

[19] 中华人民共和国国家知识产权局

[51] Int. Cl.
A61K 38/00 (2006.01)



[12] 发明专利申请公开说明书

[21] 申请号 200480022286.8

[43] 公开日 2006年11月29日

[11] 公开号 CN 1871020A

[22] 申请日 2004.7.26

[21] 申请号 200480022286.8

[30] 优先权

[32] 2003.8.5 [33] US [31] 60/492,706

[86] 国际申请 PCT/US2004/024183 2004.7.26

[87] 国际公布 WO2005/016953 英 2005.2.24

[85] 进入国家阶段日期 2006.2.5

[71] 申请人 图兰恩教育基金管理人

地址 美国路易斯安那州

共同申请人 美国退伍军人事务部

[72] 发明人 A·V·沙利 J·瓦格加

M·扎兰蒂 蔡仁治

[74] 专利代理机构 中科专利商标代理有限责任公司
代理人 程金山

权利要求书 15 页 说明书 111 页

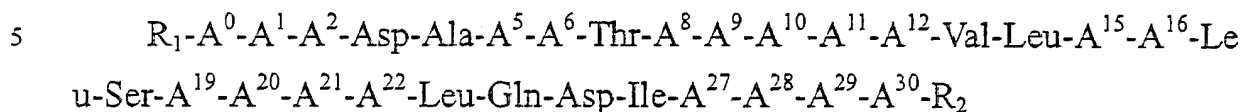
[54] 发明名称

GH - RH 的拮抗类似物(2003)

[57] 摘要

提供一系列新的 hGH - RH (1 - 29) NH₂ 的合成拮抗性类似物。这些类似物抑制垂体 GH - RH 受体上的内源 hGH - RH 的活性，并因此阻止生长激素的释放。所述类似物还通过直接作用在癌细胞上抑制人癌症的增生。与以前描述的那些相比，新类似物的更高抑制功效来自各种氨基酸的取代。

1. 一种肽, 选自具有下式的组:



其中 R_1 是由下列组成的组的成员: a) PhAc, Hca, Dat, IndAc, Ipa, 1-Nac, 2-Nac, 1-Npr, 2-Npr, Ibu; $CH_3(CH_2)_nCO$, 或 $HOOC(CH_2)_nCO$, 其中 n 是 2-20 的整数, 和 b)任何其它 2-30 个碳原子的直链、支链、饱和、
10 不饱和或聚不饱和脂族羧基基团, 以及 3-8 个碳原子的任何碳环或杂环芳香族羧基基团, 在杂环中包含基团 S、N 和 O 的至少一个原子,

A^0 是 Phe, D-Phe, Arg, D-Arg, 或碳-氮单键,

A^1 是 Tyr 或 His,

A^2 是 D-Arg 或 D-Cit,

15 A^5 是 Ile 或 Val,

A^6 是 Phe, Tyr, Nal, 或 Phe(Y), 其中 $Y=F, Cl, Br$, 或 I,

A^8 是 Asn, D-Asn, Cit, D-Cit, Gln, D-Gln, Ser, D-Ser, Thr, D-Thr, Ala, D-Ala, Abu, D-Abu, 或 Aib,

A^9 是 His, D-His, Amp, D-Amp, Gup, 或 D-Gup,

20 A^{10} 是 Tyr, Tyr(Et), Tyr(Me); Phe (Y), 其中 $Y=H, F, Cl, Br$, 或 I; Amp, His, Cha, Chg, Bpa, Dip, Trp, Trp (For), Tpi, 1-Nal, 2-Nal, 3-Pal, 4-Pal, Phe(NH₂), 或 Phe (NO₂),

A^{11} 是 His, D-His, Arg, D-Arg, Cit, Har, D-Har, Amp, D-Amp, Gup, 或 D-Gup,

25 A^{12} 是 Lys, D-Lys, Orn, D-Orn, Har, D-Har, Cit, D-Cit, Nle, 或 Ala,

A^{15} 是 Gly, Ala, Abu, Aib, Nle, Gln, Cit, 或 His,

A^{16} 是 Gln 或 Arg,

A^{19} 是 Ala 或 Abu,

A^{20} 是 His, D-His, Arg, D-Arg, 或 Cit,

30 A^{21} 是 Lys, D-Lys, Orn, D-Orn, Cit, 或 D-Cit,

A²² 是 Leu, Ala 或 Aib,

A²⁷ 是 Met, Leu, Nle, Abu, 或 D-Arg,

A²⁸ 是 Arg, D-Arg, Har, D-Har, Ser, Asn, Asp, Ala, Abu, 或 Cit,

A²⁹ 是 Arg, D-Arg, Har, D-Har, Cit, D-Cit, 或 Agm,

5 A³⁰ 是 Arg, D-Arg, Har, D-Har, Cit, D-Cit, Agm, 或是碳-氮或碳-氧单键,

R₂ 是-NH₂, -NH-NH₂, -NH-OH, -NHR₃, -NR₃R₄, -OH, 或-OR₃, 其中 R₃ 和 R₄ 是 C₁₋₁₀ 烷基, C₂₋₁₀ 链烯基, C₂₋₁₀ 炔烃基, C₇₋₁₆ 苯基烷基, -C₆H₅, 或-CH(C₆H₅)₂ 的任一个; 如果 A²⁹ 是 Agm, 那么 A³⁰ 和 R₂ 是不存在的, 并

10 且如果 A³⁰ 是 Agm, 那么 R₂ 是不存在的, 及其药用盐。

2. 权利要求 1 的化合物, 其中 A¹¹ 和 A²⁰ 的一个或两个是除了 Arg、D-Arg、或 Cit 之外的。

3. 权利要求 1 的化合物, 其选自由下列组成的组:

15 [PhAc-Tyr¹, D-Arg², Phe(pCl)⁵, Amp⁹, Tyr(Me)¹⁰, Abu¹⁵, Nle²⁷, D-Arg²⁸, Har²⁹]hGH-RH(1-29)NH₂
肽 67

[PhAc-Tyr¹, D-Arg², Phe(pCl)⁵, Amp⁹, Abu¹⁵, Nle²⁷, D-Arg²⁸, Har²⁹]hGH-RH(1-29)NH₂
肽 68

20 [PhAc-Tyr¹, D-Arg², Phe(pCl)⁵, His⁹, Tyr(Me)¹⁰, Abu¹⁵, Nle²⁷, D-Arg²⁸, Har²⁹]hGH-RH(1-29)NH₂
肽 69

[CH₃(CH₂)₆CO-Tyr¹, D-Arg², Phe(pCl)⁵, Amp⁹, Tyr(Me)¹⁰, Abu¹⁵, Nle²⁷, D-Arg²⁸, Har²⁹]hGH-RH(1-29)NH₂
肽 70

25 [HOOC(CH₂)₆CO-Tyr¹, D-Arg², Phe(pCl)⁵, Amp⁹, Tyr(Me)¹⁰, Abu¹⁵, Nle²⁷, D-Arg²⁸, Har²⁹]hGH-RH(1-29)NH₂
肽 71

[HOOC(CH₂)₁₂CO-Tyr¹, D-Arg², Phe(pCl)⁵, Amp⁹, Tyr(Me)¹⁰, Abu¹⁵, Nle²⁷, D-Arg²⁸, Har²⁹]hGH-RH(1-29)NH₂
肽 72

[PhAc-Tyr¹, D-Arg², Phe(pCl)⁵, Amp⁹, Tyr(Me)¹⁰, His¹¹, Abu¹⁵, Nle²⁷, D-Arg²⁸, Har²⁹]hGH-RH(1-29)NH₂
肽 73

30

- [PhAc-Tyr¹, D-Arg², Phe(pCl)⁶, Cit⁸, Amp⁹, Tyr(Me)¹⁰, His¹¹, Abu¹⁵, Nle²⁷, D-Arg²⁸, Har²⁹]hGH-RH(1-29)NH₂ 肽 74
- [1-Nac-Tyr¹, D-Arg², Phe(pCl)⁶, Cit⁸, Amp⁹, Tyr(Me)¹⁰, His¹¹, Abu¹⁵, Nle²⁷, D-Arg²⁸, Har²⁹]hGH-RH(1-29)NH₂ 肽 75
- 5 [CH₃(CH₂)₅CO -Tyr¹, D-Arg², Phe(pCl)⁶, Cit⁸, Amp⁹, Tyr(Me)¹⁰, His¹¹, Abu¹⁵, Nle²⁷, D-Arg²⁸, Har²⁹]hGH-RH(1-29)NH₂ 肽 76
- [HOOC(CH₂)₁₂CO -Tyr¹, D-Arg², Phe(pCl)⁶, Cit⁸, Amp⁹, Tyr(Me)¹⁰, His¹¹, Abu¹⁵, Nle²⁷, D-Arg²⁸, Har²⁹]hGH-RH(1-29)NH₂ 肽 77
- 10 [CH₃(CH₂)₅CO -Tyr¹, D-Arg², Phe(pCl)⁶, Cit⁸, Amp⁹, Tyr(Et)¹⁰, His¹¹, Abu¹⁵, Nle²⁷, D-Arg²⁸, Har²⁹]hGH-RH(1-29)NH₂ 肽 78
- [CH₃(CH₂)₅CO -Tyr¹, D-Arg², Phe(pCl)⁶, Cit⁸, His⁹, Tyr(Et)¹⁰, His¹¹, Abu¹⁵, Nle²⁷, D-Arg²⁸, Har²⁹]hGH-RH(1-29)NH₂ 肽 79
- [CH₃(CH₂)₅CO -Tyr¹, D-Arg², Phe(pCl)⁶, Ala⁸, His⁹, Tyr(Et)¹⁰, His¹¹, Abu¹⁵, Nle²⁷, D-Arg²⁸, Har²⁹]hGH-RH(1-29)NH₂ 肽 80
- 15 [HOOC(CH₂)₈CO -Tyr¹, D-Arg², Phe(pCl)⁶, Ala⁸, His⁹, Tyr(Et)¹⁰, His¹¹, Abu¹⁵, Nle²⁷, D-Arg²⁸, Har²⁹]hGH-RH(1-29)NH₂ 肽 81
- [HOOC(CH₂)₁₂CO -Tyr¹, D-Arg², Phe(pCl)⁶, Ala⁸, His⁹, Tyr(Et)¹⁰, His¹¹, Abu¹⁵, Nle²⁷, D-Arg²⁸, Har²⁹]hGH-RH(1-29)NH₂ 肽 82
- 20 [CH₃(CH₂)₅CO-Tyr¹, D-Arg², Phe(pCl)⁶, Ala⁸, His⁹, Tyr(Et)¹⁰, His¹¹, Abu¹⁵, His²⁰, Nle²⁷, D-Arg²⁸, Har²⁹]hGH-RH(1-29)NH₂ 肽 86
- [CH₃(CH₂)₅CO-Tyr¹, D-Arg², Phe(pCl)⁶, Ala⁸, Amp⁹, Tyr(Et)¹⁰, His¹¹, Abu¹⁵, His²⁰, Nle²⁷, D-Arg²⁸, Har²⁹]hGH-RH(1-29)NH₂ 肽 87
- 25 [HOOC(CH₂)₁₂CO-Tyr¹, D-Arg², Phe(pCl)⁶, Ala⁸, His⁹, Tyr(Et)¹⁰, His¹¹, Abu¹⁵, His²⁰, Nle²⁷, D-Arg²⁸, Har²⁹]hGH-RH(1-29)NH₂ 肽 88
- [HOOC(CH₂)₁₂CO-Tyr¹, D-Arg², Phe(pCl)⁶, Ala⁸, Amp⁹, Tyr(Et)¹⁰, His¹¹, Abu¹⁵, His²⁰, Nle²⁷, D-Arg²⁸, Har²⁹]hGH-RH(1-29)NH₂ 肽 89
- [1-Nac-Tyr¹, D-Arg², Phe(pCl)⁶, Ala⁸, His⁹, Tyr(Et)¹⁰, His¹¹, Abu¹⁵, Nle²⁷, D-Arg²⁸, Har²⁹]hGH-RH(1-29)NH₂ 肽 91

- [CH₃(CH₂)₆CO -Tyr¹, D-Arg², Phe(pCl)⁶, His⁹, Tyr(Et)¹⁰, His¹¹, Abu¹⁵, Nle²⁷, D-Arg²⁸, Har²⁹]hGH-RH(1-29)NH₂
肽 92
- [CH₃(CH₂)₆CO -Tyr¹, D-Arg², Phe(pCl)⁶, Ala⁸, His⁹, Cit¹⁵, Nle²⁷, D-Arg²⁸, Har²⁹]hGH-RH(1-29)NH₂
肽 93
- 5 [CH₃(CH₂)₆CO-Tyr¹, D-Arg², Phe(pCl)⁶, Ala⁸, His⁹, Tyr(Et)¹⁰, His¹¹, His¹⁵, His²⁰, Nle²⁷, D-Arg²⁸, Har²⁹]hGH-RH(1-29)NH₂
肽 94
- [CH₃(CH₂)₆CO -Tyr¹, D-Arg², Phe(pCl)⁶, Ala⁸, His⁹, Tyr(Et)¹⁰, His¹¹, Orn¹², Abu¹⁵, Orn²¹, Nle²⁷, D-Arg²⁸, Har²⁹]hGH-RH(1-29)NH₂
肽 95
- 10 [CH₃(CH₂)₆CO -Tyr¹, D-Arg², Phe(pCl)⁶, Ala⁸, His⁹, Tyr(Et)¹⁰, His¹¹, Orn¹², Abu¹⁵, His²⁰, Orn²¹, Nle²⁷, D-Arg²⁸, Har²⁹]hGH-RH(1-29)NH₂
肽 96
- [CH₃(CH₂)₆CO -Tyr¹, D-Arg², Phe(pCl)⁶, Ala⁸, His⁹, Tyr(Et)¹⁰, His¹¹, Abu¹⁵, Nle²⁷, D-Arg²⁸, Har²⁹]hGH-RH(1-29)NHET
肽 97
- [CH₃(CH₂)₆CO -Tyr¹, D-Arg², Phe(pCl)⁶, Ala⁸, His⁹, Tyr(Et)¹⁰, His¹¹, Abu¹⁵, Nle²⁷, D-Arg²⁸, Har²⁹]hGH-RH(1-29)NHET
肽 98
- 15 [CH₃(CH₂)₁₀CO -Tyr¹, D-Arg², Phe(pCl)⁶, Ala⁸, His⁹, Tyr(Et)¹⁰, His¹¹, Abu¹⁵, Nle²⁷, D-Arg²⁸, Har²⁹]hGH-RH(1-29)NHET
肽 99
- [Hca -Tyr¹, D-Arg², Phe(pCl)⁶, Ala⁸, His⁹, Tyr(Et)¹⁰, His¹¹, Abu¹⁵, Nle²⁷, D-Arg²⁸, Har²⁹]hGH-RH(1-29)NHET
肽 100
- 20 [CH₃(CH₂)₆CO -Tyr¹, D-Arg², Phe(pCl)⁶, Ala⁸, His⁹, Tyr(Et)¹⁰, His¹¹, Abu¹⁵, Nle²⁷, D-Arg²⁸, Har²⁹]hGH-RH(1-29)NHMe
肽 101
- [HOOC(CH₂)₁₂CO -Tyr¹, D-Arg², Phe(pCl)⁶, Ala⁸, His⁹, Tyr(Et)¹⁰, His¹¹, Orn¹², Abu¹⁵, His²⁰, Orn²¹, Nle²⁷, D-Arg²⁸, Har²⁹]hGH-RH(1-29)NH₂
肽 102
- 25 [CH₃(CH₂)₆CO -Tyr¹, D-Arg², Phe(pCl)⁶, Ala⁸, Amp⁹, Tyr(Et)¹⁰, His¹¹, Orn¹², Abu¹⁵, His²⁰, Orn²¹, Nle²⁷, D-Arg²⁸, Har²⁹]hGH-RH(1-29)NH₂
肽 103
- [CH₃(CH₂)₆CO -Tyr¹, D-Arg², Phe(pCl)⁶, Ala⁸, His⁹, Dip¹⁰, His¹¹, Orn¹², Abu¹⁵, His²⁰, Orn²¹, Nle²⁷, D-Arg²⁸, Har²⁹]hGH-RH(1-29)NH₂
肽 104
- 30 [CH₃(CH₂)₆CO -Tyr¹, D-Arg², Phe(pCl)⁶, Ala⁸, His⁹, Phe(pNO₂)¹⁰, His¹¹, Orn¹², Abu¹⁵, His²⁰, Orn²¹, Nle²⁷, D-Arg²⁸, Har²⁹]hGH-RH(1-29)NH₂
肽 105

- [CH₃(CH₂)₅CO -Tyr¹, D-Arg², Phe(pCl)⁵, Ala⁸, His⁹, Tyr(Et)¹⁰, His¹¹, Orn¹², Abu¹⁵, His²⁰, Orn²¹, Nle²⁷, D-Arg²⁸, Har²⁹]hGH-RH(1-29)NH₂ 肽 106
- [HOOC(CH₂)₁₂CO -Tyr¹, D-Arg², Phe(pCl)⁵, Ala⁸, Amp⁹, Tyr(Et)¹⁰, His¹¹, Orn¹², Abu¹⁵, His²⁰, Orn²¹, Nle²⁷, D-Arg²⁸, Har²⁹]hGH-RH(1-29)NH₂ 肽 107
- 5 [HOOC(CH₂)₁₂CO -Tyr¹, D-Arg², Phe(pCl)⁵, Ala⁸, His⁹, Dip¹⁰, His¹¹, Orn¹², Abu¹⁵, His²⁰, Orn²¹, Nle²⁷, D-Arg²⁸, Har²⁹]hGH-RH(1-29)NH₂ 肽 108
- [HOOC(CH₂)₁₂CO -Tyr¹, D-Arg², Phe(pCl)⁵, Ala⁸, His⁹, Phe(pNO₂)¹⁰, His¹¹, Orn¹², Abu¹⁵, His²⁰, Orn²¹, Nle²⁷, D-Arg²⁸, Har²⁹]hGH-RH(1-29)NH₂ 肽 109
- 10 [HOOC(CH₂)₁₂CO -Tyr¹, D-Arg², Phe(pCl)⁵, Ala⁸, His⁹, Tyr(Et)¹⁰, His¹¹, Orn¹², Abu¹⁵, His²⁰, Orn²¹, Nle²⁷, D-Arg²⁸, Har²⁹]hGH-RH(1-29)NH₂ 肽 110
- [CH₃(CH₂)₅CO -Tyr¹, D-Arg², Phe(pCl)⁵, Ala⁸, Amp⁹, Dip¹⁰, His¹¹, Orn¹², Abu¹⁵, His²⁰, Orn²¹, Nle²⁷, D-Arg²⁸, Har²⁹]hGH-RH(1-29)NH₂ 肽 111
- [CH₃(CH₂)₅CO -Tyr¹, D-Arg², Phe(pCl)⁵, Ala⁸, Amp⁹, Phe(pNO₂)¹⁰, His¹¹, Orn¹², Abu¹⁵, His²⁰, Orn²¹, Nle²⁷, D-Arg²⁸, Har²⁹]hGH-RH(1-29)NH₂ 肽 112
- 15 [CH₃(CH₂)₅CO -Tyr¹, D-Arg², Phe(pCl)⁵, Ala⁸, Amp⁹, Tyr(Et)¹⁰, His¹¹, Orn¹², Abu¹⁵, His²⁰, Orn²¹, Nle²⁷, D-Arg²⁸, Har²⁹]hGH-RH(1-29)NH₂ 肽 113
- [CH₃(CH₂)₅CO -Tyr¹, D-Arg², Phe(pCl)⁵, Ala⁸, His⁹, Dip¹⁰, His¹¹, Orn¹², Abu¹⁵, His²⁰, Orn²¹, Nle²⁷, D-Arg²⁸, Har²⁹]hGH-RH(1-29)NH₂ 肽 114
- 20 [CH₃(CH₂)₅CO -Tyr¹, D-Arg², Phe(pCl)⁵, Ala⁸, His⁹, Phe(pNO₂)¹⁰, His¹¹, Orn¹², Abu¹⁵, His²⁰, Orn²¹, Nle²⁷, D-Arg²⁸, Har²⁹]hGH-RH(1-29)NH₂ 肽 115
- [HOOC(CH₂)₁₂CO -Tyr¹, D-Arg², Phe(pCl)⁵, Ala⁸, Amp⁹, Dip¹⁰, His¹¹, Orn¹², Abu¹⁵, His²⁰, Orn²¹, Nle²⁷, D-Arg²⁸, Har²⁹]hGH-RH(1-29)NH₂ 肽 116
- 25 [HOOC(CH₂)₁₂CO -Tyr¹, D-Arg², Phe(pCl)⁵, Ala⁸, Amp⁹, Phe(pNO₂)¹⁰, His¹¹, Orn¹², Abu¹⁵, His²⁰, Orn²¹, Nle²⁷, D-Arg²⁸, Har²⁹]hGH-RH(1-29)NH₂ 肽 117
- [CH₃(CH₂)₅CO -Tyr¹, D-Arg², Phe(pCl)⁵, Ala⁸, Amp⁹, Dip¹⁰, His¹¹, Orn¹², Abu¹⁵, His²⁰, Orn²¹, Nle²⁷, D-Arg²⁸, Har²⁹]hGH-RH(1-29)NH₂ 肽 118
- [CH₃(CH₂)₅CO -Tyr¹, D-Arg², Phe(pCl)⁵, Ala⁸, Amp⁹, Phe(pNO₂)¹⁰, His¹¹, Orn¹², Abu¹⁵, His²⁰, Orn²¹, Nle²⁷, D-Arg²⁸, Har²⁹]hGH-RH(1-29)NH₂ 肽 119

[HOOC(CH₂)₁₂CO -Tyr¹, D-Arg², Phe(pCl)⁶, Ala⁸, Amp⁹, Dip¹⁰, His¹¹, Orn¹², Abu¹⁵, His²⁰, Orn²¹, Nle²⁷, D-Arg²⁸, Har²⁹]hGH-RH(1-29)NH₂ 肽 120

[HOOC(CH₂)₁₂CO -Tyr¹, D-Arg², Phe(pCl)⁶, Ala⁸, Amp⁹, Phe(pNO₂)¹⁰, His¹¹, Orn¹², Abu¹⁵, His²⁰, Orn²¹, Nle²⁷, D-Arg²⁸, Har²⁹]hGH-RH(1-29)NH₂ 肽 121

4.权利要求 3 的化合物, 其选自由下列组成的组:

5 [PhAc-Tyr¹, D-Arg², Phe(pCl)⁶, Amp⁹, Tyr(Me)¹⁰, Abu¹⁵, Nle²⁷, D-Arg²⁸, Har²⁹]hGH-RH(1-29)NH₂
肽 67

[PhAc-Tyr¹, D-Arg², Phe(pCl)⁶, His⁹, Tyr(Me)¹⁰, Abu¹⁵, Nle²⁷, D-Arg²⁸, Har²⁹]hGH-RH(1-29)NH₂
肽 69

10 [CH₃(CH₂)₆CO-Tyr¹, D-Arg², Phe(pCl)⁶, Amp⁹, Tyr(Me)¹⁰, Abu¹⁵, Nle²⁷, D-Arg²⁸, Har²⁹]hGH-RH(1-29)NH₂ 肽 70

[HOOC(CH₂)₁₂CO-Tyr¹, D-Arg², Phe(pCl)⁶, Amp⁹, Tyr(Me)¹⁰, Abu¹⁵, Nle²⁷, D-Arg²⁸, Har²⁹]hGH-RH(1-29)NH₂ 肽 72

15 [CH₃(CH₂)₆CO -Tyr¹, D-Arg², Phe(pCl)⁶, Cit⁸, Amp⁹, Tyr(Me)¹⁰, His¹¹, Abu¹⁵, Nle²⁷, D-Arg²⁸, Har²⁹]hGH-RH(1-29)NH₂ 肽 76

[HOOC(CH₂)₁₂CO -Tyr¹, D-Arg², Phe(pCl)⁶, Cit⁸, Amp⁹, Tyr(Me)¹⁰, His¹¹, Abu¹⁵, Nle²⁷, D-Arg²⁸, Har²⁹]hGH-RH(1-29)NH₂ 肽 77

[CH₃(CH₂)₆CO -Tyr¹, D-Arg², Phe(pCl)⁶, Cit⁸, His⁹, Tyr(Et)¹⁰, His¹¹, Abu¹⁵, Nle²⁷, D-Arg²⁸, Har²⁹]hGH-RH(1-29)NH₂ 肽 79

20 [CH₃(CH₂)₆CO -Tyr¹, D-Arg², Phe(pCl)⁶, Ala⁸, His⁹, Tyr(Et)¹⁰, His¹¹, Abu¹⁵, Nle²⁷, D-Arg²⁸, Har²⁹]hGH-RH(1-29)NH₂ 肽 80

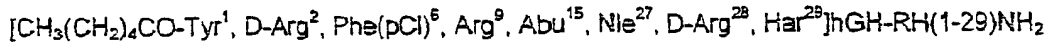
[CH₃(CH₂)₆CO-Tyr¹, D-Arg², Phe(pCl)⁶, Ala⁸, His⁹, Tyr(Et)¹⁰, His¹¹, Abu¹⁵, His²⁰, Nle²⁷, D-Arg²⁸, Har²⁹]hGH-RH(1-29)NH₂ 肽 86

25 [CH₃(CH₂)₆CO -Tyr¹, D-Arg², Phe(pCl)⁶, Ala⁸, His⁹, Tyr(Et)¹⁰, His¹¹, Orn¹², Abu¹⁵, Orn²¹, Nle²⁷, D-Arg²⁸, Har²⁹]hGH-RH(1-29)NH₂ 肽 95

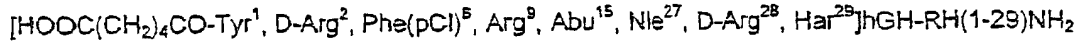
[CH₃(CH₂)₆CO -Tyr¹, D-Arg², Phe(pCl)⁶, Ala⁸, His⁹, Tyr(Et)¹⁰, His¹¹, Orn¹², Abu¹⁵, His²⁰, Orn²¹, Nle²⁷, D-Arg²⁸, Har²⁹]hGH-RH(1-29)NH₂ 肽 96

30 [CH₃(CH₂)₆CO -Tyr¹, D-Arg², Phe(pCl)⁶, Ala⁸, His⁹, Tyr(Et)¹⁰, His¹¹, Abu¹⁵, Nle²⁷, D-Arg²⁸, Har²⁹]hGH-RH(1-29)NH₂ 肽 97

5.一种化合物,其选自由下列组成的组中:

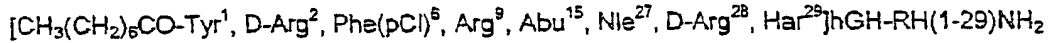


肽 2

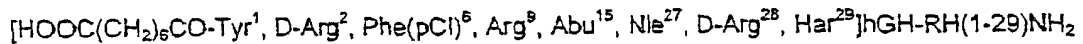


5

肽 3

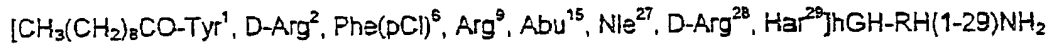


肽 4

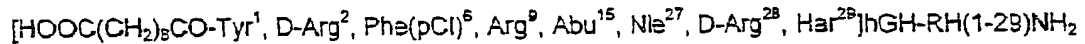


肽 5

10

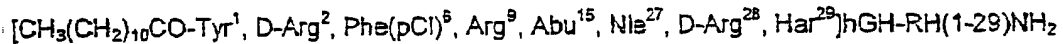


肽 6

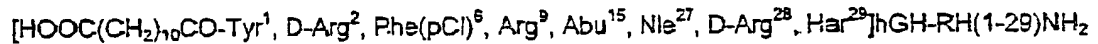


肽 7

15

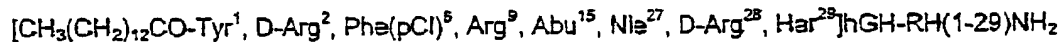


肽 8

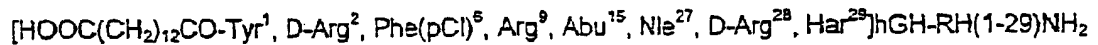


肽 9

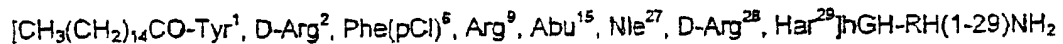
20



肽 10

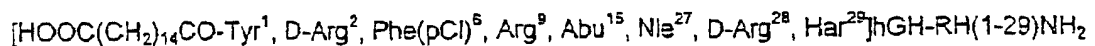


肽 11

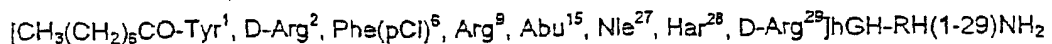


肽 12

25



肽 13



肽 14

30

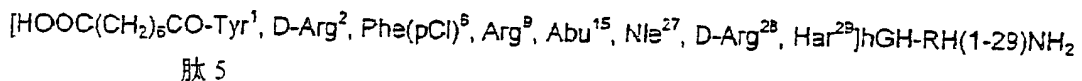
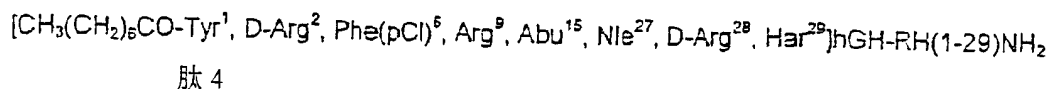
- [PhAc-Tyr¹, D-Arg², Phe(pCl)⁶, Arg⁹, Abu¹⁵, Nie²⁷, Har²⁸, D-Arg²⁸]hGH-RH(1-29)NH₂
肽 15
- [CH₃(CH₂)₁₄CO-Phe⁰, D-Arg², Phe(pCl)⁶, Arg⁹, Abu¹⁵, Nie²⁷, D-Arg²⁸, Har²⁸]hGH-RH(1-29)NH₂
肽 16
- 5 [CH₃(CH₂)₁₄CO-D-Phe⁰, D-Arg², Phe(pCl)⁶, Arg⁹, Abu¹⁵, Nie²⁷, D-Arg²⁸, Har²⁸]hGH-RH(1-29)NH₂
肽 17
- [PhAc-Arg⁰, D-Arg², Phe(pCl)⁶, Arg⁹, Abu¹⁵, Nie²⁷, D-Arg²⁸, Har²⁸]hGH-RH(1-29)NH₂
肽 18
- 10 [PhAc-D-Arg⁰, D-Arg², Phe(pCl)⁶, Arg⁹, Abu¹⁵, Nie²⁷, D-Arg²⁸, Har²⁸]hGH-RH(1-29)NH₂
肽 19
- [PhAc-Tyr¹, D-Arg², Phe(pCl)⁶, Cit⁸, Arg⁹, Abu¹⁵, Nie²⁷, D-Arg²⁸, Har²⁸]hGH-RH(1-29)NH₂
肽 21
- 15 [PhAc-Tyr¹, D-Arg², Phe(pCl)⁶, Cit⁸, Cit⁹, Abu¹⁵, Nie²⁷, D-Arg²⁸, Har²⁸]hGH-RH(1-29)NH₂
肽 22
- [PhAc-Tyr¹, D-Arg², Phe(pCl)⁶, Cit⁸, Arg⁹, Abu¹⁵, Nie²⁷, Har²⁸, D-Arg²⁸]hGH-RH(1-29)NH₂
肽 23
- [PhAc-Tyr¹, D-Arg², Phe(pCl)⁶, Cit⁸, Cit⁹, Abu¹⁵, Nie²⁷, Har²⁸, D-Arg²⁸]hGH-RH(1-29)NH₂
肽 24
- 20 [HOOC(CH₂)₁₂CO-Tyr¹, D-Arg², Phe(pCl)⁶, Cit⁸, Cit⁹, Abu¹⁵, Nie²⁷, D-Arg²⁸, Har²⁸]hGH-RH(1-29)NH₂
肽 25
- [PhAc-Tyr¹, D-Arg², Phe(pCl)⁶, D-Ala⁸, Arg⁹, Abu¹⁵, Nie²⁷, D-Arg²⁸, Har²⁸]hGH-RH(1-29)NH₂
肽 26
- 25 [PhAc-Tyr¹, D-Arg², Phe(pCl)⁶, Abu⁸, Arg⁹, Abu¹⁵, Nie²⁷, D-Arg²⁸, Har²⁸]hGH-RH(1-29)NH₂
肽 27
- [PhAc-Tyr¹, D-Arg², Phe(pCl)⁶, Cit⁹, Abu¹⁵, Nie²⁷, Har²⁸, D-Arg²⁸]hGH-RH(1-29)NH₂
肽 28
- 30

- [PhAc-Tyr¹, D-Arg², Phe(pCl)⁶, Arg⁹, Amp¹⁰, Abu¹⁵, Nie²⁷, D-Arg²⁸, Har²⁹]hGH-RH(1-29)NH₂
肽 30
- [PhAc-Tyr¹, D-Arg², Phe(pCl)⁶, Har⁹, Amp¹⁰, Abu¹⁵, Nie²⁷, D-Arg²⁸, Har²⁹]hGH-RH(1-29)NH₂
肽 31
- 5 [PhAc-Tyr¹, D-Arg², Phe(pCl)⁶, Arg⁹, His¹⁰, Abu¹⁵, Nie²⁷, D-Arg²⁸, Har²⁹]hGH-RH(1-29)NH₂
肽 32
- [PhAc-Tyr¹, D-Arg², Phe(pCl)⁶, Arg⁹, Cha¹⁰, Abu¹⁵, Nie²⁷, D-Arg²⁸, Har²⁹]hGH-RH(1-29)NH₂
肽 33
- 10 [PhAc-Tyr¹, D-Arg², Phe(pCl)⁶, Har⁹, Tpi¹⁰, Abu¹⁵, Nie²⁷, D-Arg²⁸, Har²⁹]hGH-RH(1-29)NH₂
肽 34
- [PhAc-Tyr¹, D-Arg², Phe(pCl)⁶, Har⁹, 2-Nal¹⁰, Abu¹⁵, Nie²⁷, D-Arg²⁸, Har²⁹]hGH-RH(1-29)NH₂
肽 35
- [PhAc-Tyr¹, D-Arg², Phe(pCl)⁶, Har⁹, Dip¹⁰, Abu¹⁵, Nie²⁷, D-Arg²⁸, Har²⁹]hGH-RH(1-29)NH₂
15 肽 36
- [PhAc-Tyr¹, D-Arg², Phe(pCl)⁶, Har⁹, Phe(pNH₂)¹⁰, Abu¹⁵, Nie²⁷, D-Arg²⁸, Har²⁹]hGH-RH(1-29)NH₂
肽 37
- [PhAc-Tyr¹, D-Arg², Phe(pCl)⁶, Har⁹, Trp¹⁰, Abu¹⁵, Nie²⁷, D-Arg²⁸, Har²⁹]hGH-RH(1-29)NH₂
肽 38
- 20 [PhAc-Tyr¹, D-Arg², Phe(pCl)⁶, Har⁹, Phe(pNO₂)¹⁰, Abu¹⁵, Nie²⁷, D-Arg²⁸, Har²⁹]hGH-RH(1-29)NH₂
肽 39
- [PhAc-Tyr¹, D-Arg², Phe(pCl)⁶, Har⁹, 3-Pal¹⁰, Abu¹⁵, Nie²⁷, D-Arg²⁸, Har²⁹]hGH-RH(1-29)NH₂
肽 40
- 25 [PhAc-Tyr¹, D-Arg², Phe(pCl)⁶, Har⁹, Tyr(Et)¹⁰, Abu¹⁵, Nie²⁷, D-Arg²⁸, Har²⁹]hGH-RH(1-29)NH₂
肽 41
- [PhAc-His¹, D-Arg², Tyr⁶, Har⁹, Bpa¹⁰, Abu¹⁵, Nie²⁷, D-Arg²⁸, Har²⁹]hGH-RH(1-29)NH₂
肽 42

- [PhAc-Tyr¹, D-Arg², Phe(pCl)⁶, Arg⁹, Har¹², Abu¹⁵, Nle²⁷, D-Arg²⁸, Har²⁹]hGH-RH(1-29)NH₂
肽 43
- [Hca-Tyr¹, D-Arg², Phe(pCl)⁶, Har⁹, Tyr(Me)¹⁰, Abu¹⁵, Nle²⁷, D-Arg²⁸, Har²⁹]hGH-RH(1-29)NH₂
肽 45
- 5 [PhAc-Tyr¹, D-Arg², Phe(pCl)⁶, Har⁹, Tyr(Me)¹⁰, Abu¹⁵, Nle²⁷, D-Arg²⁸, Har²⁹]hGH-RH(1-29)NH₂
肽 46
- [Hca-Tyr¹, D-Arg², Phe(pCl)⁶, Arg⁹, Abu¹⁵, Nle²⁷, D-Arg²⁸, Har²⁹]hGH-RH(1-29)NH₂
肽 47
- 10 [PhAc-Tyr¹, D-Arg², Phe(pCl)⁶, Arg⁹, Abu¹⁵, Nle²⁷, D-Arg²⁸, Har²⁹]hGH-RH(1-29)NH₂
肽 48
- [PhAc-Tyr¹, D-Arg², Phe(pCl)⁶, Har⁹, Tyr(Me)¹⁰, Aib¹⁵, Nle²⁷, D-Arg²⁸, Har²⁹]hGH-RH(1-29)NH₂
肽 49
- 15 [PhAc-Tyr¹, D-Arg², Phe(pCl)⁶, Har⁹, Tyr(Me)¹⁰, Orn¹², Abu¹⁵, Nle²⁷, D-Arg²⁸, Har²⁹]hGH-RH(1-29)NH₂
肽 50
- [Hca-Tyr¹, D-Arg², Phe(pCl)⁶, Har⁹, Tyr(Me)¹⁰, Abu¹⁵, Nle²⁷, D-Arg²⁸, Agm²⁹]hGH-RH(1-29)
肽 51
- [PhAc-Tyr¹, D-Arg², Phe(pCl)⁶, Har⁹, Tyr(Me)¹⁰, Abu¹⁵, Nle²⁷, D-Arg²⁸, Agm²⁹]hGH-RH(1-29)
肽 52
- 20 [Hca-Tyr¹, D-Arg², Phe(pCl)⁶, Har⁹, Tyr(Me)¹⁰, Abu¹⁵, Nle²⁷, D-Arg²⁸, Har²⁹, Har³⁰]hGH-RH(1-30)NH₂
肽 53
- [Dat-Tyr¹, D-Arg², Phe(pCl)⁶, Har⁹, Tyr(Me)¹⁰, Abu¹⁵, Nle²⁷, D-Arg²⁸, Har²⁹, Har³⁰]hGH-RH(1-30)NH₂
肽 54
- 25 [Ipa-Tyr¹, D-Arg², Phe(pCl)⁶, Har⁹, Tyr(Me)¹⁰, Abu¹⁵, Nle²⁷, D-Arg²⁸, Har²⁹, Har³⁰]hGH-RH(1-30)NH₂
肽 55
- [Hca-Tyr¹, D-Arg², Phe(pCl)⁶, Har⁹, Tyr(Me)¹⁰, Abu¹⁵, Nle²⁷, D-Arg²⁸, Har²⁹, Har³⁰]hGH-RH(1-30)NH₂
肽 56
- 30

- [Hca-Tyr¹, D-Arg², Phe(pCl)⁶, Har⁹, Tyr(Me)¹⁰, Abu¹⁵, Nle²⁷, D-Arg²⁸, D-Arg²⁹, Har³⁰]hGH-RH(1-30)NH₂ 肽 57
- [Hca-Tyr¹, D-Arg², Phe(pCl)⁶, Har⁹, Tyr(Me)¹⁰, Abu¹⁵, Nle²⁷, D-Arg²⁸, Har²⁹, D-Arg³⁰]hGH-RH(1-30)NH₂ 肽 58
- 5 [Hca-Tyr¹, D-Arg², Phe(pCl)⁶, Har⁹, Tyr(Me)¹⁰, Abu¹⁵, Nle²⁷, D-Arg²⁸, Har²⁹, Agm³⁰]hGH-RH(1-30) 肽 59
- [PhAc-Tyr¹, D-Arg², Phe(pCl)⁶, Har⁹, Tyr(Me)¹⁰, Abu¹⁵, Nle²⁷, D-Arg²⁸, Har²⁹, Agm³⁰]hGH-RH(1-30) 肽 60
- 10 [PhAc-Tyr¹, D-Arg², Phe(pCl)⁶, Har⁹, Tyr(Me)¹⁰, His¹¹, Abu¹⁵, Nle²⁷, D-Arg²⁸, Har²⁹]hGH-RH(1-29)NH₂ 肽 62
- [PhAc-Tyr¹, D-Arg², Phe(pCl)⁶, Har⁹, Tyr(Me)¹⁰, Har¹¹, Abu¹⁵, Nle²⁷, D-Arg²⁸, Har²⁹]hGH-RH(1-29)NH₂ 肽 63
- [PhAc-Tyr¹, D-Arg², Phe(pCl)⁶, Har⁹, Tyr(Me)¹⁰, Amp¹¹, Abu¹⁵, Nle²⁷, D-Arg²⁸, Har²⁹]hGH-RH(1-29)NH₂ 肽 64
- 15 [PhAc-Tyr¹, D-Arg², Phe(pCl)⁶, Har⁹, Tyr(Me)¹⁰, Cit¹¹, Abu¹⁵, Nle²⁷, D-Arg²⁸, Har²⁹]hGH-RH(1-29)NH₂ 肽 65
- [PhAc-Tyr¹, D-Arg², Phe(pCl)⁶, Har⁹, Tyr(Me)¹⁰, Abu¹⁵, His²⁰, Nle²⁷, D-Arg²⁸, Har²⁹]hGH-RH(1-29)NH₂ 肽 84
- 20 [PhAc-Tyr¹, D-Arg², Phe(pCl)⁶, Har⁹, Tyr(Me)¹⁰, His¹¹, Abu¹⁵, His²⁰, Nle²⁷, D-Arg²⁸, Har²⁹]hGH-RH(1-29)NH₂ 肽 85
- [PhAc-Tyr¹, D-Arg², Phe(pCl)⁶, Arg⁹, Cit¹⁵, Nle²⁷, D-Arg²⁸, Har²⁹]hGH-RH(1-29)NH₂ 肽 90

25 6. 权利要求 5 的肽，其选自由下列组成的组中：



30

[HOOC(CH₂)₈CO-Tyr¹, D-Arg², Phe(pCl)⁶, Arg⁹, Abu¹⁵, Nle²⁷, D-Arg²⁸, Har²⁹]hGH-RH(1-29)NH₂
肽 7

[HOOC(CH₂)₁₂CO-Tyr¹, D-Arg², Phe(pCl)⁶, Arg⁹, Abu¹⁵, Nle²⁷, D-Arg²⁸, Har²⁹]hGH-RH(1-29)NH₂
肽 11:

5 [PhAc-Tyr¹, D-Arg², Phe(pCl)⁶, Cit⁸, Cit⁹, Abu¹⁵, Nle²⁷, D-Arg²⁸, Har²⁹]hGH-RH(1-29)NH₂
肽 22

[PhAc-Tyr¹, D-Arg², Phe(pCl)⁶, Har⁹, 2-Nal¹⁰, Abu¹⁵, Nle²⁷, D-Arg²⁸, Har²⁹]hGH-RH(1-29)NH₂
肽 35

10 [PhAc-Tyr¹, D-Arg², Phe(pCl)⁶, Har⁹, Dip¹⁰, Abu¹⁵, Nle²⁷, D-Arg²⁸, Har²⁹]hGH-RH(1-29)NH₂
肽 36

[PhAc-Tyr¹, D-Arg², Phe(pCl)⁶, Har⁹, Phe(pNO₂)¹⁰, Abu¹⁵, Nle²⁷, D-Arg²⁸, Har²⁹]hGH-RH(1-29)NH₂
肽 39

[PhAc-Tyr¹, D-Arg², Phe(pCl)⁶, Har⁹, Tyr(Et)¹⁰, Abu¹⁵, Nle²⁷, D-Arg²⁸, Har²⁹]hGH-RH(1-29)NH₂
15 肽 41

[PhAc-Tyr¹, D-Arg², Phe(pCl)⁶, Har⁹, Tyr(Me)¹⁰, His¹¹, Abu¹⁵, Nle²⁷, D-Arg²⁸, Har²⁹]hGH-RH(1-29)NH₂
肽 62

7. 权利要求 5 的肽，其选自由下列组成的组中：

20 [CH₃(CH₂)₆CO-Tyr¹, D-Arg², Phe(pCl)⁶, Arg⁹, Abu¹⁵, Nle²⁷, D-Arg²⁸, Har²⁹]hGH-RH(1-29)NH₂
肽 4

[HOOC(CH₂)₈CO-Tyr¹, D-Arg², Phe(pCl)⁶, Arg⁹, Abu¹⁵, Nle²⁷, D-Arg²⁸, Har²⁹]hGH-RH(1-29)NH₂
肽 7

[PhAc-Tyr¹, D-Arg², Phe(pCl)⁶, Cit⁸, Arg⁹, Abu¹⁵, Nle²⁷, D-Arg²⁸, Har²⁹]hGH-RH(1-29)NH₂
25 肽 21

[PhAc-Tyr¹, D-Arg², Phe(pCl)⁶, Arg⁹, Amp¹⁰, Abu¹⁵, Nle²⁷, D-Arg²⁸, Har²⁹]hGH-RH(1-29)NH₂
肽 30

[PhAc-Tyr¹, D-Arg², Phe(pCl)⁶, Har⁹, Amp¹⁰, Abu¹⁵, Nle²⁷, D-Arg²⁸, Har²⁹]hGH-RH(1-29)NH₂
肽 31

30

[PhAc-Tyr¹, D-Arg², Phe(pCl)⁶, Har⁹, Phe(pNH₂)¹⁰, Abu¹⁵, Nle²⁷, D-Arg²⁸, Har²⁹]hGH-RH(1-29)NH₂
肽 37

[PhAc-Tyr¹, D-Arg², Phe(pCl)⁶, Har⁹, Tyr(Et)¹⁰, Abu¹⁵, Nle²⁷, D-Arg²⁸, Har²⁹]hGH-RH(1-29)NH₂
肽 41

5 [PhAc-His¹, D-Arg², Tyr⁶, Har⁹, Bpa¹⁰, Abu¹⁵, Nle²⁷, D-Arg²⁸, Har²⁹]hGH-RH(1-29)NH₂
肽 42

[PhAc-Tyr¹, D-Arg², Phe(pCl)⁶, Har⁹, Tyr(Me)¹⁰, His¹¹, Abu¹⁵, Nle²⁷, D-Arg²⁸, Har²⁹]hGH-RH(1-
29)NH₂ 肽 62

8.权利要求 1 或 5 的任一项的化合物在制备药物组合物中的应用, 所述药
10 物组合物用于在需要抑制 GH 水平的患者中抑制 GH 水平。

9.权利要求 1 或 5 的任一项的化合物在制备药物组合物中的应用, 所述药
物组合物抑制患者的肿瘤组织中的 IGF-I 或 IGF-II 的水平, 所述患者患有
携带 IGF-I 受体的癌症。

10.权利要求 1 或 5 的任一项的化合物在制备药物组合物中的应用, 所述药
15 物组合物抑制患有癌症的患者的肿瘤组织中的 VEGF 水平。

11.权利要求 1 或 5 的任一项的化合物在制备药物组合物中的应用, 所述药
物组合物用于在需要抑制 IGF-I 水平的患者中抑制 IGF-I 水平。

12.权利要求 1 或 5 的任一项的化合物在制备药物组合物中的应用, 所述药
20 物组合物抑制患者中的血清 IGF-I 水平, 所述患者患有携带 IGF-I 的受体的
癌症。

13.权利要求 1 或 5 的任一项的化合物在制备药物组合物中的应用, 所述药
物组合物抑制患者中的 GH 水平, 所述患者具有携带 IGF-I 或 GH 的受体的
癌症。

14.权利要求 1 或 5 的任一项的化合物在制备药物组合物中的应用, 所述药
25 物组合物阻断患者中的 GH-RH 受体, 所述患者患有携带 GH-RH 的受体的
癌症。

15.在需要抑制 GH 水平的患者中抑制 GH 水平的方法, 其通过给所述患者
施用抑制有效量的权利要求 1 或 5 的任一项的化合物来进行。

16. 在患有癌症的患者肿瘤组织中抑制 IGF-I 或 IGF-II 水平的方法, 所述
30 癌症携带 IGF-I 的受体, 所述方法通过给所述患者施用抑制有效量的权利

要求 1 或 5 的任一项的化合物进行。

17.抑制患有癌症的患者肿瘤组织中的 VEGF 的水平的方法，其通过给所述患者施用抑制有效量的权利要求 1 或 5 的任一项的化合物进行。

18.在需要抑制 IGF-I 水平的患者中抑制 IGF-I 水平的方法，其通过给所述患者施用抑制有效量的权利要求 1 或 5 的任一项的化合物进行。

19. 在患有癌症的患者中抑制血清 IGF-I 的水平的方法，所述癌症携带 IGF-I 的受体，所述方法通过给所述患者施用抑制有效量的权利要求 1 或 5 的任一项的化合物进行。

20. 在患有癌症的患者中抑制 GH 的水平的方法，所述癌症携带 IGF-I 或 GH 的受体，所述方法通过给所述患者施用抑制有效量的权利要求 1 或 5 的任一项的化合物进行。

21.治疗患有癌症的患者的方法，所述癌症携带 GH-RH 的受体，所述方法通过向所述患者施用有效封闭所述 GH-RH 受体的量的权利要求 1 或 5 任一项的化合物进行。

22.一种抑制患者中 GH 的水平的可通过药理学给药的组合物，其基本由权利要求 1 或 5 的化合物和药用载体组成。

23.一种抑制患者肿瘤组织中 IGF-I 或 IGF-II 的水平的可通过药理学给药的组合物，其基本由权利要求 1，或 5 的化合物和药用载体组成，所述患者患有携带 IGF-I 受体的癌症。

24.一种抑制患有癌症的患者肿瘤组织中 VEGF 的水平的可通过药理学给药的组合物，其基本由权利要求 1 或 5 的化合物和药用载体组成。

25.一种抑制患者中 IGF-I 的水平的可通过药理学给药的组合物，其基本由权利要求 1 或 5 的化合物和药用载体组成。

26. 一种抑制患者 GH 的水平的可通过药理学给药的组合物，其基本由权利要求 1 或 5 的化合物和药用载体组成，所述患者患有携带 IGF-I 或 GH 的受体的癌症。

27. 一种抑制患者的 IGF-I 的水平的可通过药理学给药的组合物，其基本由权利要求 1 或 5 的化合物和药用载体组成，所述患者患有携带 IGF-I 的受体的癌症。

28.一种封闭患者中 GH-RH 的受体的可通过药理学给药的组合物，其基本

由权利要求 1 或 5 的化合物和药用载体组成，所述患者患有携带 GH-RH 受体的癌症。

5

GH-RH 的拮抗类似物(2003)

5 发明领域

本发明部分由 Medical Research Service of the Veterans Affairs Department 的政府支持完成。该政府对本申请具有一定权利(VA No.03-084, 2003年7月25日转让)。

10 本发明涉及新的合成肽,其抑制来自哺乳动物垂体的生长激素的释放并抑制通过直接影响癌细胞抑制人癌症的增殖,以及涉及包含这些新肽的治疗组合物。

发明背景

15 生长激素释放激素(GH-RH)是一种属于神经内分泌和胃肠激素的促胰液素/胰高血糖素家族,该家族还包括血管活性肠肽(VIP),垂体腺苷酸环化酶活化肽(PACAP)和其它。人 GH-RH (hGH-RH)肽由 44 个氨基酸残基组成。GH-RH 的产生的已知最佳位点是下丘脑,但是发现各种外周器官也合成它。hGH-RH 有时也大量的由多起源的人恶性组织(癌症)产生。

20 GH-RH 发挥各种生理学和病理生理学功能。下丘脑 GH-RH 是一种内分泌释放激素,其通过特异性 GH-RH 受体作用在垂体上,调节垂体生长激素(GH)的分泌。GH-RH 在垂体外(extrapituitary)组织中的生理功能较不清楚。然而,有越来越多的关于 GH-RH 在各种癌症中作为自分泌/旁分泌生长因子的作用的证据。不同于表达在垂体中的那些的 GH-RH 的剪接变体(SV)受体,已经在广泛多种的人癌症和一些正常外周器官中有所描述。
25 肿瘤自分泌/旁分泌 GH-RH 的作用可以被施加在这些受体上。此外, VIP 的受体和其它,如该家族尚未鉴定的受体都可成为局部 GH-RH 的靶向。

鉴于 GH-RH 作为 GH 释放的内分泌调节剂的作用,基于 GH-RH 的激动和拮抗性类似物的应用,已经设计了新的治疗策略来治疗各种病理条件。

30 GH 是一种具有 191 个氨基酸的多肽,其刺激不同生长因子,例如胰

胰岛素样生长因子 I (IGF-I), 的产生, 并因此刺激许多组织(骨骼、结缔组织、肌肉和内脏)的生长和刺激各种生理学活性(增加核酸和蛋白质的合成, 并增加脂解作用, 但是降低尿素分泌)。垂体 GH 的释放受由下丘脑分泌的释放因子和抑制因子的控制, 主要的释放因子是 GH-RH 和 ghrelin, 并且主要的抑制因子是促生长激素抑制素。

GH 已涉及数种疾病。GH 涉及的一种疾病是肢端巨大症, 其中存在过量水平的 GH。该疾病的异常增大的面和肢骨, 以及心血管症状可通过施用 GH-RH 拮抗剂进行治疗。涉及 GH 的另外的疾病是糖尿病性视网膜病和糖尿病性肾病。在这些疾病中分别对视网膜和肾的损伤, 导致失明或肾功能的衰退, 认为所述损伤是由于 GH 的分泌过多。可通过施用有效的 GH-RH 拮抗剂来阻止或减缓该损伤。

在干预这些疾病和其它疾病的努力中, 一些研究者已尝试通过应用促生长激素抑制素的类似物, 一种 GH 释放的抑制剂来控制 GH 和 IGF-I 的水平。然而, 如果单独施用, 促生长激素抑制素的类似物没有抑制 GH 或 IGF-I 的水平到理想的程度。如果与 GH-RH 拮抗剂结合施用, 促生长激素抑制素类似物将更好地抑制 IGF-I 水平。

然而, GH-RH 拮抗剂主要应用在癌症领域中(综述于 Schally AV and Varga JL, Trends Endocrinol Metab 10 : 383-391, 1999 ; Schally AV et al, Frontiers Neuroendocrinol 22:248-291, 2001; Schally AV and Comaru-Schally AM, in : Kufe DW, Pollock RE, Weichselbaum RR, Bast Jr. RC, Gansler TS, Holland JF, Frei III E, Eds. Cancer Medicine, 第 6 版. Hamilton, Ontario: BC. Decker, Inc., 2003, p.911-926)。GH-RH 拮抗剂通过基于垂体 GH 释放的抑制的间接内分泌机制并导致 GH 和 IGF-I 的血清水平减少, 以及通过直接影响肿瘤组织来抑制恶性肿瘤的增生。

GH-RH 及其肿瘤剪接变体(SV)受体存在于人肺癌、人前列腺癌、人乳腺癌、人卵巢癌、人子宫内膜癌、人胃癌、人肠癌、人胰腺癌、人肾癌和人骨癌中(见 Halmos G et al, Proc Natl Acad Sci USA 97: 10555-10560, 2000 ; Rekasi Z et al, Proc Natl Acad Sci USA 97:10561-10566, 2000; Schally AV et al, Frontiers Neuroendocrinol 22: 248-291, 2001; Schally AV and Comaru-Schally AM, in: Kufe DW, Pollock RE, Weichselbaum RR, Bast

Jr. RC, Gansler TS, Holland JF, Frei III E, Eds. *Cancer Medicine*, 第6版. Hamilton, Ontario: BC. Decker, Inc., 2003, p. 911-926)。肿瘤 GH-RH 已经显示或猜想其在这些恶性肿瘤中充当自分泌生长因子。GH-RH 的拮抗性类似物可抑制 GH-RH 的刺激活性并在体外施加直接的抗增生作用在癌症细胞上，在体内施加直接的抗增生作用在肿瘤上。GH-RH 拮抗剂的直接抗增生作用被施加在肿瘤受体上(结合位点)。除了 GH-RH 的特异性肿瘤 SV 受体之外，VIP 的受体和其它，如该家族尚未被鉴定的受体是 GH-RH 拮抗剂的靶向。

除了对血清 GH 和 IGF-I 的内分泌抑制影响外，已发现 GH-RH 拮抗剂减少一些肿瘤生长因子的自分泌和旁分泌产生和/或下调它们的受体。这些生长因子包括 IGF-I, IGF-II, GH, 血管内皮生长因子(VEGF), 和成纤维细胞生长因子(FGF)。因此，基于这些生长因子的自分泌/旁分泌刺激环(stimulatory loops)的破坏有助于 GH-RH 拮抗剂作为抗肿瘤药的功效。

IGF-I 和 IGF-II 是对于各种癌症具有有效促有丝分裂作用的自分泌/旁分泌生长因子。IGF-I 也是内分泌生长因子，并且认为升高水平的血清 IGF-I 是发展前列腺癌、肺癌和结肠直肠癌的猖獗风险因子。IGF-I(生长调节素-C)在乳腺癌、前列腺癌、结肠癌、骨肿瘤和其它恶性肿瘤中的涉及已充分建立。但是，通过 IGF-II 的增殖的自分泌/旁分泌控制也是许多肿瘤中的主要因子。IGF-I 和 IGF-II 通过常见 IGF-I 受体发挥它们的增殖和抗-调亡效应。IGF-I 的受体存在于原发人乳腺癌、前列腺癌、肺癌、结肠癌、脑癌、胰腺癌和肾细胞癌中。在一些实验癌症诸如骨癌、肺癌、前列腺癌、肾癌、乳腺癌、卵巢癌、肠癌、胰腺癌和脑癌中，用 GH-RH 拮抗剂进行治疗产生 IGF-I 和/或 IGF-II 水平的减少，伴随肿瘤生长的抑制(综述于 Schally AV and Varga JL, *Trends Endocrinol Metab* 10: 383-391, 1999 ; Schally AV et al, *Frontiers Neuroendocrinol* 22: 248-291, 2001; Schally AV and Comaru-Schally AM, in: Kufe DW, Pollock RE, Weichselbaum RR, Bast Jr. RC, Gansler TS, Holland JF, Frei III E, Eds. *Cancer Medicine*, 第6版. Hamilton, Ontario: BC. Decker, Inc., 2003, p. 911-926)。在一些情形中，IGF-I 受体的表达也被 GH-RH 拮抗剂所减少。因此，取决于 IGF-I 和 IGF-II 的内分泌和自分泌/旁分泌刺激环的破坏有助于 GH-RH 拮抗剂的

抗肿瘤效果。

在 MXT 乳腺癌模型中, 用 GH-RH 拮抗剂进行的处理抑制了肿瘤生长, 减少了肿瘤中 GH 的 mRNA 水平和 GH 肽的浓度, 并抑制了 GH 受体的 mRNA 表达(Szepeshazi K et al, *Endocrinology* 142:4371-4378, 2001)。

- 5 GH 显示充当 MXT 鼠乳腺癌细胞、MCF-7 人乳癌细胞和其它肿瘤细胞系的生长因子。因此, GH-RH 拮抗剂对局部和血清 GH 水平的抑制活性有助于它们的抗肿瘤作用。

GH-RH 拮抗剂已经显示在人雄激素-敏感型和雄激素不依赖型的前列腺癌模型中抑制 VEGF 的 mRNA 水平和蛋白质浓度(Letsch M et al, *Proc Natl Acad Sci USA* 100:1250-1255, 2003, Plonowski A et al, *Prostate* 52: 173-182, 2002)并且这种现象有助于它们的抗肿瘤效果, 因为 VEGF 在新血管形成和各种肿瘤的生长中具有重要刺激作用。而且, 发现 GH-RH 拮抗剂明显地通过体外对这些细胞的直接影响而抑制正常鼠内皮细胞的 VEGF 分泌和增殖(Siejka A et al, *Life Sci* 72:2473-2479, 2003)。

- 15 科学家们已经研究了 GH-RH 的各种修饰来阐明 GH-RH 的结构与其在垂体受体上的活性之间的关系, 努力提供具有提高的激动或拮抗性质的合成的同类物。因此, 早期确定的是包括 1-29 个氨基酸残基的 GH-RH 片段或 GH-RH(1-29)是垂体上的生物活性所需的最小序列。该片段保留 50%或更多的天然 GH-RH 的功效。随后, 制备了许多基于 hGH-RH(1-29) NH₂ 肽的结构
- 20 肽的结构 GH-RH 的合成类似物。hGH-RH(1-29) NH₂ 具有如下氨基酸序列:

Tyr-Ala-Asp-Ala-Ile⁵-Phe-Thr-Asn-Ser-Tyr¹⁰-Arg-Lys-Val-Leu-Gly¹⁵-Gln-Leu-Ser-Ala-Arg²⁰-Lys-Leu-Leu-Gln-Asp²⁵-Ile-Met-Ser-Arg²⁹-NH₂

- 开放文献中的相当多的专利和文章公开了 GH-RH 的类似物, 其充当
- 25 GH-RH 的激动剂(即, 发挥作用刺激 GH 的释放)或作为在垂体上的 GH-RH 的拮抗剂(即发挥作用抑制 GH 的释放)。大多数这些肽来自 GH-RH(1-29)肽序列, 具有有利于它们在垂体受体上增加的激动或拮抗性质的特殊结构修饰。然而, 除了一些例外, 尚不知道这些类似物将怎样作用在癌症细胞上, 所述癌症细胞表达不同于在垂体中发现的那些的 GH-RH 受体。仅有一些公开的科学研究试图阐明结构-活性关系并鉴定了 GH-RH 类似物对癌
- 30

细胞和肿瘤的直接拮抗(或激动)作用(见 Rekasi Z et al, *Endocrinology* 141: 2120-2128, 2000; Halmos G et al, *Proc Natl Acad Sci USA* 97: 10555-10560, 2000; Rekasi Z et al, *Proc Natl Acad Sci USA* 97: 10561-10566, 2000; Kiaris H et al, *Proc Natl Acad Sci USA* 99: 196-200, 2002), 并且到目前为止, 没有授权的专利已涉及该问题。因此, 对于对肿瘤细胞的直接拮抗作用所需的 GH-RH 类似物的结构特点知道的非常少。

发现第一个描述的 GH-RH 拮抗剂, [Ac-Tyr¹, D-Arg²]hGH-RH(1-29)NH₂ 阻止 hGH-RH(1-29)NH₂ 对大鼠垂体前叶腺苷酸环化酶的活化, 在文献中, 通常将 [Ac-Tyr¹, D-Arg²]hGH-RH(1-29)NH₂ 称为“标准拮抗剂”。相同的肽在垂体和下丘脑中阻断 GH-RH 对其受体的作用, 并且抑制脉动生长激素分泌。还在临床上评价标准的拮抗剂 (Ocampo-Lim B et al, *J Clin Endocrinol Metab* 81 :4396-4399, 1996; Jaffe CA et al, *J Clin Endocrinol Metab* 82:634-637, 1997)。大剂量的这种拮抗剂(400 μg/kg)在正常的受试者中消除了正常的 GH 分泌并抑制了针对 GH-RH 的应答。所述标准 GH-RH 拮抗剂也减少了具有肢端巨大症的患者 GH 水平。然而, 对于临床应用来说, 需要更多的 GH-RH 的有效拮抗剂。

下面提及的本发明公开在 GH-RH 的垂体受体上具有拮抗或激动性质的 GH-RH 类似物。然而尚没有关于这些类似物是否能在肿瘤细胞上发挥直接的作用的报道和研究。

美国专利 4,659,693 公开了 GH-RH 拮抗性类似物, 其在 GH-RH (1-29) 序列的位置 2 中包含某种 N, N'-二烷基-ω-胍基 α-氨基酰基残基。

公开的申请 WO91/16923 综述了通过修饰其氨基酸序列来改变 hGH-RH 的二级结构的早期尝试。这些早期尝试包括: 用它们的 D-异构体来取代 Tyr¹, Ala², Asp³ 或 Asn⁸; 用 L-或 D-Ser, D-Arg, Asn, Thr, Gln 或 D-Lys 取代 Asn⁸; 用 Ala 取代 Ser⁹ 以增加所述区域的两亲性; 并用 Ala 或 Aib 取代 Gly¹⁵。当在类似物中的 R² 是 D-Arg, 并且 R⁸, R⁹, 和 R¹⁵ 如上面所示被取代时, 认为拮抗活性发生。认为这些拮抗性肽适合于作为药物组合物施用以治疗与过量水平的 GH 相关的疾病, 例如肢端巨大症。

认为美国专利 5,084,555 的 hGH-RH 类似物 “[Ser⁹-psi[CH₂-NH]-Tyr¹⁰]hGH-RH (1-29)” 的拮抗活性由介于 R⁹ 和 R¹⁰ 残

基之间的假肽键(即, 被还原为 $[\text{CH}_2\text{-NH}]$ 键的肽键)所导致。不过, 认为 $[\text{Ser}^9\text{-psi}[\text{CH}_2\text{-NH}]\text{-Tyr}^{10}]$ hGH-RH(1-29)的拮抗性质比标准拮抗剂, $[\text{N-Ac-Tyr}^1, \text{D-Arg}^2]$ hGH-RH(1-29)- NH_2 要差。

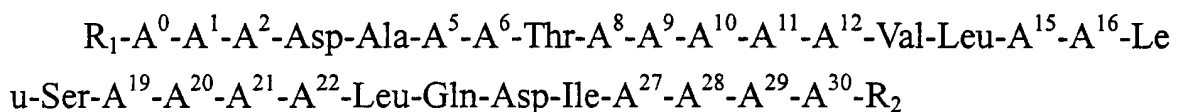
转让给本申请相同的受让人的美国专利 5,550,212, 美国专利
5 5,942,489, 和美国专利 6,057,422, 公开 hGH-RH(1-29) NH_2 的类似物, 认为所述类似物增加拮抗性质并延长关于 GH-RH-引起的 GH 释放的抑制的作用持续时间。认为这些性质由以在 GH-RH(1-29) NH_2 的 N 端的芳香族或非极性酸取代各种氨基酸并进行酰基化所导致。在美国专利 5,942,489 和美国专利 6,057,422 中起重要作用的拮抗剂的肿瘤抑制性质通过使用具有
10 实验性人癌症模型的异种移植物的裸鼠得以证明。注意的是在美国专利 5,550,212, 和在美国专利 5,942,489 中, R^9 一直是 Ser, 而 R^{11} 和 R^{20} 可是 Arg, D-Arg, 或 Cit 的任一。在美国专利 6,057,422, 的情形中, R^9 可是 Arg, Har, Lys, Orn, D-Arg, D-Har, D-Lys, D-Orn, Cit, Nle, Tyr (Me), Ser, Ala, 或 Aib 的任一, 而 R^{11} 和 R^{20} 一直是 Arg。

15

发明概述

提供了 hGH-RH (1-29) NH_2 和 hGH-RH(1-30) NH_2 的一系列新的合成性类似物。这些类似物抑制来自哺乳动物的垂体的生长激素的释放并通过直接作用于癌细胞而抑制人癌症的增殖。与以前描述的比较, 新类似物的更
20 强的抑制功效由各种氨基酸的取代所导致。

本发明主要涉及包括下式的肽:



其中 R_1 是由下列组成的组的成员: a) PhAc, Hca, Dat, IndAc, Ipa,
25 1-Nac, 2-Nac, 1-Npr, 2-Npr, Ibu; $\text{CH}_3(\text{CH}_2)_n\text{CO}$, 或 $\text{HOOC}(\text{CH}_2)_n\text{CO}$, 其中 n 是 2-20 的整数, 和 b)任何其它 6-14 个碳原子的直链, 环状, 支链, 饱和、不饱和或聚不饱和脂族羧基基团, 以及 3-8 个碳原子的任何碳环或杂环芳香族羧基基团, 在杂环中包含多至 1 个原子的基团 S、N 和 O 的每个的,

30 A^0 是 Phe, D-Phe, Arg, D-Arg, 或碳-氮单键,

- A^1 是 Tyr 或 His,
 A^2 是 D-Arg 或 D-Cit,
 A^5 是 Ile 或 Val,
 A^6 是 Phe, Tyr, Nal, 或 Phe (Y), 其中 Y=F, Cl, Br, 或 I,
5 A^8 是 Asn, D-Asn, Cit, D-Cit, Gln, D-Gln, Ser, D-Ser, Thr, D-Thr,
Ala, D-Ala, Abu, D-Abu, 或 Aib,
 A^9 是 His, D-His, Amp, D-Amp, Gup, 或 D-Gup,
 A^{10} 是 Tyr, Tyr (Et), Tyr (Me); Phe (Y), 其中 Y=H, F, Cl, Br, 或 I;
Amp, His, Cha, Chg, Bpa, Dip, Trp, Trp (For), Tpi, 1-Nal, 2-Nal,
10 3-Pal, 4-Pal, Phe(NH₂), 或 Phe (NO₂),
 A^{11} 是 His, D-His, Arg, D-Arg, Cit, Har, D-Har, Amp, D-Amp, Gup,
或 D-Gup,
 A^{12} 是 Lys, D-Lys, Orn, D-Orn, Har, D-Har, Cit, D-Cit, Nle, 或 Ala,
 A^{15} 是 Gly, Ala, Abu, Aib, Nle, Gln, Cit, 或 His,
15 A^{16} 是 Gln 或 Arg,
 A^{19} 是 Ala 或 Abu,
 A^{20} 是 His, D-His, Arg, D-Arg, 或 Cit,
 A^{21} 是 Lys, D-Lys, Orn, D-Orn, Cit, 或 D-Cit,
 A^{22} 是 Leu, Ala 或 Aib,
20 A^{27} 是 Met, Leu, Nle, Abu, 或 D-Arg,
 A^{28} 是 Arg, D-Arg, Har, D-Har, Ser, Asn, Asp, Ala, Abu, 或 Cit,
 A^{29} 是 Arg, D-Arg, Har, D-Har, Cit, D-Cit, 或 Agm,
 A^{30} 是 Arg, D-Arg, Har, D-Har, Cit, D-Cit, Agm, 或是碳-氮或碳-氧
单键,
25 R_2 是 -NH₂, -NH-NH₂, -NH-OH, -NHR₃, -NR₃R₄, -OH, 或 -OR₃, 其中
R₃ 和 R₄ 是 C₁₋₁₀ 烷基, C₂₋₁₀ 链烯基, C₂₋₁₀ 炔烃基, C₇₋₁₆ 苯基烷基, -C₆H₅,
或 -CH(C₆H₅)₂ 的任一个; 如果 A^{29} 是 Agm, 那么 A^{30} 和 R_2 是不存在的, 并
且如果 A^{30} 是 Agm, 那么 R_2 是不存在的, 及其药用盐。

优选的实施方是在上式中的肽, 其中 A^{11} 和 A^{20} 的一个或两个是除
30 Arg, D-Arg, 或 Cit 之外的。

具体地，属于该类的主要的肽是：

[PhAc-Tyr¹, D-Arg², Phe(pCl)⁶, Amp⁹, Tyr(Me)¹⁰, Abu¹⁵, Nie²⁷, D-Arg²⁸, Har²⁹]hGH-RH(1-29)NH₂
肽 67

5 [PhAc-Tyr¹, D-Arg², Phe(pCl)⁶, Amp⁹, Abu¹⁵, Nie²⁷, D-Arg²⁸, Har²⁹]hGH-RH(1-29)NH₂
肽 68

[PhAc-Tyr¹, D-Arg², Phe(pCl)⁶, His⁹, Tyr(Me)¹⁰, Abu¹⁵, Nie²⁷, D-Arg²⁸, Har²⁹]hGH-RH(1-29)NH₂
肽 69

[CH₃(CH₂)₆CO-Tyr¹, D-Arg², Phe(pCl)⁶, Amp⁹, Tyr(Me)¹⁰, Abu¹⁵, Nie²⁷, D-Arg²⁸, Har²⁹]hGH-RH(1-29)NH₂
肽 70

10 [HOOC(CH₂)₈CO-Tyr¹, D-Arg², Phe(pCl)⁶, Amp⁹, Tyr(Me)¹⁰, Abu¹⁵, Nie²⁷, D-Arg²⁸, Har²⁹]hGH-RH(1-29)NH₂
肽 71

[HOOC(CH₂)₁₂CO-Tyr¹, D-Arg², Phe(pCl)⁶, Amp⁹, Tyr(Me)¹⁰, Abu¹⁵, Nie²⁷, D-Arg²⁸, Har²⁹]hGH-RH(1-29)NH₂
肽 72

15 [PhAc-Tyr¹, D-Arg², Phe(pCl)⁶, Amp⁹, Tyr(Me)¹⁰, His¹¹, Abu¹⁵, Nie²⁷, D-Arg²⁸, Har²⁹]hGH-RH(1-29)NH₂
肽 73

[PhAc-Tyr¹, D-Arg², Phe(pCl)⁶, Cit⁸, Amp⁹, Tyr(Me)¹⁰, His¹¹, Abu¹⁵, Nie²⁷, D-Arg²⁸, Har²⁹]hGH-RH(1-29)NH₂
肽 74

20 [1-Nac-Tyr¹, D-Arg², Phe(pCl)⁶, Cit⁸, Amp⁹, Tyr(Me)¹⁰, His¹¹, Abu¹⁵, Nie²⁷, D-Arg²⁸, Har²⁹]hGH-RH(1-29)NH₂
肽 75

[CH₃(CH₂)₆CO-Tyr¹, D-Arg², Phe(pCl)⁶, Cit⁸, Amp⁹, Tyr(Me)¹⁰, His¹¹, Abu¹⁵, Nie²⁷, D-Arg²⁸, Har²⁹]hGH-RH(1-29)NH₂
肽 76

[HOOC(CH₂)₁₂CO-Tyr¹, D-Arg², Phe(pCl)⁶, Cit⁸, Amp⁹, Tyr(Me)¹⁰, His¹¹, Abu¹⁵, Nie²⁷, D-Arg²⁸, Har²⁹]hGH-RH(1-29)NH₂
肽 77

25 [CH₃(CH₂)₆CO-Tyr¹, D-Arg², Phe(pCl)⁶, Cit⁸, Amp⁹, Tyr(Et)¹⁰, His¹¹, Abu¹⁵, Nie²⁷, D-Arg²⁸, Har²⁹]hGH-RH(1-29)NH₂
肽 78

30

- [CH₃(CH₂)₆CO -Tyr¹, D-Arg², Phe(pCl)⁶, Cit⁸, His⁹, Tyr(Et)¹⁰, His¹¹, Abu¹⁵, Nle²⁷, D-Arg²⁸, Har²⁹]hGH-RH(1-29)NH₂
肽 79
- [CH₃(CH₂)₆CO -Tyr¹, D-Arg², Phe(pCl)⁶, Ala⁸, His⁹, Tyr(Et)¹⁰, His¹¹, Abu¹⁵, Nle²⁷, D-Arg²⁸, Har²⁹]hGH-RH(1-29)NH₂
肽 80
- 5 [HOOC(CH₂)₈CO -Tyr¹, D-Arg², Phe(pCl)⁶, Ala⁸, His⁹, Tyr(Et)¹⁰, His¹¹, Abu¹⁵, Nle²⁷, D-Arg²⁸, Har²⁹]hGH-RH(1-29)NH₂
肽 81
- [HOOC(CH₂)₁₂CO -Tyr¹, D-Arg², Phe(pCl)⁶, Ala⁸, His⁹, Tyr(Et)¹⁰, His¹¹, Abu¹⁵, Nle²⁷, D-Arg²⁸, Har²⁹]hGH-RH(1-29)NH₂
肽 82
- 10 [CH₃(CH₂)₆CO-Tyr¹, D-Arg², Phe(pCl)⁶, Ala⁸, His⁹, Tyr(Et)¹⁰, His¹¹, Abu¹⁵, His²⁰, Nle²⁷, D-Arg²⁸, Har²⁹]hGH-RH(1-29)NH₂
肽 86
- [CH₃(CH₂)₆CO-Tyr¹, D-Arg², Phe(pCl)⁶, Ala⁸, Amp⁹, Tyr(Et)¹⁰, His¹¹, Abu¹⁵, His²⁰, Nle²⁷, D-Arg²⁸, Har²⁹]hGH-RH(1-29)NH₂
肽 87
- 15 [HOOC(CH₂)₁₂CO-Tyr¹, D-Arg², Phe(pCl)⁶, Ala⁸, His⁹, Tyr(Et)¹⁰, His¹¹, Abu¹⁵, His²⁰, Nle²⁷, D-Arg²⁸, Har²⁹]hGH-RH(1-29)NH₂
肽 88
- [HOOC(CH₂)₁₂CO-Tyr¹, D-Arg², Phe(pCl)⁶, Ala⁸, Amp⁹, Tyr(Et)¹⁰, His¹¹, Abu¹⁵, His²⁰, Nle²⁷, D-Arg²⁸, Har²⁹]hGH-RH(1-29)NH₂
肽 89
- [1-Nac-Tyr¹, D-Arg², Phe(pCl)⁶, Ala⁸, His⁹, Tyr(Et)¹⁰, His¹¹, Abu¹⁵, Nle²⁷, D-Arg²⁸, Har²⁹]hGH-RH(1-29)NH₂
肽 91
- 20 [CH₃(CH₂)₆CO -Tyr¹, D-Arg², Phe(pCl)⁶, His⁹, Tyr(Et)¹⁰, His¹¹, Abu¹⁵, Nle²⁷, D-Arg²⁸, Har²⁹]hGH-RH(1-29)NH₂
肽 92
- [CH₃(CH₂)₆CO -Tyr¹, D-Arg², Phe(pCl)⁶, Ala⁸, His⁹, Cit¹⁵, Nle²⁷, D-Arg²⁸, Har²⁹]hGH-RH(1-29)NH₂
肽 93
- 25 [CH₃(CH₂)₆CO-Tyr¹, D-Arg², Phe(pCl)⁶, Ala⁸, His⁹, Tyr(Et)¹⁰, His¹¹, His¹⁵, His²⁰, Nle²⁷, D-Arg²⁸, Har²⁹]hGH-RH(1-29)NH₂
肽 94
- [CH₃(CH₂)₆CO -Tyr¹, D-Arg², Phe(pCl)⁶, Ala⁸, His⁹, Tyr(Et)¹⁰, His¹¹, Orn¹², Abu¹⁵, Orn²¹, Nle²⁷, D-Arg²⁸, Har²⁹]hGH-RH(1-29)NH₂
肽 95

- [CH₃(CH₂)₆CO -Tyr¹, D-Arg², Phe(pCl)⁶, Ala⁸, His⁹, Tyr(Et)¹⁰, His¹¹, Orn¹², Abu¹⁵, His²⁰, Orn²¹, Nle²⁷, D-Arg²⁸, Har²⁹]hGH-RH(1-29)NH₂ 肽 96
- 5 [CH₃(CH₂)₆CO -Tyr¹, D-Arg², Phe(pCl)⁶, Ala⁸, His⁹, Tyr(Et)¹⁰, His¹¹, Abu¹⁵, Nle²⁷, D-Arg²⁸, Har²⁹]hGH-RH(1-29)NHet 肽 97
- [CH₃(CH₂)₈CO -Tyr¹, D-Arg², Phe(pCl)⁶, Ala⁸, His⁹, Tyr(Et)¹⁰, His¹¹, Abu¹⁵, Nle²⁷, D-Arg²⁸, Har²⁹]hGH-RH(1-29)NHet 肽 98
- [CH₃(CH₂)₁₀CO -Tyr¹, D-Arg², Phe(pCl)⁶, Ala⁸, His⁹, Tyr(Et)¹⁰, His¹¹, Abu¹⁵, Nle²⁷, D-Arg²⁸, Har²⁹]hGH-RH(1-29)NHet 肽 99
- 10 [Hca -Tyr¹, D-Arg², Phe(pCl)⁶, Ala⁸, His⁹, Tyr(Et)¹⁰, His¹¹, Abu¹⁵, Nle²⁷, D-Arg²⁸, Har²⁹]hGH-RH(1-29)NHet 肽 100
- [CH₃(CH₂)₆CO -Tyr¹, D-Arg², Phe(pCl)⁶, Ala⁸, His⁹, Tyr(Et)¹⁰, His¹¹, Abu¹⁵, Nle²⁷, D-Arg²⁸, Har²⁹]hGH-RH(1-29)NHMe 肽 101
- 15 [HOOC(CH₂)₁₂CO -Tyr¹, D-Arg², Phe(pCl)⁶, Ala⁸, His⁹, Tyr(Et)¹⁰, His¹¹, Orn¹², Abu¹⁵, His²⁰, Orn²¹, Nle²⁷, D-Arg²⁸, Har²⁹]hGH-RH(1-29)NH₂ 肽 102
- [CH₃(CH₂)₆CO -Tyr¹, D-Arg², Phe(pCl)⁶, Ala⁸, Amp⁹, Tyr(Et)¹⁰, His¹¹, Orn¹², Abu¹⁵, His²⁰, Orn²¹, Nle²⁷, D-Arg²⁸, Har²⁹]hGH-RH(1-29)NH₂ 肽 103
- 20 [CH₃(CH₂)₆CO -Tyr¹, D-Arg², Phe(pCl)⁶, Ala⁸, His⁹, Dip¹⁰, His¹¹, Orn¹², Abu¹⁵, His²⁰, Orn²¹, Nle²⁷, D-Arg²⁸, Har²⁹]hGH-RH(1-29)NH₂ 肽 104
- [CH₃(CH₂)₆CO -Tyr¹, D-Arg², Phe(pCl)⁶, Ala⁸, His⁹, Phe(pNO₂)¹⁰, His¹¹, Orn¹², Abu¹⁵, His²⁰, Orn²¹, Nle²⁷, D-Arg²⁸, Har²⁹]hGH-RH(1-29)NH₂ 肽 105
- [CH₃(CH₂)₆CO -Tyr¹, D-Arg², Phe(pCl)⁶, Ala⁸, His⁹, Tyr(Et)¹⁰, His¹¹, Orn¹², Abu¹⁵, His²⁰, Orn²¹, Nle²⁷, D-Arg²⁸, Har²⁹]hGH-RH(1-29)NHet 肽 106
- 25 [HOOC(CH₂)₁₂CO -Tyr¹, D-Arg², Phe(pCl)⁶, Ala⁸, Amp⁹, Tyr(Et)¹⁰, His¹¹, Orn¹², Abu¹⁵, His²⁰, Orn²¹, Nle²⁷, D-Arg²⁸, Har²⁹]hGH-RH(1-29)NH₂ 肽 107
- [HOOC(CH₂)₁₂CO -Tyr¹, D-Arg², Phe(pCl)⁶, Ala⁸, His⁹, Dip¹⁰, His¹¹, Orn¹², Abu¹⁵, His²⁰, Orn²¹, Nle²⁷, D-Arg²⁸, Har²⁹]hGH-RH(1-29)NH₂ 肽 108

- [HOOC(CH₂)₁₂CO -Tyr¹, D-Arg², Phe(pCl)⁶, Ala⁸, His⁹, Phe(pNO₂)¹⁰, His¹¹, Orn¹², Abu¹⁵, His²⁰, Orn²¹, Nle²⁷, D-Arg²⁸, Har²⁹]hGH-RH(1-29)NH₂ 肽 109
- [HOOC(CH₂)₁₂CO -Tyr¹, D-Arg², Phe(pCl)⁶, Ala⁸, His⁹, Tyr(Et)¹⁰, His¹¹, Orn¹², Abu¹⁵, His²⁰, Orn²¹, Nle²⁷, D-Arg²⁸, Har²⁹]hGH-RH(1-29)NH₂ 肽 110
- 5 [CH₃(CH₂)₆CO -Tyr¹, D-Arg², Phe(pCl)⁶, Ala⁸, Amp⁹, Dip¹⁰, His¹¹, Orn¹², Abu¹⁵, His²⁰, Orn²¹, Nle²⁷, D-Arg²⁸, Har²⁹]hGH-RH(1-29)NH₂ 肽 111
- [CH₃(CH₂)₆CO -Tyr¹, D-Arg², Phe(pCl)⁶, Ala⁸, Amp⁹, Phe(pNO₂)¹⁰, His¹¹, Orn¹², Abu¹⁵, His²⁰, Orn²¹, Nle²⁷, D-Arg²⁸, Har²⁹]hGH-RH(1-29)NH₂ 肽 112
- 10 [CH₃(CH₂)₆CO -Tyr¹, D-Arg², Phe(pCl)⁶, Ala⁸, Amp⁹, Tyr(Et)¹⁰, His¹¹, Orn¹², Abu¹⁵, His²⁰, Orn²¹, Nle²⁷, D-Arg²⁸, Har²⁹]hGH-RH(1-29)NH₂ 肽 113
- [CH₃(CH₂)₆CO -Tyr¹, D-Arg², Phe(pCl)⁶, Ala⁸, His⁹, Dip¹⁰, His¹¹, Orn¹², Abu¹⁵, His²⁰, Orn²¹, Nle²⁷, D-Arg²⁸, Har²⁹]hGH-RH(1-29)NH₂ 肽 114
- 15 [CH₃(CH₂)₆CO -Tyr¹, D-Arg², Phe(pCl)⁶, Ala⁸, His⁹, Phe(pNO₂)¹⁰, His¹¹, Orn¹², Abu¹⁵, His²⁰, Orn²¹, Nle²⁷, D-Arg²⁸, Har²⁹]hGH-RH(1-29)NH₂ 肽 115
- [HOOC(CH₂)₁₂CO -Tyr¹, D-Arg², Phe(pCl)⁶, Ala⁸, Amp⁹, Dip¹⁰, His¹¹, Orn¹², Abu¹⁵, His²⁰, Orn²¹, Nle²⁷, D-Arg²⁸, Har²⁹]hGH-RH(1-29)NH₂ 肽 116
- [HOOC(CH₂)₁₂CO -Tyr¹, D-Arg², Phe(pCl)⁶, Ala⁸, Amp⁹, Phe(pNO₂)¹⁰, His¹¹, Orn¹², Abu¹⁵, His²⁰, Orn²¹, Nle²⁷, D-Arg²⁸, Har²⁹]hGH-RH(1-29)NH₂ 肽 117
- 20 [CH₃(CH₂)₆CO -Tyr¹, D-Arg², Phe(pCl)⁶, Ala⁸, Amp⁹, Dip¹⁰, His¹¹, Orn¹², Abu¹⁵, His²⁰, Orn²¹, Nle²⁷, D-Arg²⁸, Har²⁹]hGH-RH(1-29)NH₂ 肽 118
- [CH₃(CH₂)₆CO -Tyr¹, D-Arg², Phe(pCl)⁶, Ala⁸, Amp⁹, Phe(pNO₂)¹⁰, His¹¹, Orn¹², Abu¹⁵, His²⁰, Orn²¹, Nle²⁷, D-Arg²⁸, Har²⁹]hGH-RH(1-29)NH₂ 肽 119
- 25 [HOOC(CH₂)₁₂CO -Tyr¹, D-Arg², Phe(pCl)⁶, Ala⁸, Amp⁹, Dip¹⁰, His¹¹, Orn¹², Abu¹⁵, His²⁰, Orn²¹, Nle²⁷, D-Arg²⁸, Har²⁹]hGH-RH(1-29)NH₂ 肽 120
- [HOOC(CH₂)₁₂CO -Tyr¹, D-Arg², Phe(pCl)⁶, Ala⁸, Amp⁹, Phe(pNO₂)¹⁰, His¹¹, Orn¹², Abu¹⁵, His²⁰, Orn²¹, Nle²⁷, D-Arg²⁸, Har²⁹]hGH-RH(1-29)NH₂ 肽 121

30 不属于前述类别的结构式的紧密相关的肽包括:

- [CH₃(CH₂)₄CO-Tyr¹, D-Arg², Phe(pCl)⁶, Arg⁹, Abu¹⁵, Nle²⁷, D-Arg²⁸, Har²⁹]hGH-RH(1-29)NH₂
肽 2
- [HOOC(CH₂)₄CO-Tyr¹, D-Arg², Phe(pCl)⁶, Arg⁹, Abu¹⁵, Nle²⁷, D-Arg²⁸, Har²⁹]hGH-RH(1-29)NH₂
肽 3
- 5 [CH₃(CH₂)₆CO-Tyr¹, D-Arg², Phe(pCl)⁶, Arg⁹, Abu¹⁵, Nle²⁷, D-Arg²⁸, Har²⁹]hGH-RH(1-29)NH₂
肽 4
- [HOOC(CH₂)₆CO-Tyr¹, D-Arg², Phe(pCl)⁶, Arg⁹, Abu¹⁵, Nle²⁷, D-Arg²⁸, Har²⁹]hGH-RH(1-29)NH₂
肽 5
- 10 [CH₃(CH₂)₈CO-Tyr¹, D-Arg², Phe(pCl)⁶, Arg⁹, Abu¹⁵, Nle²⁷, D-Arg²⁸, Har²⁹]hGH-RH(1-29)NH₂
肽 6
- [HOOC(CH₂)₈CO-Tyr¹, D-Arg², Phe(pCl)⁶, Arg⁹, Abu¹⁵, Nle²⁷, D-Arg²⁸, Har²⁹]hGH-RH(1-29)NH₂
肽 7
- 15 [CH₃(CH₂)₁₀CO-Tyr¹, D-Arg², Phe(pCl)⁶, Arg⁹, Abu¹⁵, Nle²⁷, D-Arg²⁸, Har²⁹]hGH-RH(1-29)NH₂
肽 8
- [HOOC(CH₂)₁₀CO-Tyr¹, D-Arg², Phe(pCl)⁶, Arg⁹, Abu¹⁵, Nle²⁷, D-Arg²⁸, Har²⁹]hGH-RH(1-29)NH₂
肽 9
- [CH₃(CH₂)₁₂CO-Tyr¹, D-Arg², Phe(pCl)⁶, Arg⁹, Abu¹⁵, Nle²⁷, D-Arg²⁸, Har²⁹]hGH-RH(1-29)NH₂
肽 10
- 20 [HOOC(CH₂)₁₂CO-Tyr¹, D-Arg², Phe(pCl)⁶, Arg⁹, Abu¹⁵, Nle²⁷, D-Arg²⁸, Har²⁹]hGH-RH(1-29)NH₂
肽 11
- [CH₃(CH₂)₁₄CO-Tyr¹, D-Arg², Phe(pCl)⁶, Arg⁹, Abu¹⁵, Nle²⁷, D-Arg²⁸, Har²⁹]hGH-RH(1-29)NH₂
肽 12
- 25 [HOOC(CH₂)₁₄CO-Tyr¹, D-Arg², Phe(pCl)⁶, Arg⁹, Abu¹⁵, Nle²⁷, D-Arg²⁸, Har²⁹]hGH-RH(1-29)NH₂
肽 13
- [CH₃(CH₂)₆CO-Tyr¹, D-Arg², Phe(pCl)⁶, Arg⁹, Abu¹⁵, Nle²⁷, Har²⁸, D-Arg²⁹]hGH-RH(1-29)NH₂
肽 14

30

- [PhAc-Tyr¹, D-Arg², Phe(pCl)⁵, Arg⁹, Abu¹⁵, Nle²⁷, Har²⁸, D-Arg²⁸]hGH-RH(1-29)NH₂
肽 15
- [CH₃(CH₂)₁₄CO-Phe⁰, D-Arg², Phe(pCl)⁵, Arg⁹, Abu¹⁵, Nle²⁷, D-Arg²⁸, Har²⁸]hGH-RH(1-29)NH₂
5 肽 16
- [CH₃(CH₂)₁₄CO-D-Phe⁰, D-Arg², Phe(pCl)⁵, Arg⁹, Abu¹⁵, Nle²⁷, D-Arg²⁸, Har²⁸]hGH-RH(1-29)NH₂
肽 17
- [PhAc-Arg⁰, D-Arg², Phe(pCl)⁵, Arg⁹, Abu¹⁵, Nle²⁷, D-Arg²⁸, Har²⁸]hGH-RH(1-29)NH₂
肽 18
- 10 [PhAc-D-Arg⁰, D-Arg², Phe(pCl)⁵, Arg⁹, Abu¹⁵, Nle²⁷, D-Arg²⁸, Har²⁸]hGH-RH(1-29)NH₂
肽 19
- [PhAc-Tyr¹, D-Arg², Phe(pCl)⁵, Cit⁸, Arg⁹, Abu¹⁵, Nle²⁷, D-Arg²⁸, Har²⁸]hGH-RH(1-29)NH₂
肽 21
- 15 [PhAc-Tyr¹, D-Arg², Phe(pCl)⁵, Cit⁸, Cit⁹, Abu¹⁵, Nle²⁷, D-Arg²⁸, Har²⁸]hGH-RH(1-29)NH₂
肽 22
- [PhAc-Tyr¹, D-Arg², Phe(pCl)⁵, Cit⁸, Arg⁹, Abu¹⁵, Nle²⁷, Har²⁸, D-Arg²⁸]hGH-RH(1-29)NH₂
肽 23
- [PhAc-Tyr¹, D-Arg², Phe(pCl)⁵, Cit⁸, Cit⁹, Abu¹⁵, Nle²⁷, Har²⁸, D-Arg²⁸]hGH-RH(1-29)NH₂
20 肽 24
- [HOOC(CH₂)₁₂CO-Tyr¹, D-Arg², Phe(pCl)⁵, Cit⁸, Cit⁹, Abu¹⁵, Nle²⁷, D-Arg²⁸, Har²⁸]hGH-RH(1-29)NH₂
肽 25
- [PhAc-Tyr¹, D-Arg², Phe(pCl)⁵, D-Ala⁸, Arg⁹, Abu¹⁵, Nle²⁷, D-Arg²⁸, Har²⁸]hGH-RH(1-29)NH₂
肽 26
- 25 [PhAc-Tyr¹, D-Arg², Phe(pCl)⁵, Abu⁸, Arg⁹, Abu¹⁵, Nle²⁷, D-Arg²⁸, Har²⁸]hGH-RH(1-29)NH₂
肽 27
- [PhAc-Tyr¹, D-Arg², Phe(pCl)⁵, Cit⁹, Abu¹⁵, Nle²⁷, Har²⁸, D-Arg²⁸]hGH-RH(1-29)NH₂
肽 28
- 30

- [PhAc-Tyr¹, D-Arg², Phe(pCl)⁶, Arg⁹, Amp¹⁰, Abu¹⁵, Nle²⁷, D-Arg²⁸, Har²⁹]hGH-RH(1-29)NH₂
肽 30
- [PhAc-Tyr¹, D-Arg², Phe(pCl)⁶, Har⁹, Amp¹⁰, Abu¹⁵, Nle²⁷, D-Arg²⁸, Har²⁹]hGH-RH(1-29)NH₂
肽 31
- [PhAc-Tyr¹, D-Arg², Phe(pCl)⁶, Arg⁹, His¹⁰, Abu¹⁵, Nle²⁷, D-Arg²⁸, Har²⁹]hGH-RH(1-29)NH₂
肽 32
- [PhAc-Tyr¹, D-Arg², Phe(pCl)⁶, Arg⁹, Cha¹⁰, Abu¹⁵, Nle²⁷, D-Arg²⁸, Har²⁹]hGH-RH(1-29)NH₂
肽 33
- [PhAc-Tyr¹, D-Arg², Phe(pCl)⁶, Har⁹, Tpi¹⁰, Abu¹⁵, Nle²⁷, D-Arg²⁸, Har²⁹]hGH-RH(1-29)NH₂
肽 34
- [PhAc-Tyr¹, D-Arg², Phe(pCl)⁶, Har⁹, 2-Nal¹⁰, Abu¹⁵, Nle²⁷, D-Arg²⁸, Har²⁹]hGH-RH(1-29)NH₂
肽 35
- [PhAc-Tyr¹, D-Arg², Phe(pCl)⁶, Har⁹, Dip¹⁰, Abu¹⁵, Nle²⁷, D-Arg²⁸, Har²⁹]hGH-RH(1-29)NH₂
肽 36
- [PhAc-Tyr¹, D-Arg², Phe(pCl)⁶, Har⁹, Phe(pNH₂)¹⁰, Abu¹⁵, Nle²⁷, D-Arg²⁸, Har²⁹]hGH-RH(1-29)NH₂
肽 37
- [PhAc-Tyr¹, D-Arg², Phe(pCl)⁶, Har⁹, Trp¹⁰, Abu¹⁵, Nle²⁷, D-Arg²⁸, Har²⁹]hGH-RH(1-29)NH₂
肽 38
- [PhAc-Tyr¹, D-Arg², Phe(pCl)⁶, Har⁹, Phe(pNO₂)¹⁰, Abu¹⁵, Nle²⁷, D-Arg²⁸, Har²⁹]hGH-RH(1-29)NH₂
肽 39
- [PhAc-Tyr¹, D-Arg², Phe(pCl)⁶, Har⁹, 3-Pal¹⁰, Abu¹⁵, Nle²⁷, D-Arg²⁸, Har²⁹]hGH-RH(1-29)NH₂
肽 40
- [PhAc-Tyr¹, D-Arg², Phe(pCl)⁶, Har⁹, Tyr(Et)¹⁰, Abu¹⁵, Nle²⁷, D-Arg²⁸, Har²⁹]hGH-RH(1-29)NH₂
肽 41
- [PhAc-His¹, D-Arg², Tyr⁶, Har⁹, Bpa¹⁰, Abu¹⁵, Nle²⁷, D-Arg²⁸, Har²⁹]hGH-RH(1-29)NH₂
肽 42

30

- [PhAc-Tyr¹, D-Arg², Phe(pCl)⁶, Arg⁹, Har¹², Abu¹⁵, Nle²⁷, D-Arg²⁸, Har²⁹]hGH-RH(1-29)NH₂
肽 43
- [Hca-Tyr¹, D-Arg², Phe(pCl)⁶, Har⁹, Tyr(Me)¹⁰, Abu¹⁵, Nle²⁷, D-Arg²⁸, Har²⁹]hGH-RH(1-29)NH₂
肽 45
- 5 [PhAc-Tyr¹, D-Arg², Phe(pCl)⁶, Har⁹, Tyr(Me)¹⁰, Abu¹⁵, Nle²⁷, D-Arg²⁸, Har²⁹]hGH-RH(1-29)NH₂
肽 46
- [Hca-Tyr¹, D-Arg², Phe(pCl)⁶, Arg⁹, Abu¹⁵, Nle²⁷, D-Arg²⁸, Har²⁹]hGH-RH(1-29)NH₂
肽 47
- 10 [PhAc-Tyr¹, D-Arg², Phe(pCl)⁶, Arg⁹, Abu¹⁵, Nle²⁷, D-Arg²⁸, Har²⁹]hGH-RH(1-29)NH₂
肽 48
- [PhAc-Tyr¹, D-Arg², Phe(pCl)⁶, Har⁹, Tyr(Me)¹⁰, Aib¹⁵, Nle²⁷, D-Arg²⁸, Har²⁹]hGH-RH(1-29)NH₂
肽 49
- 15 [PhAc-Tyr¹, D-Arg², Phe(pCl)⁶, Har⁹, Tyr(Me)¹⁰, Orn¹², Abu¹⁵, Nle²⁷, D-Arg²⁸, Har²⁹]hGH-RH(1-29)NH₂
肽 50
- [Hca-Tyr¹, D-Arg², Phe(pCl)⁶, Har⁹, Tyr(Me)¹⁰, Abu¹⁵, Nle²⁷, D-Arg²⁸, Agm²⁹]hGH-RH(1-29)
肽 51
- [PhAc-Tyr¹, D-Arg², Phe(pCl)⁶, Har⁹, Tyr(Me)¹⁰, Abu¹⁵, Nle²⁷, D-Arg²⁸, Agm²⁹]hGH-RH(1-29)
肽 52
- 20 [Hca-Tyr¹, D-Arg², Phe(pCl)⁶, Har⁹, Tyr(Me)¹⁰, Abu¹⁵, Nle²⁷, D-Arg²⁸, Har²⁹, Har³⁰]hGH-RH(1-30)NH₂
肽 53
- [Dat-Tyr¹, D-Arg², Phe(pCl)⁶, Har⁹, Tyr(Me)¹⁰, Abu¹⁵, Nle²⁷, D-Arg²⁸, Har²⁹, Har³⁰]hGH-RH(1-30)NH₂
肽 54
- 25 [Ipa-Tyr¹, D-Arg², Phe(pCl)⁶, Har⁹, Tyr(Me)¹⁰, Abu¹⁵, Nle²⁷, D-Arg²⁸, Har²⁹, Har³⁰]hGH-RH(1-30)NH₂
肽 55
- [Hca-Tyr¹, D-Arg², Phe(pCl)⁶, Har⁹, Tyr(Me)¹⁰, Abu¹⁵, Nle²⁷, D-Arg²⁸, Har²⁹, Har³⁰]hGH-RH(1-30)NH₂
肽 56

- [Hca-Tyr¹, D-Arg², Phe(pCl)⁶, Har⁹, Tyr(Me)¹⁰, Abu¹⁵, Nle²⁷, D-Arg²⁸, D-Arg²⁹, Har³⁰]hGH-RH(1-30)NH₂ 肽 57
- [Hca-Tyr¹, D-Arg², Phe(pCl)⁶, Har⁹, Tyr(Me)¹⁰, Abu¹⁵, Nle²⁷, D-Arg²⁸, Har²⁹, D-Arg³⁰]hGH-RH(1-30)NH₂ 肽 58
- [Hca-Tyr¹, D-Arg², Phe(pCl)⁶, Har⁹, Tyr(Me)¹⁰, Abu¹⁵, Nle²⁷, D-Arg²⁸, Har²⁹, Agm³⁰]hGH-RH(1-30) 肽 59
- [PhAc-Tyr¹, D-Arg², Phe(pCl)⁶, Har⁹, Tyr(Me)¹⁰, Abu¹⁵, Nle²⁷, D-Arg²⁸, Har²⁹, Agm³⁰]hGH-RH(1-30) 肽 60
- [PhAc-Tyr¹, D-Arg², Phe(pCl)⁶, Har⁹, Tyr(Me)¹⁰, His¹¹, Abu¹⁵, Nle²⁷, D-Arg²⁸, Har²⁹]hGH-RH(1-29)NH₂ 肽 62
- [PhAc-Tyr¹, D-Arg², Phe(pCl)⁶, Har⁹, Tyr(Me)¹⁰, Har¹¹, Abu¹⁵, Nle²⁷, D-Arg²⁸, Har²⁹]hGH-RH(1-29)NH₂ 肽 63
- [PhAc-Tyr¹, D-Arg², Phe(pCl)⁶, Har⁹, Tyr(Me)¹⁰, Amp¹¹, Abu¹⁵, Nle²⁷, D-Arg²⁸, Har²⁹]hGH-RH(1-29)NH₂ 肽 64
- [PhAc-Tyr¹, D-Arg², Phe(pCl)⁶, Har⁹, Tyr(Me)¹⁰, Cit¹¹, Abu¹⁵, Nle²⁷, D-Arg²⁸, Har²⁹]hGH-RH(1-29)NH₂ 肽 65
- [PhAc-Tyr¹, D-Arg², Phe(pCl)⁶, Har⁹, Tyr(Me)¹⁰, Abu¹⁵, His²⁰, Nle²⁷, D-Arg²⁸, Har²⁹]hGH-RH(1-29)NH₂ 肽 84
- [PhAc-Tyr¹, D-Arg², Phe(pCl)⁶, Har⁹, Tyr(Me)¹⁰, His¹¹, Abu¹⁵, His²⁰, Nle²⁷, D-Arg²⁸, Har²⁹]hGH-RH(1-29)NH₂ 肽 85
- [PhAc-Tyr¹, D-Arg², Phe(pCl)⁶, Arg⁹, Cit¹⁵, Nle²⁷, D-Arg²⁸, Har²⁹]hGH-RH(1-29)NH₂ 肽 90

25

要注意的是，天然 GH-RH 分子的 30-44 的氨基酸残基似乎不是活性所必需的，它们的鉴定似乎也不是必要的。因此，看来将这些另外的氨基酸残基的一些或所有添加到本发明的 hGH-RH(1-29)NH₂ 和 hGH-RH(1-30)NH₂ 类似物的 C-端将不会影响这些类似物作为 GH-RH 拮抗剂的功效。如果将这些氨基酸的一些或所有添加到 hGH-RH(1-29)NH₂ 类似

30

物的 C 端,被添加的氨基酸残基可与天然 hGH-RH 序列的残基 30-44 相同,或是其适当的等价物。

合成方法

5 通过合适的方法诸如通过专有固相合成技术,通过部分固相技术,通过片段缩合或通过经典溶液相合成来合成合成的肽。

当本发明的类似物通过固相方法进行合成时, C-端残基(本文, A²⁹ 或 A³⁰)适当地与惰性固体支持物(树脂)连接而对于其 α 氨基基团(和, 如果合适, 对于其侧链官能团)具有保护基。完成该步骤后, 将 α 氨基保护基团从锚定的氨基酸残基去除, 并且下一个具有其被合适保护的 α 氨基基团(以及任何合适的侧链官能团)的氨基酸残基, 分别地 A²⁸ 或 A²⁹, 被加入, 等等。每个残基被加入后, N-端保护基被去除, 但是侧链保护基尚未被去除。在所有的理想氨基酸已经以合适的顺序被连接后, 所述肽从支持物上裂解下来并在针对序列中的残基具有最小破坏性的条件下, 没有所有的侧链保护基。随后是合成产物的认真纯化和细心鉴定, 从而确保理想的结构确实是获得的那个。

特别优选的是在偶联步骤过程中用酸性或碱性敏感保护基来保护氨基酸的 α 氨基功能。这些保护基应该具有在肽连接形成条件中稳定的特性, 而可容易地被去除, 不会破坏生长的肽链和对包含其中的手性中心的任何具有外消旋作用。适合的 α 氨基保护基是 Boc 和 Fmoc。

医学应用

可以将 hGH-RH 拮抗剂肽, 或这些肽的盐配制在包含其有效量的药用剂型中, 并出于治疗或诊断目的施用于人或动物。可将所述肽用于抑制 GH 水平并治疗与过量水平的 GH 相关的疾病, 例如糖尿病性视网膜病和肾病, 和肢端巨大症。还提供通过将本发明的组合物施用于需要这些治疗的个体来治疗这些疾病的方法。然而, GH-RH 拮抗剂的主要应用是在癌症领域, 例如人肺癌、人前列腺癌、人乳腺癌、人卵巢癌、人子宫内膜癌、人胃癌、人结肠癌、人胰腺癌、人肾癌、人骨癌和人脑癌中, 所述癌症中存在 GH-RH、IGF-I/IGF-II、, 或 GH 的受体, 并且依赖于通过生长因子诸

如 GH-RH, IGF-I, IGF-II, GH, 或 VEGF 的刺激。

优选的实施方案的详述

5 A. 简写

用于限定所述肽的命名法由 IUPAC-IUB 生化命名委员会规定, 其中按照常规表示, 在 N-端的氨基基团表示左侧而在 C-端的羧基基团表示右侧。用于本文时, 术语“天然氨基酸”意为发现于天然存在的蛋白质中的常见的, 天然存在的 L-氨基酸之一: Gly, Ala, Val, Leu, Ile, Ser, Thr, Lys, Arg, Asp, Asn, Glu, Gln, Cys, Met, Phe, Tyr, Pro, Trp 和 His。当天然氨基酸残基具有异构形式时, 本文表示的是 L-形式的氨基酸, 除了另外特别指出。

还将非编码的氨基酸, 或氨基酸类似物结合到 GH-RH 拮抗剂中。(“非编码”的氨基酸是不在发现于天然存在的蛋白质中的约 20 种天然氨基酸中的那些氨基酸)。当这些非编码氨基酸, 或氨基酸类似物, 具有异构形式, 其表示的是 L-形式的氨基酸, 除非另外特别指出。

用于本文的缩写

Abu	α -氨基丁酸
Ac	乙酰基
AcOH	乙酸
Ac ₂ O	乙酸酐
Agm	胍基丁胺
Aib	α -氨基异丁酸
All	烯丙基
Alloc	烯丙氧基羰基
Amp	对位-脒基-苯丙氨酸
Bpa	对位-苯甲酰基-苯丙氨酸
Boc	叔-丁氧基羰基

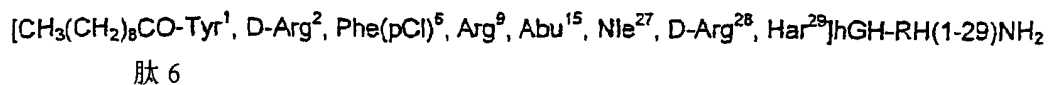
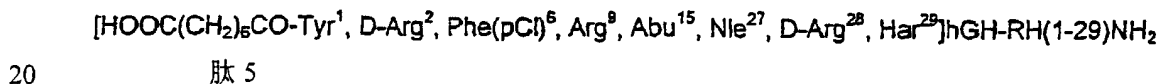
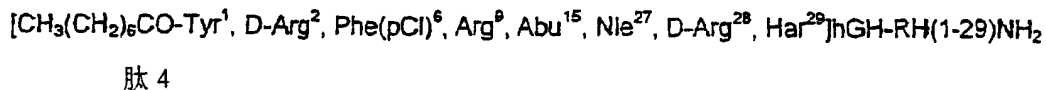
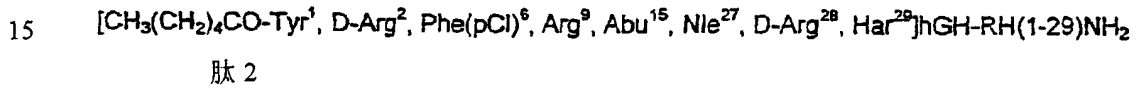
Bom	苄氧基甲基
2BrZ	2-溴-苄氧基羰基
Bzl	苯甲基
Cha	环己基丙氨酸
Chg	环己基甘氨酸
cHx	环己基
Cit	瓜氨酸(2-氨基-5-脲基戊酸)
2ClZ	2-氯-苄氧基羰基
Dat	去氨基酪氨酸
DCM	二氯甲烷
DIC	N,N'-二异丙基碳二亚胺
DIEA	二异丙基乙胺
Dip	(3,3-二苯基)丙氨酸
DMF	二甲基甲酰胺
Et	乙基
Fm	苄基甲基
Fmoc	苄基甲氧基羰基
For	甲酰
GH	生长激素
GH-RH	GH 释放激素
Gup	对位-胍基-苯丙氨酸
Har	高精氨酸
HBTU	2-(1H- 苯 并 三 唑 -1-基)-1,1,3,3-tetramethyluronium 六氟磷酸酯
Hca	氢化肉桂酰基
Hca-OH	氢化肉硅酸
hGH-RH	人 GH-RH
HOBt	1- 羟基苯并三唑
HPLC	高效液相色谱

Ibu	异丁酰
IndAc	吲哚-3-乙酰基
Ipa	吲哚-3-丙酰
MBHA	对位-甲基二苯甲基胺
Me	甲基
MeOH	甲醇
MeCN	乙腈
Nac	萘基乙酰基
Nal	萘基丙氨酸
Nle	正亮氨酸
NMM	N-甲基吗啉
Npr	萘基丙酰
Orn	鸟氨酸
Pal	吡啶基丙氨酸
PAM	苯基乙酰氨基甲基
Ph	苯基
PhAc	苯基乙酰基
PhAc-OH	苯基乙酸
Phe(pCl)	对位-氯-苯丙氨酸
Phe(pNH ₂)	对位-氨基-苯丙氨酸
Phe(pNO ₂)	对位-硝基-苯丙氨酸
rGH-RH	大鼠 GH-RH
RP-HPLC	反相 HPLC
SPA	对-磺酰基-苯氧基乙酰基
TFA	三氟乙酸
Tos	对位-甲苯磺酰
Tpi	1,2,3,4-四氢 norharman-3-羧酸
Tyr (Me)	O-甲基-酪氨酸
Tyr (Et)	O-乙基-酪氨酸
Z	苄氧基羰基

B. GH-RH 类似物

对本发明的 hGH-RH 类似物进行设计以在垂体水平, 和/或在肿瘤水平上增加拮抗效应。这些类似物中的一些, 诸如肽 4, 肽 7, 肽 21, 肽 30, 肽 31, 肽 37, 肽 41, 肽 42, 肽 62, 肽 67, 和肽 69 具有高内分泌拮抗性效能, 在体外和体内导致对由 hGH-RH (1-29) NH₂ 刺激的 GH 释放的非常有效和长期持续的抑制, 并显示对垂体 GH-RH 受体的高结合亲和性。一些类似物, 诸如肽 4, 肽 5, 肽 7, 肽 11, 肽 22, 肽 35, 肽 36, 肽 39, 肽 41, 肽 62, 肽 67, 肽 69, 肽 70, 肽 72, 肽 76, 肽 77, 肽 79, 肽 80, 肽 86, 肽 95, 肽 96, 和肽 97, 显示升高的肿瘤抑制效能并显示针对 GH-RH 的肿瘤受体的非常高的结合亲和性。还对本发明的肽进行设计以增加它们的化学和代谢稳定性。

具体地, 优选下面的具有显著生物活性的实施方案:



25

30

- [HOOC(CH₂)₈CO-Tyr¹, D-Arg², Phe(pCl)⁶, Arg⁹, Abu¹⁵, Nle²⁷, D-Arg²⁸, Har²⁹]hGH-RH(1-29)NH₂
肽 7
- 5 [HOOC(CH₂)₁₂CO-Tyr¹, D-Arg², Phe(pCl)⁶, Arg⁹, Abu¹⁵, Nle²⁷, D-Arg²⁸, Har²⁹]hGH-RH(1-29)NH₂
肽 11
- [CH₃(CH₂)₆CO-Tyr¹, D-Arg², Phe(pCl)⁶, Arg⁹, Abu¹⁵, Nle²⁷, Har²⁸, D-Arg²⁹]hGH-RH(1-29)NH₂
肽 14
- [PhAc-Tyr¹, D-Arg², Phe(pCl)⁶, Arg⁹, Abu¹⁵, Nle²⁷, Har²⁸, D-Arg²⁹]hGH-RH(1-29)NH₂
肽 15
- 10 [PhAc-Tyr¹, D-Arg², Phe(pCl)⁶, Cit⁸, Arg⁹, Abu¹⁵, Nle²⁷, D-Arg²⁸, Har²⁹]hGH-RH(1-29)NH₂
肽 21
- [PhAc-Tyr¹, D-Arg², Phe(pCl)⁶, Cit⁸, Cit⁹, Abu¹⁵, Nle²⁷, D-Arg²⁸, Har²⁹]hGH-RH(1-29)NH₂
肽 22
- 15 [PhAc-Tyr¹, D-Arg², Phe(pCl)⁶, Abu⁸, Arg⁹, Abu¹⁵, Nle²⁷, D-Arg²⁸, Har²⁹]hGH-RH(1-29)NH₂
肽 27
- [PhAc-Tyr¹, D-Arg², Phe(pCl)⁶, Cit⁹, Abu¹⁵, Nle²⁷, Har²⁸, D-Arg²⁹]hGH-RH(1-29)NH₂
肽 28
- 20 [PhAc-Tyr¹, D-Arg², Phe(pCl)⁶, Arg⁹, Amp¹⁰, Abu¹⁵, Nle²⁷, D-Arg²⁸, Har²⁹]hGH-RH(1-29)NH₂
肽 30
- [PhAc-Tyr¹, D-Arg², Phe(pCl)⁶, Har⁹, Amp¹⁰, Abu¹⁵, Nle²⁷, D-Arg²⁸, Har²⁹]hGH-RH(1-29)NH₂
肽 31
- [PhAc-Tyr¹, D-Arg², Phe(pCl)⁶, Har⁹, 2-Nal¹⁰, Abu¹⁵, Nle²⁷, D-Arg²⁸, Har²⁹]hGH-RH(1-29)NH₂
肽 35
- 25 [PhAc-Tyr¹, D-Arg², Phe(pCl)⁶, Har⁹, Dip¹⁰, Abu¹⁵, Nle²⁷, D-Arg²⁸, Har²⁹]hGH-RH(1-29)NH₂
肽 36
- [PhAc-Tyr¹, D-Arg², Phe(pCl)⁶, Har⁹, Phe(pNH₂)¹⁰, Abu¹⁵, Nle²⁷, D-Arg²⁸, Har²⁹]hGH-RH(1-29)NH₂
肽 37
- 30

- [PhAc-Tyr¹, D-Arg², Phe(pCl)⁶, Har⁹, Phe(pNO₂)¹⁰, Abu¹⁵, Nle²⁷, D-Arg²⁸, Har²⁹]hGH-RH(1-29)NH₂
肽 39
- [PhAc-Tyr¹, D-Arg², Phe(pCl)⁶, Har⁹, Tyr(Et)¹⁰, Abu¹⁵, Nle²⁷, D-Arg²⁸, Har²⁹]hGH-RH(1-29)NH₂
5 肽 41
- [PhAc-His¹, D-Arg², Tyr⁶, Har⁹, Bpa¹⁰, Abu¹⁵, Nle²⁷, D-Arg²⁸, Har²⁹]hGH-RH(1-29)NH₂
肽 42
- [PhAc-Tyr¹, D-Arg², Phe(pCl)⁶, Har⁹, Tyr(Me)¹⁰, Abu¹⁵, Nle²⁷, D-Arg²⁸, Har²⁹]hGH-RH(1-29)NH₂
肽 46
- 10 [PhAc-Tyr¹, D-Arg², Phe(pCl)⁶, Har⁹, Tyr(Me)¹⁰, His¹¹, Abu¹⁵, Nle²⁷, D-Arg²⁸, Har²⁹]hGH-RH(1-29)NH₂
肽 62
- [PhAc-Tyr¹, D-Arg², Phe(pCl)⁶, Amp⁹, Tyr(Me)¹⁰, Abu¹⁵, Nle²⁷, D-Arg²⁸, Har²⁹]hGH-RH(1-29)NH₂
肽 67
- 15 [PhAc-Tyr¹, D-Arg², Phe(pCl)⁶, Amp⁹, Abu¹⁵, Nle²⁷, D-Arg²⁸, Har²⁹]hGH-RH(1-29)NH₂
肽 68
- [PhAc-Tyr¹, D-Arg², Phe(pCl)⁶, His⁹, Tyr(Me)¹⁰, Abu¹⁵, Nle²⁷, D-Arg²⁸, Har²⁹]hGH-RH(1-29)NH₂
肽 69
- 20 [CH₃(CH₂)₆CO-Tyr¹, D-Arg², Phe(pCl)⁶, Amp⁹, Tyr(Me)¹⁰, Abu¹⁵, Nle²⁷, D-Arg²⁸, Har²⁹]hGH-RH(1-29)NH₂
肽 70
- [HOOC(CH₂)₆CO-Tyr¹, D-Arg², Phe(pCl)⁶, Amp⁹, Tyr(Me)¹⁰, Abu¹⁵, Nle²⁷, D-Arg²⁸, Har²⁹]hGH-RH(1-29)NH₂
肽 71
- [HOOC(CH₂)₁₂CO-Tyr¹, D-Arg², Phe(pCl)⁶, Amp⁹, Tyr(Me)¹⁰, Abu¹⁵, Nle²⁷, D-Arg²⁸, Har²⁹]hGH-RH(1-29)NH₂
肽 72
- 25 [PhAc-Tyr¹, D-Arg², Phe(pCl)⁶, Amp⁹, Tyr(Me)¹⁰, His¹¹, Abu¹⁵, Nle²⁷, D-Arg²⁸, Har²⁹]hGH-RH(1-29)NH₂
肽 73
- [PhAc-Tyr¹, D-Arg², Phe(pCl)⁶, Cit⁸, Amp⁹, Tyr(Me)¹⁰, His¹¹, Abu¹⁵, Nle²⁷, D-Arg²⁸, Har²⁹]hGH-RH(1-29)NH₂
肽 74
- 30

- [1-Nac-Tyr¹, D-Arg², Phe(pCl)⁶, Cit⁸, Amp⁹, Tyr(Me)¹⁰, His¹¹, Abu¹⁵, Nle²⁷, D-Arg²⁸, Har²⁹]hGH-RH(1-29)NH₂ 肽 75
- [CH₃(CH₂)₆CO -Tyr¹, D-Arg², Phe(pCl)⁶, Cit⁸, Amp⁹, Tyr(Me)¹⁰, His¹¹, Abu¹⁵, Nle²⁷, D-Arg²⁸, Har²⁹]hGH-RH(1-29)NH₂ 肽 76
- [HOOC(CH₂)₁₂CO -Tyr¹, D-Arg², Phe(pCl)⁶, Cit⁸, Amp⁹, Tyr(Me)¹⁰, His¹¹, Abu¹⁵, Nle²⁷, D-Arg²⁸, Har²⁹]hGH-RH(1-29)NH₂ 肽 77
- [CH₃(CH₂)₆CO -Tyr¹, D-Arg², Phe(pCl)⁶, Cit⁸, Amp⁹, Tyr(Et)¹⁰, His¹¹, Abu¹⁵, Nle²⁷, D-Arg²⁸, Har²⁹]hGH-RH(1-29)NH₂ 肽 78
- [CH₃(CH₂)₆CO -Tyr¹, D-Arg², Phe(pCl)⁶, Cit⁸, His⁹, Tyr(Et)¹⁰, His¹¹, Abu¹⁵, Nle²⁷, D-Arg²⁸, Har²⁹]hGH-RH(1-29)NH₂ 肽 79
- [CH₃(CH₂)₆CO -Tyr¹, D-Arg², Phe(pCl)⁶, Ala⁸, His⁹, Tyr(Et)¹⁰, His¹¹, Abu¹⁵, Nle²⁷, D-Arg²⁸, Har²⁹]hGH-RH(1-29)NH₂ 肽 80
- [HOOC(CH₂)₆CO -Tyr¹, D-Arg², Phe(pCl)⁶, Ala⁸, His⁹, Tyr(Et)¹⁰, His¹¹, Abu¹⁵, Nle²⁷, D-Arg²⁸, Har²⁹]hGH-RH(1-29)NH₂ 肽 81
- [HOOC(CH₂)₁₂CO -Tyr¹, D-Arg², Phe(pCl)⁶, Ala⁸, His⁹, Tyr(Et)¹⁰, His¹¹, Abu¹⁵, Nle²⁷, D-Arg²⁸, Har²⁹]hGH-RH(1-29)NH₂ 肽 82
- [PhAc-Tyr¹, D-Arg², Phe(pCl)⁶, Har⁹, Tyr(Me)¹⁰, Abu¹⁵, His²⁰, Nle²⁷, D-Arg²⁸, Har²⁹]hGH-RH(1-29)NH₂ 肽 84
- [PhAc-Tyr¹, D-Arg², Phe(pCl)⁶, Har⁹, Tyr(Me)¹⁰, His¹¹, Abu¹⁵, His²⁰, Nle²⁷, D-Arg²⁸, Har²⁹]hGH-RH(1-29)NH₂ 肽 85
- [CH₃(CH₂)₆CO-Tyr¹, D-Arg², Phe(pCl)⁶, Ala⁸, His⁹, Tyr(Et)¹⁰, His¹¹, Abu¹⁵, His²⁰, Nle²⁷, D-Arg²⁸, Har²⁹]hGH-RH(1-29)NH₂ 肽 86
- [CH₃(CH₂)₆CO-Tyr¹, D-Arg², Phe(pCl)⁶, Ala⁸, Amp⁹, Tyr(Et)¹⁰, His¹¹, Abu¹⁵, His²⁰, Nle²⁷, D-Arg²⁸, Har²⁹]hGH-RH(1-29)NH₂ 肽 87
- [HOOC(CH₂)₁₂CO-Tyr¹, D-Arg², Phe(pCl)⁶, Ala⁸, His⁹, Tyr(Et)¹⁰, His¹¹, Abu¹⁵, His²⁰, Nle²⁷, D-Arg²⁸, Har²⁹]hGH-RH(1-29)NH₂ 肽 88

- [HOOC(CH₂)₁₂CO-Tyr¹, D-Arg², Phe(pCl)⁶, Ala⁸, Amp⁹, Tyr(Et)¹⁰, His¹¹, Abu¹⁵, His²⁰, Nle²⁷, D-Arg²⁸, Har²⁹]hGH-RH(1-29)NH₂ 肽 89
- 5 [PhAc-Tyr¹, D-Arg², Phe(pCl)⁶, Arg⁹, Cit¹⁵, Nle²⁷, D-Arg²⁸, Har²⁹]hGH-RH(1-29)NH₂
肽 90
- [1-Nac-Tyr¹, D-Arg², Phe(pCl)⁶, Ala⁸, His⁹, Tyr(Et)¹⁰, His¹¹, Abu¹⁵, Nle²⁷, D-Arg²⁸, Har²⁹]hGH-RH(1-29)NH₂ 肽 91
- 10 [CH₃(CH₂)₆CO -Tyr¹, D-Arg², Phe(pCl)⁶, His⁹, Tyr(Et)¹⁰, His¹¹, Abu¹⁵, Nle²⁷, D-Arg²⁸, Har²⁹]hGH-RH(1-29)NH₂ 肽 92
- [CH₃(CH₂)₆CO -Tyr¹, D-Arg², Phe(pCl)⁶, Ala⁸, His⁹, Cit¹⁵, Nle²⁷, D-Arg²⁸, Har²⁹]hGH-RH(1-29)NH₂ 肽 93
- [CH₃(CH₂)₆CO-Tyr¹, D-Arg², Phe(pCl)⁶, Ala⁸, His⁹, Tyr(Et)¹⁰, His¹¹, His¹⁵, His²⁰, Nle²⁷, D-Arg²⁸, Har²⁹]hGH-RH(1-29)NH₂ 肽 94
- 15 [CH₃(CH₂)₆CO -Tyr¹, D-Arg², Phe(pCl)⁶, Ala⁸, His⁹, Tyr(Et)¹⁰, His¹¹, Orn¹², Abu¹⁵, Orn²¹, Nle²⁷, D-Arg²⁸, Har²⁹]hGH-RH(1-29)NH₂ 肽 95
- [CH₃(CH₂)₆CO -Tyr¹, D-Arg², Phe(pCl)⁶, Ala⁸, His⁹, Tyr(Et)¹⁰, His¹¹, Orn¹², Abu¹⁵, His²⁰, Orn²¹, Nle²⁷, D-Arg²⁸, Har²⁹]hGH-RH(1-29)NH₂ 肽 96
- 20 [CH₃(CH₂)₆CO -Tyr¹, D-Arg², Phe(pCl)⁶, Ala⁸, His⁹, Tyr(Et)¹⁰, His¹¹, Abu¹⁵, Nle²⁷, D-Arg²⁸, Har²⁹]hGH-RH(1-29)NH₂ 肽 97
- [CH₃(CH₂)₆CO -Tyr¹, D-Arg², Phe(pCl)⁶, Ala⁸, His⁹, Tyr(Et)¹⁰, His¹¹, Abu¹⁵, Nle²⁷, D-Arg²⁸, Har²⁹]hGH-RH(1-29)NH₂ 肽 98
- 25 [CH₃(CH₂)₆CO -Tyr¹, D-Arg², Phe(pCl)⁶, Ala⁸, His⁹, Tyr(Et)¹⁰, His¹¹, Abu¹⁵, Nle²⁷, D-Arg²⁸, Har²⁹]hGH-RH(1-29)NH₂ 肽 99
- [Hca -Tyr¹, D-Arg², Phe(pCl)⁶, Ala⁸, His⁹, Tyr(Et)¹⁰, His¹¹, Abu¹⁵, Nle²⁷, D-Arg²⁸, Har²⁹]hGH-RH(1-29)NH₂ 肽 100
- 30 [CH₃(CH₂)₆CO -Tyr¹, D-Arg², Phe(pCl)⁶, Ala⁸, His⁹, Tyr(Et)¹⁰, His¹¹, Abu¹⁵, Nle²⁷, D-Arg²⁸, Har²⁹]hGH-RH(1-29)NHMe 肽 101

- [HOOC(CH₂)₁₂CO -Tyr¹, D-Arg², Phe(pCl)⁶, Ala⁸, His⁹, Tyr(Et)¹⁰, His¹¹, Orn¹², Abu¹⁵, His²⁰, Orn²¹,
Nle²⁷, D-Arg²⁸, Har²⁹]hGH-RH(1-29)NH₂ 肽 102
- [CH₃(CH₂)₆CO -Tyr¹, D-Arg², Phe(pCl)⁶, Ala⁸, Amp⁹, Tyr(Et)¹⁰, His¹¹, Orn¹², Abu¹⁵, His²⁰, Orn²¹,
Nle²⁷, D-Arg²⁸, Har²⁹]hGH-RH(1-29)NH₂ 肽 103
- 5 [CH₃(CH₂)₆CO -Tyr¹, D-Arg², Phe(pCl)⁶, Ala⁸, His⁹, Dip¹⁰, His¹¹, Orn¹², Abu¹⁵, His²⁰, Orn²¹, Nle²⁷, D-
Arg²⁸, Har²⁹]hGH-RH(1-29)NH₂ 肽 104
- [CH₃(CH₂)₆CO -Tyr¹, D-Arg², Phe(pCl)⁶, Ala⁸, His⁹, Phe(pNO₂)¹⁰, His¹¹, Orn¹², Abu¹⁵, His²⁰, Orn²¹,
Nle²⁷, D-Arg²⁸, Har²⁹]hGH-RH(1-29)NH₂ 肽 105
- 10 [CH₃(CH₂)₆CO -Tyr¹, D-Arg², Phe(pCl)⁶, Ala⁸, His⁹, Tyr(Et)¹⁰, His¹¹, Orn¹², Abu¹⁵, His²⁰, Orn²¹, Nle²⁷,
D-Arg²⁸, Har²⁹]hGH-RH(1-29)NH₂ 肽 106
- [HOOC(CH₂)₁₂CO -Tyr¹, D-Arg², Phe(pCl)⁶, Ala⁸, Amp⁹, Tyr(Et)¹⁰, His¹¹, Orn¹², Abu¹⁵, His²⁰, Orn²¹,
Nle²⁷, D-Arg²⁸, Har²⁹]hGH-RH(1-29)NH₂ 肽 107
- 15 [HOOC(CH₂)₁₂CO -Tyr¹, D-Arg², Phe(pCl)⁶, Ala⁸, His⁹, Dip¹⁰, His¹¹, Orn¹², Abu¹⁵, His²⁰, Orn²¹, Nle²⁷,
D-Arg²⁸, Har²⁹]hGH-RH(1-29)NH₂ 肽 108
- [HOOC(CH₂)₁₂CO -Tyr¹, D-Arg², Phe(pCl)⁶, Ala⁸, His⁹, Phe(pNO₂)¹⁰, His¹¹, Orn¹², Abu¹⁵, His²⁰,
Orn²¹, Nle²⁷, D-Arg²⁸, Har²⁹]hGH-RH(1-29)NH₂ 肽 109
- [HOOC(CH₂)₁₂CO -Tyr¹, D-Arg², Phe(pCl)⁶, Ala⁸, His⁹, Tyr(Et)¹⁰, His¹¹, Orn¹², Abu¹⁵, His²⁰, Orn²¹,
Nle²⁷, D-Arg²⁸, Har²⁹]hGH-RH(1-29)NH₂ 肽 110
- 20 [CH₃(CH₂)₆CO -Tyr¹, D-Arg², Phe(pCl)⁶, Ala⁸, Amp⁹, Dip¹⁰, His¹¹, Orn¹², Abu¹⁵, His²⁰, Orn²¹, Nle²⁷,
D-Arg²⁸, Har²⁹]hGH-RH(1-29)NH₂ 肽 111
- [CH₃(CH₂)₆CO -Tyr¹, D-Arg², Phe(pCl)⁶, Ala⁸, Amp⁹, Phe(pNO₂)¹⁰, His¹¹, Orn¹², Abu¹⁵, His²⁰, Orn²¹,
Nle²⁷, D-Arg²⁸, Har²⁹]hGH-RH(1-29)NH₂ 肽 112
- 25 [CH₃(CH₂)₆CO -Tyr¹, D-Arg², Phe(pCl)⁶, Ala⁸, Amp⁹, Tyr(Et)¹⁰, His¹¹, Orn¹², Abu¹⁵, His²⁰, Orn²¹,
Nle²⁷, D-Arg²⁸, Har²⁹]hGH-RH(1-29)NH₂ 肽 113
- [CH₃(CH₂)₆CO -Tyr¹, D-Arg², Phe(pCl)⁶, Ala⁸, His⁹, Dip¹⁰, His¹¹, Orn¹², Abu¹⁵, His²⁰, Orn²¹, Nle²⁷, D-
Arg²⁸, Har²⁹]hGH-RH(1-29)NH₂ 肽 114
- 30

- [CH₃(CH₂)₆CO -Tyr¹, D-Arg², Phe(pCl)⁶, Ala⁸, His⁹, Phe(pNO₂)¹⁰, His¹¹, Orn¹², Abu¹⁵, His²⁰, Orn²¹, Nle²⁷, D-Arg²⁸, Har²⁹]hGH-RH(1-29)NH₂ 肽 115
- 5 [HOOC(CH₂)₁₂CO -Tyr¹, D-Arg², Phe(pCl)⁶, Ala⁸, Amp⁹, Dip¹⁰, His¹¹, Orn¹², Abu¹⁵, His²⁰, Orn²¹, Nle²⁷, D-Arg²⁸, Har²⁹]hGH-RH(1-29)NH₂ 肽 116
- [HOOC(CH₂)₁₂CO -Tyr¹, D-Arg², Phe(pCl)⁶, Ala⁸, Amp⁹, Phe(pNO₂)¹⁰, His¹¹, Orn¹², Abu¹⁵, His²⁰, Orn²¹, Nle²⁷, D-Arg²⁸, Har²⁹]hGH-RH(1-29)NH₂ 肽 117
- [CH₃(CH₂)₆CO -Tyr¹, D-Arg², Phe(pCl)⁶, Ala⁸, Amp⁹, Dip¹⁰, His¹¹, Orn¹², Abu¹⁵, His²⁰, Orn²¹, Nle²⁷, D-Arg²⁸, Har²⁹]hGH-RH(1-29)NH₂ 肽 118
- 10 [CH₃(CH₂)₆CO -Tyr¹, D-Arg², Phe(pCl)⁶, Ala⁸, Amp⁹, Phe(pNO₂)¹⁰, His¹¹, Orn¹², Abu¹⁵, His²⁰, Orn²¹, Nle²⁷, D-Arg²⁸, Har²⁹]hGH-RH(1-29)NH₂ 肽 119
- [HOOC(CH₂)₁₂CO -Tyr¹, D-Arg², Phe(pCl)⁶, Ala⁸, Amp⁹, Dip¹⁰, His¹¹, Orn¹², Abu¹⁵, His²⁰, Orn²¹, Nle²⁷, D-Arg²⁸, Har²⁹]hGH-RH(1-29)NH₂ 肽 120
- 15 [HOOC(CH₂)₁₂CO -Tyr¹, D-Arg², Phe(pCl)⁶, Ala⁸, Amp⁹, Phe(pNO₂)¹⁰, His¹¹, Orn¹², Abu¹⁵, His²⁰, Orn²¹, Nle²⁷, D-Arg²⁸, Har²⁹]hGH-RH(1-29)NH₂ 肽 121

三十个非常优选的实施方式具有式:

- 20 CH₃(CH₂)₆CO-Tyr¹-D-Arg²-Asp³-Ala⁴-Ile⁵-Phe(pCl)⁶-Thr⁷-Asn⁸-Arg⁹-Tyr¹⁰-Arg¹¹-Lys¹²-Val¹³-Leu¹⁴-Abu¹⁵-Gln¹⁶-Leu¹⁷-Ser¹⁸-Ala¹⁹-Arg²⁰-Lys²¹-Leu²²-Leu²³-Gln²⁴-Asp²⁵-Ile²⁶-Nle²⁷-D-Arg²⁸-Har²⁹-NH₂
肽 4
- HOOC(CH₂)₆CO-Tyr¹-D-Arg²-Asp³-Ala⁴-Ile⁵-Phe(pCl)⁶-Thr⁷-Asn⁸-Arg⁹-Tyr¹⁰-Arg¹¹-Lys¹²-Val¹³-Leu¹⁴-Abu¹⁵-Gln¹⁶-Leu¹⁷-Ser¹⁸-Ala¹⁹-Arg²⁰-Lys²¹-Leu²²-Leu²³-Gln²⁴-Asp²⁵-Ile²⁶-Nle²⁷-D-Arg²⁸-Har²⁹-NH₂
肽 5
- 25 HOOC(CH₂)₈CO-Tyr¹-D-Arg²-Asp³-Ala⁴-Ile⁵-Phe(pCl)⁶-Thr⁷-Asn⁸-Arg⁹-Tyr¹⁰-Arg¹¹-Lys¹²-Val¹³-Leu¹⁴-Abu¹⁵-Gln¹⁶-Leu¹⁷-Ser¹⁸-Ala¹⁹-Arg²⁰-Lys²¹-Leu²²-Leu²³-Gln²⁴-Asp²⁵-Ile²⁶-Nle²⁷-D-Arg²⁸-Har²⁹-NH₂
肽 7
- HOOC(CH₂)₁₂CO-Tyr¹-D-Arg²-Asp³-Ala⁴-Ile⁵-Phe(pCl)⁶-Thr⁷-Asn⁸-Arg⁹-Tyr¹⁰-Arg¹¹-Lys¹²-Val¹³-Leu¹⁴-Abu¹⁵-Gln¹⁶-Leu¹⁷-Ser¹⁸-Ala¹⁹-Arg²⁰-Lys²¹-Leu²²-Leu²³-Gln²⁴-Asp²⁵-Ile²⁶-Nle²⁷-D-Arg²⁸-Har²⁹-NH₂
肽 11
- 30

- PhAc-Tyr¹-D-Arg²-Asp³-Ala⁴-Ile⁵-Phe(pCl)⁶-Thr⁷-Cit⁸-Arg⁹-Tyr¹⁰-Arg¹¹-Lys¹²-Val¹³-Leu¹⁴-Abu¹⁵-
Gln¹⁶-Leu¹⁷-Ser¹⁸-Ala¹⁹-Arg²⁰-Lys²¹-Leu²²-Leu²³-Gln²⁴-Asp²⁵-Ile²⁶-Nle²⁷-D-Arg²⁸-Har²⁹-NH₂
肽 21
- 5 PhAc-Tyr¹-D-Arg²-Asp³-Ala⁴-Ile⁵-Phe(pCl)⁶-Thr⁷-Cit⁸-Cit⁹-Tyr¹⁰-Arg¹¹-Lys¹²-Val¹³-Leu¹⁴-Abu¹⁵-Gln¹⁶-
Leu¹⁷-Ser¹⁸-Ala¹⁹-Arg²⁰-Lys²¹-Leu²²-Leu²³-Gln²⁴-Asp²⁵-Ile²⁶-Nle²⁷-D-Arg²⁸-Har²⁹-NH₂
肽 22
- PhAc-Tyr¹-D-Arg²-Asp³-Ala⁴-Ile⁵-Phe(pCl)⁶-Thr⁷-Asn⁸-Arg⁹-Amp¹⁰-Arg¹¹-Lys¹²-Val¹³-Leu¹⁴-Abu¹⁵-
Gln¹⁶-Leu¹⁷-Ser¹⁸-Ala¹⁹-Arg²⁰-Lys²¹-Leu²²-Leu²³-Gln²⁴-Asp²⁵-Ile²⁶-Nle²⁷-D-Arg²⁸-Har²⁹-NH₂
肽 30
- 10 PhAc-Tyr¹-D-Arg²-Asp³-Ala⁴-Ile⁵-Phe(pCl)⁶-Thr⁷-Asn⁸-Har⁹-Amp¹⁰-Arg¹¹-Lys¹²-Val¹³-Leu¹⁴-Abu¹⁵-
Gln¹⁶-Leu¹⁷-Ser¹⁸-Ala¹⁹-Arg²⁰-Lys²¹-Leu²²-Leu²³-Gln²⁴-Asp²⁵-Ile²⁶-Nle²⁷-D-Arg²⁸-Har²⁹-NH₂
肽 31
- PhAc-Tyr¹-D-Arg²-Asp³-Ala⁴-Ile⁵-Phe(pCl)⁶-Thr⁷-Asn⁸-Har⁹-2-Nal¹⁰-Arg¹¹-Lys¹²-Val¹³-Leu¹⁴-Abu¹⁵-
Gln¹⁶-Leu¹⁷-Ser¹⁸-Ala¹⁹-Arg²⁰-Lys²¹-Leu²²-Leu²³-Gln²⁴-Asp²⁵-Ile²⁶-Nle²⁷-D-Arg²⁸-Har²⁹-NH₂
肽 35
- 15 PhAc-Tyr¹-D-Arg²-Asp³-Ala⁴-Ile⁵-Phe(pCl)⁶-Thr⁷-Asn⁸-Har⁹-Dip¹⁰-Arg¹¹-Lys¹²-Val¹³-Leu¹⁴-Abu¹⁵-
Gln¹⁶-Leu¹⁷-Ser¹⁸-Ala¹⁹-Arg²⁰-Lys²¹-Leu²²-Leu²³-Gln²⁴-Asp²⁵-Ile²⁶-Nle²⁷-D-Arg²⁸-Har²⁹-NH₂
肽 36
- PhAc-Tyr¹-D-Arg²-Asp³-Ala⁴-Ile⁵-Phe(pCl)⁶-Thr⁷-Asn⁸-Har⁹-Phe(pNH₂)¹⁰-Arg¹¹-Lys¹²-Val¹³-Leu¹⁴-
Abu¹⁵-Gln¹⁶-Leu¹⁷-Ser¹⁸-Ala¹⁹-Arg²⁰-Lys²¹-Leu²²-Leu²³-Gln²⁴-Asp²⁵-Ile²⁶-Nle²⁷-D-Arg²⁸-Har²⁹-NH₂
肽 37
- 20 PhAc-Tyr¹-D-Arg²-Asp³-Ala⁴-Ile⁵-Phe(pCl)⁶-Thr⁷-Asn⁸-Har⁹-Phe(pNO₂)¹⁰-Arg¹¹-Lys¹²-Val¹³-Leu¹⁴-
Abu¹⁵-Gln¹⁶-Leu¹⁷-Ser¹⁸-Ala¹⁹-Arg²⁰-Lys²¹-Leu²²-Leu²³-Gln²⁴-Asp²⁵-Ile²⁶-Nle²⁷-D-Arg²⁸-Har²⁹-NH₂
肽 39
- 25 PhAc-Tyr¹-D-Arg²-Asp³-Ala⁴-Ile⁵-Phe(pCl)⁶-Thr⁷-Asn⁸-Har⁹-Tyr(Et)¹⁰-Arg¹¹-Lys¹²-Val¹³-Leu¹⁴-Abu¹⁵-
Gln¹⁶-Leu¹⁷-Ser¹⁸-Ala¹⁹-Arg²⁰-Lys²¹-Leu²²-Leu²³-Gln²⁴-Asp²⁵-Ile²⁶-Nle²⁷-D-Arg²⁸-Har²⁹-NH₂
肽 41
- PhAc-His¹-D-Arg²-Asp³-Ala⁴-Ile⁵-Tyr⁶-Thr⁷-Asn⁸-Har⁹-Bpa¹⁰-Arg¹¹-Lys¹²-Val¹³-Leu¹⁴-Abu¹⁵-Gln¹⁶-
Leu¹⁷-Ser¹⁸-Ala¹⁹-Arg²⁰-Lys²¹-Leu²²-Leu²³-Gln²⁴-Asp²⁵-Ile²⁶-Nle²⁷-D-Arg²⁸-Har²⁹-NH₂
肽 42

PhAc-Tyr¹-D-Arg²-Asp³-Ala⁴-Ile⁵-Phe(pCl)⁶-Thr⁷-Asn⁸-Har⁹-Tyr(Me)¹⁰-Arg¹¹-Lys¹²-Val¹³-Leu¹⁴-
Abu¹⁵-Gln¹⁶-Leu¹⁷-Ser¹⁸-Ala¹⁹-Arg²⁰-Lys²¹-Leu²²-Leu²³-Gln²⁴-Asp²⁵-Ile²⁶-Nle²⁷-D-Arg²⁸-Har²⁹-NH₂

肽 46

5 PhAc-Tyr¹-D-Arg²-Asp³-Ala⁴-Ile⁵-Phe(pCl)⁶-Thr⁷-Asn⁸-Har⁹-Tyr(Me)¹⁰-His¹¹-Lys¹²-Val¹³-Leu¹⁴-Abu¹⁵-
Gln¹⁶-Leu¹⁷-Ser¹⁸-Ala¹⁹-Arg²⁰-Lys²¹-Leu²²-Leu²³-Gln²⁴-Asp²⁵-Ile²⁶-Nle²⁷-D-Arg²⁸-Har²⁹-NH₂

肽 62

PhAc-Tyr¹-D-Arg²-Asp³-Ala⁴-Ile⁵-Phe(pCl)⁶-Thr⁷-Asn⁸-Amp⁹-Tyr(Me)¹⁰-Arg¹¹-Lys¹²-Val¹³-Leu¹⁴-
Abu¹⁵-Gln¹⁶-Leu¹⁷-Ser¹⁸-Ala¹⁹-Arg²⁰-Lys²¹-Leu²²-Leu²³-Gln²⁴-Asp²⁵-Ile²⁶-Nle²⁷-D-Arg²⁸-Har²⁹-NH₂

肽 67

10 PhAc-Tyr¹-D-Arg²-Asp³-Ala⁴-Ile⁵-Phe(pCl)⁶-Thr⁷-Asn⁸-His⁹-Tyr(Me)¹⁰-Arg¹¹-Lys¹²-Val¹³-Leu¹⁴-Abu¹⁵-
Gln¹⁶-Leu¹⁷-Ser¹⁸-Ala¹⁹-Arg²⁰-Lys²¹-Leu²²-Leu²³-Gln²⁴-Asp²⁵-Ile²⁶-Nle²⁷-D-Arg²⁸-Har²⁹-NH₂

肽 69

CH₃(CH₂)₆CO-Tyr¹-D-Arg²-Asp³-Ala⁴-Ile⁵-Phe(pCl)⁶-Thr⁷-Asn⁸-Amp⁹-Tyr(Me)¹⁰-Arg¹¹-Lys¹²-Val¹³-
Leu¹⁴-Abu¹⁵-Gln¹⁶-Leu¹⁷-Ser¹⁸-Ala¹⁹-Arg²⁰-Lys²¹-Leu²²-Leu²³-Gln²⁴-Asp²⁵-Ile²⁶-Nle²⁷-D-Arg²⁸-Har²⁹-
NH₂

肽 70

15

HOOC(CH₂)₁₂CO-Tyr¹-D-Arg²-Asp³-Ala⁴-Ile⁵-Phe(pCl)⁶-Thr⁷-Asn⁸-Amp⁹-Tyr(Me)¹⁰-Arg¹¹-Lys¹²-
Val¹³-Leu¹⁴-Abu¹⁵-Gln¹⁶-Leu¹⁷-Ser¹⁸-Ala¹⁹-Arg²⁰-Lys²¹-Leu²²-Leu²³-Gln²⁴-Asp²⁵-Ile²⁶-Nle²⁷-D-Arg²⁸-
Har²⁹-NH₂

肽 72

20 CH₃(CH₂)₆CO-Tyr¹-D-Arg²-Asp³-Ala⁴-Ile⁵-Phe(pCl)⁶-Thr⁷-Cit⁸-Amp⁹-Tyr(Me)¹⁰-His¹¹-Lys¹²-Val¹³-
Leu¹⁴-Abu¹⁵-Gln¹⁶-Leu¹⁷-Ser¹⁸-Ala¹⁹-Arg²⁰-Lys²¹-Leu²²-Leu²³-Gln²⁴-Asp²⁵-Ile²⁶-Nle²⁷-D-Arg²⁸-Har²⁹-
NH₂

肽 76

HOOC(CH₂)₁₂CO-Tyr¹-D-Arg²-Asp³-Ala⁴-Ile⁵-Phe(pCl)⁶-Thr⁷-Cit⁸-Amp⁹-Tyr(Me)¹⁰-His¹¹-Lys¹²-Val¹³-
Leu¹⁴-Abu¹⁵-Gln¹⁶-Leu¹⁷-Ser¹⁸-Ala¹⁹-Arg²⁰-Lys²¹-Leu²²-Leu²³-Gln²⁴-Asp²⁵-Ile²⁶-Nle²⁷-D-Arg²⁸-Har²⁹-
NH₂

肽 77

25 CH₃(CH₂)₆CO-Tyr¹-D-Arg²-Asp³-Ala⁴-Ile⁵-Phe(pCl)⁶-Thr⁷-Cit⁸-His⁹-Tyr(Et)¹⁰-His¹¹-Lys¹²-Val¹³-Leu¹⁴-
Abu¹⁵-Gln¹⁶-Leu¹⁷-Ser¹⁸-Ala¹⁹-Arg²⁰-Lys²¹-Leu²²-Leu²³-Gln²⁴-Asp²⁵-Ile²⁶-Nle²⁷-D-Arg²⁸-Har²⁹-NH₂

肽 79

CH₃(CH₂)₆CO-Tyr¹-D-Arg²-Asp³-Ala⁴-Ile⁵-Phe(pCl)⁶-Thr⁷-Ala⁸-His⁹-Tyr(Et)¹⁰-His¹¹-Lys¹²-Val¹³-
Leu¹⁴-Abu¹⁵-Gln¹⁶-Leu¹⁷-Ser¹⁸-Ala¹⁹-Arg²⁰-Lys²¹-Leu²²-Leu²³-Gln²⁴-Asp²⁵-Ile²⁶-Nle²⁷-D-Arg²⁸-Har²⁹-
NH₂

肽 80

30

HOOC(CH₂)₁₂CO-Tyr¹-D-Arg²-Asp³-Ala⁴-Ile⁵-Phe(pCl)⁶-Thr⁷-Ala⁸-His⁹-Tyr(Et)¹⁰-His¹¹-Lys¹²-Val¹³-
Leu¹⁴-Abu¹⁵-Gln¹⁶-Leu¹⁷-Ser¹⁸-Ala¹⁹-Arg²⁰-Lys²¹-Leu²²-Leu²³-Gln²⁴-Asp²⁵-Ile²⁶-Nle²⁷-D-Arg²⁸-Har²⁹-
NH₂ 肽 82

5 CH₃(CH₂)₆CO-Tyr¹-D-Arg²-Asp³-Ala⁴-Ile⁵-Phe(pCl)⁶-Thr⁷-Ala⁸-His⁹-Tyr(Et)¹⁰-His¹¹-Lys¹²-Val¹³-
Leu¹⁴-Abu¹⁵-Gln¹⁶-Leu¹⁷-Ser¹⁸-Ala¹⁹-His²⁰-Lys²¹-Leu²²-Leu²³-Gln²⁴-Asp²⁵-Ile²⁶-Nle²⁷-D-Arg²⁸-Har²⁹-
NH₂ 肽 86

CH₃(CH₂)₆CO-Tyr¹-D-Arg²-Asp³-Ala⁴-Ile⁵-Phe(pCl)⁶-Thr⁷-Asn⁸-His⁹-Tyr(Et)¹⁰-His¹¹-Lys¹²-Val¹³-
Leu¹⁴-Abu¹⁵-Gln¹⁶-Leu¹⁷-Ser¹⁸-Ala¹⁹-Arg²⁰-Lys²¹-Leu²²-Leu²³-Gln²⁴-Asp²⁵-Ile²⁶-Nle²⁷-D-Arg²⁸-Har²⁹-
NH₂ 肽 92

10 CH₃(CH₂)₆CO-Tyr¹-D-Arg²-Asp³-Ala⁴-Ile⁵-Phe(pCl)⁶-Thr⁷-Ala⁸-His⁹-Tyr(Et)¹⁰-His¹¹-Orn¹²-Val¹³-
Leu¹⁴-Abu¹⁵-Gln¹⁶-Leu¹⁷-Ser¹⁸-Ala¹⁹-Arg²⁰-Orn²¹-Leu²²-Leu²³-Gln²⁴-Asp²⁵-Ile²⁶-Nle²⁷-D-Arg²⁸-Har²⁹-
NH₂ 肽 95

CH₃(CH₂)₆CO-Tyr¹-D-Arg²-Asp³-Ala⁴-Ile⁵-Phe(pCl)⁶-Thr⁷-Ala⁸-His⁹-Tyr(Et)¹⁰-His¹¹-Orn¹²-Val¹³-
Leu¹⁴-Abu¹⁵-Gln¹⁶-Leu¹⁷-Ser¹⁸-Ala¹⁹-His²⁰-Orn²¹-Leu²²-Leu²³-Gln²⁴-Asp²⁵-Ile²⁶-Nle²⁷-D-Arg²⁸-Har²⁹-
NH₂ 肽 96

15 CH₃(CH₂)₆CO-Tyr¹-D-Arg²-Asp³-Ala⁴-Ile⁵-Phe(pCl)⁶-Thr⁷-Ala⁸-His⁹-Tyr(Et)¹⁰-His¹¹-Lys¹²-Val¹³-
Leu¹⁴-Abu¹⁵-Gln¹⁶-Leu¹⁷-Ser¹⁸-Ala¹⁹-Arg²⁰-Lys²¹-Leu²²-Leu²³-Gln²⁴-Asp²⁵-Ile²⁶-Nle²⁷-D-Arg²⁸-Har²⁹-
NH₂ 肽 97

在已充分确定的常规下，这些可被简写为如下：

20 [CH₃(CH₂)₆CO-Tyr¹, D-Arg², Phe(pCl)⁶, Arg⁹, Abu¹⁵, Nle²⁷, D-Arg²⁸, Har²⁹]hGH-RH(1-29)NH₂
肽 4

[HOOC(CH₂)₆CO-Tyr¹, D-Arg², Phe(pCl)⁶, Arg⁹, Abu¹⁵, Nle²⁷, D-Arg²⁸, Har²⁹]hGH-RH(1-29)NH₂
肽 5

25 [HOOC(CH₂)₆CO-Tyr¹, D-Arg², Phe(pCl)⁶, Arg⁹, Abu¹⁵, Nle²⁷, D-Arg²⁸, Har²⁹]hGH-RH(1-29)NH₂
肽 7

[HOOC(CH₂)₁₂CO-Tyr¹, D-Arg², Phe(pCl)⁶, Arg⁹, Abu¹⁵, Nle²⁷, D-Arg²⁸, Har²⁹]hGH-RH(1-29)NH₂
肽 11

30 [PhAc-Tyr¹, D-Arg², Phe(pCl)⁶, Cit⁸, Arg⁹, Abu¹⁵, Nle²⁷, D-Arg²⁸, Har²⁹]hGH-RH(1-29)NH₂
肽 21

- [PhAc-Tyr¹, D-Arg², Phe(pCl)⁶, Cit⁸, Cit⁹, Abu¹⁵, Nle²⁷, D-Arg²⁸, Har²⁹]hGH-RH(1-29)NH₂
肽 22
- [PhAc-Tyr¹, D-Arg², Phe(pCl)⁶, Arg⁹, Amp¹⁰, Abu¹⁵, Nle²⁷, D-Arg²⁸, Har²⁹]hGH-RH(1-29)NH₂
肽 30
- 5 [PhAc-Tyr¹, D-Arg², Phe(pCl)⁶, Har⁹, Amp¹⁰, Abu¹⁵, Nle²⁷, D-Arg²⁸, Har²⁹]hGH-RH(1-29)NH₂
肽 31
- [PhAc-Tyr¹, D-Arg², Phe(pCl)⁶, Har⁹, 2-Nal¹⁰, Abu¹⁵, Nle²⁷, D-Arg²⁸, Har²⁹]hGH-RH(1-29)NH₂
肽 35
- 10 [PhAc-Tyr¹, D-Arg², Phe(pCl)⁶, Har⁹, Dip¹⁰, Abu¹⁵, Nle²⁷, D-Arg²⁸, Har²⁹]hGH-RH(1-29)NH₂
肽 36
- [PhAc-Tyr¹, D-Arg², Phe(pCl)⁶, Har⁹, Phe(pNH₂)¹⁰, Abu¹⁵, Nle²⁷, D-Arg²⁸, Har²⁹]hGH-RH(1-29)NH₂
肽 37
- [PhAc-Tyr¹, D-Arg², Phe(pCl)⁶, Har⁹, Phe(pNO₂)¹⁰, Abu¹⁵, Nle²⁷, D-Arg²⁸, Har²⁹]hGH-RH(1-29)NH₂
肽 39
- 15 [PhAc-Tyr¹, D-Arg², Phe(pCl)⁶, Har⁹, Tyr(Et)¹⁰, Abu¹⁵, Nle²⁷, D-Arg²⁸, Har²⁹]hGH-RH(1-29)NH₂
肽 41
- [PhAc-His¹, D-Arg², Tyr⁶, Har⁹, Bpa¹⁰, Abu¹⁵, Nle²⁷, D-Arg²⁸, Har²⁹]hGH-RH(1-29)NH₂
肽 42
- 20 [PhAc-Tyr¹, D-Arg², Phe(pCl)⁶, Har⁹, Tyr(Me)¹⁰, Abu¹⁵, Nle²⁷, D-Arg²⁸, Har²⁹]hGH-RH(1-29)NHEt
肽 46
- [PhAc-Tyr¹, D-Arg², Phe(pCl)⁶, Har⁹, Tyr(Me)¹⁰, His¹¹, Abu¹⁵, Nle²⁷, D-Arg²⁸, Har²⁹]hGH-RH(1-29)NH₂
肽 62
- 25 [PhAc-Tyr¹, D-Arg², Phe(pCl)⁶, Amp⁹, Tyr(Me)¹⁰, Abu¹⁵, Nle²⁷, D-Arg²⁸, Har²⁹]hGH-RH(1-29)NH₂
肽 67
- [PhAc-Tyr¹, D-Arg², Phe(pCl)⁶, His⁹, Tyr(Me)¹⁰, Abu¹⁵, Nle²⁷, D-Arg²⁸, Har²⁹]hGH-RH(1-29)NH₂
肽 69
- 30

- [CH₃(CH₂)₆CO-Tyr¹, D-Arg², Phe(pCl)⁶, Amp⁹, Tyr(Me)¹⁰, Abu¹⁵, Nle²⁷, D-Arg²⁸, Har²⁹]hGH-RH(1-29)NH₂ 肽 70
- [HOOC(CH₂)₁₂CO-Tyr¹, D-Arg², Phe(pCl)⁶, Amp⁹, Tyr(Me)¹⁰, Abu¹⁵, Nle²⁷, D-Arg²⁸, Har²⁹]hGH-RH(1-29)NH₂ 肽 72
- [CH₃(CH₂)₆CO -Tyr¹, D-Arg², Phe(pCl)⁶, Cit⁸, Amp⁹, Tyr(Me)¹⁰, His¹¹, Abu¹⁵, Nle²⁷, D-Arg²⁸, Har²⁹]hGH-RH(1-29)NH₂ 肽 76
- [HOOC(CH₂)₁₂CO -Tyr¹, D-Arg², Phe(pCl)⁶, Cit⁸, Amp⁹, Tyr(Me)¹⁰, His¹¹, Abu¹⁵, Nle²⁷, D-Arg²⁸, Har²⁹]hGH-RH(1-29)NH₂ 肽 77
- [CH₃(CH₂)₆CO -Tyr¹, D-Arg², Phe(pCl)⁶, Cit⁸, His⁹, Tyr(Et)¹⁰, His¹¹, Abu¹⁵, Nle²⁷, D-Arg²⁸, Har²⁹]hGH-RH(1-29)NH₂ 肽 79
- [CH₃(CH₂)₆CO -Tyr¹, D-Arg², Phe(pCl)⁶, Ala⁸, His⁹, Tyr(Et)¹⁰, His¹¹, Abu¹⁵, Nle²⁷, D-Arg²⁸, Har²⁹]hGH-RH(1-29)NH₂ 肽 80
- [HOOC(CH₂)₁₂CO -Tyr¹, D-Arg², Phe(pCl)⁶, Ala⁸, His⁹, Tyr(Et)¹⁰, His¹¹, Abu¹⁵, Nle²⁷, D-Arg²⁸, Har²⁹]hGH-RH(1-29)NH₂ 肽 82
- [CH₃(CH₂)₆CO-Tyr¹, D-Arg², Phe(pCl)⁶, Ala⁸, His⁹, Tyr(Et)¹⁰, His¹¹, Abu¹⁵, His²⁰, Nle²⁷, D-Arg²⁸, Har²⁹]hGH-RH(1-29)NH₂ 肽 86
- [CH₃(CH₂)₆CO -Tyr¹, D-Arg², Phe(pCl)⁶, His⁹, Tyr(Et)¹⁰, His¹¹, Abu¹⁵, Nle²⁷, D-Arg²⁸, Har²⁹]hGH-RH(1-29)NH₂ 肽 92
- [CH₃(CH₂)₆CO -Tyr¹, D-Arg², Phe(pCl)⁶, Ala⁸, His⁹, Tyr(Et)¹⁰, His¹¹, Orn¹², Abu¹⁵, Orn²¹, Nle²⁷, D-Arg²⁸, Har²⁹]hGH-RH(1-29)NH₂ 肽 95
- [CH₃(CH₂)₆CO -Tyr¹, D-Arg², Phe(pCl)⁶, Ala⁸, His⁹, Tyr(Et)¹⁰, His¹¹, Orn¹², Abu¹⁵, His²⁰, Orn²¹, Nle²⁷, D-Arg²⁸, Har²⁹]hGH-RH(1-29)NH₂ 肽 96
- [CH₃(CH₂)₆CO -Tyr¹, D-Arg², Phe(pCl)⁶, Ala⁸, His⁹, Tyr(Et)¹⁰, His¹¹, Abu¹⁵, Nle²⁷, D-Arg²⁸, Har²⁹]hGH-RH(1-29)NH₂ 肽 97

C. 制备的方法

1. 合成的综述

通过合适的方法合成肽，诸如通过专有固相技术、部分固相技术、片

段缩合或经典溶液相合成。例如，专有固相合成的技术在书“Solid Phase Peptide Synthesis”，J. M. Stewart 和 J. D. Young, Pierce Chem. Company, Rockford, Illinois, 1984 (2nd. ed.), 和 M. Bodanszky, “Principles of Peptide Synthesis”, Springer Verlag, 1984 中提及。尽管还可以使用如以前提到的
5 本领域其它等价的化学合成方法，优选使用固相合成诸如通常由 Merrifield, J. Am. Chem.Soc., 85 p. 2149 (1963)所描述的，来对所述 hGH-RH 拮抗剂肽进行制备。

用在它们的 α 氨基基团被保护的氨基酸进行合成。优选地，将尿烷类型的保护基(Boc 或 Fmoc)用于 α 氨基基团的保护。

10 在固相合成中，通过化学键将在 C-端形成终肽的氨酰基基团的 N- α -保护的氨基酸部分与聚合树脂支持物连接起来。在偶联反应完成后， α 氨基保护基被选择性地移去以容许随后的偶联反应在氨基端发生，优选地，当 N- α -保护基是 Boc 时，以 50%的在 DCM 中的 TFA 进行，或当 N- α -保护基是 Fmoc 时，以 20%在 DMF 中的哌啶进行。将具有相似地 Boc 或
15 Fmoc-保护的 α 氨基基团的剩余的氨基酸逐步偶联到树脂上的前述氨基酸的游离氨基基团以获得需要的肽序列。因为氨基酸残基与 C-端残基的 α 氨基基团偶联，合成 hGH-RH 类似物肽的生长开始于 C-端并向 N-端进展。当已经获得理想的序列时，在 N-端对所述肽进行酰基化，并将其从支持聚合物移去。

20 过量(2.5 或 3 当量)使用每个被保护的氨基酸并且通常偶联反应在 DCM、DMF 或其混合物中进行。在每个阶段，以(水合)茚三酮反应监测偶联反应完成的程度。在确定不完全偶联的情形中，在偶联下一个氨基酸之前或在去除 α 氨基保护基之前，重复所述偶联程序，通过未反应氨基基团的酰基化进行加帽。

25 典型的合成周期显示于表 I 和表 II 中。

30 表 I

使用 Boc-策略的典型合成周期的方案

步骤	试剂	混和时间(分钟)
1.去保护	50%在 DCM 中的 TFA	5+25
	DCM 洗涤	1
	2-丙醇洗涤	1
2.中和	5%在 DCM 中的 DIEA	1
	DCM 洗涤	1
	MeOH 洗涤	1
	5%在 DCM 中的 DIEA	3
	MeOH 洗涤	1
	DCM 洗涤(3 次)	1
	3.偶联	3 当量的在 DCM 或 DMF 中的 Boc-氨基酸+3 当量的 DIC 或被施行的 Boc-氨基酸的 HOBt 酯
	MeOH 洗涤(3 次)	1
	DCM 洗涤(3 次)	1
4.乙酰化 (如果合适)	在吡啶中的 Ac ₂ O(30%)	10+20
	MeOH 洗涤(3 次)	1
	DCM 洗涤(3 次)	1

表 II

5 使用 Fmoc-策略的典型合成周期的方案

步骤	试剂	混和时间(分钟)
1.去保护	20%在 DMF 中的哌啶	5+15
	DMF 洗涤(3 次)	1
2.偶联	3 当量的在 DMF 中的 Fmoc-氨基酸+3 当量的 DIC	
	或	
	+3 当量的 HBTU+3 当量的 HOBt+6 当量的 DIEA	60
	DMF 洗涤 3 次	1
3.乙酰化 (如果合适)	3 当量的在 DMF 中的 1-乙酰基咪唑	30
	DMF 洗涤(3 次)	1

合成完成后,可使用肽化学中众所周知的方法来实现肽从树脂上的裂解。

2.支持聚合物的选择

- 5 可在多种支持聚合物,即 MBHA、Merrified、PAM、Rink 酰胺或 Wang 树脂上合成 hGH-RH 拮抗剂肽。所述肽还可在氨基甲基, MBHA 或其它已经用适合的接头先进行衍生化的树脂上进行合成。这些接头的实例是对于 C-端羧基基团的连接而言的碱-不稳定的 4-羟基甲基苯甲酸(HMBA)接头或容许胍基丁胺通过其胍基基团进行连接的酸-不稳定对位-磺酰基-苯氧基乙酰基(SPA)接头。
- 10

当使用 Boc 策略合成具有酰胺化的 C-端的肽时,优选的树脂是 MBHA。可通过表 I 描述的标准 DIC-介导的偶联方法来完成 C-末端氨基酸与该树脂的连接。

- 15 为了制备具有 C-端乙基酰胺(-NH₂)修饰的肽,可与 Boc 策略结合使用 Merrifield 树脂或 HMBA-MBHA 树脂。通过于升高的温度下由氟化钾(KF)或铯盐介导的偶联来将 C-端氨基酸填充到 Merrifield 树脂上。

对于在 C-端的具有 Agm 的肽的合成,优选支持相是 MBHA 树脂或氨基甲基树脂。Boc-Agm 的胍基基团通过稳定的,但可容易裂解的接头诸如

对位-磺酰基-苯氧基乙酰基(SPA)部分来将 Boc-Agm 的胍基基团与支持聚合物进行连接。使 α -氨基-Boc-保护的 Agm 与氯磺酰基苯氧基乙酸 $\text{Cl-SO}_2\text{-C}_6\text{H}_4\text{-O-CH}_2\text{-COOH}$ 反应以形成 $\text{Boc-Agm-SO}_2\text{-C}_6\text{H}_4\text{-O-CH}_2\text{-COOH}$ 。然后使用 DIC 或 HBTU-HOBt-DIEA 作为活化试剂将该化合物与支持聚
5 物, 例如 MBHA 树脂偶联以产生 Boc-Agm-SPA-MBHA。

3.使用氨基酸衍生物

双官能氨基酸, 即不具有侧链官能团的那些, 大多数以它们的 N- α Boc-或 Fmoc-衍生物的形式使用以进行合成。因此, 将 Boc-Gly-OH 或 Fmoc-Gly-OH 典型地用于结合 Gly 残基。天然存在的双官能氨基酸是 Gly,
10 Ala, Val, Leu, Ile, Phe 和 Pro, 并且用在本发明中的一些众所周知的非编码双官能氨基酸是 Abu, Aib, 和 Nle。

所述肽的一些氨基酸残基具有侧链官能团, 所述官能团与用于偶联或去保护的试剂具有反应性。当这些侧链基团存在时, 合适的保护基与这些官能团连接以在用于形成肽的反应中阻止不理想的化学反应发生。在选择
15 特定侧链保护基中遵循如下的通用规则: (a) 在偶联条件下, 保护基优选地保留其保护性质并且不分裂, (b) 在合成的每个步骤中, 保护基在去除 α 氨基保护基的条件下应该是稳定的, (c) 侧链保护基在所需氨基酸序列的合成结束后, 在将不会不理想地改变肽链的反应条件下必须是可去除的。

当将 Boc-氨基酸用在合成中时, 反应性侧链官能团可以如下被保护:
20 对于 Arg 和 Har, Tos 或硝基(NO_2); 对于 Asp 和 Glu, cHx 或 Fm; 对于 His, Bom; 对于 Lys 和 Orn, 2ClZ 或 Fmoc; 对于 Ser 和 Thr, Bzl; 对于 Trp, For; 和对于 Tyr, 2 BrZ。Asn 和 Gln 的侧链不被保护。在 Fmoc 合成的情形中, 反应性侧链官能团可被如下的其它合适保护基所保护: 对于 Arg 和 Har, 2, 2, 4, 6,7-五甲基-二氢苯并呋喃-5-磺酰基(Pbf)或 bis-Boc;
25 对于 Asp 和 Glu, 叔-丁基(tBu); 对于 Asn 和 Gln, 没有保护基或三苯甲基(Trt)保护; 对于 His, Trt; 对于 Lys 和 Orn, Boc 或 4-甲氧基三苯甲基(Mmt); 对于 Ser 和 Thr, tBu 或 Trt; 对于 Trp, Boc, 和对于 Tyr, tBu 或 2-氯三苯甲基(2ClTrt)。

除了上述提及的广泛了解的编码和非编码氨基酸, 本申请的一些肽包
30 含较少见的非编码氨基酸诸如对位-脒基-苯丙氨酸(Amp); 对位-胍基-苯丙

氨酸(Gup); 环己基丙氨酸(Cha); 1, 2, 3,4-tetrahydronorharman-3-羧酸(Tpi); (2-萘基)丙氨酸(2-Nal); (3,3-二苯基)丙氨酸(Dip); 对位-氨基-苯丙氨酸 [Phe(pNH₂)];对位-硝基-苯丙氨酸[Phe(pNO₂)]; (3-吡啶基)丙氨酸(3-Pal); O-乙基-酪氨酸[Tyr(Et)]; 和对位-苯甲酰基-苯丙氨酸(Bpa)。还通过偶联合
5 合适的保护氨基酸衍生物来将这些氨基酸残基结合到肽中。可以使用的这些被保护的氨基酸衍生物的非-排外列表如下: Boc-Amp (Alloc)-OH, Boc-Amp-OH, Fmoc-Amp (Alloc)-OH, Fmoc-Amp-OH, Boc-Gup (Tos)-OH, Boc-Gup-OH, Fmoc-Gup(Boc)₂-OH, Fmoc-Gup-OH, Boc-Cha-OH, Boc-Tpi-OH, Boc-2-Nal-OH, Boc-Dip-OH, Boc-Phe(pNH-Z)-OH,
10 Boc-Phe(pNO₂)-OH, Boc-3-Pal-OH, Boc-Tyr(Et)-OH, 和 Boc-Bpa-OH。上述提及的非编码氨基酸的被保护衍生物可通常从一些商业供应者获得, 所述商业供应者包括: Bachem (King of Prussia, PA), Peptides International (Louisville, KY), Novabiochem (San Diego, CA), Advanced Chem Tech (Louisville, KY), 和 RSP Amino Acid Analogues DBA (Worcester, MA)。

15 4.氨基酸残基的逐步偶联

利用上述提及的支持聚合物并在填充 C-端氨基酸或 Agm 残基后, 所述肽本身可适当地以常规方式通过固相合成进行合成。关于树脂-结合游离氨基酸残基, 每个被保护的氨基酸以约三倍摩尔过量进行偶联, 并且所述偶联可以在介质诸如 DMF-DCM (1: 1)或在单独的 DMF 或 DCM 中进行。
20 合适偶联试剂的选择在本领域技术人员范围中。作为偶联试剂, 特别合适的是 N, N'-二异丙基碳二亚胺(DIC), 或当 DIEA 存在时, 与 HOBt 结合的 HBTU。在合成的每个阶段偶联反应的成功优选地通过水合茚三酮反应进行监测。在不完全偶联发生的情形中, 在去除 α 氨基保护基前, 重复偶联程序, 或使用加帽试剂对树脂结合的未反应氨基残基进行乙酰化。合适的
25 加帽试剂是 1-乙酰基咪唑和 Ac₂O-吡啶。

以与以前的偶联相同的方式完成用单羧酸对肽的 N-端进行的最终乙酰化, 不同的是用合适的羧酸取代氨基酸。当二羧酸与 N-端连接时, 理想的是仅有一个-COOH 基团与肽的氨基端反应(即, 制备这些酸的单酰胺), 可将各个二羧酸的酐用于偶联。许多二羧酸的环酐是可商购的; 在其它情形中, 通过用 DIC 处理来制备这些酸的预形成酐并将其用于偶联。
30

5. 肽从支持聚合物上的裂解和侧链保护基的去除

当合成结束时，所述肽从支持相上裂解下来并且其侧链保护基被去除。

通过 Boc 策略在 MBHA, Merrifield, 或 PAM 树脂上制备具有酰胺化的 C-端(-CONH₂)或具有 C-端的羧基基团(-COOH)的肽的情形中，通过用试剂诸如液体氟化氢(HF)的处理来使肽从树脂上去除。对于在 Boc-Agm-SPA-MBHA 树脂上合成肽的情形也是这样。在一些情形中，液体 HF 也裂解所有的剩余侧链保护基。然而，如果对于 HF 处理具有抗性的侧链保护基出现在肽上，应该进行另外的裂解步骤以去除这些保护基。因此，在 HF 处理之前或之后，通过用 20% 的在 DMF 中的哌啶进行处理来去除 Fm 和 Fmoc 保护基，同时通过用 Pd(PPh₃)₄ 催化剂和亲核清除剂来去除 All 和 Alloc 基团。

适当地，在 0°C 用混合物对干燥和被保护的肽-树脂处理 60-120 分钟以从树脂上裂解肽并去除 HF-不稳定侧链保护基，所述混合物由每克肽-树脂的 1.0mL 的 m-甲酚和 10mL 的无水氟化氢组成。在氮气流和真空下去除氟化氢后，用醚沉淀游离的肽，过滤，用醚和乙酸乙酯洗涤，用 50% 的乙酸抽提并进行冷冻干燥。

通过 Boc 策略在 Merrifield 或 HMBA-MBHA 树脂上制备具有乙酰胺(-NH₂Et)C-端的肽的情形中，被保护的肽首先通过乙胺(EtNH₂)介导的氨解从树脂上裂解下来。适当地，将液体 EtNH₂ 转移到冷的、厚壁的玻璃烧瓶中，所述烧瓶包含干燥和被保护的肽-树脂。液体 EtNH₂ 的量应足以覆盖肽-树脂。将所述烧瓶塞住，并于室温用液体 EtNH₂ 摇动 3.5 小时从而容许反应发生。此后，将烧瓶以干冰浴冷却、打开并过滤液体 EtNH₂，留下固体残余物包含树脂和裂解的肽的混合物，所述肽仍旧具有连接的保护基。如上所述，将固体残余物进行干燥并进行 HF 处理，从而去除所述肽的侧链保护基。

6. 纯化

使用肽化学中众所周知的方法来实现粗肽的纯化。例如，使用 Vydac 218TP510 反相柱(10 x 250 mm, 用 C18 硅胶包装, 300Å 孔大小, 5 μm 颗粒大小) (The Separations Group Inc., Hesperia, CA), 可以在具有 Knauer

UV 光度计和 Kipp 和 Zonen BD40 记录器的 MacRabbit HPLC 系统(Rainin Instrument Co.Inc., Woburn, MA)上进行纯化。用溶剂系统来洗脱所述柱, 所述溶剂系统由(A) 0.1%水性 TFA 和(B)以线性梯度模式(例如, 在 120 分钟内, 30-55% B)的在 70%水性 MeCN 中的 0.1% TEA。在 220nm 监测洗脱物, 并使用 Hewlett-Packard Model HP-1090 液相色谱仪通过分析 HPLC 来检测级分并将其进行合并以给出最大的纯度。利用等度洗脱在 Vydac 218TP52 反向柱(2 x 250 mm, C18, 300 A, 5 μ m)上进行分析 HPLC, 所述等度洗脱具有由上述的(A)和(B)组成的溶剂系统。在 220 和 280nm 检测峰。通过分析 HPLC 判断所述肽是基本纯的(>95%)。通过电雾化质谱法来检查分子量, 并通过氨基酸分析来证实预期的氨基酸组成。

D. 药物组成和施用模式

本发明的肽可以以药用, 非毒性盐诸如酸式加成盐的形式进行施用。这些酸式加成盐的例子是盐酸化物、氢溴化物、硫酸盐、磷酸盐、延胡索酸盐、gluconate、单宁酸盐、马来酸盐、乙酸盐、三氟醋酸盐、柠檬酸盐、苯甲酸盐、琥珀酸盐、藻酸盐、双羟萘酸盐、苹果酸盐、抗坏血酸盐、酒石酸盐等。特别优选的拮抗剂是低溶解度的盐, 例如双羟萘酸盐等。这些显示活性的长持续时间。

本发明的化合物通过皮下(s.c.)、肌内(i.m.)或静脉内(i.v); 鼻内或肺部吸入; 通过透皮传递; 或以配制自可生物降解的适合聚合物(诸如 D, L-丙交酯-共乙交酯)的储存形式(例如, 微胶囊、微颗粒或圆柱杆样植入物)适当地施用给受试者人或动物, 前者两个储存形式是优选的。其它等价的施用方式也在本发明的范围内, 即, 持续滴注、皮肤贴片、贮存注射剂、灌输泵和时间释放模式诸如微胶囊等。施用以任何生理接受的可注射载体进行, 生理盐水是可接受的, 尽管还可以使用其它本领域已知的载体。

所述肽优选地通过肠胃外、肌内、皮下或静脉内与药用载体诸如等渗盐水进行施用。或者, 将所述肽作为具有合适载体的鼻内喷雾剂或通过肺部吸入进行施用。一种施用的合适路径是作为包含分散的拮抗性化合物的微胶囊、微颗粒或圆柱杆状植入物的储存形式, 其配制自生物可降解的适合聚合物, 例如聚-丙交酯-共乙交酯。

所需的肽的量取决于药物组合物的类型和施用的模式。在人受试者接

受 GH-RH 拮抗剂的溶液的情形中, 通过 i.m.或 s.c.注射, 或以鼻内喷雾剂或肺部吸入的形式进行施用, 如果一天一次或分成 2-4 次施用/天, 典型的剂量介于 2-20mg/天/患者之间。当将 GH-RH 拮抗剂通过静脉内施用给人患者时, 典型的剂量在 8-80 μ g/kg 体重/天范围内, 其被分成 1-4 丸剂注射/天或被给药作持续输注。当使用 GH-RH 拮抗剂的储存制剂, 例如通过双羟萘酸盐或低溶解度的其它盐的 i.m.注射, 或通过包含分散在可生物降解的聚合物中的拮抗性化合物的微胶囊、微颗粒或植入物的 i.m.或 s.c.施用

5 /天或被给药作持续输注。当使用 GH-RH 拮抗剂的储存制剂, 例如通过双羟萘酸盐或低溶解度的其它盐的 i.m.注射, 或通过包含分散在可生物降解的聚合物中的拮抗性化合物的微胶囊、微颗粒或植入物的 i.m.或 s.c.施用

时, 典型的剂量介于 1-10 mg 拮抗剂/天/患者之间。

10 E. GH-RH 拮抗剂的治疗性应用

预期 GH-RH 拮抗剂的最重要的治疗性应用在肿瘤学和内分泌学的领域内。一些 GH-RH 拮抗剂主要在垂体水平上作用并且具有更强内分泌作用, 抑制 GH-RH-引起的 GH 释放, 并最终减少 GH 和 IGF-I 的血清水平。其它 GH-RH 拮抗剂通过阻断 GH-RH 的肿瘤受体, 减少各种自分泌/旁分泌肿瘤生长因子(诸如 IGF-I、IGF-II、GH、VEGF、FGF)产生和/或下调它们的受体主要在肿瘤水平上起作用, 并因此在肿瘤生长上发挥更强的抑制作用。还可将这些拮抗剂用作载体系统, 其与肿瘤定位或治疗的放射性核连接, 或与化疗剂或毒素缀合。这些杂合化合物可出于诊断或治疗的目的活性地靶向癌症。其它的 GH-RH 拮抗剂通过多种作用机制, 即同时通过

15 内分泌机制和直接作用于肿瘤发挥作用。因此, 各种 GH-RH 拮抗剂的主要治疗指示基于它们的优先的作用机制而不同。

可将对垂体具有拮抗作用的 GH-RH 的类似物用在抑制 GH 和 IGF-I 的血清水平是有利的情形中。因此, 它们对于以过量产生 GH 和 IGF-I 为特征的内分泌疾病的产生, 以及表达 IGF-I, IGF-II 或 GH 的受体的癌症的治疗, 和被这些生长因子刺激的增生是指示性的。

25 治疗, 和被这些生长因子刺激的增生是指示性的。

促生长激素抑制素类似物和 GH 拮抗剂还在治疗由 GH 和 IGF-I 引起的内分泌疾病中是有用的。然而, GH-RH 拮抗剂提供独特的治疗优势, 这在促生长激素抑制素类似物和 GH 拮抗剂的应用中是不可获得的。这些优势是由于 GH-RH 拮抗剂作用的多种机制, 即除了抑制 GH 和 IGF-I 的内分泌轴, 它们施加不依赖于 GH-和 IGF-I 的对肿瘤和其它靶向位点的直

30 内分泌轴, 它们施加不依赖于 GH-和 IGF-I 的对肿瘤和其它靶向位点的直

接影响。GH-RH 拮抗剂可单独给药或与促生长激素抑制素类似物一起，以一种更彻底抑制 GH 和 IGF-I 水平的组合给药。GH 拮抗剂的一种不理想的副作用是血清 GH 水平通过反馈机制升高，其可通过 GH-RH 拮抗剂的施用得以避免。

- 5 由过量生长激素引起的一种疾病是肢端巨大症，其表现是面和肢端骨的异常增大。GH-RH 拮抗剂可缓和肢端巨大症的临床表现，例如面和肢端骨的增大，心脏的增大和心血管系统的其它结构和功能异常。还可将 GH-RH 拮抗剂用于治疗糖尿病性视网膜病(糖尿病中失明的主要原因)和糖尿病性肾病，其中认为眼和肾的损伤分别是由于 GH 导致。糖尿病患者还可从由 GH-RH 拮抗剂引起的增加的胰岛素敏感性中获益，其是一种与减少 GH 和 IGF-I 水平的这些化合物的能力联系的效果。此外，由于它们抑制 GH 释放，还可将 GH-RH 拮抗剂用于减缓肌肉营养失调的进展。

- 具有抗生长因子特性的药物诸如 GH-RH 拮抗剂还在控制或减缓一些在疾病的临床病理学过程中的进展中是有益的，所述疾病诸如先天肺纤维化、全身硬化症和肥大性心肌症，其中现存的医用治疗提供的相对较少。此外，没有药物治疗显示在减少经皮腔内冠状动脉成形术(percutaneous transluminal coronary angioplasty) (PTCA)后的再狭窄的发生中是有效的并且必须设计新的方法，包括应用 GH-RH 拮抗剂。还可结合促黄体生成激素释放激素(LH-RH)激动剂或拮抗剂使用 GH-RH 拮抗剂来治疗一些妇科疾病，诸如肌瘤、子宫内膜异位症和多囊卵巢综合征。GH-RH 拮抗剂还在治疗良性前列腺肥大(BPH)，和其它正常器官的增生性和良性增生疾病中是有用的，在所述器官中，存在 GH-RH 受体。

- 然而，GH-RH 拮抗剂的主要应用在癌症领域中。GH-RH 拮抗剂，特别是在肿瘤水平上具有强直接作用的那些，对于抑制原发性肿瘤的生长和抑制它们的转移传播是指示性的。由于 GH-RH 拮抗剂的抗增生作用是通过一些机制施加的，这些化合物对于治疗大量癌症是有用的，所述癌症诸如依赖于由 GH-RH、IGF-I、IGF-II、GH、VEGF、和 FGF 刺激的自分泌/旁分泌和内分泌的那些。

- GH-RH 拮抗剂对于治疗肿瘤是有用的，所述肿瘤表达 GH-RH 受体并且将 GH-RH 用作自分泌/旁分泌生长因子。这些恶性肿瘤包括，但不限于，

肺癌、前列腺癌、乳腺癌、卵巢癌、子宫内膜癌、胃癌、肠癌、胰腺癌、肾癌、骨癌、肝癌，以及成胶质细胞瘤、嗜铬细胞瘤、黑素瘤和淋巴瘤。通过阻断 GH-RH 的肿瘤受体，这些拮抗剂阻止 GH-RH 的刺激作用，导致肿瘤生长的抑制。

- 5 GH-RH 拮抗剂超过促生长激素抑制素类似物的一个优势基于 GH-RH 拮抗剂可被用于抑制肿瘤的事实，所述肿瘤不具有促生长激素抑制素受体但表达 GH-RH 的肿瘤受体，例如人成骨肉瘤。

可利用 GH-RH 拮抗剂治疗恶性肿瘤，所述恶性肿瘤表达 IGF-I 受体并取决于 IGF-I 和/或 IGF-II 作为生长因子。这些恶性肿瘤包括，特别是
10 肺癌、前列腺癌、乳腺癌、卵巢癌、子宫内膜癌、胃癌、结肠直肠癌、胰腺癌、肾癌、和肝癌、肉瘤和脑肿瘤。GH-RH 拮抗剂减少血清 IGF-I 水平、抑制肿瘤组织中 IGF-I 和/或 IGF-II 的自分泌/旁分泌产生、并下调 IGF-I 受体的表达水平的能力对于癌症治疗是有利的。

可利用 GH-RH 拮抗剂来治疗乳腺癌和其它类型的癌症，它们依赖于
15 GH 作为生长因子。GH-RH 拮抗剂减少血清 GH 水平、抑制 GH 的自分泌产生并下调 GH 受体表达的能力有益于 (beneficiate) 某些乳腺癌和其它类型的肿瘤的治疗。

鉴于它们对通过肿瘤组织和正常内皮细胞合成 VEGF 的抑制活性，并考虑到它们对内皮细胞的抗增生作用，GH-RH 拮抗剂作为血管生成的抑
20 制剂是有用的。因此 GH-RH 拮抗剂可对于治疗那些强烈依赖于 VEGF 和新血管生成(neoangiogenesis)的肿瘤是有益的。

实施例

本发明结合如下的实施例进行描述，所述实施例仅出于举例说明的目的
25 的提出。在实施例中，除非特别指出，使用 L-构象的光学活性保护氨基酸。

随后的实施例提出通过固相技术合成新 GH-RH 拮抗剂的合适方法。

实施例 1

30 $\text{CH}_3(\text{CH}_2)_6\text{CO-Tyr}^1\text{-D-Arg}^2\text{-Asp}^3\text{-Ala}^4\text{-Ile}^5\text{-Phe(pCl)}^6\text{-Thr}^7\text{-Ala}^8\text{-His}^9\text{-Tyr(Et)}^{10}$
 $\text{-His}^{11}\text{-Lys}^{12}\text{-Val}^{13}\text{-Leu}^{14}\text{-Abu}^{15}\text{-Gln}^{16}\text{-Leu}^{17}\text{-Ser}^{18}\text{-Ala}^{19}\text{-Arg}^{20}\text{-Lys}^{21}\text{-Leu}^{22}\text{-Leu}^{23}$

³-Gln²⁴-Asp²⁵-Ile²⁶-Nle²⁷-D-Arg²⁸-Har²⁹-NH₂(肽 80)

{[CH₃(CH₂)₆CO-Tyr¹, D-Arg², Phe(pCl)⁶, Ala⁸, His⁹, Tyr(Et)¹⁰, His¹¹, Abu¹⁵, Nle²⁷, D-Arg²⁸, Har²⁹] hGH-RH(1-29)NH₂}

使用手动固相肽合成装置以逐步方式进行合成。简言之，用 5%的在 DCM 中的 DIEA 来中和对位-甲基二苯甲基胺(MBHA)树脂(Bachem, King of Prussia, PA) (720 mg, 0.50mmol)，并按照表 I 中所述方法进行洗涤。在手动固相肽合成装置中用中和的树脂和 DIC(235μL, 1.5mmol)来摇动 Boc-Har(NO₂)-OH (500 mg, 1.5mmol)在 DMF- DCM(1: 1)中的溶液 1 小时。在通过阴性水合茚三酮试验证实偶联反应完成后，进行表 I 中的去保护和中和程序从而去除 Boc 保护基并制备肽-树脂以进行下一个氨基酸的偶联。继续进行合成并通过显示的(indicated)顺序将下面的被保护氨基酸偶联到树脂上以获得所需的肽序列来逐步形成肽链：Boc-D-Arg(Tos)-OH, Boc-Nle-OH, Boc-Ile-OH, Boc-Asp(OcHx)-OH, Boc-Gln-OH, Boc-Leu-OH, Boc-Leu-OH, Boc-Lys(2ClZ)-OH, Boc-Arg(Tos)-OH, Boc-Ala-OH, Boc-Ser(Bzl)-OH, Boc-Leu-OH, Boc-Gln-OH, Boc-Abu-OH, Boc-Leu-OH, Boc-Val-OH, Boc-Lys(2ClZ)-OH, Boc-His(Bom)-OH, Boc-Tyr(Et)-OH, Boc-His(Bom)-OH, Boc-Ala-OH, Boc-Thr(Bzl)-OH, Boc-Phe(pCl)-OH, Boc-Ile-OH, Boc-Ala-OH, Boc-Asp(OcHx)-OH, Boc-D-Arg(Tos)-OH, Boc-Tyr(2BrZ)-OH。

这些被保护的氨基酸残基(也常可获自 Bachem)按照已充分接受的常规来在上面表示。特定氨基酸的侧链官能团的合适的保护基出现在括号内。上式中的 OH 基团表示每个残基的羧基端是游离的。

以 DIC(235μL, 1.5mmol)来偶联被保护的氨基酸 (每个 1.5 mmol)，除了 Boc-Asn-OH 和 Boc-Gln-OH 以它们的预形成的 HOBt 酯进行偶联。从 Tyr¹ 除去 N^o- Boc 保护基后，使用 DIC (235μL, 1.5mmol)作为偶联剂来用辛酸[CH₃(CH₂)₆COOH](475μL, 3mmol)来过夜酰化肽。

为了将所述肽从树脂上裂解下来并对其去保护，将 130mg 的干燥肽树脂部分与 0.5 mL 的 m-甲酚和 5 mL 的氟化氢(HF)于 0°C 一起进行搅拌达 2 小时。在氮气流下和在真空中蒸发 HF 后，用无水二乙醚和乙酸乙酯洗涤所述残余物。将裂解的和去保护的肽溶解在 50%的乙酸中并通过过滤

从树脂中进行分离。用水稀释和冷冻干燥后，获得 75 mg 的粗制产物。

使用具有 Supelco Discovery HS C18 反相柱(2.1 mm x 5 cm, 以 C18 硅胶封装, 120Å 孔大小, 3µm 颗粒大小)(Supelco, Bellefonte, PA) 和线性梯度洗脱剂(例如, 40-70% B)的 Hewlett-Packard Model HP-1090 液相色谱仪以溶剂系统使用分析 HPLC 来检查粗肽, 所述溶剂系统由(A) 0.1% 水性 TFA 和(B) 在 70% 水性 MeCN 中的 0.1% 的 TFA 组成。为了通过半制备 HPLC 进行纯化, 将 75mg 的粗肽溶解在 AcOH/H₂O 中, 搅拌, 过滤并应用在 Beckman Ultraprep ODS 柱(21.2 mm x 15 cm, 用 C18 硅胶封装, 300Å 孔大小, 10 µm 颗粒大小)。所述柱以线性梯度模式(例如, 在 120 分钟内的 40-60% B)使用上述的溶剂系统进行洗脱; 流速 10mL/分钟。在 220nm 监测洗脱, 并通过分析 HPLC 来检测所述级分。将纯度高于 95% 的级分合并并进行冷冻干燥从而得到 7.7 mg 纯产物。以 0.2ml/min 的流速使用等度洗脱在上述 Supelco C18 反相柱上进行分析 HPLC, 所述等度洗脱具有上述的溶剂系统。在 220 和 280 nm 监测峰。通过分析 HPLC 判断所述产物是基本纯(> 95%)的。通过电雾化质谱法检查分子量, 并通过氨基酸分析来证实预期的氨基酸组成。

肽 2, 肽 4, 肽 6, 肽 8, 肽 10, 肽 12, 肽 14, 肽 16, 肽 17, 肽 79, 肽 86, 肽 92, 肽 93, 肽 94, 肽 95, 肽 96, 肽 104, 和肽 105 以与肽 80 相同的方式进行合成, 除了这些肽在它们的 N-端还包含其它的氨基酸取代和它们的起源自脂肪酸的酰基部分。

对于肽 2 的合成, 其化学结构是 [CH₃(CH₂)₄CO-Tyr¹, D-Arg² Phe(pCl)⁶, Arg⁹, Abu¹⁵, Nle²⁷, D-Arg²⁸, Har²⁹]hGH-RH(1-29)NH₂, 将如下的被保护氨基酸以显示的顺序(indicated order)偶联到 MBHA 树脂上: Boc-

Har(NO₂)-OH, Boc-D-Arg(Tos)-OH, Boc-Nle-OH, Boc-Ile-OH, Boc-Asp(OcHx)-OH, Boc-Gln-OH, Boc-Leu-OH, Boc-Leu-OH, Boc-Lys(2ClZ)-OH, Boc-Arg(Tos)-OH, Boc-Ala-OH, Boc-Ser(Bzl)-OH, Boc-Leu-OH, Boc-Gln-OH, Boc-Abu-OH, Boc-Leu-OH, Boc-Val-OH, Boc-Lys(2ClZ)-OH, Boc-Arg(Tos)-OH, Boc-Tyr(2BrZ)-OH, Boc-Arg(Tos)-OH, Boc-Asn-OH, Boc-Thr(Bzl)-OH, Boc-Phe(pCl)-OH, Boc-Ile-OH, Boc-Ala-OH, Boc-Asp(OcHx)-OH, Boc-D-Arg(Tos)-OH, Boc-Tyr(2BrZ)-

OH, 随后用 CH₃(CH₂)₄COOH 进行酰化。

对于肽 4 的合成, 其化学结构是 $[\text{CH}_3(\text{CH}_2)_6\text{CO-Tyr}^1, \text{D-Arg}^2$
 $\text{Phe(pCl)}^6, \text{Arg}^9, \text{Abu}^{15}, \text{Nle}^{27}, \text{D-Arg}^{28}, \text{Har}^{29}]_{\text{hGH-RH(1-29)NH}_2}$,
 将如下的被保护氨基酸以显示的顺序偶联到 MBHA 树脂上: Boc-

5 Har(NO₂)-OH, Boc-D-Arg(Tos)-OH, Boc-Nle-OH, Boc-Ile-OH, Boc-Asp(OcHx)-OH, Boc-Gln-OH,
 Boc-Leu-OH, Boc-Leu-OH, Boc-Lys(2ClZ)-OH, Boc-Arg(Tos)-OH, Boc-Ala-OH, Boc-Ser(Bzl)-OH,
 Boc-Leu-OH, Boc-Gln-OH, Boc-Abu-OH, Boc-Leu-OH, Boc-Val-OH, Boc-Lys(2ClZ)-OH, Boc-
 Arg(Tos)-OH, Boc-Tyr(2BrZ)-OH, Boc-Arg(Tos)-OH, Boc-Asn-OH, Boc-Thr(Bzl)-OH, Boc-
 Phe(pCl)-OH, Boc-Ile-OH, Boc-Ala-OH, Boc-Asp(OcHx)-OH, Boc-D-Arg(Tos)-OH, Boc-Tyr(2BrZ)-

10 OH, 随后用 $\text{CH}_3(\text{CH}_2)_6\text{COOH}$ 进行酰化。

对于肽 6 的合成, 其化学结构是 $[\text{CH}_3(\text{CH}_2)_8\text{CO-Tyr}^1, \text{D-Arg}^2$
 $\text{Phe(pCl)}^6, \text{Arg}^9, \text{Abu}^{15}, \text{Nle}^{27}, \text{D-Arg}^{28}, \text{Har}^{29}]_{\text{hGH-RH(1-29)NH}_2}$,
 将如下的被保护氨基酸以显示的顺序偶联到 MBHA 树脂上: Boc-

15 Har(NO₂)-OH, Boc-D-Arg(Tos)-OH, Boc-Nle-OH, Boc-Ile-OH, Boc-Asp(OcHx)-OH, Boc-Gln-OH,
 Boc-Leu-OH, Boc-Leu-OH, Boc-Lys(2ClZ)-OH, Boc-Arg(Tos)-OH, Boc-Ala-OH, Boc-Ser(Bzl)-OH,
 Boc-Leu-OH, Boc-Gln-OH, Boc-Abu-OH, Boc-Leu-OH, Boc-Val-OH, Boc-Lys(2ClZ)-OH, Boc-
 Arg(Tos)-OH, Boc-Tyr(2BrZ)-OH, Boc-Arg(Tos)-OH, Boc-Asn-OH, Boc-Thr(Bzl)-OH, Boc-
 Phe(pCl)-OH, Boc-Ile-OH, Boc-Ala-OH, Boc-Asp(OcHx)-OH, Boc-D-Arg(Tos)-OH, Boc-Tyr(2BrZ)-

OH, 随后用 $\text{CH}_3(\text{CH}_2)_8\text{COOH}$ 进行酰化。

20 对于肽 8 的合成, 其化学结构是 $[\text{CH}_3(\text{CH}_2)_{10}\text{CO-Tyr}^1, \text{D-Arg}^2$
 $\text{Phe(pCl)}^6, \text{Arg}^9, \text{Abu}^{15}, \text{Nle}^{27}, \text{D-Arg}^{28}, \text{Har}^{29}]_{\text{hGH-RH(1-29)NH}_2}$,
 将如下的被保护氨基酸以显示的顺序偶联到 MBHA 树脂上: Boc-

25 Har(NO₂)-OH, Boc-D-Arg(Tos)-OH, Boc-Nle-OH, Boc-Ile-OH, Boc-Asp(OcHx)-OH, Boc-Gln-OH,
 Boc-Leu-OH, Boc-Leu-OH, Boc-Lys(2ClZ)-OH, Boc-Arg(Tos)-OH, Boc-Ala-OH, Boc-Ser(Bzl)-OH,
 Boc-Leu-OH, Boc-Gln-OH, Boc-Abu-OH, Boc-Leu-OH, Boc-Val-OH, Boc-Lys(2ClZ)-OH, Boc-
 Arg(Tos)-OH, Boc-Tyr(2BrZ)-OH, Boc-Arg(Tos)-OH, Boc-Asn-OH, Boc-Thr(Bzl)-OH, Boc-
 Phe(pCl)-OH, Boc-Ile-OH, Boc-Ala-OH, Boc-Asp(OcHx)-OH, Boc-D-Arg(Tos)-OH, Boc-Tyr(2BrZ)-

OH, 随后用 $\text{CH}_3(\text{CH}_2)_{10}\text{COOH}$ 进行酰化。

30 对于肽 10 的合成, 其化学结构是 $[\text{CH}_3(\text{CH}_2)_{12}\text{CO-Tyr}^1, \text{D-Arg}^2$

Phe(pCl)⁶, Arg⁹, Abu¹⁵, Nle²⁷, D-Arg²⁸, Har²⁹]hGH-RH(1-29)NH₂, 将如下的被保护氨基酸以显示的顺序偶联到 MBHA 树脂上: Boc-

Har(NO₂)-OH, Boc-D-Arg(Tos)-OH, Boc-Nle-OH, Boc-Ile-OH, Boc-Asp(OcHx)-OH, Boc-Gln-OH, Boc-Leu-OH, Boc-Leu-OH, Boc-Lys(2ClZ)-OH, Boc-Arg(Tos)-OH, Boc-Ala-OH, Boc-Ser(Bzl)-OH,

5 Boc-Leu-OH, Boc-Gln-OH, Boc-Abu-OH, Boc-Leu-OH, Boc-Val-OH, Boc-Lys(2ClZ)-OH, Boc-Arg(Tos)-OH, Boc-Tyr(2BrZ)-OH, Boc-Arg(Tos)-OH, Boc-Asn-OH, Boc-Thr(Bzl)-OH, Boc-Phe(pCl)-OH, Boc-Ile-OH, Boc-Ala-OH, Boc-Asp(OcHx)-OH, Boc-D-Arg(Tos)-OH, Boc-Tyr(2BrZ)-

OH, 随后用 CH₃(CH₂)₁₂COOH 进行酰化。

10 对于肽 12 的合成, 其化学结构是 [CH₃(CH₂)₁₄CO-Tyr¹, D-Arg² Phe(pCl)⁶, Arg⁹, Abu¹⁵, Nle²⁷, D-Arg²⁸, Har²⁹]hGH-RH(1-29)NH₂, 将如下的被保护氨基酸以显示的顺序偶联到 MBHA 树脂上: Boc-

Har(NO₂)-OH, Boc-D-Arg(Tos)-OH, Boc-Nle-OH, Boc-Ile-OH, Boc-Asp(OcHx)-OH, Boc-Gln-OH, Boc-Leu-OH, Boc-Leu-OH, Boc-Lys(2ClZ)-OH, Boc-Arg(Tos)-OH, Boc-Ala-OH, Boc-Ser(Bzl)-OH, 15 Boc-Leu-OH, Boc-Gln-OH, Boc-Abu-OH, Boc-Leu-OH, Boc-Val-OH, Boc-Lys(2ClZ)-OH, Boc-Arg(Tos)-OH, Boc-Tyr(2BrZ)-OH, Boc-Arg(Tos)-OH, Boc-Asn-OH, Boc-Thr(Bzl)-OH, Boc-Phe(pCl)-OH, Boc-Ile-OH, Boc-Ala-OH, Boc-Asp(OcHx)-OH, Boc-D-Arg(Tos)-OH, Boc-Tyr(2BrZ)-

20 OH, 随后用 CH₃(CH₂)₁₄COOH 进行酰化。

对于肽 14 的合成, 其化学结构是 [CH₃(CH₂)₆CO-Tyr¹, D-Arg² Phe(pCl)⁶, Arg⁹, Abu¹⁵, Nle²⁷, Har²⁸, D-Arg²⁹]hGH-RH(1-29)NH₂, 将如下的被保护氨基酸以显示的顺序偶联到 MBHA 树脂上: Boc-D-

Arg(Tos)-OH, Boc-Har(NO₂)-OH, Boc-Nle-OH, Boc-Ile-OH, Boc-Asp(OcHx)-OH, Boc-Gln-OH, Boc-Leu-OH, Boc-Leu-OH, Boc-Lys(2ClZ)-OH, Boc-Arg(Tos)-OH, Boc-Ala-OH, Boc-Ser(Bzl)-OH, Boc-Leu-OH, Boc-Gln-OH, Boc-Abu-OH, Boc-Leu-OH, Boc-Val-OH, Boc-Lys(2ClZ)-OH, Boc-Arg(Tos)-OH, Boc-Tyr(2BrZ)-OH, Boc-Arg(Tos)-OH, Boc-Asn-OH, Boc-Thr(Bzl)-OH, Boc-Phe(pCl)-OH, Boc-Ile-OH, Boc-Ala-OH, Boc-Asp(OcHx)-OH, Boc-D-Arg(Tos)-OH, Boc-Tyr(2BrZ)-OH, 25

30

随后用 $\text{CH}_3(\text{CH}_2)_6\text{COOH}$ 进行酰化。

对于肽 16 的合成, 其化学结构是 $[\text{CH}_3(\text{CH}_2)_{14}\text{CO-Phe}^0, \text{D-Arg}^2 \text{Phe}(\text{pCl})^6, \text{Arg}^9, \text{Abu}^{15}, \text{Nle}^{27}, \text{D-Arg}^{28}, \text{Har}^{29}] \text{hGH-RH}(1-29)\text{NH}_2$, 将如下的被保护氨基酸以显示的顺序偶联到 MBHA 树脂上: Boc-

5

Har(NO_2)-OH, Boc-D-Arg(Tos)-OH, Boc-Nle-OH, Boc-Ile-OH, Boc-Asp(Ochx)-OH, Boc-Gln-OH, Boc-Leu-OH, Boc-Leu-OH, Boc-Lys(2ClZ)-OH, Boc-Arg(Tos)-OH, Boc-Ala-OH, Boc-Ser(Bzl)-OH, Boc-Leu-OH, Boc-Gln-OH, Boc-Abu-OH, Boc-Leu-OH, Boc-Val-OH, Boc-Lys(2ClZ)-OH, Boc-Arg(Tos)-OH, Boc-Tyr(2BrZ)-OH, Boc-Arg(Tos)-OH, Boc-Asn-OH, Boc-Thr(Bzl)-OH, Boc-Phe(pCl)-OH, Boc-Ile-OH, Boc-Ala-OH, Boc-Asp(Ochx)-OH, Boc-D-Arg(Tos)-OH, Boc-Tyr(2BrZ)-

10

OH, Boc-Phe-OH, 随后用 $\text{CH}_3(\text{CH}_2)_{14}\text{COOH}$ 进行酰化。

对于肽 17 的合成, 其化学结构是 $[\text{CH}_3(\text{CH}_2)_{14}\text{CO-D-Phe}^0, \text{D-Arg}^2 \text{Phe}(\text{pCl})^6, \text{Arg}^9, \text{Abu}^{15}, \text{Nle}^{27}, \text{D-Arg}^{28}, \text{Har}^{29}] \text{hGH-RH}(1-29)\text{NH}_2$, 将如下的被保护氨基酸以显示的顺序偶联到 MBHA 树脂上: Boc-

15

Har(NO_2)-OH, Boc-D-Arg(Tos)-OH, Boc-Nle-OH, Boc-Ile-OH, Boc-Asp(Ochx)-OH, Boc-Gln-OH, Boc-Leu-OH, Boc-Leu-OH, Boc-Lys(2ClZ)-OH, Boc-Arg(Tos)-OH, Boc-Ala-OH, Boc-Ser(Bzl)-OH, Boc-Leu-OH, Boc-Gln-OH, Boc-Abu-OH, Boc-Leu-OH, Boc-Val-OH, Boc-Lys(2ClZ)-OH, Boc-Arg(Tos)-OH, Boc-Tyr(2BrZ)-OH, Boc-Arg(Tos)-OH, Boc-Asn-OH, Boc-Thr(Bzl)-OH, Boc-Phe(pCl)-OH, Boc-Ile-OH, Boc-Ala-OH, Boc-Asp(Ochx)-OH, Boc-D-Arg(Tos)-OH, Boc-Tyr(2BrZ)-

20

OH, Boc-D-Phe-OH, 随后用 $\text{CH}_3(\text{CH}_2)_{14}\text{COOH}$ 进行酰化。

对于肽 79 的合成, 其化学结构是 $[\text{CH}_3(\text{CH}_2)_6\text{CO-Tyr}^1, \text{D-Arg}^2 \text{Phe}(\text{pCl})^6, \text{Cit}^8, \text{His}^9, \text{Tyr}(\text{Et})^{10}, \text{His}^{11}, \text{Abu}^{15}, \text{Nle}^{27}, \text{D-Arg}^{28}, \text{Har}^{29}] \text{hGH-RH}(1-29)\text{NH}_2$,

25

将如下的被保护氨基酸以显示的顺序偶联到 MBHA 树脂上: Boc-

Har(NO_2)-OH, Boc-D-Arg(Tos)-OH, Boc-Nle-OH, Boc-Ile-OH, Boc-Asp(Ochx)-OH, Boc-Gln-OH, Boc-Leu-OH, Boc-Leu-OH, Boc-Lys(2ClZ)-OH, Boc-Arg(Tos)-OH, Boc-Ala-OH, Boc-Ser(Bzl)-OH, Boc-Leu-OH, Boc-Gln-OH, Boc-Abu-OH, Boc-Leu-OH, Boc-Val-OH, Boc-Lys(2ClZ)-OH, Boc-His(Bom)-OH, Boc-Tyr(Et)-OH, Boc-His(Bom)-OH, Boc-Cit-OH, Boc-Thr(Bzl)-OH, Boc-Phe(pCl)-OH, Boc-Ile-OH, Boc-Ala-OH, Boc-Asp(Ochx)-OH, Boc-D-Arg(Tos)-OH, Boc-Tyr(2BrZ)-OH,

30

随后用 $\text{CH}_3(\text{CH}_2)_6\text{COOH}$ 进行酰化。

对于肽 86 的合成, 其化学结构是 $[\text{CH}_3(\text{CH}_2)_6\text{CO-Tyr}^1, \text{D-Arg}^2$
 $\text{Phe}(\text{pCl})^6, \text{Ala}^8, \text{His}^9, \text{Tyr}(\text{Et})^{10}, \text{His}^{11}, \text{Abu}^{15}, \text{His}^{20}, \text{Nle}^{27}, \text{D-Arg}^{28},$
 5 $\text{Har}^{29}] \text{hGH-RH}(1-29)\text{NH}_2,$

将如下的被保护氨基酸以显示的顺序偶联到 MBHA 树脂上: Boc-

Har(NO_2)-OH, Boc-D-Arg(Tos)-OH, Boc-Nle-OH, Boc-Ile-OH, Boc-Asp(OcHx)-OH, Boc-Gln-OH,
 Boc-Leu-OH, Boc-Leu-OH, Boc-Lys(2ClZ)-OH, Boc-His(Bom)-OH, Boc-Ala-OH, Boc-Ser(Bzl)-OH,
 Boc-Leu-OH, Boc-Gln-OH, Boc-Abu-OH, Boc-Leu-OH, Boc-Val-OH, Boc-Lys(2ClZ)-OH, Boc-
 10 His(Bom)-OH, Boc-Tyr(Et)-OH, Boc-His(Bom)-OH, Boc-Ala-OH, Boc-Thr(Bzl)-OH, Boc-Phe(pCl)-
 OH, Boc-Ile-OH, Boc-Ala-OH, Boc-Asp(OcHx)-OH, Boc-D-Arg(Tos)-OH, Boc-Tyr(2BrZ)-OH,

随后用 $\text{CH}_3(\text{CH}_2)_6\text{COOH}$ 进行酰化。

对于肽 92 的合成, 其化学结构是 $[\text{CH}_3(\text{CH}_2)_6\text{CO-Tyr}^1, \text{D-Arg}^2$
 15 $\text{Phe}(\text{pCl})^6, \text{His}^9, \text{Tyr}(\text{Et})^{10}, \text{His}^{11}, \text{Abu}^{15}, \text{Nle}^{27}, \text{D-Arg}^{28},$
 $\text{Har}^{29}] \text{hGH-RH}(1-29)\text{NH}_2,$

将如下的被保护氨基酸以显示的顺序偶联到 MBHA 树脂上: Boc-

Har(NO_2)-OH, Boc-D-Arg(Tos)-OH, Boc-Nle-OH, Boc-Ile-OH, Boc-Asp(OcHx)-OH, Boc-Gln-OH,
 20 Boc-Leu-OH, Boc-Leu-OH, Boc-Lys(2ClZ)-OH, Boc-Arg(Tos)-OH, Boc-Ala-OH, Boc-Ser(Bzl)-OH,
 Boc-Leu-OH, Boc-Gln-OH, Boc-Abu-OH, Boc-Leu-OH, Boc-Val-OH, Boc-Lys(2ClZ)-OH, Boc-
 His(Bom)-OH, Boc-Tyr(Et)-OH, Boc-His(Bom)-OH, Boc-Asn-OH, Boc-Thr(Bzl)-OH, Boc-Phe(pCl)-
 OH, Boc-Ile-OH, Boc-Ala-OH, Boc-Asp(OcHx)-OH, Boc-D-Arg(Tos)-OH, Boc-Tyr(2BrZ)-OH,

随后用 $\text{CH}_3(\text{CH}_2)_6\text{COOH}$ 进行酰化。

对于肽 93 的合成, 其化学结构是 $[\text{CH}_3(\text{CH}_2)_6\text{CO-Tyr}^1, \text{D-Arg}^2$
 25 $\text{Phe}(\text{pCl})^6, \text{Ala}^8, \text{His}^9, \text{Cit}^{15}, \text{Nle}^{27}, \text{D-Arg}^{28}, \text{Har}^{29}] \text{hGH-RH}(1-29)\text{NH}_2,$
 将如下的被保护氨基酸以显示的顺序偶联到 MBHA 树脂上: Boc-

Har(NO_2)-OH, Boc-D-Arg(Tos)-OH, Boc-Nle-OH, Boc-Ile-OH, Boc-Asp(OcHx)-OH, Boc-Gln-OH,
 30 Boc-Leu-OH, Boc-Leu-OH, Boc-Lys(2ClZ)-OH, Boc-Arg(Tos)-OH, Boc-Ala-OH, Boc-Ser(Bzl)-OH,

Boc-Leu-OH, Boc-Gln-OH, Boc-Cit-OH, Boc-Leu-OH, Boc-Val-OH, Boc-Lys(2ClZ)-OH, Boc-Arg(Tos)-OH, Boc-Tyr(2BrZ)-OH, Boc-His(Bom)-OH, Boc-Ala-OH, Boc-Thr(Bzl)-OH, Boc-Phe(pCl)-OH, Boc-Ile-OH, Boc-Ala-OH, Boc-Asp(OcHx)-OH, Boc-D-Arg(Tos)-OH, Boc-Tyr(2BrZ)-

OH, 随后用 $\text{CH}_3(\text{CH}_2)_6\text{COOH}$ 进行酰化。

5 对于肽 94 的合成, 其化学结构是 $[\text{CH}_3(\text{CH}_2)_6\text{CO-Tyr}^1, \text{D-Arg}^2, \text{Phe(pCl)}^6, \text{Ala}^8, \text{His}^9, \text{Tyr(Et)}^{10}, \text{His}^{11}, \text{His}^{15}, \text{His}^{20}, \text{Nle}^{27}, \text{D-Arg}^{28}, \text{Har}^{29}]_{\text{hGH-RH(1-29)}\text{NH}_2,$

将如下的被保护氨基酸以显示的顺序偶联到 MBHA 树脂上: Boc-

10 Har(NO₂)-OH, Boc-D-Arg(Tos)-OH, Boc-Nle-OH, Boc-Ile-OH, Boc-Asp(OcHx)-OH, Boc-Gln-OH, Boc-Leu-OH, Boc-Leu-OH, Boc-Lys(2ClZ)-OH, Boc-His(Bom)-OH, Boc-Ala-OH, Boc-Ser(Bzl)-OH, Boc-Leu-OH, Boc-Gln-OH, Boc-His(Bom)-OH, Boc-Leu-OH, Boc-Val-OH, Boc-Lys(2ClZ)-OH, Boc-His(Bom)-OH, Boc-Tyr(Et)-OH, Boc-His(Bom)-OH, Boc-Ala-OH, Boc-Thr(Bzl)-OH, Boc-Phe(pCl)-OH, Boc-Ile-OH, Boc-Ala-OH, Boc-Asp(OcHx)-OH, Boc-D-Arg(Tos)-OH, Boc-Tyr(2BrZ)-OH,

15 随后用 $\text{CH}_3(\text{CH}_2)_6\text{COOH}$ 进行酰化。

对于肽 95 的合成, 其化学结构是 $[\text{CH}_3(\text{CH}_2)_6\text{CO-Tyr}^1, \text{D-Arg}^2, \text{Phe(pCl)}^6, \text{Ala}^8, \text{His}^9, \text{Tyr(Et)}^{10}, \text{His}^{11}, \text{Orn}^{12}, \text{Abu}^{15}, \text{Orn}^{21}, \text{Nle}^{27}, \text{D-Arg}^{28}, \text{Har}^{29}]_{\text{hGH-RH(1-29)}\text{NH}_2,$

将如下的被保护氨基酸以显示的顺序偶联到 MBHA 树脂上: Boc-

20 Har(NO₂)-OH, Boc-D-Arg(Tos)-OH, Boc-Nle-OH, Boc-Ile-OH, Boc-Asp(OcHx)-OH, Boc-Gln-OH, Boc-Leu-OH, Boc-Leu-OH, Boc-Orn(2ClZ)-OH, Boc-Arg(Tos)-OH, Boc-Ala-OH, Boc-Ser(Bzl)-OH, Boc-Leu-OH, Boc-Gln-OH, Boc-Abu-OH, Boc-Leu-OH, Boc-Val-OH, Boc-Orn(2ClZ)-OH, Boc-His(Bom)-OH, Boc-Tyr(Et)-OH, Boc-His(Bom)-OH, Boc-Ala-OH, Boc-Thr(Bzl)-OH, Boc-Phe(pCl)-OH, Boc-Ile-OH, Boc-Ala-OH, Boc-Asp(OcHx)-OH, Boc-D-Arg(Tos)-OH, Boc-Tyr(2BrZ)-OH,

25

随后用 $\text{CH}_3(\text{CH}_2)_6\text{COOH}$ 进行酰化。

对于肽 96 的合成, 其化学结构是 $[\text{CH}_3(\text{CH}_2)_6\text{CO-Tyr}^1, \text{D-Arg}^2, \text{Phe(pCl)}^6, \text{Ala}^8, \text{His}^9, \text{Tyr(Et)}^{10}, \text{His}^{11}, \text{Orn}^{12}, \text{Abu}^{15}, \text{His}^{20}, \text{Orn}^{21}, \text{Nle}^{27}, \text{D-Arg}^{28}, \text{Har}^{29}]_{\text{hGH-RH(1-29)}\text{NH}_2,$

30 将如下的被保护氨基酸以显示的顺序偶联到 MBHA 树脂上: Boc-

Har(NO₂)-OH, Boc-D-Arg(Tos)-OH, Boc-Nle-OH, Boc-Ile-OH, Boc-Asp(Ochx)-OH, Boc-Gln-OH,
 Boc-Leu-OH, Boc-Leu-OH, Boc-Orn(2ClZ)-OH, Boc-His(Bom)-OH, Boc-Ala-OH, Boc-Ser(Bzl)-OH,
 Boc-Leu-OH, Boc-Gln-OH, Boc-Abu-OH, Boc-Leu-OH, Boc-Val-OH, Boc-Orn(2ClZ)-OH, Boc-
 His(Bom)-OH, Boc-Tyr(Et)-OH, Boc-His(Bom)-OH, Boc-Ala-OH, Boc-Thr(Bzl)-OH, Boc-Phe(pCl)-
 OH, Boc-Ile-OH, Boc-Ala-OH, Boc-Asp(Ochx)-OH, Boc-D-Arg(Tos)-OH, Boc-Tyr(2BrZ)-OH,

5

随后用 CH₃(CH₂)₆COOH 进行酰化。

对于肽 104 的合成, 其化学结构是 [CH₃(CH₂)₆CO-Tyr¹, D-Arg²
 Phe(pCl)⁶, Ala⁸, His⁹, Dip¹⁰, His¹¹, Orn¹², Abu¹⁵, His²⁰, Orn²¹, Nle²⁷,
 10 D-Arg²⁸, Har²⁹]hGH-RH(1-29)NH₂,

将如下的被保护氨基酸以显示的顺序偶联到 MBHA 树脂上: Boc-

Har(NO₂)-OH, Boc-D-Arg(Tos)-OH, Boc-Nle-OH, Boc-Ile-OH, Boc-Asp(Ochx)-OH, Boc-Gln-OH,
 Boc-Leu-OH, Boc-Leu-OH, Boc-Orn(2ClZ)-OH, Boc-His(Bom)-OH, Boc-Ala-OH, Boc-Ser(Bzl)-OH,
 Boc-Leu-OH, Boc-Gln-OH, Boc-Abu-OH, Boc-Leu-OH, Boc-Val-OH, Boc-Orn(2ClZ)-OH, Boc-
 15 His(Bom)-OH, Boc-Dip-OH, Boc-His(Bom)-OH, Boc-Ala-OH, Boc-Thr(Bzl)-OH, Boc-Phe(pCl)-OH,
 Boc-Ile-OH, Boc-Ala-OH, Boc-Asp(Ochx)-OH, Boc-D-Arg(Tos)-OH, Boc-Tyr(2BrZ)-OH,

随后用 CH₃(CH₂)₆COOH 进行酰化。

对于肽 105 的合成, 其化学结构是 [CH₃(CH₂)₆CO-Tyr¹, D-Arg²
 20 Phe(pCl)⁶, Ala⁸, His⁹, Phe(pNO₂)¹⁰, His¹¹, Orn¹², Abu¹⁵, His²⁰, Orn²¹,
 Nle²⁷, D-Arg²⁸, Har²⁹]hGH-RH(1-29)NH₂,

将如下的被保护氨基酸以显示的顺序偶联到 MBHA 树脂上: Boc-

Har(NO₂)-OH, Boc-D-Arg(Tos)-OH, Boc-Nle-OH, Boc-Ile-OH, Boc-Asp(Ochx)-OH, Boc-Gln-OH,
 Boc-Leu-OH, Boc-Leu-OH, Boc-Orn(2ClZ)-OH, Boc-His(Bom)-OH, Boc-Ala-OH, Boc-Ser(Bzl)-OH,
 25 Boc-Leu-OH, Boc-Gln-OH, Boc-Abu-OH, Boc-Leu-OH, Boc-Val-OH, Boc-Orn(2ClZ)-OH, Boc-
 His(Bom)-OH, Boc-Phe(pNO₂)-OH, Boc-His(Bom)-OH, Boc-Ala-OH, Boc-Thr(Bzl)-OH, Boc-
 Phe(pCl)-OH, Boc-Ile-OH, Boc-Ala-OH, Boc-Asp(Ochx)-OH, Boc-D-Arg(Tos)-OH, Boc-Tyr(2BrZ)-

OH, 随后用 CH₃(CH₂)₆COOH 进行酰化。

30 肽 2, 肽 4, 肽 6, 肽 8, 肽 10, 肽 12, 肽 14, 肽 16, 肽 17,

肽 79, 肽 86, 肽 92, 肽 93, 肽 94, 肽 95, 肽 96, 肽 104, 和肽 105 的 HF 裂解和去保护, 以及通过半制备 HPLC 的随后纯化如肽 80 的情形所述进行。通过分析 HPLC 判断纯化的化合物是基本 (> 95%) 纯的。通过电雾化质谱法检查它们的分子量并通过氨基酸分析证实预期的氨基酸组成。

5

实施例 II

HOOC(CH₂)₁₂CO-Tyr¹-D-Arg²-Asp³-Ala⁴-Ile⁵-Phe(pCl)⁶-Thr⁷-Asn⁸-Arg⁹-Tyr¹⁰-Arg¹¹-Lys¹²-Val¹³-Leu¹⁴-Abu¹⁵-Gln¹⁶-Leu¹⁷-Ser¹⁸-Ala¹⁹-Arg²⁰-Lys²¹-Leu²²-Leu²³-Gln²⁴-Asp²⁵-Ile²⁶-Nle²⁷-D-Arg²⁸-Har²⁹-NH₂(肽 11)

10 { [HOOC(CH₂)₁₂CO-Tyr¹, D-Arg², Phe(pCl)⁶, Arg⁹, Abu¹⁵, Nle²⁷, D-Arg²⁸, Har²⁹]hGH-RH (1-29) NH₂ }

使用手动固相肽合成装置以逐步方式进行合成。简言之, 用 5% 的在 DCM 中的 DIEA 来中和 MBHA 树脂(Bachem, King of Prussia, PA) (720 mg, 0.50mmol), 并按照表 I 中所述方法进行洗涤。在手动固相肽合成装置中用中和的树脂和 DIC(235μL, 1.5mmol)来摇动 Boc-Har(NO₂)-OH (500 mg, 15 1.5mmol)在 DMF- DCM(1: 1)中的溶液 1 小时。在通过阴性水合茚三酮试验证实偶联反应完成后, 进行表 I 中所述的去保护和中和程序从而去除 Boc 保护基并制备肽-树脂以进行下一个氨基酸的偶联。继续进行合成并通过以显示的顺序将下面的被保护氨基酸偶联到树脂上从而获得所需的肽序列来逐步形成肽链: Boc-D-Arg(Tos)-OH, Boc-Nle-OH, Boc-Ile-OH, 20 Boc-Asp(OcHx)-OH, Boc-Gln-OH, Boc-Leu-OH, Boc-Leu-OH, Boc-Lys(2ClZ)-OH, Boc-Arg(Tos)-OH, Boc-Ala-OH, Boc-Ser(Bzl)-OH, Boc-Leu-OH, Boc-Gln-OH, Boc-Abu-OH, Boc-Leu-OH, Boc-Val-OH, Boc-Lys(2ClZ)-OH, Boc-Arg(Tos)-OH, Boc-Tyr(2BrZ)-OH, Boc-Arg(Tos)-OH, Boc-Asn-OH, Boc-Thr(Bzl)-OH, Boc-Phe(pCl)-OH, Boc-Ile-OH, 25 Boc-Ala-OH, Boc-Asp(OcHx)-OH, Boc-D-Arg(Tos)-OH, Boc-Tyr(2BrZ)-OH。以 DIC(235μL, 1.5mmol)来偶联被保护的氨基酸(每个 1.5 mmol), 除了 Boc-Asn-OH 和 Boc-Gln-OH 以它们的预形成的 HOBt 酯进行偶联。

30 从 Tyr¹ 去除 N^o-Boc 保护基后, 将肽用如下制备的预形成的 1, 12-

十二烷二羧酸的对称酐进行酰化。为了合成在 0.5 mmol 等级上的肽，将 388mg(1.5mmol)的 1,12-十二烷二羧酸[HOOC(CH₂)₁₂COOH]溶解在 5-10 mL 的 DMF-DCM (1: 1)中，将 235μL(1.5mmol)的 DIC 加入该溶液中，并且所述混合物容许在室温保持 30 分钟。该阶段后，将混合物转移到包含在 Tyr¹ 具有游离氨基末端的肽-树脂的合成容器中，并进行酰化过夜。

为了从树脂裂解肽，并对其去保护，将 274mg 的干燥的肽树脂的部分与 0.5 mL m-甲酚和 5 mL 氟化氢(HF) 一起于 0°C 搅拌 2 小时。在氮气流下和真空中蒸发 HF 后，用无水二乙醚和乙酸乙酯洗涤所述残余物。将裂解的和去保护的肽溶解在 50%乙酸并通过过滤分离所述树脂。用水稀释和冷冻干燥后，获得 160mg 的粗产物。

使用具有 Supelco Discovery HS C18 反相柱(2.1 mm x 5 cm, 以 C18 硅胶封装, 120Å 孔大小, 3μm 颗粒大小)(Supelco, Bellefonte, PA) 和线性梯度洗脱剂(例如, 50-80% B)的 Hewlett-Packard Model HP-1090 液相色谱仪以溶剂系统使用分析 HPLC 来检查粗肽, 所述溶剂系统由(A) 0.1% 水性 TFA 和(B) 在 70% 水性 MeCN 中的 0.1% 的 TFA 组成。为了通过半制备 HPLC 进行纯化, 将 160mg 的粗肽溶解在 AcOH/H₂O 中, 搅拌, 过滤并应用在 Beckman Ultraprep ODS 柱(21.2 mm x 15 cm, 用 C18 硅胶封装, 300Å 孔大小, 10 μm 颗粒大小)。所述柱以线性梯度模式(例如, 在 120 分钟内的 50-70% B)使用上述的溶剂系统进行洗脱; 流速 10mL/分钟。在 220nm 监测洗脱, 并通过分析 HPLC 来检测所述级分。将纯度高于 95% 的级分合并并进行冷冻干燥从而得到 6.0mg 纯产物。以 0.2ml/min 的流速使用等度洗脱在上述 Supelco C18 反相柱上进行分析 HPLC, 所述等度洗脱具有上述的溶剂系统。在 220 和 280 nm 监测峰。通过分析 HPLC 判断所述产物是基本纯(> 95%)的。通过电雾化质谱法检查分子量, 并通过氨基酸分析来证实预期的氨基酸组成。

肽 3, 肽 5, 肽 7, 肽 9, 肽 13, 肽 25, 肽 81, 肽 82, 肽 88, 肽 102, 肽 108 和肽 109 以与肽 11 相同的方式进行合成, 除了这些肽在它们的 N-端还包含其它的氨基酸取代和它们的起源自二羧酸的酰基部分。

对于肽 3 的合成, 其化学结构是[HOOC(CH₂)₄CO-Tyr¹, D-Arg², Phe(pCl)⁶, Arg⁹, Abu¹⁵, Nle²⁷, D-Arg²⁸, Har²⁹]hGH-RH(1-29)NH₂,

将如下的被保护氨基酸以显示的顺序偶联到 MBHA 树脂上: Boc-

5 Har(NO₂)-OH, Boc-D-Arg(Tos)-OH, Boc-Nle-OH, Boc-Ile-OH, Boc-Asp(Ochx)-OH, Boc-Gln-OH,
Boc-Leu-OH, Boc-Leu-OH, Boc-Lys(2ClZ)-OH, Boc-Arg(Tos)-OH, Boc-Ala-OH, Boc-Ser(Bzl)-OH,
Boc-Leu-OH, Boc-Gln-OH, Boc-Abu-OH, Boc-Leu-OH, Boc-Val-OH, Boc-Lys(2ClZ)-OH, Boc-
Arg(Tos)-OH, Boc-Tyr(2BrZ)-OH, Boc-Arg(Tos)-OH, Boc-Asn-OH, Boc-Thr(Bzl)-OH, Boc-
Phe(pCl)-OH, Boc-Ile-OH, Boc-Ala-OH, Boc-Asp(Ochx)-OH, Boc-D-Arg(Tos)-OH, Boc-Tyr(2BrZ)-

OH, 随后用 HOOC(CH₂)₄COOH 进行酰化。

对于肽 5 的合成, 其化学结构是 [HOOC(CH₂)₆CO-Tyr¹, D-Arg², Phe
(pCl)⁶, Arg⁹, Abu¹⁵, Nle²⁷, D-Arg²⁸, Har²⁹]hGH-RH(1-29)NH₂,

10 将如下的被保护氨基酸以显示的顺序偶联到 MBHA 树脂上: Boc-

15 Har(NO₂)-OH, Boc-D-Arg(Tos)-OH, Boc-Nle-OH, Boc-Ile-OH, Boc-Asp(Ochx)-OH, Boc-Gln-OH,
Boc-Leu-OH, Boc-Leu-OH, Boc-Lys(2ClZ)-OH, Boc-Arg(Tos)-OH, Boc-Ala-OH, Boc-Ser(Bzl)-OH,
Boc-Leu-OH, Boc-Gln-OH, Boc-Abu-OH, Boc-Leu-OH, Boc-Val-OH, Boc-Lys(2ClZ)-OH, Boc-
Arg(Tos)-OH, Boc-Tyr(2BrZ)-OH, Boc-Arg(Tos)-OH, Boc-Asn-OH, Boc-Thr(Bzl)-OH, Boc-
Phe(pCl)-OH, Boc-Ile-OH, Boc-Ala-OH, Boc-Asp(Ochx)-OH, Boc-D-Arg(Tos)-OH, Boc-Tyr(2BrZ)-

OH, 随后用 HOOC(CH₂)₆COOH 进行酰化。

对于肽 7 的合成, 其化学结构是 [HOOC(CH₂)₈CO-Tyr¹, D-Arg², Phe
(pCl)⁶, Arg⁹, Abu¹⁵, Nle²⁷, D-Arg²⁸, Har²⁹]hGH-RH(1-29)NH₂,

20 将如下的被保护氨基酸以显示的顺序偶联到 MBHA 树脂上: Boc-

25 Har(NO₂)-OH, Boc-D-Arg(Tos)-OH, Boc-Nle-OH, Boc-Ile-OH, Boc-Asp(Ochx)-OH, Boc-Gln-OH,
Boc-Leu-OH, Boc-Leu-OH, Boc-Lys(2ClZ)-OH, Boc-Arg(Tos)-OH, Boc-Ala-OH, Boc-Ser(Bzl)-OH,
Boc-Leu-OH, Boc-Gln-OH, Boc-Abu-OH, Boc-Leu-OH, Boc-Val-OH, Boc-Lys(2ClZ)-OH, Boc-
Arg(Tos)-OH, Boc-Tyr(2BrZ)-OH, Boc-Arg(Tos)-OH, Boc-Asn-OH, Boc-Thr(Bzl)-OH, Boc-
Phe(pCl)-OH, Boc-Ile-OH, Boc-Ala-OH, Boc-Asp(Ochx)-OH, Boc-D-Arg(Tos)-OH, Boc-Tyr(2BrZ)-

OH, 随后用 HOOC(CH₂)₈COOH 进行酰化。

对于肽 9 的合成, 其化学结构是 [HOOC(CH₂)₁₀CO-Tyr¹, D-Arg², Phe
(pCl)⁶, Arg⁹, Abu¹⁵, Nle²⁷, D-Arg²⁸, Har²⁹]hGH-RH(1-29)NH₂,

30 将如下的被保护氨基酸以显示的顺序偶联到 MBHA 树脂上: Boc-

Har(NO₂)-OH, Boc-D-Arg(Tos)-OH, Boc-Nle-OH, Boc-Ile-OH, Boc-Asp(OcHx)-OH, Boc-Gln-OH,
 Boc-Leu-OH, Boc-Leu-OH, Boc-Lys(2ClZ)-OH, Boc-Arg(Tos)-OH, Boc-Ala-OH, Boc-Ser(Bzl)-OH,
 Boc-Leu-OH, Boc-Gln-OH, Boc-Abu-OH, Boc-Leu-OH, Boc-Val-OH, Boc-Lys(2ClZ)-OH, Boc-
 Arg(Tos)-OH, Boc-Tyr(2BrZ)-OH, Boc-Arg(Tos)-OH, Boc-Asn-OH, Boc-Thr(Bzl)-OH, Boc-
 Phe(pCl)-OH, Boc-Ile-OH, Boc-Ala-OH, Boc-Asp(OcHx)-OH, Boc-D-Arg(Tos)-OH, Boc-Tyr(2BrZ)-

5

OH, 随后用 HOOC(CH₂)₁₀COOH 进行酰化。

对于肽 13 的合成, 其化学结构是 [HOOC(CH₂)₁₄CO-Tyr¹, D-Arg², Phe
 (pCl)⁶, Arg⁹, Abu¹⁵, Nle²⁷, D-Arg²⁸, Har²⁹]hGH-RH(1-29)NH₂,

10 将如下的被保护氨基酸以显示的顺序偶联到 MBHA 树脂上: Boc-

Har(NO₂)-OH, Boc-D-Arg(Tos)-OH, Boc-Nle-OH, Boc-Ile-OH, Boc-Asp(OcHx)-OH, Boc-Gln-OH,
 Boc-Leu-OH, Boc-Leu-OH, Boc-Lys(2ClZ)-OH, Boc-Arg(Tos)-OH, Boc-Ala-OH, Boc-Ser(Bzl)-OH,
 Boc-Leu-OH, Boc-Gln-OH, Boc-Abu-OH, Boc-Leu-OH, Boc-Val-OH, Boc-Lys(2ClZ)-OH, Boc-
 Arg(Tos)-OH, Boc-Tyr(2BrZ)-OH, Boc-Arg(Tos)-OH, Boc-Asn-OH, Boc-Thr(Bzl)-OH, Boc-
 Phe(pCl)-OH, Boc-Ile-OH, Boc-Ala-OH, Boc-Asp(OcHx)-OH, Boc-D-Arg(Tos)-OH, Boc-Tyr(2BrZ)-

15

OH, 随后用 HOOC(CH₂)₁₄COOH 进行酰化。

对于肽 25 的合成, 其化学结构是 [HOOC(CH₂)₁₂CO-Tyr¹, D-Arg², Phe
 (pCl)⁶, Cit⁸, Cit⁹, Abu¹⁵, Nle²⁷, D-Arg²⁸, Har²⁹]hGH-RH(1-29)NH₂,

20 将如下的被保护氨基酸以显示的顺序偶联到 MBHA 树脂上: Boc-

Har(NO₂)-OH, Boc-D-Arg(Tos)-OH, Boc-Nle-OH, Boc-Ile-OH, Boc-Asp(OcHx)-OH, Boc-Gln-OH,
 Boc-Leu-OH, Boc-Leu-OH, Boc-Lys(2ClZ)-OH, Boc-Arg(Tos)-OH, Boc-Ala-OH, Boc-Ser(Bzl)-OH,
 Boc-Leu-OH, Boc-Gln-OH, Boc-Abu-OH, Boc-Leu-OH, Boc-Val-OH, Boc-Lys(2ClZ)-OH, Boc-
 Arg(Tos)-OH, Boc-Tyr(2BrZ)-OH, Boc-Cit-OH, Boc-Cit-OH, Boc-Thr(Bzl)-OH, Boc-Phe(pCl)-OH,
 Boc-Ile-OH, Boc-Ala-OH, Boc-Asp(OcHx)-OH, Boc-D-Arg(Tos)-OH, Boc-Tyr(2BrZ)-OH,

25

随后用 HOOC(CH₂)₁₂COOH 进行酰化。

对于肽 81 的合成, 其化学结构是 [HOOC(CH₂)₈CO-Tyr¹, D-Arg², Phe
 (pCl)⁶, Ala⁸, His⁹, Tyr(Et)¹⁰, His¹¹, Abu¹⁵, Nle²⁷, D-Arg²⁸,

30 Har²⁹]hGH-RH(1-29)NH₂,

将如下的被保护氨基酸以显示的顺序偶联到 MBHA 树脂上: Boc-

Har(NO₂)-OH, Boc-D-Arg(Tos)-OH, Boc-Nle-OH, Boc-Ile-OH, Boc-Asp(Ochx)-OH, Boc-Gln-OH,
 Boc-Leu-OH, Boc-Leu-OH, Boc-Lys(2ClZ)-OH, Boc-Arg(Tos)-OH, Boc-Ala-OH, Boc-Ser(Bzl)-OH,
 Boc-Leu-OH, Boc-Gln-OH, Boc-Abu-OH, Boc-Leu-OH, Boc-Val-OH, Boc-Lys(2ClZ)-OH, Boc-
 5 His(Bom)-OH, Boc-Tyr(Et)-OH, Boc-His(Bom)-OH, Boc-Ala-OH, Boc-Thr(Bzl)-OH, Boc-Phe(pCl)-
 OH, Boc-Ile-OH, Boc-Ala-OH, Boc-Asp(Ochx)-OH, Boc-D-Arg(Tos)-OH, Boc-Tyr(2BrZ)-OH,

随后用 HOOC(CH₂)₈COOH 进行酰化。

对于肽 82 的合成,其化学结构是[HOOC(CH₂)₁₂CO-Tyr¹, D-Arg², Phe
 10 (pCl)⁶, Ala⁸, His⁹, Tyr(Et)¹⁰, His¹¹, Abu¹⁵, Nle²⁷, D-Arg²⁸,
 Har²⁹]hGH-RH(1-29)NH₂,

将如下的被保护氨基酸以显示的顺序偶联到 MBHA 树脂上: Boc-

Har(NO₂)-OH, Boc-D-Arg(Tos)-OH, Boc-Nle-OH, Boc-Ile-OH, Boc-Asp(Ochx)-OH, Boc-Gln-OH,
 Boc-Leu-OH, Boc-Leu-OH, Boc-Lys(2ClZ)-OH, Boc-Arg(Tos)-OH, Boc-Ala-OH, Boc-Ser(Bzl)-OH,
 15 Boc-Leu-OH, Boc-Gln-OH, Boc-Abu-OH, Boc-Leu-OH, Boc-Val-OH, Boc-Lys(2ClZ)-OH, Boc-
 His(Bom)-OH, Boc-Tyr(Et)-OH, Boc-His(Bom)-OH, Boc-Ala-OH, Boc-Thr(Bzl)-OH, Boc-Phe(pCl)-
 OH, Boc-Ile-OH, Boc-Ala-OH, Boc-Asp(Ochx)-OH, Boc-D-Arg(Tos)-OH, Boc-Tyr(2BrZ)-OH,

随后用 HOOC(CH₂)₁₂COOH 进行酰化。

对于肽 88 的合成,其化学结构是[HOOC(CH₂)₁₂CO-Tyr¹, D-Arg², Phe
 20 (pCl)⁶, Ala⁸, His⁹, Tyr(Et)¹⁰, His¹¹, Abu¹⁵, His²⁰, Nle²⁷, D-Arg²⁸,
 Har²⁹]hGH-RH(1-29)NH₂,

将如下的被保护氨基酸以显示的顺序偶联到 MBHA 树脂上: Boc-

Har(NO₂)-OH, Boc-D-Arg(Tos)-OH, Boc-Nle-OH, Boc-Ile-OH, Boc-Asp(Ochx)-OH, Boc-Gln-OH,
 25 Boc-Leu-OH, Boc-Leu-OH, Boc-Lys(2ClZ)-OH, Boc-His(Bom)-OH, Boc-Ala-OH, Boc-Ser(Bzl)-OH,
 Boc-Leu-OH, Boc-Gln-OH, Boc-Abu-OH, Boc-Leu-OH, Boc-Val-OH, Boc-Lys(2ClZ)-OH, Boc-
 His(Bom)-OH, Boc-Tyr(Et)-OH, Boc-His(Bom)-OH, Boc-Ala-OH, Boc-Thr(Bzl)-OH, Boc-Phe(pCl)-
 OH, Boc-Ile-OH, Boc-Ala-OH, Boc-Asp(Ochx)-OH, Boc-D-Arg(Tos)-OH, Boc-Tyr(2BrZ)-OH,

30 随后用 HOOC(CH₂)₁₂COOH 进行酰化。

对于肽 102 的合成,其化学结构是 $[\text{HOOC}(\text{CH}_2)_{12}\text{CO-Tyr}^1, \text{D-Arg}^2, \text{Phe}(\text{pCl})^6, \text{Ala}^8, \text{His}^9, \text{Tyr}(\text{Et})^{10}, \text{His}^{11}, \text{Orn}^{12}, \text{Abu}^{15}, \text{His}^{20}, \text{Orn}^{21}, \text{Nle}^{27}, \text{D-Arg}^{28}, \text{Har}^{29}]_{\text{hGH-RH}(1-29)\text{NH}_2}$,

将如下的被保护氨基酸以显示的顺序偶联到 MBHA 树脂上: Boc-

5

Har(NO₂)-OH, Boc-D-Arg(Tos)-OH, Boc-Nle-OH, Boc-Ile-OH, Boc-Asp(OcHx)-OH, Boc-Gln-OH, Boc-Leu-OH, Boc-Leu-OH, Boc-Orn(2ClZ)-OH, Boc-His(Bom)-OH, Boc-Ala-OH, Boc-Ser(Bzl)-OH, Boc-Leu-OH, Boc-Gln-OH, Boc-Abu-OH, Boc-Leu-OH, Boc-Val-OH, Boc-Orn(2ClZ)-OH, Boc-His(Bom)-OH, Boc-Tyr(Et)-OH, Boc-His(Bom)-OH, Boc-Ala-OH, Boc-Thr(Bzl)-OH, Boc-Phe(pCl)-OH, Boc-Ile-OH, Boc-Ala-OH, Boc-Asp(OcHx)-OH, Boc-D-Arg(Tos)-OH, Boc-Tyr(2BrZ)-OH,

10

随后用 $\text{HOOC}(\text{CH}_2)_{12}\text{COOH}$ 进行酰化。

对于肽 108 的合成,其化学结构是 $[\text{HOOC}(\text{CH}_2)_{12}\text{CO-Tyr}^1, \text{D-Arg}^2, \text{Phe}(\text{pCl})^6, \text{Ala}^8, \text{His}^9, \text{Dip}^{10}, \text{His}^{11}, \text{Orn}^{12}, \text{Abu}^{15}, \text{His}^{20}, \text{Orn}^{21}, \text{Nle}^{27}, \text{D-Arg}^{28}, \text{Har}^{29}]_{\text{hGH-RH}(1-29)\text{NH}_2}$,

15 将如下的被保护氨基酸以显示的顺序偶联到 MBHA 树脂上: Boc-

Har(NO₂)-OH, Boc-D-Arg(Tos)-OH, Boc-Nle-OH, Boc-Ile-OH, Boc-Asp(OcHx)-OH, Boc-Gln-OH, Boc-Leu-OH, Boc-Leu-OH, Boc-Orn(2ClZ)-OH, Boc-His(Bom)-OH, Boc-Ala-OH, Boc-Ser(Bzl)-OH, Boc-Leu-OH, Boc-Gln-OH, Boc-Abu-OH, Boc-Leu-OH, Boc-Val-OH, Boc-Orn(2ClZ)-OH, Boc-

His(Bom)-OH, Boc-Dip-OH, Boc-His(Bom)-OH, Boc-Ala-OH, Boc-Thr(Bzl)-OH, Boc-Phe(pCl)-OH, Boc-Ile-OH, Boc-Ala-OH, Boc-Asp(OcHx)-OH, Boc-D-Arg(Tos)-OH, Boc-Tyr(2BrZ)-OH,

20

随后用 $\text{HOOC}(\text{CH}_2)_{12}\text{COOH}$ 进行酰化。

对于肽 109 的合成,其化学结构是 $[\text{HOOC}(\text{CH}_2)_{12}\text{CO-Tyr}^1, \text{D-Arg}^2, \text{Phe}(\text{pCl})^6, \text{Ala}^8, \text{His}^9, \text{Phe}(\text{pNO}_2)^{10}, \text{His}^{11}, \text{Orn}^{12}, \text{Abu}^{15}, \text{His}^{20}, \text{Orn}^{21}, \text{Nle}^{27}, \text{D-Arg}^{28}, \text{Har}^{29}]_{\text{hGH-RH}(1-29)\text{NH}_2}$,

25

将如下的被保护氨基酸以显示的顺序偶联到 MBHA 树脂上: Boc-

Har(NO₂)-OH, Boc-D-Arg(Tos)-OH, Boc-Nle-OH, Boc-Ile-OH, Boc-Asp(OcHx)-OH, Boc-Gln-OH, Boc-Leu-OH, Boc-Leu-OH, Boc-Orn(2ClZ)-OH, Boc-His(Bom)-OH, Boc-Ala-OH, Boc-Ser(Bzl)-OH, Boc-Leu-OH, Boc-Gln-OH, Boc-Abu-OH, Boc-Leu-OH, Boc-Val-OH, Boc-Orn(2ClZ)-OH, Boc-

30

His(Bom)-OH, Boc-Phe(pNO₂)-OH, Boc-His(Bom)-OH, Boc-Ala-OH, Boc-Thr(Bzl)-OH, Boc-Phe(pCl)-OH, Boc-Ile-OH, Boc-Ala-OH, Boc-Asp(OcHx)-OH, Boc-D-Arg(Tos)-OH, Boc-Tyr(2BrZ)-

OH, 随后用 HOOC(CH₂)₁₂COOH 进行酰化。

肽 3, 肽 5, 肽 7, 肽 9, 肽 13, 肽 25, 肽 81, 肽 82, 肽 88, 肽 102, 肽 108, 和肽 109 的 HF 裂解和去保护, 以及通过半制备 HPLC 的随后纯化如肽 11 的情形所述进行。通过分析 HPLC 判断纯化的化合物是基本 (> 95%) 纯的。通过电雾化质谱法检查它们的分子量并通过氨基酸分析证实预期的氨基酸组成。

10 实施例 III

PhAc-Tyr¹-D-Arg²-Asp³-Ala⁴-Ile⁵-Phe(pCl)⁶-Thr⁷-Asn⁸-Har⁹-Tyr(Me)¹⁰-His¹¹-Lys¹²-Val¹³-Leu¹⁴-Abu¹⁵-Gln¹⁶-Leu¹⁷-Ser¹⁸-Ala¹⁹-Arg²⁰-Lys²¹-Leu²²-Leu²³-Gln²⁴-Asp²⁵-Ile²⁶-Nle²⁷-D-Arg²⁸-Har²⁹-NH₂

(肽 62)

15 {[PhAc-Tyr¹, D-Arg², Phe(pCl)⁶, Har⁹, Tyr(Me)¹⁰, His¹¹, Abu¹⁵, Nle²⁷, D-Arg²⁸, Har²⁹]hGH-RH (1-29)NH₂}

使用手动固相肽合成装置以逐步方式进行合成。简言之, 用 5% 的在 DCM 中的 DIEA 来中和对位-甲基二苯甲基胺(MBHA)树脂(Bachem, King of Prussia, PA) (720 mg, 0.50mmol), 并按照表 I 中所述方法进行洗涤。在手动固相肽合成装置中用中和的树脂和 DIC(235μL, 1.5mmol)来摇动 Boc-Har(NO₂)-OH (500 mg, 1.5mmol)在 DMF-DCM(1:1)中的溶液 1 小时。在通过阴性水合茚三酮试验证实偶联反应完成后, 进行表 I 中所述的去保护和中和程序从而去除 Boc 保护基并制备肽-树脂以进行下一个氨基酸的偶联。继续进行合成并通过将下面的被保护氨基酸以显示的顺序偶联到树脂上从而获得所需的肽序列来逐步形成肽链: Boc-D-Arg(Tos)-OH, Boc-Nle-OH, Boc-Ile-OH, Boc-Asp(OcHx)-OH, Boc-Gln-OH, Boc-Leu-OH, Boc-Leu-OH, Boc-Lys(2ClZ)-OH, Boc-Arg(Tos)-OH, Boc-Ala-OH, Boc-Ser(Bzl)-OH, Boc-Leu-OH, Boc-Gln-OH, Boc-Abu-OH, Boc-Leu-OH, Boc-Val-OH, Boc-Lys(2ClZ)-OH, Boc-His(Bom)-OH, Boc-Tyr(Me)-OH, Boc-Har(NO₂)-OH, Boc-Asn-OH, Boc-Thr(Bzl)-OH, Boc-Phe(pCl)-OH,

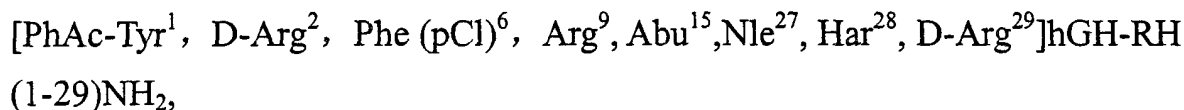
Boc-Ile-OH, Boc-Ala-OH, Boc-Asp(OcHx)-OH, Boc-D-Arg(Tos)-OH, Boc-Tyr(2BrZ)-OH。以 DIC(235 μ L, 1.5mmol)来偶联被保护的氨基酸(每个 1.5 mmol), 除了 Boc-Asn-OH 和 Boc-Gln-OH 以它们的预形成的 HOBt 酯进行偶联。从 Tyr¹ 除去 N^o-Boc 保护基后, 使用 DIC(313 μ L, 2mmol)以苯乙酸(PhAc-OH)(272mg, 2mmol)对所述肽进行酰化。

为了将所述肽从树脂上裂解下来并对其进行去保护, 于 0 $^{\circ}$ C 将 286mg 的干燥肽树脂部分与 0.5 mL 的 m-甲酚和 5 mL 的氟化氢(HF)一起进行搅拌达 2 小时。在氮气流下和在真空中蒸发 HF 后, 用无水二乙醚和乙酸乙酯洗涤所述残余物。将裂解的和去保护的肽溶解在 50%的乙酸中并通过过滤从树脂中进行分离。用水稀释和冷冻干燥后, 获得 155 mg 的粗制产物。

使用具有 Supelco Discovery HS C18 反相柱(2.1 mm x 5 cm, 以 C18 硅胶封装, 120 \AA 孔大小, 3 μ m 颗粒大小)(Supelco, Bellefonte, PA) 和线性梯度洗脱剂(例如, 40-70% B)的 Hewlett-Packard Model HP-1090 液相色谱仪以溶剂系统使用分析 HPLC 来检查粗肽, 所述溶剂系统由(A) 0.1% 水性 TFA 和(B) 在 70% 水性 MeCN 中的 0.1%的 TFA 组成。为了通过半制备 HPLC 进行纯化, 将 155mg 的粗肽溶解在 AcOH/H₂O 中, 搅拌, 过滤并应用在 Beckman Ultraprep ODS 柱(21.2 mm x 15 cm, 用 C18 硅胶封装, 300 \AA 孔大小, 10 μ m 颗粒大小)。所述柱以线性梯度模式(例如, 在 120 分钟内的 40-60% B)使用上述的溶剂系统进行洗脱; 流速 12mL/分钟。在 220nm 监测洗脱, 并通过分析 HPLC 来检测所述级分。将纯度高于 95%的级分合并并进行冷冻干燥从而得到 13.3mg 纯产物。以 0.2ml/min 的流速使用等度洗脱在上述 Supelco C18 反相柱上进行分析 HPLC, 所述等度洗脱具有上述的溶剂系统。在 220 和 280 nm 监测峰。通过分析 HPLC 判断所述产物是基本纯(> 95%)的。通过电雾化质谱法检查分子量, 并通过氨基酸分析来证实预期的氨基酸组成。

肽 15, 肽 18, 肽 19, 肽 21, 肽 22, 肽 23, 肽 24, 肽 26, 肽 27, 肽 28, 肽 32, 肽 33, 肽 34, 肽 35, 肽 36, 肽 37, 肽 38, 肽 39, 肽 40, 肽 41, 肽 42, 肽 43, 肽 53, 肽 54, 肽 55, 肽 57, 肽 58, 肽 63, 肽 65, 肽 69, 肽 84, 肽 85, 肽 90, 和肽 91 以与肽 62 相同的方式进行合成, 除了这些肽还包含其它的取代。

对于肽 15 的合成, 其化学结构是



将如下的被保护氨基酸以显示的顺序偶联到 MBHA 树脂上: Boc- D-

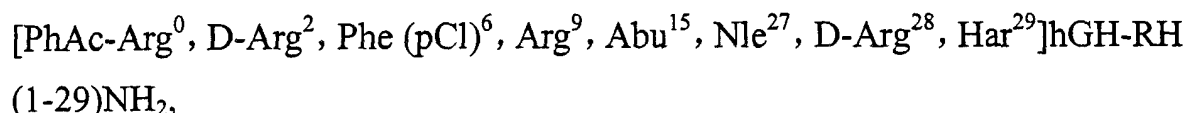
5 Arg(Tos)-OH, Boc-Har(NO₂)-OH, Boc-Nle-OH, Boc-Ile-OH, Boc-Asp(Ochx)-OH, Boc-Gln-OH, Boc-

Leu-OH, Boc-Leu-OH, Boc-Lys(2ClZ)-OH, Boc-Arg(Tos)-OH, Boc-Ala-OH, Boc-Ser(Bzl)-OH, Boc-Leu-OH, Boc-Gln-OH, Boc-Abu-OH, Boc-Leu-OH, Boc-Val-OH, Boc-Lys(2ClZ)-OH, Boc-Arg(Tos)-OH, Boc-Tyr(2BrZ)-OH, Boc-Arg(Tos)-OH, Boc-Asn-OH, Boc-Thr(Bzl)-OH, Boc-Phe(pCl)-OH, Boc-Ile-OH, Boc-Ala-OH, Boc-Asp(Ochx)-OH, Boc-D-Arg(Tos)-OH, Boc-Tyr(2BrZ)-OH,

10

随后用 PhAc-OH 进行酰化。

对于肽 18 的合成, 其化学结构是



15

将如下的被保护氨基酸以显示的顺序偶联到 MBHA 树脂上: Boc-

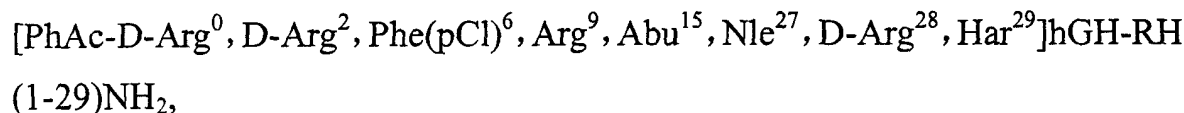
Har(NO₂)-OH, Boc-D-Arg(Tos)-OH, Boc-Nle-OH, Boc-Ile-OH, Boc-Asp(Ochx)-OH, Boc-Gln-OH, Boc-Leu-OH, Boc-Leu-OH, Boc-Lys(2ClZ)-OH, Boc-Arg(Tos)-OH, Boc-Ala-OH, Boc-Ser(Bzl)-OH, Boc-Leu-OH, Boc-Gln-OH, Boc-Abu-OH, Boc-Leu-OH, Boc-Val-OH, Boc-Lys(2ClZ)-OH, Boc-Arg(Tos)-OH, Boc-Tyr(2BrZ)-OH, Boc-Arg(Tos)-OH, Boc-Asn-OH, Boc-Thr(Bzl)-OH, Boc-Phe(pCl)-OH, Boc-Ile-OH, Boc-Ala-OH, Boc-Asp(Ochx)-OH, Boc-D-Arg(Tos)-OH, Boc-Tyr(2BrZ)-

20

OH, Boc-Arg(Tos)-OH, 随后用 PhAc-OH 进行酰化。

25

对于肽 19 的合成, 其化学结构是



将如下的被保护氨基酸以显示的顺序偶联到 MBHA 树脂上: Boc-

30

Har(NO₂)-OH, Boc-D-Arg(Tos)-OH, Boc-Nle-OH, Boc-Ile-OH, Boc-Asp(OcHx)-OH, Boc-Gln-OH, Boc-Leu-OH, Boc-Leu-OH, Boc-Lys(2ClZ)-OH, Boc-Arg(Tos)-OH, Boc-Ala-OH, Boc-Ser(Bzl)-OH, Boc-Leu-OH, Boc-Gln-OH, Boc-Abu-OH, Boc-Leu-OH, Boc-Val-OH, Boc-Lys(2ClZ)-OH, Boc-Arg(Tos)-OH, Boc-Tyr(2BrZ)-OH, Boc-Arg(Tos)-OH, Boc-Asn-OH, Boc-Thr(Bzl)-OH, Boc-Phe(pCl)-OH, Boc-Ile-OH, Boc-Ala-OH, Boc-Asp(OcHx)-OH, Boc-D-Arg(Tos)-OH, Boc-Tyr(2BrZ)-

5

OH, Boc-D-Arg(Tos)-OH, 随后用 PhAc-OH 进行酰化。

对于肽 21 的合成, 其化学结构是

[PhAc-Tyr¹, D-Arg², Phe(pCl)⁶, Cit⁸, Arg⁹, Abu¹⁵, Nle²⁷, D-Arg²⁸, Har²⁹]hGH-RH(1-29)NH₂,

10 将如下的被保护氨基酸以显示的顺序偶联到 MBHA 树脂上: Boc-

Har(NO₂)-OH, Boc-D-Arg(Tos)-OH, Boc-Nle-OH, Boc-Ile-OH, Boc-Asp(OcHx)-OH, Boc-Gln-OH, Boc-Leu-OH, Boc-Leu-OH, Boc-Lys(2ClZ)-OH, Boc-Arg(Tos)-OH, Boc-Ala-OH, Boc-Ser(Bzl)-OH, Boc-Leu-OH, Boc-Gln-OH, Boc-Abu-OH, Boc-Leu-OH, Boc-Val-OH, Boc-Lys(2ClZ)-OH, Boc-Arg(Tos)-OH, Boc-Tyr(2BrZ)-OH, Boc-Arg(Tos)-OH, Boc-Cit-OH, Boc-Thr(Bzl)-OH, Boc-Phe(pCl)-OH, Boc-Ile-OH, Boc-Ala-OH, Boc-Asp(OcHx)-OH, Boc-D-Arg(Tos)-OH, Boc-Tyr(2BrZ)-OH,

15

随后用 PhAc-OH 进行酰化。

对于肽 22 的合成, 其化学结构是

20 [PhAc-Tyr¹, D-Arg², Phe(pCl)⁶, Cit⁸, Cit⁹, Abu¹⁵, Nle²⁷, D-Arg²⁸, Har²⁹]hGH-RH(1-29)NH₂,

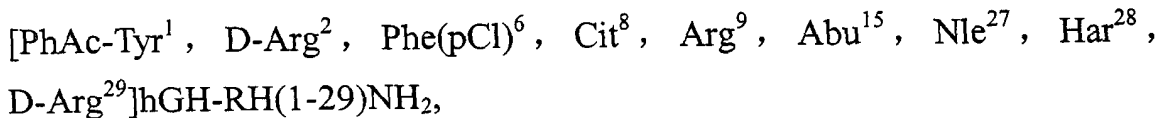
将如下的被保护氨基酸以显示的顺序偶联到 MBHA 树脂上: Boc-

Har(NO₂)-OH, Boc-D-Arg(Tos)-OH, Boc-Nle-OH, Boc-Ile-OH, Boc-Asp(OcHx)-OH, Boc-Gln-OH, Boc-Leu-OH, Boc-Leu-OH, Boc-Lys(2ClZ)-OH, Boc-Arg(Tos)-OH, Boc-Ala-OH, Boc-Ser(Bzl)-OH, Boc-Leu-OH, Boc-Gln-OH, Boc-Abu-OH, Boc-Leu-OH, Boc-Val-OH, Boc-Lys(2ClZ)-OH, Boc-Arg(Tos)-OH, Boc-Tyr(2BrZ)-OH, Boc-Cit-OH, Boc-Cit-OH, Boc-Thr(Bzl)-OH, Boc-Phe(pCl)-OH, Boc-Ile-OH, Boc-Ala-OH, Boc-Asp(OcHx)-OH, Boc-D-Arg(Tos)-OH, Boc-Tyr(2BrZ)-OH,

25

30 随后用 PhAc-OH 进行酰化。

对于肽 23 的合成, 其化学结构是



将如下的被保护氨基酸以显示的顺序偶联到 MBHA 树脂上: Boc-D-

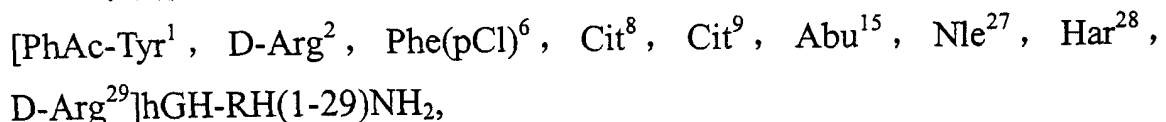
5

Arg(Tos)-OH, Boc-Har(NO₂)-OH, Boc-Nle-OH, Boc-Ile-OH, Boc-Asp(OcHx)-OH, Boc-Gln-OH, Boc-Leu-OH, Boc-Leu-OH, Boc-Lys(2ClZ)-OH, Boc-Arg(Tos)-OH, Boc-Ala-OH, Boc-Ser(Bzl)-OH, Boc-Leu-OH, Boc-Gln-OH, Boc-Abu-OH, Boc-Leu-OH, Boc-Val-OH, Boc-Lys(2ClZ)-OH, Boc-Arg(Tos)-OH, Boc-Tyr(2BrZ)-OH, Boc-Arg(Tos)-OH, Boc-Cit-OH, Boc-Thr(Bzl)-OH, Boc-Phe(pCl)-OH, Boc-Ile-OH, Boc-Ala-OH, Boc-Asp(OcHx)-OH, Boc-D-Arg(Tos)-OH, Boc-Tyr(2BrZ)-OH,

10

随后用 PhAc-OH 进行酰化。

对于肽 24 的合成, 其化学结构是



15

将如下的被保护氨基酸以显示的顺序偶联到 MBHA 树脂上: Boc-D-

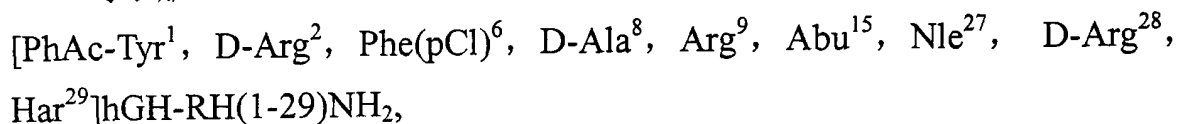
20

Arg(Tos)-OH, Boc-Har(NO₂)-OH, Boc-Nle-OH, Boc-Ile-OH, Boc-Asp(OcHx)-OH, Boc-Gln-OH, Boc-Leu-OH, Boc-Leu-OH, Boc-Lys(2ClZ)-OH, Boc-Arg(Tos)-OH, Boc-Ala-OH, Boc-Ser(Bzl)-OH, Boc-Leu-OH, Boc-Gln-OH, Boc-Abu-OH, Boc-Leu-OH, Boc-Val-OH, Boc-Lys(2ClZ)-OH, Boc-Arg(Tos)-OH, Boc-Tyr(2BrZ)-OH, Boc-Cit-OH, Boc-Cit-OH, Boc-Thr(Bzl)-OH, Boc-Phe(pCl)-OH, Boc-Ile-OH, Boc-Ala-OH, Boc-Asp(OcHx)-OH, Boc-D-Arg(Tos)-OH, Boc-Tyr(2BrZ)-OH,

随后用 PhAc-OH 进行酰化。

25

对于肽 26 的合成, 其化学结构是



将如下的被保护氨基酸以显示的顺序偶联到 MBHA 树脂上: Boc-

30

Har(NO₂)-OH, Boc-D-Arg(Tos)-OH, Boc-Nle-OH, Boc-Ile-OH, Boc-Asp(OcHx)-OH, Boc-Gln-OH, Boc-Leu-OH, Boc-Leu-OH, Boc-Lys(2ClZ)-OH, Boc-Arg(Tos)-OH, Boc-Ala-OH, Boc-Ser(Bzl)-OH, Boc-Leu-OH, Boc-Gln-OH, Boc-Abu-OH, Boc-Leu-OH, Boc-Val-OH, Boc-Lys(2ClZ)-OH, Boc-Arg(Tos)-OH, Boc-Tyr(2BrZ)-OH, Boc-Arg(Tos)-OH, Boc-D-Ala-OH, Boc-Thr(Bzl)-OH, Boc-Phe(pCl)-OH, Boc-Ile-OH, Boc-Ala-OH, Boc-Asp(OcHx)-OH, Boc-D-Arg(Tos)-OH, Boc-Tyr(2BrZ)-

5

OH, 随后用 PhAc-OH 进行酰化。

对于肽 27 的合成, 其化学结构是

[PhAc-Tyr¹, D-Arg², Phe(pCl)⁶, Abu⁸, Arg⁹, Abu¹⁵, Nle²⁷, D-Arg²⁸, Har²⁹]hGH-RH(1-29)NH₂,

10 将如下的被保护氨基酸以显示的顺序偶联到 MBHA 树脂上: Boc-

Har(NO₂)-OH, Boc-D-Arg(Tos)-OH, Boc-Nle-OH, Boc-Ile-OH, Boc-Asp(OcHx)-OH, Boc-Gln-OH,

Boc-Leu-OH, Boc-Leu-OH, Boc-Lys(2ClZ)-OH, Boc-Arg(Tos)-OH, Boc-Ala-OH, Boc-Ser(Bzl)-OH, Boc-Leu-OH, Boc-Gln-OH, Boc-Abu-OH, Boc-Leu-OH, Boc-Val-OH, Boc-Lys(2ClZ)-OH, Boc-Arg(Tos)-OH, Boc-Tyr(2BrZ)-OH, Boc-Arg(Tos)-OH, Boc-Abu-OH, Boc-Thr(Bzl)-OH, Boc-Phe(pCl)-OH, Boc-Ile-OH, Boc-Ala-OH, Boc-Asp(OcHx)-OH, Boc-D-Arg(Tos)-OH, Boc-Tyr(2BrZ)-

15

OH, 随后用 PhAc-OH 进行酰化。

对于肽 28 的合成, 其化学结构是

20 [PhAc-Tyr¹, D-Arg², Phe(pCl)⁶, Cit⁹, Abu¹⁵, Nle²⁷, Har²⁸, D-Arg²⁹]hGH-RH(1-29)NH₂,

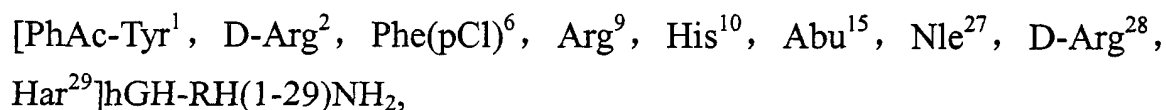
将如下的被保护氨基酸以显示的顺序偶联到 MBHA 树脂上: Boc-

Arg(Tos)-OH, Boc-Har(NO₂)-OH, Boc-Nle-OH, Boc-Ile-OH, Boc-Asp(OcHx)-OH, Boc-Gln-OH, Boc-Leu-OH, Boc-Leu-OH, Boc-Lys(2ClZ)-OH, Boc-Arg(Tos)-OH, Boc-Ala-OH, Boc-Ser(Bzl)-OH, Boc-Leu-OH, Boc-Gln-OH, Boc-Abu-OH, Boc-Leu-OH, Boc-Val-OH, Boc-Lys(2ClZ)-OH, Boc-Arg(Tos)-OH, Boc-Tyr(2BrZ)-OH, Boc-Cit-OH, Boc-Asn-OH, Boc-Thr(Bzl)-OH, Boc-Phe(pCl)-OH, Boc-Ile-OH, Boc-Ala-OH, Boc-Asp(OcHx)-OH, Boc-D-Arg(Tos)-OH, Boc-Tyr(2BrZ)-OH,

25

30 随后用 PhAc-OH 进行酰化。

对于肽 32 的合成, 其化学结构是



将如下的被保护氨基酸以显示的顺序偶联到 MBHA 树脂上: Boc-

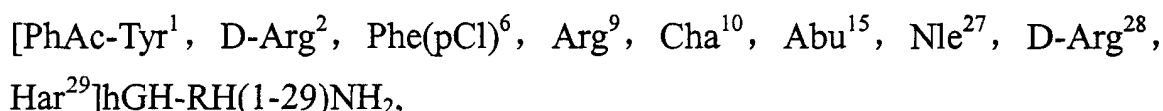
5

Har(NO₂)-OH, Boc-D-Arg(Tos)-OH, Boc-Nle-OH, Boc-Ile-OH, Boc-Asp(OcHx)-OH, Boc-Gln-OH, Boc-Leu-OH, Boc-Leu-OH, Boc-Lys(2ClZ)-OH, Boc-Arg(Tos)-OH, Boc-Ala-OH, Boc-Ser(Bzl)-OH, Boc-Leu-OH, Boc-Gln-OH, Boc-Abu-OH, Boc-Leu-OH, Boc-Val-OH, Boc-Lys(2ClZ)-OH, Boc-Arg(Tos)-OH, Boc-His(Bom)-OH, Boc-Arg(Tos)-OH, Boc-Asn-OH, Boc-Thr(Bzl)-OH, Boc-Phe(pCl)-OH, Boc-Ile-OH, Boc-Ala-OH, Boc-Asp(OcHx)-OH, Boc-D-Arg(Tos)-OH, Boc-Tyr(2BrZ)-OH,

10

, 随后用 PhAc-OH 进行酰化。

对于肽 33 的合成, 其化学结构是



15

将如下的被保护氨基酸以显示的顺序偶联到 MBHA 树脂上: Boc-

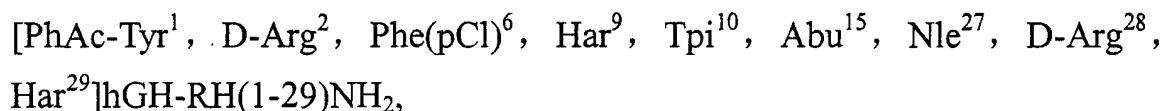
Har(NO₂)-OH, Boc-D-Arg(Tos)-OH, Boc-Nle-OH, Boc-Ile-OH, Boc-Asp(OcHx)-OH, Boc-Gln-OH, Boc-Leu-OH, Boc-Leu-OH, Boc-Lys(2ClZ)-OH, Boc-Arg(Tos)-OH, Boc-Ala-OH, Boc-Ser(Bzl)-OH, Boc-Leu-OH, Boc-Gln-OH, Boc-Abu-OH, Boc-Leu-OH, Boc-Val-OH, Boc-Lys(2ClZ)-OH, Boc-Arg(Tos)-OH, Boc-Cha-OH, Boc-Arg(Tos)-OH, Boc-Asn-OH, Boc-Thr(Bzl)-OH, Boc-Phe(pCl)-OH, Boc-Ile-OH, Boc-Ala-OH, Boc-Asp(OcHx)-OH, Boc-D-Arg(Tos)-OH, Boc-Tyr(2BrZ)-OH,

20

随后用 PhAc-OH 进行酰化。

25

对于肽 34 的合成, 其化学结构是



将如下的被保护氨基酸以显示的顺序偶联到 MBHA 树脂上: Boc-

30

Har(NO₂)-OH, Boc-D-Arg(Tos)-OH, Boc-Nle-OH, Boc-Ile-OH, Boc-Asp(Ochx)-OH, Boc-Gln-OH,
 Boc-Leu-OH, Boc-Leu-OH, Boc-Lys(2ClZ)-OH, Boc-Arg(Tos)-OH, Boc-Ala-OH, Boc-Ser(Bzl)-OH,
 Boc-Leu-OH, Boc-Gln-OH, Boc-Abu-OH, Boc-Leu-OH, Boc-Val-OH, Boc-Lys(2ClZ)-OH, Boc-
 Arg(Tos)-OH, Boc-Tpi-OH, Boc-Har(NO₂)-OH, Boc-Asn-OH, Boc-Thr(Bzl)-OH, Boc-Phe(pCl)-OH,
 Boc-Ile-OH, Boc-Ala-OH, Boc-Asp(Ochx)-OH, Boc-D-Arg(Tos)-OH, Boc-Tyr(2BrZ)-OH,

5

随后用 PhAc-OH 进行酰化。

对于肽 35 的合成, 其化学结构是

[PhAc-Tyr¹, D-Arg², Phe(pCl)⁶, Har⁹, 2-Nal¹⁰, Abu¹⁵, Nle²⁷, D-Arg²⁸,
 Har²⁹]hGH-RH(1-29)NH₂,

10 将如下的被保护氨基酸以显示的顺序偶联到 MBHA 树脂上: Boc-

Har(NO₂)-OH, Boc-D-Arg(Tos)-OH, Boc-Nle-OH, Boc-Ile-OH, Boc-Asp(Ochx)-OH, Boc-Gln-OH,
 Boc-Leu-OH, Boc-Leu-OH, Boc-Lys(2ClZ)-OH, Boc-Arg(Tos)-OH, Boc-Ala-OH, Boc-Ser(Bzl)-OH,
 Boc-Leu-OH, Boc-Gln-OH, Boc-Abu-OH, Boc-Leu-OH, Boc-Val-OH, Boc-Lys(2ClZ)-OH, Boc-
 Arg(Tos)-OH, Boc-2-Nal-OH, Boc-Har(NO₂)-OH, Boc-Asn-OH, Boc-Thr(Bzl)-OH, Boc-Phe(pCl)-
 OH, Boc-Ile-OH, Boc-Ala-OH, Boc-Asp(Ochx)-OH, Boc-D-Arg(Tos)-OH, Boc-Tyr(2BrZ)-OH,

15

随后用 PhAc-OH 进行酰化。

对于肽 36 的合成, 其化学结构是

20 [PhAc-Tyr¹, D-Arg², Phe(pCl)⁶, Har⁹, Dip¹⁰, Abu¹⁵, Nle²⁷, D-Arg²⁸,
 Har²⁹]hGH-RH(1-29)NH₂,

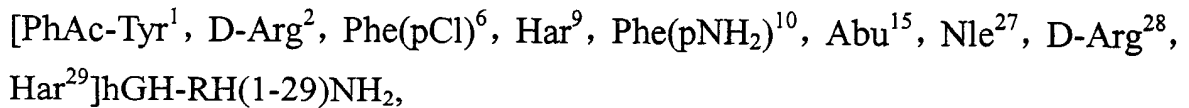
将如下的被保护氨基酸以显示的顺序偶联到 MBHA 树脂上: Boc-

Har(NO₂)-OH, Boc-D-Arg(Tos)-OH, Boc-Nle-OH, Boc-Ile-OH, Boc-Asp(Ochx)-OH, Boc-Gln-OH,
 Boc-Leu-OH, Boc-Leu-OH, Boc-Lys(2ClZ)-OH, Boc-Arg(Tos)-OH, Boc-Ala-OH, Boc-Ser(Bzl)-OH,
 25 Boc-Leu-OH, Boc-Gln-OH, Boc-Abu-OH, Boc-Leu-OH, Boc-Val-OH, Boc-Lys(2ClZ)-OH, Boc-
 Arg(Tos)-OH, Boc-Dip-OH, Boc-Har(NO₂)-OH, Boc-Asn-OH, Boc-Thr(Bzl)-OH, Boc-Phe(pCl)-OH,
 Boc-Ile-OH, Boc-Ala-OH, Boc-Asp(Ochx)-OH, Boc-D-Arg(Tos)-OH, Boc-Tyr(2BrZ)-OH,

25

30 随后用 PhAc-OH 进行酰化。

对于肽 37 的合成, 其化学结构是



将如下的被保护氨基酸以显示的顺序偶联到 MBHA 树脂上: Boc-

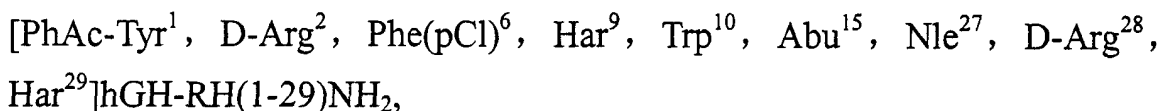
5

Har(NO₂)-OH, Boc-D-Arg(Tos)-OH, Boc-Nle-OH, Boc-Ile-OH, Boc-Asp(OcHx)-OH, Boc-Gln-OH, Boc-Leu-OH, Boc-Leu-OH, Boc-Lys(2ClZ)-OH, Boc-Arg(Tos)-OH, Boc-Ala-OH, Boc-Ser(Bzl)-OH, Boc-Leu-OH, Boc-Gln-OH, Boc-Abu-OH, Boc-Leu-OH, Boc-Val-OH, Boc-Lys(2ClZ)-OH, Boc-Arg(Tos)-OH, Boc-Phe(pNH-Z)-OH, Boc-Har(NO₂)-OH, Boc-Asn-OH, Boc-Thr(Bzl)-OH, Boc-Phe(pCl)-OH, Boc-Ile-OH, Boc-Ala-OH, Boc-Asp(OcHx)-OH, Boc-D-Arg(Tos)-OH, Boc-Tyr(2BrZ)-

10

OH, 随后用 PhAc-OH 进行酰化。

对于肽 38 的合成, 其化学结构是



15

将如下的被保护氨基酸以显示的顺序偶联到 MBHA 树脂上: Boc-

Har(NO₂)-OH, Boc-D-Arg(Tos)-OH, Boc-Nle-OH, Boc-Ile-OH, Boc-Asp(OcHx)-OH, Boc-Gln-OH,

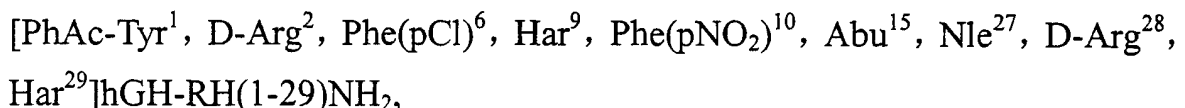
Boc-Leu-OH, Boc-Leu-OH, Boc-Lys(2ClZ)-OH, Boc-Arg(Tos)-OH, Boc-Ala-OH, Boc-Ser(Bzl)-OH, Boc-Leu-OH, Boc-Gln-OH, Boc-Abu-OH, Boc-Leu-OH, Boc-Val-OH, Boc-Lys(2ClZ)-OH, Boc-Arg(Tos)-OH, Boc-Trp(For)-OH, Boc-Har(NO₂)-OH, Boc-Asn-OH, Boc-Thr(Bzl)-OH, Boc-Phe(pCl)-OH, Boc-Ile-OH, Boc-Ala-OH, Boc-Asp(OcHx)-OH, Boc-D-Arg(Tos)-OH, Boc-Tyr(2BrZ)-OH,

20

, 随后用 PhAc-OH 进行酰化。

25

对于肽 39 的合成, 其化学结构是



将如下的被保护氨基酸以显示的顺序偶联到 MBHA 树脂上: Boc-

30

Har(NO₂)-OH, Boc-D-Arg(Tos)-OH, Boc-Nle-OH, Boc-Ile-OH, Boc-Asp(Ochx)-OH, Boc-Gln-OH, Boc-Leu-OH, Boc-Leu-OH, Boc-Lys(2ClZ)-OH, Boc-Arg(Tos)-OH, Boc-Ala-OH, Boc-Ser(Bzl)-OH, Boc-Leu-OH, Boc-Gln-OH, Boc-Abu-OH, Boc-Leu-OH, Boc-Val-OH, Boc-Lys(2ClZ)-OH, Boc-Arg(Tos)-OH, Boc-Phe(pNO₂)-OH, Boc-Har(NO₂)-OH, Boc-Asn-OH, Boc-Thr(Bzl)-OH, Boc-Phe(pCl)-OH, Boc-Ile-OH, Boc-Ala-OH, Boc-Asp(Ochx)-OH, Boc-D-Arg(Tos)-OH, Boc-Tyr(2BrZ)-

5

OH, 随后用 PhAc-OH 进行酰化。

对于肽 40 的合成, 其化学结构是

[PhAc-Tyr¹, D-Arg², Phe(pCl)⁶, Har⁹, 3-Pal¹⁰, Abu¹⁵, Nle²⁷, D-Arg²⁸, Har²⁹]hGH-RH(1-29)NH₂,

10 将如下的被保护氨基酸以显示的顺序偶联到 MBHA 树脂上: Boc-

Har(NO₂)-OH, Boc-D-Arg(Tos)-OH, Boc-Nle-OH, Boc-Ile-OH, Boc-Asp(Ochx)-OH, Boc-Gln-OH, Boc-Leu-OH, Boc-Leu-OH, Boc-Lys(2ClZ)-OH, Boc-Arg(Tos)-OH, Boc-Ala-OH, Boc-Ser(Bzl)-OH, Boc-Leu-OH, Boc-Gln-OH, Boc-Abu-OH, Boc-Leu-OH, Boc-Val-OH, Boc-Lys(2ClZ)-OH, Boc-Arg(Tos)-OH, Boc-3-Pal-OH, Boc-Har(NO₂)-OH, Boc-Asn-OH, Boc-Thr(Bzl)-OH, Boc-Phe(pCl)-OH, Boc-Ile-OH, Boc-Ala-OH, Boc-Asp(Ochx)-OH, Boc-D-Arg(Tos)-OH, Boc-Tyr(2BrZ)-OH,

15

, 随后用 PhAc-OH 进行酰化。

对于肽 41 的合成, 其化学结构是

20 [PhAc-Tyr¹, D-Arg², Phe(pCl)⁶, Har⁹, Tyr(Et)¹⁰, Abu¹⁵, Nle²⁷, D-Arg²⁸, Har²⁹]hGH-RH(1-29)NH₂,

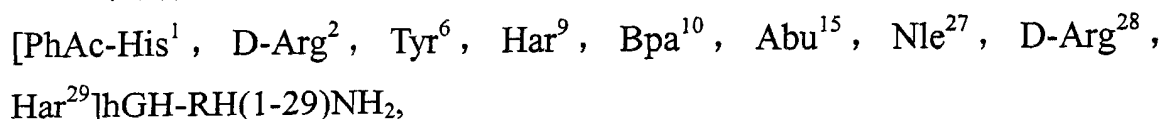
将如下的被保护氨基酸以显示的顺序偶联到 MBHA 树脂上: Boc-

25 Har(NO₂)-OH, Boc-D-Arg(Tos)-OH, Boc-Nle-OH, Boc-Ile-OH, Boc-Asp(Ochx)-OH, Boc-Gln-OH, Boc-Leu-OH, Boc-Leu-OH, Boc-Lys(2ClZ)-OH, Boc-Arg(Tos)-OH, Boc-Ala-OH, Boc-Ser(Bzl)-OH, Boc-Leu-OH, Boc-Gln-OH, Boc-Abu-OH, Boc-Leu-OH, Boc-Val-OH, Boc-Lys(2ClZ)-OH, Boc-Arg(Tos)-OH, Boc-Tyr(Et)-OH, Boc-Har(NO₂)-OH, Boc-Asn-OH, Boc-Thr(Bzl)-OH, Boc-Phe(pCl)-OH, Boc-Ile-OH, Boc-Ala-OH, Boc-Asp(Ochx)-OH, Boc-D-Arg(Tos)-OH, Boc-Tyr(2BrZ)-OH

30

, 随后用 PhAc-OH 进行酰化。

对于肽 42 的合成, 其化学结构是



将如下的被保护氨基酸以显示的顺序偶联到 MBHA 树脂上: Boc-

5

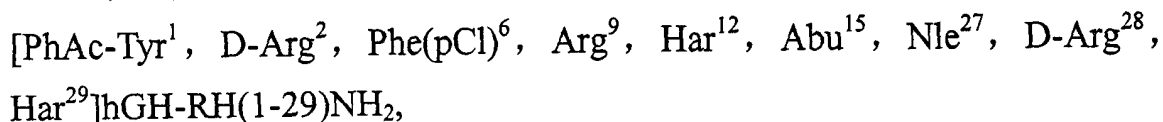
Har(NO₂)-OH, Boc-D-Arg(Tos)-OH, Boc-Nle-OH, Boc-Ile-OH, Boc-Asp(OcHx)-OH, Boc-Gln-OH,

Boc-Leu-OH, Boc-Leu-OH, Boc-Lys(2ClZ)-OH, Boc-Arg(Tos)-OH, Boc-Ala-OH, Boc-Ser(Bzl)-OH,
Boc-Leu-OH, Boc-Gln-OH, Boc-Abu-OH, Boc-Leu-OH, Boc-Val-OH, Boc-Lys(2ClZ)-OH, Boc-
Arg(Tos)-OH, Boc-Bpa-OH, Boc-Har(NO₂)-OH, Boc-Asn-OH, Boc-Thr(Bzl)-OH, Boc-Tyr(2BrZ)-OH,
Boc-Ile-OH, Boc-Ala-OH, Boc-Asp(OcHx)-OH, Boc-D-Arg(Tos)-OH, Boc-His(Born)-OH

10

, 随后用 PhAc-OH 进行酰化。

对于肽 43 的合成, 其化学结构是



15

将如下的被保护氨基酸以显示的顺序偶联到 MBHA 树脂上: Boc-

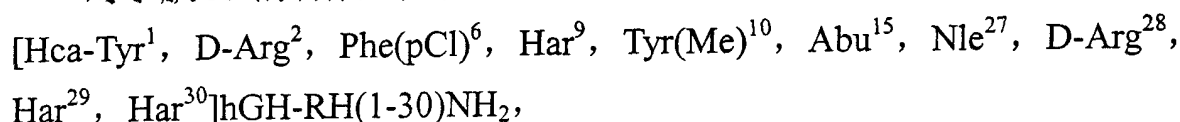
20

Har(NO₂)-OH, Boc-D-Arg(Tos)-OH, Boc-Nle-OH, Boc-Ile-OH, Boc-Asp(OcHx)-OH, Boc-Gln-OH,
Boc-Leu-OH, Boc-Leu-OH, Boc-Lys(2ClZ)-OH, Boc-Arg(Tos)-OH, Boc-Ala-OH, Boc-Ser(Bzl)-OH,
Boc-Leu-OH, Boc-Gln-OH, Boc-Abu-OH, Boc-Leu-OH, Boc-Val-OH, Boc-Har(NO₂)-OH, Boc-
Arg(Tos)-OH, Boc-Tyr(2BrZ)-OH, Boc-Arg(Tos)-OH, Boc-Asn-OH, Boc-Thr(Bzl)-OH, Boc-
Phe(pCl)-OH, Boc-Ile-OH, Boc-Ala-OH, Boc-Asp(OcHx)-OH, Boc-D-Arg(Tos)-OH, Boc-Tyr(2BrZ)-

OH, 随后用 PhAc-OH 进行酰化。

25

对于肽 53 的合成, 其化学结构是



将如下的被保护氨基酸以显示的顺序偶联到 MBHA 树脂上: Boc-

30

Har(NO₂)-OH, Boc-Har(NO₂)-OH, Boc-D-Arg(Tos)-OH, Boc-Nle-OH, Boc-Ile-OH, Boc-Asp(OcHx)-OH, Boc-Gln-OH, Boc-Leu-OH, Boc-Leu-OH, Boc-Lys(2ClZ)-OH, Boc-Arg(Tos)-OH, Boc-Ala-OH, Boc-Ser(Bzl)-OH, Boc-Leu-OH, Boc-Gln-OH, Boc-Abu-OH, Boc-Leu-OH, Boc-Val-OH, Boc-Lys(2ClZ)-OH, Boc-Arg(Tos)-OH, Boc-Tyr(Me)-OH, Boc-Har(NO₂)-OH, Boc-Asn-OH, Boc-Thr(Bzl)-OH, Boc-Phe(pCl)-OH, Boc-Ile-OH, Boc-Ala-OH, Boc-Asp(OcHx)-OH, Boc-D-Arg(Tos)-OH,

5

Tyr(2BrZ)-OH, 随后用氢化肉桂酸(Hca-OH)进行酰化。

对于肽 54 的合成, 其化学结构是

[Dat-Tyr¹, D-Arg², Phe(pCl)⁶, Har⁹, Tyr(Me)¹⁰, Abu¹⁵, Nle²⁷, D-Arg²⁸, Har²⁹, Har³⁰]hGH-RH(1-30)NH₂,

10 将如下的被保护氨基酸以显示的顺序偶联到 MBHA 树脂上: Boc-

Har(NO₂)-OH, Boc-Har(NO₂)-OH, Boc-D-Arg(Tos)-OH, Boc-Nle-OH, Boc-Ile-OH, Boc-Asp(OcHx)-OH, Boc-Gln-OH, Boc-Leu-OH, Boc-Leu-OH, Boc-Lys(2ClZ)-OH, Boc-Arg(Tos)-OH, Boc-Ala-OH, Boc-Ser(Bzl)-OH, Boc-Leu-OH, Boc-Gln-OH, Boc-Abu-OH, Boc-Leu-OH, Boc-Val-OH, Boc-Lys(2ClZ)-OH, Boc-Arg(Tos)-OH, Boc-Tyr(Me)-OH, Boc-Har(NO₂)-OH, Boc-Asn-OH, Boc-Thr(Bzl)-OH, Boc-Phe(pCl)-OH, Boc-Ile-OH, Boc-Ala-OH, Boc-Asp(OcHx)-OH, Boc-D-Arg(Tos)-OH, Boc-

15

Tyr(2BrZ)-OH, 随后用脱-氨基-酪氨酸(Dat)进行酰化。

对于肽 55 的合成, 其化学结构是

20 [Ipa-Tyr¹, D-Arg², Phe(pCl)⁶, Har⁹, Tyr(Me)¹⁰, Abu¹⁵, Nle²⁷, D-Arg²⁸, Har²⁹, Har³⁰]hGH-RH(1-30)NH₂,

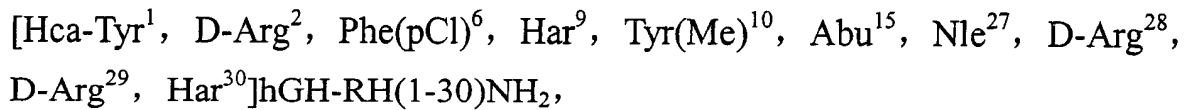
将如下的被保护氨基酸以显示的顺序偶联到 MBHA 树脂上: Boc-

Har(NO₂)-OH, Boc-Har(NO₂)-OH, Boc-D-Arg(Tos)-OH, Boc-Nle-OH, Boc-Ile-OH, Boc-Asp(OcHx)-OH, Boc-Gln-OH, Boc-Leu-OH, Boc-Leu-OH, Boc-Lys(2ClZ)-OH, Boc-Arg(Tos)-OH, Boc-Ala-OH, Boc-Ser(Bzl)-OH, Boc-Leu-OH, Boc-Gln-OH, Boc-Abu-OH, Boc-Leu-OH, Boc-Val-OH, Boc-Lys(2ClZ)-OH, Boc-Arg(Tos)-OH, Boc-Tyr(Me)-OH, Boc-Har(NO₂)-OH, Boc-Asn-OH, Boc-Thr(Bzl)-OH, Boc-Phe(pCl)-OH, Boc-Ile-OH, Boc-Ala-OH, Boc-Asp(OcHx)-OH, Boc-D-Arg(Tos)-OH, Boc-

25

30 Tyr(2BrZ)-OH, 随后用吲哚-3-丙酸(Ipa-OH)进行酰化。

对于肽 57 的合成, 其化学结构是



将如下的被保护氨基酸以显示的顺序偶联到 MBHA 树脂上: Boc-

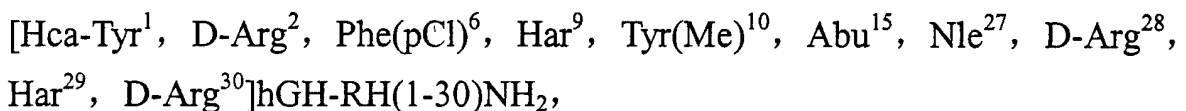
5

Har(NO₂)-OH, Boc-D-Arg(Tos)-OH, Boc-D-Arg(Tos)-OH, Boc-Nle-OH, Boc-Ile-OH, Boc-Asp(OcHx)-OH, Boc-Gln-OH, Boc-Leu-OH, Boc-Leu-OH, Boc-Lys(2ClZ)-OH, Boc-Arg(Tos)-OH, Boc-Ala-OH, Boc-Ser(Bzl)-OH, Boc-Leu-OH, Boc-Gln-OH, Boc-Abu-OH, Boc-Leu-OH, Boc-Val-OH, Boc-Lys(2ClZ)-OH, Boc-Arg(Tos)-OH, Boc-Tyr(Me)-OH, Boc-Har(NO₂)-OH, Boc-Asn-OH, Boc-Thr(Bzl)-OH, Boc-Phe(pCl)-OH, Boc-Ile-OH, Boc-Ala-OH, Boc-Asp(OcHx)-OH, Boc-D-

10

Arg(Tos)-OH, Boc-Tyr(2BrZ)-OH, 随后用 Hca-OH 进行酰化。

对于肽 58 的合成, 其化学结构是



15

将如下的被保护氨基酸以显示的顺序偶联到 MBHA 树脂上: Boc-D-

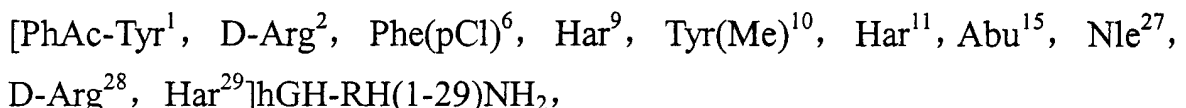
20

Arg(Tos)-OH, Boc-Har(NO₂)-OH, Boc-D-Arg(Tos)-OH, Boc-Nle-OH, Boc-Ile-OH, Boc-Asp(OcHx)-OH, Boc-Gln-OH, Boc-Leu-OH, Boc-Leu-OH, Boc-Lys(2ClZ)-OH, Boc-Arg(Tos)-OH, Boc-Ala-OH, Boc-Ser(Bzl)-OH, Boc-Leu-OH, Boc-Gln-OH, Boc-Abu-OH, Boc-Leu-OH, Boc-Val-OH, Boc-Lys(2ClZ)-OH, Boc-Arg(Tos)-OH, Boc-Tyr(Me)-OH, Boc-Har(NO₂)-OH, Boc-Asn-OH, Boc-Thr(Bzl)-OH, Boc-Phe(pCl)-OH, Boc-Ile-OH, Boc-Ala-OH, Boc-Asp(OcHx)-OH, Boc-D-Arg(Tos)-OH, Boc-

Tyr(2BrZ)-OH, 随后用 Hca-OH 进行酰化。

25

对于肽 63 的合成, 其化学结构是



将如下的被保护氨基酸以显示的顺序偶联到 MBHA 树脂上: Boc-

30

Har(NO₂)-OH, Boc-D-Arg(Tos)-OH, Boc-Nle-OH, Boc-Ile-OH, Boc-Asp(Ochx)-OH, Boc-Gln-OH,
 Boc-Leu-OH, Boc-Leu-OH, Boc-Lys(2ClZ)-OH, Boc-Arg(Tos)-OH, Boc-Ala-OH, Boc-Ser(Bzl)-OH,
 Boc-Leu-OH, Boc-Gln-OH, Boc-Abu-OH, Boc-Leu-OH, Boc-Val-OH, Boc-Lys(2ClZ)-OH, Boc-
 Har(NO₂)-OH, Boc-Tyr(Me)-OH, Boc-Har(NO₂)-OH, Boc-Asn-OH, Boc-Thr(Bzl)-OH, Boc-Phe(pCl)-
 OH, Boc-Ile-OH, Boc-Ala-OH, Boc-Asp(Ochx)-OH, Boc-D-Arg(Tos)-OH, Boc-Tyr(2BrZ)-OH,

5

随后用 PhAc-OH 进行酰化。

对于肽 65 的合成, 其化学结构是

[PhAc-Tyr¹, D-Arg², Phe(pCl)⁶, Har⁹, Tyr(Me)¹⁰, Cit¹¹, Abu¹⁵, Nle²⁷, D-Arg²⁸,
 Har²⁹]hGH-RH(1-29)NH₂,

10 将如下的被保护氨基酸以显示的顺序偶联到 MBHA 树脂上: Boc-

Har(NO₂)-OH, Boc-D-Arg(Tos)-OH, Boc-Nle-OH, Boc-Ile-OH, Boc-Asp(Ochx)-OH, Boc-Gln-OH,
 Boc-Leu-OH, Boc-Leu-OH, Boc-Lys(2ClZ)-OH, Boc-Arg(Tos)-OH, Boc-Ala-OH, Boc-Ser(Bzl)-OH,
 Boc-Leu-OH, Boc-Gln-OH, Boc-Abu-OH, Boc-Leu-OH, Boc-Val-OH, Boc-Lys(2ClZ)-OH, Boc-Cit-
 OH, Boc-Tyr(Me)-OH, Boc-Har(NO₂)-OH, Boc-Asn-OH, Boc-Thr(Bzl)-OH, Boc-Phe(pCl)-OH, Boc-
 Ile-OH, Boc-Ala-OH, Boc-Asp(Ochx)-OH, Boc-D-Arg(Tos)-OH, Boc-Tyr(2BrZ)-OH,

15

随后用 PhAc-OH 进行酰化。

对于肽 69 的合成, 其化学结构是

20 [PhAc-Tyr¹, D-Arg², Phe(pCl)⁶, His⁹, Tyr(Me)¹⁰, Abu¹⁵, Nle²⁷, D-Arg²⁸,
 Har²⁹]hGH-RH(1-29)NH₂,

将如下的被保护氨基酸以显示的顺序偶联到 MBHA 树脂上: Boc-

Har(NO₂)-OH, Boc-D-Arg(Tos)-OH, Boc-Nle-OH, Boc-Ile-OH, Boc-Asp(Ochx)-OH, Boc-Gln-OH,
 Boc-Leu-OH, Boc-Leu-OH, Boc-Lys(2ClZ)-OH, Boc-Arg(Tos)-OH, Boc-Ala-OH, Boc-Ser(Bzl)-OH,
 25 Boc-Leu-OH, Boc-Gln-OH, Boc-Abu-OH, Boc-Leu-OH, Boc-Val-OH, Boc-Lys(2ClZ)-OH, Boc-
 Arg(Tos)-OH, Boc-Tyr(Me)-OH, Boc-His(Bom)-OH, Boc-Asn-OH, Boc-Thr(Bzl)-OH, Boc-Phe(pCl)-
 OH, Boc-Ile-OH, Boc-Ala-OH, Boc-Asp(Ochx)-OH, Boc-D-Arg(Tos)-OH, Boc-Tyr(2BrZ)-OH,

30 随后用 PhAc-OH 进行酰化。

对于肽 84 的合成, 其化学结构是

[PhAc-Tyr¹, D-Arg², Phe(pCl)⁶, Har⁹, Tyr(Me)¹⁰, Abu¹⁵, His²⁰, Nle²⁷,
D-Arg²⁸, Har²⁹]hGH-RH(1-29)NH₂,

将如下的被保护氨基酸以显示的顺序偶联到 MBHA 树脂上: Boc-

5

Har(NO₂)-OH, Boc-D-Arg(Tos)-OH, Boc-Nle-OH, Boc-Ile-OH, Boc-Asp(OcHx)-OH, Boc-Gln-OH,
Boc-Leu-OH, Boc-Leu-OH, Boc-Lys(2ClZ)-OH, Boc-His(Bom)-OH, Boc-Ala-OH, Boc-Ser(Bzl)-OH,
Boc-Leu-OH, Boc-Gln-OH, Boc-Abu-OH, Boc-Leu-OH, Boc-Val-OH, Boc-Lys(2ClZ)-OH, Boc-
Arg(Tos)-OH, Boc-Tyr(Me)-OH, Boc-Har(NO₂)-OH, Boc-Asn-OH, Boc-Thr(Bzl)-OH, Boc-Phe(pCl)-
OH, Boc-Ile-OH, Boc-Ala-OH, Boc-Asp(OcHx)-OH, Boc-D-Arg(Tos)-OH, Boc-Tyr(2BrZ)-OH,

10

随后用 PhAc-OH 进行酰化。

对于肽 85 的合成, 其化学结构是

[PhAc-Tyr¹, D-Arg², Phe(pCl)⁶, Har⁹, Tyr(Me)¹⁰, His¹¹, Abu¹⁵, His²⁰,
15 Nle²⁷, D-Arg²⁸, Har²⁹]hGH-RH(1-29)NH₂,

将如下的被保护氨基酸以显示的顺序偶联到 MBHA 树脂上: Boc-

20

Har(NO₂)-OH, Boc-D-Arg(Tos)-OH, Boc-Nle-OH, Boc-Ile-OH, Boc-Asp(OcHx)-OH, Boc-Gln-OH,
Boc-Leu-OH, Boc-Leu-OH, Boc-Lys(2ClZ)-OH, Boc-His(Bom)-OH, Boc-Ala-OH, Boc-Ser(Bzl)-OH,
Boc-Leu-OH, Boc-Gln-OH, Boc-Abu-OH, Boc-Leu-OH, Boc-Val-OH, Boc-Lys(2ClZ)-OH, Boc-
His(Bom)-OH, Boc-Tyr(Me)-OH, Boc-Har(NO₂)-OH, Boc-Asn-OH, Boc-Thr(Bzl)-OH, Boc-Phe(pCl)-
OH, Boc-Ile-OH, Boc-Ala-OH, Boc-Asp(OcHx)-OH, Boc-D-Arg(Tos)-OH, Boc-Tyr(2BrZ)-OH,

随后用 PhAc-OH 进行酰化。

25

对于肽 90 的合成, 其化学结构是

[PhAc-Tyr¹, D-Arg², Phe(pCl)⁶, Arg⁹, Cit¹⁵, Nle²⁷, D-Arg²⁸,
Har²⁹]hGH-RH(1-29)NH₂,

将如下的被保护氨基酸以显示的顺序偶联到 MBHA 树脂上: Boc-

30

Har(NO₂)-OH, Boc-D-Arg(Tos)-OH, Boc-Nle-OH, Boc-Ile-OH, Boc-Asp(OcHx)-OH, Boc-Gln-OH, Boc-Leu-OH, Boc-Leu-OH, Boc-Lys(2ClZ)-OH, Boc-Arg(Tos)-OH, Boc-Ala-OH, Boc-Ser(Bzl)-OH, Boc-Leu-OH, Boc-Gln-OH, Boc-Cit-OH, Boc-Leu-OH, Boc-Val-OH, Boc-Lys(2ClZ)-OH, Boc-Arg(Tos)-OH, Boc-Tyr(2BrZ)-OH, Boc-Arg(Tos)-OH, Boc-Asn-OH, Boc-Thr(Bzl)-OH, Boc-Phe(pCl)-OH, Boc-Ile-OH, Boc-Ala-OH, Boc-Asp(OcHx)-OH, Boc-D-Arg(Tos)-OH, Boc-Tyr(2BrZ)-

5

OH, 随后用 PhAc-OH 进行酰化。

对于肽 91 的合成, 其化学结构是

[1-Nac-Tyr¹, D-Arg², Phe(pCl)⁶, Ala⁸, His⁹, Tyr(Et)¹⁰, His¹¹, Abu¹⁵, Nle²⁷, D-Arg²⁸, Har²⁹]hGH-RH(1-29)NH₂,

10 将如下的被保护氨基酸以显示的顺序偶联到 MBHA 树脂上: Boc-

Har(NO₂)-OH, Boc-D-Arg(Tos)-OH, Boc-Nle-OH, Boc-Ile-OH, Boc-Asp(OcHx)-OH, Boc-Gln-OH, Boc-Leu-OH, Boc-Leu-OH, Boc-Lys(2ClZ)-OH, Boc-Arg(Tos)-OH, Boc-Ala-OH, Boc-Ser(Bzl)-OH, Boc-Leu-OH, Boc-Gln-OH, Boc-Abu-OH, Boc-Leu-OH, Boc-Val-OH, Boc-Lys(2ClZ)-OH, Boc-His(Bom)-OH, Boc-Tyr(Et)-OH, Boc-His(Bom)-OH, Boc-Ala-OH, Boc-Thr(Bzl)-OH, Boc-Phe(pCl)-OH, Boc-Ile-OH, Boc-Ala-OH, Boc-Asp(OcHx)-OH, Boc-D-Arg(Tos)-OH, Boc-Tyr(2BrZ)-OH,

15

随后用 1-萘乙酸(1-Nac-OH)进行酰化。

20 肽 15, 肽 18, 肽 19, 肽 21, 肽 22, 肽 23, 肽 24, 肽 26, 肽 27, 肽 28, 肽 32, 肽 33, 肽 34, 肽 35, 肽 36, 肽 37, 肽 38, 肽 39, 肽 40, 肽 41, 肽 42, 肽 43, 肽 53, 肽 54, 肽 55, 肽 57, 肽 58, 肽 63, 肽 65, 肽 69, 肽 84, 肽 85, 肽 90, 和肽 91 的 HF 裂解和去保护, 以及通过半制备 HPLC 的随后纯化如肽 62 的情形所述进行。通过分析 HPLC 判断纯化的化合物是基本(>95%)纯的。通过电雾化质谱法检查它们的分子量并通过

25 氨基酸分析证实预期的氨基酸组成。

实施例 IV

30 PhAc-Tyr¹-D-Arg²-Asp³-Ala⁴-Ile⁵-Phe(pCl)⁶-Thr⁷-Asn⁸-Amp⁹-Tyr(Me)¹⁰-Arg¹¹-Lys¹²-Val¹³-Leu¹⁴-Abu¹⁵-Gln¹⁶-Leu¹⁷-Ser¹⁸-Ala¹⁹-Arg²⁰-Lys²¹-Leu²²-Leu²³-Gln²⁴-Asp²⁵-Ile²⁶-Nle²⁷-D-Arg²⁸-Har²⁹-NH₂

(肽 67)

{[PhAc-Tyr¹,D-Arg², Phe(pCl)⁶, Amp⁹, Tyr(Me)¹⁰, Abu¹⁵, Nle²⁷, D-Arg²⁸, Har²⁹]
hGH-RH (1-29)NH₂}

使用手动固相肽合成装置以逐步方式进行合成。简言之，用 5%的在
5 DCM 中的 DIEA 来中和对位-甲基二苯甲基胺(MBHA)树脂(Bachem, King
of Prussia, PA) (720 mg, 0.50mmol)，并按照表 I 中所述方法进行洗涤。在
手动固相肽合成装置中用中和的树脂和 DIC(235 μ L, 1.5mmol)来摇动
Boc-Har(NO₂)-OH (500 mg, 1.5mmol)在 DMF- DCM(1: 1)中的溶液 1 小时。
在通过阴性水合茚三酮试验证实偶联反应完成后，进行表 I 中所述的去保
10 保护和中和程序从而去除 Boc 保护基并制备肽-树脂以进行下一个氨基酸的
偶联。继续进行合成并通过将下面的被保护氨基酸以显示的顺序偶联到树
脂上从而获得所需的肽序列来逐步形成肽链。Boc-D-Arg(Tos)-OH,
Boc-Nle-OH, Boc-Ile-OH, Boc-Asp(OcHx)-OH, Boc-Gln-OH, Boc-Leu-OH,
Boc-Leu-OH, Boc-Lys(2ClZ))-OH, Boc-Arg(Tos)-OH, Boc-Ala-OH,
15 Boc-Ser(Bzl)-OH, Boc-Leu-OH, Boc-Gln-OH, Boc-Abu-OH, Boc-Leu-OH,
Boc-Val-OH, Boc-Lys(2ClZ)-OH, Boc-Arg(Tos)-OH, Boc-Tyr(Me)-OH,
Boc-Amp(Alloc)-OH, Boc-Asn-OH, Boc-Thr(Bzl)-OH, Boc-Phe(pCl)-OH,
Boc-Ile-OH, Boc-Ala-OH, Boc-Asp(OcHx)-OH, Boc-D-Arg (Tos) -OH,
Boc-Tyr(2BrZ)-OH。被保护的、非编码氨基酸 Boc-Amp(Alloc)-OH 可商购
20 自 RSP Amino Acid Analogue, Inc. (Worcester, MA)。用 DIC(235 μ L, 1.5mmol)
偶联被保护的氨基酸(每个 1.5mmol)，除了 Boc-Amp(Alloc)-OH、
Boc-Asn-OH 和 Boc-Gln-OH 是用 569mg
HBTU+203mgHOBt+522 μ LDIEA(1.5:1.5:3mmol)进行偶联的。从 Tyr¹ 去除
N^α-Boc 保护基后，使用 DIC(313 μ L, 2mmol)用苯乙酸(PhAc-OH)(272mg,
25 2mmol)对肽进行酰化。将仍旧附着所有的侧链保护基的得到的肽基树脂用
DCM 洗涤 3 次，用 MeOH 洗涤 3 次，并在高真空下干燥。

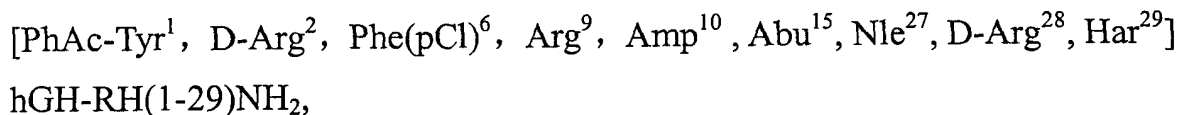
然后，通过使用 Novabiochem(San Diego, CA) Catalog 2002/2003 描述
的方法，使肽-树脂经历 Pd(0)-催化的 Alloc 保护基从肽链的 Amp⁹ 残基的
去除。将具有 0.033mmol 估计肽含量的 255mg 的肽基树脂部分称重放入
30 测试试管中，并将试管用橡胶隔膜密封。将测试试管用氩气(Ar)流冲洗，

所述氦气从插入通过隔膜的针传递。将 116mg Pd(PPh₃)₄(0.1mmol, 或 3 当量, 相对于肽基树脂上存在的 Alloc 基团)称重, 放入另一个干燥的测试试管中, 加入 4-5mL 的 CHCl₃-AcOH-N-甲基吗啉(37:2:1 vol:vol:vol), 通过将 Ar 气流鼓泡通过溶液而将催化剂溶解, 并将试管用橡胶隔膜封口。使用 Ar 冲洗的不透气的注射器将所述溶液转移到包含所述树脂的试管中, 将得到的混合物保持不变 2 小时, 其间偶而轻微搅拌。接下来, 将所述树脂转移到烧结的玻璃漏斗中并用 0.5% 的在 DMF 中的 DIEA(用于中和树脂)和在 DMF 中的铜锌灵(0.5% w/w)(用于去除催化剂)连续洗涤。用 MeOH 进行另一次洗涤后, 在肽的 HF 裂解之前将所述树脂再次进行干燥。

如实施例 I-III 所述, 通过 HF 处理获得肽从 MBHA 树脂的裂解, 其伴随剩余的保护基的去除。如在实施例 I-III 中所描述进行的, 随后的进展和 HPLC 纯化产生 11.6mg 的纯肽 67(通过分析 HPLC 的 >95% 的纯度)。通过电雾化质谱法检测分子量, 并通过氨基酸分析证实预期的氨基酸组成。

以与肽 67 相同的方式合成肽 30, 肽 31, 肽 64, 肽 68, 肽 73, 肽 74, 和肽 75, 除了这些肽还包含其它的取代。

对于肽 30 的合成, 其化学结构是

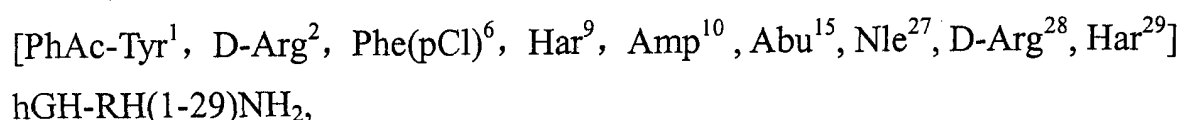


将如下的被保护氨基酸以显示的顺序偶联到 MBHA 树脂上: Boc-

Har(NO₂)-OH, Boc-D-Arg(Tos)-OH, Boc-Nle-OH, Boc-Ile-OH, Boc-Asp(Ochx)-OH, Boc-Gln-OH, Boc-Leu-OH, Boc-Leu-OH, Boc-Lys(2ClZ)-OH, Boc-Arg(Tos)-OH, Boc-Ala-OH, Boc-Ser(Bzl)-OH, Boc-Leu-OH, Boc-Gln-OH, Boc-Abu-OH, Boc-Leu-OH, Boc-Val-OH, Boc-Lys(2ClZ)-OH, Boc-Arg(Tos)-OH, Boc-Amp(Alloc)-OH, Boc-Arg(Tos)-OH, Boc-Asn-OH, Boc-Thr(Bzl)-OH, Boc-Phe(pCl)-OH, Boc-Ile-OH, Boc-Ala-OH, Boc-Asp(Ochx)-OH, Boc-D-Arg(Tos)-OH; Boc-Tyr(2BrZ)-

OH, 随后用 PhAc-OH 进行酰化。

对于肽 31 的合成, 其化学结构是



将如下的被保护氨基酸以显示的顺序偶联到 MBHA 树脂上: Boc-

Har(NO₂)-OH, Boc-D-Arg(Tos)-OH, Boc-Nle-OH, Boc-Ile-OH, Boc-Asp(OcHx)-OH, Boc-Gln-OH,
 Boc-Leu-OH, Boc-Leu-OH, Boc-Lys(2ClZ)-OH, Boc-Arg(Tos)-OH, Boc-Ala-OH, Boc-Ser(Bzl)-OH,
 Boc-Leu-OH, Boc-Gln-OH, Boc-Abu-OH, Boc-Leu-OH, Boc-Val-OH, Boc-Lys(2ClZ)-OH, Boc-
 Arg(Tos)-OH, Boc-Amp(Alloc)-OH, Boc-Har(NO₂)-OH, Boc-Asn-OH, Boc-Thr(Bzl)-OH, Boc-
 Phe(pCl)-OH, Boc-Ile-OH, Boc-Ala-OH, Boc-Asp(OcHx)-OH, Boc-D-Arg(Tos)-OH, Boc-Tyr(2BrZ)-

5

OH, 随后用 PhAc-OH 进行酰化。

对于肽 64 的合成, 其化学结构是

[PhAc-Tyr¹, D-Arg², Phe(pCl)⁶, Har⁹, Tyr(Me)¹⁰, Amp¹¹, Abu¹⁵, Nle²⁷,
 10 D-Arg²⁸, Har²⁹] hGH-RH(1-29)NH₂,

将如下的被保护氨基酸以显示的顺序偶联到 MBHA 树脂上: Boc-

Har(NO₂)-OH, Boc-D-Arg(Tos)-OH, Boc-Nle-OH, Boc-Ile-OH, Boc-Asp(OcHx)-OH, Boc-Gln-OH,
 Boc-Leu-OH, Boc-Leu-OH, Boc-Lys(2ClZ)-OH, Boc-Arg(Tos)-OH, Boc-Ala-OH, Boc-Ser(Bzl)-OH,
 Boc-Leu-OH, Boc-Gln-OH, Boc-Abu-OH, Boc-Leu-OH, Boc-Val-OH, Boc-Lys(2ClZ)-OH, Boc-
 15 Amp(Alloc)-OH, Boc-Tyr(Me)-OH, Boc-Har(NO₂)-OH, Boc-Asn-OH, Boc-Thr(Bzl)-OH, Boc-
 Phe(pCl)-OH, Boc-Ile-OH, Boc-Ala-OH, Boc-Asp(OcHx)-OH, Boc-D-Arg(Tos)-OH, Boc-Tyr(2BrZ)-

OH, 随后用 PhAc-OH 进行酰化。

对于肽 68 的合成, 其化学结构是

[PhAc-Tyr¹, D-Arg², Phe(pCl)⁶, Amp⁹, Abu¹⁵, Nle²⁷, D-Arg²⁸, Har²⁹]
 20 hGH-RH(1-29)NH₂,

将如下的被保护氨基酸以显示的顺序偶联到 MBHA 树脂上: Boc-

Har(NO₂)-OH, Boc-D-Arg(Tos)-OH, Boc-Nle-OH, Boc-Ile-OH, Boc-Asp(OcHx)-OH, Boc-Gln-OH,
 Boc-Leu-OH, Boc-Leu-OH, Boc-Lys(2ClZ)-OH, Boc-Arg(Tos)-OH, Boc-Ala-OH, Boc-Ser(Bzl)-OH,
 25 Boc-Leu-OH, Boc-Gln-OH, Boc-Abu-OH, Boc-Leu-OH, Boc-Val-OH, Boc-Lys(2ClZ)-OH, Boc-
 Arg(Tos)-OH, Boc-Tyr(2BrZ)-OH, Boc-Amp(Alloc)-OH, Boc-Asn-OH, Boc-Thr(Bzl)-OH, Boc-
 Phe(pCl)-OH, Boc-Ile-OH, Boc-Ala-OH, Boc-Asp(OcHx)-OH, Boc-D-Arg(Tos)-OH, Boc-Tyr(2BrZ)-

OH, 随后用 PhAc-OH 进行酰化。

30 对于肽 73 的合成, 其化学结构是

[PhAc-Tyr¹, D-Arg², Phe(pCl)⁶, Amp⁹, Tyr(Me)¹⁰, His¹¹, Abu¹⁵, Nle²⁷, D-Arg²⁸, Har²⁹] hGH-RH(1-29)NH₂,

将如下的被保护氨基酸以显示的顺序偶联到 MBHA 树脂上: Boc-

5 Har(NO₂)-OH, Boc-D-Arg(Tos)-OH, Boc-Nle-OH, Boc-Ile-OH, Boc-Asp(OcHx)-OH, Boc-Gln-OH, Boc-Leu-OH, Boc-Leu-OH, Boc-Lys(2ClZ)-OH, Boc-Arg(Tos)-OH, Boc-Ala-OH, Boc-Ser(Bzl)-OH, Boc-Leu-OH, Boc-Gln-OH, Boc-Abu-OH, Boc-Leu-OH, Boc-Val-OH, Boc-Lys(2ClZ)-OH, Boc-His(Bom)-OH, Boc-Tyr(Me)-OH, Boc-Amp(Alloc)-OH, Boc-Asn-OH, Boc-Thr(Bzl)-OH, Boc-Phe(pCl)-OH, Boc-Ile-OH, Boc-Ala-OH, Boc-Asp(OcHx)-OH, Boc-D-Arg(Tos)-OH, Boc-Tyr(2BrZ)-

10 OH, 随后用 PhAc-OH 进行酰化。

对于肽 74 的合成, 其化学结构是

[PhAc-Tyr¹, D-Arg², Phe(pCl)⁶, Cit⁸, Amp⁹, Tyr(Me)¹⁰, His¹¹, Abu¹⁵, Nle²⁷, D-Arg²⁸, Har²⁹] hGH-RH(1-29)NH₂,

将如下的被保护氨基酸以显示的顺序偶联到 MBHA 树脂上: Boc-

15 Har(NO₂)-OH, Boc-D-Arg(Tos)-OH, Boc-Nle-OH, Boc-Ile-OH, Boc-Asp(OcHx)-OH, Boc-Gln-OH, Boc-Leu-OH, Boc-Leu-OH, Boc-Lys(2ClZ)-OH, Boc-Arg(Tos)-OH, Boc-Ala-OH, Boc-Ser(Bzl)-OH, Boc-Leu-OH, Boc-Gln-OH, Boc-Abu-OH, Boc-Leu-OH, Boc-Val-OH, Boc-Lys(2ClZ)-OH, Boc-His(Bom)-OH, Boc-Tyr(Me)-OH, Boc-Amp(Alloc)-OH, Boc-Cit-OH, Boc-Thr(Bzl)-OH, Boc-Phe(pCl)-OH, Boc-Ile-OH, Boc-Ala-OH, Boc-Asp(OcHx)-OH, Boc-D-Arg(Tos)-OH, Boc-Tyr(2BrZ)-

20 OH, 随后用 PhAc-OH 进行酰化。

对于肽 75 的合成, 其化学结构是

[1-Nac-Tyr¹, D-Arg², Phe(pCl)⁶, Cit⁸, Amp⁹, Tyr(Me)¹⁰, His¹¹, Abu¹⁵, Nle²⁷, D-Arg²⁸, Har²⁹] hGH-RH(1-29)NH₂,

将如下的被保护氨基酸以显示的顺序偶联到 MBHA 树脂上: Boc-

25 Har(NO₂)-OH, Boc-D-Arg(Tos)-OH, Boc-Nle-OH, Boc-Ile-OH, Boc-Asp(OcHx)-OH, Boc-Gln-OH, Boc-Leu-OH, Boc-Leu-OH, Boc-Lys(2ClZ)-OH, Boc-Arg(Tos)-OH, Boc-Ala-OH, Boc-Ser(Bzl)-OH, Boc-Leu-OH, Boc-Gln-OH, Boc-Abu-OH, Boc-Leu-OH, Boc-Val-OH, Boc-Lys(2ClZ)-OH, Boc-His(Bom)-OH, Boc-Tyr(Me)-OH, Boc-Amp(Alloc)-OH, Boc-Cit-OH, Boc-Thr(Bzl)-OH, Boc-Phe(pCl)-OH, Boc-Ile-OH, Boc-Ala-OH, Boc-Asp(OcHx)-OH, Boc-D-Arg(Tos)-OH, Boc-Tyr(2BrZ)-

30

OH, 随后用 1-萘乙酸(1-Nac-OH)进行酰化。

肽 30, 肽 31, 肽 64, 肽 68, 肽 73, 肽 74, 和肽 75 的去保护, 从树脂上裂解, 以及通过半制备 HPLC 的随后纯化如肽 67 的情形所述进行。通过分析 HPLC 判断纯化的化合物是基本 (> 95%) 纯的。通过电雾化质谱法检测它们的分子量并通过氨基酸分析证实预期的氨基酸组成。

实施例 V

PhAc-Tyr¹-D-Arg²-Asp³-Ala⁴-Ile⁵-Phe(pCl)⁶-Thr⁷-Asn⁸-Har⁹-Tyr(Me)¹⁰-Arg¹¹-
 10 Lys¹²-Val¹³-Leu¹⁴-Abu¹⁵-Gln¹⁶-Leu¹⁷-Ser¹⁸-Ala¹⁹-Arg²⁰-Lys²¹-Leu²²-Leu²³-Gln²⁴
 -Asp²⁵-Ile²⁶-Nle²⁷-D-Arg²⁸-Har²⁹-NHet

(肽 46)

{[PhAc-Tyr¹, D-Arg², Phe(pCl)⁶, Har⁹, Tyr(Me)¹⁰, Abu¹⁵, Nle²⁷, D-Arg²⁸, Har²⁹]
 hGH-RH (1-29) NHet}

15 使用手动固相肽合成装置以逐步方式进行合成。简言之, 将 Merrifield 树脂(Bachem, King of Prussia, PA)(3.0g, 具有 0.6 mmol/g 的取代)在 DCM 中进行预溶胀, 用 DMF 洗涤 3 次, 然后加入 2390 mg Boc-Har(Tos)-OH (5.4mmol, 对应于 3x 摩尔过量) 在 20-30 mL DMF 中的溶液 和 314 mg 固体 KF (5.4 mmol, 3x 摩尔过量), 从而将第一个氨基酸填充到树脂上。于
 20 80°C 用上述混合物摇动所述树脂达 4 小时, 接着过滤所述树脂并用如下将其进行洗涤: 3x DMF, 3x DMF-水(1: 1) (以去除 KF), 3x DMF, 3x DCM, 和 3x MeOH。将树脂在真空中干燥 24 小时从而达到恒重。具有填充的第一个氨基酸的干燥树脂[Boc-Har(Tos)-Merrifield 树脂]的重量超过 3.5g, 说明填充的产率多于 70%。

25 将 1.5 g 的 Boc-Har(Tos)-Merrifield 树脂(约 0.5mmol)在 DCM 中进行预溶胀, 并在用 50% 的在 DCM 中的 TFA 去保护和用 5% 的在 DCM 中的 DIEA 中和后, 通过将如下的被保护的氨基酸以显示的顺序偶联到树脂上从而获得所需的肽序列来逐步形成肽链: Boc-D-Arg(Tos)-OH, Boc-Nle-OH, Boc-Ile-OH, Boc-Asp(OcHx)-OH, Boc-Gln-OH, Boc-Leu-OH, Boc-Leu
 30 -OH, Boc-Lys(2ClZ)-OH, Boc-Arg(Tos)-OH, Boc-Ala-OH, Boc-Ser

(Bzl)-OH, Boc-Leu-OH, Boc-Gln-OH, Boc-Abu-OH, Boc-Leu-OH, Boc-Val-OH, Boc-Lys(2ClZ)-OH, Boc-Arg(Tos)-OH, Boc-Tyr(Me)-OH, Boc-Har(Tos)-OH, Boc-Asn-OH, Boc-Thr(Bzl)-OH, Boc-Phe(pCl)-OH, Boc-Ile-OH, Boc-Ala-OH, Boc-Asp(OcHx)-OH, Boc-D-Arg(Tos)-OH, Boc-Tyr(2BrZ)-OH。在此合成中, 使用 Boc-Har(Tos)-OH 取代 Boc-Har(NO₂)-OH, 因为已知硝基保护的胍基基团被碱诸如使用在该合成中的乙胺攻击并且关于 Boc-Har(NO₂)-OH, 可发生 Har 到 Lys 的部分分解。用 DIC(235 μL, 1.5mmol)对被保护的氨基酸(每个 1.5 mmol)进行偶联, 除了 Boc-Asn-OH 和 Boc-Gln-OH, 它们是用预形成的 HOBt 酯进行偶联的。在将 N^α-Boc 保护基从 Tyr¹ 去除后, 使用 DIC(313 μL, 2mmol)用苯乙酸(PhAc-OH) (272 mg, 2mmol)对所述肽进行酰化, 将其用 DCM 和 MeOH 进行洗涤, 并进行干燥。

为了通过乙胺(EtNH₂)介导的氨解将被保护的肽从树脂上裂解下来, 并获得在其 C-端具有乙酰胺修饰(-NH₂Et)的肽, 将 250mg 的干燥肽树脂部分加入由厚壁玻璃制成的圆底烧瓶中, 将烧瓶置于在良好通风的通风橱中的无水冰甲醇冷却浴中, 并将液体 EtNH₂(b.p.=16.6°C, 来自 Aldrich, 在金属圆筒中传递)以足够覆盖肽树脂的量转移到烧瓶中。将所述烧瓶塞住, 加温到室温(注意: 在里面形成的压力), 并摇动 3 小时 30 分钟从而使反应发生。在该阶段后, 将烧瓶再次置于冷浴中, 打开, 并将液体 EtNH₂ 过滤除去, 余下固体残余物, 其包含树脂和裂解的肽的混合物, 所述肽仍旧具有附着的保护基。在该程序后, 使固体残余物经过真空过夜以去除任何残余的 EtNH₂ 和吸附的湿气。

将包含裂解的、被保护的肽的干燥残余物置于 HF 处理装置中并在作为清除剂的 0.5mL 的 m-甲酚存在时, 通过用 5mL 的 HF 在 0°C 达 2 小时来进行保护基的 HF 裂解。在氮气流下和真空中蒸发 HF 后, 用无水二乙醚和乙酸乙酯洗涤所述残余物。将裂解的和去保护的肽溶解在 50%乙酸中并通过过滤分离树脂。用水稀释和冷冻干燥后, 典型地获得 90-110mg 的粗制产物。

通过半制备 HPLC 来纯化所述肽并如实施例 I-III 所述通过分析 HPLC 来检测洗脱的级分。将具有超过 95%纯度的级分进行合并并将其进行冷冻

干燥从而获得 5-10mg 的纯肽 46。通过电雾化质谱法来检测分子量，并通过氨基酸分析证实预期的氨基酸组成。

5 以与肽 46 相同的方式来合成肽 45，肽 47，肽 48，肽 49，肽 50，肽 56，肽 97，肽 98，肽 99，肽 100，肽 101，肽 106，肽 110，肽 113，肽 114，肽 115，肽 118，肽 119，肽 120，和肽 121，除了这些肽还包含其它的取代。

对于肽 45 的合成，其化学结构是
 [Hca-Tyr¹, D-Arg², Phe(pCl)⁶, Har⁹, Tyr(Me)¹⁰, Abu¹⁵, Nle²⁷, D-Arg²⁸, Har²⁹];
 hGH-RH(1-29)NH₂,

10 将如下的被保护氨基酸以显示的顺序偶联到 Merrifield 树脂上: Boc-

Har(Tos)-OH, Boc-D-Arg(Tos)-OH, Boc-Nle-OH, Boc-Ile-OH, Boc-Asp(OcHx)-OH, Boc-Gln-OH,
 Boc-Leu-OH, Boc-Leu-OH, Boc-Lys(2ClZ)-OH, Boc-Arg(Tos)-OH, Boc-Ala-OH, Boc-Ser(Bzl)-OH,
 Boc-Leu-OH, Boc-Gln-OH, Boc-Abu-OH, Boc-Leu-OH, Boc-Val-OH, Boc-Lys(2ClZ)-OH, Boc-
 Arg(Tos)-OH, Boc-Tyr(Me)-OH, Boc-Har(Tos)-OH, Boc-Asn-OH, Boc-Thr(Bzl)-OH, Boc-Phe(pCl)-
 OH, Boc-Ile-OH, Boc-Ala-OH, Boc-Asp(OcHx)-OH, Boc-D-Arg(Tos)-OH, Boc-Tyr(2BrZ)-OH,

15

随后用 Hca-OH 进行酰化。

对于肽 47 的合成，其化学结构是
 20 [Hca-Tyr¹, D-Arg², Phe(pCl)⁶, Arg⁹, Abu¹⁵, Nle²⁷, D-Arg²⁸, Har²⁹];
 hGH-RH(1-29)NH₂,

将如下的被保护氨基酸以显示的顺序偶联到 Merrifield 树脂上: Boc-

25 Har(Tos)-OH, Boc-D-Arg(Tos)-OH, Boc-Nle-OH, Boc-Ile-OH, Boc-Asp(OcHx)-OH, Boc-Gln-OH,
 Boc-Leu-OH, Boc-Leu-OH, Boc-Lys(2ClZ)-OH, Boc-Arg(Tos)-OH, Boc-Ala-OH, Boc-Ser(Bzl)-OH,
 Boc-Leu-OH, Boc-Gln-OH, Boc-Abu-OH, Boc-Leu-OH, Boc-Val-OH, Boc-Lys(2ClZ)-OH, Boc-
 Arg(Tos)-OH, Boc-Tyr(2BrZ)-OH, Boc-Arg(Tos)-OH, Boc-Asn-OH, Boc-Thr(Bzl)-OH, Boc-
 Phe(pCl)-OH, Boc-Ile-OH, Boc-Ala-OH, Boc-Asp(OcHx)-OH, Boc-D-Arg(Tos)-OH, Boc-Tyr(2BrZ)-

30 OH, 随后用 Hca-OH 进行酰化。

对于肽 48 的合成, 其化学结构是

[PhAc-Tyr¹, D-Arg², Phe(pCl)⁶, Arg⁹, Abu¹⁵, Nle²⁷, D-Arg²⁸, Har²⁹];
hGH-RH(1-29)NH₂,

将如下的被保护氨基酸以显示的顺序偶联到 Merrifield 树脂上: Boc-

5

Har(Tos)-OH, Boc-D-Arg(Tos)-OH, Boc-Nle-OH, Boc-Ile-OH, Boc-Asp(OcHx)-OH, Boc-Gln-OH,
Boc-Leu-OH, Boc-Leu-OH, Boc-Lys(2ClZ)-OH, Boc-Arg(Tos)-OH, Boc-Ala-OH, Boc-Ser(Bzl)-OH,
Boc-Leu-OH, Boc-Gln-OH, Boc-Abu-OH, Boc-Leu-OH, Boc-Val-OH, Boc-Lys(2ClZ)-OH, Boc-
Arg(Tos)-OH, Boc-Tyr(2BrZ)-OH, Boc-Arg(Tos)-OH, Boc-Asn-OH, Boc-Thr(Bzl)-OH, Boc-
Phe(pCl)-OH, Boc-Ile-OH, Boc-Ala-OH, Boc-Asp(OcHx)-OH, Boc-D-Arg(Tos)-OH, Boc-Tyr(2BrZ)-

10

OH, 随后用 PhAc-OH 进行酰化。

对于肽 49 的合成, 其化学结构是

[PhAc-Tyr¹, D-Arg², Phe(pCl)⁶, Har⁹, Tyr(Me)¹⁰, Aib¹⁵, Nle²⁷, D-Arg²⁸, Har²⁹];

15 hGH-RH(1-29)NH₂,

将如下的被保护氨基酸以显示的顺序偶联到 Merrifield 树脂上: Boc-

20

Har(Tos)-OH, Boc-D-Arg(Tos)-OH, Boc-Nle-OH, Boc-Ile-OH, Boc-Asp(OcHx)-OH, Boc-Gln-OH,
Boc-Leu-OH, Boc-Leu-OH, Boc-Lys(2ClZ)-OH, Boc-Arg(Tos)-OH, Boc-Ala-OH, Boc-Ser(Bzl)-OH,
Boc-Leu-OH, Boc-Gln-OH, Boc-Aib-OH, Boc-Leu-OH, Boc-Val-OH, Boc-Lys(2ClZ)-OH, Boc-
Arg(Tos)-OH, Boc-Tyr(Me)-OH, Boc-Har(Tos)-OH, Boc-Asn-OH, Boc-Thr(Bzl)-OH, Boc-Phe(pCl)-
OH, Boc-Ile-OH, Boc-Ala-OH, Boc-Asp(OcHx)-OH, Boc-D-Arg(Tos)-OH, Boc-Tyr(2BrZ)-OH,

随后用 PhAc-OH 进行酰化。

25 对于肽 50 的合成, 其化学结构是

[PhAc-Tyr¹, D-Arg², Phe(pCl)⁶, Har⁹, Tyr(Me)¹⁰, Orn¹², Abu¹⁵, Nle²⁷, D-Arg²⁸,
Har²⁹]hGH-RH(1-29)NH₂,

将如下的被保护氨基酸以显示的顺序偶联到 Merrifield 树脂上: Boc-

30

Har(Tos)-OH, Boc-D-Arg(Tos)-OH, Boc-Nle-OH, Boc-Ile-OH, Boc-Asp(OcHx)-OH, Boc-Gln-OH,
 Boc-Leu-OH, Boc-Leu-OH, Boc-Lys(2ClZ)-OH, Boc-Arg(Tos)-OH, Boc-Ala-OH, Boc-Ser(Bzl)-OH,
 Boc-Leu-OH, Boc-Gln-OH, Boc-Abu-OH, Boc-Leu-OH, Boc-Val-OH, Boc-Orn(2ClZ)-OH, Boc-
 Arg(Tos)-OH, Boc-Tyr(Me)-OH, Boc-Har(Tos)-OH, Boc-Asn-OH, Boc-Thr(Bzl)-OH, Boc-Phe(pCl)-
 OH, Boc-Ile-OH, Boc-Ala-OH, Boc-Asp(OcHx)-OH, Boc-D-Arg(Tos)-OH, Boc-Tyr(2BrZ)-OH,

5

随后用 PhAc-OH 进行酰化。

对于肽 56 的合成, 其化学结构是

[Hca-Tyr¹, D-Arg², Phe(pCl)⁶, Har⁹, Tyr(Me)¹⁰, Abu¹⁵, Nle²⁷, D-Arg²⁸, Har²⁹,
 Har³⁰]hGH-RH(1-30)NHEt,

10 将如下的被保护氨基酸以显示的顺序偶联到 Merrifield 树脂上: Boc-

Har(Tos)-OH, Boc-Har(Tos)-OH, Boc-D-Arg(Tos)-OH, Boc-Nle-OH, Boc-Ile-OH, Boc-Asp(OcHx)-
 OH, Boc-Gln-OH, Boc-Leu-OH, Boc-Leu-OH, Boc-Lys(2ClZ)-OH, Boc-Arg(Tos)-OH, Boc-Ala-OH,
 Boc-Ser(Bzl)-OH, Boc-Leu-OH, Boc-Gln-OH, Boc-Abu-OH, Boc-Leu-OH, Boc-Val-OH, Boc-
 Lys(2ClZ)-OH, Boc-Arg(Tos)-OH, Boc-Tyr(Me)-OH, Boc-Har(Tos)-OH, Boc-Asn-OH, Boc-Thr(Bzl)-
 OH, Boc-Phe(pCl)-OH, Boc-Ile-OH, Boc-Ala-OH, Boc-Asp(OcHx)-OH, Boc-D-Arg(Tos)-OH, Boc-

15

Tyr(2BrZ)-OH, 随后用 Hca-OH 进行酰化。

对于肽 97 的合成, 其化学结构是

20 [CH₃(CH₂)₆CO-Tyr¹, D-Arg², Phe(pCl)⁶, Ala⁸, His⁹, Tyr(Et)¹⁰, His¹¹, Abu¹⁵,
 Nle²⁷, D-Arg²⁸, Har²⁹]hGH-RH(1-29)NHEt,

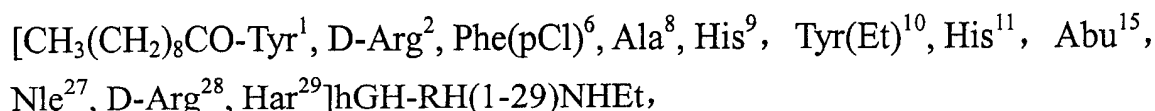
将如下的被保护氨基酸以显示的顺序偶联到 Merrifield 树脂上: Boc-

Har(Tos)-OH, Boc-D-Arg(Tos)-OH, Boc-Nle-OH, Boc-Ile-OH, Boc-Asp(OcHx)-OH, Boc-Gln-OH,
 Boc-Leu-OH, Boc-Leu-OH, Boc-Lys(2ClZ)-OH, Boc-Arg(Tos)-OH, Boc-Ala-OH, Boc-Ser(Bzl)-OH,
 Boc-Leu-OH, Boc-Gln-OH, Boc-Abu-OH, Boc-Leu-OH, Boc-Val-OH, Boc-Lys(2ClZ)-OH, Boc-
 His(Bom)-OH, Boc-Tyr(Et)-OH, Boc-His(Bom)-OH, Boc-Ala-OH, Boc-Thr(Bzl)-OH, Boc-Phe(pCl)-
 OH, Boc-Ile-OH, Boc-Ala-OH, Boc-Asp(OcHx)-OH, Boc-D-Arg(Tos)-OH, Boc-Tyr(2BrZ)-OH,

25

30 随后用 CH₃(CH₂)₆COOH 进行酰化。

对于肽 98 的合成, 其化学结构是



将如下的被保护氨基酸以显示的顺序偶联到 Merrifield 树脂上: Boc-

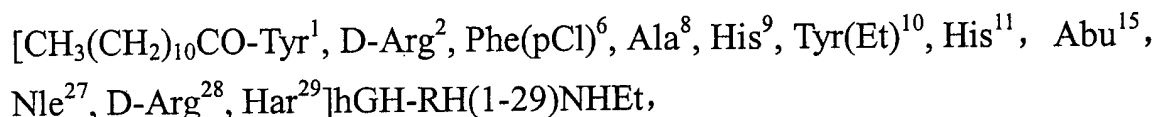
5

Har(Tos)-OH, Boc-D-Arg(Tos)-OH, Boc-Nle-OH, Boc-Ile-OH, Boc-Asp(OcHx)-OH, Boc-Gln-OH, Boc-Leu-OH, Boc-Leu-OH, Boc-Lys(2ClZ)-OH, Boc-Arg(Tos)-OH, Boc-Ala-OH, Boc-Ser(Bzl)-OH, Boc-Leu-OH, Boc-Gln-OH, Boc-Abu-OH, Boc-Leu-OH, Boc-Val-OH, Boc-Lys(2ClZ)-OH, Boc-His(Bom)-OH, Boc-Tyr(Et)-OH, Boc-His(Bom)-OH, Boc-Ala-OH, Boc-Thr(Bzl)-OH, Boc-Phe(pCl)-OH, Boc-Ile-OH, Boc-Ala-OH, Boc-Asp(OcHx)-OH, Boc-D-Arg(Tos)-OH, Boc-Tyr(2BrZ)-OH,

10

随后用 $\text{CH}_3(\text{CH}_2)_8\text{COOH}$ 进行酰化。

对于肽 99 的合成, 其化学结构是



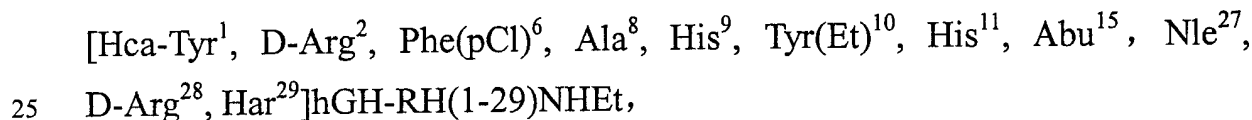
15 将如下的被保护氨基酸以显示的顺序偶联到 Merrifield 树脂上: Boc-

Har(Tos)-OH, Boc-D-Arg(Tos)-OH, Boc-Nle-OH, Boc-Ile-OH, Boc-Asp(OcHx)-OH, Boc-Gln-OH, Boc-Leu-OH, Boc-Leu-OH, Boc-Lys(2ClZ)-OH, Boc-Arg(Tos)-OH, Boc-Ala-OH, Boc-Ser(Bzl)-OH, Boc-Leu-OH, Boc-Gln-OH, Boc-Abu-OH, Boc-Leu-OH, Boc-Val-OH, Boc-Lys(2ClZ)-OH, Boc-His(Bom)-OH, Boc-Tyr(Et)-OH, Boc-His(Bom)-OH, Boc-Ala-OH, Boc-Thr(Bzl)-OH, Boc-Phe(pCl)-OH, Boc-Ile-OH, Boc-Ala-OH, Boc-Asp(OcHx)-OH, Boc-D-Arg(Tos)-OH, Boc-Tyr(2BrZ)-OH,

20

随后用 $\text{CH}_3(\text{CH}_2)_{10}\text{COOH}$ 进行酰化。

对于肽 100 的合成, 其化学结构是



25

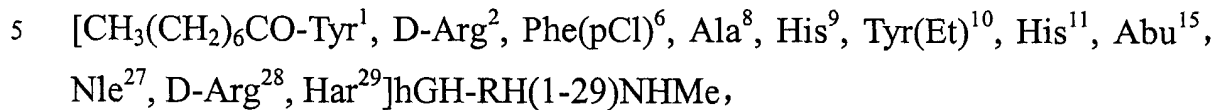
将如下的被保护氨基酸以显示的顺序偶联到 Merrifield 树脂上: Boc-

Har(Tos)-OH, Boc-D-Arg(Tos)-OH, Boc-Nle-OH, Boc-Ile-OH, Boc-Asp(OcHx)-OH, Boc-Gln-OH, Boc-Leu-OH, Boc-Leu-OH, Boc-Lys(2ClZ)-OH, Boc-Arg(Tos)-OH, Boc-Ala-OH, Boc-Ser(Bzl)-OH, Boc-Leu-OH, Boc-Gln-OH, Boc-Abu-OH, Boc-Leu-OH, Boc-Val-OH, Boc-Lys(2ClZ)-OH, Boc-His(Bom)-OH, Boc-Tyr(Et)-OH, Boc-His(Bom)-OH, Boc-Ala-OH, Boc-Thr(Bzl)-OH, Boc-Phe(pCl)-OH, Boc-Ile-OH, Boc-Ala-OH, Boc-Asp(OcHx)-OH, Boc-D-Arg(Tos)-OH, Boc-Tyr(2BrZ)-OH,

30

随后用 Hca-OH 进行酰化。

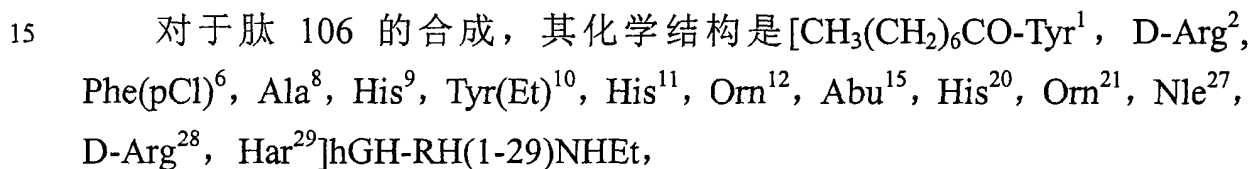
对于肽 101 的合成, 其化学结构是



将如下的被保护氨基酸以显示的顺序偶联到 Merrifield 树脂上: Boc-

10 Har(Tos)-OH, Boc-D-Arg(Tos)-OH, Boc-Nle-OH, Boc-Ile-OH, Boc-Asp(OcHx)-OH, Boc-Gln-OH,
Boc-Leu-OH, Boc-Leu-OH, Boc-Lys(2ClZ)-OH, Boc-Arg(Tos)-OH, Boc-Ala-OH, Boc-Ser(Bzl)-OH,
Boc-Leu-OH, Boc-Gln-OH, Boc-Abu-OH, Boc-Leu-OH, Boc-Val-OH, Boc-Lys(2ClZ)-OH, Boc-
His(Bom)-OH, Boc-Tyr(Et)-OH, Boc-His(Bom)-OH, Boc-Ala-OH, Boc-Thr(Bzl)-OH, Boc-Phe(pCl)-
OH, Boc-Ile-OH, Boc-Ala-OH, Boc-Asp(OcHx)-OH, Boc-D-Arg(Tos)-OH, Boc-Tyr(2BrZ)-OH,

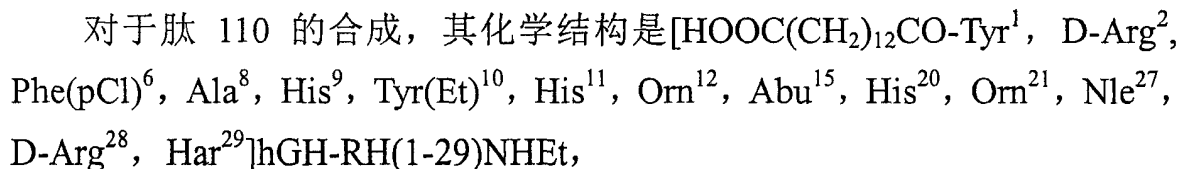
随后用 CH₃(CH₂)₆COOH 进行酰化。



将如下的被保护氨基酸以显示的顺序偶联到 Merrifield 树脂上: Boc-

20 Har(Tos)-OH, Boc-D-Arg(Tos)-OH, Boc-Nle-OH, Boc-Ile-OH, Boc-Asp(OcHx)-OH, Boc-Gln-OH,
Boc-Leu-OH, Boc-Leu-OH, Boc-Orn(2ClZ)-OH, Boc-His(Bom)-OH, Boc-Ala-OH, Boc-Ser(Bzl)-OH,
Boc-Leu-OH, Boc-Gln-OH, Boc-Abu-OH, Boc-Leu-OH, Boc-Val-OH, Boc-Orn(2ClZ)-OH, Boc-
His(Bom)-OH, Boc-Tyr(Et)-OH, Boc-His(Bom)-OH, Boc-Ala-OH, Boc-Thr(Bzl)-OH, Boc-Phe(pCl)-
OH, Boc-Ile-OH, Boc-Ala-OH, Boc-Asp(OcHx)-OH, Boc-D-Arg(Tos)-OH, Boc-Tyr(2BrZ)-OH,

25 随后用 CH₃(CH₂)₆COOH 进行酰化。



将如下的被保护氨基酸以显示的顺序偶联到 Merrifield 树脂上: Boc-

30

Har(Tos)-OH, Boc-D-Arg(Tos)-OH, Boc-Nle-OH, Boc-Ile-OH, Boc-Asp(OcHx)-OH, Boc-Gln-OH,
 Boc-Leu-OH, Boc-Leu-OH, Boc-Orn(2ClZ)-OH, Boc-His(Bom)-OH, Boc-Ala-OH, Boc-Ser(Bzl)-OH,
 Boc-Leu-OH, Boc-Gln-OH, Boc-Abu-OH, Boc-Leu-OH, Boc-Val-OH, Boc-Orn(2ClZ)-OH, Boc-
 His(Bom)-OH, Boc-Tyr(Et)-OH, Boc-His(Bom)-OH, Boc-Ala-OH, Boc-Thr(Bzl)-OH, Boc-Phe(pCl)-
 OH, Boc-Ile-OH, Boc-Ala-OH, Boc-Asp(OcHx)-OH, Boc-D-Arg(Tos)-OH, Boc-Tyr(2BrZ)-OH,

5

随后用 $\text{HOOC}(\text{CH}_2)_{12}\text{COOH}$ 进行酰化。

对于肽 113 的合成, 其化学结构是 $[\text{CH}_3(\text{CH}_2)_6\text{CO-Tyr}^1, \text{D-Arg}^2,$
 $\text{Phe}(\text{pCl})^6, \text{Ala}^8, \text{Amp}^9, \text{Tyr}(\text{Et})^{10}, \text{His}^{11}, \text{Orn}^{12}, \text{Abu}^{15}, \text{His}^{20}, \text{Orn}^{21},$
 $\text{Nle}^{27}, \text{D-Arg}^{28}, \text{Har}^{29}]_{\text{hGH-RH}(1-29)\text{NH}_2\text{Et},$

10 将如下的被保护氨基酸以显示的顺序偶联到 Merrifield 树脂上: Boc-

Har(Tos)-OH, Boc-D-Arg(Tos)-OH, Boc-Nle-OH, Boc-Ile-OH, Boc-Asp(OcHx)-OH, Boc-Gln-OH,
 Boc-Leu-OH, Boc-Leu-OH, Boc-Orn(2ClZ)-OH, Boc-His(Bom)-OH, Boc-Ala-OH, Boc-Ser(Bzl)-OH,
 Boc-Leu-OH, Boc-Gln-OH, Boc-Abu-OH, Boc-Leu-OH, Boc-Val-OH, Boc-Orn(2ClZ)-OH, Boc-
 His(Bom)-OH, Boc-Tyr(Et)-OH, Boc-Amp-OH, Boc-Ala-OH, Boc-Thr(Bzl)-OH, Boc-Phe(pCl)-OH,
 Boc-Ile-OH, Boc-Ala-OH, Boc-Asp(OcHx)-OH, Boc-D-Arg(Tos)-OH, Boc-Tyr(2BrZ)-OH,

15

随后用 $\text{CH}_3(\text{CH}_2)_6\text{COOH}$ 进行酰化。

对于肽 114 的合成, 其化学结构是 $[\text{CH}_3(\text{CH}_2)_6\text{CO-Tyr}^1, \text{D-Arg}^2,$
 $\text{Phe}(\text{pCl})^6, \text{Ala}^8, \text{His}^9, \text{Dip}^{10}, \text{His}^{11}, \text{Orn}^{12}, \text{Abu}^{15}, \text{His}^{20}, \text{Orn}^{21}, \text{Nle}^{27},$
 $\text{D-Arg}^{28}, \text{Har}^{29}]_{\text{hGH-RH}(1-29)\text{NH}_2\text{Et},$

20

将如下的被保护氨基酸以显示的顺序偶联到 Merrifield 树脂上: Boc-

Har(Tos)-OH, Boc-D-Arg(Tos)-OH, Boc-Nle-OH, Boc-Ile-OH, Boc-Asp(OcHx)-OH, Boc-Gln-OH,
 Boc-Leu-OH, Boc-Leu-OH, Boc-Orn(2ClZ)-OH, Boc-His(Bom)-OH, Boc-Ala-OH, Boc-Ser(Bzl)-OH,
 Boc-Leu-OH, Boc-Gln-OH, Boc-Abu-OH, Boc-Leu-OH, Boc-Val-OH, Boc-Orn(2ClZ)-OH, Boc-
 His(Bom)-OH, Boc-Dip-OH, Boc-His(Bom)-OH, Boc-Ala-OH, Boc-Thr(Bzl)-OH, Boc-Phe(pCl)-OH,
 Boc-Ile-OH, Boc-Ala-OH, Boc-Asp(OcHx)-OH, Boc-D-Arg(Tos)-OH, Boc-Tyr(2BrZ)-OH,

25

随后用 $\text{CH}_3(\text{CH}_2)_6\text{COOH}$ 进行酰化。

对于肽 115 的合成, 其化学结构是 $[\text{CH}_3(\text{CH}_2)_6\text{CO-Tyr}^1, \text{D-Arg}^2,$
 $\text{Phe}(\text{pCl})^6, \text{Ala}^8, \text{His}^9, \text{Phe}(\text{pNO}_2)^{10}, \text{His}^{11}, \text{Orn}^{12}, \text{Abu}^{15}, \text{His}^{20}, \text{Orn}^{21},$

30

Nle²⁷, D-Arg²⁸, Har²⁹]hGH-RH(1-29)NH₂Et,

将如下的被保护氨基酸以显示的顺序偶联到 Merrifield 树脂上: Boc-

Har(Tos)-OH, Boc-D-Arg(Tos)-OH, Boc-Nle-OH, Boc-Ile-OH, Boc-Asp(OcHx)-OH, Boc-Gln-OH,
Boc-Leu-OH, Boc-Leu-OH, Boc-Orn(2ClZ)-OH, Boc-His(Bom)-OH, Boc-Ala-OH, Boc-Ser(Bzl)-OH,

5 Boc-Leu-OH, Boc-Gln-OH, Boc-Abu-OH, Boc-Leu-OH, Boc-Val-OH, Boc-Orn(2ClZ)-OH, Boc-
His(Bom)-OH, Boc-Phe(pNO₂)-OH, Boc-His(Bom)-OH, Boc-Ala-OH, Boc-Thr(Bzl)-OH, Boc-
Phe(pCl)-OH, Boc-Ile-OH, Boc-Ala-OH, Boc-Asp(OcHx)-OH, Boc-D-Arg(Tos)-OH, Boc-Tyr(2BrZ)-

OH, 随后用 CH₃(CH₂)₆COOH 进行酰化。

10 对于肽 118 的合成, 其化学结构是 [CH₃(CH₂)₆CO-Tyr¹, D-Arg²,
Phe(pCl)⁶, Ala⁸, Amp⁹, Dip¹⁰, His¹¹, Orn¹², Abu¹⁵, His²⁰, Orn²¹, Nle²⁷,
D-Arg²⁸, Har²⁹]hGH-RH(1-29)NH₂Et,

将如下的被保护氨基酸以显示的顺序偶联到 Merrifield 树脂上: Boc-

15 Har(Tos)-OH, Boc-D-Arg(Tos)-OH, Boc-Nle-OH, Boc-Ile-OH, Boc-Asp(OcHx)-OH, Boc-Gln-OH,
Boc-Leu-OH, Boc-Leu-OH, Boc-Orn(2ClZ)-OH, Boc-His(Bom)-OH, Boc-Ala-OH, Boc-Ser(Bzl)-OH,
Boc-Leu-OH, Boc-Gln-OH, Boc-Abu-OH, Boc-Leu-OH, Boc-Val-OH, Boc-Orn(2ClZ)-OH, Boc-
His(Bom)-OH, Boc-Dip-OH, Boc-Amp-OH, Boc-Ala-OH, Boc-Thr(Bzl)-OH, Boc-Phe(pCl)-OH, Boc-
Ile-OH, Boc-Ala-OH, Boc-Asp(OcHx)-OH, Boc-D-Arg(Tos)-OH, Boc-Tyr(2BrZ)-OH,

20 随后用 CH₃(CH₂)₆COOH 进行酰化。

对于肽 119 的合成, 其化学结构是 [CH₃(CH₂)₆CO-Tyr¹, D-Arg²,
Phe(pCl)⁶, Ala⁸, Amp⁹, Phe(pNO₂)¹⁰, His¹¹, Orn¹², Abu¹⁵, His²⁰, Orn²¹,
Nle²⁷, D-Arg²⁸, Har²⁹]hGH-RH(1-29)NH₂Et,

将如下的被保护氨基酸以显示的顺序偶联到 Merrifield 树脂上: Boc-

25 Har(Tos)-OH, Boc-D-Arg(Tos)-OH, Boc-Nle-OH, Boc-Ile-OH, Boc-Asp(OcHx)-OH, Boc-Gln-OH,
Boc-Leu-OH, Boc-Leu-OH, Boc-Orn(2ClZ)-OH, Boc-His(Bom)-OH, Boc-Ala-OH, Boc-Ser(Bzl)-OH,
Boc-Leu-OH, Boc-Gln-OH, Boc-Abu-OH, Boc-Leu-OH, Boc-Val-OH, Boc-Orn(2ClZ)-OH, Boc-
His(Bom)-OH, Boc-Phe(pNO₂)-OH, Boc-Amp-OH, Boc-Ala-OH, Boc-Thr(Bzl)-OH, Boc-Phe(pCl)-
OH, Boc-Ile-OH, Boc-Ala-OH, Boc-Asp(OcHx)-OH, Boc-D-Arg(Tos)-OH, Boc-Tyr(2BrZ)-OH,

30

随后用 $\text{CH}_3(\text{CH}_2)_6\text{COOH}$ 进行酰化。

对于肽 120 的合成, 其化学结构是 $[\text{HOOC}(\text{CH}_2)_{12}\text{CO-Tyr}^1, \text{D-Arg}^2, \text{Phe}(\text{pCl})^6, \text{Ala}^8, \text{Amp}^9, \text{Dip}^{10}, \text{His}^{11}, \text{Orn}^{12}, \text{Abu}^{15}, \text{His}^{20}, \text{Orn}^{21}, \text{Nle}^{27}, \text{D-Arg}^{28}, \text{Har}^{29}]_{\text{hGH-RH}(1-29)\text{NHET}}$,

5 将如下的被保护氨基酸以显示的顺序偶联到 Merrifield 树脂上: Boc-

Har(Tos)-OH, Boc-D-Arg(Tos)-OH, Boc-Nle-OH, Boc-Ile-OH, Boc-Asp(OcHx)-OH, Boc-Gln-OH, Boc-Leu-OH, Boc-Leu-OH, Boc-Orn(2ClZ)-OH, Boc-His(Bom)-OH, Boc-Ala-OH, Boc-Ser(Bzl)-OH, Boc-Leu-OH, Boc-Gln-OH, Boc-Abu-OH, Boc-Leu-OH, Boc-Val-OH, Boc-Orn(2ClZ)-OH, Boc-His(Bom)-OH, Boc-Dip-OH, Boc-Amp-OH, Boc-Ala-OH, Boc-Thr(Bzl)-OH, Boc-Phe(pCl)-OH, Boc-Ile-OH, Boc-Ala-OH, Boc-Asp(OcHx)-OH, Boc-D-Arg(Tos)-OH, Boc-Tyr(2BrZ)-OH,

10

随后用 $\text{HOOC}(\text{CH}_2)_{12}\text{COOH}$ 进行酰化。

对于肽 121 的合成, 其化学结构是 $[\text{HOOC}(\text{CH}_2)_{12}\text{CO-Tyr}^1, \text{D-Arg}^2, \text{Phe}(\text{pCl})^6, \text{Ala}^8, \text{Amp}^9, \text{Phe}(\text{pNO}_2)^{10}, \text{His}^{11}, \text{Orn}^{12}, \text{Abu}^{15}, \text{His}^{20}, \text{Orn}^{21}, \text{Nle}^{27}, \text{D-Arg}^{28}, \text{Har}^{29}]_{\text{hGH-RH}(1-29)\text{NHET}}$,

15

将如下的被保护氨基酸以显示的顺序偶联到 Merrifield 树脂上: Boc-

Har(Tos)-OH, Boc-D-Arg(Tos)-OH, Boc-Nle-OH, Boc-Ile-OH, Boc-Asp(OcHx)-OH, Boc-Gln-OH, Boc-Leu-OH, Boc-Leu-OH, Boc-Orn(2ClZ)-OH, Boc-His(Bom)-OH, Boc-Ala-OH, Boc-Ser(Bzl)-OH, Boc-Leu-OH, Boc-Gln-OH, Boc-Abu-OH, Boc-Leu-OH, Boc-Val-OH, Boc-Orn(2ClZ)-OH, Boc-His(Bom)-OH, Boc-Phe(pNO₂)-OH, Boc-Amp-OH, Boc-Ala-OH, Boc-Thr(Bzl)-OH, Boc-Phe(pCl)-OH, Boc-Ile-OH, Boc-Ala-OH, Boc-Asp(OcHx)-OH, Boc-D-Arg(Tos)-OH, Boc-Tyr(2BrZ)-OH,

20

随后用 $\text{HOOC}(\text{CH}_2)_{12}\text{COOH}$ 进行酰化。

如肽 46 的情形所述进行肽 45, 肽 47, 肽 48, 肽 49, 肽 50, 肽 56, 肽 97, 肽 98, 肽 99, 肽 100, 肽 106, 肽 110, 肽 113, 肽 114, 肽 115, 肽 118, 肽 119, 肽 120, 和肽 121 的乙胺介导的从树脂上的裂解, 以及肽 101 的甲胺介导的从树脂上的裂解, 接着通过 HF 的去保护, 和通过半制备 HPLC 进行的随后的纯化。通过分析 HPLC 判断纯化的化合物是基本 (> 95%) 纯的。通过电雾化质谱法来检测它们的分子量并通过氨基酸分析来证实预期的氨基酸组成。

30

实施例 VI

Hca-Tyr¹-D-Arg²-Asp³-Ala⁴-Ile⁵-Phe(pCl)⁶-Thr⁷-Asn⁸-Har⁹-Tyr(Me)¹⁰-Arg¹¹-Lys¹²-Val¹³-Leu¹⁴-Abu¹⁵-Gln¹⁶-Leu¹⁷-Ser¹⁸-Ala¹⁹-Arg²⁰-Lys²¹-Leu²²-Leu²³-Gln²⁴-
 5 Asp²⁵-Ile²⁶-Nle²⁷-D-Arg²⁸-Har²⁹-Agm³⁰

肽 59

{[Hca-Tyr¹, D-Arg², Phe(pCl)⁶, Har⁹, Tyr(Me)¹⁰, Abu¹⁵, Nle²⁷, D-Arg²⁸, Har²⁹, Agm³⁰]hGH-RH(1-30)}

使用手动固相肽合成装置以逐步方式进行合成。合成的起始材料是
 10 具有 0.3 mmol/g 取代的 Boc-精胺-N^G-磺酰基-苯氧基乙酰基-MBHA (Boc-Agm-SPA-MBHA)树脂, 其商购自 California Peptide Research, Inc. (Napa, CA)。该树脂的合成已经在美国专利号 4,914,189 和科学文献中 (Zarandi M, Serfozo P, Zsigo J, Bokser L, Janaky T, Olsen DB, Bajusz S, Schally AV, Int. J. Peptide Protein Res. 39:211-217, 1992)进行描述, 特此并
 15 入作为参考。简言之, 将 Boc-Agm-SPA-MBHA 树脂(1.67 g, 0.50mmol) 在 DCM 中进行预溶胀, 接着进行表 I 描述的去保护和中和方法从而去除 Boc 保护基并制备肽-树脂以进行下一个氨基酸的偶联。持续进行合成, 并通过以显示的顺序将如下的被保护的氨基酸偶联到树脂上从而获得需要的肽序列来逐步形成肽链: Boc-Har(NO₂)-OH, Boc-D-Arg(Tos)-OH,
 20 Boc-Nle-OH, Boc-Ile-OH, Boc-Asp(OcHx)-OH, Boc-Gln-OH, Boc-Leu-OH, Boc-Leu-OH, Boc-Lys(2ClZ)-OH, Boc-Arg(Tos)-OH, Boc-Ala-OH, Boc-Ser (Bzl)-OH, Boc-Leu-OH, Boc-Gln-OH, Boc-Abu-OH, Boc-Leu-OH, Boc-Val-OH, Boc-Lys(2ClZ)-OH, Boc-Arg(Tos)-OH, Boc-Tyr(Me)-OH, Boc-Har(NO₂)-OH, Boc-Asn-OH, Boc-Thr (Bzl)-OH, Boc-Phe(pCl)-OH,
 25 Boc-Ile-OH, Boc-Ala-OH, Boc-Asp(OcHx)-OH, Boc-D-Arg(Tos)-OH, Boc-Tyr(2BrZ)-OH。用 DIC(235μ L, 1.5mmol)偶联被保护的氨基酸(每个 1.5 mmol), 除了 Boc-Asn-OH 和 Boc-Gln-OH 以它们的预形成的 HOBt 酯进行偶联。从 Tyr¹ 去除 N^α-Boc 保护基后, 使用 DIC (313μ L, 2 mmol)以氢化肉桂酸(Hca-OH)(300mg, 2mmol)对所述肽进行酰化。

30 为了将肽从树脂上裂解下来并对其去保护, 将 250mg 的干燥肽树

脂与 0.5mL 的 m-甲酚和 5mL 的氟化氢(HF)于 0°C 搅拌 2 小时。在氮气流下和在真空中蒸发 HF 后,用无水二乙醚和乙酸乙酯洗涤所述残余物。将裂解的和去保护的肽溶解在 50% 乙酸中并通过过滤将其从树脂分离。用水稀释并且冷冻干燥后,典型地获得 100-110 mg 的粗制产物。

5 如实施例 I-III 中所述,通过半制备 HPLC 纯化所述肽并通过分析 HPLC 检测洗脱的级分。将高于 95% 纯度的级分合并并进行冷冻干燥以得到 5-10mg 的纯肽 59。通过电雾化质谱法来检测分子量,并通过氨基酸分析来证实预测的氨基酸组成。

10 肽 51、肽 52 和肽 60 以与肽 59 相同的方式进行合成,除了这些肽还包含其它的取代。

对于肽 51 的合成,其化学结构是[Hca-Tyr¹, D-Arg², Phe(pCl)⁶, Har⁹, Tyr(Me)¹⁰, Abu¹⁵, Nle²⁷, D-Arg²⁸, Agm²⁹]hGH-RH(1-29),

将如下的被保护氨基酸以显示的顺序偶联到 Boc-Agm-SPA-MBHA 树脂上:

15 Boc-D-Arg(Tos)-OH, Boc-Nle-OH, Boc-Ile-OH, Boc-Asp(OcHx)-OH, Boc-Gln-OH, Boc-Leu-OH, Boc-Leu-OH, Boc-Lys(2ClZ)-OH, Boc-Arg(Tos)-OH, Boc-Ala-OH, Boc-Ser(Bzl)-OH, Boc-Leu-OH, Boc-Gln-OH, Boc-Abu-OH, Boc-Leu-OH, Boc-Val-OH, Boc-Lys(2ClZ)-OH, Boc-Arg(Tos)-OH, Boc-Tyr(Me)-OH, Boc-Har(NO₂)-OH, Boc-Asn-OH, Boc-Thr(Bzl)-OH, Boc-Phe(pCl)-OH, Boc-Ile-OH, Boc-Ala-OH, Boc-Asp(OcHx)-OH, Boc-D-Arg(Tos)-OH, Boc-Tyr(2BrZ)-OH,

20

随后用 Hca-OH 进行酰化。

对于肽 52 的合成,其化学结构是[PhAc-Tyr¹, D-Arg², Phe(pCl)⁶, Har⁹, Tyr(Me)¹⁰, Abu¹⁵, Nle²⁷, D-Arg²⁸, Agm²⁹]hGH-RH(1-29),

25 将如下的被保护氨基酸以显示的顺序偶联到 Boc-Agm-SPA-MBHA 树脂上:

Boc-D-Arg(Tos)-OH, Boc-Nle-OH, Boc-Ile-OH, Boc-Asp(OcHx)-OH, Boc-Gln-OH, Boc-Leu-OH, Boc-Leu-OH, Boc-Lys(2ClZ)-OH, Boc-Arg(Tos)-OH, Boc-Ala-OH, Boc-Ser(Bzl)-OH, Boc-Leu-OH, Boc-Gln-OH, Boc-Abu-OH, Boc-Leu-OH, Boc-Val-OH, Boc-Lys(2ClZ)-OH, Boc-Arg(Tos)-OH, Boc-Tyr(Me)-OH, Boc-Har(NO₂)-OH, Boc-Asn-OH, Boc-Thr(Bzl)-OH, Boc-Phe(pCl)-OH, Boc-Ile-OH, Boc-Ala-OH, Boc-Asp(OcHx)-OH, Boc-D-Arg(Tos)-OH, Boc-Tyr(2BrZ)-OH,

30

随后用 PhAc -OH 进行酰化。

对于肽 60 的合成, 其化学结构是[PhAc-Tyr¹, D-Arg², Phe(pCl)⁶, Har⁹, Tyr(Me)¹⁰, Abu¹⁵, Nle²⁷, D-Arg²⁸, Har²⁹, Agm³⁰]hGH-RH(1-30),

5 将如下的被保护氨基酸以显示的顺序偶联到 Boc-Agm-SPA-MBHA 树脂上:

10 Boc-Har(NO₂)-OH, Boc-D-Arg(Tos)-OH, Boc-Nle-OH, Boc-Ile-OH, Boc-Asp(OcHx)-OH, Boc-Gln-OH, Boc-Leu-OH, Boc-Leu-OH, Boc-Lys(2ClZ)-OH, Boc-Arg(Tos)-OH, Boc-Ala-OH, Boc-Ser(Bzl)-OH, Boc-Leu-OH, Boc-Gln-OH, Boc-Abu-OH, Boc-Leu-OH, Boc-Val-OH, Boc-Lys(2ClZ)-OH, Boc-Arg(Tos)-OH, Boc-Tyr(Me)-OH, Boc-Har(NO₂)-OH, Boc-Asn-OH, Boc-Thr(Bzl)-OH, Boc-Phe(pCl)-OH, Boc-Ile-OH, Boc-Ala-OH, Boc-Asp(OcHx)-OH, Boc-D-Arg(Tos)-OH, Boc-Tyr(2BrZ)-

OH, 随后用 PhAc-OH 进行酰化。

15 肽 51、肽 52 和肽 60 的 HF 裂解和去保护, 以及随后通过半制备 HPLC 进行的纯化如肽 59 情形所述进行。通过分析 HPLC 判断纯化的化合物是基本(>95%)纯的。通过电雾化质谱法检测它们的分子量, 并通过氨基酸分析证实预期的氨基酸组成。

20 实施例 VII

$\text{CH}_3(\text{CH}_2)_6\text{CO-Tyr}^1\text{-D-Arg}^2\text{-Asp}^3\text{-Ala}^4\text{-Ile}^5\text{-Phe(pCl)}^6\text{-Thr}^7\text{-Asn}^8\text{-Amp}^9\text{-Tyr(Me)}^{10}\text{-Arg}^{11}\text{-Lys}^{12}\text{-Val}^{13}\text{-Leu}^{14}\text{-Abu}^{15}\text{-Gln}^{16}\text{-Leu}^{17}\text{-Ser}^{18}\text{-Ala}^{19}\text{-Arg}^{20}\text{-Lys}^{21}\text{-Leu}^{22}\text{-Leu}^{23}\text{-Gln}^{24}\text{-Asp}^{25}\text{-Ile}^{26}\text{-Nle}^{27}\text{-D-Arg}^{28}\text{-Har}^{29}\text{-NH}_2$

肽 70

25 $\{[\text{CH}_3(\text{CH}_2)_6\text{CO-Tyr}^1, \text{D-Arg}^2, \text{Phe(pCl)}^6, \text{Amp}^9, \text{Tyr(Me)}^{10}, \text{Abu}^{15}, \text{Nle}^{27}, \text{D-Arg}^{28}, \text{Har}^{29}]\text{hGH-RH}(1-29)\text{NH}_2\}$

30 将 N-端酰基部分偶联到肽-树脂之前的所有合成步骤如实施例 IV 描述进行。从 Tyr¹ 去除 N^α-Boc 保护基后, 使用 DIC (235 μ L, 1.5mmol) 作为偶联剂, 用辛酸[CH₃(CH₂)₆COOH](475uL, 3mmol)将所述肽(0.5mmol)酰化过夜。将得到的仍旧附着所有的侧链保护基的肽基树脂用 DCM 洗涤 3

次, 用 MeOH 洗涤 3 次, 并在高真空下进行干燥。

随后, 如实施例 IV 所述, 使肽基树脂经过 Pd(0)-催化的 Alloc 保护基从肽链的 Amp⁹ 残基上去除。接着在肽的 HF 裂解之前, 用 MeOH 洗涤肽树脂并进行干燥。

5 如实施例 I-III 所述, 通过 HF 处理, 实现从 MBHA 树脂裂解所述肽, 伴随剩余保护基的去除。如实施例 I-III 所述进行随后的进展和 HPLC 纯化。在以 HF 处理 300mg 干燥肽基树脂后, 得到 192mg 的粗冻干肽, 其 HPLC 纯化产生 17.1 mg 的纯肽 70(通过分析 HPLC >95% 的纯度)。通过电雾化质谱法检测分子量, 并通过氨基酸分析证实预期的氨基酸组成。

10 肽 76, 肽 78, 肽 87, 肽 103, 肽 111, 和肽 112 以与肽 70 相同的方式进行合成, 除了这些肽还包含其它的取代。

对于肽 76 的合成, 其化学结构是 $[\text{CH}_3(\text{CH}_2)_6\text{CO-Tyr}^1, \text{D-Arg}^2, \text{Phe}(\text{pCl})^6, \text{Cit}^8, \text{Amp}^9, \text{Tyr}(\text{Me})^{10}, \text{His}^{11}, \text{Abu}^{15}, \text{Nle}^{27}, \text{D-Arg}^{28}, \text{Har}^{29}] \text{hGH-RH}(1-29)\text{NH}_2$, 将如下的被保护氨基酸以显示的顺序偶联到 MBHA 树脂上: Boc-

15 Har(NO₂)-OH, Boc-D-Arg(Tos)-OH, Boc-Nle-OH, Boc-Ile-OH, Boc-Asp(OcHx)-OH, Boc-Gln-OH, Boc-Leu-OH, Boc-Leu-OH, Boc-Lys(2ClZ)-OH, Boc-Arg(Tos)-OH, Boc-Ala-OH, Boc-Ser(Bzl)-OH, Boc-Leu-OH, Boc-Gln-OH, Boc-Abu-OH, Boc-Leu-OH, Boc-Val-OH, Boc-Lys(2ClZ)-OH, Boc-His(Bom)-OH, Boc-Tyr(Me)-OH, Boc-Amp(Alloc)-OH, Boc-Cit-OH, Boc-Thr(Bzl)-OH, Boc-Phe(pCl)-OH, Boc-Ile-OH, Boc-Ala-OH, Boc-Asp(OcHx)-OH, Boc-D-Arg(Tos)-OH, Boc-Tyr(2BrZ)-

20

OH, 随后用 $\text{CH}_3(\text{CH}_2)_6\text{COOH}$ 进行酰化。

对于肽 78 的合成, 其化学结构是 $[\text{CH}_3(\text{CH}_2)_6\text{CO-Tyr}^1, \text{D-Arg}^2, \text{Phe}(\text{pCl})^6, \text{Cit}^8, \text{Amp}^9, \text{Tyr}(\text{Et})^{10}, \text{His}^{11}, \text{Abu}^{15}, \text{Nle}^{27}, \text{D-Arg}^{28}, \text{Har}^{29}] \text{hGH-RH}(1-29)\text{NH}_2$, 将如下的被保护氨基酸以显示的顺序偶联到 MBHA 树脂上: Boc-

25

Har(NO₂)-OH, Boc-D-Arg(Tos)-OH, Boc-Nle-OH, Boc-Ile-OH, Boc-Asp(OcHx)-OH, Boc-Gln-OH, Boc-Leu-OH, Boc-Leu-OH, Boc-Lys(2ClZ)-OH, Boc-Arg(Tos)-OH, Boc-Ala-OH, Boc-Ser(Bzl)-OH, Boc-Leu-OH, Boc-Gln-OH, Boc-Abu-OH, Boc-Leu-OH, Boc-Val-OH, Boc-Lys(2ClZ)-OH, Boc-His(Bom)-OH, Boc-Tyr(Et)-OH, Boc-Amp(Alloc)-OH, Boc-Cit-OH, Boc-Thr(Bzl)-OH, Boc-Phe(pCl)-OH, Boc-Ile-OH, Boc-Ala-OH, Boc-Asp(OcHx)-OH, Boc-D-Arg(Tos)-OH, Boc-Tyr(2BrZ)-OH,

30

随后用 $\text{CH}_3(\text{CH}_2)_6\text{COOH}$ 进行酰化。

对于肽 87 的合成,其化学结构是 $[\text{CH}_3(\text{CH}_2)_6\text{CO-Tyr}^1, \text{D-Arg}^2, \text{Phe}(\text{pCl})^6, \text{Ala}^8, \text{Amp}^9, \text{Tyr}(\text{Et})^{10}, \text{His}^{11}, \text{Abu}^{15}, \text{His}^{20}, \text{Nle}^{27}, \text{D-Arg}^{28}, \text{Har}^{29}]_{\text{hGH-RH}(1-29)\text{NH}_2}$,

5 将如下的被保护氨基酸以显示的顺序偶联到 MBHA 树脂上: Boc-

Har(NO₂)-OH, Boc-D-Arg(Tos)-OH, Boc-Nle-OH, Boc-Ile-OH, Boc-Asp(Ochx)-OH, Boc-Gln-OH, Boc-Leu-OH, Boc-Leu-OH, Boc-Lys(2ClZ)-OH, Boc-His(Bom)-OH, Boc-Ala-OH, Boc-Ser(Bzl)-OH, Boc-Leu-OH, Boc-Gln-OH, Boc-Abu-OH, Boc-Leu-OH, Boc-Val-OH, Boc-Lys(2ClZ)-OH, Boc-His(Bom)-OH, Boc-Tyr(Et)-OH, Boc-Amp(Alloc)-OH, Boc-Ala-OH, Boc-Thr(Bzl)-OH, Boc-Phe(pCl)-OH, Boc-Ile-OH, Boc-Ala-OH, Boc-Asp(Ochx)-OH, Boc-D-Arg(Tos)-OH, Boc-Tyr(2BrZ)-OH,

10

随后用 $\text{CH}_3(\text{CH}_2)_6\text{COOH}$ 进行酰化。

对于肽 103 的合成,其化学结构是 $[\text{CH}_3(\text{CH}_2)_6\text{CO-Tyr}^1, \text{D-Arg}^2, \text{Phe}(\text{pCl})^6, \text{Ala}^8, \text{Amp}^9, \text{Tyr}(\text{Et})^{10}, \text{His}^{11}, \text{Orn}^{12}, \text{Abu}^{15}, \text{His}^{20}, \text{Orn}^{21}, \text{Nle}^{27}, \text{D-Arg}^{28}, \text{Har}^{29}]_{\text{hGH-RH}(1-29)\text{NH}_2}$,

15

将如下的被保护氨基酸以显示的顺序偶联到 MBHA 树脂上: Boc-

Har(NO₂)-OH, Boc-D-Arg(Tos)-OH, Boc-Nle-OH, Boc-Ile-OH, Boc-Asp(Ochx)-OH, Boc-Gln-OH, Boc-Leu-OH, Boc-Leu-OH, Boc-Orn(2ClZ)-OH, Boc-His(Bom)-OH, Boc-Ala-OH, Boc-Ser(Bzl)-OH, Boc-Leu-OH, Boc-Gln-OH, Boc-Abu-OH, Boc-Leu-OH, Boc-Val-OH, Boc-Orn(2ClZ)-OH, Boc-His(Bom)-OH, Boc-Tyr(Et)-OH, Boc-Amp(Alloc)-OH, Boc-Ala-OH, Boc-Thr(Bzl)-OH, Boc-Phe(pCl)-OH, Boc-Ile-OH, Boc-Ala-OH, Boc-Asp(Ochx)-OH, Boc-D-Arg(Tos)-OH, Boc-Tyr(2BrZ)-OH,

20

随后用 $\text{CH}_3(\text{CH}_2)_6\text{COOH}$ 进行酰化。

对于肽 111 的合成,其化学结构是 $[\text{CH}_3(\text{CH}_2)_6\text{CO-Tyr}^1, \text{D-Arg}^2, \text{Phe}(\text{pCl})^6, \text{Ala}^8, \text{Amp}^9, \text{Dip}^{10}, \text{His}^{11}, \text{Orn}^{12}, \text{Abu}^{15}, \text{His}^{20}, \text{Orn}^{21}, \text{Nle}^{27}, \text{D-Arg}^{28}, \text{Har}^{29}]_{\text{hGH-RH}(1-29)\text{NH}_2}$,

25

将如下的被保护氨基酸以显示的顺序偶联到 MBHA 树脂上: Boc-

Har(NO₂)-OH, Boc-D-Arg(Tos)-OH, Boc-Nle-OH, Boc-Ile-OH, Boc-Asp(Ochx)-OH, Boc-Gln-OH, Boc-Leu-OH, Boc-Leu-OH, Boc-Orn(2ClZ)-OH, Boc-His(Bom)-OH, Boc-Ala-OH, Boc-Ser(Bzl)-OH,

30

Boc-Leu-OH, Boc-Gln-OH, Boc-Abu-OH, Boc-Leu-OH, Boc-Val-OH, Boc-Orn(2ClZ)-OH, Boc-His(Bom)-OH, Boc-Dip-OH, Boc-Amp(Alloc)-OH, Boc-Ala-OH, Boc-Thr(Bzl)-OH, Boc-Phe(pCl)-OH, Boc-Ile-OH, Boc-Ala-OH, Boc-Asp(OcHx)-OH, Boc-D-Arg(Tos)-OH, Boc-Tyr(2BrZ)-OH,

随后用 $\text{CH}_3(\text{CH}_2)_6\text{COOH}$ 进行酰化。

5 对于肽 112 的合成, 其化学结构是 $[\text{CH}_3(\text{CH}_2)_6\text{CO-Tyr}^1, \text{D-Arg}^2, \text{Phe(pCl)}^6, \text{Ala}^8, \text{Amp}^9, \text{Phe(pNO}_2)^{10}, \text{His}^{11}, \text{Orn}^{12}, \text{Abu}^{15}, \text{His}^{20}, \text{Orn}^{21}, \text{Nle}^{27}, \text{D-Arg}^{28}, \text{Har}^{29}]_{\text{hGH-RH(1-29)NH}_2}$,

将如下的被保护氨基酸以显示的顺序偶联到 MBHA 树脂上: Boc-

10 Har(NO₂)-OH, Boc-D-Arg(Tos)-OH, Boc-Nle-OH, Boc-Ile-OH, Boc-Asp(OcHx)-OH, Boc-Gln-OH, Boc-Leu-OH, Boc-Leu-OH, Boc-Orn(2ClZ)-OH, Boc-His(Bom)-OH, Boc-Ala-OH, Boc-Ser(Bzl)-OH, Boc-Leu-OH, Boc-Gln-OH, Boc-Abu-OH, Boc-Leu-OH, Boc-Val-OH, Boc-Orn(2ClZ)-OH, Boc-His(Bom)-OH, Boc-Phe(pNO₂)-OH, Boc-Amp(Alloc)-OH, Boc-Ala-OH, Boc-Thr(Bzl)-OH, Boc-Phe(pCl)-OH, Boc-Ile-OH, Boc-Ala-OH, Boc-Asp(OcHx)-OH, Boc-D-Arg(Tos)-OH, Boc-Tyr(2BrZ)-

15 OH, 随后用 $\text{CH}_3(\text{CH}_2)_6\text{COOH}$ 进行酰化。

肽 76, 肽 78, 肽 87, 肽 103, 肽 111, 和肽 112 的去保护, 从树脂上裂解以及随后的通过半制备 HPLC 的纯化如肽 70 的情形所述进行。通过分析 HPLC 判断纯化的化合物是基本(>95%)纯的。通过电雾化质谱法来检测分子量, 并通过氨基酸分析证实预期的氨基酸组成。

20

实施例 VIII

25 $\text{HOOC}(\text{CH}_2)_{12}\text{CO-Tyr}^1\text{-D-Arg}^2\text{-Asp}^3\text{-Ala}^4\text{-Ile}^5\text{-Phe(pCl)}^6\text{-Thr}^7\text{-Asn}^8\text{-Amp}^9\text{-Tyr}(\text{Me})^{10}\text{-Arg}^{11}\text{-Lys}^{12}\text{-Val}^{13}\text{-Leu}^{14}\text{-Abu}^{15}\text{-Gln}^{16}\text{-Leu}^{17}\text{-Ser}^{18}\text{-Ala}^{19}\text{-Arg}^{20}\text{-Lys}^{21}\text{-Leu}^{22}\text{-Leu}^{23}\text{-Gln}^{24}\text{-Asp}^{25}\text{-Ile}^{26}\text{-Nle}^{27}\text{-D-Arg}^{28}\text{-Har}^{29}\text{-NH}_2$

肽 72

$\{[\text{HOOC}(\text{CH}_2)_{12}\text{CO-Tyr}^1, \text{D-Arg}^2, \text{Phe(pCl)}^6, \text{Amp}^9, \text{Tyr}(\text{Me})^{10}, \text{Abu}^{15}, \text{Nle}^{27}, \text{D-Arg}^{28}, \text{Har}^{29}]_{\text{hGH-RH(1-29)NH}_2}\}$

30 在将 N-端酰基部分与肽-树脂偶联前所有的合成步骤如实施例 IV 所述进行。在从 Tyr¹ 去除 N^o-Boc 保护基后, 用如下制备的预形成的 1,12-

十二烷二羧酸的对称酐对所述肽进行酰化。对于在 0.5mmol 规模的肽的合成, 将 388mg(1.5 mmol)的 1,12-十二烷二羧酸[HOOC(CH₂)₁₂COOH]溶解在 5-10 mL 的 DMF-DCM(1:1)中, 将 235 μ L(1.5mmol)的 DIC 加入该溶液中, 并且该混合物容许在室温保持 30 分钟。在该阶段后, 将混合物转移到合成容器中, 所述容器包含在 Tyr¹ 上具有游离氨基端的肽-树脂, 并将酰化进行过夜。得到的仍旧附着所有的侧链保护基的肽基树脂用 DCM 洗涤 3 次, 用 MeOH 洗涤 3 次, 并在高真空下干燥。

随后, 如实施例 IV 所述, 使肽基树脂经过 Pd(0)催化的 Alloc 保护基从肽链 Amp⁹ 残基上的去除。然后在肽的 HF 裂解之前, 用 MeOH 对肽树脂进行洗涤并进行干燥。

如实施例 I-III 所述, 以 HF 处理实现肽从 MBHA 树脂上的裂解, 伴随剩余保护基的去除。如实施例 I-III 所述进行随后的进展和 HPLC 纯化。对 150 mg 干燥肽基树脂进行 HF 处理后, 获得 82 mg 的粗制冻干肽, 对其进行的 HPLC 纯化产生 2.5 mg 的纯肽 72(通过分析 HPLC, >95%的纯度)。通过电雾化质谱法检测分子量, 并通过氨基酸分析证实预期的氨基酸组成。

肽 71、肽 77、肽 89、肽 107、肽 116 和肽 117 以与肽 72 相同的方式进行合成, 除了这些肽还包含其它的取代。

对于肽 71 的合成, 其化学结构是[HOOC(CH₂)₈CO-Tyr¹, D-Arg², Phe(pCl)⁶, Amp⁹, Tyr(Me)¹⁰, Abu¹⁵, Nle²⁷, D-Arg²⁸, Har²⁹]hGH-RH (1-29)NH₂ 将如下的被保护氨基酸以显示的顺序偶联到 MBHA 树脂上: Boc-

Har(NO₂)-OH, Boc-D-Arg(Tos)-OH, Boc-Nle-OH, Boc-Ile-OH, Boc-Asp(OcHx)-OH, Boc-Gln-OH, Boc-Leu-OH, Boc-Leu-OH, Boc-Lys(2ClZ)-OH, Boc-Arg(Tos)-OH, Boc-Ala-OH, Boc-Ser(Bzl)-OH, Boc-Leu-OH, Boc-Gln-OH, Boc-Abu-OH, Boc-Leu-OH, Boc-Val-OH, Boc-Lys(2ClZ)-OH, Boc-Arg(Tos)-OH, Boc-Tyr(Me)-OH, Boc-Amp(Alloc)-OH, Boc-Asn-OH, Boc-Thr(Bzl)-OH, Boc-Phe(pCl)-OH, Boc-Ile-OH, Boc-Ala-OH, Boc-Asp(OcHx)-OH, Boc-D-Arg(Tos)-OH, Boc-Tyr(2BrZ)-

OH, 随后用 HOOC(CH₂)₈COOH 进行酰化。

对于肽 77 的合成, 其化学结构是[HOOC(CH₂)₁₂CO-Tyr¹, D-Arg², Phe(pCl)⁶, Cit⁸, Amp⁹, Tyr(Me)¹⁰, His¹¹, Abu¹⁵, Nle²⁷, D-Arg²⁸, Har²⁹]hGH-RH

(1-29)NH₂

将如下的被保护氨基酸以显示的顺序偶联到 MBHA 树脂上: Boc-

Har(NO₂)-OH, Boc-D-Arg(Tos)-OH, Boc-Nle-OH, Boc-Ile-OH, Boc-Asp(Ochx)-OH, Boc-Gln-OH,
Boc-Leu-OH, Boc-Leu-OH, Boc-Lys(2ClZ)-OH, Boc-Arg(Tos)-OH, Boc-Ala-OH, Boc-Ser(Bzl)-OH,
5 Boc-Leu-OH, Boc-Gln-OH, Boc-Abu-OH, Boc-Leu-OH, Boc-Val-OH, Boc-Lys(2ClZ)-OH, Boc-
His(Bom)-OH, Boc-Tyr(Me)-OH, Boc-Amp(Alloc)-OH, Boc-Cit-OH, Boc-Thr(Bzl)-OH, Boc-
Phe(pCl)-OH, Boc-Ile-OH, Boc-Ala-OH, Boc-Asp(Ochx)-OH, Boc-D-Arg(Tos)-OH, Boc-Tyr(2BrZ)-

OH, 随后用 HOOC(CH₂)₁₂COOH 进行酰化。

10 对于肽 89 的合成, 其化学结构是[HOOC(CH₂)₁₂CO-Tyr¹, D-Arg², Phe
(pCl)⁶, Ala⁸, Amp⁹, Tyr(Et)¹⁰, His¹¹, Abu¹⁵, His²⁰, Nle²⁷, D-Arg²⁸,
Har²⁹]hGH-RH(1-29)NH₂

将如下的被保护氨基酸以显示的顺序偶联到 MBHA 树脂上: Boc-

15 Har(NO₂)-OH, Boc-D-Arg(Tos)-OH, Boc-Nle-OH, Boc-Ile-OH, Boc-Asp(Ochx)-OH, Boc-Gln-OH,
Boc-Leu-OH, Boc-Leu-OH, Boc-Lys(2ClZ)-OH, Boc-His(Bom)-OH, Boc-Ala-OH, Boc-Ser(Bzl)-OH,
Boc-Leu-OH, Boc-Gln-OH, Boc-Abu-OH, Boc-Leu-OH, Boc-Val-OH, Boc-Lys(2ClZ)-OH, Boc-
His(Bom)-OH, Boc-Tyr(Et)-OH, Boc-Amp(Alloc)-OH, Boc-Ala-OH, Boc-Thr(Bzl)-OH, Boc-Phe(pCl)-
OH, Boc-Ile-OH, Boc-Ala-OH, Boc-Asp(Ochx)-OH, Boc-D-Arg(Tos)-OH, Boc-Tyr(2BrZ)-OH,

20 随后用 HOOC(CH₂)₁₂COOH 进行酰化。

对于肽 107 的合成, 其化学结构是[HOOC(CH₂)₁₂CO-Tyr¹, D-Arg², Phe
(pCl)⁶, Ala⁸, Amp⁹, Tyr(Et)¹⁰, His¹¹, Orn¹², Abu¹⁵, His²⁰, Orn²¹, Nle²⁷, D-Arg²⁸,
Har²⁹]hGH-RH(1-29)NH₂

将如下的被保护氨基酸以显示的顺序偶联到 MBHA 树脂上: Boc-

25 Har(NO₂)-OH, Boc-D-Arg(Tos)-OH, Boc-Nle-OH, Boc-Ile-OH, Boc-Asp(Ochx)-OH, Boc-Gln-OH,
Boc-Leu-OH, Boc-Leu-OH, Boc-Orn(2ClZ)-OH, Boc-His(Bom)-OH, Boc-Ala-OH, Boc-Ser(Bzl)-OH,
Boc-Leu-OH, Boc-Gln-OH, Boc-Abu-OH, Boc-Leu-OH, Boc-Val-OH, Boc-Orn(2ClZ)-OH, Boc-
His(Bom)-OH, Boc-Tyr(Et)-OH, Boc-Amp(Alloc)-OH, Boc-Ala-OH, Boc-Thr(Bzl)-OH, Boc-Phe(pCl)-
OH, Boc-Ile-OH, Boc-Ala-OH, Boc-Asp(Ochx)-OH, Boc-D-Arg(Tos)-OH, Boc-Tyr(2BrZ)-OH,

30

随后用 $\text{HOOC}(\text{CH}_2)_{12}\text{COOH}$ 进行酰化。

对于肽 116 的合成, 其化学结构是 $[\text{HOOC}(\text{CH}_2)_{12}\text{CO-Tyr}^1, \text{D-Arg}^2, \text{Phe}(\text{pCl})^6, \text{Ala}^8, \text{Amp}^9, \text{Dip}^{10}, \text{His}^{11}, \text{Orn}^{12}, \text{Abu}^{15}, \text{His}^{20}, \text{Orn}^{21}, \text{Nle}^{27}, \text{D-Arg}^{28}, \text{Har}^{29}]_{\text{hGH-RH}(1-29)\text{NH}_2}$

5 将如下的被保护氨基酸以显示的顺序偶联到 MBHA 树脂上: Boc-

Har(NO_2)-OH, Boc-D-Arg(Tos)-OH, Boc-Nle-OH, Boc-Ile-OH, Boc-Asp(OcHx)-OH, Boc-Gln-OH, Boc-Leu-OH, Boc-Leu-OH, Boc-Orn(2ClZ)-OH, Boc-His(Bom)-OH, Boc-Ala-OH, Boc-Ser(Bzl)-OH, Boc-Leu-OH, Boc-Gln-OH, Boc-Abu-OH, Boc-Leu-OH, Boc-Val-OH, Boc-Orn(2ClZ)-OH, Boc-His(Bom)-OH, Boc-Dip-OH, Boc-Amp(Alloc)-OH, Boc-Ala-OH, Boc-Thr(Bzl)-OH, Boc-Phe(pCl)-OH, Boc-Ile-OH, Boc-Ala-OH, Boc-Asp(OcHx)-OH, Boc-D-Arg(Tos)-OH, Boc-Tyr(2BrZ)-OH,

10

随后用 $\text{HOOC}(\text{CH}_2)_{12}\text{COOH}$ 进行酰化。

对于肽 117 的合成, 其化学结构是 $[\text{HOOC}(\text{CH}_2)_{12}\text{CO-Tyr}^1, \text{D-Arg}^2, \text{Phe}(\text{pCl})^6, \text{Ala}^8, \text{Amp}^9, \text{Phe}(\text{pNO}_2)^{10}, \text{His}^{11}, \text{Orn}^{12}, \text{Abu}^{15}, \text{His}^{20}, \text{Orn}^{21}, \text{Nle}^{27}, \text{D-Arg}^{28}, \text{Har}^{29}]_{\text{hGH-RH}(1-29)\text{NH}_2}$

15

将如下的被保护氨基酸以显示的顺序偶联到 MBHA 树脂上: Boc-

Har(NO_2)-OH, Boc-D-Arg(Tos)-OH, Boc-Nle-OH, Boc-Ile-OH, Boc-Asp(OcHx)-OH, Boc-Gln-OH, Boc-Leu-OH, Boc-Leu-OH, Boc-Orn(2ClZ)-OH, Boc-His(Bom)-OH, Boc-Ala-OH, Boc-Ser(Bzl)-OH, Boc-Leu-OH, Boc-Gln-OH, Boc-Abu-OH, Boc-Leu-OH, Boc-Val-OH, Boc-Orn(2ClZ)-OH, Boc-His(Bom)-OH, Boc-Phe(pNO_2)-OH, Boc-Amp(Alloc)-OH, Boc-Ala-OH, Boc-Thr(Bzl)-OH, Boc-Nle(pCl)-OH, Boc-Ile-OH, Boc-Ala-OH, Boc-Asp(OcHx)-OH, Boc-D-Arg(Tos)-OH, Boc-Tyr(2BrZ)-

20

OH, 随后用 $\text{HOOC}(\text{CH}_2)_{12}\text{COOH}$ 进行酰化。

25 肽 71、肽 77、肽 89、肽 107、肽 116、和肽 117 的去保护、从树脂上裂解, 以及通过半制备 HPLC 进行的随后的纯化如肽 72 的情形所述进行。通过分析 HPLC 判断所述纯化的化合物是基本(95%)纯的。通过电雾化质谱法检测它们的分子量并通过氨基酸分析证实预期的氨基酸组成。

实施例 IX

30 肌肉注射剂的水溶液

[PhAc-Tyr¹, D-Arg², Phe(pCl)⁶, Amp⁹, Tyr(Me)¹⁰, Abu¹⁵, Nle²⁷, D-Arg²⁸, Har²⁹]hGH-RH(1-29)NH₂

(肽 67) 500.0mg

明胶, 不产抗原的 5.0mg

5 注射用水 q.s. 加到 100.0 ml

将明胶和 GH-RH 拮抗剂肽 67 溶解在注射用水中, 接着将所述溶液过滤灭菌。

实施例 X

10 长效肌内可注射制剂(芝麻油凝胶)

[CH₃(CH₂)₆CO-Tyr¹, D-Arg², Phe(pCl)⁶, Ala⁸, His⁹, Tyr(Et)¹⁰, His¹¹, Abu¹⁵, Nle²⁷, D-Arg²⁸, Har²⁹]hGH-RH(1-29)NH₂

(肽 80) 10.0 mg

一硬脂酸铝, USP 20.0 mg

15 芝麻油 q. s. 加到 1.0 mL

将一硬脂酸铝与芝麻油结合并加热到 125°C, 伴随搅拌直到澄清黄色溶液形成。接着将该混合物进行高压灭菌并使其冷却。接着, 将 GH-RH 拮抗剂肽 80 以无菌条件粉状加入。特别优选的拮抗剂是低溶解度的盐, 例如双羟萘酸盐(pamoate salt)等。这些拮抗剂显示活性的长持续时间。

20

实施例 XI

长效肌内(IM)可注射可生物降解聚合物微胶囊

微胶囊由如下制成:

25 25/75 乙交酯/丙交酯共聚物(0.5 特性粘数) 99%
[CH₃(CH₂)₆CO-Tyr¹, D-Arg², Phe(pCl)⁶, Ala⁸, His⁹, Tyr(Et)¹⁰, His¹¹, Orn¹², Abu¹⁵, His²⁰, Orn²¹, Nle²⁷, D-Arg²⁸, Har²⁹]hGH-RH(1-29)NH₂(肽 96) 1%

将 25mg 的上述微胶囊悬浮在 1.0mL 的如下赋形剂中:

右旋糖 5.0%

30 CMC, 钠 0.5%

苯醇	0.9%
Tween 80	0.1%
水, 纯化的 q.s.	加到 100%

5 实施例 XII

内分泌中的生物学活性和肿瘤学试验

在体外和体内的试验中测试本发明的肽的抑制 hGH-RH(1-29)NH₂ 诱导的 GH 释放的能力。还测量了化合物与肿瘤 GH-RH 受体的结合亲和性。所述肽的抗肿瘤活性和它们对血清 IGF-I 以及肿瘤 IGF 系统的抑制作用在
10 各种癌症模型中在体内进行了评价。

超融合(Superfused)大鼠垂体系系统

在前面描述的试验中(S. Vigh 和 A.V Schally, Peptides 5: 241-347, 1984) 体外检验具有修饰的类似物(Z. Rekasi 和 A.V. Schally, P.N.A.S. 90: 2146-2149, 1993)。

15 简言之, 以不同浓度的肽将细胞预培养 9 分钟(3mL)。紧接着培养后, 将 1nM hGH-RH(1-29)NH₂ 施用 3 分钟(1mL)[0 分钟应答]。为了检测类似物的拮抗性作用的持续时间, 在 30,60,90,和 120 分钟后应用 1 nM hGH-RH (1-29)NH₂ 3 分钟[30, 60,90, 120 分钟应答]。评价 GH 应答的净总值(Net integral values)。比较 GH 应答并将其表示作由 1 nM GH-RH(1-29)NH₂ 诱
20 导的起始 GH 应答的百分比。与[Ac-Tyr¹, D-Arg², hGH-RH(1-29)NH₂, “标准拮抗剂” 比较新拮抗剂的作用。

GH, IGF-I,和 IGF-II 的放射性免疫试验(RIA)

25 使用由 National Hormone and Pituitary Program, Baltimore, Maryland 提供的材料通过双抗放射性免疫试验测量在未稀释的和稀释的超融合样品的等分试样中的大鼠 GH 水平。用我们的研究所(V. Csernus 和 A.V. Schally, In Neuroendocrine Research Methods, Harwood Academic(Greenstein, B. D.ed., London, pp.71-109, 1991)开发的计算机程序分析 RIA 的结果, 将其并入作为参考。

30 为了测量血清中的 GH 和 IGF-I 水平, 以及肿瘤的细胞溶质级分中的

IGF-I 和 IGF-II 浓度,如所述(Braczkowski R, Schally AV, Plonowski A, Varga JL, Groot K, Krupa M, Armatis P, Cancer 95: 1735-1745, 2002)收集血液样品和肿瘤样品并进行处理, 特此并入作为参考。简言之, 对血液样品进行离心以分离血清, 并对肿瘤进行搅匀, 离心以分离细胞溶质级分。然后, 通过双抗 RIA 方法来测量血清 GH。在通过 RIA 测量前, 使用酸-乙醇冷沉淀方法将 IGF-I 和 IGF-II 从血清和细胞溶质级分中进行抽提, 所述冷沉淀方法去除大部分 IGF 结合蛋白, 所述 IGF 结合蛋白可干扰 RIA。使用作为标准的 IGF-I 和山羊抗-IGF-I 抗体(都来自 DSL Inc., Webster, TX), 通过 RIA 来测量 IGF-I 浓度。使用作为标准的人重组 IGF-II(Bachem)和抗-IGF-II 单克隆抗体(Amano International Enzyme, Troy, VA), 通过 RIA 来测量 IGF-II 浓度。

在所有的 RIA 测量中, 试验间变化少于 15% 并且试验内变化少于 10%。

15 肿瘤 GH-RH 受体结合试验

将具有 ^{125}I -标记的 GH-RH 拮抗剂 JV-1-42 的配体竞争试验用于确定 GH-RH 类似物与在人 PC-3 前列腺肿瘤的膜级分上的 GH-RH 受体同种型的结合亲和性。已经详细描述了使用的方法(Halmos G, Schally AV, Varga JL, Plonowski A, Rekasi Z, Czompoly T, Proc Natl Acad Sci USA 97: 10555-10560, 2000; Halmos G, Schally AV, Czompoly T, Krupa M, Varga JL, Rekasi Z, J Clin Endocrinol Metab 87:4707-4714, 2002), 特此并入作为参考。简言之, 通过氯胺-T 方法来制备 JV-1-42 的放射性碘标记的衍生物。将作为裸鼠中异种移植物培养的 PC-3 肿瘤用于制备粗制膜。用 [^{125}I] JV-1-42 培养 PC-3 膜匀浆并将增加浓度(10^{-12} - 10^{-6}M)的非放射性活性拮抗剂肽作为竞争剂。通过离心分离沉淀物并在 γ -计数器中计算放射性。通过 K_i (抑制剂-受体复合物的解离常数)估计最终结合亲和性并通过 Munson 和 Rodbard(P.J. Munson 和 D. Rodbard, Anal. Biochem. 107:220-239, 1980)的配体 PC 和 McPherson 计算机程序确定。将与参照肽诸如 JV-1-36 或 JV-1-38 比较的相对亲和性(R.A.)计算为参照肽的 K_i 与测试的 GH-RH 拮抗剂的 K_i 的比率。

超融合试验的结果

将在超融合大鼠垂体系统中测试的体外拮抗活性的结果归纳于表 III 中。通过这些数据可见，如与标准的拮抗剂比较，分子中存在的取代导致 5 体外对 GH-RH-激发的 GH 释放的大大增加和延长的抑制作用

10 表 III

对在超融合大鼠垂体系统中的 GH 释放的抑制

拮抗剂	剂量 (nM)	GH 应答(对照的%)				
		0 min	30 min	60 min	90 min	120 min
标准拮抗剂:	100	38	98	81		
JV-1-36*	30	36	21	25	29	29
	10	80	42	60	64	85
JV-1-38*	30	59	32	28	34	31
肽 2	30	18	13	18	25	51
肽 3	30	52	61	56	70	149
肽 4	30	5	0	12	8	18
肽 5	30	22	20	23	27	27
肽 6	30	56	22	12	15	19
肽 7	30	23	13	11	14	14
肽 8	30	37	31	48	44	40
肽 9	30	47	43	66	63	58
肽 10	30	60	30	36	37	44
肽 11	30	14	24	29	34	32
肽 12	30	35	30	35	51	43
肽 13	30	87	77	76	71	73
肽 15	30	28	13	11	36	21
肽 16	30	40	62	78	73	61
肽 17	30	29	51	68	73	61

肽 18	30	21	71	61	75	63
肽 19	30	62	64	66	82	74
肽 21	30	0	13	33	43	37
肽 22	30	22	26	27	45	N/A
肽 23	30	55	40	41	47	41
肽 24	30	56	13	18	34	60
肽 26	30	20	43	66	48	44
肽 27	30	19	15	23	23	61
肽 28	30	68	7	8	20	34
肽 30	30	18	11	7	7	8
肽 30	10	60	24	34	32	53
肽 31	30	7	1	2	4	3
肽 31	10	57	31	37	36	37
肽 32	30	28	43	69	76	N/A
肽 33	30	97	89	78	97	82
肽 35	30	91	57	80	66	72
肽 36	30	104	90	112	97	120
肽 37	30	33	12	15	15	19
肽 39	30	63	54	36	37	36
肽 40	30	42	29	26	36	30
肽 41	30	47	16	14	15	16
肽 42	30	52	7	9	8	13
肽 43	30	82	74	102	72	51
肽 45	30	91	100	100	100	99
肽 45	30	100	100	100	N/A	N/A
肽 46	30	91	28	31	56	30
肽 48	30	22	21	44	44	47
肽 49	30	83	76	90	87	120
肽 50	30	57	65	69	74	67
肽 51	30	64	36	31	N/A	N/A
肽 51	30	52	43	57	56	58
肽 51	30	87	35	46	51	61
肽 52	30	86	13	45	26	55
肽 53	30	43	42	40	36	46
肽 55	30	93	63	96	61	93

肽 56	30	76	83	92	80	68
肽 58	30	78	53	56	47	N/A
肽 58	30	94	53	57	64	64
肽 58	30	64	41	59	50	69
肽 59	30	72	49	46	38	N/A
肽 59	30	61	50	48	47	N/A
肽 59	30	93	43	60	57	76
肽 59	30	47	27	37	44	47
肽 60	30	73	27	34	56	42
肽 60	30	87	29	65	36	63
肽 62	30	20	16	14	21	21
肽 63	30	53	47	49	51	N/A
肽 64	30	59	54	70	50	56
肽 65	30	67	80	89	97	79
肽 67	30	28	15	18	20	23
肽 68	30	37	22	33	29	33
肽 69	30	9	12	18	18	25

*参照化合物，美国专利 6,057,422 的主题物

肿瘤 GH-RH 受体结合试验的结果

如分别在表 IV 和表 V 中所见，与参照化合物的结合亲和性比较，分子中存在的取代导致它们与 PC-3 肿瘤膜上的 GH-RH 受体同种型结合亲和性的基本增加。

表 IV.

GH-RH 拮抗剂与在 PC-3 人前列腺癌上的膜受体的相对亲和性(R.A.)

肽	R.A
JV-1-36*	1
肽 11	1.3
肽 6	0.6
肽 7	12
肽 4	53
肽 5	4

肽 22	10
肽 43	0.09

*参照化合物，美国专利 6,057,422 的主题物

表 V

GH-RH 拮抗剂与在 PC-3 人前列腺癌上的膜受体的相对亲和性(R.A.)

5

肽	R.A
JV-1-38*	1
肽 31	0.2
肽 36	11
肽 41	5
肽 42	0.6
肽 62	62
肽 67	71
肽 69	59

*参照化合物，美国专利 6,057,422 的主题物

10

GH-RH 拮抗剂对裸鼠中 PC-3 人前列腺癌异种移植物的影响

实验 1:

在两胁上将 3 mm³ 的 PC-3 人激素不依赖型前列腺癌组织块 s.c. 移植在雄性裸鼠中。当肿瘤达到约 50 mm³ 的体积时，将小鼠分成 5 个实验组，
 15 每组 7-8 只动物并如下接受单一每日注射达 28 天：1. 对照(赋形剂溶液)；2. JV-1-38 (10 µg/日 s.c.)；3 肽 31 (10 µg/日 s.c.)；4. 肽 67 (10 µg/日 s.c.)；5. 肽 62 (10 µg /日 s.c.)。每周测量肿瘤体积两次。实验在第 29 天结束，在异氟烷麻醉下将小鼠处死。将得到的肿瘤清洁、称重并快速冷冻直到进一步的分析。从腹部主动脉收集躯干血并分离血清进行 IGF-I 的 RIA 测量。
 20 通过双尾 t-检验来进行测量结果的统计分析；将数据表示为平均值±S.E。

实验 2:

实验 2 与实验 1 类似,不同的是当 PC-3 肿瘤的体积长到约 30 mm^3 时,实验 2 开始。这时,将动物分成 8 个实验组,每组 8 只动物,并如下接受单一每日注射达 28 天: 1. 对照(赋形剂溶液); 2. JV-1-38 ($10 \mu\text{g}/\text{日 s.c.}$); 3. 肽 46 ($5 \mu\text{g}/\text{日 s.c.}$); 4. 肽 77($5 \mu\text{g}/\text{日 s.c.}$); 5. 肽 76 ($5 \mu\text{g}/\text{日 s.c.}$); 6. 肽 70 ($5 \mu\text{g}/\text{日 s.c.}$); 7. 肽 79 ($5 \mu\text{g}/\text{日 s.c.}$); 8. 肽 80 ($5 \mu\text{g}/\text{日 s.c.}$)。实验 2 另外的细节与实验 1 相同。

10 实验 3:

在两肋上将 3 mm^3 的 PC-3 人激素不依赖型前列腺癌组织块 s.c.移植在雄性裸鼠中。当肿瘤达到约 65 mm^3 的体积时,将小鼠分成 7 个实验组,每组 8-9 只动物并如下接受单一每日注射达 28 天: 1. 对照(赋形剂溶液); 2. JV-1-38 ($10 \mu\text{g}/\text{日 s.c.}$); 3 肽 35 ($10 \mu\text{g}/\text{日 s.c.}$); 4. 肽 36 ($10 \mu\text{g}/\text{日 s.c.}$); 5. 15 肽 37 ($10 \mu\text{g}/\text{日 s.c.}$), 6 肽 39($10 \mu\text{g}/\text{日 s.c.}$); 7 肽 41($10 \mu\text{g}/\text{日 s.c.}$)。每周测量肿瘤体积两次。实验在第 28 天结束,在异氟烷麻醉下将小鼠处死。将得到的肿瘤清洁、称重并快速冷冻直到进一步的分析。从腹部主动脉收集躯干血并分离血清进行 IGF-I 的 RIA 测量。通过 ANOVA 随后 Fisher 检验来进行测量结果的统计分析; 将数据表示为平均值 \pm S.E。

20

实验 4

实验 4 的所有实验细节与实验 3 相同,但具有下面的不同。当肿瘤达到约 55 mm^3 的体积时,将小鼠分成 5 个实验组,每组 8-9 只动物并如下接受单一每日注射达 28 天: 1. 对照(赋形剂溶液); 2. 肽 80 ($5 \mu\text{g}/\text{日 s.c.}$); 25 3. 肽 86 ($5 \mu\text{g}/\text{日 s.c.}$); 4. 肽 95 ($5 \mu\text{g}/\text{日 s.c.}$); 5. 肽 96 ($5 \mu\text{g}/\text{日 s.c.}$)。实验 4 的另外的细节与实验 3 相同。

结果

实验 1: 在测试的 GH-RH 拮抗剂中,肽 67 和肽 62 对 PC-3 肿瘤生长的抑制作用比参照肽 JV-1-38, 美国专利 6,057, 422 的主题物要更强(表 VI)。与 30

JV-1-38(表 VII)比较, 本发明的肽还更有效地抑制血清中 IGF-I 的水平和肿瘤中 IGF-II 的水平。

表 VI.

5 实验 1: 用 GH-RH 拮抗剂进行的处理对裸鼠中 PC-3 人前列腺癌异种移植物的影响

组	肿瘤体积(mm ³)		肿瘤重量(mg) (%抑制)	肿瘤体积 倍增时间 (天)
	开始	最终 (%抑制)		
对照	50.0±7.86	501±111	378±84.0	8.97±0.71
JV-1-38	49.2±8.37	291±80.4 (42%)	239±58.0 (37%)	12.3±1.04*
肽 31	491±12.5	363±92.8 (28%)	273±53.3 (37%)	14.0±2.69
肽 67	46.8±8.11	200±39.5* (60%)	150±22.1* (60%)	17.0±3.51*
肽 62	56.1±18.2	215±50.4 (57%)	199±517 (47%)	18.4±4.96*

*p<0.05 相对于 对照

10 表 VII

实验 1: 用 GH-RH 拮抗剂进行的处理对具有 PC-3 人前列腺癌异种移植物的裸鼠中的 IGF-I 的血清水平和 IGF-II 肿瘤浓度的影响

组	血清 IGF-I(ng/mL)	肿瘤 IGF-II(pg/mg 蛋白质)
	(%抑制)	(%抑制)
对照	149±10.4	219±64.7
JV-1-38	147±8.49 (1%)	208±43.3 (5%)
肽 31	133±16.7 (11%)	130±56.0 (41%)
肽 67	128±10.6	139±69.2

	(14%)	(37%)
肽 62	141±8.86	N.I.
	(5%)	

N.I. 没有研究

实验 2:

以 5 μ g/天的剂量使用的本发明的肽 46、肽 77、肽 76、肽 70、肽 79 和肽 80 减少 PC-3 癌症的肿瘤体积和肿瘤重量 20-64%，并增加肿瘤体积倍增时间多至对照值的 101%(表 VIII)。肽 77、肽 70、肽 79、和肽 80 的作用对一个或多个这些肿瘤参数具有统计学上的显著性。相反，参照肽 JV-1-38，美国专利 6,057,422 的主题物，当以 10 μ g/天的双倍剂量使用时，没有减少肿瘤体积，并仅对 PC-3 肿瘤的重量产生 10%的轻微和不显著的抑制(表 VIII)。此外，本发明的肽 70、肽 79 和肽 80 显著减少血清 IGF-I 水平达 31%-42%，但是肽 JV-1-38 没有作用(表 IX)。

表 VIII

实验 2: 用 GH-RH 拮抗剂进行的处理对裸鼠中 PC-3 人前列腺癌异种移植物的影响

组	肿瘤体积(mm ³)		肿瘤重量(mg) (%抑制)	肿瘤体积 倍增时间 (天)
	开始	最终 (%抑制)		
对照	28.4±4.2	351±84.9	283±72.1	8.3±0.7
JV-1-38	29.3±3.8	351±72.9 (0%)	254±52.0 (10%)	8.7±0.7
肽 46	26.6±2.7	246±93.7 (30%)	188±66.1 (34%)	11.2±1.3
肽 77	27.2±3.2	192±44.1 (45%)	138±34.3 (51%)	10.7±0.8*
肽 76	26.8±3.4	232±30.8 (34%)	226±48.3 (20%)	9.4±0.6
肽 70	26.5±3.7	199±40.4*#	119±25.3*#	12.6±2.5

		(43%)	(58%)	
肽 79	29.1±4.3	139±49.4*#	153±54.5	13.6±1.8*#
		(60%)	(46%)	
肽 80	24.8±2.2	128±38.9*#	137±46.1*	16.7±4.3*#
		(64%)	(52%)	

*p<0.05 相对于 对照; # p<0.05 相对于 JV-1-38

表 IX

5 实验 2: 用 GH-RH 拮抗剂进行的处理对具有 PC-3 人前列腺癌异种移植物的裸鼠中的 IGF-I 的血清水平的影响

组	血清 IGF-I(ng/mL)	(%抑制)
对照	262±18.1	
JV-1-38	293±28.0	0%
肽 46	288±17.9	0%
肽 77	276±16.8	0%
肽 76	260±29.7	1%
肽 70	175±12.9***	33%
肽 79	181±19.8**	31%
肽 80	152±7.83***	42%

p<0.01 相对于 对照; * p<0.001 相对于 对照.

10 实验 3:

在 10 μg/天的剂量上, 所有被测试的肽显著抑制 PC-3 肿瘤的生长。肽 35、肽 36 和肽 39 比参照肽 JV-1-38 具有更有效的抗肿瘤效果(表 X)。

表 X

15 实验 3: 用 GH-RH 拮抗剂进行的处理对裸鼠中 PC-3 人前列腺癌异种移植物的影响

组	肿瘤体积(mm ³)		肿瘤重量(mg) (%抑制)	肿瘤体积 倍增时间
	开始	最终		

		(%抑制)		(天)
对照	71.1±10.5	678±172	700±152	10.6±0.96
JV-1-38	68.3±8.08	276±48.7** (66%)	386±62.9* (45%)	18.2±1.84
肽 35	65.7±11.3	261±52.9** (68%)	286±58.9* (59%)	17.0±2.32
肽 36	68.0±11.7	214±72.6** (76%)	361±89.6* (48%)	18.7±3.83
肽 37	60.0±13.0	323±68.0* (57%)	440±104 (37%)	12.7±2.03
肽 39	66.7±11.2	271±109** (66%)	247±55.4* (65%)	19.6±2.10
肽 41	66.7±12.5	341±107* (54%)	579±188 (17%)	28.2±9.85

*p<0.05 相对于 对照; **p<0.01 相对于 对照

实验 4:

5 以 5μg/天的剂量施用的所有的四个肽显著抑制裸鼠中的 PC-3 肿瘤的生长。肽 96 在该实验中具有最强的抗肿瘤作用(表 XI)。拮抗剂还抑制了所有的处理组中的血清 IGF-I 水平, 肽 86 和肽 96 的效果具有统计学上的显著性(表 XII)。

10 实验 4: 用 GH-RH 拮抗剂进行的处理对裸鼠中的 PC-3 人前列腺癌异种移植物的影响

组	肿瘤体积(mm ³)		肿瘤重量(mg) (%抑制)	肿瘤体积 倍增时间 (天)
	开始	最终 (%抑制)		
对照	56.3±10.8	1137±351	1451±343	7.3±0.52
肽 80	53.2±10.1	398±68.7* 68%	752±150* 48%	10.7±1.28*
肽 86	56.1±8.67	397±71.8* 68%	643±94.9** 56%	12.1±1.40**

肽 95	60.9±12.2	393±79.8*	666±131*	12.5±1.80*
		69%	54%	
肽 96	56.2±13.3	301±65.2**	489±114**	11.0±0.87**
		77%	66%	

*p<0.05 相对于 对照; **p<0.01 相对于 对照

表 XII

实验 4:

- 5 实验 4: 用 GH-RH 拮抗剂进行的处理对具有 PC-3 人前列腺癌异种移植物的裸鼠中的 IGF-I 的血清水平的影响

组	血清 IGF-I(ng/mL)	(%抑制)
对照	165±10.2	
肽 80	136±15.3	18%
肽 86	118±8.94*	28%
肽 95	127±17.5	23%
肽 96	114±15.5*	31%

* p<0.05 相对于 对照

- 10 GH-RH 拮抗剂对裸鼠中 HT-29 人结肠癌异种移植物的影响

将 HT-29 人结肠癌 sc 移植到雄性裸鼠中。移植 19 天后, 将小鼠分成两组, 每组 10 只动物, 并开始处理。在处理组中的小鼠以 10 μg/天的剂量接受肽 67 sc. 单一每日注射达 62 天, 而将对照组用赋形剂溶剂进行注射。常规测量肿瘤, 并计算肿瘤体积。在实验结束时, 处死小鼠并测量肿瘤重量。

15

结果

与对照组相比, 用肽 67 处理 62 天导致裸鼠中生长的 HT-29 肿瘤中体积的 56.3%和重量的 53.9%的显著抑制(表 XIII)。

- 20 表 XIII

用 GH-RH 拮抗剂肽 67 进行的处理对裸鼠中 HT-29 人结肠癌异种移植物的

影响

组	最终肿瘤体积(mm ³)	肿瘤重量(mg)
对照	2792±643	3112±543
肽 67	1218±320*	1434±405*

* p<0.05 相对于 对照

5 GH-RH拮抗剂对异种移植到裸鼠中的DMS-153人小细胞肺癌(SCLC)的影响

用 3mm³ 的 DMS-153 人 SCLC 组织块对雄性裸鼠进行 s. c. 植入。当肿瘤的体积达到约 100mm³ 时，将小鼠分成 3 个实验组，每组 6-8 只动物并接受如下处理达 6 周：组 1(对照)，赋形剂溶液；组 2，肽 67(10 μg/天 s. c.)；
10 组 3，肽 31(10 μg/天 s. c.)。一周两次记录肿瘤体积。处理结束时，用异氟烷将小鼠麻醉，用断头术将其杀死，收集躯干血进行血清 IGF-I 的测量，切除肿瘤并进行称重。将数据表示为平均值±S.E。通过一种方式 ANOVA 和 Student-Newman-Keuls 检验来评价数据。

15 结果

与对照相比，接受 GH-RH 拮抗剂，肽 67 或肽 31 的处理的动物的肿瘤重量明显减少(表 XIV)。接受肽 67 的组的肿瘤体积还明显更小。此外，与在对照动物中的那些相比，两种拮抗剂显著减少 IGF-I 的血清水平(表 XIV)。IGF-II 的 mRNA 的表达被两种拮抗剂同样地抑制，表达的水平是在对照组中是 100±1.5%，和在用肽 67 处理组中是 78.0±44.3%以及在接
20 受肽 31 组中是 42.7±18.5%。肽 31 对 IGF-II mRNA 表达的抑制影响具有统计学上的显著性(p < 0.01 相对于 对照)。

表 XIV

25 用 GH-RH 拮抗剂进行的处理对裸鼠中 DMS-153 人 SCLC 异种移植和血清 IGF-I 水平的影响

组	肿瘤重量(g) (% 抑制)	肿瘤体积 (mm ³)		血清 IGF-I
		开始	最终(% 抑制)	(ng/mL) (% 抑制)
对照	2.31±0.25	112±13	3641±431	169.0±9.9
肽 67	1.60±0.19* (31%)	132±24	2650±30* (28%)	117.9±17.2* (30%)
肽 31	1.58±0.11* (32%)	138±20	3329±180 (10%)	118.4±12.5* (30%)

*P<0.05 相对于 对照

GH-RH 拮抗剂对异种移植到裸鼠中的 H-69 人 SCLC 的影响

用 3mm³ 的 H-69 人 SCLC 组织块对雄性裸鼠进行 s. c. 植入。当肿瘤的
5 体积达到约 80mm³ 时, 将小鼠分成 4 个实验组, 每组 7-8 只动物并接受如
下处理达 4 周: 组 1(对照), 赋形剂溶液; 组 2, 肽 67(10 μg/天 s.c.); 组 3,
肽 31(10 μg/天 s. c.); 组 4, 肽 72(10 μg/天 s.c.)。一周两次记录肿瘤体积。
处理结束时, 用异氟烷将小鼠麻醉, 以断头术将其杀死, 切除肿瘤并进行
称重。将数据表示为平均值 ± S.E。通过一种方式 ANOVA 和
10 Student-Newman-Keuls 检验来评价数据。

结果

以 10 μg/天的剂量单一每日注射给药的所有的 GH-RH 拮抗剂明显抑
制裸鼠中 H-69 肿瘤的生长。在测试的化合物中, 肽 72 具有最强的抗增生
15 效果(表 XV)。

表 XV

用 GH-RH 拮抗剂进行的处理对裸鼠中的 H-69 人 SCLC 异种移植物的影响

组	肿瘤体积 (mm ³)	
	开始	最终(% 抑制)

对照	81±13	2350±189
肽 67	82±10	501±35* (76%)
肽 31	80±6	832±23* (67%)
肽 72	81±9	308±23* (90%)

*p<0.001 相对于 对照