

⑫

EUROPÄISCHE PATENTANMELDUNG

⑰ Anmeldenummer: 86105507.7

⑸ Int. Cl.⁴: **C 07 K 7/06**
C 07 K 5/10, A 61 K 37/02
G 01 N 33/53

⑱ Anmeldetag: 21.04.86

⑳ Priorität: 23.04.85 DE 3514587

⑦① Anmelder: **Brantl, Victor, Dr. med., Dipl.-Chem.**
Matthias-Claudius-Strasse 9
D-6200 Wiesbaden(DE)

④③ Veröffentlichungstag der Anmeldung:
29.10.86 Patentblatt 86/44

⑦② Erfinder: **Brantl, Victor, Dr. med., Dipl.-Chem.**
Matthias-Claudius-Strasse 9
D-6200 Wiesbaden(DE)

⑧④ Benannte Vertragsstaaten:
AT BE CH DE FR GB IT LI LU NL SE

⑦④ Vertreter: **Schacht, Wilhelm, Dr. jur.**
Am Eselsweg 47
D-6500 Mainz 1(DE)

⑤④ **Pharmakologisch aktive Peptide.**

⑤⑦ Es werden neuartige pharmakologisch aktive Peptide der allgemeinen Formel:

Tyr-Pro-Phe-Thr-T

Tyr-Pro-Phe-Thr-A-T

Tyr-Pro-Phe-Thr-A-B-T

Tyr-Pro-Phe-Thr-A-B-C-T

Tyr-Pro-Phe-Thr-A-B-C-D-T

Tyr-Pro-Phe-Thr-A-B-C-D-E-T beschrieben,

wobei Tyr gleich der Aminosäure Tyrosin, Pro gleich der Aminosäure Prolin, Phe gleich der Aminosäure Phenylalanin, Thr gleich der Aminosäure Threonin, A, B, C, D und E können jede beliebige Aminosäure der D- oder L-Form sein. T stellt die C-terminale Säurefunktion und deren Modifikation dar. Die Verbindungen eignen sich zur Therapie von Krankheiten.

EP 0 199 331 A1

Beschreibung

Die Erfindung betrifft pharmakologisch aktive Peptide, insbesondere opiatartig wirkend.

Aufgabe der Erfindung ist es, neue, bisher noch nicht beschriebene Peptide zu schaffen, die insbesondere opiatartig wirken.

Diese Aufgabe ist gemäß der Erfindung dadurch gelöst, daß die Peptide folgende Struktur aufweisen:

Tyr-Pro-Phe-Thr-T

Tyr-Pro-Phe-Thr-A-T

10 Tyr-Pro-Phe-Thr-A-B-T

Tyr-Pro-Phe-Thr-A-B-C-T

Tyr-Pro-Phe-Thr-A-B-C-D-T

Tyr-Pro-Phe-Thr-A-B-C-D-E-T

wobei Tyr gleich der Aminosäure Tyrosin, Pro gleich der Aminosäure Prolin, Phe gleich der Aminosäure Phenylalanin und Thr gleich der Aminosäure Threonin ist. A, B, C, D und E können jede beliebige Aminosäure der D- oder L-Form sein. T steht für OH, OR, NH₂, NHR, NR₂ oder NHNHR', wobei R gegebenenfalls die folgende Bedeutung hat: Substit. lineares oder verzweigtes C₁₋₁₀-Alkyl, Adamantyl, C₁₋₁₀-Cycloalkyl oder C₆₋₈-Aralkyl, zweckmäßigerweise Phenyl, Benzyl oder Phenyläthyl bedeutet und R' Wasserstoff, lineares oder verzweigtes C₁₋₁₀-Alkyl, Cycloalkyl oder C₆₋₈-Aralkyl, lineares, verzweigtes oder cyclisches aliphat. C₁₋₁₆-Acyl, gegebenenfalls durch OH, NH₂, C₁₋₄-Alkoxy oder Halogen substituiert, aromatisches Acyl, gegebenenfalls durch OH, NH₂, Halogen oder C₁₋₄-Alkoxy substituiert; lineares, verzweigtes oder cyclisches C₃₋₁₁ aliphatisches Urethan darstellt und deren pharmazeutisch annehmbare Salze.

30 Nach einer weiteren Ausbildung sind die Peptide dadurch gekennzeichnet, daß A= Isoleucin, Leucin, Serin oder Threonin, B= Isoleucin, Glycin, Serin oder Valin, C= Glycin, Leucin, Threonin, Asparagin oder Arginin, D=

Glutamin, Lysin oder Arginin und E= Valin, Asparaginsäure, Leucin oder Arginin ist.

Nach einer besonders vorteilhaften Weiterbildung der Erfindung liegt das Phenylalanin in der 3. Aminosäureposition des Peptids (vom linken, N-terminalen Ende des Peptids her gerechnet) in der D-Form vor.

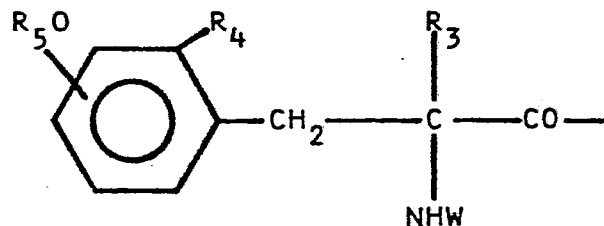
Dies hat insbesondere den Vorteil, daß die opiatartige Wirkung erhalten bleibt (zum Teil gesteigert wird) und eine besonders hohe Stabilität gegenüber peptidspaltenden Enzymen resultiert.

Den gleichen, o.g. stabilisierenden Effekt weisen die Peptide auf, wenn das Threonin der 4. Aminosäureposition in der D-Form vorliegt.

Die Aminosäure L-Threonin in der 4. Aminosäureposition kann nach einer Weiterbildung der Erfindung durch Glutamin, Glycin oder Asparaginsäure ersetzt sein.

Nach einer Weiterbildung der Erfindung sind die Peptide dadurch gekennzeichnet, daß

a) das N-terminale L-Tyrosin der allgemeinen Formel:



vorliegt, wobei im einzelnen bedeuten:

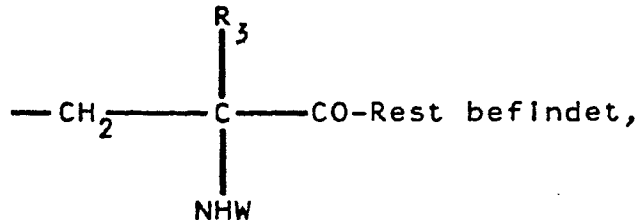
R_3 für Wasserstoff oder eine Alkylgruppe mit 1 bis 4 C-Atomen,

R_4 für Wasserstoff oder zusammen mit R_3 für eine Äthylenbrücke,

R_5 für Wasserstoff, eine Alkylgruppe mit 1 bis 4 C-Atomen oder eine R_6CO -Gruppe,

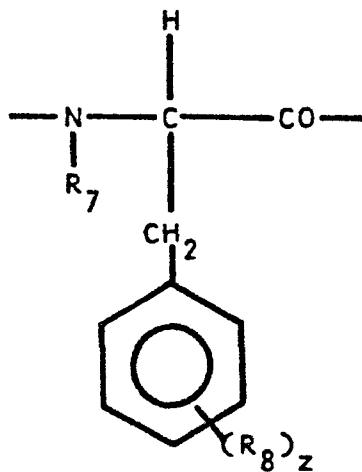
R_6 für einen gesättigten oder ungesättigten, geradkettigen oder verzweigten Alkylrest mit 1 bis 17 C-Atomen, einen Phenylrest oder einen Phenylakylrest mit 7 bis

12 C-Atomen, wobei die Phenylreste durch 1 oder 2 Substituenten aus der Reihe Halogen, Alkyl mit 1 bis 4 C-Atomen oder Alkoxy mit 1 bis 4 C-Atomen substituiert sein können, wobei die R_5O -Gruppe sich in meta- oder para-Stellung zum



W für Wasserstoff, Alkyl mit 1 bis 5 C-Atomen, Alkenyl mit 3 bis 5 C-Atomen, Cyclopropylmethyl, Cyclobutylmethyl, R_6CO- , H-Val, H-Ser, H-Arg, H-Lys, H-Ile, H-Tyr, oder H-Phe.

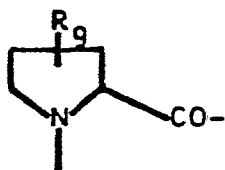
b) das Phenylalanin der allgemeinen Formel vorliegt:



wobei im einzelnen bedeuten:

R_7 für Wasserstoff oder Alkyl mit 1 bis 4 C-Atomen,
 R_8 für Wasserstoff, Fluor, Chlor, Brom, Nitro, Alkyl mit 1 bis 4 C-Atomen, z für 1 oder 2 steht.

c) das Prolin der allgemeinen Formel vorliegt:



wobei im einzelnen bedeuten:

R_9 für Wasserstoff, eine Hydroxygruppe, eine Alkyl- oder Alkoxygruppe mit 1 oder 4 C-Atomen

- 5 - am Stickstoff eine Alkyl- oder Alkoxygruppe mit 1 bis 4 C-Atomen gebunden ist
 - eine oder mehrere Ketogruppen in den Ring eingeführt sind.

10 Nach einer anderen Weiterbildung der Erfindung liegen die Aminosäuren Prolin, Phenylalanin als Dehydroamino-säuren vor.

Besonders vorteilhaft sind insbesondere Peptide folgender Struktur:

- 15 Tyr-Pro-Phe-Thr-OH
 Tyr-Pro-Phe-Thr-NH₂
 Tyr-Pro-Phe-Thr-Ile-OH
 Tyr-Pro-Phe-Thr-Ile-Ile-OH
 Tyr-Pro-Phe-Thr-Ile-Ile-Gly-OH
 Tyr-Pro-Phe-Thr-Ile-Ile-Gly-Gln-OH
 20 Tyr-Pro-Phe-Thr-Ile-Ile-Gly-Gln-Val-OH
 Tyr-Pro-D-Phe-Thr-OH
 Tyr-Pro-D-Phe-Thr-NH₂
 Tyr-Pro-D-Phe-Thr-Ile-OH
 Tyr-Pro-D-Phe-Thr-Thr-OH
 25 Tyr-Pro-Phe-D-Thr-Ile-OH
 Tyr-Pro-Phe-D-Thr-Ile-NH₂
 Tyr-Pro-Phe-D-Thr-Thr-OH
 Tyr-Pro-Phe-D-Thr-Thr-NH₂
 Tyr-Pro-Phe-Gln-OH
 30 Tyr-Pro-Phe-Gln-NH₂
 Tyr-Pro-Phe-Gly-NH₂
 Tyr-Pro-Phe-Asp-OH

Tyr-Pro-Phe-Asp-NH₂
Tyr-Pro-Phe-Thr-Thr-OH
Tyr-Pro-Phe-Thr-Ser-OH
Tyr-Pro-Phe-Thr-Leu-OH

- 5 Die erfindungsgemäßen Peptide können Wirkungen auf das zentrale Nervensystem ausüben. Das kann zum Beispiel eine schmerzstillende (analgetische) Wirkung sein; die analgetische Wirkung kann ganz oder teilweise über opioide Rezeptoren vermittelt werden.
- 10 Weiterhin können die erfindungsgemäßen Peptide endokrine Wirkungen auslösen, z.B. eine Erhöhung des Wachstumshormonspiegels.
- Die erfindungsgemäßen Peptide können als Immunmodulatoren Anwendung finden. Die Verabreichung solcher Peptide führt z.B. bei einem geschwächten Organismus zu einer
- 15 Stimulation des körpereigenen Immunsystems.
- Die Substanzen können auch zur Aktivierung des Zellstoffwechselsystems dem Säugetierorganismus zugeführt werden; hierbei wird die Sauerstoffaufnahme der Gewebs-
- 20 zellen erhöht, dies kann insbesondere bei altersbedingten Krankheiten von Bedeutung sein.
- Die erfindungsgemäßen Peptide können nach Kopplung an Thyreoglobulin oder andere makromolekulare Eiweißkörper als Antigene zur Erzeugung von Antikörpern im Säugetier-
- 25 organismus verwendet werden. Hierbei wird das Peptid in üblicher Weise mit Carbodimid an das Makromolekül gekoppelt und intracutan in die Rücken- und Bauchhaut von Kaninchen injiziert.
- Die Antikörper gegen die erfindungsgemäßen Peptide können zur Bestimmung derselben in Körpergeweben und -Flüssigkeiten verwendet werden. Dies kann sowohl zur Bestimmung exogen zugeführter, wie auch endogen entstandener
- 30 Peptide verwendet werden (Diagnostik).

Die erfindungsgemäßen Peptide und/oder deren Derivate und/oder deren Salze können in Human- und Tierarzneimitteln enthalten sein. Diese können insbesondere als Antitussiva, Antidiarrhoika, Modulatoren des Immunsystems, Analgetika, Antipsychotika, Tranquillizer, Durchblutungsförderer und zur Förderung der Wundheilung Verwendung finden.

Beispiel:

1) Synthese zweier erfindungsgemäßer Peptide folgender Sequenz:

Tyr-Pro-Phe-Thr-OMet/-OH

Tyr-Pro-Phe-Thr-Ile-OMet/-OH

Die verwendete Synthesemethode benützt Benzyloxycarbonyl-geschützte Aminosäuren als gemischte Anhydride (Lottspeich et al., Hoppe-Seyler's Z. Physiol. Chem., 1835-1839, 1980).

Hierbei wird die Aminokomponente bei -15°C oder niedriger in Dimethylformamid (DMF) mit einem 0.5 molaren Überschuß an gemischtem Anhydrid einer Z-Aminosäureisobutylcarbonsäure (wobei Z- als Schutzgruppe dient und einen N-Benzyloxycarbonyl-Rest darstellt) 2-4 Stunden umgesetzt. Nach der 2-4 stündigen Kupplung wird der Überschuß an Anhydrid zerstört. Bei 0°C wird dann der pH-Wert des Reaktionsproduktes mit wässriger, gesättigter KHCO_3 -Lösung auf 8 eingestellt und 30 Minuten bei 0°C gerührt. Die Peptide werden mit Äthylacetat extrahiert. Das Äthylacetat/Peptidgemisch wird, um das Z-Aminosäure-Kaliumsalz zu entfernen, 3 mal mit NaCl/Wasser, 3 mal mit Wasser gewaschen und abgedampft. Das so erhaltene Peptid, welches noch die Schutzgruppe Z trägt, wird dann in Methanol hydriert. Hierbei werden 100-500 mg Pd/Aktivkohle als Katalysator pro mmol Peptid zugesetzt. Die CO_2 -Abspaltung wird mit $\text{Ba}(\text{OH})_2$ -Lösung kontrolliert. Der Katalysator wird dann abfiltriert (Papierfilter), mit Wasser ausgiebig gewaschen und das Filtrat auf einem

Rotationsverdampfer eingedampft. Das gewünschte deblockierte Peptid ist im Rückstand enthalten.

I. Herstellung des Zwischenproduktes

L-Pro-L-Phe-L-Thr-OMet (I)

5 I/Stufe 1a) Herstellung des gemischten Anhydrids: Z-Pro-Phe-gem. Anhydrid

592,5 mg (1.5 mmol, = 50%iger Überschuß) des Dipeptids Z-Pro-Phe (Bachem, Schweiz) werden in 20 ml DMF mit 200 µl (1.5 mmol) Chlorameisensäureisobutylester bei 10 -15°C nach Zusatz von 170 µl (1.5 mmol) N-Methylmorpholin 15 Minuten umgesetzt.

I/Stufe 1b) Vorbereitung der Aminokomponente.

170 mg (1.0 mmol) Threoninmethylesterhydrochlorid (Novabiochem, Schweiz) werden in 20 ml DMF unter Zusatz von 15 110 µl (1.0 mmol) N-Methylmorphin bei -15°C aufgelöst.

I/Stufe 2) Umsetzung des gemischten Anhydrids der Stufe I/1a mit der Aminokomponente der Stufe I/1b.

Das Z-Pro-Phe-gem. Anhydrid wird mit dem Thr-OMet in insgesamt 40 ml DMF bei -15°C 4 Stunden zum Z-Pro-Phe-Thr-OMet umgesetzt. 20

Vor der Aufarbeitung wird der 50%ige Überschuß an gemischtem Anhydrid zerstört. Bei 0°C wird der pH-Wert des Reaktionsproduktes mit wässriger, gesättigter KHCO_3 -Lösung auf pH 8 eingestellt und 30 Minuten bei 0°C gerührt. Danach wird das Peptid mit 50-100 ml Äthylacetat (EtAc) extrahiert; das EtAc/Peptidgemisch wird mit gesättigter, wässriger NaCl-Lösung gewaschen. Nach einem weiteren abschließenden Waschen mit Wasser wird die EtAc-Phase eingedampft. 25

30 I/Stufe 3) Abspalten der Schutzgruppe durch Hydrierung.

Das Peptid wird in 30 ml Methanol gelöst und 100 mg Palladium auf Aktivkohle (Merck) zugegeben. Nach dem Verdrängen der Luft durch Stickstoff wird in das Reaktionsgefäß Wasserstoff eingeleitet. Die Hydrierung wird

bei 25°-30°C durchgeführt. Die Hydrierung ist beendet, wenn kein CO₂ mehr freigesetzt wird, d.h. wenn nach Kontrolle in wässriger Ba(OH)₂-Lösung kein Niederschlag mehr gebildet wird. Die Lösung wird filtriert, mit Wasser gewaschen und am Rotationsverdampfer einrotiert. Das bleibende Produkt Pro-Phe-Thr-OMet (I) wird dann später als Aminokomponente eingesetzt.

II. Herstellung des Zwischenproduktes L-Pro-L-Phe-L-Thr-L-Ile-OMet (II)

10 II/Stufe 1a) Herstellung des gemischen Anhydrids:

Z-Thr-gem. Anhydrid.

379,5 mg (1.5 mmol) Z-L-Thr (Novabiochem, Schweiz) werden in 20 ml DMF unter Zusatz von 170 µl (1.5 mmol) N-Methylmorpholin gelöst und mit 180 µl Chlorameisensäureisobutylester bei -15°C 15 Minuten umgesetzt.

II/Stufe 1b) Vorbereitung der Aminokomponente.

185 mg (1.0 mmol) L-Isoleucin-Methylesterhydrochlorid (Bachem, Schweiz) werden in 20 ml DMF unter Zusatz von 170 µl (1.5 mmol) N-Methylmorpholin gelöst.

20 II/Stufe 2) Umsetzung des gem. Anhydrids der Stufe II/1a mit der Aminokomponente der Stufe II/1b.

Das Z-Thr-gem. Anhydrid wird mit dem Ile-OMet in insgesamt 40 ml DMF bei -15°C 4 Stunden zum Z-Thr-Ile-OMet umgesetzt.

25 Die weitere Aufarbeitung erfolgt analog wie bereits unter I/2 und I/3 beschrieben. Schließlich erhält man den Dipeptidmethylester Thr-Ile-OMet, der nachfolgend als Aminokomponente weiter umgesetzt wird.

30 II/Stufe 3a) Herstellung des gemischten Anhydrids:
Z-Pro-Phe-gem. Anhydrid

Der gleiche Ansatz wird wie unter Stufe I/1a) beschrieben hergestellt.

II/Stufe 3b) Vorbereitung der Aminokomponente.

Das in Stufe II/2 erhaltene Dipeptid wird in 20 ml DMF unter Zusatz von 170 µl (1.5 mmol) N-Methylmorpholin gelöst.

5 II/Stufe 4) Umsetzung des gemischten Anhydrids der Stufe II/3a) mit der Aminokomponente der Stufe II/3b

Das Z-Pro-Phe gem. Anhydrid wird mit dem Thr-Ile-OMet in 40 ml DMF bei -15°C 4 Stunden zum Z-Pro-Phe-Thr-Ile-OMet umgesetzt.

10 Die weitere Aufarbeitung erfolgt analog wie bereits unter I/2 und I/3 beschrieben. Das erhaltene Tetrapeptid Pro-Phe-Thr-Ile-OMet (II) wird dann später als Aminokomponente eingesetzt.

III. Weiterverarbeitung der Zwischenprodukte

15 Pro-Phe-Thr-OMet (I)

Pro-Phe-Thr-Ile-OMet (II)

III/Stufe 1a) Herstellung des gem. Anhydrids:

Z-Tyr-gem. Anh.

20 674 mg (1.5 mmol) N,O-di-Z-Tyrosin (Novabiochem, Schweiz) werden in 20 ml DMF unter Zusatz von 170 µl (1.5 mmol) N-Methylmorpholin gelöst und mit 200 µl (1.5 mmol) Chlorameisensäureisobutylester bei -15°C 15 Minuten umgesetzt.

25 III/Stufe 1b) Die Zwischenprodukte I und II werden in 20 ml DMF gelöst und mit je einem Ansatz der Stufe III/ 1a bei -15°C 4 Stunden umgesetzt.

III/Stufe 2)

Die Aufarbeitung der jeweiligen Reaktionsprodukte der Stufe III/1b erfolgt wie unter I/2 und I/3 beschrieben.

30 Die Syntheseendprodukte Tyr-Pro-Phe-Thr-OMet

Tyr-Pro-Phe-Thr-Ile-OMet

werden dann entweder direkt über Säulenchromatographie (Biogel P 2) gereinigt (bzw. nach einer in üblicher

Weise durchgeführten sauren Esterhydrolyse) und nachfolgend analysiert, so wie von Lottspelch et al. (Hoppe-Seyler's Z. Physiol. Chem., 361, 1835-1839, 1980) beschrieben. Die gereinigten und mittels Aminosäureanalyse analysierten Peptide

Tyr-Pro-Phe-Thr-OH

Tyr-Pro-Phe-Thr-Ile-OH

wurden dann auf pharmakologische Wirkungen hin untersucht. (Vgl. Beispiel, 2)

Die Herstellung der anderen erfindungsgemäßen Peptide erfolgte auf die gleiche Weise, wie dies oben bereits beschrieben wurde, wobei entsprechend der gewünschten Sequenz andere Z-Aminosäurederivate eingesetzt werden, so z.B. statt Z-L-Threonin, Z-D-Threonin; statt Z-Pro-Phe, Z-Pro-D-Phe; bzw. andere Aminosäuremethylester z.B. Threoninmethylester oder Serinmethylester verwendet werden. Die Synthese der anderen erfindungsgemässen Peptide erfolgt ebenfalls analog den Syntheseverfahren wie Lottspelch et al. (1980) beschrieben (siehe oben).

Die Peptidester wurden zum Zwecke der C-terminalen Amidierung in üblicher Weise einer Ammonolyse unterworfen.

2) Pharmakologische Wirkungen zweier erfindungsgemäßer Peptide (Tyr-Pro-Phe-Thr-OH und Tyr-Pro-Phe-Thr-Ile-OH).

Die beiden Substanzen zeigen spezifische opiatartige Wirkungen am elektrisch stimulierten plexus myentericus/ Längsmuskel-Präparat des Meerschweinchenlleums (GPI), Methode nach Schulz und Goldstein, J. Pharmacol. Exptl. Ther. 183, 400, 1972.

Die Ergebnisse sind in Tabelle 1 aufgeführt.

Substanz	GPI
Tyr-Pro-Phe-Thr	120,1
Tyr-Pro-Phe-Thr-Ile	290,1
Normorphin	0.1

5 Tabelle 1. Opiatartige Wirkungen zweier
erfindungsgemäßer Peptide; die Zahlen ge-
ben diejenige Konzentration (μM) an, die
notwendig ist, die elektrisch induzierte
10 Kontraktion des Meerschweinchen-Darm-Prä-
parates (GPI) um 50% zu hemmen (IC_{50} -
Wert). Die Zahlen sind Mittelwerte aus
4-5 Bestimmungen; die Standardabweichung
von den Mittelwerten ist kleiner als 13%.
15 Die Hemmungen des GPI sind mit dem spezi-
fischen Opioid-Antagonisten Naloxon auf-
hebbar bzw. bei Vorbehandlung blockierbar.

Die entsprechenden D-Ala²-Verbindungen zeigen noch stär-
kere opiatartige Wirkungen am GPI-Präparat.

20 Opiatartige Wirkungen können auch nach Intracerebroven-
trikulärer Injektion bei Ratten beobachtet werden. Hier-
bei wird so vorgegangen, wie von Brantl et al., Life
Sciences, 28, 1903-1909, 1981 beschrieben wurde. Als
wirksame analgetische Dosis erwiesen sich 400 bis 800 μg
25 der o.g. Peptide; die analgetische Wirkung ist mit Na-
loxon 10 mg pro kg Körpergewicht (Intraperitoneal) auf-
hebbar bzw. bei Vorbehandlung mit Naloxon blockierbar.

Ansprüche

1) Pharmakologisch aktive Peptide der Formel:

Tyr-Pro-Phe-Thr-T

Tyr-Pro-Phe-Thr-A-T

5 Tyr-Pro-Phe-Thr-A-B-T

Tyr-Pro-Phe-Thr-A-B-C-T

Tyr-Pro-Phe-Thr-A-B-C-D-T

Tyr-Pro-Phe-Thr-A-B-C-D-E-T

10 wobei Tyr gleich der Aminosäure Tyrosin, Pro gleich der Aminosäure Prolin, Phe gleich der Aminosäure Phenylalanin und Thr gleich der Aminosäure Threonin ist. A, B, C, D, und E können jede beliebige Aminosäure der D- oder L-Form sein. T steht für OH, OR, NH₂, NHR, NR₂ oder NHNHR', wobei R gegebenenfalls

15 die folgende Bedeutung hat: Substit. lineares oder verzweigtes C₁₋₁₀-Alkyl, Adamantyl, C₁₋₁₀-Cycloalkyl oder C₆₋₈-Aralkyl, zweckmäßigerweise Phenyl, Benzyl oder Phenyläthyl bedeutet und R' Wasserstoff, lineares oder verzweigtes C₁₋₁₀-Alkyl, Cycloalkyl oder C₆₋₈-Aralkyl, lineares, verzweigtes

20 oder cyclisches aliphat. C₁₋₁₆-Acyl, gegebenenfalls durch OH, NH₂, C₁₋₁₄-Alkoxy oder Halogen substituiert, aromatisches Acyl, gegebenenfalls durch OH, NH₂, Halogen oder C₁₋₄-Alkoxy substituiert; lineares

25 verzweigtes oder cyclisches C₃₋₁₁ aliphatisches Urethan darstellt und deren pharmazeutische annehmbare Salze.

2) Pharmakologisch aktive Peptide nach Anspruch 1, dadurch gekennzeichnet, daß A = Isoleucin, Leucin, Serin oder Threonin, B = Isoleucin, Glycin, Serin oder Valin, C = Glycin, Leucin, Threonin, Asparagin oder Arginin, D = Glutamin, Lysin oder Arginin und E = Valin, Asparaginsäure, Leucin oder Arginin ist.

3) Pharmakologisch aktive Peptide nach Anspruch 1 und 2, dadurch gekennzeichnet, daß das Phenylalanin in

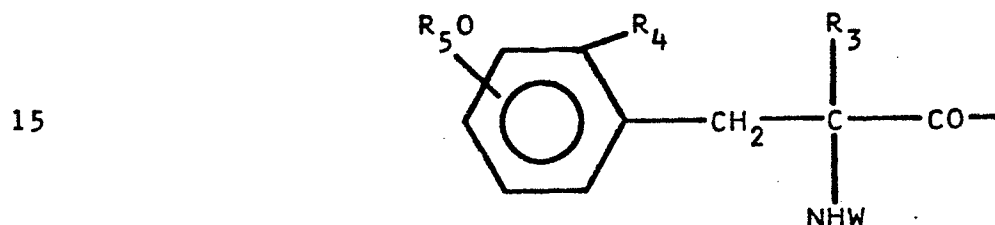
der 3. Aminosäureposition des Peptids (vom linken, N-terminalen Ende des Peptids her gerechnet) in der D-Form vorliegt.

5 4) Pharmakologisch aktive Peptide nach Anspruch 1-3, dadurch gekennzeichnet, daß das Threonin der 4. Aminosäureposition in der D-Form vorliegt.

10 5) Pharmakologisch aktive Peptide nach Anspruch 1-4, dadurch gekennzeichnet, daß die Aminosäure L-Threonin in der 4. Aminosäureposition durch Glutamin, Glycin oder Asparaginsäure ersetzt ist.

6) Pharmakologisch aktive Peptide nach Anspruch 1-5, dadurch gekennzeichnet, daß

a) das N-terminale L-Tyrosin der allgemeinen Formel:



vorliegt, wobei im einzelnen bedeuten:

R_3 für Wasserstoff oder eine Alkylgruppe mit 1 bis 4 C-Atomen,

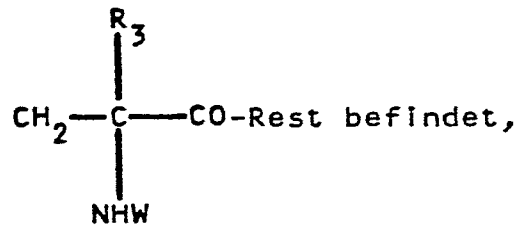
20 R_4 für Wasserstoff oder zusammen mit R_3 für eine Äthylenbrücke,

R_5 für Wasserstoff, eine Alkylgruppe mit 1 bis 4 C-Atomen oder eine R_6CO -Gruppe,

25 R_6 für einen gesättigten oder ungesättigten, geradkettigen oder verzweigten Alkylrest mit 1 bis 17 C-Atomen, einen Phenylrest oder einen Phenylalkylrest mit 7 bis 12 C-Atomen, wobei die Phenylreste durch 1 oder 2 Substituenten aus der Reihe Halogen, Alkyl mit 1 bis 4 C-Atomen oder Alkoxy mit 1 bis 4 C-Atomen substituiert sein können, wobei die R_5O -Gruppe sich in meta- oder

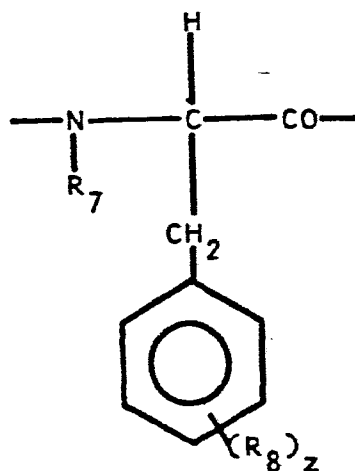
30

para-Stellung zum



5 W für Wasserstoff, Alkyl mit 1 bis 5 C-Atomen
Alkenyl mit 3 bis 5 C-Atomen, Cyclopropylme-
thyl, Cyclobutylmethyl, $\text{R}_6\text{CO-}$, H-Val, H-Ser,
H-Arg, H-Lys, H-Ile, H-Tyr oder H-Phe.

b) Das Phenylalanin der allgemeinen Formel vorliegt:

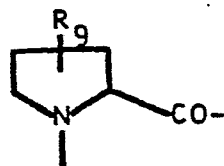


wobei im einzelnen bedeuten:

10 R_7 für Wasserstoff oder Alkyl mit 1 bis 4 C-Atomen,

R_8 für Wasserstoff, Fluor, Chlor, Brom, Nitro,
Alkyl mit 1 bis 4 C-Atomen, z für 1 oder 2
steht.

15 c) das Prolin der allgemeinen Formel vorliegt:



wobei im einzelnen bedeutet:

R_9 für Wasserstoff, eine Hydroxygruppe, eine Alkyl- oder Alkoxygruppe mit 1 oder 4 C-Atomen

- 5 - am Stickstoff eine Alkyl- oder Alkoxygruppe mit 1 bis 4 C-Atomen gebunden ist
 - eine oder mehrere Ketogruppen in den Ring eingeführt sind.

10 7) Pharmakologisch aktive Peptide nach Anspruch 1-6, dadurch gekennzeichnet, daß die Aminosäuren Prolin, Phenylalanin als Dehydroaminosäuren vorliegen.

8) Pharmakologisch aktive Peptide nach Anspruch 1-7, dadurch gekennzeichnet, daß die Peptide folgende Struktur aufweisen:

- 15 Tyr-Pro-Phe-Thr-OH
 Tyr-Pro-Phe-Thr-NH₂
 Tyr-Pro-Phe-Thr-Ile-OH
 Tyr-Pro-Phe-Thr-Ile-Ile-OH
 Tyr-Pro-Phe-Thr-Ile-Ile-Gly-OH
 20 Tyr-Pro-Phe-Thr-Ile-Ile-Gly-Gln-OH
 Tyr-Pro-Phe-Thr-Ile-Ile-Gly-Gln-Val-OH
 Tyr-Pro-D-Phe-Thr-OH
 Tyr-Pro-D-Phe-Thr-NH₂
 Tyr-Pro-D-Phe-Thr-Ile-OH
 25 Tyr-Pro-D-Phe-Thr-Thr-OH
 Tyr-Pro-Phe-D-Thr-Ile-OH
 Tyr-Pro-Phe-D-Thr-Ile-NH₂
 Tyr-Pro-Phe-D-Thr-Thr-OH
 Tyr-Pro-Phe-D-Thr-Thr-NH₂
 30 Tyr-Pro-Phe-Gln-OH
 Tyr-Pro-Phe-Gln-NH₂
 Tyr-Pro-Phe-Gly-NH₂
 Tyr-Pro-Phe-Asp-OH
 Tyr-Pro-Phe-Asp-NH₂
 35 Tyr-Pro-Phe-Thr-Thr-OH
 Tyr-Pro-Phe-Thr-Ser-OH
 Tyr-Pro-Phe-Thr-Leu-OH

- 9) Pharmakologisch aktive Peptide nach Anspruch 1-8
dadurch gekennzeichnet, daß diese Wirkungen auf das
zentrale Nervensystem ausüben.
- 5 10) Pharmakologisch aktive Peptide nach Anspruch 1-8,
dadurch gekennzeichnet, daß diese endokrine Wirkun-
gen auslösen.
- 11) Pharmakologisch aktive Peptide nach Anspruch 1-8,
dadurch gekennzeichnet, daß die Peptide immunmodu-
lierende Wirkungen vermitteln.
- 10 12) Pharmakologisch aktive Peptide nach Anspruch 1-8,
dadurch gekennzeichnet, daß die Peptide eine Akti-
vierung des Zellstoffwechsels bewirken.
- 15 13) Pharmakologisch aktive Peptide nach Anspruch 1-8,
dadurch gekennzeichnet, daß diese nach Kopplung an
Thyreoglobulin oder andere makromolekulare Eiweiß-
körper als Antigene zur Erzeugung von Antikörpern
im Säugetierorganismus verwendet werden.
- 20 14) Pharmakologisch aktive Peptide nach Anspruch 1-8,
dadurch gekennzeichnet, daß die Antikörper gegen
die erfindungsgemäßen Peptide zur Bestimmung der-
selben in Körpergeweben und -Flüssigkeiten verwen-
det werden.
- 25 15) Arzneimittel und Tierarzneimittel, dadurch gekenn-
zeichnet, daß sie die in den Ansprüchen 1-12 cha-
rakterisierten pharmakologisch aktiven Peptide und/
oder deren Derivate und/oder deren Säureadditions-
salze und/oder deren Metallkomplexe enthalten.



Europäisches
Patentamt

EUROPÄISCHER RECHERCHENBERICHT

0199331

Nummer der Anmeldung

EP 86 10 5507

EINSCHLÄGIGE DOKUMENTE			
Kategorie	Kennzeichnung des Dokuments mit Angabe, soweit erforderlich, der maßgeblichen Teile	Betrifft Anspruch	KLASSIFIKATION DER ANMELDUNG (Int. Cl.4)
X,P	CHEMICAL ABSTRACTS, Band 103, 1985, Seite 85, Nr. 82014q, Columbus, Ohio, US; BRANTL, VICTOR et al.: "Novel opioid peptides derived from mitochondrial cytochrome b: cytochromophins" & EUR. J. PHARMACOL. 1985, 111(2), 293-4 * Zusammenfassung * ---	1-3,6, 8-9,10 ,15	C 07 K 7/06 C 07 K 5/10 A 61 K 37/02 G 01 N 33/53
Y	EP-A-0 137 339 (BRANTL) * Insgesamt * ---	1,6,9, 15	
P,Y	EP-A-0 176 070 (BRANTL) * Insgesamt * ---	1,6,9, 15	
A	UNLISTED DRUGS, Band 32, Nr. 10, Oktober 1980, Seite 149; beta-CasM-4 ---	1,9	
A	EP-A-0 053 029 (PENIN LAB.) * Titelseite; Seiten 12,20,26-27 * -----	1,9	

RECHERCHIERTE SACHGEBIETE (Int. Cl.4)	
C 07 K	7/00
C 07 K	5/00
A 61 K	37/00

Der vorliegende Recherchenbericht wurde für alle Patentansprüche erstellt.

Recherchenort DEN HAAG	Abschlußdatum der Recherche 10-07-1986	Prüfer RAJIC M.
---------------------------	---	--------------------

EPA Form 1503 03 B2

KATEGORIE DER GENANNTEN DOKUMENTE

X : von besonderer Bedeutung allein betrachtet
 Y : von besonderer Bedeutung in Verbindung mit einer anderen Veröffentlichung derselben Kategorie
 A : technologischer Hintergrund
 O : nichtschriftliche Offenbarung
 P : Zwischenliteratur
 T : der Erfindung zugrunde liegende Theorien oder Grundsätze

E : älteres Patentedokument, das jedoch erst am oder nach dem Anmeldedatum veröffentlicht worden ist
 D : in der Anmeldung angeführtes Dokument
 L : aus andern Gründen angeführtes Dokument

& : Mitglied der gleichen Patentfamilie, übereinstimmendes Dokument