



**SUOMI—FINLAND**  
**(FI)**

Patentti- ja rekisterihallitus  
Patent- och registerstyrelsen

**[B] (11) KUULUTUSJULKAISU**  
**UTLÄGGNINGSSKRIFT 67539**

C (45) Patentti myönnetty 10.04.1985  
Patent meddelat

(51) Kv.ik. / Int.Cl.<sup>3</sup> C 07 C 103/52, 129/12

(21) Patentihakemus — Patensöknings	800008
(22) Hakemispäivä — Ansökningsdag	02.01.80
(23) Aikupäivä — Giltighetsdag	02.01.80
(41) Tulut julkiseksi — Blivit offentlig	05.07.80
(44) Nähtävölkäpanon ja kuul.julkaisun pvm. — Ansökan utlagd och ut.skriften publicerad	31.12.84
(32)(33)(31) Pyydetty etuoikeus — Begärd prioritet	04.01.79
Unkari-Ungern(HU) G0-1435	

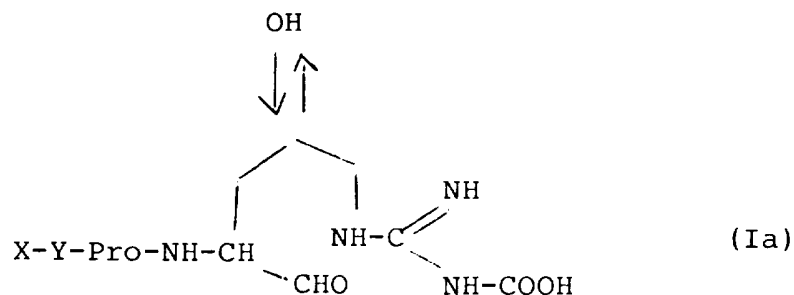
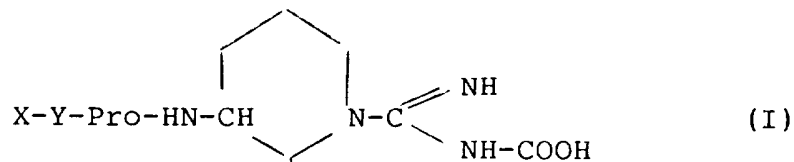
(71) Richter Gedeon Vegyészeti Gyár R.T., 19, Gyömröi u., Budapest X,  
Unkari-Ungern(HU)

(72) Sandor Bajusz, Budapest, Erzsebet Szell née Hasenöhr, Budapest,  
Eva Barabas, Budapest, Daniel Bagdy, Budapest, Unkari-Ungern(HU)

(74) Oy Kolster Ab

(54) Menetelmä uusien terapeuttisesti käytettävien peptidyli-N<sup>G</sup>-karboksyyli-arginiinaldehydien valmistamiseksi - Förfarande för framställning av nya terapeutiskt användbara peptidyl-N<sup>G</sup>-karboxyl-arginaldehyder

Keksintö koskee yleiskaavan I tai Ia mukaisten uusien terapeuttisesti käytettävien peptidyli-N<sup>G</sup>-karboksyyliarginiinaldehydien ja niiden farmaseuttisesti hyväksyttävien happoadditiosuolojen valmistusmenetelmää,



67539

jossa kaavassa

X on vetyatomi tai bentsoyyli- tai tert.-butyylioksidikarbonyyliryhmä, ja

Y on D-fenyylialaniini-,  $\beta$ -fenyyli-D-maitohappo- tai D-alloisoleusiinijäännös.

On yleisesti tunnettua, että peptidialdehydit, joilla on tietty rakenne, pystyvät toimimaan inhibiittoreina seriini- ja kysteinientsyymien proteolyttisissä reaktioissa. Entsyymien inhibointimekanismiksi oletetaan entsyymien reaktiivisen OH- tai SH-ryhmän ja peptidialdehydien -CH=O-ryhmän välinen additioreaktio, jossa muodostunut hemiasetaali on entsyymien ja substraatin välille syntyneen tetraedrisen siirtymäkompleksin "ei-tuottava" analogi.

(Westernik ja Wolfenden: J. Biol. Chem. 247 (1972), s. 8195). Tämän yhdisteryhmän ensimmäiset jäsenet olivat luonnossa esiintyvät leupeptiinit, so. asetyyli- ja propionyyli-L-leusyyli-L-leusyyli-arginiinialdehydihydrokloridit, joista molemmat pystyivät inhiboimaan plasmiinin, trypsiinin ja papaiinin (Kawamura et al.: Chem. Pharm. Bull. 17 (1969), s. 1902 ; H. Umezawa: Enzyme Inhibitors of Microbial Origin, University Park Press, Baltimore-London-Tokio, 1972, ss. 17-29). Muilla peptidyyliarginiinialdehydeilla, esim. bentsoyyli-D-allo-isoleusyyli-L-prolyyli-L-arginiinialdehydi-p-tolueenisulfonaatilla ja D-fenyylialaniinyli-L-prolyyli-L-arginiinialdehydillä, on havaittu huomattava trombiinin toimintaa estävä vaikutus (unkarilainen patentti 169870).

Leupeptiinien NMR-tutkimusten perusteella asyyliarginiinialdehydihydrokloridien on oletettu esiintyvän seoksina, joiden koostumus vaihtelee (Maeda et al., J. Antibiotics (Tokio) 24 (1971) 402; Kawamura et al., Chem. Pharm. Bull. 17 (1969) 1902). Asyyliarginiinialdehydihydrokloridin lisäksi seos sisältää kaksi muuta komponenttia: aldehydihydraattia ja syklistä karbinoliamiinia. Aldehydihydraatti ei voi suoraan osallistua hemiasetaalin muodostukseen eikä siten entsyymien inhibointiin (Westernik ja Wolfenden, J. Biol. Chem. 247 (1972) 8195). Äskettäin on havaittu, että edellä mainittujen synteettisten yhdisteiden aiheuttama entsyymien inhibointiteho ja esim. D-fenyylialaniinyli-L-prolyyli-L-arginiinialdehydiasetaatin ja -hydrokloridin aiheuttama trombiinin toimintaa estävän vaikutuksen teho vaihtelee ja että niiden teho vähenee niitä varastoitaessa liuoksessa (tris-(hydroksimetyyli)-metyyliamiinihydrokloridi purkuri-liuos, pH 7,4), mihin voi olla syynä aldehydihydraattipitoisuuden

jatkuva muuttuminen.

Käsillä olevan keksinnön tarkoituksena on kehittää uusi menetelmä peptidyliarginiinialdehydijohdannaisten valmistamiseksi, jotka yhdisteet ovat pysyvämpiä ja inhiboivat entsyymitoimintaa tehokkaammin kuin toistaiseksi saavutetut tulokset.

Havaittiin, että poistettaessa uretaanin kaltainen suojele-va ryhmä, esim. bentsyylioksidikarbonyyliryhmä neutraalissa olosuhteis- sa peptidyliarginiinialdehydeistä, muodostuu yleisen kaavan I mukaisia yhdisteitä, joissa X ja Y merkitsevät samaa kuin edellä. Esim. suoritettaessa bentsyylioksidikarbonyyli-D-fenyyli-alanyyli-L-pro-lyyli-N<sup>G</sup>-bentsyylioksidikarbonyyli-L-arginiinialdehydin (N<sup>G</sup> merkitsee arginiini-sivuketjun ω-asemassa olevaa typpiatomia) hydrogenolyysi neutraalissa olosuhteissa, muodostuu D-fenyyli-alanyyli-L-prolyyli-N<sup>G</sup>-kاربoksi-L-arginiinialdehydiä (yleiskaavassa I X on vetyatomi ja Y on D-fenyyli-alaniinijäännös), kun taas, kuten tunnettua hydrogeno-lysoitaessa emäksisissä olosuhteissa peptidyliarginiinialdehydeja, joissa suojaryhmänä on bentsyylioksidikarbonyyliryhmä, mitä seuraa suolanmuodostusreaktio, syntyy vapaita peptidyliarginiinialdehydi-suoloja. H-D-Phe-Pro-Arg-H-asetaatia tai -hydrokloridia saatiin tällä tavalla Z-D-Phe-Pro-Arg/Z/-H:sta (unkarilainen patentti 169870).

Aminohappojäännöksistä ja peptidijohdannaisista käytetyt lyhennykset ovat kirjallisuudessa virallisesti käytettyjä (J. Biol. Chem. 247 (1972) 977); Z, BOC ja Bz merkitsevät bentsyylioksidikarbo-nyyli-, tert.-butyylioksidikarbonyyli- ja bentsoyyliryhmiä, ja Arg(Z) ja Arg(COOH) merkitsevät N<sup>G</sup>-bentsyylioksidikarbonyyli- ja vastaavasti N<sup>G</sup>-kاربoksi-L-arginiinijäännöksiä.

Havaittiin edelleen, että yleiskaavan I mukaisten tripeptidi- aldehydijohdannaisten aiheuttama entsyymejä inhiboiva vaikutus on odottamattoman suuri ja pysyvä verrattuna vastaavan aminohapposarjan vapaisiin tripeptidialdehydisuoloihin. Täten H-D-Phe-Pro-Arg(COOH)-H:n antitrombiiniaktiivisuus on suurempi ja se estää tehokkaammin trombiinin ja fibrinogeenin välistä reaktiota kuin H-D-Phe-Pro-Arg-H- hydrokloridi tai -asetatti, joiden inhibointiaktiivisuus vaihtelee niiden synteesiolosuhteiden mukaan. Säilytettäessä yhdisteitä 20 tuntia puskuriliuoksessa (pH = 7,4) yleiskaavan I mukaisen N<sup>G</sup>-kar- boksitripeptidialdehydin antitrombiiniaktiivisuus pysyy käytännöllii- sesti katsoen muuttumattomana, kun taas vastaavien vapaiden tripep-

tidialdehydisuolojen antitrombiiniaktiivisuus laskee 10-20 %:iin alkuperäisestä arvosta.

Yleiskaavan I mukaisten  $N^G$ -karboksitripeptidialdehydien inhibointitehon havaittiin yllättäen nousevan protonoimalla ne osittain (suolanmuodostus). Täten D-fenyyli-alanyyli-L-prolyyli- $N^G$ -karboksi-L-arginiinialdehydin hemihydrokloridin aktiivisuus on viisinkertainen verrattuna vastaavaan yhdisteeseen, jossa suolahappoa ei ole mukana. Vaikka yleiskaavan I mukaisten  $N^G$ -karboksitripeptidialdehydien protonointi heikentää pysyvyyttä, niiden teho on kuitenkin suurempi kuin vastaavan aminohapposarjan vapaiden tripeptidialdehydisuolojen säilytettäessä niitä puskuriliuoksessa 20 tuntia.

Taulukossa 1 on esitetty D-fenyyli-alanyyli-L-prolyyli- $N^G$ -karboksi-L-arginiinialdehydin ja sen yleiskaavan I mukaisen hemihydrokloridin, jossa X on vetyatomi ja Y on D-fenyylialaniinijäännös, sekä vastaavan aminohapposarjan vapaan tripeptidialdehydin kahden suolan antitrombiiniaktiivisuus, aktiivisuuden muutos, kun liuoksia säilytetään tris-(hydroksimetyyli)-metyyliamiinihydrokloridipuskuriliuoksessa (pH = 7,4) ja suhteellinen aktiivisuus verrattuna H-D-Phe-Pro-Arg-(COOH)-H:oon (jälkimmäisen aktiivisuudelle on mielivaltaisesti annettu arvo 100). Antitrombiiniaktiivisuus on määriteltä sellaiseksi lääkemääräksi, joka tarvitaan fibrinogeenin trombiiniajan kymmenkertaistamiseksi (trombiiniaika: aika, joka tarvitaan trombiinin aiheuttamaan veren hyytymiseen).

Taulukko 1

Tripeptidialdehydijohdannaisten antitrombiiniaktiivisuus

Peptidijohdannainen Lääkemäärä, joka tarvitaan trombiiniajan kymmenkertaistamiseen peptidin liuettua

	Alussa		20 tuntia	
	µg/ml	(ra <sup>+</sup> )	µg/ml	(ra <sup>+</sup> )
H-D-Phe-Pro-Arg (COOH) -H	0,275	(100)	0,300	(92)
H-D-Phe-Pro-Arg (COOH) -H.O.5 HCl	0,050	(550)	0,350	(79)
H-D-Phe-Pro-Arg-H.2HC. <sup>a</sup>	0,35-0,95	(79-29)	6,0	(5)
H-D-Phe-Pro-Arg-H.2 CH <sub>3</sub> COOH <sup>a</sup>	0,37-1,25	(73-22)	6,2	(4)

ra<sup>+</sup> = suhteellinen aktiivisuus

a) Tuote, joka on valmistettu Z-D-Phe-Pro-Arg (Z) -H:sta hydrogenolysoimalla emäksisissä olosuhteissa, mitä on seurannut suolan muodostus.

Antitrombiiniaktiivisuus määritettiin seuraavasta mat-  
riisista:

0,5 % härän fibrinogeenia (0,2 ml) 0,9-%:isessa natrium-  
kloridiliuoksessa, peptidi tris-(hydroksimetyyli)-metyyliamiini-  
hydrokloridipuskuriliuoksessa (0,1 ml, pH = 7,4) ja ihmisen trom-  
biinia US-standardimateriaalina (0,1 ml) (NIH, Bethesda, Maryland,  
USA; 5 yksikköä/ml). Hyytymisaika ilman peptidiä kyseissä mat-  
riisissa on 15 s.

D-fenyylialanyyli-L-propyyli-N<sup>G</sup>-karboksyyli-L-argiinialde-  
hydillä (X on vetyatomi ja Y on D-fenyylialaniinijäännös yleiskaa-  
vassa I) suoritettiin kokeita elävässä elimistössä. Viidelle eläin-  
lajille (hiiri, rotta, kaniini, koira ja apina) suoritettut kokeet  
osoittivat, että antritrombiiniaktiivisuus kohosi selvästi myös  
elävässä elimistössä. Antritrombiiniaktiivisuus oli yhtä suuri an-  
nettaessa koeaine ruiskeena suoneen, lihakseen tai ihon alle sekä  
myös suun kautta annettuna. H-D-Phe-Pro-Arg(COOH)-H:n antitrombi-  
niaktiivisuus elävässä elimistössä määritettiin trombeoelastografil-  
la (Hellige, Wien, Itävalta) antamalla laitteessa oleville koirille  
suun kautta 50 mg/kg:n suuruisia annoksia, jolloin lääkeaine aiheut-  
ti trombiiniajan pitenemisen 4-6-kertaiseksi kahden tunnin aikana.  
Vastaavilla vapailla tripeptidialdehydisuoloilla, so. D-fenyyl-  
alanyyli-L-propyyli-L-argiinialdehydihydrokloridilla tai -asetaa-  
tilla, ei ollut käytännöllisesti katsoen mitään vaikutusta trom-  
biiniaikaan annettaessa suun kautta samanlaisia 50 mg/kg:n suurui-  
sia annoksia.

Yleiskaavan I tai Ia mukaisia uusia yhdisteitä valmistetaan  
tunnusomaisesti siten, että uretaanin kaltainen suojaryhmä, edulli-  
sesti bentsyylioksikarbonyyliryhmä, joka on poistettavissa hydro-  
genolyysillä vastaavasta peptidyyliarginiinialdehydistä, jossa  
uretaanin kaltainen suojaryhmä on läsnä guanidinoryhmän N<sup>G</sup>-ato-  
missa, poistetaan suorittamalla suojatulle peptidyyliarginiini-  
aldehydille hydrogenolyysi neutraaleissa olosuhteissa veden ja  
alemman alkanolin seoksessa, ja haluttaessa tuote muutetaan farma-  
seuttisesti hyväksyttäväksi happoadditiosuolaksi.

Käsillä olevan keksinnön mukaan L-argiinilaktaami, jonka

guanidiiniryhmään on liitetty suojaryhmäksi bentsyylioksidikarbonyyli-ryhmä, kondensoidaan edullisesti vastaavan N-asyylidipeptidin kanssa, muodostunut suojaryhmän sisältävä tripeptidilaktaami pelkistetään, ja guanidiiniryhmää suojaava bentsyylioksidikarbonyyliryhmä tai mahdollisesti muodostuneen tripeptidialdehydin sekä N-terminaalinen ryhmä että guanidiiniryhmä lohkaistaan hydrogenolyysin avulla etanolin ja veden seoksessa, minkä jälkeen etanoli haihdutetaan liuoksesta alennetussa paineessa ja vesiliuos kylmäkuivataan. Jäännös liuotetaan veteen, liuos kylmäkuivataan uudelleen, ja jäännökseen lisätään happoa vähemmän kuin yhden ekvivalentin verran.

Seuraavissa esimerkeissä kuvataan keksintöä tarkemmin.  $R_f$ -arvot määritettiin ohutkerroskromatografiaa käyttäen absorbentin ollessa silikageeli ("Kieselgel G", Reanal, Budabest) ja eluointiaineiden ollessa seuraavia seoksia:

1. etyyliasetaatti-pyridiini-etikkahappo-vesi  
480:20:6:11
2. etyyliasetaatti-pyridiini-etikkahappo-vesi  
240:20:6:11
3. etyyliasetaatti-pyridiini-etikkahappo-vesi  
60:20:6:11
4. etyyliasetaatti-pyridiini-etikkahappo-vesi  
30:20:6:11

#### Esimerkki 1

D-fenyyli-alanyyli-L-prolyyli- $N^G$ -karboksi-L-arginiinialdehydi  
(kaavassa I X on vetyatomi ja Y on D-fenyyli-alaniinijäännös)

Vaihe 1: Tert.-butyylioksidikarbonyyli- $N^G$ -bentsyylioksidikarbonyyli-L-arginiinilaktaami.

41,1 g (125 mmoolia) tert.-butyylioksidikarbonyyli-L-arginiinihydrokloridihydraattia (Yamashiro et al.: J. Am. Chem. Soc. 94 (1972) 2855) liuotetaan 125 ml:aan 4 N natriumhydroksidia, ja liuos jäädytetään  $-5^{\circ}\text{C}$  -  $0^{\circ}\text{C}$ :seen. Voimakkaasti sekoittaen lisätään liuokseen bentsyylioksidikarbonyylikloridia (75 ml, 500 mmoolia) ja 125 ml 4 N natriumhydroksidia sellaisella nopeudella, että pH ei missään vaiheessa ylitä arvoa 10. Sekoitusta jatketaan  $0^{\circ}\text{C}$ :ssa 1,5 tunnin ajan. Reaktioseokseen lisätään 100 ml vettä, se uutetaan kol-

me kertaa 100 ml:lla dietyylietteriä, jäädytetään jäähauteessa  $4^{\circ}\text{C} - 6^{\circ}\text{C}$ :seen ja pH säädetään arvoon 3 rikkihapolla (3 N), jota tarvitaan n. 130 ml. Erotettu tuote uutetaan kolme kertaa 250 ml:lla etyyliasettaattia. Etyyliasettaattiuutteet yhdistetään, pestään kahdesti 125 ml:lla 15-%:ista natriumkloridiliuosta, kuivataan natriumsulfaattilla, ja liuotin haihdutetaan alennetussa paineessa. Saanto: 37,5 g (76 % teoreettisesta saannosta) tert.-butyylioksi-karbonyyli- $\text{N}^{\text{G}}$ -bentsyylioksi-karbonyyli-L-arginiinia;  $R_f = 0,17-0,27$ .

Tuote liuotetaan 130 ml:aan tetrahydrofuraania. Liuokseen lisätään 13,58 ml (97 mmoolia) trietyyliamiinia, ja seos jäädytetään  $-10^{\circ}\text{C}$ :seen. Tässä lämpötilassa seosta samalla sekoittaen lisätään 12,8 ml (97 mmoolia) kloorimuurahaishapon isobutyyliesteriä, seosta sekoitetaan 5 min, ja sen jälkeen lisätään 13,6 ml (97,8 mmoolia) trietyyliamiinia. Reaktioseosta sekoitetaan edelleen yhden tunnin ajan  $0^{\circ}\text{C}$ :ssa, jäädytys lopetetaan, ja sekoitusta jatketaan yhden tunnin ajan, minkä jälkeen reaktioseos kaadetaan 600 ml:aan jään ja veden seosta, saostunut aines suodatetaan, pestään vedellä ja kuivataan  $\text{P}_2\text{O}_5$ :lla alipaineessa. Saanto: 32,7 g (91 % teoreettisesta määrästä, 70 % laskettuna BOC-Arg(HCl)-OH. $\text{H}_2\text{O}$ :lle) vaiheen 1 otsikon mukaista tuotetta;  $R_f = 0,85-0,95$ , sp. = 162-164 $^{\circ}\text{C}$ .

Vaihe 2: Bentsyylioksi-karbonyyli-D-fenyylialaniini-L-prolyyli- $\text{N}^{\text{G}}$ -bentsyylioksi-karbonyyli-L-arginiinilaktaami.

8,6 g (22 mmoolia) tert.-butyylioksi-karbonyyli- $\text{N}^{\text{G}}$ -bentsyylioksi-karbonyyli-L-arginiinilaktaamia (esimerkki 1, vaihe 1) suspendoidaan 20 ml:aan etyyliasettaattia, ja 40 ml 4 M HCl/etyyliasettaatti-liuosta lisätään  $5^{\circ}\text{C}$ :ssa suspensiota samalla sekoittaen. Reaktioseosta sekoitetaan 30 minuutin ajan jäädyttämällä sitä samanaikaisesti jäähauteessa, minkä jälkeen lisätään 100 ml kylmää etyyliasettaattia, muodostunut sakka suodatetaan, pestään etyyliasettaattilla ja kuivataan sakka suodatetaan, pestään etyyliasettaattilla ja kuivataan kaliumhydroksidilla alipaineessa. Näin saatu  $\text{N}^{\text{G}}$ -bentsyylioksi-karbonyyli-L-arginiinilaktaamihydrokloridi liuotetaan 20 ml:aan dimetyyliformamidia, jäädytetään  $-10^{\circ}\text{C}$ :seen ja yhdistetään 6,2 ml:aan (44 mmoolia) trietyyliamiinia. Syntynyt suspensio kaadetaan seuraavaan seka-anhydridiseokseen.

8 g (20 mmoolia) bentsyylioksi-karbonyyli-D-fenyylialaniini-L-proliinia (Nikolaides et al.: J. Med. Chem. 11 (1968) 74) liuotetaan 25 ml:aan dimetyyliformamidia, liuos jäädytetään  $-15^{\circ}\text{C}$ :seen, ja tässä lämpötilassa voimakkaasti sekoittaen lisätään 2,22 ml



(20 mmoolia) N-metyylimorfoliinia ja 2,64 ml (20 mmoolia) kloori-muurahaishapon isobutyyliesteriä. Seosta sekoitetaan 10 min, minkä jälkeen siihen lisätään myös edellä mainittu dimetyyliformamidisuspensio. Reaktioseoksen pH säädetään tarvittaessa arvoon 8-9 trietyyliamiinilla, ja sekoitusta jatketaan yhden tunnin ajan  $-15^{\circ}\text{C}$ :ssa ja edelleen tunnin ajan  $0^{\circ}\text{C}$ :ssa. Seokseen lisätään 50 ml bentseeniä, saostuneet suolat suodatetaan ja pestään kahdesti 20 ml:lla bentseeniä. Suodokseen lisätään 50 ml vettä, kerrokset erotetaan ja vesikerros uutetaan kolme kertaa 30 ml:lla 10 %:ista natriumkarbonaattiliuosta, kolme kertaa 30 ml:lla vettä, kahdesti 30 ml:lla 0,1 N suolahappoa ja lopuksi kahdesti 30 ml:lla vettä. Bentseeniliuos kuivataan natriumsulfaatilla, bentseeni haihdutetaan alipaineessa, jäännös sekoitetaan 30 ml:aan dietyylieetteriä, dietyylieetteri dekantoidaan, ja jäännös trituroidaan 30 ml:lla petrolieetteriä, suodatetaan, pestään petrolieetterillä ja kuivataan ilmassa. Saanto: 11,7 g (87 % teoreettisesta saannosta) vaiheen 2 otsikon mukaista yhdistettä;  $R_f^1 = 0,72-0,78$ .

Vaihe 3: Bentsyylioksikarbonyyli-D-fenyylialanyyli-L-prolyyli- $N^G$ -bentsyylioksikarbonyyli-L-arginiinaldehydi.

10,05 g (15 mmoolia) tripeptidilaktaamia, joka sisältää suojarahmian (esimerkki 1, vaihe 2), liuotetaan 45 ml:aan tetrahydrofuraania, ja  $-20^{\circ}\text{C}$ :ssa vaimakkaasti sekoittaen lisätään 11,25 mmoolia tetrahydrofuraaniin liuotettua litiumalumiinihydridiä (noin 28 ml noin 0,4 M liuosta). Reaktion kulkua seurataan ohutkerroskromatografian avulla (laktaamin  $R_f^1 = 0,72-0,78$ , ja aldehydin 0,32-0,40) ja tarvittaessa lisätään hydridiliuosta. Reaktion loputtua tetrahydrofuraaniliuoksen pH säädetään arvoon 2 lisäämällä varovasti 1 N suolahappoa, sen jälkeen liuokseen lisätään noin 100 ml vettä niin, että ei muodostu saostumaa, ja liuos uutetaan kahdesti 30 ml:lla n-heksaania. Vesipitoinen tetrahydrofuraaniliuos uutetaan kolme kertaa 75 ml:lla metyleenikloridia, yhdistetyt metyleenikloridiuutteet pestään ensin kolme kertaa 10 ml:lla 10 %:ista natriumkarbonaattiliuosta ja sen jälkeen kahdesti 10 ml:lla vettä. Metyleenikloridiliuos kuivataan natriumsulfaatilla, ja liuotin haihdutetaan alipaineessa. Jäännös liuotetaan 50 ml:aan bentseeniä, joka sen jälkeen haihdutetaan alipaineessa. Bentseeniliuotus ja haihdutus toistetaan. Jäännös trituroidaan dietyylieetterillä, suodatetaan, pestään dietyylieetterillä ja kuivataan ilmassa. Saanto: 7,3 g (72 % teoreettisesta saannosta) vaiheen 3 otsikon mukaista yhdis-

tettä;  $R_f^1 = 0,32-0,40$ , sp. =  $116-117^\circ\text{C}$ .

Vaihe 4: D-fenyylialanyyli-L-prolyyli- $\text{N}^G$ -karboksi-L-arginiinialdehydi.

6,7 g (10 mmoolia) tripeptidialdehydiä, joka sisältää suojarahman, (esimerkki 1, vaihe 3), liuotetaan 100 ml:aan 75 %-ista vesi/etanoli-seosta ja hydrogenolysoidaan 10 %:isen palladium/hiilen (1 g) toimiessa katalyyttina. Reaktiota seurataan ohutkerroskromatografian avulla (tripeptidialdehydin, joka sisältää suojarahman, ja vapaan  $\text{N}^G$ -karboksijohdannaisen  $R_f^4$ -arvot ovat 0,90-0,95 ja 0,35-0,40). Reaktion loputtua katalyytti suodatetaan erilleen, ja pestään 30 ml:lla vettä, ja suodos haihdutetaan alipaineessa noin 30-40 ml:ksi, jolloin etanoli on haihtunut. Jäännökseen lisätään 100 ml vettä, vesiliuos uutetaan 30 ml:lla metyleenikloridia ja pakastekuivataan. Saanto: 4,3 g vaiheen 4 otsikon mukaista yhdistettä;  $R_f^4 = 0,35-0,40$   $[\alpha]_D^{20} = -123 \pm 1^\circ$  (c = 1, vedessä); aminohappoanalyysi: Phe = 1,02, Arg-H = 0,97 (määritetty  $\text{NH}_3$ :na), Pro = 1,00 (emäksinen muoto). Aminohappoanalyysin perusteella laskettu molekyylipaino on 471.  $\text{CO}_2 = 10,9\%$  (vapautettu rikkihapon avulla) ja 2,1 % (saostettu  $\text{BaCO}_3$ :na).

#### Esimerkki 2

D-fenyylialanyyli-L-prolyyli- $\text{N}^G$ -karboksi-L-arginiinialdehydi-hemihydrokloridi

0,48 g  $\text{N}^G$ -karboksi-D-fenyylialanyyli-L-prolyyli-L-arginiinialdehydiä liuotetaan 5 ml:aan vettä ja  $3-5^\circ\text{C}$ :ssa lisätään 5 ml 0,1 N suolahappoa. Liuos pakastekuivataan. Saanto: 0,45 g esimerkin 2 mukaista yhdistettä.  $R_f^4 = 0,35-0,40$ ,  $[\alpha]_D^{20} = -120^\circ$  (c = 1, vedessä).

#### Esimerkki 3

Tert.-butyylioksidikarbonyyli-D-fenyylialanyyli-L-prolyyli- $\text{N}^G$ -karboksi-L-arginiinialdehydi (kaavassa I X on tertiäärinen butyylioksidikarbonyyliryhmä ja Y on D-fenyylialaniinijäännös).

Vaihe 1: Tert.-butyylioksidikarbonyyli-D-fenyylialanyyli-L-prolyyli- $\text{N}^G$ -bentsyylioksidikarbonyyli-L-arginiinilaktaami.

Käyttäen lähtöaineena 8,6 g (22 mmoolia) tert.-butyylioksidikarbonyyli- $\text{N}^G$ -bentsyylioksidikarbonyyli-L-arginiinilaktaamia, valmistetaan  $\text{N}^G$ -bentsyylioksidikarbonyyli-L-arginiinilaktaami esimerkin 1 vaiheessa 2 esitetyn menetelmän mukaan, ja näin saatuun dimetyyli-

formamidisuspensioon lisätään seuraava seka-anhydridiseos.

7,25 g (20 mmoolia) tert.-butyylioksidikarbonyyli-D-fenyyli-alanyyli-L-proliinia (U. Ludescher ja R. Schwyzer, Helv. Chim. Acta 55 (1972) 2052) ja 2,22 ml (20 mmoolia) N-metyylimorfoliinia liuotetaan 20 ml:aan dimetyyliformamidia. Liuos jäädytetään  $-15^{\circ}\text{C}$ :seen, sekoitetaan, lisätään 2,64 ml (20 mmoolia) isobutyliklooriformi-aattia, ja 5 minuutin kuluttua lisätään edellä mainittu dimetyyli-formamidiliuos. Reaktioseosta sekoitetaan yhden tunnin ajan  $-15^{\circ}\text{C}$ :ssa ja edelleen tunnin ajan  $0^{\circ}\text{C}$ :ssa, minkä jälkeen seokseen lisätään 30 ml bentseeniä. Saostuneet suolat suodatetaan ja pestään kahdesti 10 ml:lla bentseeniä. Bentseeni/dimetyyliformamidi-liuokseen lisätään 50 ml vettä, ja kerrokset erotetaan. Vesikerros uutetaan kahdesti 10 ml:lla bentseeniä, minkä jälkeen yhdistetyt bentseeniuutteet pestään kolme kertaa 30 ml:lla 10 %:ista natriumkarbonaattiliuosta, 30 ml:lla vettä, kolme kertaa 30 ml:lla 0,5 N rikkihappoa ja kahdesti 30 ml:lla vettä, sekä kuivataan natriumsulfaattilla, ja sen jälkeen liuotin haihdutetaan alipaineessa. Jäänös käsitellään kevytpetrolilla, suodatetaan, pestään kevytpetrolilla ja kuivataan ilmassa. Saanto: 9,65 g (76 % teoreettisesta saannosta) vaiheen 1 otsikon mukaista tuotetta;  $R_f^1 = 0,81-0,89$ .

Vaihe 2: Tert.-butyylioksidikarbonyyli-D-fenyyli-alanyyli-L-prolyyli- $\text{N}^G$ -bentsyylioksidikarbonyyli-L-arginiinaldehydi.

Käyttäen lähtöaineena 9,52 g (15 mmoolia) esimerkin 3 vaiheessa 1 valmistettua tripeptidilaktaamia, joka sisältää suojaryhmän, vaiheen 2 otsikon mukainen yhdiste valmistettiin esimerkin 1 vaiheessa 3 esitetyn menetelmän mukaaan, paitsi että litiumalumiinihydridillä suoritettun pelkistyksen jälkeen liuos tehtiin happamaksi 0,5 N rikkihapolla. Saanto: 6,9 g (72 % teoreettisesta saannosta) vaiheen 2 otsikon mukaista yhdistettä;  $R_f = 0,46-0,56$ .

Vaihe 3: Tert.-butyylioksidikarbonyyli-D-fenyyli-alanyyli-L-prolyyli- $\text{N}^G$ -karboksi-L-arginiinaldehydi.

Käyttäen lähtöaineena 6,4 g (10 mmoolia) esimerkin 3 vaiheessa 2 valmistettua tripeptidialdehydiä, joka sisältää suojaryhmän, vaiheen 3 otsikon mukainen yhdiste valmistetaan esimerkin 1 vaiheessa 4 esitetyllä menetelmällä. Saanto: 5,1 g (85 % teoreettisesta saannosta) vaiheen 3 otsikon mukaista yhdistettä;  $R_f^3 = 0,46-0,56$ ,

$[\alpha]_D^{20} = -64 \pm 1^\circ$  ( $c = 1$ , vesiliuoksessa, pH säädetty suolahappoa arvoon 7). Aminohappoanalyysi: Phe = 0,96, Arg-H = 0,97 (määritetty  $\text{NH}_3$ :na), Pro = 1,00 (emäksinen muoto). Aminohappoanalyysin perusteella laskettu molekyylipaino on 570.

$\text{CO}_2 = 10,1 \%$  (vapautettu rikkihapolla), ja  $3,1 \%$  (saostettu  $\text{BaCO}_3$ :na).

#### Esimerkki 4

Bentsoyyli-D-alloisoleusyyli-L-prolyyli- $\text{N}^G$ -karboksi-L-arginiinaldehydi (kaavassa I X on bentsoyyliiryhmä ja Y on D-alloisoleusiinijäännös).

Vaihe 1: Bentsoyyli-D-alloisoleusyyli-L-proliinidisykloheksyyliammoniumsuola.

19,2 g (81,5 mmoolia) bentsoyyli-L-isoleusiinia (F. Ehrlich: Berichte 37 (1904), s. 1809) ja 16,5 g (80 mmoolia) disykloheksyylikarbodi-imidiä liuotetaan 150 ml:aan metyleenikloridia, joka on jäädytetty  $5-10^\circ\text{C}$ :seen. Liuosta sekoitetaan jäähauteessa kaksi tuntia, minkä jälkeen lisätään 2 ml trietyyliamiinia ja 100 ml petrolieetteriä. Saostunut disykloheksyyliurea suodatetaan ja pestään kahdesti 20 ml:lla petrolieetteriä. Suodos uutetaan kahdesti 50 ml:lla vettä, kahdesti 50 ml:lla 5 %:sta natriumvetykarbonaattiliuosta ja vedellä, kuivataan natriumsulfaatilla, ja liuotin haihdutetaan alipaineessa. Jäännös liuotetaan 80 ml:aan pyridiiniä, ja liuokseen lisätään 9,2 g (80 mmoolia) L-proliinia ja 22,4 ml (160 mmoolia) trietyyliamiinia. Reaktioseosta sekoitetaan huoneen lämpötilassa kuusi tuntia, minkä jälkeen liuotin haihdutetaan alipaineessa. Jäännös liuotetaan vesi/eetteriseokseen (100 ml vettä ja 50 ml eetteriä), vesikerros pestään kahdesti 20 ml:lla eetteriä, ja yhdistetyt eetteriuutteet pestään kahdesti 20 ml:lla vettä. Vesikerrokset yhdistetään, ja liuoksen pH säädetään 5 N rikkihapolla arvoon 2. Erotettu öljy uutetaan kolme kertaa 50 ml:lla etyyliasettaattia, yhdistetyt etyyliasettaattiuutteet pestään kahdesti 20 ml:lla vettä, kuivataan natriumsulfaatilla, ja liuotin haihdutetaan alipaineessa. Jäännös liuotetaan 100 ml:aan eetteriä, ja 16 ml disykloheksyyliamiinia kaadetaan liuokseen. Muodostuneet kiteet erotetaan suodattamalla, pestään kolme kertaa 20 ml:lla eetteriä ja kuivataan väkevällä rikkihapolla tyhjässä. Saanto: 26,3 g (64 % teoreettisesta saannosta) vaiheen 1 otsikon mukaista yhdistettä. Sp. = 117-118 $^\circ\text{C}$ .  $R_f^1 = 0,36-0,46$  ja  $0,13-0,23$  (disykloheksyyliamiini). Amino-

happoanalyysi: proliini = 1,00 (emäksinen muoto), alloisoleusiini = 0,92, isoleusiini = 0,02.

Vaihe 2: Bentsoyyli-D-alloisoleusyyli-L-prolyyli-N<sup>G</sup>-bentsyylioksykarbonyyli-L-arginiinilaktaami.

Käyttäen lähtöaineena 8,6 g (22 mmoolia) tert.-butyylioksykarbonyyli-N<sup>G</sup>-bentsyylioksykarbonyyli-L-arginiinilaktaamia valmistetaan N<sup>G</sup>-bentsyylioksykarbonyyli-L-arginiinilaktaami esimerkin 1 vaiheessa 2 esitetyn menetelmän mukaan, ja saatu dimetyyliformamidisuspensio lisätään seuraavaan seka-anhydridiseokseen.

10,3 g (20 mmoolia) bentsoyyli-D-alloisoleusyyli-L-proliinidisykloheksyyliammoniumsualetta (esimerkki 4, vaihe 1) ja 0,23 ml (2 mmoolia) N-metyylimorfoliinia liuotetaan 20 ml:aan dimetyyliformamidia, liuos jäädytetään -15°C:seen, ja jatkuvasti sekoittaen lisätään ensin 2,64 ml (20 mmoolia) isobutyliklooriformiaattia ja 5 minuutin kuluttua edellä mainittu dimetyyliformamidiliuos. Reaktioseosta sekoitetaan yhden tunnin ajan -15°C:ssa ja edelleen tunnin ajan 0°C:ssa. Saostuneet suolat erotetaan suodattamalla ja pestään kahdesti 5 ml:lla dimetyyliformamidia. Yhdistettyihin suoksiin lisätään 100 ml bentseeniä, ja bentseenikerros pestään kolme kertaa 30 ml:lla vettä, kahdesti 20 ml:lla 1 n natriumhydroksidiliuosta, kolme kertaa 30 ml:lla vettä, kahdesti 20 ml:lla 0,5 N rikkihappoa ja kolme kertaa 20 ml:lla vettä, kuivataan natriumsulfaattilla, ja liuotin haihdutetaan alipaineessa. Jäännös trituroidaan petrolieetterillä, erotetaan suodattamalla, pestään petrolieetterillä ja kuivataan ilmassa. Saanto 9,3 g (76 % teoreettisesta saannosta) vaiheen 2 otsikon mukaista yhdistettä;  $R_f^1 = 0,52-0,62$ .

Vaihe 3: Bentsoyyli-D-alloisoleusyyli-L-prolyyli-N<sup>G</sup>-bentsyylioksykarbonyyli-L-arginiinialdehydi.

9,2 g (15 mmoolia) tripeptidilaktaamia, joka sisältää suojar ryhmän (esimerkki 4, vaihe 2), liuotetaan 40 ml:aan tetrahydrofuraania, ja jatkuvasti sekoittaen -20°C:ssa lisätään 0,427 g (11,25 mmoolia) tetrahydrofuraaniin liuotettua litiumalumiinihydridiä. Reaktioseoksen pH säädetään 1 N suolahapolla arvoon 2, ja seokseen lisätään 80 ml vettä. Liuos pestään 30 ml:lla n-heksaania ja uuteetaan kolme kertaa 50 ml:lla metyleenikloridia. Yhdistetyt metyleenikloridiuutteet pestään kahdesti 10 ml:lla 10 %:ista natriumkarbonaattiliuosta ja kahdesti 10 ml:lla vettä, kuivataan natriumsulfaa-

tilla, ja liuotin haihdutetaan alipaineessa. Jäännös käsitellään dietyylieetterillä ja kuivataan väkevällä rikkihapolla tyhjässä. Saanto: 6,7 g (72 % teoreettisesta saannosta) vaiheen 3 otsikon mukaista yhdistettä;  $R_f^1 = 0,47-0,57$ .

Vaihe 4: Bentsoyyli-D-alloisoleusyyli-L-prolyyli-N<sup>G</sup>-karboksi-L-arginiinaldehydi.

6,2 g (10 mmoolia) tripeptidialdehydiä, joka sisältää suojaryhmän, hydrogenolysoidaan esimerkin 1 vaiheessa 4 esitetyn menetelmän mukaan, eristetään ja kylmäkuivataan. Saanto: 4,05 g (81 % teoreettisesta saannosta) vaiheen 4 otsikon mukaista yhdistettä;  $R_f^3 = 0,4-0,5$   $[\alpha]_D^{20} = -42,6 \pm 1^{\circ}$  ( $c = 1$ , vesiliuoksessa, jonka pH on säädetty arvoon 7 suolahapolla). Aminohappoanalyysi: allo-Ile = 0,97, Ile = 0,02, Arg-H = 0,95 (määritetty NH<sub>3</sub>:na), Pro = 1,00 (emäksinen muoto). Aminohappoanalyysin perusteella laskettu molekyylipaino on 590. CO<sub>2</sub> = 9,5 = (vapautettu rikkihapolla) ja 2,0 % (saostettu BaCO<sub>3</sub>:na).

#### Esimerkki 5

$\beta$ -fenyyli-D-laktyyli-L-prolyyli-N<sup>G</sup>-karboksi-L-arginiini  
(kaavassa I X on vetyatomi ja Y on  $\beta$ -fenyyli-D-maitohappojäännös)

Vaihe 1: O-tert.-butyylioksidikarbonyyliamidi- $\beta$ -fenyyli-D-laktyyli-L-proliini.

15,1 g (40 mmoolia) O-tert.-butyylioksidikarbonyyliamidi- $\beta$ -fenyyli-D-maitohapon N-hydroksimeripihkahappoimidiesteriä (Kisfaludy et al: Acta Biochim. Biophys. Acad. Sci. Hung, 6 (1972), s. 393) liuotetaan 50 ml:aan pyridiiniä, ja liuokseen lisätään 4,7 g (40 mmoolia) L-proliinia ja 5,6 ml (40 mmoolia) trietyyliamiinia, ja sekoitetaan, kunnes ne ovat liuenneet täydellisesti. Liuotin haihdutetaan alipaineessa. Jäännös käsitellään vesi/dietyylieetteri-seoksella (100 ml vettä ja 100 ml dietylieetteriä). Vesikerros pestään 30 ml:lla dietylieetteriä, ja yhdistetyt eetteriuutteet pestään 30 ml:lla vettä. Vesikerros yhdistetään, liuoksen pH säädetään 3 N suolahapolla arvoon 2, ja liuos uutetaan kolme kertaa 50 ml:lla etyyliasetaattia. Yhdistetyt etyyliasetaattiuutteet pestään kahdesti 20 ml:lla vettä, kuivataan natriumsulfaatilla, ja liuotin haihdutetaan alipaineessa. Saanto: 9,85 g (65 % teoreettisesta saannosta) vaiheen 1 otsikon mukaista yhdistettä:  $R_f^2 = 0,4-0,5$ .

Vaihe 2: O-tert.-butyylioksidikarbonyyliamidi- $\beta$ -fenyyli-D-laktyyli-L-prolyyli-N<sup>G</sup>-bentsyylioksidikarbonyyli-L-arginiinilaktaami.

11,2 g (28,6 mmoolia) tert.-butyylioksidikarbonyyli-N<sup>G</sup>-bentsyylioksidikarbonyyli-L-arginiinilaktaamia (esimerkki 1, vaihe 1) suspensoidaan 25 ml:aan etyyliasettaattia, ja suspensiota samalla sekoittaen siihen kaadetaan 5°C:ssa 50 ml 4 M suolahappo/etyyliasettaatti-seosta. Sekoitusta jatketaan jäähauteessa 30 minuutin ajan, minkä jälkeen reaktioseokseen lisätään 130 ml kylmää etyyliasettaattia, ja seos kuivataan kaliumhydroksidilla tyhjössä. Saatu N<sup>G</sup>-bentsyylioksidikarbonyyli-L-arginiinilaktaamihydrokloridi liuotetaan 25 ml:aan dimetyyliformamidia, jäädytetään -10°C:seen, ja lisätään 8,1 ml (57,8 mmoolia) trietyyliamiinia. Saatu suspensio kaadetaan seuraavaan seka-anhydridiseokseen.

9,85 g (26 mmoolia) O-tert.-butyylioksidikarbonyyliamidi- $\beta$ -fenyyli-D-laktyyli-L-proliinia, joka on valmistettu esimerkin 5 vaiheessa 1 esitetyllä menetelmällä, liuotetaan 33 ml:aan dimetyyliformamidia, jäädytetään -15°C:een, ja tässä lämpötilassa lisätään ensin 2,89 ml (26 mmoolia) N-metyylimorfoliinia ja 3,43 ml (26 mmoolia) isobutyliklooriformiaattia voimakkaasti sekoittaen, sekoitusta jatketaan 10 min, minkä jälkeen lisätään edellä mainittu dimetyyliformamidisuspensio. Seoksen pH säädetään tarvittaessa 8-9:ään trietyyliamiinilla, ja sekoitusta jatketaan -15°C:ssa yhden tunnin ajan ja edelleen tunnin ajan 0°C:ssa. Reaktioseokseen lisätään 60 ml bentseeniä, saostuneet suolat suodatetaan ja pestään kahdesti 30 ml:lla bentseeniä. Suodokseen lisätään 70 ml vettä, kerrokset erotetaan, ja vesikerros pestään kolme kertaa 30 ml:lla bentseeniä. Yhdistetyt bentseenuutteet pestään kolme kertaa 40 ml:lla 10-%:ista natriumkarbonaattiliuosta, kahdesti 40 ml:lla 0,1 N suolahappoa ja lopuksi kahdesti 40 ml:lla vettä, kuivataan natriumsulfaatilla, ja liuotin haihdutetaan alipaineessa. Jäännös käsitellään kevytpetrolilla, suodatetaan, pestään kevytpetrolilla ja kuivataan ilmassa. Saanto: 10,3 g (60 % teoreettisesta saannosta) vaiheen 2 otsikon mukaista yhdistettä;  $R_f^2 = 0,65 - 0,70$ .

Vaihe 3: O-tert.-butyylioksidikarbonyyliamidi- -fenyyli-D-laktyyli-L-prolyyli-N<sup>G</sup>-bentsyylioksidikarbonyyli-L-arginiinialdehydi.

Käyttäen lähtöaineena 10,2 g (15 mmoolia) tripeptidilaktaamia, joka sisältää suojaryhmän (esimerkki 5, vaihe 2), valmistetaan vaiheen 3 otsikon mukainen yhdiste esimerkin 1 vaiheessa 3 esitetyllä menetelmällä, paitsi että haihdutuksen jälkeen jäännös käsitellään dietyylieetteri/kevytpetroli-seoksella (1:1), suodatetaan ja pestään samalla liuottimella. Saanto: 6,4 g (62 % teoreettisesta saannosta) vaiheen 3 otsikon mukaista yhdistettä;  $R_f^2 = 0,32-0,42$ .

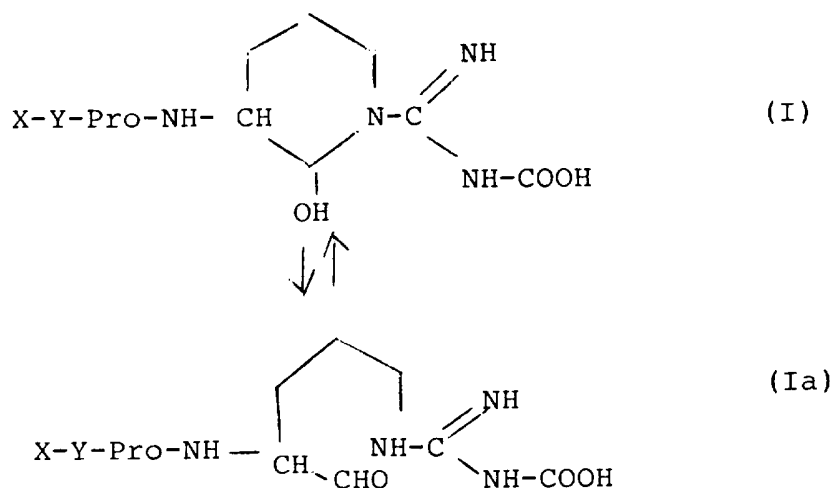
Vaihe 4:  $\beta$ -fenyyli-D-laktyyli-L-prolyyli-N<sup>G</sup>-karboksi-L-arginiinialdehydi.

6,2 g (9 mmoolia) tripeptidialdehydiä, joka sisältää suojaryhmän (esimerkki 5, vaihe 3), liuotetaan 100 ml:aan 75 %:ista vesi/etanoliseosta, ja liuos hydrogenolysoidaan 10 %:isen palladium/hiilen toimiessa katalyyttinä (1 g). Reaktion kulkua seurataan ohutkerroskromatografian avulla (tripeptidialdehydin, joka sisältää suojaryhmän, ja N<sup>G</sup>-karboksijohdannaisen  $R_f^4$ -arvot olivat 0,92-0,97 ja 0,56-0,66). Reaktion loputtua katalyytti suodatetaan erilleen, pestään 30 ml:lla vettä, ja suodos konsentroidaan alipaineessa 30-40 ml:ksi. Jäännökseen lisätään 100 ml vettä, vesiliuos uutetaan 30 ml:lla metyleenikloridia ja kylmäkuivataan. Saanto: 3,8 g vaiheen 4 otsikon mukaista yhdistettä:  $R_f^4 = 0,56-0,66$   $[\alpha]_D^{20} = -81 \pm 1^\circ$  (c = 1, vedessä). Aminohappoanalyysi: Arg-H = 0,96 (määritetty NH<sub>3</sub>:na), Pro = 1,00 (emäksinen muoto). Aminohappoanalyysin perusteella laskettu molekyyllipaino on 470. CO<sub>2</sub> = 9,6 % (vapautettu rikkihapolla) ja 1,3 % (saostettu BaCO<sub>3</sub>:na).



## Patenttivaatimus

Menetelmä yleiskaavan I tai Ia mukaisten uusien terapeuttisesti käytettävien peptidyyl-N<sup>G</sup>-karboksyyli-arginiinaldehydien ja niiden farmaseuttisesti hyväksyttävien happoadditiosuolojen valmistamiseksi,



jossa kaavassa

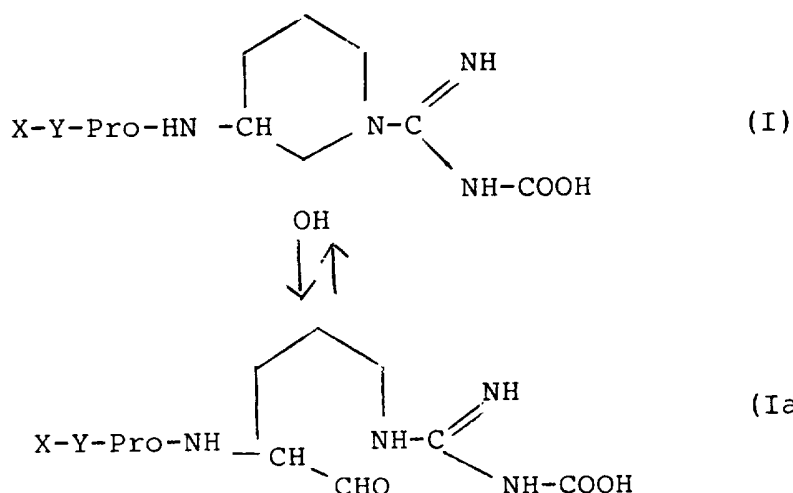
X on vetyatomi, bentsoyyli- tai tert-.butyylioksidikarbonyyliryhmä, ja

Y on D-fenyylialaniini-,  $\beta$ -fenyyli-D-maitohappo- tai D-alloisoleusiinijäännös,

t u n n e t t u siitä, että uretaanin kaltainen suojaryhmä, edullisesti bentsyylioksidikarbonyyliryhmä, joka on poistettavissa hydrogenolyysillä vastaavasta peptidyylarginiinaldehydistä, jossa uretaanin kaltainen suojaryhmä on läsnä guanidinoryhmän N<sup>G</sup>-atomissa, poistetaan suorittamalla suojatulle peptidyylarginiinaldehydille hydrogenolyysi neutraaleissa olosuhteissa veden ja alemman alkanolin seoksessa, ja haluttaessa tuote muutetaan farmaseuttisesti hyväksyttäväksi happoadditiosuolaksi.

## Patentkrav

Förfarande för framställning av nya terapeutiskt användbara peptidyl-N<sup>G</sup>-karboxyl-argininaldehyder med den allmänna formeln I eller Ia och deras farmaceutiskt godtagbara syraadditionssalter,



vari X är en väteatom, en bensoyl- eller tert.-butyloxikarbo-  
grupp och

Y är en D-fenylalanin-,  $\beta$ -fenyl-D-mjölksyra- eller D-allo-  
isoleucinrest,

k ä n n e t e c k n a d därav, att man avlägsnar en skydds-  
grupp av uretantyp, företrädesvis en bentyloxikarbonylgrupp,  
som kan avlägsnas genom hydrogenolys från motsvarande peptid-  
arginaldehyd, i vilken skyddsgruppen av uretantyp är närvarande  
i guanidinogrupperns N<sup>G</sup>-atom, genom att underkasta den skyddade  
peptidylarginaldehyden hydrogenolys vid basiska förhållanden  
i en blandning av vatten och en lägre alkanol, och, ifall önsk-  
värt, omvandlar man produkten till ett farmaceutiskt godtag-  
bart syraadditionssalt.

Viitejulkaisuja-Anförda publikationer

-