

(19) Országkód:

HU



**MAGYAR
KÖZTÁRSASÁG
ORSZÁGOS
TALÁL MÁNYI
HIVATAL**

SZABADALMI LEÍRÁS

(11) Lajstromszám:

205 771 B

(21) A bejelentés száma: 4456/89
(22) A bejelentés napja: 1989. 07. 19.
(30) Elsőbbségi adatok:
88/17379 1988. 07. 21. GB
89/06900 1989. 03. 28. GB
(86) Nemzetközi bejelentési szám: PCT/EP 89/00842
(87) Nemzetközi közzétételi szám: WO 90/01037

(51) Int. Cl.⁵

C 07 K 7/06

C 07 K 7/08

A 61 K 37/02

(40) A közzététel napja: 1991. 03. 28.

(45) A megadás meghirdetésének dátuma a Szabadalmi
Közlönyben: 1992. 06. 29. SZKV 92/06

(72) Feltalálók:

de Castiglione, Roberto, Milánó (IT)
Galantino, Mauro, Milánó (IT)
Corradi, Fabio, Milánó (IT)
Gozzini, Luigia, Milánó (IT)
Ciomei, Marina, Torre d'Isola (IT)
Molinari, Isabella, Milánó (IT)

(73) Szabadalmas:

Farmitalia Carlo Erba S.r.l., Milánó (IT)

(54) **Eljárás bombezín-receptorokhoz irreverzibilisen kötődő
peptid-ligandumok előállítására és eljárás hatóanyagként e peptideket
tartalmazó gyógyászati készítmények előállítására**

(57) KIVONAT

A szokásos peptid-kémiai eljárásokkal előállított (I)
általános képletű peptidok – a képletben

A jelentése hidrogénatom, terc-butoxi-karbonil-
csoport vagy acetyl csoport és

B és C közül az egyik pMel vagy mMel maradékot
jelent, ahol a Mel jelentése (a) képletű csoport, míg a
másik jelentése közvetlen kötés, Leu-Gly, Gln-E-
Leu-Gly vagy Lys(AO-Gly maradék, ahol

E jelentése Arg(A), és

D jelentése közvetlen kötés, vagy Asn vagy Thr ma-
radék,

X jelentése Gly vagy ala maradék,

Y jelentése közvetlen kötés, vagy His(R₁), Phe vagy

phe maradék,

T jelentése közvetlen kötés vagy Leu maradék,

W jelentése hidroxilcsoport, aminocsoport, pentil-
amino-csoport vagy Met-R₂, Leu-R₂, Ile-R₂ vagy
Nle-R₂ maradék,

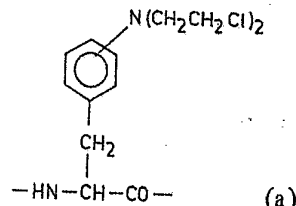
R₁ jelentése hidrogénatom vagy 2,4-dinitro-fenil-
csoport, és

R₂ jelentése aminocsoport –

és sóik irreverzibilisen gátolják a bombezín-recep-
torokat, így gyógyászati készítmények hatóyaga-
ként a GRP-peptidek által modulált daganatok keze-
lésére használhatók. (Megjegyzés: az aminosav-rövi-
dítések kis kezdőbetűje a D-konfigurációt jelzi.)



(I)



A leírás terjedelme: 10 oldal (ezen belül 1 lap ábra)

HU 205 771 B

A találmány tárgya eljárás új, biológiailag aktív peptidok és gyógyászatiilag elfogadható sóik, valamint hatóanyagként e vegyületeket tartalmazó gyógyászati készítmények előállítására.

A leírásban a peptid-kémia területén szokásosan alkalmazott szimbólumokat és rövidítéseket használjuk [lásd Eur. J. Biochem. 138, 9 - 37 (1984)]. Így a hárombetűs aminosav-szimbólumok L-konfigurációjú optikailag aktív aminosavakat jelentenek. A D-aminosavakat kisbetűkkel jelöljük: például ala jelentése D-Ala. Az egyéb használt rövidítések.

Aa aminosav

AcOEt etil-acetát

AcOH ecetsav

BzL benzil

PBS bombezín

Boc terc-butoxi-karbonil

BuOH butil-alkohol

CCD ellenáramú megoszlás

DCC N,N'-dicyklohexil-karbodiimid

DMAP 4-(dimetil-amino)-piridín

DMF dimetil-formamid

Dnp 2,4-dinitro-fenil

ECC etil-klór-karbonát

Et₂O dietil-éter

h-GRF (vagy p-GRF) humán (vagy sertés) gasztrint felszabadító peptid

HCl/AcOH száraz sósav vízmentes ecetsavban

HOBt 1-hidroxi-benzotriazol

i.c.v. intracerebroventrikuláris

MeOH metil-alkohol

o.p. olvadáspont

mMel m-bisz(2-klór-etil)-amino-L-fenilalanin

n.v. nem vizsgált

NMMN-metil-morfolin

pMel p-bisz(2-klór-etil)-amino-L-fenilalanin

HPLC nagy nyomású folyadékkromatográfia

OSu N-hidroxi-szukcinimidil

TFA trifluor-ecetsav

THF tetrahidrofurán

TLC vékonyréteg-kromatográfia

Tos p-zoluolszulfonil

TsOH p-toluolszulfonsav

Z benzil-oxi-karbonil

A találmány közelebbről bombezín-antagonista aktivitással rendelkező peptidok előállítására vonatkozik, amelyek a gyógyászatban a GRF-családba tartozó peptidoktól függő humán daganatok kezelésére használhatók.

Korábban előállított már bombezín-antagonista hatású peptidokat, de azok a vegyületek csak kismértékű affinitást mutattak BBS-receptorokhoz [A.Cowan, TIPS, 9 1-3 (1988)].

A találmány szerinti eljárás az (I) általános képletű peptidok - a képletben

A jelentése hidrogénatom, terc-butoxi-karbonil-csoport vagy acetilcsoport és

B és C közül az egyik pMel vagy mMel maradékot jelent, míg a másik jelentése közvetlen kötés, Leu-Gly, Gln-E-Leu-Gly vagy E-Gly maradék, ahol

E jelentése Arg(A), vagy Lys(A), és

D jelentése közvetlen kötés, vagy Ans vagy Thr maradék,

X jelentése Gly vagy ala maradék,

5 Y jelentése közvetlen kötés, vagy His(R₁), Phe vagy phe maradék,

T jelentése közvetlen kötés vagy Leu maradék,

W jelentése hidroxilcsoport, aminocsoport, pentil-amino-csoport vagy Met-R₂, Leu-R₂, Ile-R₂ vagy 10 Nle-R₂ maradék,

R₁ jelentése hidrogénatom vagy 2,4-dinitro-fenil-csoport, és

R₂ jelentése aminocsoport - és sóik előállítására vonatkozik.

15 Az (I) általános képletű peptidok sói gyógyászatiilag elfogadható savakkal képzett sók lehetnek. A fenti sókat különféle szervetlen és szerves savakkal, például kénsavval, foszforsavval, sósavval, hidrogén-bromiddal, hidrogén-jodiddal, salétromsavval, szulfaminsavval, citromsavval, borostyánkóssavval, borkóssavval, fahéjsavval, ecetsavval, trifluor-ecetsavval, benzoosavval, szalicilsavval, glükonsavval, aszkorbinsavval vagy hasonló savakkal képezhetjük.

A bombezín egy tetradekapeptid, amelynek képlete: Glp-Gln-Arg-leu-Gly-Asn-Gln-Trp-Ala-Val-Gly-His-Leu-Met-NH₂, és amelyet eredetileg béka bőréből izoláltak. A biológiai aktivitásért a molekula C-terminális része felelős. A BBS(6-14) nonapeptid ugyanolyan aktivitású, mint az alapvegyület. A bombezín humán megfelelője egy 27 aminosavból álló peptid, amely mint gasztrint felszabadító hormon (h-GRP) ismert. A bombezín és a vele rokon peptidok számos biológiai aktivitással rendelkeznek [J.H. Walsh

30 „Brain Peptides”, D.T. Krieger, M.J. Brownstein és J.B. Martin (szerkesztők), Wiley Interscience Publ., 941-960. oldal (1983)], többek között humán kis sejtjes tüdő-karcinómán autokrin növekedést serkentő hatást fejtenek ki [F. Cuttitta és munkatársai, Cancer Survey, 4, 707-727 (1985)], autokrin és/vagy parakrin stimuláló hatást fejtenek ki humán prosztatarák-sejtek proliferációjára (M. Bologna és munkatársai, Cancer, közlés alatt), és modulálják az EGF-receptorokat [I. Zachary és E. Rozengurt, Cancer Surveys, 4, 729-765 (1985)].

35 Így várható, hogy egy bombezín-antagonista hatású vegyület - a természetes ligandummal a receptorhelyekért folytatott versengés következtében - gátolni vagy módosítani fogja az abnormális sejtszét-proliferációhoz vezető események kaskádjának beindulását.

40 Az (I) általános képletű alkilező bombezín-analógok bombezín-antagonista hatású vegyületek, ezért olyan humán daganatok kezelésére használhatók, amelyek növekedését és kifejlődését - akár közvetlenül, akár más növekedési faktorokkal együtt - a GRP-peptidok módosítják.

45 Ezért a találmány szerinti eljárással előállított, alkilező analógokat a fenti betegségekkel kapcsolatos klinikai tüneteket, és a GRP-szerű peptidok hipersekreciója következtében fellépő klinikai tünetek kezelésére használhatjuk.

50 55 60

A találmány szerinti eljárással előállított vegyületeket szokásos módon – például parenterálisan, így intravénás injekció vagy infúzió formájában, vagy intramuszkulárisan, szubkután, intracavitárisan és intranazálisan – adagolhatjuk.

A dózis a kezelendő beteg korától, testtömegétől, a beteg állapotától és az adagolás módjától függ.

Az in vitro és egerekben in vivo végzett vizsgálatok szerint a gyógyszerileg hatásos dózis humán gyógyszerben kb. 10 ng/kg – 10 mg/kg lehet, naponta 1–6 alkalommal adva.

A találmány további tárgya ennek megfelelően eljárás gyógyászati készítmények előállítására, amelyek hatóanyagként egy (I) általános képletű vegyületet vagy annak egy gyógyszerileg elfogadható sóját tartalmaznak, a szokásos, gyógyszerileg elfogadható hordozó- és/vagy egyéb segédanyagokkal kombinálva.

A fenti gyógyászati készítményeket rendszerint a gyógyszerkészítésben szokásos eljárásokkal állítjuk elő, és megfelelő készítmény formájában adagoljuk.

Így például az intravénás injektálásra vagy infúzióra alkalmas oldatok hordozóanyagként steril vizet tartalmazhatnak, vagy steril, vizes izotóniás sóoldatok formájában lehetnek.

Az intramuszkulárisan adagolható injekciós oldatok vagy szuszpenziók a hatóanyagon kívül gyógyszerileg elfogadható hordozóanyagot, például steril vizet, olívaolajat, etil-oleátot, glikolokat, így propilén-glikol, és kívánt esetben megfelelő mennyiségű lidokain-hidrogén-kloridot is tartalmazhatnak.

A találmány szerinti eljárással előállított gyógyászati készítmények – mint már említettük – neuroendokrin daganatok – például kis szjetes tüdő-karcinoma és prosztata karcinoma –, vagy ezekkel a betegségekkel kapcsolatos klinikai tünetek kezelésére használhatók, oly módon, hogy az arra rászoruló betegnek a találmány szerinti eljárással előállított gyógyászati készítményt megfelelő dózisban adagoljuk.

Az (I) általános képletű peptidket a klasszikus, oldat-fázisban lefolytatott eljárásokkal állíthatjuk elő. A szintézis lényegében a védett aminosavak vagy peptid-fragmentumok megfelelő, egymást követő kondenzálásából áll. A kondenzációs lépéseket úgy hajtjuk begre, hogy a kapott peptidben az aminosav-maradékok a kívánt sorrendben helyezkedjenek el.

A peptid-kémiában szokásosan alkalmazott eljárásokkal kondenzálható aminosavak és peptid-fragmentumok a peptid-kötés kialakításában részt nem vevő amino- és karboxilcsoportjaikat megfelelő védőcsoportokkal blokkolt formában tartalmazzák, amelyeket azután savas vagy lúgos hidrolizissal vagy hidrogenolizissal eltávolíthatunk.

Az aminosavcsoportok védésére például az alábbi védőcsoportok alkalmazhatók: benzil-oxi-karbonil-, terc-butoxi-karbonil-, tritil-, formil-, trifluor-acetil-, o-nitro-fenil-szulfenil-, 4-metoxi-benzil-oxi-karbonil-, 9-fluorenil-metoxi-karbonil-, 3,5-dimetoxi- α,α -dimetil-benzil-oxi-karbonil- vagy metil-szulfonil-etoxi-karbonil-csoport.

A karboxil-védőcsoportok például az alábbiak le-

hetnek:

metil-, etil-, terc-butil-, benzil-, p-nitro-benzil-, fluorenil-metil-, amido-, hidrazido-, terc-butoci-karbonil-hidrazido- vagy benzil-oxi-karbonil-hidrazido-csoport.

A hidroxil-aminosavak hidroxilcsoportját és a hisztidin iminocsoportját megfelelő védőcsoportokkal védhetjük – a teljes szintézis alatt, vagy csak néhány lépés során –, de a fenti csoportok védetlen formában is lehetnek. A hidroxilcsoport védésére például az alábbi védőcsoportok alkalmazhatók: terc-butil-, benzil-, acetilcsoport. Az imidazol iminocsoportjának védésére megfelel például a 2,4-dinitro-fenil-, tozil-, benzilcsoport. A védőcsoportok eltávolítását a peptid-kémia területén szokásos eljárásokkal végezhetjük.

Az egyik molekula aminosavcsoportjának a másik molekula karboxilcsoportjával való kondenzálásával a peptid-kötés kialakítását aktivált sav-számrazecon – például vegyes anhidriden, azidon vagy aktív észteren – keresztül végezhetjük, vagy a szabad aminosavcsoportot és a szabad karboxilcsoportot közvetlenül kondenzálhatjuk, kondenzálószer – például dikiklohexil-karboximid – jelenlétében, kívánt esetben egy racemizációt gátló szert – például N-hidroxi-szukcinimiet vagy 1-hidroxi-benzotriazol – és aktiválószer – például 4-(dimetil-amino)-piridint – is használhatunk. A kondenzálást oldószerben – például dimetil-formamidban, dimetil-acetamidban, piridinben, acetonitrilben, tetrahydrofuránban vagy N-metil-2-pirrolidonban – játszhatjuk le.

A reakcióhőmérséklet $-30\text{ }^{\circ}\text{C}$ és szobahőmérséklet között változhat. A reakcióidő általában 1–120 óra lehet.

A szintézisutat, a védőcsoportokat és a kondenzálószerket úgy választjuk meg, hogy a racemizáció lehetőségét elkerüljük.

Az R_f értékeket szilikagél 60 F₂₅₄-ből (Merck) kialakított, 0,25 mm vastagságú, 20 cm magasságú vékonyrétegen határozzuk meg, az alábbi futtatási rendszereket használva:

A rendszer: etil-acetát:benzol:ecetsav:víz = 500:500:100:50 térfogatarányú elegy (felső fázis)
 B rendszer: etil-acetát:benzol:ecetsav:víz = 500:500:200:75 térfogatarányú elegy (alsó fázis)
 C rendszer: n-butanol:ecetsav-víz = 600:150:150 térfogatarányú elegy
 D rendszer: kloroform:metanol:30%-os ammónium-hidroxid = 488:338:150 térfogatarányú elegy
 E rendszer: kloroform:metanol = 90:10 térfogatarányú elegy
 F rendszer: toluol:etil-acetát:ecetsav:víz = 100:100:20:10 térfogatarányú elegy

A vékonyréteg-kromatográfiai elemzést $18\text{--}25\text{ }^{\circ}\text{C}$ -on végezzük, az R_f értékek ennek megfelelően $\pm 5\%$ eltérést mutathatnak.

A nagynyomású folyadékkromatográfiai eljárást Hewlett-Packard 1084B készülékkel végezzük, amely 210 nm-en működő UV-detektorral van ellátva. A peptidket 4 x 250 mm-es Lichrosorb RP 18 5 n oszlopon választjuk szét. A használt oldószer-rendszerek az

alábbiak:

A) 0,02 mó/l KH_2PO_4 (pH 3,5-re állítva 3%-os

H_3PO_4 -val):acetonitril = 9:1 térfogatarányú elegy

B) 0,02 mó/l KH_2PO_4 (pH 3,5-re állítva 3%-os

H_3PO_4 -val):acetonitril = 3:7 térfogatarányú elegy.

Az eluálást a B elegy 60–90% lineáris gradiensevel végezzük, 20 perc alatt (A rendszer), vagy a B elegy 30–70% lineáris gradiensevel 15 perc alatt (B rendszer), majd 15 percen keresztül izokratikusan, 1 ml/perc átfolyási sebesség mellett.

A peptideket retenciós idejükkel (R_t) jellemezzük.

Az aminosav-analizist savas hidrolizátumokban (110 °C-on 22 órán keresztül 6 n sósavoldattal + 0,1% fenollal; vagy 100 °C-on 16 órán keresztül 3 n merkaptó-etánszulfonsavval; mindkét esetben nitrogénatmoszférában) végezzük. Csak a természetes aminosav-maradékokat határozzuk meg. A normális hidrolizis körülmények közötti részleges bomlás miatt a Trp-t csak szulfonsavas hidrolizátumokban határozzuk meg.

A találmány szerinti eljárással előállított vegyületek biológiai hatását az alábbiak szerint vizsgáljuk.

Az (I) általános képletű vegyületek bombezín-receptorokhoz való affinitását Swiss 3T3 egér fibroblasztokon határozzuk meg [I. Zachary és E. Rozengurt, Proc. Natl. Acad. Sci. USA, 82, 7616-7620 (1981)]. Az eredményeket az 1. táblázatban ismertetjük.

A mitogenezisre kifejtett hatást szérumentes közegben fenntartott, nyugalomban levő és összefüggő Swiss 3T3 sejteken határozzuk meg [A.N. Corps és munkatársai, Biochem. J., 231, 781-785 (1985)]. Az első kísérletsorozatban az analógokat vagy egyedül, vagy bombezinnel együtt adjuk a tenyészethez. A második kísérletsorozatban a sejteket előkezeljük az alkilező peptidokkal, majd a sejteket mossuk, 37 °C-on 24 órán keresztül állni hagyjuk, és ezután reagáltatjuk a bombezinnel. A DNS-szintézist mindkét esetben a [^3H]-timidin beépüléssel értékeljük ki (2. táblázat).

A bombezín és analógja mitogén hatását szintén meghatározzuk, a protein-tirozín-kináz aktivitásaként, amely a bombezín-receptor komplexszel kapcsolódó 115000 móltömegű proteint (p115-öt) foszforilezi. [D. Cirillo és munkatársai, Mol. Vell. Biol. 6, 4641-4649 (1986)]. Az eredményeket a 3. táblázatban foglalkozunk össze.

Ezenkívül SCLC sejt vonalat (például NCI-H345-öt, NCI-N592-t, NCI-H128-at), valamint prosztata-karcinoma sejt vonalakat (például DU145-öt és PC3-at) 0,1–50 nmól/l koncentrációtartományban a találmány szerinti peptidokkal kezelve, jelentős csökkenés figyelhető meg a sejtek szaporodásában.

Csupasz egerekbe transzplantált humán SCLC és prosztata-karcinoma sejt vonalak szaporodása is jelentősen csökken, ha az egereknek parenterálisan 10 ng/kg – 10 mg/kg testtömeg dózisban találmány szerinti eljárással előállított peptidet adunk.

A perifériális és centrális hatásokat patkányon vizsgáljuk, in vitro, a húgyhólyag összehúzódásával [M. Broccardo és munkatársai, Br. J. Pharmac. 55, 221-227 (1975)] és in vivo, i.c.v. adagolás esetén, a

tisztálkodási viselkedés megfigyelésével [A. Cowan és munkatársai, Life Sciences, 37, 135-145 (1985)], bombezín jelenlétében, és anélkül.

5 1. példa

Boc-pMel-Gln-Trp-Ala-Val-Gly-OH (III vegyület) előállítása

1. lépés: Boc-pMel-OH (I vegyület)

0,684 g (1,85 mmól) H-pMel-OEt.Hcl-t [F. Bergel és J.A. Stock, J. Chem. Soc. 2409-2417 (1954)] és 0,485 g (2,2 mmól) $(\text{Boc})_2\text{O}$ -t 40 ml vízben és 8 ml terc-butanolban oldunk. Az oldat pH-ját 1 n nátrium-hidroxid-oldattal 10-re állítjuk, 15 percen keresztül keverjük, majd hozzáadunk 40 ml vizet és 110 ml metanolt, és a

15 pH-t 1 n nátrium-hidroxid-oldattal 13,5-re állítjuk. A reakcióelegyet szobahőmérsékleten 1 órán keresztül keverjük, majd pH-ját 1 n sósavoldattal 8,5-re állítjuk, és vákuumban koncentrálnak. A vizes oldatot négyszer 30 ml n-hexánnal mossuk, majd -5 °C-ra hűtjük, 1 n sósavoldattal pH2-re savanyítjuk keverés közben, és négyszer 30 ml lehűtött etil-acetáttal extraháljuk. A szerves fázisokat összegyűjtjük, telített nátrium-klorid-oldattal semlegesre mossuk, vízmentes nátrium-szulfát felett szárítjuk, szűrjük, és vákuumban bepároljuk. A maradékot diklór-metán és ecetsav

20 99:1 térfogatarányú elegyében oldjuk és szilikagélén, gyorskromatográfiás eljárással tisztítjuk, az eluálást is a fenti oldószerkeleggyel végezzük.

0,7 g (77,8%) cím szerinti I vegyületet kapunk, olaj formájában, $R_{FA} = 0,70$.

2. lépés: Boc-pMel-Gly-Trp-Ala-Val-Gly-OBzl (II vegyület)

0,6 g (1,48 mmól) Boc-pMel-OH-t (I vegyület) 10 ml vízmentes THF-ban oldunk. Az oldatot -20 °C-ra hűtjük, és egymás után hozzáadunk 0,16 ml (1,48 mmól) NMM-t és 0,15 ml (1,48 mmól) ECC-t. Az elegyet a fenti hőmérsékleten 2 percen keresztül keverjük, majd 1,02 g (1,48 mmól) H-Gln-Trp-Ala-Val-Gly-OBzl.Hcl (saját 8808768.9 számú nagy-britanniai szabadalmi leírásunk) és 0,16 ml (1,48 mmól) NMM 10 ml vízmentes DMF-dal készült, hideg oldatát adjuk hozzá. A reakcióelegyet -10 és -15 °C közötti hőmérsékleten 2 órán keresztül keverjük, majd szűrjük és vákuumban bepároljuk.

45 A maradékot 20 ml DMS-ban oldjuk és cseppenként hozzáadunk 40 ml 10%-os citromsavoldat 5 °C-os oldatához. Az elegyet 10 °C alatti hőmérsékleten 1 órán keresztül keverjük, majd szűrjük és vízzel semlegesre mossuk.

50 1,4 g (91,5%) cím szerinti II vegyületet kapunk, $R_{FB} = 0,48$.

3. lépés: Boc-pMel-Gln-Trp-Ala-Val-Gly-OH (III vegyület)

55 1,2 g (1,16 mmól) Boc-pMel-Gln-Trp-Ala-Val-Gly-OBzl (II) 24 ml vízmentes THF-nal készült oldatához 0,44 g 10% fémet tartalmazó szénhordozós palládium-katalizátort és 1,2 ml hangyasavból, 3,3 ml NMM-ből és 100 ml metanoltól készült, előmelegített oldatából 24 ml-t adunk. A reakcióelegyet 40 °C-on 15 percen

60 keresztül keverjük, majd szobahőmérsékletre hűtjük,

szűrjük, és vákuumban bepároljuk. A maradékot FMD-ban oldjuk és etil-acetáttal kicsapjuk. 1,1 g nyersterméket kapunk.

A kapott terméket ellenáramú megoszlásos módszerrel tisztítjuk, víz, DMF, n-butanol és etil-acetát 40:3:20:80 térfogatarányú elegyből álló oldószerrendszerben. A terméket tartalmazó frakciókat összegyűjtjük és vákuumban bepároljuk. A maradékot DMF-dal, metanollal és etil-acetáttal eldörzsöljük.

0,680 g (63%) cím szerinti III vegyületet kapunk, $R_{FD} = 0,54$;

$R_{tA} = 8,4$;

Aminosav arányok: Glu 0,93 (1), Gly 0,99 (1), Ala 0,99 (1), Val 1 (Trp és pMel n.v.).

2. példa

Boc-pMel-Gln-Trp-Ala-Val-Gly-His(Dnp)-Leu-Met-NH₂ (IV vegyület) előállítás

0,330 g (0,35 mmól) Boc-pMel-Gln-Trp-Ala-Val-Gly-OH (III) 3 ml vízmentes THF-nal készült oldathoz 0,053 g (0,39 mmól) vízmentes HOBt-t, 0,081 g (0,39 mmól) DCC-t, 0,235 g (0,39 mmól) H-His(Dnp)-Leu-Met-NH₂.HCl-ot [F. Angelucci és R. de Castiglione, *Experientia*, 507-508 (1975)] és 0,043 ml (0,39 mmól) NMM-t adunk egymás után. A reakcióelegyet 0 °C-on 1 órán keresztül és szobahőmérsékleten 30 órán keresztül keverjük, majd szűrjük és vákuumban bepároljuk.

A maradékot 3 ml vízmentes DMF-ban oldjuk, és 10 °C alatti hőmérsékleten, cseppenként 6 g nátrium-kloridot és 3 g citromsavat tartalmazó 30 ml vizes oldathoz adjuk. Az elegyet 10 °C alatti hőmérsékleten 1 órán keresztül keverjük, majd a szuszpenziót szűrjük és a terméket semlegesre mossuk.

A kapott nyersterméket kétszer 10 ml vízmentes DMF-ból bepároljuk, majd 3 ml vízmentes DMF-ban oldjuk és 10 °C alatti hőmérsékleten, cseppenként 1,5 g nátrium-hidrogén-karbonátot és 6 g nátrium-kloridot tartalmazó 30 ml vizes oldathoz adjuk. Az elegyet 1 órán keresztül keverjük, majd szűrjük és vízzel semlegesre mossuk.

0,5 g (95,6%) cím szerinti IV vegyületet kapunk.

$R_{FD} = 0,84$;

$R_{tA} = 21,2$;

Aminosav arányok: Trp 0,97 (1), Glu 1,00 (1), Gly 1, Ala 1,00 (1), Val 1,00 (1), Met 1,10 (1), Leu 1,04 (1) (pMel és His (Dnp) n.v.).

3. példa

H-pMe-Gln-Trp-Ala-Val-Gly-His(Dnp)-Leu-Met-NH₂.HCl (V vegyület) előállítás

0,10 g (0,067 mmól) Boc-pMel-Gln-Trp-Ala-Val-Gly-His(Dnp)-Leu-Met-NH₂-t (IV) 0,2 ml 2-merkaptó-etanolt és 0,1 ml anizolt tartalmazó, 1 ml 1,33 n HCl/AcOH oldattal reagáltatunk. A reakcióelegyet szobahőmérsékleten 30 percen keresztül keverjük, majd vákuumban bepároljuk. A maradékot dietil-éterrel eldörzsöljük.

0,080 g (83,5%) cím szerinti V vegyületet kapunk.

$R_{tC} = 0,57$;

$R_{tA} = 9,3$;

Aminosav arányok: Glu 0,99 (1), Gly 0,98 (1), Ala 1,04 (1), Val 1,10 (1), Met 0,82 (1), Leu 0,81 (1) (Trp, pMel és His(Dnp) n.v.).

4. példa

Boc-pMel-Gln-Trp-Ala-Val-Gly-His-Leu-Met-NH₂ (VI vegyület) előállítás

0,4 g (0,27 mmól) Boc-pMel-Gln-Trp-Ala-Val-Gly-His(Dnp)-Leu-Met-NH₂-t (IV) 400 ml vízmentes DMF-ben oldunk, majd hozzáadunk 5,36 ml 0,1 mól/l koncentrációjú kálium-dihidrogén-foszfát-oldatot (amelynek pH-ját 1 n kálium-hidroxid-oldattal 8,1-re állítottuk), és 20 ml 2-merkaptó-etanolt. A reakcióelegyet szobahőmérsékleten 2 órán keresztül keverjük, majd vákuumban koncentrálnak. A maradékot ellenáramú megoszlásos eljárással tisztítjuk, oldószerrendszerként víz, n-butanol és ecetsav 40:35:1 térfogatarányú elegyet használva. A tiszta terméket tartalmazó frakciókat összegyűjtjük és vákuumban bepároljuk.

0,35 g (100%) cím szerinti VI vegyületet kapunk.

$R_{tC} = 0,63$; $R_{FD} = 0,82$;

$R_{tA} = 14,2$;

25 Aminosav arányok: Glu 1, Gly 1,00 (1), Ala 1,04 (1), Val 1,04 (1), Met 0,94 (1), Leu 1,02 (1), His 0,95 (1), Trp 0,88 (1) (pMel n.v.).

5. példa

H-pMel-Gln-Trp-Ala-Val-Gly-His-Leu-Met-NH₂.2HCl (VII vegyület) előállítás

0,1 g (0,075 mmól) Boc-pMel-Gln-Trp-Ala-Val-Gly-His-Leu-Met-NH₂-ből (VI) a védőcsoportot a 3. példában leírtak szerint eltávolítjuk.

35 0,089 g (91%) cím szerinti VII vegyületet kapunk.

$R_{tC} = 0,45$;

$R_{tB} = 11,3$;

40 Aminosav arányok: Glu 1,06 (1), Gly 1,00 (1), Ala 0,99 (1), Val 1, Met 0,94 (1), Leu 0,96 (1), His 0,94 (1) (Trp és pMel n.v.).

6. példa

Boc-pMel-Trp-Ala-Val-Gly-phe-Leu-Met-NH₂ (VIII vegyület) előállítás

45 0,15 g (0,16 mmól) Boc-pMel-Gln-Trp-Ala-Val-Gly-OH-t (III) 12 ml vízmentes DMF-ban oldunk, és hozzáadunk 0,023 g (0,169 mmól) vízmentes HOBt-t. A 0 °C-ra hűtött oldathoz egymás után 0,041 g (0,177 mmól) DCC-t, 0,085 g (0,192 mmól) H-phe-Leu-Met-NH₂.HCl-t (saját 8808768.9 számú nagy-britanniai szabadalmi leírásunk 1. példa 14. lépése) és 0,022 ml (0,192 mmól) NMM-t adunk. A reakcióelegyet 0 °C-on 15 percen keresztül keverjük, majd hozzáadunk 0,002 g (0,016 mmól) DMAP-t. A reakcióelegyet 0 °C-on 1 órán keresztül, és szobahőmérsékleten egy éjszaka keresztül keverjük, majd szűrjük és vákuumban bepároljuk. A maradékot 3 ml vízmentes DMF-ban oldjuk és cseppenként, 10 °C alatti hőmérsékleten 3 g citromsavat és 6 g nátrium-kloridot tartalmazó 30 ml vizes oldathoz adjuk. Az elegyet 1 órán keresztül ke-

verjük, majd a szilárd anyagot szűrjük és vízzel semlegesre mossuk. A terméket ezután 10 ml vízben és DMF-ban oldjuk és vákuumban bepároljuk. A maradékot dietil-éterrel eldörzsöljük.

0,190 g (88,8%) cím szerinti VIII nyerstermékot kapunk. Az anyag egy részét fordított fázisú fél-preparatív HPLC eljárással tisztítjuk, 0,05%-os TFA (A) és 0,05% TFA/acetonitril = 3/7 (B) oldószerrendszer 70%–90% B lineáris gradiensével eluálunk.

$$R_{fC} = 0,85;$$

$$R_{tA} = 18,4;$$

Aminosav arányok: Glu 0,90 (1), Gly 1,14 (1), Ala 1,02 (1) Val 0,99 (1), Met 0,94 (1), Leu 1,08 (1), phe 0,96 (1), Trp 0,96 (1) (pMel n.v.).

7. példa

Boc-mMel-Gln-Trp-Ala-Val-Gly-OH (IX vegyület) előállítás

A cím szerinti vegyületet az 1. példában leírtak szerint eljárva állítjuk elő, Boc-mMel-OH-ból kiindulva, amelyet H-mMel-OH-ból [H.F. Gram és munkatársai, J. Med. Chem. 6, 85-87 (1963)] állítunk elő.

$$R_{fD} = 0,56;$$

$$R_{tA} = 8,5;$$

Aminosav arányok: Glu 0,93 (1), Gly 0,95 (1), Ala 0,95 (1), Val (1) (Trp és mMel n.v.).

8. példa

Boc-mMel-Leu-Gly-Thr-Gln-Trp-Ala-Val-Gly-Leu-Met-NH₂ (XIV vegyület) előállítás

1. lépés: Boc-Leu-Gly-OBzl (X vegyület)

2,33 ml (20,7 mmól) NMM-t és 2,91 ml (20,7 mmól) izobutil-klór-karbonátot adunk egymás után 4,8 g (20,7 mmól) Boc-Leu-OH 70 ml vízmentes THF-nal készült, -25 °C-ra hűtött oldatához. A reakcióelegyet kb. -12 °C-on 3 percen keresztül keverjük, majd hozzáadjuk 6,98 g (20,7 mmól) H-Gly-OBzl.TsOH és 2,33 ml (20,7 mmól) NMM 50 ml vízmentes DMF-dal készült oldatát. A reakcióelegyet kb. -12 °C-on 45 percen keresztül, majd 0 °C-on 90 percen keresztül keverjük, majd szűrjük és vákuumban bepároljuk. A maradékot etil-acetátban oldjuk és egymás után 10%-os vizet citromsavoldattal, nátrium-klorid-oldattal, 5%-os nátrium-hidrogén-karbonát-oldattal és ismét nátrium-klorid-oldattal mossuk. A szerves fázist vízmentes nátrium-szulfát felett szárítjuk és az oldószert vákuumban eltávolítjuk.

7,8 g (100%) cím szerinti X vegyületet kapunk, olaj formájában.

$$R_{fF} = 0,83;$$

$$R_{tA} = 13,6.$$

2. lépés: H-Leu-Gly-OBzl.HCl (XI vegyület)

7,4 g (19,6 mmól) Boc-Leu-Gly-OBzl (X) védőcsoportját a 3. példában leírtak szerint eltávolítjuk. Az olajos maradékot petroléterrel néhányszor eldörzsöljük.

3,94 g (63,8%) cím szerinti XI vegyületet kapunk.

$$R_{fC} = 0,59.$$

3. lépés: Boc-mMel-Leu-Gly-OBzl (XII vegyület)

5,7 g (12,51 mmól) Boc-mMel-OH-t és 3,94 g (12,51

mmól) H-Leu-Gly-OBzl.HCl-ot (XI) az 1. példa 2. lépésében leírtak szerint kondenzálunk. A maradékot AcOEt-ban oldjuk és egymás után többször mossuk 10%-os citromsavoldattal, nátrium-klorid-oldattal, 5%-os nátrium-hidrogén-karbonát-oldattal és ismét nátrium-klorid-oldattal. A szerves fázist vízmentes nátrium-szulfát felett szárítjuk és az oldószert vákuumban eltávolítjuk. A maradékot szilikagélen, gyorskromatográfiás eljárással tisztítjuk, az eluálást etil-acetát és dietil-éter 1:7 térfogatarányú elegyével végesszük.

6,25 g (75%) cím szerinti XII vegyületet kapunk, ahab formájában.

$$R_{fF} = 0,80.$$

15 4. lépés: Boc-mMel-Leu-Gly-OH (XIII vegyület)

6,0 g (9,0 mmól) Boc-mMel-Leu-Gly-OBzl-t (XII) az 1. példa 3. lépésében leírtak szerint kezelünk. A maradékot etil-acetát, dietil-éter és petroléter elegyével eldörzsöljük.

20 4,3 g (83%) cím szerinti XIII vegyületet kapunk.

$$R_{fF} = 0,43.$$

5. lépés: Boc-mMel-Leu-Gly-Thr-Gln-Trp-Ala-Val-Gly-Leu-Met-NH₂ (XIV vegyület)

0,092 g (0,16 mmól) Boc-mMel-Leu-Gly-OH-t (XI

25 II) és 0,105 g (0,16 mmól) H-Thr-Gln-Trp-Ala-Val-Gly-Leu-Met-NH₂.HCl-ot (8808768.9 számú nagybritanniai szabadalmi leírásunk 4. példája) a 2. példában leírtak szerint kondenzálunk. Az oldószert elpárologtatása után a maradékot 10 ml DMF-ban oldjuk, cseppenként 100 ml 10%-os citromsavoldathoz adjuk, 15 percen keresztül keverjük, majd szűrjük és semlegesre mossuk.

A nyerstermékot 30 ml DMF-ban oldjuk és vákuumban bepároljuk. A maradékot DMF/MeOH/AcOEt/Et₂O eleggyel eldörzsöljük.

0,17 g (72,7%) cím szerinti XIV nyerstermékot kapunk. A termék egy részét fél-preparatív HPLC eljárással tisztítjuk, a 6. példában leírtak szerint.

$$R_{fC} = 0,84;$$

$$R_{tA} = 16,5;$$

Aminosav arányok: Thr 0,94 (1), Glu 1,06 (1), Gly 2,12 (2), Ala 0,94 (1), Val 0,94 (1), Met 1,00 (1), Leu 2, Trp 0,87 (1) (mMel n.v.).

A fentiek szerint eljárva állítjuk elő a következő peptideket is.

XV H-pMel-Gln-Trp-Ala-Val-Gly-phe-Leu-Met-NH₂.HCl

$$R_{fC} = 0,72; R_{tA} = 9,6$$

50 XVI Boc-mMel-Gln-Trp-Ala-Val-Gly-His(Dnp)-Leu-Met-NH₂

R_{fD} = 0,86; R_{tA} = 21,5; AA arány: Glu 1, Gly 0,99 (1), Ala 1,03 (1), Val 0,99 (1), Met 1,03 (1), Leu 1,04 (1), Trp 1,05 (1) (mMel és His(Dnp) n.v.)

55 XVII H-mMel-Gln-Trp-Ala-Val-Gly-His(Dnp)-Leu-Met-NH₂.HCl

R_{fC} = 0,74; R_{tA} = 9,4; AA arány: Glu 0,99 (1), Gly 1,04 (1), Ala 1,02 (1), Val 1, Met 0,96 (1), Leu 0,96 (1) (His(Dnp) Trp és mMel n.v.)

60 XVIII Boc-mMel-Gln-Trp-Ala-Val-Gly-His-Leu-Met-NH₂.CF₃COOH

$R_{fC} = 0,55; R_{tA} = 14,4$; AA arány: Glu 1, Gly 0,99 (1), Ala 0,99 (1), Val 1,06 (1), Met 1,05 (1), Leu 0,97 (1), His 0,90 (1), Trp 1,03 (1) (mMel n.v.)

XIX H-mMel-Gln-Trp-Ala-Val-Gly-His-Leu-Met-NH₂·2HCl

$R_{fC} = 0,44; R_{tB} = 11,3$; AA arány: Glu 1,00 (1), Gly 1,00 (1), Ala 1,05 (1), Val 1, Met 0,91 (1), Leu 0,89 (1), His 0,99 (1) (mMel és Trp n.v.)

XX Boc-mMel-Gln-Trp-Ala-Val-Gly-Leu-Met-NH₂

$R_{fC} = 0,74; R_{tA} = 15,4$; AA arány: Glu 1,03 (1), Gly 1, Ala 1,04 (1), Val 0,96 (1), Met 0,93 (1), Leu 1,02 (1), Trp 0,94 (1) (mMel n.v.)

XXI H-mMel-Gln-Trp-Ala-Val-Gly-Leu-Met-NH₂·HCl

$R_{fC} = 0,65; R_{tA} = 5,7$

XXII H-mMel-Leu-Gly-Thr-Gln-Trp-Ala-Val-Gly-Leu-NH₂·HCl

$R_{fC} = 0,52; R_{tA} = 6,6$

XXXV Boc-pMel-Gln-Trp-Ala-Val-Gly-Leu-Met-NH₂

$R_{fC} = 0,86; R_{tA} = 15,3$; AA arány: Glu 1,02 (1), Gly 1,07 (1), Ala 1,10 (1), Val 1, Met 0,92 (1), Leu 0,98 (1) (Trp és pMel n.v.)

XXXVI H-pMel-Gln-Trp-Ala-Val-Gly-Leu-Met-NH₂·HCl

$R_{fC} = 0,57; R_{tB} = 16,8$; AA arány: Glu 1,08 (1), Gly 1,01 (1), Ala 0,98 (1), Val 1, Met 0,90 (1), Leu 0,94 (1) (Trp és pMel n.v.)

XXXVII Boc-Ly(Boc)-Gly-pMel-Gln-Trp-Ala-Val-Gly-Leu-Met-NH₂

$R_{fC} = 0,73; R_{tA} = 18,7$; AA arány: Glu 1,07 (1), Gly 2,02 (2), Ala 1,18 (1), Val 1, Met 0,88 (1), Leu 0,95 (1), Lys 1,08 (1) (Trp és pMel n.v.)

XXXVIII H-Lys-Gly-pMel-Gln-Trp-Ala-Val-Gly-Leu-Met-NH₂·2CF₃COOH

$R_{fB} = 0,71; R_{tB} = 15,4$; AA arány: Glu 0,99 (1), Gly 2,02 (2), Ala 1,00 (1), Val 1, Met 0,88 (1), Leu 0,91 (1), Lys 1,15 (1), Trp 0,91 (1) (pMel n.v.)

XXXIX Ac-Lys(Boc)-Gly-pMel-Gln-Trp-Ala-Val-Gly-Leu-Met-NH₂

$R_{fC} = 0,77; R_{tA} = 11,9$;

AA arány: Glu 1,05 (1), Gly 1,97 (2), Ala 0,98 (1), Val 1, Met 0,89 (1), Leu 0,92 (1), Lys 0,92 (1), Trp 0,88 (1) (pMel n.v.)

XL Ac-Lys-Gly-pMel-Gln-Trp-Ala-Val-Gly-Leu

-Met-NH₂·CF₃COOH

$R_{fD} = 0,78; R_{tB} = 16,2$; AA arány: Glu 1, Gly 2,11 (2), Ala 0,99 (1), Val 0,89 (1), Met 0,91 (1), Leu 0,92 (1), Lys 1,10 (1) (Trp és pMel n.v.)

5 XLI Boc-mMel-Leu-Gly-Thr-Gln-Trp-Ala-Val-His(Dnp)-Leu-NH(CH₂)₄CH₃

$R_{fC} = 0,88; R_{tA} = 24,2$; AA arány: Thr 1,04 (1), Glu 0,96 (1), Gly 2, Ala 1,03 (1), Val 0,95 (1), Leu 1,92 (2), (His(Dnp), Trp és pMel n.v.)

10 XLII H-mMel-Leu-Gly-Thr-Gln-Trp-Ala-Val-His(Dnp)-Leu-NH(CH₂)₄CH₃·HCl

$R_{fC} = 0,50; R_{tA} = 18,7$; AA arány: Thr 0,92 (1), Glu 0,97 (1), Gly 2,04 (2), Ala 1,04 (1), Val 1, Leu 1,88 (2) (His(Dnp), Trp és pMel n.v.)

15 XLIII Boc-pMel-Gln-Arg-Leu-Gly-Asn-Gln-Trp-Ala-Val-ala-Leu-Nle-NH₂·CF₃COOH

$R_{tA} = 18,4$

XLV Boc-pMel-Leu-Gly-Thr-Glu-Trp-Ala-Val-Gly-His(Dnp)-Leu-NH(CH₂)₄CH₃

$R_{fC} = 0,83; R_{tA} = 26,41$; AA arány: Thr 1,02 (1), Glu 1, Gly 2,04 (2) Ala 0,99 (1), Val 0,95 (1), Leu 1,91 (2), CHis(Dnp), Trp és pMel n.v.)

1. táblázat: Bombezin alkilező analógok kötődési affinitása Swiss 3T3 egér fibroblasztokban

Vegyület	ID ₅₀ (nmól/l)
III	12000 ± 400
IX	8200 ± 680
30 VII	60 ± 20
V	680 ± 150
XIX	95 ± 8
XVII	148 ± 27
VI	48 ± 2
35 IV	1170 ± 400
XVIII	40 ± 12
XVI	390 ± 160
XX	60,1 ± 3,3
XIV	445 ± 60
40 Összehasonlító peptidek:	
BBS	12,6 ± 3,8
sptantid	11000
[pro ²]sptantid	14000
[Leu ¹³ Ψ(CH ₂ -NH)Leu ¹⁴]BBS	214 ± 30

2. táblázat: [H³]-Timidin beépülése Swiss 3T3 egér fibroblasztokba

Vegyület	Alapértékhez viszonyított növekedési arány				% -os gátlás 25 nmól/l BBS jelenlétében			
	5 nmól/l	50 nmól/l	500 nmól/l	5000 nmól/l	A		B	
	500 nmól/l	5000 nmól/l	5000 nmól/l	5000 nmól/l	5000 nmól/l	5000 nmól/l	5000 nmól/l	5000 nmól/l
III	-	-	1,2	1,3	0	64 ± 10	27 ± 14	39 ± 7
IX	-	-	1	1	0	57 ± 13	17 ± 4	22 ± 3
VII	2,1	4,7	4,3	4,8	6 ± 2	17 ± 4	57 ± 14	61 ± 9
V	1	1	1,4	1,8	26 ± 8	44 ± 12	87 ± 9	83 ± 6
XIX	1	4,1	4,3	4,4	19 ± 7	9 ± 5	54 ± 1	62 ± 6

2. táblázat:(folyt.) [H^3]-Timidin beépülése Swiss 3T3 egér fibroblasztokba

Vegyület	Alapértékhez viszonyított növekedési arány				% -os gátlás 25 nmól/l BBS jelenlétében			
	5 nmól/l	50 nmól/l	500nmól/l	5000 nmól/l	A		B	
					500 nmól/l	5000 nmól/l	500 nmól/l	5000 nmól/l
XVII	1	2,9	4,2	3,9	6 ± 3	20 ± 7	58 ± 13	62 ± 1
VI	4,1	8,0	7,0	6,6	3 ± 2	20 ± 3	21 ± 3	34 ± 5
IV	1	1	1,7	2,3	59 ± 3	67 ± 3	81	73
XVIII	5,4	7,0	7,3	5,4	4 ± 2	3 ± 1	3 ± 2	14 ± 3
XVI	1,2	1,6	3,1	3,9	17 ± 2	41 ± 1	47 ± 10	37 ± 7
VIII	-	1,1	1,2	1,2	28 ± 6	37 ± 4	56 ± 3	77 ± 11
XX	-	1,0	1,5	1,2	39 ± 1	68 ± 8	0	35 ± 3
XIV	-	1,2	1,3	1,2	6 ± 2	14 ± 2	0	32 ± 8

Összehasonlító peptidek:

BBS 3,0 ± 1

(Leu ¹³ Ψ(CH ₂ -NH)Leu ¹⁴)BBS	1,0	1,0	29 ± 10	56 ± 4	0	0
---	-----	-----	---------	--------	---	---

A – analógokat BBS-nel kombinálva adjuk

B – sejteket az analógokkal előkezeljük, mossuk, 37 °C-on 24 órán át állni hagyjuk, majd BBS-nel kezeljük

3. táblázat: Bombezin-receptorral kapcsolódó p115 protein foszforilezése

Vegyület	Legkisebb hatásos dózis (nmól/l)
III	10000
VII	1
V	100
XIX	4
XVII	4
VI	1
IV	50
XVIII	10
XVI	40
XX	500
XIV	1000
Összehasonlító peptidek:	
BBS	3
spantid	10000

A fenti táblázatok eredményeiből látható, hogy amikor az alkilező részt egy agonista szerkezetbe visszük be (VI, VII, XVIII, XIX vegyületek), a kapott alkilező analógok önmagukban adagolva növelik a timidin beépülést, és BB-nel együtt adagolva gyenge antagonistá hatást fejtenek ki, viszont jelentős antagonistá hatást mutatnak, ha a BBS beadagolása előtt 24 órával adagoljuk ezeket a vegyületeket.

Ha az alkilező részt olyan BBS analógokba visszük be, amelyek per se inaktívak (IV, V, VIII, XIV, XVI, XVII és XX vegyületek), a kapott alkilező vegyületek nem növelik a timidin beépülését, és rendszerint egyformán erős antagonistá hatást fejtenek ki, akár BBS-nel együtt, akár a BBS beadagolása után 24 órával adjuk őket a kezelt sejtekhez.

SZABADALMI IGÉNYPONTOK

I. Eljárás az (I) általános képletű peptidek – a képletben

30 A jelentése hidrogénatom, terc-butoxi-karbonil-csoport vagy acetyl-csoport és

B és C közül az egyik pMel vagy mMel maradékot jelent, míg a másik jelentése közvetlen kötés, Leu-Gly, Gln-E-Leu-Gly vagy E-Gly maradék, ahol

E jelentése Arg(A), vagy Lys(A), és

35 D jelentése közvetlen kötés, vagy Ans vagy Thr maradék,

X jelentése Gly vagy ala maradék,

Y jelentése közvetlen kötés, vagy His(R₁), Phe vagy phe maradék,

40 T jelentése közvetlen kötés vagy Leu maradék,
W jelentése hidroxil-csoport, aminocsoport, pentil-amino-csoport vagy Met-R₂, Leu-R₂, Ile-R₂ vagy Nle-R₂ maradék,

45 R₁ jelentése hidrogénatom vagy 2,4-dinitro-fenil-csoport, és

R₂ jelentése aminocsoport –

és gyógyszerilag elfogadható sóik előállítására, *azal jellemezve*, hogy aminosavakat és/vagy aminosavszármazékokat és/vagy a fenti aminosavakat vagy azok származékait tartalmazó peptid-fragmentumokat a kívánt szekvenciában kondenzáljuk, mimellett a peptid-kötés kialakítására a terminális karboxil-csoportot vagy terminális aminocsoportot aktiváljuk, és a többi funkciós csoportot védjük, és kívánt esetben eltávolítjuk a kapott peptidből a védőcsoportot(ka)t, és/vagy kívánt esetben a kapott peptidet gyógyszerilag elfogadható sóvá alakítjuk. (Elsőbbsége: 1989.03.28.)

2. Az 1. igénypont szerinti eljárás

Boc-pMel-Gln-Trp-Ala-Val-Gly-OH,

60 Boc-mMel-Gln-Trp-Ala-Val-Gly-OH,

Boc-Lys(Boc)-Gly-pMel-Gln-Trp-Ala-Val-Gly-Leu-Met-NH₂,
 H-Lys-Gly-pMel-Gln-Trp-Ala-Val-Gly-Leu-Met-NH₂,
 Ac-Lys(Boc-Gly-pMel-Gln-Trp-Ala-Val-Gly-Leu-Met-NH₂,
 Ac-Lys-Gly-pMel-Gln-Trp-Ala-Val-Gly-Leu-Met-NH₂,
 Boc-pMel-Gln-Arg-Leu-Gly-Asn-Gln-Trp-Ala-Val-Ala-Leu-Nle-NH₂
 előállítására, *azzal jellemezve*, hogy a megfelelő kiindulási vegyületeket használjuk. (Elsőbbsége: 1989.03.28.)

3. Eljárás az (I) általános képletű peptidek – a képletben

A jelentése hidrogénatom vagy terc-butoxi-karbonil-csoport és

B és C közül az egyik pMel vagy mMel maradékot jelent, míg a másik jelentése közvetlen kötés vagy Leu-Gly, és

D jelentése közvetlen kötés, vagy Asn vagy Thr maradék,

X jelentése Gly vagy Ala maradék,

Y jelentése közvetlen kötés, vagy His(R₁), Phe vagy phe maradék,

T jelentése közvetlen kötés vagy Leu maradék,

W jelentése aminocsoport, pentil-amino-csoport vagy

Met-R₂, Leu-R₂, Ile-R₂ vagy Nle-R₂ maradék,

R₁ jelentése hidrogénatom vagy 2,4-dinitro-fenil-csoport, és

R₂ jelentése aminocsoport –

és gyógyászati lag elfogadható sóik előállítására, *azzal jellemezve*, hogy aminosavakat és/vagy aminosavszármazékokat és/vagy a fenti aminosavakat vagy azok származékait tartalmazó peptid-fragmentumokat a kívánt szekvenciában kondenzáljuk, mimellett a peptidkötés kialakítására a terminális karboxilcsoportot vagy terminális aminocsoportot aktiváljuk, és a többi funkciós csoportot védjük, és kívánt esetben eltávolítjuk a kapott peptidből a védőcsoportot(ka)t, és/vagy kívánt esetben a kapott peptidet gyógyászati lag elfogadható sóvá alakítjuk. (Elsőbbsége: 1988.07.21.)

4. A 3. igénypont szerinti eljárás

Boc-pMel-Gln-Trp-Ala-Val-Gly-His(Dnp)-Leu-Met-NH₂

H-pMel-Gln-Trp-Ala-Val-Gly-His(Dnp)-Leu-Met-NH₂,

Boc-pMel-Gln-Trp-Ala-Val-Gly-His-Leu-Met-

NH₂,
 H-pMel-Gln-Trp-Ala-Val-Gly-His-Leu-Met-NH₂,
 Boc-pMel-Gln-Trp-Ala-Val-Gly-phe-Leu-Met-NH₂,

5 Boc-mMel-Leu-Gly-Thr-Gln-Trp-Ala-Val-Gly-Leu-Met-NH₂,

H-pMel-Gln-Trp-Ala-Val-Gly-phe-Leu-Met-NH₂,
 Boc-mMel-Gln-Trp-Ala-Val-Gly-His(Dnp)-Leu-

Met-NH₂,

10 H-mMel-Gln-Trp-Ala-Val-Gly-His(Dnp)-Leu-Met-NH₂

Boc-mMel-Gln-Trp-Ala-Val-Gly-His-Leu-Met-NH₂,

H-mMel-Gln-Trp-Ala-Val-Gly-His-Leu-Met-NH₂,

15 Boc-mMel-Gln-Trp-Ala-Val-Gly-Leu-Met-NH₂,

H-mMel-Gln-Trp-Ala-Val-Gly-Leu-Met-NH₂,

H-mMel-Leu-Gly-Thr-Gln-Trp-Ala-Val-Gly-Leu-NH₂,

Boc-pMel-Gln-Trp-Ala-Val-Gly-Leu-Met-NH₂,

20 H-pMel-Gln-Trp-Ala-Val-Gly-Leu-Met-NH₂,

Boc-mMel-Leu-Gly-Thr-Gln-Trp-Ala-Val-His

(Dnp)-Leu-NH(CH₂)₄CH₃ vagy

H-mMel-Leu-Gly-Thr-Gln-Trp-Ala-Val-His(Dnp)

-Leu-NH(CH₂)₄CH₃

25 előállítására, *azzal jellemezve*, hogy a megfelelő kiindulási vegyületeket használjuk. (Elsőbbsége: 1988.07.21.)

5. Eljárás gyógyászati készítmények előállítására, *azzal jellemezve*, hogy egy, az 1. vagy 2. igénypont szerinti eljárással előállított (I) általános képletű vegyület – a képletben

A, B, C, D, X, Y, T és W jelentése az 1. igénypontban megadott –

35 vagy annak gyógyászati lag elfogadható sóját a gyógyszerkészítésben szokásosan használt hordozó- és/vagy egyéb segédanyagokkal összekeverjük és gyógyászati készítménnyé alakítjuk. (Elsőbbsége: 1989.03.28.)

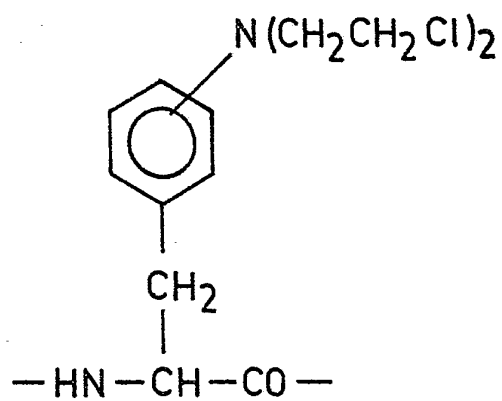
6. Eljárás gyógyászati készítmények előállítására, *azzal jellemezve*, hogy egy, a 3. vagy 4. igénypont szerinti eljárással előállított (I) általános képletű vegyület – a képletben

A, B, C, D, X, Y, T és W jelentése a 3. igénypontban megadott –

45 vagy annak gyógyászati lag elfogadható sóját a gyógyszerkészítésben szokásosan használt hordozó- és/vagy egyéb segédanyagokkal összekeverjük és gyógyászati készítménnyé alakítjuk. (Elsőbbsége: 1988.07.21.)

A-B-C-D-Gln-Trp-Ala-Val-X-Y-T-W

(1)



(a)