZO N.V. (3.01.2 OA/8392-972)								
DOMICILIO DEL SOLICITANTE IJssellaan 82, Arnhem, Holanda								
72 INVENTOR (ES) Hendrik Marie Greven y Prof. Dr. David de Wied								
73 TITULAR (ES)								
74 REPRESENTANTE D. OSCAR DE ELZABURU FERNANDEZ (P.- 66.438)								

1 Los péptidos y derivados de péptido de que aquí
se trata poseen valiosas propiedades sicofarmacológicas.
En particular, inhiben la extinción de la respuesta de eva-
sión condicionada, como resultado de lo cual son eminente-
5 mente adecuados para el tratamiento de ciertos desórdenes
mentales en los que es deseable el estímulo de la función
cerebral, tal como para la senilidad u otras enfermedades
de la edad avanzada.

 Por Eur.J.Pharmacol. 2, 14 (1967) se sabe que
10 ciertos fragmentos péptidos de las hormonas adrenocortico-
tróficas (HACT) naturales retardan la extinción de la res-
puesta de evasión condicionada. Específicamente, el pépti-
do consistente en la secuencia 4-10 de aminoácido de la
HACT resultó ser el menor fragmento péptido activo en este
15 sentido.

 Además de las propiedades sicofarmacológicas in-
dicadas, el péptido con la secuencia de aminoácido 4-10 de
HACT también posee una ligera actividad MSH, como es usual
en este tipo de fragmentos de HACT. Aunque el efecto de una
20 dosis baja de un péptido con actividad MSH aún no se conoce
del todo, se ha hecho, de todas formas, una búsqueda de pép-
tidos con el al menos la misma actividad sicofarmacológica
pero sin actividad MSH, o con actividad MSH muy reducida.

 En la memoria descriptiva de la patente de los
25 EE.UU. 3.853.836 se revela que la secuencia de aminoácido
4-10 de HACT no es esencial para que haya actividad sicofar-
macológica, y que esta actividad se puede atribuir a un pép-
tido mucho más corto, concretamente 4-6 HACT. Además resul-
ta que el aminoácido L-Met de N terminal se puede reempla-
zar sin pérdida de actividad por D-Met, L- ó D-Met(\rightarrow O),
30

1 L- ó D-Met(\rightarrow O₂), desamino-Met, desamino-Met(\rightarrow O) ó desami-
no-Met(\rightarrow O₂), o por el grupo $\text{H}_2\text{N}-\underset{\text{O}}{\underset{\parallel}{\text{B}}}-\text{C}-$, donde B representa
un grupo alcohileno de cadena ramificada o recta, con 1-6
átomos de carbono.

5 En la memoria descriptiva de la patente de los
EE.UU. 3.856.770 se señala además que el reemplazar el res-
to de péptido de C terminal -L-Trp-Gli-OH, en el péptido
de HACT 4-10 original, por uno de los grupos -L-Fen-OH,
10 L-Fen Gli-OH, un grupo fenilalcoholamino o un grupo (3-in-
dolil)-alcohol-amino, tiene como resultado un aumento de la
actividad sicofarmacológica.

15 En la memoria descriptiva de la patente de los
EE.UU. 3.842.064 se señala además que se obtiene un consi-
derable aumento de la actividad sicofarmacológica reempla-
zando la L-arginina del péptido de HACT 4-10 original, o de
uno de los péptidos modificados descritos en las memorias
descriptivas de las patentes antes indicadas, por D-lisina.

20 En esta última memoria descriptiva de patente se
describen los péptidos más activos, concretamente aquellos
según la fórmula general:



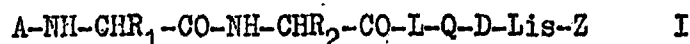
25 donde A tiene el significado indicado más adelante. Estos
péptidos demuestran poseer una actividad que es aproxima-
damente 1000 veces más fuerte que la del HACT 4-10 original.

30 Sorprendentemente, se ha hallado ahora que los
restos de aminoácido Glu e His, hasta ahora considerados
esenciales para que hubiese actividad, pueden ser reempla-
zados sin pérdida alguna de actividad por restos de amino-
ácido alifático inferior tal como Ala, Leu, Val e Ile, que

1 se puede utilizar de manera mucho más simple y barata que
el Glu e His en la síntesis de péptidos.

También se ha verificado que el aminoácido L-Fen
en la posición 7 del HACT 4-10 original se podía reempla-
5 zar por otros aminoácidos levorrotatorios, incluyendo los
aminoácidos alifáticos inferiores antes citados.

Por tanto, la invención se refiere a péptidos y
derivados de péptido de fórmula general:



10

donde A representa H-(L ó D)Met, H-(L ó D)Met(\rightarrow O), H-(L ó
D)Met(\rightarrow O₂), desamino-Met, desamino-Met
(\rightarrow O), desamino-Met(\rightarrow O₂), o el grupo
H₂N-B-CO-;

15

B representa un grupo alcoholeno (C₁-C₆) o alcoholi-
deno (C₁-C₆) de cadena ramificada o rec-
ta;

Q representa el resto de aminoácido -NH-CHR-CO-;

R representa alcoholo (C₁-C₆), p-hidroxifenilmetilo,
3-indolilmetilo o fenilmetilo;

20

R₁ y R₂ representan hidrógeno o un grupo alcoholo
(1-6 C); y

Z representa N-(fenilalcohol)amino, N-(β -indolilal-
cohol)-amino, L-Trp-OH, L-Fen-OH, L-Trp-
-Gli-OH ó L-Fen-Gli-OH,

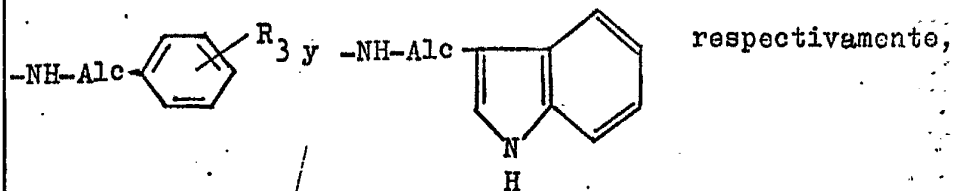
25

así como los derivados funcionales de los mismos, y al uso
de estos compuestos en una formulación farmacéutica.

Los grupos nombrados como grupos terminales en
la definición de Z, concretamente N-(fenilalcohol)-amino y
N-(β -indolilalcohol)-amino, son grupos que difieren prin-

1 principalmente de los restos de aminoácido semejantes a ellos por la ausencia del grupo carboxilo.

Por grupos N-(fenilalcohol)-amino o, según los casos, N-(β -indolilalcohol)-amino, se entienden los grupos:



donde Alc representa un grupo alcoholeno de 1-6 C, y preferiblemente etilo, y R_3 representa hidrógeno, halógeno, hidroxilo, un grupo alcoholo con 1-4 átomos de carbono, o un grupo alcoxi con 1-4 átomos de carbono.

15 Los péptidos y derivados de péptido según la fórmula general I se preparan de maneras usuales para tales compuestos. Los métodos más frecuentemente usados para preparar los péptidos aquí mencionados se pueden resumir como sigue:

- 20 (a) condensación, en presencia de un agente de condensación de un compuesto (aminoácido, péptido) que contiene un grupo carboxilo libre, y en el que los otros grupos reactivos han sido protegidos, con un compuesto (aminoácido, péptido o amina) que contiene un grupo amino libre, y en el que los otros grupos reactivos han sido
- 25 igualmente protegidos,
- (b) condensación de un compuesto (aminoácido, péptido) que contiene un grupo carboxilo activado, en el que los otros grupos reactivos han sido protegidos opcionalmente, con un compuesto (aminoácido, péptido, amina) que
- 30

1 contiene un grupo amino libre, y en el que los otros grupos reactivos han sido protegidos, tras lo cual los grupos protectores, si se desea, pueden ser eliminados.

5 Métodos para activar el grupo carboxilo incluyen la conversión de este grupo en un haluro de ácido, una azida, anhídrido, imidazolida o un éster activado, tal como el éster de N-hidroxisuccinimida o el éster de p-nitrofenilo.

10 El grupo amino se puede activar por conversión de este grupo en una amida de fosfito, o por uso del método "fosforazo".

15 Los métodos más usuales para las reacciones de condensación antes indicadas son: el método de la carbodimida, método de la azida, método del anhídrido mixto y método del éster activado, como se describe en "The Peptides" (Los péptidos), volumen I, 1965 (Academic Press), E. Schröder y K. Lübke. El método llamado de la "fase sólida", de Merrifield, descrito en J. Am. Chem. Soc. 85, 2149 (1963) se puede usar, además, para la preparación de los péptidos o derivados de péptido según la invención.

20 Los grupos reactivos cuya participación en la reacción de condensación se ha de evitar se protegen eficazmente con los llamados grupos protectores, que se pueden eliminar fácilmente de nuevo, por ejemplo por hidrólisis o reducción. Por ejemplo, un grupo carboxilo se puede proteger eficazmente por esterificación con metanol, etanol, butanol terciario, alcohol bencílico o alcohol p-nitrobencílico, o por conversión en una amida. Sin embargo, este último grupo protector es muy difícil de eliminar, de manera que es recomendable que solo se use este grupo para proteger el gru-

1 po carboxilo del aminoácido de C terminal en el péptido final.

En este caso, la síntesis del péptido conduce directamente a la amida del péptido según la fórmula I.

5 Los grupos que pueden proteger eficazmente a un grupo aminoácido son usualmente grupos ácidos, por ejemplo un grupo ácido derivado de un ácido carboxílico alifático, aromático, aralifático o heterocíclico, tal como acetilo, benzilo o un grupo piridino-carboxilo, o un grupo ácido derivado del ácido carbónico, tal como el grupo etoxicarbonilo, 10 benciloxicarbonilo, t-butiloxicarbonilo o p-metoxibenciloxicarbonilo, o un grupo derivado de un ácido sulfónico, tal como el grupo bencenosulfonilo o p-toluensulfonilo, pero también se pueden usar otros grupos, tal como grupos 15 arilo o aralcoholo sustituidos o no sustituidos, por ejemplo los grupos bencilo y trifenilmetilo, o grupos tales como los grupos o-nitrofenilsulfenilo y 2-benzilo-1-metilvinilo.

20 A menudo es recomendable que también se protejan los grupos ϵ -amino de la lisina, y opcionalmente el grupo hidroxilo fenólico de la tirosina. Sin embargo, esta última protección no siempre es esencial. Los grupos protectores usuales en relación con esto son un grupo terc-butiloxicarbonilo o un grupo tosilo, para el grupo ϵ -amino de la 25 lisina, y un grupo bencilo para el grupo hidroxilo fenólico de la tirosina.

Los grupos protectores se pueden escindir por diversos métodos usuales, dependiendo de la naturaleza del grupo en cuestión, por ejemplo con ayuda de ácido trifluoro

1 acético o por reducción suave, por ejemplo con hidrógeno y un catalizador, tal como paladio, o con HBr en ácido acético glacial.

5 Los péptidos según la presente invención que tienen (L o D)Met(\rightarrow O) o desamino-Met(\rightarrow O) como resto de N terminal se pueden preparar a partir del correspondiente péptido Met o desamino-Met, por oxidación suave de manera conocida, por ejemplo con peróxido de hidrógeno diluido o un perácido. Tal oxidación da como resultado una mezcla de
10 los sulfóxidos S y R, que se puede resolver para dar los diastereoisómeros separados, de manera conocida por sí misma, por ejemplo por cristalización selectiva. Los diastereoisómeros separados también se pueden obtener directamente por copulación de S(ó R)-sulfóxido de (L ó D)-metionina, o su correspondiente derivado desamino, con la parte
15 restante del fragmento de péptido.

Los péptidos según la presente invención que tienen (L o D)-Met(\rightarrow O₂) o desamino-Met(\rightarrow O₂) como resto de N terminal se pueden obtener por oxidación del (desamino)Met-
20 -péptido I o por copulación de (desamino)Met-sulfona con la parte restante del fragmento de péptido.

Por derivados funcionales de los péptidos según la fórmula general I se entiende:

- 25 1. Sales de adición de ácido o sales de metal, preferiblemente sales de metal alcalino, tales como las sales sódicas;
2. Péptidos según la fórmula general I, donde uno o más grupos amino libre han sido sustituidos por un grupo acilo
- 30

- 1 derivado de un ácido carboxílico alifático con 1-6 átomos de carbono, p.ej. acetilo, propionilo, butirilo, etc;
- 5 3. Amidas, opcionalmente sustituidas con alcoholo, de los presentes péptidos, tal como las amidas no sustituidas o las mono- o dialcohol (1-6 C) amidas, p. ej. las mono- o dimetilamidas;
- 10 4. Esteres de los presentes péptidos, derivados de alcoholes alifáticos o aralifáticos de 1-18 átomos de C;
- 15 5. Complejos metálicos formados poniendo en contacto los péptidos aquí mencionados con una sal, hidróxido u óxido poco solubles de un metal, preferiblemente cinc.

15 Las sales de adición de ácido se obtienen por reacción de los péptidos aquí mencionados con un ácido farmacéuticamente aceptable, tal como un haluro de hidrógeno, ácido fosfórico, ácido acético, ácido maleico, ácido tartárico o ácido cítrico.

20 Los péptidos según la invención, y los derivados antes definidos, se pueden administrar tanto oral como parenteralmente. Los péptidos se usan preferiblemente como preparaciones para inyección, para lo cual se disuelven, suspenden o emulsifican en un medio líquido adecuado. Cuando se mezclan con excipientes o cargas adecuados, también se pueden tratar para dar una forma adecuada para administración oral, tal como píldoras, tabletas o grageas. Los péptidos aquí mencionados también se pueden administrar en forma de supositorio o pulverización.

25

30 Los péptidos o derivados de péptido según la invención se usan de preferencia parenteralmente, en dosis diaria de 0,01 μ g a 1 mg, y oralmente en dosis diaria de

1 0,1 mg a 50 mg, por kg de peso del cuerpo, dependiendo del nivel de actividad del péptido.

5 Se obtienen preparaciones particularmente valiosas cuando los presentes péptidos se tratan para dar una forma en la que la actividad sea prolongada. En este contexto se alude específicamente a los complejos metálicos de los péptidos. Estos complejos metálicos se pueden obtener poniendo los péptidos en contacto con sales metálicas, hidróxidos metálicos u óxidos metálicos poco solubles. Como sales metálicas poco solubles se usan generalmente los fosfatos metálicos, pirofosfatos metálicos y polifosfatos metálicos.

15 Los metales que se pueden usaren este procedimiento son los metales que pertenecen a los elementos de transición, por ejemplo cobalto, níquel, cobre, hierro y preferiblemente cinc, así como los metales que pertenecen a los grupos principales del sistema periódico y que sean capaces de formar complejos, tales como magnesio y aluminio. La preparación de estos complejos metálicos tiene lugar de la manera usual.

20 Se pueden obtener un complejo metálico, por ejemplo, añadiendo el péptido y una sal metálica, hidróxido metálico u óxido metálico poco solubles, a un medio acuoso. El complejo metálico se puede obtener también añadiendo un medio alcalino a una solución acuosa del péptido y una sal metálica soluble, como resultado de lo cual se forma el complejo insoluble de péptido-hidróxido metálico.

25 El complejo metálico se puede obtener además añadiendo el péptido, una sal metálica soluble y otra sal soluble a un medio acuoso, preferiblemente alcalino, lo que

1 tiene como resultado la formación in situ de un complejo insoluble de péptido-sal metálica.

Los complejos metálicos se pueden usar inmediatamente como suspensiones, o, por ejemplo, se pueden liofilizar y volver a suspender más tarde.

La definición de A incluye los restos Met, desamino-Met, los correspondientes sulfóxido y sulfona de Met y desamino-Met, pero también el resto de aminoácido $H_2N-B-CO$, donde B es un resto alcohileno o alcohilideno ramificado o no ramificado con 1 a 6 átomos de carbono, y preferiblemente con 1 a 5 átomos de carbono. Los últimos restos aminoácido incluyen preferiblemente los restos de α -aminoácido natural Gli, Ala, Val, Leu e Ile, pero también pueden incluir otros restos tales como β -Ala ó (α -Me)Ala.

15 Los restos de aminoácido $HN-CHR_1-CO$ y $HN-CHR_2-CO$ de los péptidos según la invención representan los mismos o diferentes restos de α -aminoácido alifático. Los restos de aminoácido preferidos en este contexto son aquellos en los que R_1 y R_2 representan hidrógeno o alcoholo (1-4 C), y especialmente los restos de aminoácido natural Gli, Val, Leu, Ile y especialmente Ala.

25 El resto Q de α -amino, definido como $HN-CHR-CO$, en los péptidos de la invención, abarca preferiblemente los aminoácidos naturales Ala, Val, Leu, Ile, Tir, Trp y Fen. Se prefieren los restos de aminoácido Fen, Leu, y aquellos restos en los que R representa un grupo alcoholo inferior (1-4 C) especialmente Ala ($R = CH_3$).

Los ésteres de los péptidos de la invención se derivan preferiblemente de alcoholes de 1 a 8 átomos de carbono, y especialmente de 1 a 4 átomos de carbono, tales co-

1 no metanol, etanol, propanol y butanol, y se pueden prepara-
rar por esterificación del péptido final o por esterifica-
ción del aminoácido de partida en cuestión, con lo que el
resto de éster puede servir como grupo protector durante
5 la síntesis del péptido.

Las amidas se preparan de manera similar, por
aminólisis del éster final o empezando la síntesis del pép-
tido a partir de la amida del aminoácido en cuestión.

10 Los péptidos según la fórmula general I que se
prefieren son aquellos péptidos en los que R_1 y R_2 repre-
sentan grupos idénticos, por ejemplo metilo (teniendo como
resultado el resto de aminoácido Ala), isopropilo (teniendo
como resultado el resto de aminoácido Val), o 2-metilpropi-
lo (teniendo como resultado el resto de aminoácido Leu).

15 "A" en la fórmula general I es preferiblemente
L-Met o desamino-Met, o los sulfóxidos o sulfonas derivados
de estos dos restos ácidos.

20 El símbolo "Q" de la fórmula general I represen-
ta preferiblemente uno de los restos de aminoácido L-Fen o
L-Ala.

25 El símbolo "Z" de la fórmula general I es prefe-
riblemente el resto de aminoácido L-Fen-OH, u opcionalmen-
te el resto de péptido L-Fen-Gli-OH, aunque esta última op-
ción representa un aumento de la longitud de cadena sin au-
mento adicional en la actividad.

En el contexto de la invención de que aquí se
trata, se prefieren particularmente los péptidos siguientes:

H-L-Met-L-Ala-L-Ala-L-Fen-D-Lis-L-Fen-OH,

H-L-Met(O)-L-Ala-L-Ala-L-Fen-D-Lis-L-Fen-OH,

H-L-Met(O₂)-L-Ala-L-Ala-L-Fen-D-Lis-L-Fen-OH,

H-Met-L-Ala-L-Ala-L-Ala-D-Lis-L-Fen-Gli-OH,
 H-L-Met(O)-L-Ala-L-Ala-L-Ala-D-Lis-L-Fen-Gli-OH,
 H-L-Met(O₂)-L-Ala-L-Ala-L-Ala-D-Lis-L-Fen-OH,
 desamino-Met-L-Ala-L-Ala-L-Fen-D-Lis-L-Fen-OH,
 desamino-Met(O₂)-L-Ala-L-Ala-L-Fen-D-Lis-L-Fen-OH,
 desamino-Met(O)-Ala-L-Ala-L-Fen-D-Lis-L-Fen-Gli-OH.

Las observaciones siguientes se hacen respecto a los ejemplos que siguen.

- I. Si no se da configuración óptica, se quiere decir la forma L.
- II. Se han asignado las siguientes abreviaturas a los grupos protectores y activadores usados:

Boc	=	terc-butiloxicarbonilo
tBu	=	butilo terciario
Me	=	metilo
ONF	=	p-nitrofeniloxi
Bcl	=	bencilo
ONB	=	nitrobenciloxi
OSu	=	succinimido-N-oxi
Z	=	benciloxicarbonilo

- III. Se han asignado las siguientes abreviaturas a los disolventes o reactivos usados:

Bc	=	benceno
To	=	tolueno
EtOH	=	etanol
Bu	=	butanol
Pi	=	piridina
Ac	=	ácido acético
EtOAc	=	acetato de etilo
Fo	=	ácido fórmico

1	Am	= alcohol amílico
	iPro	= isopropanol
	DMF	= dimetilformamida
	THF	= tetrahidrofurano
5	DCCI	= dicitclohexilcarbodiimida
	DCHU	= dicitclohexilurea
	TAA	= trietilamina
	TFA	= ácido trifluoroacético
	Agua	= Agua
10	NEM	= N-etilmorfolina
	HOBT	= N-hidroxibenzotriazol

IV. Se han usado las siguientes abreviaturas para los grupos aminoácido:

	Met	= metionilo
15	Met(\rightarrow O)	= sulfóxido de metionilo
	Met(\rightarrow O ₂)	= sulfona de metionilo
	Fen	= fenilalanilo
	Tir	= tirosilo
	Lis	= lisilo
20	Trp	= triptofilo
	Gli	= glicilo
	Val	= valilo
	Leu	= leucilo
	Ala	= alanilo
25	Ile	= isoleucilo
	β -Ala	= β -alanilo
	(α -Me)Ala	= α -metilalanilo.

V. Se han usado las siguientes abreviaturas para los grupos semejantes a los restos aminoácido:

30	FPA	= N-(3-fenilpropil)-amino
----	-----	---------------------------

1	FEA	= N-(2-feniletíl)-amino
	HFEA	= N-(p-hidroxifeniletíl)-amino
	Anf	= N-(2-fenilisopropil)-amino, derivado de la anfetamina
5	Tra	= N-(β -indoliletíl)-amino, derivado de la triptamina
	Desamino-Met	= desaminometionilo
	Desamino-Met(\rightarrow O)	= sulfóxido de desaminometionilo (o 4-metilsulfinilbutirilo)
10	Desamino-Met(\rightarrow O ₂)	= sulfona de desaminometionilo (o 4-metilsulfonilbutirilo)

15

Preparación de los materiales de partida.

I. Parte de N terminal

1. Boc-Met-Ala-Ala-N₂H₃

(a) Boc-Ala-Ala-OMe: Se disuelven 20,79 g de Boc-Ala-OH en 150 ml de DMF. Tras enfriar a -10°C se añaden 15,84 ml de TAA, seguidos por 10,45 ml de cloroformiato de etilo. Se agita la totalidad durante 10 minutos a -10°C, tras lo cual se añade una solución de 13,9 g de H-Ala-OMe.HCl en 150 ml de DMF y 14,4 ml de TAA a la mezcla de reacción, y la totalidad se agita durante otros 15 minutos a -10°C, durante 2 horas a 0°C y finalmente durante 8 horas a temperatura ambiente. Tras enfriar a -10°C se separa el TAA.HCl por filtración, y el filtrado se evapora a sequedad. El residuo se disuelve en 250 ml de acetato de etilo y se lava consecutivamente

30

27087

1 con agua, HCl (0,05N), solución de K_2CO_3 (5%) y solución de NaCl (30%). Tras secar sobre Na_2SO_4 , el filtrado se evapora a sequedad, y el residuo se cristaliza con éter/éter de petróleo.

5 Rendimiento 19,3 g; punto de fusión 108/110°C

Rf en To:EtOH (8:2) = 0,50 sobre SiO_2 .

10 (b) H-Ala-Ala-OMe.HCl: se disuelven 18,75 g de Boc-Ala-Ala-OMe (de (a)) en 150 ml de cloruro de metileno, y se pasa HCl por la solución durante 45 minutos bajo enfriamiento constante en agua helada.

Rendimiento de producto desprotegido 14,3 g

Rf en To:EtOH (8:2) = 0,01 sobre SiO_2

15 (c) Boc-Met-Ala-Ala-OMe: 15,8 g de Boc-Met- N_2H_3 , disueltos en 150 ml de DMF, se activan a -20°C con 28,0 ml de HCl 4,2N en THF y 8,10 ml de nitrito de isoamilo. Tras activar durante 20 minutos a -15°C, la solución se neutraliza con 14,5 ml de NEM, tras lo cual se añade una solución de 14,3 g de H-Ala-Ala-OMe.HCl (de (b)) en 75 ml de DMF y 1 eq. de NEM. Tras haber ajustado el pH a 7,2 con NEM, la mezcla de reacción se mantiene durante 20 48 horas a aproximadamente 4°C. Tras 48 horas se separa por filtración el NEM.HCl, y el filtrado se evapora a sequedad. El residuo se disuelve en 300 ml de acetato de etilo, tras lo cual se lava con agua, HCl 0,05N, 25 $NaHCO_3$ al 5%, y de nuevo con agua.

Tras secar sobre Na_2SO_4 , el filtrado se evapora a sequedad y el residuo se cristaliza con acetato de etilo/éter de petróleo (1:1).

Rendimiento 16,2 g; punto de fusión 128-129°C

Rf en To:EtOH (8:2) = 0,46 sobre SiO_2 .

- 1 (d) Boc-Met-Ala-Ala-N₂H₃: se disuelven 15,9 g de Boc-Met-
 -Ala-Ala-OMe (de (c)) en 160 ml de metanol, y se añaden
 16,0 ml de hidrato de hidrazina. Tras agitar durante
 3,5 horas se añaden 200 ml de éter seco. Tras enfriar
 5 a 0°C la sustancia sólida se separa por filtración.

Rendimiento 12,6 g; punto de fusión 207-208°C

Rf en Am:iPro:Agua (10:4:5) = 0,41 sobre SiO₂

Los siguientes péptidos se preparan de manera análoga a la
 indicada en I.1:

- 10 2. Boc-Ala-Ala-Ala-N₂H₃;
 Rf en Am:iPro:agua (10:4:5) = 0,44
3. Boc-Val-Ala-Ala-N₂H₃;
 Rf en Am:iPro:agua (10:4:5) = 0,40
4. Boc-Ala-Leu-Leu-N₂H₃;
 15 Rf en Am:iPro:agua (10:4:5) = 0,38
5. Boc-Met-Ala-Leu-N₂H₃;
 Rf en Am:iPro:agua (10:4:5) = 0,39
6. Boc-Met-Val-Val-N₂H₃;
 Rf en Am:iPro:agua (10:4:5) = 0,38
- 20 7. Boc-Met(O₂)-Ala-Ala-N₂H₃;
 Rf en Am:iPro:agua (10:4:5) = 0,30
8. Desamino-Met-Ala-Ala-N₂H₃;
 Rf en Am:iPro:agua (10:4:5) = 0,34
9. Desamino-Met-(O₂)-Ala-Ala-N₂H₃; =
 25 Rf en Am:iPro:agua (10:4:5) = 0,23

II. Parte de C terminal

1. Síntesis de H-Fen-D-Lis(Boc)-Fen-OtBu

(1) Z-D-Lis(Boc)-Fen-OtBu

30 Se disuelven 10,03 g de Z-D-Lis(Boc)-ONF en 50 ml de
 DMF, y la solución, tras enfriar a -20°C, se añade a

1 una solución de 4,1 g de H-Fen-OtBu en 75 ml de DMF.
Tras agitar durante 1 hora a 0°C y otras 20 horas a
20°C, la mezcla de reacción se evapora a sequedad. El
residuo amarillo se disuelve en acetato de etilo-agua
5 y se lava con carbonato potásico al 5%, agua, ácido cí-
trico al 5% y de nuevo con agua. La fase orgánica se
seca y se evapora a sequedad. El residuo se disuelve en
acetato de etilo y luego se añade éter de petróleo (40-
60) hasta que la solución se hace turbia. El precipita-
do resultante se separa subsiguientemente por filtra-
ción.

Rf en To:EtOH (9:1) = 0,63 (SiO₂)

(2) H-D-Lis(Boc)-Fen-OtBu

3 g del dipéptido se disuelven en 60 ml de metanol.
15 Tras adición de paladio al 10% en carbón orgánico, se
pasa hidrógeno hasta que cesa el desprendimiento de CO₂
(2 horas). Tras filtración sobre hyflo, el filtrado se
evapora a sequedad, dando como resultado una espuma.

Rf en To:EtOH (9:1) = 0,21 (SiO₂)

20 (3) Z-Fen-D-Lis(Boc)-Fen-OtBu

2,18 g de Z-Fen-ONE se disuelven en 15 ml de DMF. Tras
adición de una solución de 2,24 g de H-D-Lis(Boc)-Fen-
-OtBu (de 2) en 30 ml de DMF, la totalidad se agita du-
rante 15 horas a 20°C.

25 Tras evaporar la solución amarilla a sequedad,
el residuo se disuelve en 15 ml de acetato de etilo,
tras lo cual se añaden 50 ml de éter de petróleo. Sub-
siguientemente se deja que la mezcla repose durante 8
horas a 0°C, tras lo cual el precipitado formado se se-
para por filtración. Punto de fusión 135-138°C.

1 (4) H-Fen-D-Lis(Boc)-Fen-OtBu

2,5 g del tripéptido obtenido en (3) se hidrogenan de la manera descrita en (2).

Rf en To:EtOH (8:2) = 0,38 (SiO₂).

5 2. H-Leu-D-Lis(Boc)-Fen-OtBu

(1) Z-Leu-D-Lis(Boc)-Fen-OtBu

Se disuelve Z-Leu-ONF (3,2 g) en 40 ml de DMF. Luego se añaden a la solución 3,6 g de H-D-Lis(Boc)-Fen-OtBu, tras lo cual la mezcla se agita durante 20 horas a temperatura ambiente. Tras evaporación de la mezcla de reacción a sequedad, el residuo se disuelve en 100 ml de acetato de etilo, y la solución resultante se lava con solución de K₂CO₃ al 10%, solución de NaCl al 30% y de nuevo con solución de ácido cítrico al 30% y de nuevo con solución de NaCl al 30%. Luego se seca la solución en acetato de etilo, y se reduce de volumen por evaporación, tras lo cual se añade éter de petróleo al concentrado. El precipitado formado se separa por filtración. Punto de fusión 102-105°C.

10

15

20

Rendimiento 4,8 g.

(2) H-Leu-D-Lis(Boc)-Fen-OtBu

El tripéptido obtenido en (1) se hidrogena con Pd/C (10%) como catalizador, de la manera descrita en

25

II.1.2.

Rf en To:EtOH (8:2) = 0,41 sobre SiO₂

3. H-Ala-D-Lis(Boc)-Fen-OtBu

Se copulan 2,8 g de Z-Ala-ONF con 3,6 g de H-D-Lis(Boc)-Fen-OtBu, de manera análoga a la descrita en 2, y el tripéptido protegido resultante se hidrogena luego.

30

Rf en To:EtOH (8:2) = 0,37 sobre SiO₂.

4. H-Leu-D-Lis(Boc)-Tra

1. Z-Leu-D-Lis(Boc)-Tra

Se obtiene Z-Leu-D-Lis(Boc)-Tra de la manera descrita en II.1.3., partiendo de 3,1 g de Z-Leu-ONF y 3 g de H-D-Lis(Boc)-Tra (preparado a partir de Z-D-Lis(Boc)-Tra). Rendimiento 65%;

Rf en To:EtOH (8:2) = 0,72 sobre SiO₂.

2. H-Leu-D-Lis(Boc)-Tra

2 g del péptido (de 1) se disuelven en 25 ml de metanol y se hidrogenan en presencia de paladio al 10% sobre carbón orgánico, de la manera descrita en II.1.2. La evaporación a sequedad da una espuma. Rendimiento 95%.

Rf en To:EtOH (8:2) = 0,47 (SiO₂).

5. H-Pen-D-Lis(Boc)-Tra

Análogo a 4. Rf en To:EtOH (8:2) = 0,33

6. H-Ala-D-Lis(Boc)-Tra

Análogo a 4. Rf en To:EtOH (8:2) = 0,35

7. H-Tir-D-Lis(Boc)-Tra

— Análogo a 4. Rf en To:EtOH (8:2) = 0,24

8. H-Leu-D-Lis(Boc)-Trp-OMe; H-Leu-D-Lis(Boc)-Trp-OH

1. Z-Leu-D-Lis(Boc)-Trp-OMe

Se disuelven 5,57 g de Z-Leu-OH en 50 ml de DMF, tras enfriar la solución a 0°C se añaden 3,0 ml de TAA y 2,0 ml de cloroformiato de etilo. La mezcla de reacción se agita durante 15 minutos, tras lo cual se añaden 8,64 g de H-D-Lis(Boc)-Trp-OMe en 50 ml de DMF a -10°C, y la mezcla se agita a esta temperatura durante 30 minutos. Tras agitar durante otras 2 horas a

1 0°C, y subsiguientemente durante aproximadamente 5 ho-
ras a temperatura ambiente, la mezcla se filtra y el
filtrado se evapora a sequedad. Luego se disuelve el
residuo en acetato de etilo, y la solución resultan-
5 te se lava consecutivamente con agua, solución de
NaHCO₃ al 5%, agua, HCl 0,1N y solución de NaCl al
30%.

Luego se seca la solución y se evapora a se-
quedad (aceite).

10 Rf en To:EtOH (9:1) = 0,41 sobre SiO₂. Rendi-
miento 10,5 g.

2. Z-Leu-D-Lis(Boc)-Trp-OH

15 El éster tripéptido de 1 (5 g) se disuelve en 100 ml
de dioxano, tras lo cual se añaden 15,3 ml de NaOH
0,94N. La mezcla de reacción se agita durante 2 ho-
ras a temperatura ambiente, y luego se acidifica a
pH 7 con HCl 2N. Subsiguientemente se elimina el dioxano por evaporación y se añade el residuo acetato
20 de etilo/agua. La mezcla (capa acuosa) se hace lue-
go ácida (pH 2) sin separar las capas. La fase orgá-
nica se lava con solución de NaCl al 10%, y luego se
seca. La eliminación del disolvente por destilación
da una espuma.

25 Rf en To:EtOH(8: 2) = 0,38 sobre SiO₂. Rendi-
miento 3,8 g.

3. H-Leu-D-Lis(Boc)-Trp-OH

3,15 g del tripéptido obtenido en 2 se disuelven en
50 ml de DMF y 1,67 ml de HCl 4N. Luego se añaden
50 mg de Pd/C (10%) a la solución, y se pasa hidróge-
no a través de ella durante 4 horas. Luego se separa

1 el catalizador por filtración, y el filtrado se evapora a sequedad (aceite). Rf en To:EtOH (9:1) = 0,10 sobre SiO₂.

4. H-Leu-D-Lis(Boc)-Trp-OMe

5 El éster péptido de 1 se hidrogena de manera análoga a la descrita en 3, dando como resultado un aceite.

Rf en Am:Pi:agua (5:3:2) = 0,29 sobre SiO₂.

9. Preparación de H-Leu-D-Lis(Boc)-fenilalcohilamidas

1. Z-D-Lis(Boc)-FPA

10 10,33 g (20,6 mmoles) de Z-D-Lis(Boc)-ONF se disuelven en 80 ml de cloruro de metileno a aproximadamente 0°C. Luego se añaden a esta solución 2,7 g de 3-fenilpropilamina, tras lo cual la mezcla se agita durante 1,5 horas a 0°C y durante otras 18 horas a temperatura ambiente. El disolvente se elimina por evaporación, y el residuo se disuelve en 200 ml de acetato de etilo. La solución en acetato de etilo se lava ahora consecutivamente con solución de carbonato sódico (10%), solución de NaCl (30%), HCl 0,1N y una solución de NaCl al 30%, tras lo cual la capa de acetato de etilo se seca y reduce por evaporación hasta un volumen de aproximadamente 80 ml. Luego se añade el éter suficiente para causar turbidez, y la mezcla se pone en un refrigerador. El precipitado formado se separa por filtración tras 2 horas.

25 Rf en Bc:EtOH (9:1) = 0,50 sobre SiO₂

2. H-D-Lis(Boc)-FPA

30 8,75 g del compuesto obtenido en 1 se disuelven en 120 ml de metanol a los que se han añadido 1,2 g de paladio al 10%-carbón orgánico. Luego se pasa hidróge

1 no con agitación durante 3,5 horas, tras lo cual el
catalizador se separa por filtración. La evaporación
del filtrado a sequedad tiene como resultado un acei-
te casi incoloro, que se usa inmediatamente para
5 otras reacciones.

Rf en Am:Fo:agua (7:2:1) = 0,54 sobre SiO₂

3. Z-Leu-D-Lis(Boc)-FPA

6,39 g del derivado de aminoácido protegido obtenido
en 2 se disuelven en 68 ml de dimetilformamida, y se
10 añade una solución de 7,0 g de Z-Leu-ONF en 20 ml de
dimetilformamida. La mezcla se agita a temperatura
ambiente durante 20 horas, tras lo cual el disolven-
te se elimina por evaporación bajo vacío. El residuo
se disuelve en 170 ml de acetato de etilo, y se lava
15 consecutivamente con solución de carbonato potásico
al 5%, solución de NaCl al 30%, HCl 0,1N, y solución
de NaCl al 30%. Luego se seca la capa de acetato de
etilo sobre Na₂SO₄, y se evapora a sequedad.

Rf en Bc:EtOH (8:2) = 0,64 sobre SiO₂

20 4. H-Leu-D-Lis(Boc)-FPA

9,0 g del derivado péptido obtenido en 3 se disuelven
en 300 ml de dimetilformamida a los que se han añadi-
do 4 ml de HCl 4N y 1,5 g de paladio al 10%-carbón
vegetal. Luego se pasa hidrógeno durante 3,5 horas
25 con agitación, tras lo cual se separa el catalizador
por filtración, y el filtrado se evapora a sequedad,
dando un aceite casi incoloro.

Rf en Bu:Ac:agua (4:1:1) = 0,55 sobre SiO₂.

5. Lo siguiente se prepara de manera correspondiente:

1. H-Leu-D-Lis(Boc)-L-Anf

30

27087

Rf en To:EtOH (8:2) = 0,50 sobre SiO₂

2. H-Leu-D-Lis(Boc)-FEA

Rf en To:EtOH (8:2) = 0,42 sobre SiO₂

3. H-Leu-D-Lis(Boc)-HFEA

Rf en To:EtOH (8:2) = 0,34 sobre SiO₂

10. Síntesis de H-Fen-D-Lis(Boc)-Fen-Gli-OH

(a) Z-Fen-D-Lis(Boc)-OMe: 29,9 g de Z-Fen-OH y 14,8 g de HOBt se disuelven en 200 ml de DMF. Tras enfriar a -22°C se añade lo siguiente consecutivamente: una solución de 32,6 g de H-D-Lis(Boc)-OMe.HCl en 210 ml de DMF y 1 eq. de TAA, y una solución de 22,7 g de DCCI en 100 ml de DMF. Luego se agita la totalidad durante 15 minutos a -22°C, 2 horas a 0°C y aproximadamente 16 horas a temperatura ambiente. Tras enfriar, la DCHU formada se separa por filtración, y el filtrado se evapora a sequedad. El residuo se disuelve en acetato de etilo y se lava con agua, ácido cítrico al 5%, bicarbonato sódico al 5% y de nuevo con agua, tras lo cual la solución se evapora a sequedad y se cristaliza.

Rendimiento: 51,6 g; punto de fusión: 122-123°C.

(b) Z-Fen-D-Lis(Boc)-OH: 13,7 g de Z-Fen-D-Lis(Boc)-OMe de (a) se disuelven en 180 ml de dioxano/H₂O (9:1) y se añaden 15 ml de NaOH 2N. Luego se agita la totalidad durante 2 horas a temperatura ambiente, tras lo cual se ajusta el pH de la mezcla de reacción a 7 con HCl N. La mezcla de reacción se reduce subsiguientemente de volumen hasta aproximadamente 50 ml (exenta de dioxano) y se añaden 250 ml de acetato de etilo. La mezcla se lava con agua y se seca sobre Na₂SO₄. El Na₂SO₄ se separa por filtración, y el filtrado se evapora a sequedad.

1 El residuo se cristaliza con éter/éter de petróleo
(1:2).

Rendimiento: 11,3 g; punto de fusión 72/75°C

Rf en To:EtOH (8:2) = 0,12 sobre SiO₂ y en

5 Am:Pi:agua (5:3:2) = 0,69 sobre SiO₂

(c) Boc-Fen-Gli-OBcl: 1 eq. de NEM, seguido por una solu-
ción de 25,5 g de Boc-Fen-ONF en 100 ml de DMF, se aña-
den a una solución de 12,6 g de H-Gli-OBcl.HCl en 100
ml de DMF. Tras agitar durante la noche a temperatura
10 ambiente, la mezcla de reacción se evapora a sequedad.
El residuo se disuelve en 300 ml de acetato de etilo/
agua (5:1) y se lava con agua.

Tras secar sobre Na₂SO₄, el filtrado se reduce
por evaporación hasta un volumen de aproximadamente
15 100 ml, tras lo cual se añaden 50 ml de éter de petró-
leo y 250 ml de éter seco.

Rendimiento: 16,7 g; punto de fusión 126-127°C

Rf en To:EtOH (8:2) = 0,56 sobre SiO₂

(d) H-Fen-Gli-OBcl.HCl: se disuelven 8,25 g de Boc-Fen-Gli-
20 OBcl en 120 ml de cloruro de metileno, y se pasa HCl
gaseoso por la solución, con agitación y enfriamiento
(hielo/agua) durante 1 hora.

Tras 1 hora se corta el suministro de HCl y la
mezcla de reacción se evapora a sequedad.

25 Rendimiento: 6,98 g de un producto tipo espuma

Rf en To:EtOH (8:2) = 0,33 sobre SiO₂.

(e) Z-Fen-D-Lis(Boc)-Fen-Gli-OBcl: el método era análogo al
método descrito en (a). Reactivos necesarios: 9,25 g de
Z-Fen-D-Lis(Boc)-OH (de (b)), 2,92 g de HOBT, 6,98 g de
30 H-Fen-Gli-OBcl.HCl y 4,12 g de DCCI.

1 Cristalización con: acetato de etilo/éter de petróleo.
 Rendimiento: 12,0 g; punto de fusión 157-159°C.
 Rf en To:EtOH (8:2) = 0,39 sobre SiO₂.

5 (f) H-Fen-D-Lis(Boc)-Fen-Gli-OH: 4,11 g de Z-Fen-D-Lis(Boc)-
 -Fen-Gli-OBcl se disuelven en 75 ml de DMF. Tras adición de Pd/C se pasa hidrógeno durante 3 horas. El catalizador se separa por filtración sobre hyflo/amianto, y el filtrado se evapora a sequedad.
 Rendimiento: 2,9 g.

10 Rf en Bu:Pi:Ac:agua (4:0,75:0,25:1) = 0,46 sobre SiO₂.

Los siguientes péptidos se preparan de manera análoga a la descrita en el ejemplo anterior:

11. H-Trp-D-Lis(Boc)-Fen-Gli-OH;

Rf en Bu:Pi:Ac:agua (4:0,75:0,25:1) = 0,52 sobre SiO₂

15 12. H-Leu-D-Lis(Boc)-Fen-Gli-OH;

Rf en Bu:Pi:Ac:agua (4:0,75:0,25:1) = 0,40 sobre SiO₂

13. H-Val-D-Lis(Boc)-Fen-Gli-OH;

Rf en Bu:Pi:Ac:agua (4:0,75:0,25:1) = 0,42 sobre SiO₂

14. H-Ala-D-Lis(Boc)-Fen-Gli-OH;

20 Rf en Bu:Pi:Ac:agua (4:0,75:0,25:1) = 0,37 sobre SiO₂

15. H-Tir-D-Lis(Boc)-Fen-Gli-OH;

Rf en Bu:Pi:Ac:agua (4:0,75:0,25:1) = 0,48 sobre SiO₂

Ejemplo I

25

H-Met-Ala-Ala-Ala-D-Lis-Fen-Gli-OH

(a) Boc-Met-Ala-Ala-Ala-D-Lis(Boc)-Fen-Gli-OH (I.1 + II.14)

Se disuelven 1,62 g de Boc-Met-Ala-Ala-N₂H₃ en 20 ml de DMF. Tras enfriar hasta -20°C se añaden 1,68 ml de HCl 4,74N/THF, seguidos por 0,60 ml de nitrito de iso-

30

1 amilo, y la totalidad se agita durante 20 minutos a -15°C ;
tras lo cual se añaden 0,6 ml de NEM seguidos por una
solución de 2,3 g de H-Ala-D-Lis(Boc)-Phe-Gli-OH en 20
ml de DMF, y 1,68 ml de HCl 4,74N/THF. El pH de la mez-
5 cla de reacción se ajusta a 7,2 con NEM, tras lo cual
la mezcla de reacción se mantiene durante 2 días a apro-
ximadamente 4°C . Luego se separa por filtración el NEM
.HCl, y el filtrado se evapora a sequedad. El residuo
se disuelve en 125 ml de sec-butanol/ CHCl_3 (2:3) y 25
10 ml de H_2O , y la solución resultante se lava consecuti-
vamente con agua, solución de ácido cítrico al 5% y de
nuevo con agua. Tras secar sobre Na_2SO_4 , el filtrado se
evapora a sequedad. El residuo se disuelve en 40 ml de
metanol a los que se añaden luego 160 ml de agua, tras
15 lo cual la sustancia sólida se separa por filtración y
se seca. Rendimiento 2,6 g;
Rf en Bu:Pi:Ac:agua (4:0,75:0,25:1) = 0,62 sobre SiO_2 ;
Punto de fusión $202-203^{\circ}\text{C}$ (desc.)

(b) H-Met-Ala-Ala-Ala-D-Lis-Phe-Gli-OH.acetato

20 2,6 g del péptido obtenido en (a) se disuelven en 26 ml
de TFA al 90%. Tras agitar durante 45 minutos a tempe-
ratura ambiente bajo atmósfera de nitrógeno, la solu-
ción se añade gota a gota a 250 ml de éter seco. El pre-
cipitado formado se separa por filtración y se seca,
25 tras lo cual la sustancia sólida se disuelve en 40 ml
de terc-butanol/agua (1:1), y la solución resultante se
agita con una resina intercambiadora de iones en forma
de acetato. Tras agitar durante 30 minutos, la resina
intercambiadora de iones se separa por filtración, y el
30 filtrado se evapora a sequedad. Luego se somete el re-

1 siduo a purificación mediante distribución en contracorriente; rendimiento 78%.
 Rf en Bu:Pi:Ac:agua (4:0,75:0,25:1) = 0,25 sobre SiO₂.

5

Ejemplo II

Los siguientes péptidos se preparan como sus sales acetato, de manera correspondiente a la descrita en el Ejemplo I:

- | | | |
|-------|--|---------------|
| 10 | 1. H-Met-Ala-Ala-Fen-D-Lis-Fen-Gli-OH | (I.1 + II.10) |
| | Rf = 0,24 | |
| | 2. H-Met-Ala-Ala-Trp-D-Lis-Fen-Gli-OH | (I.1 + II.11) |
| | Rf = 0,27 | |
| | 3. H-Met-Ala-Ala-Leu-D-Lis-Fen-Gli-OH | (I.1 + II.12) |
| 15 | Rf = 0,22 | |
| | 4. H-Met-Ala-Ala-Val-D-Lis-Fen-Gli-OH | (I.1 + II.13) |
| | Rf = 0,18 | |
| | 5. H-Met-Ala-Ala-Tir-D-Lis-Fen-Gli-OH | (I.1 + II.15) |
| | Rf = 0,23 | |
| 20 | 6. H-Ala-Ala-Ala-Fen-D-Lis-Fen-Gli-OH | (I.2 + II.10) |
| | Rf = 0,21 | |
| | 7. H-Val-Ala-Ala-Fen-D-Lis-Fen-Gli-OH | (I.3 + II.10) |
| | Rf = 0,26 | |
| | 8. H-Ala-Ala-Ala-Ala-D-Lis-Fen-Gli-OH | (I.2 + II.14) |
| 25 | Rf = 0,20 | |
| | 9. H-Ala-Leu-Leu-Leu-D-Lis-Fen-Gli-OH | (I.4 + II.12) |
| | Rf = 0,19 | |
| | 10. H-Met-Ala-Leu-Fen-D-Lis-Fen-Gli-OH | (I.5 + II.10) |
| | Rf = 0,18 | |
| 30 | 11. H-Met-Val-Val-Fen-D-Lis-Fen-Gli-OH | (I.6 + II.10) |
| 27087 | Rf = 0,22 | |

- 1 12. H-Met(O₂)-Ala-Ala-Fen-D-Lis-Fen-Gli-OH (I.7 + II.10)
Rf = 0,16
13. desamino-Met-Ala-Ala-Fen-D-Lis-Fen-Gli-OH (I.8 + II.10)
Rf = 0,36
- 5 14. desamino-Met-(O₂)-Ala-Ala-Fen-D-Lis-Gli-OH
Rf = 0,28

Ejemplo III

10 Los siguientes péptidos se preparan como sus sales acetato, de manera correspondiente a la descrita en el Ejemplo I:

1. H-Met-Ala-Ala-Fen-D-Lis-Fen-OH (I.1 + II.1)
Rf = 0,27
- 15 2. H-Met-Ala-Ala-Leu-D-Lis-Fen-OH (I.1 + II.2)
Rf = 0,28
3. H-Met(O₂)-Ala-Ala-Ala-D-Lis-Fen-OH (I.7 + II.3)
Rf = 0,18
4. H-Met(O₂)-Ala-Ala-Leu-D-Lis-Tra (I.7 + II.4)
Rf = 0,11
- 20 5. desamino-Met-Ala-Ala-Fen-D-Lis-Tra (I.8 + II.5)
Rf = 0,14
6. desamino-Met(O₂)-Ala-Ala-Ala-D-Lis-Tra (I.9 + II.6)
Rf = 0,18
- 25 7. H-Met-Ala-Leu-Tir-D-Lis-Tra (I.5 + II.7)
Rf = 0,17
8. H-Met-Ala-Ala-Leu-D-Lis-Trp-OMe (I.1 + II.8)
Rf = 0,31
9. H-Met-Ala-Ala-Leu-D-Lis-Trp-OH (I.1 + II.8.3)
Rf = 0,18
- 30

- 1 10. H-Met-Ala-Ala-Leu-D-Lis-FPA (I.1 + II.9,4)
Rf = 0,22
11. H-Met-Ala-Ala-Leu-D-Lis-L-Anf (I.1 + II.9.5.1)
Rf = 0,24
- 5 12. H-Met-Ala-Ala-Leu-D-Lis-FEA (I.1 + II.9.5.2)
Rf = 0,21
13. H-Met-Ala-Ala-Leu-D-Lis-HFEA (I.1 + II.9.5.3)
Rf = 0,26
- 10 14. H-Met(O₂)-Ala-Ala-Fen-D-Lis-Fen-OH (I.7 + II.1)
Rf = 0,19
- 15 15. H-Ala-Leu-Leu-Fen-D-Lis-Fen-OH (I.4 + II.1)
Rf = 0,32
16. desamino-Met-Ala-Ala-Fen-D-Lis-Fen-OH (I.8 + II.1)
Rf = 0,35

A no ser que se indique otra cosa, los valores de Rf dados en los ejemplos II y III son para el eluyente Bu: Pi:Ac:agua (4:0,75:0,25:1) sobre SiO₂.

20

Ejemplo IVSulfóxidos

25 Se disuelven 0,06 mmoles del péptido en 5 ml de ácido acético, y se añaden 15 µl de peróxido de hidrógeno al 30% a la solución, que luego se agita durante 1 hora a temperatura ambiente. Luego se añade una suspensión de 20 mg de negro de platino en 2,5 ml de ácido acético glacial. La mezcla se agita durante 30 minutos, tras lo cual se filtra. El filtrado se evapora a sequedad bajo vacío, y el residuo se añade a 10 ml de terc-butanol/agua. Luego se lio-

30

1 filiza la mezcla. Los acetatos de los siguientes péptidos se preparan de esta manera:

1. H-Met(O)-Ala-Ala-Ala-D-Lis-Fen-Gli-OH

Rf = 0,12

5 2. H-Met(O)-Ala-Ala-Fen-D-Lis-Fen-Gli-OH

Rf = 0,10

3. H-Met(O)-Ala-Leu-Fen-D-Lis-Fen-Gli-OH

Rf = 0,11

4. desamino-Met(O)-Ala-Ala-Fen-D-Lis-Fen-Gli-OH

10 Rf = 0,26

5. H-Met(O)-Ala-Ala-Fen-D-Lis-Fen-OH

Rf = 0,13

6. desamino-Met(O)-Ala-Ala-Fen-D-Lis-Tra

Rf = 0,15

15 7. H-Met(O)-Ala-Ala-Leu-D-Lis-FPA

Rf = 0,08

8. desamino-Met(O)-Ala-Ala-Fen-D-Lis-Fen-OH

Rf = 0,19

9. H-Met(O)-Ala-Ala-Leu-D-Lis-Trp-OMe

20 Rf = 0,21

Los valores de Rf dados son para Bu:Pi:Ac:agua (4:0,75:0,25:1) sobre SiO₂.

Ejemplo V

25

Sulfonas

0,2 mmoles del péptido se disuelven en una mezcla de 0,5 ml de agua, 0,1 ml de ácido perclórico 4N y 0,02 ml de molibdato amónico 0,5M, tras lo cual se añaden a esta mezcla 0,06 ml de peróxido de hidrógeno al 30%. La mezcla

30

27087

1 se agita durante 2 horas a una temperatura de aproximada-
mente 10°C, tras lo cual se diluye con 25 ml de terc-buta-
nol/agua. Luego se añade una resina intercambiadora de io-
nes (Dowex X-8 en forma de acetato) a la mezcla, que se
5 agita durante 30 minutos. La mezcla se filtra subsiguiente-
mente, y el filtrado se liofiliza.

Los siguientes acetatos se preparan de esta mane-
ra:

1. H-Met(O₂)-Ala-Ala-Fen-D-Lis-Fen-Gli-OH

10 Rf = 0,18

2. H-Met(O₂)-Ala-Ala-Fen-D-Lis-Fen-OH

Rf = 0,20

3. desamino-Met(O₂)-Ala-Ala-Fen-D-Lis-Fen-OH

Rf = 0,23

15 Los valores de Rf dados son para Bu:Pi:Ac:agua (4:0,75:0,25:
1) sobre SiO₂.

Ejemplo VI

Complejos de cinc

20

1,5 ml de una solución de cloruro de cinc que
contiene 50 mg de cinc por ml, se añade a una solución de
31,5 mg de Na₂HPO₄.2H₂O en 30 ml de agua destilada. El pre-
cipitado de fosfato de cinc así formado se disuelve de nue-
25 vo por adición de HCl 4N, tras lo cual se añaden a la mez-
175 mg de NaCl y 0,5 g de alcohol bencílico. Luego se di-
suelven en esta mezcla 1,5 mg del hexapéptido H-Met-Ala-Ala-
-Fen-D-Lis-Fen-OH (ejemplo III.1), y se añade subsiguiente-
mente el hidróxido sódico N suficiente para ajustar el pH
30 de la mezcla a 8,5. Luego se lleva el volumen hasta 50 ml

- 1 con agua destilada.
- 1 ml de suspensión contiene: 30 µg de hexapéptido
- 1,5 mg de cinc
- 0,63 mg de $\text{Na}_2\text{HPO}_4 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$
- 5 3,5 mg de NaCl
- 10 mg de alcohol bencílico

Ejemplo VII

10 Preparación para inyección

péptido del ejemplo I	1,5 mg
NaCl	9,0 mg
metiloxibenzoato	1,2 mg
15 agua destilada exenta de pirógenos	1,0 mg

Ejemplo VIII

Cápsula

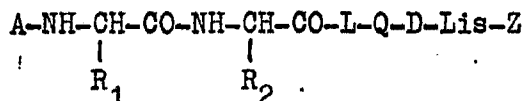
20 Cápsula de gelatina de envoltente dura, que contiene:

péptido del ejemplo III.14 (= Ej.V.2)	2,5 mg
estearato de magnesio	1,4 mg
povidona	5,5 mg
25 mannita	137,0 mg

REIVINDICACIONES

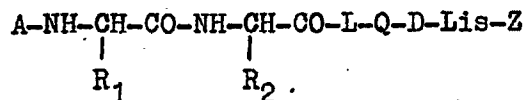
Los puntos de invención propia y nueva que se presentan para que sean objeto de esta solicitud de Patente de Invención, en España, por VEINTE años, son los que se recogen en las reivindicaciones siguientes:

1ª.- Procedimiento para la preparación de péptidos y derivados de péptido de fórmula general:



o un derivado funcional de los mismos, donde A representa H-(L o D)Met, H-(L ó D)Met(\rightarrow O), H-(L ó D)Met(\rightarrow O₂), desamino-Met, desamino-Met(\rightarrow O), desamino-Met(\rightarrow O₂), o el grupo H₂N-B-CO-, B representa un grupo alcoholeno (C₁-C₆) o alcoholideno (C₁-C₆) de cadena ramificada o recta, Q representa el resto aminoácido -NH-CHR-CO-, R representa alcoholo (C₁-C₆), p-hidroxifenilmetilo, 3-indolilmetilo o fenilmetilo, R₁ y R₂ representa hidrógeno o un grupo alcoholo (1-6 C), y Z representa N-(fenilalcohol)-amino, N-(β -indolilalcohol)-amino, L-Trp-OH, L-Fen-OH, L-Trp-Gli-OH o L-Fen-Gli-OH, caracterizado porque el péptido o derivado de péptido se prepara de manera bien conocida en la química de los péptidos.

2ª.- Procedimiento según la reivindicación 1ª, caracterizado porque se desprotege un péptido protegido de fórmula:



o un derivado funcional del mismo, donde al menos el resto

1 de aminoácido Lis ha sido protegido con un grupo protector,
tras lo cual el péptido obtenido se puede convertir en un
derivado funcional del mismo.

5 3^a.- Procedimiento según la reivindicación 1^a o
2^a, donde el resto de aminoácido Q representa Fen o Ala.

4^a.- Procedimiento según la reivindicación 1^a o
2^a, donde A representa L-Met, L-Met(\rightarrow O), L-Met(O₂), desamino-Met,
desamino-Met(O) o desamino-Met(O₂).

10 5^a.- Procedimiento según la reivindicación 1^a o
2^a, donde R₁ y R₂ son ambos metilo.

6^a.- "PROCEDIMIENTO PARA LA PREPARACION DE PEPTIDOS Y DERIVADOS DE PEPTIDOS".

Tal y como se ha descrito en la Memoria que antecede, y para los fines que se han especificado.

15 Esta Memoria consta de treinta y cuatro hojas escritas a máquina por una sola cara.

Madrid, 14. SET. 1977

P.A.

Oscar de Elzaburu
Por honor.

20

25

30

27087
LBG

mte