

3947 / 89

3947 / 89

50487-1

K i v o n a t

Eljárás peptidek előállítására

Bejelentő: SYNTEX U.S.A. INC., Palo Alto,

Amerikai Egyesült Államok

A bejelentés napja: 1989. 08. 03.

Elsőbbsége: 1988. 08. 18. (233 690)

Amerikai Egyesült Államok

A találmány tárgya eljárás szomatosztatin-jelle-
gű hatással rendelkező gyógyászati hatású vegyületek, to-
vábbá ezen vegyületek valamelyikét tartalmazó gyógyszer-
készítmények előállítására. Különösen előnyösek azok a
szomatosztatin-jellegű vegyületek, amelyek egy kationos
részhez kapcsolódó szomatosztatin-jellegű peptid-analó-
got tartalmaznak. Ezek a gyógyszerkészítmények gyomorfe-
kély, tumorok és cukorbetegség kezelésére alkalmazhatók.

3947/89

3947/89

A

Képviselő:

Budapesti 29.sz. Ügyvédi Munkaközösség

Szabadalmi Iroda

50487==

3947/89

NSW, CO7 K 7/26
AGIK 37143

ELJÁRÁS PEPTIDEK ELŐÁLLÍTÁSÁRA

SYNTEX U.S.A. INC., Palo Alto, ^{Kalifornia} Amerikai Egyesült Államok

Feltalálók:

NESTOR J. John vegyész, Cupertino,

VICKERY H. Brian biológus, Palo Alto, ^{Kalifornia}

Amerikai Egyesült Államok

A bejelentés napja: 1989. 08. 03.

Elsőbbsége: 1988. 08. 18. (233 690)

Amerikai Egyesült Államok

Találmányunk szomatostatin-jellegű hatással rendelkező gyógyhatású vegyületek, továbbá ezen vegyületek valamelyikét vagy ennek gyógyászatilag elfogadható sóját hatóanyagként tartalmazó gyógyszerkészítmények előállítására irányul. A találmány szerinti vegyületek a szervezet hormonjai kiválasztásának szabályozására alkalmazhatók. Különösen előnyösek azok a szomatostatin-jellegű vegyületek, amelyek egy szomatostatin-jellegű ciklusos peptidhez kapcsolódó kationos részt tartalmaznak.

A szomatostatin a természetben előforduló, az alábbi képlettel ábrázolható vegyület:

Ala-Gly-Cys-Lys-Asn-Phe-Phe-Trp-Lys-Thr-Phe-Thr-Ser-Cys-OH

Ismeretes, hogy a szomatostatin sok szövetben hormonokat gátló biológiai hatást fejt ki. Így például a szomatostatin megakadályozza a növekedési hormon kiválasztódását az agyalapi mirigyből, a gyomorsav és a pepszin keletkezését a gyomorban és a glukagon illetőleg az insulin képződését a hasnyálmirigy szigeteiben. A szomatostatin gátolja továbbá a glükóz, az aminosavak és a zsír abszorpcióját a gyomor-bél (gasztrointesztinális) traktusban és egyben akadályozza a gasztrointesztinális traktus mozgását is.

A természetben előforduló szomatostatinnak a testben igen rövid ideig tartó hatása van és ezért megkíséreltek olyan vegyületeket előállítani, amelyek hatása tovább tart és hatékonyabbak is, mint a szomatostatin, miközben a szomatostatin tulajdonságait megtartják,

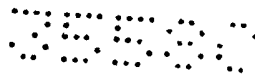
vagyos "szomatostatín-szerű" vegyületekről van szó. A szomatostatín aminosav-szekvenciájának módosításai néhány esetben növelték a hatékonyságot, a hatás időtartamát, a relatív specifitást és más kedvező változásokat is okoztak.

A szomatostatín-szerű vegyületek növekedési hormon kiválasztást akadályozó hatásának alkalmazását ismerteti a 4 291 022 számú amerikai egyesült államokbeli szabadalmi leírás; közzétéve 1981. szeptember 22. Ezek a vegyületek a természetben előforduló szomatostatín származékai.

Olyan ciklusos hexapeptidet tartalmazó szomatostatín-analógokat, amelyekben a szomatostatín hét gyűrűs aminosavját törölték, a 4 310 518 számú amerikai egyesült államokbeli szabadalmi leírás ismerteti; közzétéve 1982. január 12. A vegyületek a növekedési hormon, a glukagon és az inzulin képződését akadályozzák.

A ciklikus hexapeptidnek és az áthidalt ciklusos szomatostatín analógoknak túlórzékenységi reakciók kezelésére történő alkalmazását a 0 222 578 számú európai szabadalmi leírásban ismertetik (Merck and Co. Inc.). A szomatostatín-analógok dermatológiai kórtünetek esetén történő alkalmazását a 0 175 644 számú európai szabadalmi bejelentés ismerteti (Sandoz AG).

A szomatostatín egy oktapeptid analógját ismerteti a Cai és munkatársai: Proc. Natl. Acad. Sci., Amerikai Egyesült Államok, 83, 1896 (1986) közlemény, amely szerint e vegyület a növekedési hormon képződésének gátlá-



sakor a szomatosztatinhoz képest elnyújtott hatást mutat. A közlemény adatokat tartalmaz a tumorok növekedését gátló hatásra vonatkozóan is.

A Bauer és munkatársai: Life Sciences 31, 1133 (1982) közlemény a szomatosztatin specifikus analógjait írja le, amelyek elnyújtott hatással rendelkeznek és a növekedési hormon kiválasztódásának gátlásában a szomatosztatinhoz képest háromszor olyan hatékonynak bizonyultak. Az ismertetett oktapeptidek a molekula cisztein-részén módosított származékok, amelyek különösen az akromegália kezelésében mutatkoztak értékesnek.

A 4 342 071 számú amerikai egyesült államokbeli szabadalmi leírás (közvetéve 1982. augusztus 3.) a peptid bizonyos pozícióiban szeliktíven módosított szomatosztatin-analógokat mutat be. A módosított szomatosztatin-analógok ugyanolyan hatást mutattak, mint a természetes molekulák.

A Kurashima és munkatársai: Life Sciences 41, 1011 (1987) közleményben a szomatosztatinnak olyan oktapeptid analógjait ismertetik, amelyek a növekedési hormon, inzulin és glukagon kiválasztásának gátlásában is igen hatékonynak bizonyultak.

Kedding és Schally, Proc. Natl. Acad. Sci., Amerikai Egyesült Államok, 80, 1070 (1983) közlemény a szomatosztatin analógoknak a patkányok átoltható porc-szarkómájának növekedését gátló hatását ismertetik.

Moreau és munkatársai: Life Sciences 40, 419 (1987) közlemény egy rövid áttekintést nyújt a szomatoszta-

tin és szomatosztatin-analógok területén folyó munkákról és ismertetik ezek gyógyászati előnyeit és a folyamatban lévő farmakológiai tanulmányokat.

A jelen találmány szerint a kationos lánc-rész kialakítása a hatás időtartamának meghosszabbodását és a hatás specifitásának növekedését jelenti. A találmány kationos lánc-rész az N^w -alkil bázikus aminosav osztályból származik és lehet természetes és nem természetes eredetű is. Nestor és munkatársai szerint a természetben elő nem forduló N^w -alkil-aminosavak osztályába tartozó aminosavak beépültek az LH-RL (luteinizáló hormon) antagonistikus analógjaiba, így alkalmazásuk arra szolgál, hogy stabilizálják a feltételezett foszfolipid membrán interakciót (J. Med. Chem., 31, 65 [1988]). A kationos résznek egy szomatosztatin analóg szerkezetbe történő beépülését azonban ezelőtt nem ismertették. Tudományos feltevés szerint a ligandum-receptro interakció specifitása a ligandum foszfolipid membrán interakcióját befolyásolhatja (Schwyzer, Biochemistry 25, 6335 [1986]). Találmányunk szerint tehát a kationos résznek a szomatosztatin-szerű ciklusos peptidhez történő hozzáadása fokozott hatékonyságot, megnövekedett időtartamot és szelektivitást eredményez.

A találmány szerinti vegyületek legfőbb jellemzője, hogy a szomatosztatin-szerű ciklusos peptidhez közvetlenül vagy egy térköztartó részen keresztül egy kationos rész csatlakozik. A kationos rész kapcsolódásának következményeként a találmány szerinti vegyületek aktivitása növekszik, megnő a hatás kifejtésének időtartama és specifitása.

Y jelentése C-terminális csoport, G-I általános képletű csoport vagy a G-I általános képletű csoport alkoholja, minemlett az X és Y legalább egyike egy kationos részt képvisel,

D jelentése Phe, Tyr, pF-Phe, pCl-Phe,

E jelentése Lys vagy Lys(R_1) általános képletű csoport, ahol az R_1 jelentése rövidszénláncu alkil-csoport vagy 1-8 szénatomos fluor-alkil-csoport,

F jelentése Thr, Val, Ser,

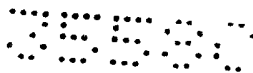
minemlett G jelentése D- vagy L-konfigurációju Thr, Phe, Hal(2) vagy (Gly)_m általános képletű csoport, ahol m jelentése 0-3 és

I jelentése hidroxilcsoport vagy $-NHR_2$ általános képletű csoport, ahol R_2 jelentése hidrogénatom vagy jelentése megegyezik az R_1 fent megadott jelentésével -

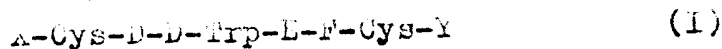
és ezek gyógyászati szempontból elfogadható sói.

Találmányunk oltalmi köre kiterjed a találmány szerinti vegyületek és gyógyászatiilag elfogadható sói előállítási eljárására is. A módszer szerint eltávolítjuk a védőcsoportokat és adott esetben a kovalensen kötött szilárd hordozót a védett polipeptidről és így olyan vegyületet kapunk, amely

- a) szomatostatín-szerű aktivitással rendelkező ciklusos peptid;
- b) a peptid egyik vagy mindkét cisztein-részéhez egy kationos rész kapcsolódik.



A találmány szerinti



általános képletű vegyületeket - ebben a képletben A, Y, D, E és F jelentése egyezik a fent megadottakkal - és gyógyászatiilag elhagyható sóit az alábbi módszerekkel állítjuk elő:

a) valamely (III) általános képletű vegyületből - ebben a képletben

A, I, D, E és F jelentése egyezik a fent megadottakkal, P^1 , P^2 , P^3 és P^4 mindegyikének jelentése védőcsoport, ahol P^1 jelentése α -amino-védőcsoport, P^2 jelentése hidroxil-védőcsoport, P^3 jelentése N^{IV} -védőcsoport és P^4 jelentése ϵ -amino-védőcsoport,

B jelentése karboxil-védőcsoport és

a, b, c, d, e és f mindegyikének jelentése 0 vagy 1, azzal a feltétellel, hogy az a-f közül valamennyinek a jelentése nem lehet 0 -

a védőcsoportokat eltávolítjuk; vagy

b) valamely (IV) általános képletű vegyületből - ebben a képletben

A, Y, D, E, F, P^1 , P^2 , P^3 és P^4 jelentése egyezik a fenti

a) szakaszban megadottakkal,

a, b, c, d és e mindegyikének jelentése 0 vagy 1, azzal a feltétellel, hogy az a-e közül valamennyinek a jelentése nem lehet 0 és

b' jelentése polimer hordozó -

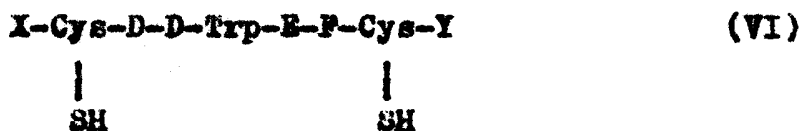
egyidejűleg eltávolítjuk a védőcsoportokat és a polimer hordozót; vagy

c) valamely



általános képletű vegyületből - ebben a képletben X, Y, D, E, F és S' jelentése egyezik a fenti b) szakaszban megadottakkal - a polimer hordozót eltávolítjuk; vagy

d) valamely



általános képletű vegyületet - ebben a képletben X, Y, D, E és F jelentése egyezik a fenti a) szakaszban megadottakkal - oxidálunk; vagy

e) valamely (I) általános képletű vegyületet - ebben a képletben X, D, E, F és Y jelentése egyezik a fent megadottakkal - annak gyógyszeratilag elfogadható sójává alakítjuk át; vagy

f) valamely (I) általános képletű vegyület - ebben a képletben X, D, E, F és Y jelentése egyezik a fent megadottakkal - sóját annak valamilyen más, gyógyszeratilag elfogadható sójává alakítjuk át; vagy

g) az (I) általános képletű vegyület sójából - ebben a képletben X, D, E, F és Y jelentése egyezik a fent megadottakkal - a szabad peptidet felszabadítjuk.

A találmány szerinti

X-Cys-Lys-Asn-Phe-D-D-Trp-E-F-Phe-Thr-Ser-Cys-Y (II)

általános képletű vegyületeket - ebben a képletben
X, Y, D, E és F jelentése egyezik az (I) általános képletű
vegyület értelmezésénél megadott jelentésekkel - és ezek
gyógyászatilag elfogadható sóit úgy állítjuk elő, hogy

a) valamely (VII) általános képletű vegyületből -
ebben a képletben

X, Y, D, E és F jelentése egyezik a fent megadottakkal,
 P^1 , P^2 , P^3 és P^4 mindegyikének a jelentése védőcsoport,
ahol P^1 jelentése α -amino-védőcsoport, P^2 jelen-
tése hidroxil-védőcsoport, P^3 jelentése N^{IN} -védő-
csoport és P^4 jelentése ϵ -amino-védőcsoport,
S jelentése karboxil-védőcsoport és

a, b, c, d, e, f, g, h és i mindegyikének jelentése 0
vagy 1, azzal a feltétellel, hogy a-i mindegyiké-
nek jelentése egyidejűleg nem lehet 0 -

a védőcsoportokat eltávolítjuk; vagy

b) valamely (VIII) általános képletű vegyületből
- ebben a képletben

X, Y, D, E, F, P^1 , P^2 , P^3 és P^4 jelentése egyezik az a)
szakaszban megadott jelentéssel,

a, b, c, d, e, f, g és h mindegyikének jelentése 0 vagy 1,
azzal a feltétellel, hogy a-h mindegyikének jelen-
tése egyidejűleg nem lehet 0 és

S' jelentése polimer hordozó -

Találmányunk kiterjed továbbá a találmány szerinti valamely vegyület hatásos mennyiségét tartalmazó gyógyszerkészítmények előállítására is, amelyek a hatóanyagon kívül gyógyászatilag elfogadható vivőanyagokat és segédanyagokat is tartalmazhatnak.

A találmányunk leírásakor az alábbi rövidítéseket alkalmazzuk:

A különböző aminosavak írásakor a peptidekre a IUPAC-IUB Biokémiai Nomenklatura Bizottság által általánosan elfogadott rövidítéseket alkalmazzuk (Biochem. J. 219, 345 [1984]). Valamennyi előforduló peptid-szekvenciát az általánosan elfogadott konvenció szerint írjuk, vagyis az N-terminális aminosavak a bal oldalra, a C-terminális aminosavak pedig a jobb oldalra kerültek.

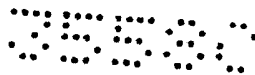
A rövidítések L-aminosavakat jelentenek, hacsak ezeket D- vagy D,L-jelöléssel külön, nem jeleztük. Bizonyos aminosavak, így a természetben előforduló és a természetben elő nem forduló aminosavak is, akirálisak, ilyen például a glicin.

A nem természetes aminosavak írásakor a megfelelő aminosav jelölése után a szubsztituenszt zárójelbe tesszük. Például a Lys(R₁) jelölés olyan lizint jelent, amelyben az ε-aminhoz R₁ szubsztituens csatlakozik. Az Arg(R₁,R₂) és hArg(R₁,R₂) jelölések olyan arginint illetőleg homo-arginint jelentenek, amelyekhez az R₁ szubsztituens az ω-nitrogénhez és az R₂ szubsztituens az ω'-nitrogénhez kapcsolódik a guanidin-részben.

A nem természetes eredetű aminosavak írásakor speciális rövidítéseket alkalmaztunk. A természetben elő nem forduló aminosavak képviselői az alábbiak:

<u>Aminosav-rész</u>	<u>Rövidítés</u>
3-(2-naftil)-alanil	Na1(2)
3-)p-fluor-fenil)-alanil	pF-Phe
3-(p-klór-fenil)-alanil	pCl-Phe
^x N,N'-guanidino-dimetil-homo- arginil	Dmh, vagy hArg(Me) ₂
^x N,N'-guanidino-(dietyl)-homo- arginil	Deh, vagy hArg(Et) ₂
^x N,N'-guanidino-(dipropil)- -homoarginil	Dph, vagy hArg(Pr) ₂
^x N,N'-guanidino-(diizopropil)- -homoarginil	Dih, vagy Arg(iPr) ₂
^x N,N'-guanidino-(dihexil)-homo- arginil	Dhh, vagy hArg(hexil) ₂
^x N,N'-guanidino(etan)-homo- arginil	Eha, vagy hArg(CH ₂) ₂
^x N,N'-guanidino-(propán)-homo- arginil	Fha, vagy hArg(CH ₂) ₃
^x N,N'-guanidino-bisz(2,2,2-tri- fluoretil)-homoarginil	Bth, vagy hArg(CH ₂ CF ₃) ₂
^x N-guanidino-(etil)-homo- arginil	Meh, vagy hArg(Et)

X_N -guanidino-(propil)-homo-arginil	Prh, vagy hArg(Pr)
X_N -guanidino-(izopropil)-homo-arginil	Iph, vagy hArg(iPr)
X_N -guanidino-(butil)-homo-arginil	Mbh, vagy hArg(Bu)
X_N, N' -guanidino-(diciklohexil)-homoarginil	Dch, vagy hArg(ciklohexil) ₂
X_N -guanidino-(heptil)-homo-arginil	Hha, vagy hArg(heptil)
X_N -guanidino-(etil)-arginil	Mea, vagy Arg(Et)
X_N -guanidino-(hexil-metil)-arginil	Hmh, vagy hArg(hexil,metil)
X_N -guanidino-(butil,metil)-arginil	Bmh, vagy hArg(butil,metil)
X_N^{ϵ} -izopropil-lizin	Ipl, vagy Lys(iPr)
X_N, N' -guanidino-(diizopropil)-arginil	Dia, vagy Arg(iPr) ₂
X_N, N' -guanidino-(diciklohexil)-arginil	Dca, vagy Arg(ciklohexil) ₂
X_N, N' -guanidino-bisz(3,3,3,2,2-pentafluor-propil)-homo-arginil	Bph
X_N, N' -guanidino-(3,3,3,3,3-pentafluor-propil)-homoarginil	Fph
X_N^G -etil, N^G -(2,2,2-trifluoretil)-homoarginil	Efh



^{*}N,N'-guanidino-(dietyl)-ar- Dea
ginil

^{*}N,N'-guanidino-bisz(2,2,2-tri- Bta
fluoretil)-arginil

A csillaggal jelzett nem természetes eredetű aminosavak a találmány szerinti kationos részt képviselhetik.

Az itt ismertetett nem természetes eredetű aminosavakat a szakember számára ismert eljárások szerint állíthatjuk elő, miközben akár a folyékony fázisu, akár a szilárd fázisu peptid-szintézis módszerét alkalmazhatjuk (v.ö. Nestor és munkatársai megadott közleményét [1988]).

A "gyógyászatilag elfogadható só" kifejezés olyan sókat jelent, amelyek az anyavegyület kivánt biológiai hatását megtartják, ugyanakkor nem kívánatos toxikus hatást nem mutatnak. Példaként említjük az ilyen sók közül az alábbiakat:

a) szervetlen savakkal képzett savaddíciós sók, például a klór-hidrogén-sav, bróm-hidrogén-sav, kénsav, foszforsav, salétromsav és hasonló savakkal képzett sók; szerves savakkal alkotott sók, például ecetsav, oxálsav, borkősav, borostyánkősav, maleinsav, fumársav, glükonsav, citromsav, almasav, aszkorbinsav, benzoésav, csersav, pamoésav, alginsav, poliglutaminsav, naftalin-szulfonsav, naftalin-diszulfonsav és poligalakturonsav szerves savakkal alkotott sók;

b) bázikus addíciós sók, például polivalens fém kationokkal, így cink, kalcium, bizmut, bárium, magnézium, alumínium, réz, kobalt, nikkel, kadmium és hasonló fém kationokkal alkotott sók; vagy szerves kationokkal, például N,N'-dibenzil-etilén-diaminnal vagy etilén-diaminnal képezett sók;

c) az a) illetőleg b) szakaszban felsorolt sók kombinációja, így például a cink-tannát-só és ehhez hasonlók.

Az "alkilcsoport" kifejezés egyenes vagy elágazó-láncu, telített, 1-8 szénatomos szénhidrogén-csoportot jelent. Példaként említjük az alábbi alkilcsoportokat, ahol a megfelelő rövidítéseket zárójelben tüntettük fel:

metilcsoport (Me), etilcsoport (Et), n-propil-csoport (Pr), izopropil-csoport (iPr), n-butil-csoport (Bu), izobutil-csoport (iBu), szek-butil-csoport (s-Bu), terc-butil-csoport (t-Bu), n-pentil-csoport (Pe), n-hexil-csoport (He) vagy 5-8 szénatomos elágazó-láncu alkilcsoportok és hasonlók.

A "fluor-alkil-csoport" rövidszénláncu alkilcsoportot jelent, amely 1-5 fluoratómmal helyettesítve lehet, ilyen például a CF_3CH_2- , CF_3- , $CF_3CF_2CH_2-$ csoport vagy ehhez hasonlók.

Az "N-Ac" rövidítés kifejezetten az N-acetil védőcsoportot, például a terminális aminosav nitrogénatomjához kapcsolódó acetyl-csoportot jelenti az általánosan elfogadott nomenklaturának megfelelően.

Az "acilcsoport" egy szerves savból a hidroxil-csoport eltávolításával levezethető szerves csoportot

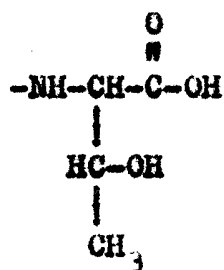
jelent. Általában az acilcsoport a terminális aminosav-rész aminos nitrogénatomjához kapcsolódik.

A kationos rész egy biológiailag elfogadható, kovalens-kötésű aminosav-részt jelent, amely az (I) és (II) általános képletű vegyületek egyik Cys csoportjához kapcsolódik. Az aminosav-részek származhatnak a természetben előforduló aminosavakból, ilyenek az alanin, arginin, aszparagin, aszparaginsav, cisztein, glutamin, glutaminsav, glicin, hisztidin, izoleucin, lizin, metionin, fenil-alanin, prolin, szerin, treonin, triptofán, tirozin, valin és hasonló, továbbá nem természetes előfordulású aminosavakból, ilyenek a homocisztein, ornitin, homoarginin, β -alanin és a korábbiakban felsorolt nem természetes eredetű aminosavak, stb. A kationos résznek egy pozitív töltésű funkciója van, példaként említjük az N^W -alkil-bázikus aminosavak osztályát, amelyeknél a kapcsolódás a peptidokhoz vagy közvetlenül történik vagy pedig egy tartó részben keresztül. Az N -alkil-aminosavak közé tartozik például az arginin, homoarginin, lizin, ornitin és a fent felsorolt nem természetes eredetű aminosavak közül a csillaggal jelzett képviselők. Ha az N -terminális részhez egy kationos rész kapcsolódik, akkor egy Thr-típusú aminosav-maradék, egy hidrofób aminosav-maradék vagy egy másik kationos rész kapcsolódhat a C-terminális részhez. A hidrofób aminosavakra példaként említendő a glicin, alanin, valin, leucin, izoleucin, triptofán, fenil-alanin, naftalin-alanin, haloszubsztituált fenil-alanin és hasonló. Amennyiben a kationos rész a C-terminális részhez kapcsolódik, akkor egy

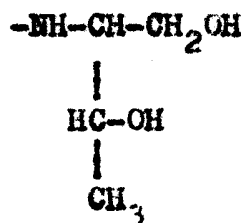
hidrofób maradék vagy más kationos rész kapcsolódhat az N-terminális részhez.

A szomatostatinszerű ciklusos peptid olyan ciklusos peptidil-részt jelent, amelynek szomatostatinszerű receptor kötő része van, vagy szomatostatinszerű biológiai hatással rendelkezik.

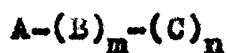
A G-I általános képletű vegyület alkoholja egy G-I általános képletű részt tartalmazó aminosavból levezethető alkoholt képvisel; például ha a G-I általános képlet Thr-OH, vagyis



képletű, akkor az alkohol képlete



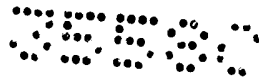
A találmány szerinti vegyületek előnyös csoportját képviselik az X helyén



általános képletű kationos részt - ebben a képletben

A jelentése acilcsoport vagy hidrogénatom,

B jelentése hArg(R₁, R₂), Arg(R₁, R₂) vagy Lys(R₁)



általános képletű csoport, ahol R_1 jelentése rövidszénláncú alkilcsoport vagy 1-8 szénatomos fluor-alkil-csoport és R_2 jelentése hidrogénatom vagy jelentése megegyezik az R_1 jelentésével vagy más ω -alkil-bázikus aminosavat jelent,

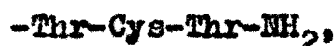
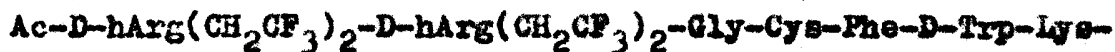
m jelentése 1, 2 vagy 3 egész szám,

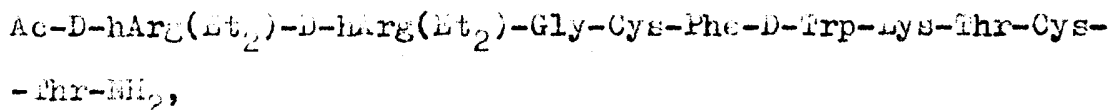
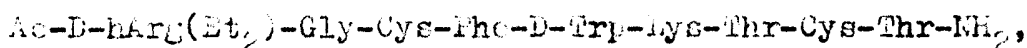
C jelentése egy térköztartó rész, előnyösen Gly, Ala vagy β -Ala és

n jelentése 0-tól 5-ig terjedő egész szám - tartalmazó (I) és (II) általános képletű vegyületek.

A fenti vegyületek közül különösen előnyösek azok, amelyekben n jelentése 0 vagy 1.

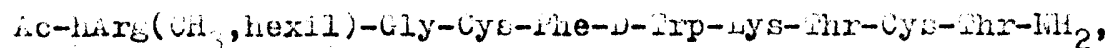
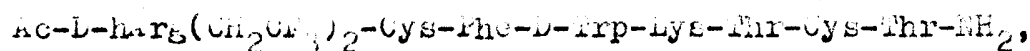
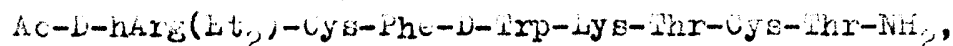
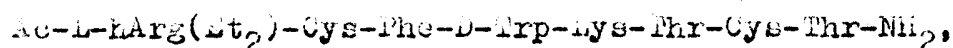
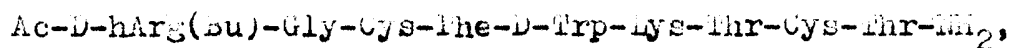
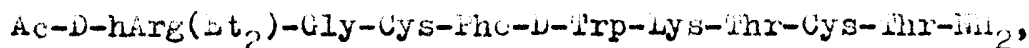
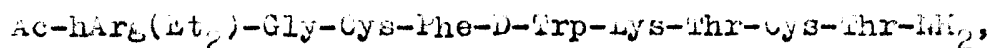
A ciklusos szomatostatín-szerű peptidek a hozzájuk kapcsolódó kationos résszel együtt vagy a teljes dodekapeptid-diszulfid-gyűrű vagy a ciklusos hexapeptid és a gyűrűben szubsztituált analógjai lehetnek. A találmány szerinti vegyületek közül a legelőnyösebb képviselők az alábbiak:

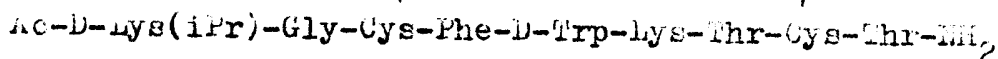
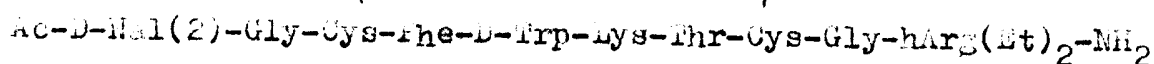
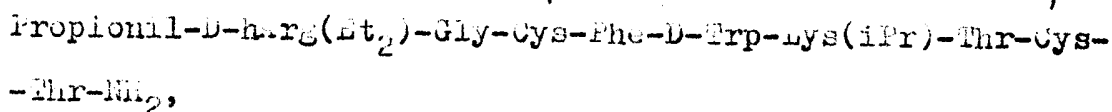
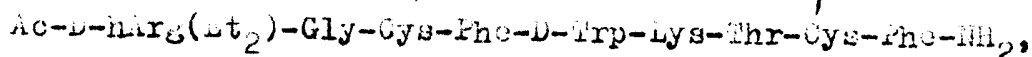
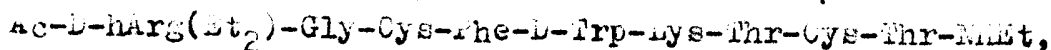
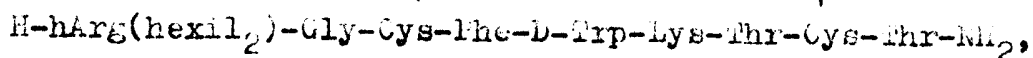




Ac-L-hArg(Et₂)-Gly-Cys-Phe-D-Trp-Lys(Me)-Thr-Cys-Thr-NHEt és gyógyászatilag elfogadható sói.

Találmányunk szerinti vegyületek további előnyös képviselői:





és hasonlók.

Általánosabban a találmány szerinti



(I) általános képletű vegyületek közül előnyösek azok, amelyekben a peptidet egy ciklusos hexapeptid képviseli - ebben a képletben

X jelentése N-terminális rész,

Y jelentése C-terminális rész, G-I általános képletű csoport vagy ennek egy alkoholja, előnyösen a G-I helyén Thr, treoninol-, fenil-alaninol-csoportot tartalmazó csoport, mimellett

X és I legalább egyikének jelentése kationos rész,

D jelentése Phe, Tyr, pPhe, pCl-Phe,

K jelentése Lys vagy Lys(R₁) általános képletű csoport, ahol az R₁ jelentése rövidszénláncu alkilcsoport vagy 1-8 szénatomos fluor-alkil-csoport, előnyösen Lys vagy Lys(Me) csoport,

F jelentése Thr, Val, Ser,

mimellett **G** jelentése D vagy L konfigurációjú Thr, Phe vagy Hal(2) és

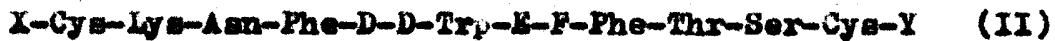
I jelentése hidroxilcsoport vagy -NHR₂ általános képletű csoport, ahol az R₂ jelentése hidrogénatom vagy megegyezik az R₁ jelentésénél megadottakkal - továbbá gyógyászatiilag elfogadható sóik.

A találmány szerinti (I) általános képletű vegyületek még általánosabb példái azok a képviselők, amelyekben a kationos részhez ciklusos hexapeptidek kapcsolódnak, beleértve a szubsztituált származékokat is. Ilyen vegyületek például az alábbiak:



Ac-D-Phe-Cys-Phe-D-Trp-Lys-Thr-Cys-X és hasonlók,
ahol X jelentése kationos rész.

A találmány szerinti vegyületek közé tartoznak a



általános képletű vegyületek - ebben a képletben

X jelentése N-terminális rész,

Y jelentése C-terminális rész, G-I általános képletű csoport vagy ennek alkoholja,

mimellett az X és Y legalább egyike egy kationos részt képvisel,

D jelentése Phe, Tyr, pF-Phe-pCl-Phe,

E jelentése Lys vagy Lys(R₁) általános képletű csoport, ahol az R₁ jelentése rövidszénláncu alkil-csoport vagy 1-8 szénatomos fluor-alkil-csoport,

F jelentése Thr, Val, Ser,

mimellett G jelentése D vagy L konfigurációjú Thr, Phe, Nal(2) vagy (Gly)_m, ahol m jelentése 0-tól 3-ig terjedő egész szám és

I jelentése hidroxilcsoport vagy -NHR₂ általános képletű csoport, ahol R₂ jelentése hidrogénatom vagy megegyezik az R₁ fent megadott jelentésével - továbbá ezek gyógyászatilag elfogadható sói.

Szomatosztatinból (ciklusos dodekapeptid) levezethető, kationos részhez kapcsolódó találmányunk szerinti (II) általános képletű szomatosztatin-jellegű vegyületekre az alábbi példákat említjük:

Ac-D-hArg(Bt₂)-Gly-Cys-Lys-Asn-Phe-Phe-D-Trp-Lys-Thr-Phe-

Thr-Ser-Cys-OH,

Ac-D-hArg(CH₂CF₃)₂-Gly-Cys-Lys-Asn-Phe-Phe-D-Trp-Lys-

Thr-Phe-Thr-Ser-Cys-NH₂,

Ac-hArg(CH₂CF₃)₂-Gly-Cys-Lys-Asn-Phe-Phe-D-Trp-Lys-

Thr-Phe-Thr-Ser-D-Cys-NH₂ 6s

Ac-D-hArg(CH₂CF₃)₂-Gly-Cys-D-Phe-Asn-Phe-Phe-D-Trp-

Lys-Thr-Phe-Thr-Ser-D-Cys-OH 6s

Ac-D-hArg(CH₂CF₃)₂-Gly-Cys-Lys-Asn-Phe-Phe-D-Trp-

Lys(Me)-Thr-Phe-Thr-Ser-D-Cys-NH₂ 6s

Ac-D-hArg(Pr₂)-Cys-D-Lys-Asn-Phe-Phe-D-Trp-Lys-Thr-Phe-

Thr-Ser-Cys-OH,

Ac-D-hArg(Me,hexil)-Gly-Lys-Asn-Phe-Phe-D-Trp-Lys-Thr-

Phe-Thr-Ser-Cys-NH₂

Általánosabban, a szomatosztatin-jellegű ciklusos peptidek vagy a teljes dodekapeptid szomatosztatin-gyűrűt vagy pedig ezeknek a gyűrűben szubsztituált analógjait jelentik, amelyek találmányunk szerint a kationos részhez kapcsolódnak. Ilyenek például az alábbiak:



és hasonló, amely képletekben X jelentése egy kationos rész.

Számos, a gyűrűben szubsztituált analóg ismeretes és találmányunk oltalmi körébe tartoznak mindazok, amelyek a fentiekben meghatározott kationos részt tartalmazzák. A találmány szerinti vegyületek körébe tartoznak a megfelelő redukált gyűrűk, vagyis a diszulfhidrilek is.

A ciklusos dodekapeptid illetőleg hexapeptid részekben történő szubsztitúció aktív analógokhoz vezet. Ilyen módon szubsztituált szomatosztatin-jellegű analógok a fent ismertetett kationos részhez kapcsolódva olyan analógokat eredményeznek, amelyek nem várt kiváló biológiai hatással és szelektivitással rendelkeznek.

A fent ismertetett módosításokat valamennyi ismert szomatostatín-jellegű analógok osztályánál alkalmazhatjuk. Az adatokból arra lehet következtetni, hogy a találmány szerinti kationos rész a peptidok biológiai aktivitását elősegíti. Találmányunk oltalmi köre ezért nem csupán azokat az analógokat öleli fel, amelyeket név szerint megemlítettünk, hanem valamennyi szomatostatín analógot, amelyek a peptid analógon kationos részt tartalmaznak.

A fenti vegyületek azok gyógyászatilag elfogadható megfelelő sóik alakjában is előállíthatók.

A találmány szerinti vegyületek tehát meglepő módon hatékonyak és hosszú ideig tartó hatásukat mutatkoznak, továbbá a növekedési hormon képződésének gátlásában és a glukagon illetőleg az inzulin kiválasztódásának gátlásában jelentős aktivitást mutatnak. A nagyobb vegyületek, vagyis a hexapeptideknél hosszabb peptidok a gyomorsav kiválasztását nagyobb mértékben gátolják.

A szomatostatín aktivitásának megközelítő mérésére szolgál, hogy a testben az inzulin, a növekedési hormon és/vagy a glukagon termelését mérsékli.

A szomatostatinnak a test hormonjaira kifejtett szabályozó hatásának mérésére szolgáló biológiai tesztek során a glukoz-indukált inzulin képződés, az inzulin-indukált glukagon képződés és a nembutál- vagy klonidin-indukált növekedési hormon képződés gátlását mérjük. Ezeknek a teszteknek a részletes ismertetését a 4., 5. és 6. példák tartalmazzák.

A találmány szerinti szomatostatín-jellegű analógokat a szomatostatín által szabályozott humán kórképek kezelésére alkalmazzuk. Ezek között említendők a karcinoid szindróma, a gyomorfekélyek, a II típusú cukorbetegség (nem-inzulin függő diabetes), a csipőbél-sipoly (ileosztómia) okozta hasmenés (diarrhea), az endokrin termék keletkezésének elfojtása az "apudomas"-ból, továbbá a glukagon és növekedési hormon nem megfelelő kiválasztása diabetesznél, a glükóz és aminosav gyomor-bél-traktusból történő felvételének megváltozása a diabetes különböző komplikációi során, beleértve a retina-bántalom (retinopatia), vesebaj (nephropatia), magas vérnyomás és a szív koszorú-ér betegségeket is.

A találmány szerinti vegyületek tumor-regresszió előidézésére alkalmazhatók, különösen olyan tumoroknál, amelyek az epidermális növekedési faktor receptorokkal vannak összefüggésben, például az agyfűggelék mirigy, agytumorok (agyhártyadaganat), hasi (abdominális) tumorok, endokrin és pankreasz tumorok (v.ö. Lamberts, ISI Atlas of Science: Pharmacology, 179-184. oldalak [1988]). Felhasználhatók más kórtüneteknél is: gyomor-bél-traktussal összefüggő betegségek, így a felső gyomor-bél-traktus vérzések, gyomor- és nyombélfekély, stressz okozta fekély és nyelőcsővi csomóképződés. További indikációs területek: akromegália, hasnyálmirigy-vérzés és sipoly, hasi műtétet követő sebgyógyulás és komoly trauma illetőleg nagyon magas vércukor-érték okozta stressz tüneteinek csillapítása.

A találmány szerinti vegyületek az ismert szomatostatint analógokkal in vivo kísérletekben történő összehasonlítás során hatékonyabbnak és hosszabb ideig ható anyagoknak mutatkoztak. Anélkül, hogy ragaszkodnánk a fenti megfigyelés bármilyen elméletéhez vagy magyarázatához, feltételezzük, hogy a membrán kötési rész kapcsolódása a szomatostatint-jellegű ciklusos peptidhez olyan vegyületeket eredményez, amelyek membrán affinitása nagy és ez a szövetekben elváltozást okozhat. Ezek a tulajdonságok a test foszfolipid membránjaiban történő lerakódást okoznak és így lehetővé válik, hogy az analógok hosszabb ideig a testben maradjanak. Feltételezhető, hogy ezek a módosítások a receptor affinitás növekedéséhez is vezetnek a receptor terhelés elősegítése révén (v.ö. Schwyzer fent ajánlott modelljével).

A gyakorlatban a találmányunk szerinti vegyületeket illetőleg az ezeket tartalmazó gyógyszerkészítményeket hatékony mennyiségben alkalmazzuk. Ezen vegyületeket vagy készítményeket az igényektől függően bármilyen kezelési mód, így orális, parenterális - beleértve a szubkután, intramuszkuláris és intravénás kezelést is - transzdermális vagy intranazális kezelés útján alkalmazhatjuk. A legmegfelelőbb kezelési mód az adott esetekben a kérdéses hatóanyagtól és a kezelni kívánt betegről függ. A vegyületet vagy a készítményt elhuzódó hatása, implantációs vagy injekciózható készítmények alakjában is alkalmazhatjuk.

Találmányunk szerint a hatóanyagot általában 0,001 és 10,0 $\mu\text{g}/\text{kg}$ testtömeg, előnyösen 0,01 és 5,0 $\mu\text{g}/\text{kg}$ testtömeg mennyiségben alkalmazzuk. A humán terápiában a hatóanyagot 0,01 és 2,0 $\mu\text{g}/\text{kg}$ napi adagolásban alkalmazzuk. A kezelés egyszeri alkalommal vagy pedig több alkalommal elosztva történhet vagy pedig a legjobb hatás elérése céljából elhuzódó hatású készítményt is alkalmazhatunk. Ha csak egyetlen adagot használunk a kezeléshez, akkor a mennyiség mintegy 0,01 és 0,10 $\mu\text{g}/\text{kg}$ között van.

A találmány szerinti vegyületekkel illetőleg ezeket a vegyületeket hatóanyagként tartalmazó készítményekkel történő kezeléshez használt adag a kezelni kívánt betegről, a kezelés módjától és a betegség súlyosságától függ. Általában a parenterális kezeléshez kisebb adag szükséges, mint a többi kezelési módhoz, amelyek az abszorpciótól jobban függenek.

Találmányunk oltalmi körébe tartozik a hatóanyagként a fenti vegyületeket, továbbá gyógyszerészetileg elfogadható nem-toxikus vivőanyagokat tartalmazó gyógyszerkészítmények előállítására is. Ahogy a korábbiakban említettük, ilyen készítményeket parenterális kezelésre - beleértve a szubkután, intramuszkuláris és intravénás kezelési módokat is - folyékony oldatok vagy szuszpenziók alakjában készítjük; orális kezeléshez előnyösen tablettákat vagy kapszulákat alkalmazunk; intranazális kezelési módhoz pedig porokat, orrcseppeket vagy aeroszolókat használunk.

A készítményeket adagolási egységek alakjában alkalmazzuk és a gyógyászatban jólismert módszerek bármelyike szerint készítjük el ezeket; v.ö. Remington's Pharmaceutical Sciences, 17. kiadás. Mack Publishing Company, Easton, PA., 1985. A parenterális kezeléshez alkalmazott készítmények szokásos segédanyagként steril vizet vagy nátrium-klorid-oldatot, alkilén-glikolt, például propilén-glikolt, polialkilén-glikolt, például polietilén-glikolt, növényi eredetű olajokat, hidrogénezett naftalinokat és hasonlókat tartalmazhatnak. Orális kezeléshez a készítményekhez epesavas sókat és acilkarnitineket is adhatunk (Am. J. Physiol., 251, 332 [1986]). Nazális kezelésre alkalmas készítmény lehet szilárd és segédanyagként például laktózt vagy dextransz tartalmazhat, vagy vizes illetőleg olajos oldat lehet orrcsepp vagy spray. Bukális kezeléshez alkalmas készítmények a szokásos segédanyagokat, így cukrot, kalcium-sztearátot, magnézium-sztearátot, előzselatinizált keményítőt és hasonlókat tartalmaznak.

Nazális kezelési módhoz az orr nyálkahártyájának membránján történő áthatolás elősegítésére felületi feszültséget csökkentő savakat, például glikokólsavat, kólsavat, taurokólsavat, etokólsavat, dezoxikólsavat, keno-dezoxikólsavat, dehidrokólsavat, glukodeoxi-kólsavat és hasonlókat alkalmazunk (B. H. Vickery: "LHRH and Its Analogs-Contraception and Therapeutic Applications", Pt. 2, B. H. Vickery és J. J. Nestor, MTP Press, Lancaster, Nagy-Britannia, 1987).

A találmány szerinti vegyületekhez egy vagy több felületi feszültséget csökkentő savat vagy só-t, előnyösen egyetlen gyógyászatilag elfogadható savat vagy só-t adhatunk. Gyógyászatilag elfogadható felületi feszültséget csökkentő sók közé tartoznak azok a sók, amelyek a peptid abszorpcióját elősegítő tulajdonságot és a felületi feszültséget csökkentő sajátyságot is megtartják, továbbá káros hatással nem rendelkeznek és más szempontból sem kontraindikáltak. Ilyen sók például a szervetlen bázisokból levezethető sók, így a nátrium-, kálium-, litium-, ammónium-, kalcium-, magnézium-, vas(II)-, cink-, réz-, mangán(II)-, alumínium-, vas(III)-, mangán(IV)-sók és hasonlók. Különösen előnyösek az ammónium-, kálium-, nátrium-, kalcium- és magnézium-sók. A gyógyászatilag elfogadható szerves, nem-toxikus bázisokból levezethető sók primer, szekunder és tercier aminok, szubsztituált aminok, így természetben előforduló szubsztituált aminok, ciklusos aminok és bázikus ioncserélő gyanták, például izopropil-amin, trimetil-amin, dietil-amin, trietil-amin, tripropil-amin, etanol-amin, 2-dimetil-amino-etanol, 2-diethyl-amino-etanol, trometamin, diciklohexil-amin, lizin, arginin, hisztidin, koffein, prokain, hidrabamin, kólin, betain, etilén-diamin, glükózamin, metil-glükamin, teobromin, purinok, piperazin, piperidin, N-etil-piperidin, poliamin-gyanták és hasonlók. Különösen előnyös szerves nem-toxikus bázisok az izopropil-amin, dietil-amin, etanol-amin, trietil-amin, diciklohexil-amin, kólin és koffein.

A találmány gyakorlati kivitelezése során az alkalmazott felületaktív anyag mennyiségét úgy választjuk meg, hogy a szomatostatin analógok abszorpcióját jobban növelje, mint más olyan felületaktív anyagok, amelyek a peptidok abszorpcióját bizonyos mértékben növelik. Azt találtuk, hogy ez a mennyiség gyakran 0,2-15 %, még gyakrabban 0,2-5 tömeg/térfogat%. A felületaktív anyag előnyösen 0,5-4 tömeg/térfogat%, célszerűen 1 tömeg/térfogat%, előnyösen 2 tömeg/térfogat% mennyiségben van jelen.

A találmány szerinti vegyületeket kívánatos hosszabb időközönként adagolni, így például egyetlen kezeléssel egy hét és egy év közötti időtartamra. Különböző elhuzódó hatásu, implantált vagy injektálható adagolási formákat alkalmazhatunk. Az adagolási formák például a vegyületek olyan gyógyászatilag elfogadható nem-toxikus sóit tartalmazhatják, amely a testnedvekben rosszul oldódnak; ilyenek például az a) savaddíciós sók, így foszforsavas, kénsavas, citronsavas, borkósavas, csersavas, pamoosavas, alginsavas, poliglutaminsavas, naftalin-mono- vagy -diszulfonsavas, polilakturonsavas és hasonló sók; b) többértékű fém-kationokkal alkotott sók, ilyenek például a cink-, kalcium-, bizmut-, bárium-, magnézium-, alumínium-, réz-, kobalt-, nikkel-, kadmium-sók és hasonlóak vagy szerves kationnal képezett sók, például N,N'-dibenzil-etilén-diamin vagy etilén-diamin; vagy c) az a) és b) szakasz alatt felsorolt sók kombinációi, például a cink-tannát só. A találmány szerinti vegyületek vagy előnyösen ezek valamilyen viszonylag rosszul

oldódó sói, mint a fent említettek, gél formájában is elkészíthetők, így az alumínium-sztearát gél például szesámolajjal elkészítve injekciózásra alkalmas. Különösen előnyösök a cink-sók, így a cink-tannát-sók, pamócát-sók és hasonlók. A lassan kioldódó injekciós vagy implantációs formák a vegyületet vagy annak sóját diszperz vagy kapszulázott alakban tartalmazzák egy lassan lebomló, nem-toxikus, nem-antigén polimerben, például politejsavas/poliglükolsavas polimerben. A vegyületet vagy előnyösen ezek viszonylag rosszul oldódó sóit, például a fent említetteket koleszterol mátrix pelletek vagy szilasztomer mátrix implantumok alakjában is formulázhatjuk, különösen állatgyógyászati alkalmazás esetén. A lassan kioldódó, depo implantumok vagy injekciózható formáik, például a liposzómák az irodalomból jól ismertek; v.ö. "Sustained and Controlled Release Drug Delivery Systems" c. könyvet (J. K. Robinson kiadó, Marcel Dekker, Inc., New York, 1978).

A találmány szerinti vegyületek bármilyen módszerrel előállíthatók, amelyek a peptid-kémiában jártas szakemberek számára ismertek. A számos módszer kiváló összefoglalását tartalmazza J. M. Stewart és J. D. Young: "Solid Phase Peptide Synthesis" című könyvének 2. kiadása (Pierce Chemical Co., Rockford, Illinois, 1984) és J. Meienhofer: "Hormonal Proteins and Peptides" című könyvének 2. kötetében a 46. oldalon (Academic Press, New York, 1973) a szilárd fázisú peptid-szintézisre és E. Schroder és K. Lubke: "The Peptides" 1. kötet (Academic Press, New York, 1965) a klasszikus, oldatokban történő szintézisre.

Általában a módszerek egy vagy több aminosav vagy megfelelően védett aminosav szekvenciáinak összedadását jelentik növekvő peptid-lánccá. A szokásos eljárás szerint az első aminosav amino- vagy karboxilcsoportját megfelelő védőcsoporttal védjük. A védett vagy derivatizált aminosavat ezután vagy egy inert szilárd hordozóhoz kapcsoljuk vagy pedig a reakciót oldatban végezzük el oly módon, hogy az amid-képződésre alkalmas körülmények között hozzáadjuk a következő aminosavat, amely a megfelelő, alkalmasan védett amino- vagy karboxilcsoportot tartalmazza. A védőcsoportot ezután az újonnan hozzáadott aminosav-maradékról eltávolítjuk, majd a következő, megfelelően védett aminosavat adjuk hozzá és így folytatjuk tovább. Ha már valamennyi kívánt aminosavat hozzákapcsoltuk megfelelő szekvenciában, akkor a megmaradt védőcsoportokat illetőleg szilárd hordozókat egymásután eltávolítjuk, így a nyers, redukált polipeptidet kapjuk. A peptidet hig vizes közegben történő oxidatív ciklizálásnak vetjük alá, például a levegő oxigénjével, kálium-vas(III)-cianiddal, jóddal, $\text{ICH}_2\text{CH}_2\text{I}$ vegyülettel vagy hasonlókkal; előnyösen kálium-vas(III)-cianidot alkalmazunk. A diszulfid-kötések kialakítását a peptid-lánc oxidációja útján végezhetjük el, miközben a peptid még a gyantán van (kivánt esetben a tiol-védőcsoport lehasítása után). Végül a peptidet sójából felszabadítjuk, majd kromatográfiás tisztítás útján a végtermékhez jutunk.

A természetben elő nem forduló fenti aminosavak előállítása a szakember számára ismert és történhet folyadék- vagy szilárd-fázisú peptid-szintézis útján.

A találmány szerinti vegyületek előállítását előnyösen szilárd-fázisú peptid-szintézissel folytatjuk le.

Az eljárás szerint az aminosavak α -amino funkció csoportját egy savra vagy bázisra érzékeny csoporttal védjük. Ezeknek a védőcsoportoknak a peptid-kötés létrehozásának körülményei között stabilaknak kell lenniük, miközben a növekvő peptid-lánc megsértése nélkül vagy a peptidben lévő bármelyik királis centrum racemizálódása nélkül eltávolíthatók legyenek. Ilyen alkalmas védőcsoportok a terc-butil-oxi-karbonil-, benzil-oxi-karbonil-, o-klór-benzil-oxi-karbonil-, bifenil-izo-propil-oxi-karbonil-, terc-amil-oxi-karbonil-, izobornil-oxi-karbonil-, α, α -dimetil-3,5-dimetoxi-benzil-oxi-karbonil-, o-nitro-fenil-szulfenil-, 2-ciano-terc-butil-oxi-karbonil-, 9-fluorenil-metil-oxi-karbonil-csoport és hasonló, előnyösen terc-butil-oxi-karbonil-csoport.

Az oldalláncot védő csoportok közül különösen előnyösek a lizin esetén: benzil-oxi-karbonil, 9-fluorenil-metil-oxi-karbonil-, p-toluol-szulfonil-, terc-butil-oxi-karbonil-csoport és adamantil-oxi-karbonil-csoport; a tirozin esetében: benzil-, o-bróm-benzil-oxi-karbonil-, 2,6-diklór-benzil-, izopropil-, ciklohexil-, ciklopentil- és acetyl-csoport; szerin vagy treonin esetében: benzil- és tetrahidropiranyil-csoport; cisztein esetében: 4-metoxi-benzil-, 4-metil-benzil-, benzil-, acetamido-metil-, etil-karbamoil-, 8-szulfonát-csoport; triptofán esetében: N^{IN} -formil-csoport vagy nem szükséges a védőcsoport.

A C-terminális aminosav egy megfelelő szilárd hordozóhoz kapcsolódik. Alkalmos szilárd hordozók a fenti szintézishez azok az anyagok, amelyek a reagensekkel és a lépésenkénti kondenzációs illetőleg a védőcsoportot eltávolító reakciók körülményei között inertek, továbbá az alkalmazott reakcióközegben nem oldódnak. Ilyen alkalmas hordozók a klór-metil-polisztirol- illetőleg divinil-benzol polimerje, hidroxil-metil-polisztirol és divinil-benzol polimerje és hasonlók, különösen a klór-metil-polisztirol és 1 % divinil-benzol polimerje. Ha a vegyület C-terminális csoportja egy amidcsoport - vagyis az (I) általános képletben az Y jelentése $G-NHR_2$ - akkor igen előnyös hordozó a p-metil-benzhidril-amino-polisztirol és divinil-benzol polimerje (Rivaille és munkatársai: Helv. Chim. Acta., 54, 2772 [1971]).

A klór-metil-polisztirol és divinil-benzol-polimer típusu gyantához történő kapcsolódást úgy folytatjuk le, hogy az előnyösen terc-butil-oxi-karbonil-csoporttal védett $N\alpha$ -védett aminosavból cézium-, tetrametil-ammonium-, trietil-ammonium-, 1,5-diazabicyklo[5,4,0]undek-5-én vagy hasonló sóinak alakjában etanollal, acetonitrillel, N,N-dimetil-formamiddal és hasonlókkal elegyet készítünk, előnyösen a cézium-só dimetil-formamiddal készített elegyét használjuk, majd ezt magas hőmérsékleten, például 40-60 °C-on, előnyösen 50 °C-on, 12-48 óra hosszat, előnyösen 24 óra hosszat klór-metil-gyantával reagáltatjuk. Az $N\alpha$ -terc-butil-oxi-karbonil-aminosavat a benzhidril-amin-gyantához úgy kapcsoljuk, hogy például egy N,N'-di-

izopropil-karbodiimid és 1-hidroxi-benzotriazol révén létrejövő kapcsolást 2-24 óra hosszat, előnyösen 2 óra hosszat tartó 10-50 °C között, előnyösen 25 °C-on egy oldószerben, például diklór-metánban vagy dimetil-formamidban, előnyösen diklór-metánban végzett reakció útján folytatjuk le. Az egymás után védett aminosavak kapcsolását egy, a szakember számára ismert automata polipeptid szintetizátorban is végrehajthatjuk. Az N α -védőcsoportok eltávolítását végrehajthatjuk például trifluor-ecetsavnak metilén-kloriddal, hidrogén-kloridnak dioxánal, hidrogén-kloridnak ecetsavval, hidrogén-kloridnak izopropil-alkohollal készített oldatában vagy más erős savas oldatban, például 50 %-os trifluor-ecetsavnak diklór-metánnal készített oldatában a környezeti hőmérsékleten. A trimetil-aminnal vagy más hasonló bázissal végzett semlegesítés után mindegyik védett aminosavat előnyösen 2,5 mólnyi feleslegben alkalmazzuk és a kapcsolást diklór-metánban, diklór-metán és dimetil-formamid elegyében, dimetil-formamidban vagy hasonlóknban, előnyösen metilén-kloridban környezeti hőmérsékleten folytatjuk le. A kapcsoló ágens általában N,N'-diciklo-hexil-karbodiimid diklór-metánnal készített elegye, de lehet N,N'-diizo-propil-karbodiimid vagy más karbodiimid egyedül vagy 1-hidroxi-benzotriazol, N-hidroxi-szukcinimid, más N-hidroxi-imidek vagy oximok jelenlétében. Más módszer szerint védett aminosav aktiv észtereket, például p-nitro-fenilt, pentafluor-fenilt és hasonlókat vagy szimmetrikus anhidrideket is alkalmazhatunk.

A szilárd-fázisu szintézis végén az összes védett polipeptidet eltávolítjuk a gyantáról. Ha a gyanta-hordozóhoz kialakított kötés benzil-észteres típusu, akkor a hasítást alkil-aminnal vagy fluor-alkil-aminnal történő aminolízis útján folytatjuk le C-terminális alkil-amidot tartalmazó peptidek esetében, míg helyettesítetlen C-terminális amidokat tartalmazó peptidek esetében az aminolízis például ammónia és metanol vagy ammónia és etanol elegyével történik -10 és 50 °C közötti hőmérsékleten, előnyösen 25 °C körüli hőmérsékleten 12-24 óra alatt, előnyösen 18 óra alatt. A C-terminális szabad karboxilcsoporttal rendelkező peptideket hidrogén-fluoriddal vagy más erős savval történő reakció útján vagy pedig elszappanosítás révén kapjuk. A peptideket eltávolíthatjuk a gyantáról például metanollal történő átészterezés, majd ezt követő aminolízis, elszappanosítás vagy litium-bór-hidriddel történő C-terminális alkoholos redukció útján is. Egy másik módszer szerint a C-terminális peptidet még a gyantán közvetlenül is alkohollá redukálhatjuk. A védett peptidet ezen a ponton szilikagészes kromatografálással tisztíthatjuk. A polipeptid oldallánci védőcsoportjainak eltávolítását úgy folytatjuk le, hogy az aminolízis után kapott terméket például vízmentes folyékony hidrogén-fluoriddal kezeljük anizol vagy más szén-megkötő jelenlétében, hidrogén-fluorid és piridin komplexével kezeljük, trisz(trifluor-acetil)-boronnal és trifluor-ecetsavval kezeljük, hidrogénnel és palládiumos szénnel vagy polivinil-pirrolidonnal redukálunk vagy folyékony ammóniában nátriummal redukálunk,

előnyösen folyékony hidrogén-fluoriddal végezzük a redukciót anizol jelenlétében -10 és $+10$ °C közötti hőmérsékleten, előnyösen 0 °C körüli hőmérsékleten, 15 perc és 2 óra közötti ideig, előnyösen 1 óra hosszát tartó reakció során. Benzhidril-amin gyantához kötött peptidek esetében a gyantáról történő lehasítást és a védőcsoportok eltávolítását egyetlen reakciólépésben is elvégezhetjük oly módon, hogy folyékony hidrogén-fluoridot alkalmazunk anizol jelenlétében. A védőcsoportoktól teljesen felszabadított polipeptidet ezután oxidatív ciklizálásnak vetjük alá hig vizes vagy vizes és szerves oldószeres elegyben, miközben oxidálószerként a levegő oxigénjét, kálium-vas(III)-cianidot, jódot, $\text{ICH}_2\text{CH}_2\text{I}$ vegyületet és hasonlókat, előnyösen ekvivalens mennyiségű kálium-vas(III)-cianidot alkalmazunk. Az oldatot például BioRad AG-3 anionos ioncserező gyantával sótelenítjük és az alábbi kromatográfiás lépésekkel tisztítjuk, miközben bármelyik vagy mindegyik kromatográfiás típust alkalmazhatjuk: acetát-formában jelenlévő gyenge bázikus ioncserező gyanta; hidrofób adszorpciós kromatográfia polisztirol-divinil-benzolon, például Amberlite XAD; szilikagésles adszorpciós kromatográfia; ioncserező kromatográfia karboxi-metil-cellulózon; megoszlásos kromatográfia, például Sephadex G-25 tölteten vagy ellenáramu kromatografálás; magasnyomású folyadék-kromatográfia (HPLC), különösen ellenáramu HPLC oktil- vagy oktadecil-szilil-szilika töltetű oszlopon.

A C-terminális alkoholos funkciójú peptidok előállítását a megfelelő metil-észter-csoport vagy peptid gyanta észter litium-bór-hidriddel történő redukciója után folytatjuk le.

A fentiek értelmében a találmány szerinti vegyületek és ezek gyógyászatilag elfogadható sói a találmány szerinti eljárással az alábbi módszerekkel állíthatók elő:

a védőcsoportokat és adott esetben a védett polipeptidet a kovalensen kötött szilárd hordozóról eltávolítjuk és így a találmány szerinti (I) vagy (II) általános képletű vegyületeket vagy ezek gyógyászatilag elfogadott sóit kapjuk - ezek a vegyületek

- a) ciklusos szomatostatinszerű peptidet és
- b) a peptid egyik vagy mindkét Cys gyökéhez kapcsolódó kationos részt tartalmaznak.

Találmányunkat az alábbi példákkal szemléltetjük, anélkül azonban, hogy találmányunkat ezen példákra korlátoznánk.

Példák

A természetben elő nem forduló $\text{N}^+\text{Arg}(\text{R}_2)$ aminosav osztály szintézisére szolgáló szintetikus módszerre általános példát ismertet a Nestor és munkatársai: J. Med. Chem.: 31, 65 (1988) közlemény és a 4 667 014 számú amerikai egyesült államokbeli szabadalmi leírás (közszétéve 1987. május 19.).

Az (I) és (II) általános képletű vegyületek előállítása az alábbiakban ismertetett kiindulási vegyületekből történik.

N^{α} -terc-butyl-oxi-karbonil- $N^{\beta}, N^{\beta'}$ bisz-1,1,1-trifluor-etil-D-homoarginin-hidroklorid előállítása:

7,33 g toluolszulfonsavas benzil-N-benzil-oxi-karbonil-D-lizin-észter (B. Bezus és L. Zervas: J. Am. Chem. Soc.: 83, 719 [1961]) és 3,60 g 1,1,1-trifluor-diethyl-tio-urea (M. Uher és J. Jendrichovsky, Coll, Czech: 38, 289 [1973]) 50 ml metil-cianiddal és 50 ml tetrahidrofuránnal készített elegyéhez 2,06 g higany(II)-kloridot és 3,3 g trietil-amint adunk. A reakcióelegyet 80-90 °C-ra melegítjük és ezen a hőmérsékleten tartjuk 8 óra hosszat. Ezt követően 20 %-os higany(II)-kloridot, trietil-amint és tio-ureát adunk hozzá. A melegítést 15 óra hosszat folytatjuk. Ezután a reakcióelegyet szobahőmérsékletre lehütjük, celliten keresztül szűrjük és vákuumban szárazra pároljuk. A maradékot szilikagéllal töltött oszlopon kromatografáljuk, miközben eluálószerként metilén-klorid és metil-alkohol 19:1 arányu elegyét alkalmazzuk, amelyet fokozatosan 9:1 arányu eleggyé higitunk, majd utána a metilén-klorid és metil-alkohol 4:1 arányu eleggyé higitjuk. A terméket tartalmazó frakciókat vékonyrétegkromatográfián követjük, utána egyesítjük és szárazra pároljuk. Termékként 7,6 g sárga habos anyagot kapunk. A habot egy szilikagéllal töltött másik oszlopon kromatografáljuk, miközben az eluálószerként használt metilén-klorid és metil-alkohol eleggyének gradiense 9:1 arányról 4:1 arányra csökken,

majd a metilén-klorid és metil-alkohol 4:1 arányu izokratikus elegyét alkalmazzuk. A terméket tartalmazó frakciókat vékonyrétegkromatográfiásan követjük, majd a frakciókat egyesítjük és szárazra pároljuk. Termékként 7,0 g toluol-szulfonsavas benzil- N_{α} -benzil-oxi-karbonil- $N^G, N^{G'}$ -bisz-2,2,2-trifluor-etil-D-homoargininsav-észtert kapunk; $[\alpha]_D^{25} = 10,2^{\circ}$ (C = 1,5 metil-alkohol).

6 g fenti termék és 1 g 10 % palládiumot tartalmazó aktivszén 150 ml etil-alkohollal készített elegyéhez 3 óra hosszat atmoszférikus nyomáson hidrogén-gázt vezetünk. Ezután további 0,4 g 10 % palládiumot tartalmazó aktivszénet adunk az elegyhez és a hidrogénezést 3 óra hosszat folytatjuk. A reakcióelegyet celliten keresztül szűrjük, szárazra bepároljuk, így 4 g $N^G, N^{G'}$ -bisz-(2,2,2-trifluor-etil)-D-homoarginin-toluol-szulfonátot kapunk; $[\alpha]_D^{25} = -7,76^{\circ}$ (C = 0,4 metil-alkohol).

A fenti termékből 1,96 g-ot 8 ml 1 n nátrium-hidroxid és 8 ml dioxán elegyében oldunk, majd a kapott elegyhez 0 °C-on 160 mg magnézium-oxidot és 1,05 g di-terc-butildikarbonátot adunk. Az elegyet 0 °C-on 1 óra hosszat keverjük, majd a keverést szobahőmérsékleten további 3 óra hosszat folytatjuk. A magnézium-sót ezután leszűrjük és a szűrletet vákuumban bepároljuk. A bázikus oldatot vízmentes dietil-éterrel mossuk, majd 0 °C-on 1 n sósav-oldattal pH = 3,5-ig megsavanyítjuk. A terméket a savas vizes oldatból etil-acetáttal extraháljuk, majd vízmentes magnézium-szulfáttal szárítjuk. A szárítószert leszűrjük és a szűrletet szárazra pároljuk, így fehér habos terméket

kapunk. A habos anyaghoz AG-3 Cl⁻ gyöngyöt adunk, így a vegyületet kloriddá alakítjuk át. Termékként 1,4 g N α -terc-butil-oxi-karbonil-N^G,N^{G'}-bisz(2,2,2-trifluor-
-etil-D-homoarginin-hidrokloridot kapunk.
[α]_D²⁵ = -2,19 ° (C = 5 metil-alkohol).

1. példa

(I) általános képletű vegyületek szintézise

Beckman 990 típusu peptid-szintetizátor reakcióedényébe 11,11 g (4 mmól) 4-metil-benzhidril-amin-gyantát helyezünk. Ezt követően a gyantához egy szintézis-program segítségével egymás után hozzáadjuk az aminosavakat. Tipikus szintézis-programot ismertet a 4 667 014 számú amerikai egyesült államokbeli szabadalmi leírás (közzétéve 1987. május 19) 21. oszlopa. Hasonló peptid-szintézis programokat is lehet alkalmazni más, a kereskedelemben hozzáférhető peptid-szintetizátorokhoz.

A) Az (I) általános képletű vegyület előállításakor a gyantához kötjük egymás után a 2,0-2,5 mólekvi-
valens mennyiségben feleslegben vett mindegyik aminosavat és az N,N'-diciklohexil-karbodiimidet.

A gyantához az egymást követő kapcsolási ciklusok alatt az alábbi vegyületeket adjuk:

3,09 g terc-butil-oxi-karbonil-Thr(benzil)-OH

és 4 g l-hidroxi-benzotriazol

3,09 g terc-butil-oxi-karbonil-Cys(benzil-OMe)-OH

3,09 g terc-butil-oxi-karbonil-Thr(benzil)-OH

4,14 g terc-butil-oxi-karbonil-Lys(o-klór-benzil-oxi-karbonil) és

3,04 g terc-butil-oxi-karbonil-D-Trp-OH.

A D-Trp kapcsolódása után 0,5 % indolt adunk az oldathoz. A gyantához ezután egymás után az alábbi vegyületeket adjuk:

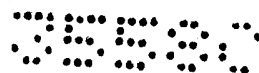
2,65 g terc-butil-oxi-karbonil-PheOH

3,42 g terc-butil-oxi-karbonil-Cys(benzil-OMe)-OH és

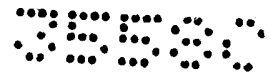
1,75 g terc-butil-oxi-karbonil-Gly-OH.

Ennél a pontnál a kapott hepapeptid gyantát kisebb részekre osztjuk. 3,37 g (0,75 mmól) részhez egymás utáni ciklusokban további vegyületeket kötünk, így 1 g terc-butil-oxi-karbonil-D-hArg(CH₂CF₃)₂-OH és 1 g 1-hidroxi-benzotriazol, majd 2 ml ecetsav-anhidrid 12,4 ml dimetil-formamiddal készített elegye kerül sorra.

A gyantát a reakcióedényből eltávolítjuk, diklórmetilénnel mossuk, majd vákuumban szárítjuk, így 3,07 g védett polipeptid-gyantát kapunk. A peptidról a védőcsoportokat eltávolítjuk és a peptidet eltávolítjuk a gyantáról oly módon, hogy 30 ml vízmentes folyékony hidrogén-fluoridot adunk a gyantához 3 ml anizol jelenlétében 0 °C-on 1 óra hosszat. A hidrogén-fluoridot vákuumban elpárologtatjuk és az N-Ac-DhArg(CH₂CF₃)₂-Gly-Cys-Phe-D-Trp-Lys-Thr-Cys-Thr-NH₂ vegyületet hidrogén-fluorid-só alakjában éterrel mossuk. A maradékot ezután mintegy 1 l különlegesen tisztított vízzel (nanoviz) mossuk. Az extraktumokat



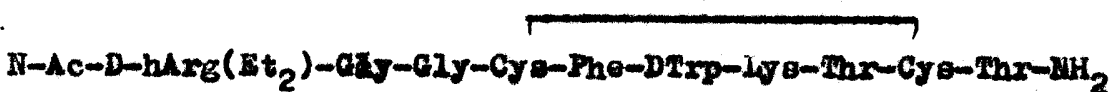
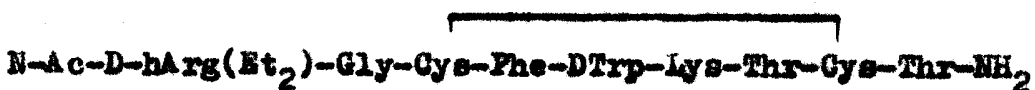
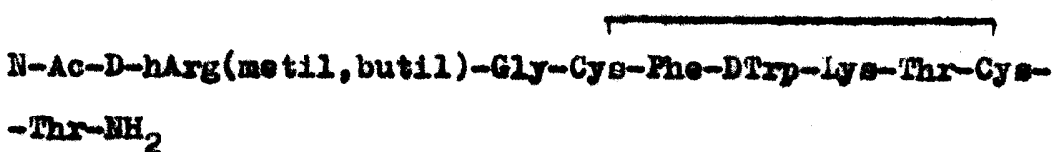
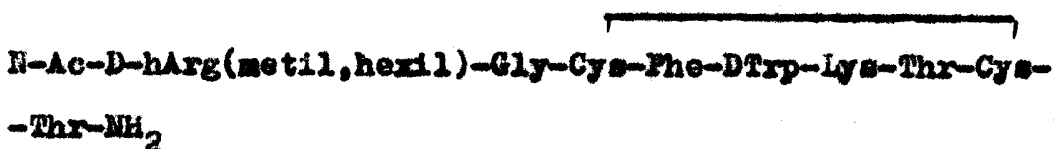
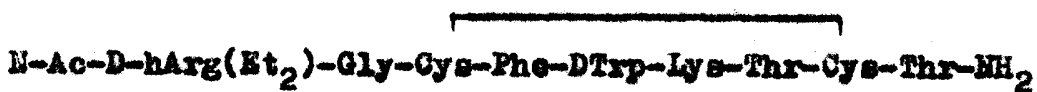
a 4 l teljes mennyiség eléréséig nagyon tiszta vízzel azonnal hígítjuk. Az oldat pH-ját híg ammónium-hidroxid-oldattal 7,5-8-ra állítjuk be. A peptidet 80 ml 0,01 mólos $K_3Fe(CN)_6$ oldat lassu hozzáadásával ciklizáljuk. A híg peptid-oldatot 10 %-os ecetsav-oldattal pH = 4,5-re megsavanyítjuk és egy protonált Biorex 70 oszlopba öntjük, amely vizet tartalmaz (Biorad Laboratories, Hercules, CA). A feltöltés után a megmaradt sókat 2 liter vízzel kimossuk az oszlopból. A peptidet az oszlopból eluáljuk, miközben az eluálószer gradiense: 1 l 5 % HOAc és 1 l 50 % HOAc, majd 1 liter 50 %-os HOAc-vel folytatjuk. 190 frakciót gyűjtünk össze (20-30 ml) egy ISCO automata frakció-gyűjtővel. A $\lambda = 280$ nm-nél mért abszorpciót egy Hewlett-Packard 8450A UV/VIS spektrofotométerrel mérjük minden ötödik frakciónál. Az eredményeket grafikusan ábrázoljuk és a 30-55, 56-90 illetőleg a 91-120 frakciókat egyesítjük, majd szárazra pároljuk és mindegyiket 100 ml vízben eloszlatjuk. A nyers terméket ecetsavas sóvá alakítjuk úgy, hogy acetát-formává átalakított AG3X, gyenge bázikus tercier amin-gyantával töltött oszlopon átengedjük. A frakciók liofilizálása utján 250 mg, 350 mg illetőleg 125 mg terméket kapunk. Az egyesített frakciókat Spectra Physics magasnyomásu folyadékkromatográfiás (HPLC) rendszerrel Vydac KP-18 oszlopon értékeljük ki. A 250 mg-os és a 350 mg-os részeket HPLC kromatografálással 200 g Vydac KP-18 (20-30 mikron) oszlopon tisztítjuk, pufferként 28 %-os metil-cianid és 72 % viz elegyét alkalmazzuk

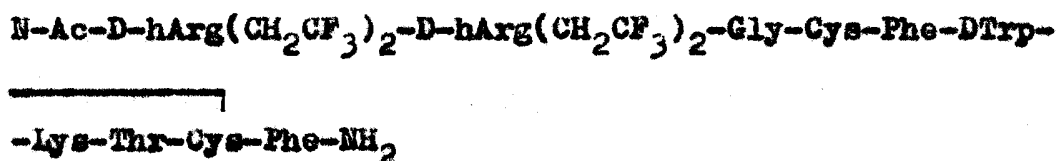
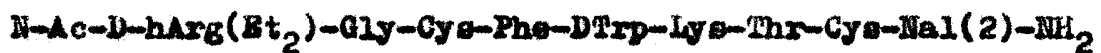
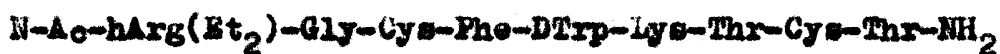
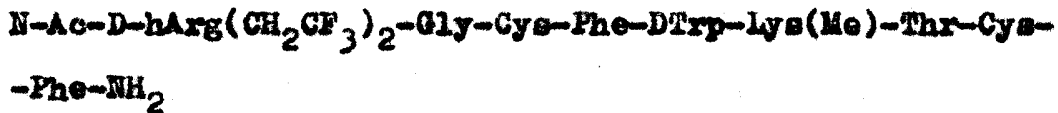
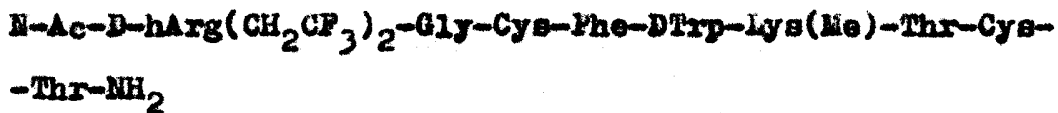
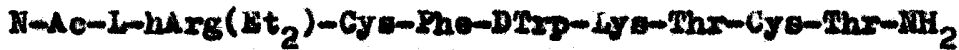
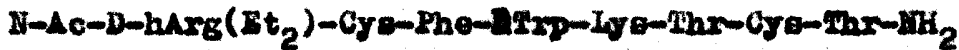


(0,03 mól NH_4OAc -ban, $\text{pH} = 4,5$). A legnagyobb UV-abszorbpció (280 nm) csúcsot összegyűjtjük és szárazra pároljuk, majd nagyon tiszta vízzel háromszor liofilizáljuk, így termékként 135 mg tiszta, ciklizált $\text{Nac-D-hArg}(\text{CH}_2\text{CF}_3)_2$ -

$\text{-Gly-Cys-Phe-DTrp-Lys-Thr-Cys-Thr-NH}_2$ vegyületet kapunk;
 $[\alpha]_D^{25} = -18,8^\circ$ ($c = 0,3$ HOAc).

B) Az 1. példa A) szakasza szerinti eljárást alkalmazzuk, azonban kiindulási anyagként a megfelelő védett aminosavat használjuk, így az alábbi vegyületeket kapjuk:





Ac-D-hArg(Et₂)-D-hArg(Et₂)-Gly-Gys-Phe-DTrp-Lys-Thr-Cys-
-Thr-NH₂ és hasonlók.

2. példa

C-terminális alkil-amid funkciós csoportot tartalmazó (I) általános képletű vegyületek szintézise

C-terminális alkil-amid-csoportot, vagyis az Y helyén G-I általános képletű csoportot - ebben a képletben I jelentése -NHR₂ általános képletű csoport, ahol az R₂ jelentése alkilcsoport - tartalmazó vegyületeket a gyantáról lehasítva állítunk elő a megfelelő alkil-aminnal történő aminolízis útján. Az 1. példa szerinti reakcióedénybe 1,24 g terc-butil-oxi-karbonil-Thr(benzil)-O-gyantát teszünk, amelyet úgy állítunk elő, hogy a terc-butil-oxi-karbonil-Thr(benzil)-OH száraz cézium-sójának 20 mól%-os feleslegét 50 °C-on dimetil-formamidban 24 óra hosszat reagáltatjuk klór-metil-polisztirol - 1 % divinil-benzollal (mintegy 1 mmól szabad Cl/g gyanta: BioRad Labs). A reakció eredményeként a védett aminosavat egy benzil-észter-ti-
pusu kötéssel a gyantához kapcsoljuk, amely kötést később aminolizálhatjuk.

Az aminosav-O-gyanta kötés létrehozásához fokozatosan 2-2,5 mólnyi feleslegben lévő megfelelő védett aminosavat és diizopropil-karbodiimidet alkalmaztunk. Az aminosav-gyantához az egymás utáni kötési ciklusokban az alábbi vegyületeket adjuk:

0,857 g terc-butil-oxi-karbonil-Cys(benzil-OMe)-OH

0,77 g terc-butil-oxi-karbonil-Thr(benzil)-OH

1,04 g terc-butil-oxi-karbonil-Lys-(o-klór-benzil-oxi-karbonil)

0,76 g terc-butil-oxi-karbonil-D-Trp-OH és

0,1 % indolt adunk a CF_3CO_2H védőcsoportot eltávolító oldathoz a későbbi védőcsoport-lehasítás folyamatához,

0,66 g terc-butil-oxi-karbonil-Phe-OH

0,85 g terc-butil-oxi-karbonil-Cys(benzil-OMe)-OH

0,44 g terc-butil-oxi-karbonil-Gly-OH

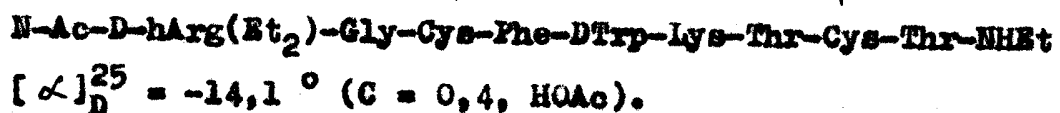
0,99 g terc-butil-oxi-karbonil-D-hArg(Et₂)-OH és
1 g l-hidroxi-benzotriazol,

2 ml ecetsav-anhidrid 8,2 ml dimetil-formamiddal készített elegye.

A peptid-gyantát eltávolítjuk a reakcióedényből, majd metilén-kloriddal mossuk és vákuumban szárítjuk, így 2,15 g védett peptid-O-gyantát kapunk. A védett polipeptidet 50 ml etil-aminnal 0 °C-on 8 óra hosszat végrehajtott aminolízis után leválasztjuk a gyantáról. Az etil-amint elpárologtatjuk és a gyantát metanállal extraháljuk. 1,7 g száraz gyantát kapunk, amelyet ismét etil-aminnal kezelünk, így további 400 mg védett peptidet kapunk. A védett peptidet 2 ml anizollal és 20 ml CoF_3 -ről ledesztillált vízmentes folyékony hidrogén-fluoriddal elegyítjük 0 °C-on 1 óra hosszat egy Kel-F reakcióedényben. A hidrogén-fluoridot vákuumban ledesztilláljuk és a maradékot vízmentes dietil-

-éterrel mossuk. A peptidet 4 liter vízben elegyítjük. Az oldat pH-ját 7,5-8,0-ra állítjuk be és a vegyületet oxidatív ciklizálásnak vetjük alá 30 ml 0,01 mólus $K_3Fe(CN)_6$ oldat lassu hozzáadásával. A pH-t 4,5-re állítjuk be és a hig peptid-oldatot protonált BioRex 70 vizes oszlopba töltjük. A vas-sók átfolynak az oszlopon. A peptidet eluáljuk az oszlopról, minellett az eluálószer gradiense 1 liter 5 %-os HOAc és 1 liter 50 %-os HOAc között mozog, majd 1 liter 50 %-os HOAc-val folytatjuk az eluálást. A frakciókat egyesítjük és tisztítjuk optikai sűrűségük alapján ($\lambda = 280 \text{ nm}$) és RP-HPLC analitikai értékelés révén. A nyers termék vizes oldatát egy acetátos egy anionos ioncserélő gyantán (AG3X, BioRad) átengedjük és így AcO^- -sóvá alakítjuk. Az eluátumot liofilizálva 175 mg nyers peptidet kapunk.

A peptidet RP-HPLC módszerrel tisztítjuk egy 2,5 x 100 cm Vydac RP-18 (20-30 mikron) oszlopon, miközben 25 % metil-cianid és 75 % víz elegyét alkalmazzuk pufferként (0,03 mól NH_4OAc -ban, pH = 4,5). A nagy UV abszorpció csúcsoakat (280 nm) összegyűjtjük, szárazra pároljuk és nagyon tiszta vízből háromszor liofilizáljuk, így 35 mg ciklizált terméket kapunk:



További, etil-amid-terminális analógok szintézise hasonló módon történik.

3. példa

Redukált C-terminális csoportot tartalmazó (I) általános képletű vegyületek előállítása

Redukált C-terminális csoportot, azaz az Y helyén a G-I általános képletű csoport alkoholját tartalmazó (I) általános képletű vegyületek előállítása a peptid-O-gyanta észter-kötésének litium-bór-hidriddel történő redukciója útján történik. A peptid szintézisét az oldallánc megvédése nélkül - kivéve a Lys és Cys aminosavakat - is történhet. Így 1 g (1 mmól) terc-butil-oxi-karbonil-Thr-O-gyanta részt egymás után, az 1. példában ismertetett módon az alábbi vegyületekkel reagáltatjuk:

0,73 g terc-butil-oxi-karbonil-Cys(acetamido-metil)-OH

0,55 g terc-butil-oxi-karbonil-Thr-OH,

1,17 g terc-butil-oxi-karbonil-Lys)9-fluorenil-metil-oxi-karbonil)-OH és 1 g 1-hidroxi-benzotriazol

0,76 g terc-butil-oxi-karbonil-D-Trp-OH, amely után 0,1 % indolt adunk a védőcsoportot lehasító CF_3CO_2H oldathoz,

0,66 g terc-butil-oxi-karbonil-Phe-OH

0,73 g terc-butil-oxi-karbonil-Cys(acetamido-metil)-OH

0,94 g terc-butil-oxi-karbonil-Gly-OH

0,99 g terc-butil-oxi-karbonil-D-hArg(Et₂)-OH és 1 g 1-hidroxi-benzotriazol

2 ml ecetsav-anhidrid 7,2 ml dimetil-formamidban.

A parciálisan védett peptid-O-gyantát az edényből eltávolítjuk, metilén-kloriddal mossuk, majd vákuumban szárítjuk. A peptid-O-gyantát 75 ml száraz tetrahidrofuránban eloszlatjuk, majd 145 mg litium-bór-hidridet adunk hozzá négy részletben szobahőmérsékleten, ezután 1 óra elteltével 2,5 ml AcOH-t csepegtetünk hozzá, hogy a visszamaradt litium-bór-hidridet elbontsuk. A reakcióelegyet szűrjük, a maradékot jégcettel mossuk és a szűrletet bepároljuk. A redukált, részlegesen védett peptid-alkoholt a jégcetből liofilezés útján kapjuk meg. A (lys)9-fluorenil-metil-oxi-karbonil) gyantát piperidin 20 %-os dimetil-formamidos oldatával 30 percig történő reagáltatás útján távolítjuk el. Az oldatot ecetsavval semlegesítjük és Amberlite IAD-2 (Rohm és Haas, Philadelphia, PA) töltetű hidrofób kromatografálás útján sótelenítjük, mimellett eluálószerként víz és 50 % etil-alkohol gradiensű elegyet alkalmazunk. A nagy, UV abszorpciós csúcsokat ($\lambda = \text{max } 280$) összegyűjtjük, a védőcsoportokat eltávolítjuk és a ciklizálást jódd metil-alkoholos oldatának hozzácsepegtetésével végezzük mindaddig, amíg a szín már nem tűnik el.

A nyers terméket RP-HPLC módszerrel tisztítjuk 2,5 x 100 cm Vydac RP-18 (20-30 mikron) oszlopon, miközben eluálószerként 30 %-os metil-cianidot alkalmazunk (0,04 mól NH_4OAc -ban, pH = 4,5). A nagy UV abszorpciós csúcsokat egyesítjük, szárazra pároljuk és vízből háromszor liofilizáljuk, így

Ac-D-hArg(Et₂)-Gly-Cys-Phe-D-Trp-Lys-Thr-Cys-Thr-ol
terméket kapunk.

4. példa

Inzulin-indukálta glukagon teszt

Több napig tartó akklimatizáció után a patkányokat tömegük alapján csoportokba osztottuk és 1-3 napig vizsgáltuk. A patkányokat szubkután 40 mg/kg pentobarbitollal (Nembutál) kezeltük. Mintegy 30 perccel az injekciózás után a jugurális (nyaki) és a májkapu vénákba marha-szérum albumin 0,1 %-os sóoldattal készített oldatát injektáljuk vagy 1 nemzetközi egység/l ml/kg porcín inzulint ugyanazon vízfolyásban készített oldatát injektáljuk a juguláris vénába. Az intravénás injekciózás után pontosan 15 perccel 1 ml vérmintát veszünk a májkapu vénából és a patkányt szén-dioxid-gázzal leöljük.

A vérmintát egy fecskendőbe gyűjtjük, amely egy 70 mg Na-EDTA-t, 0,1 mg Aprotinin-t, egy, a kereskedelemben kapható proteáz-inhibítort tartalmaz 0,1 ml 0,9 %-os só-oldatban. A vérmintát a fecskendőben összekeverjük, majd át tesszük egy műanyagból készült mikrokonténer szérum-szeparátor csőbe és sötétben jégen tartjuk. A plazmát 6 órán belül centrifugáljuk és -20 °C-on tartjuk. Az állatokat az inzulinnal történő intravénás injekciózás előtt intramuszkulárisan kezeljük a vizsgálati anyaggal. A plazma-minták glukagon-szintjének analízisét a kereskedelemben kapható, az állati eredetű glukagon vizsgálatára szolgáló

radioimmun kitek segítségével végezzük (Cambridge Medical Technology).

A glukagon keletkezésének százalékos gátlását a vizsgálati anyaggal kezelt mindegyik állatnál kiszámítottuk, oly módon, hogy a "pozitív kontrollok" közepes glukagon-szintjéből (ahol a "pozitív kontrollok" azokat az állatokat jelentik, amelyek intravénásan inzulint kaptak, azonban vizsgálati anyaggal nem kezeltük őket) levontuk a vizsgálati állatok glukagon-szintjét és az így kapott értéket 100-zal beszoroztuk, majd ezt elosztottuk a pozitív kontrollok közepes glukagon-szintjének és a "negatív kontrollok" közepes glukagon-szintjének (ahol a "negatív kontrollok" azokat az állatokat jelentették, amelyek intravénásan csupán vívíóanyagot kaptak, de vizsgálati anyagot nem) különbségével. A közepes százalékos gátlást ábrázoltuk a vizsgálati anyag dózisának függvényében, így megkaptuk az ED_{50} értéket. Az ED_{50} azt a dózist jelenti, amely az insulin-indukálta glukagon képződésének 50 %-os gátlásához szükséges.

Az $N\text{-Ac-D-hArg(Et}_2\text{)-Gly-Cys-Phe-DTrp-Lys-Thr-Cys-Thr-NH}_2$ vegyület ED_{50} értéke $0,15 \mu\text{g/kg}$.

A fenti vizsgálat szerint az

$N\text{-Ac-D-hArg(Et}_2\text{)-Gly-Cys-Phe-DTrp-Lys-Thr-Cys-Thr-NH}_2$ vegyület relatív aktivitása összehasonlítva a szomatostatinnal és a

glukózzal intravénásan kezelt, de vizsgálati anyagot nem kapott állatok) közepes inzulin-szintjéből levontuk a vizsgálati állatok inzulin-szintjét és az így kapott értéket 100-zal beszoroztuk, majd ezt elosztottuk a "pozitív kontrollok" közepes inzulin-szintjének és a "negatív kontrollok" közepes inzulin-szintjének (ahol a "negatív kontrollok" azokat az állatokat jelentették, amelyek csupán vivőanyagot kaptak intravénásan, azonban vizsgálati anyagot nem) különbségével. A közepes százalékos gátlást ábrázoljuk a vizsgálati anyag dózisének függvényében, így megkapjuk az ED_{50} értéket. Az ED_{50} az inzulin keletkezésének 50 %-os gátlásához szükséges dózist jelenti.

Az $N\text{-Ac-D-hArg(Et}_2\text{)-Gly-Cys-Phe-DTrp-Lys-Thr-Cys-Thr-NH}_2$ vegyület ED_{50} értéke $20 \mu\text{g/kg}$.

A fent ismertetett teszt szerint az

$N\text{-Ac-D-hArg(Et}_2\text{)-Gly-Cys-Phe-DTrp-Lys-Thr-Cys-Thr-NH}_2$ vegyület relatív aktivitás 6-szor illetőleg 3-szor akkora, mint a szomatostatiné illetőleg a Sandostatiné.

6. példa

Nembutál-indukálta növekedési hormon teszt

Néhány napi akklimatizálódás után him patkányokat tömegük szerint csoportokba osztottunk és a vizsgálatot 1-3 napig végeztük. A patkányokat a kísérlet megkezdése előtt 1 nappal rögzítettük. A vizsgálati anyagot vagy az oldószert (0,1 % marhaszérumot tartalmazó só-oldat) intra-

muskulárisan az állatok jobboldali hátsó lábába injektáltuk.

Az intramuszkuláris injekció után 60 mg/kg Nembutállal történő kezelés után 30 perccel mindegyik patkányt 2 percig éterrel anesztetizáltuk, majd a szemüregen keresztül 1 ml vérmintát vettünk. A szérum-szeparátorral a vérmintákból szérumot készítettünk. A szérum-mintákat -20°C -on raktároztuk mindaddig, amíg a rádióimmun tesztre sor nem került. A vizsgálati vegyületek növekedési hormonra kifejtett százalékos gátlását a 4. és 5. példában ismertetett módon határoztuk meg, majd megállapítottuk az ED_{50} értékét.

Az $\text{N-Ac-D-hArg(Et}_2\text{)-Gly-Cys-Phe-DTrp-Lys-Thr-Cys-Thr-NH}_2$ vegyület ED_{50} értéke 0,025 g/kg.

A fenti vizsgálat szerint az

$\text{N-Ac-D-hArg(Et}_2\text{)-Gly-Cys-Phe-DTrp-Lys-Thr-Cys-Thr-NH}_2$ vegyület relatív aktivitása a szomatostatinnal illetőleg a Sandostatinnal összehasonlítva 265-ször illetőleg 3-szor nagyobb.

A glukagon/insulinra és a növekedési hormon/insulinra vonatkozó relatív szelektivitás az

$\text{N-Ac-D-hArg(Et}_2\text{)-Gly-Cys-Phe-DTrp-Lys-Thr-Cys-Thr-NH}_2$ vegyület vonatkozásában 133 és 769, míg a Sandostatin esetében ezek az értékek 11 és 103.

Ha az

$\overline{\text{N-Ac-D-hArg(Et}_2\text{)-Gly-Cys-Phe-DTrp-Lys-Thr-Cys-Thr-NH}_2}$
 vegülettel és az intravénásan adott glükózzal, intravénásan adott inzulinnal illetőleg szubkután módon adott nembutállal történő kezelésekközötti időtartamot növeljük, akkor az analóg ebben az esetben is igen hosszú ideig hat a szomatostatinnal összehasonlítva.

7. példa

Toxicitás

Két szomatostatín analógot, vagyis az

$\overline{\text{N-Ac-D-hArg(CH}_2\text{CF}_3\text{)}_2\text{-Gly-Cys-Phe-DTrp-Lys-Thr-Cys-Thr-NH}_2}$

és $\overline{\text{N-Ac-D-hArg(Et}_2\text{)-Gly-Cys-Phe-DTrp-Lys-Thr-Cys-Thr-NH}_2}$
 vegületeket 2,43 mg/kg dózisban intramuszkulárisan adagoltunk patkányoknak a glükóz-indukálta inzulin tesztben, miközben mellékhatást nem tapasztaltunk. A vizsgálat során him patkányokat pentobarbitállal elaltattunk és intravénás glükóz-injekciót adtunk be. A glükózzal történt injekciózás után 5 perccel vérmintát vettünk az inzulin-szint későbbi meghatározására. A vérvétel előtt 15 perccel, 1 órával és 2 órával az állatokat a szomatostatín analóggal kezeltük. 24 patkány 2,43 mg/kg RS-45917-298 dózist kapott és másik 24 patkány 2,43 mg/kg RS-10962-298 dózist kapott. 8 patkányt a vérvétel előtt 15 perccel mindegyik vegülettel kezeltünk és 16 patkány-

nál a vérvétel előtt 2 órával végeztük a kezelést. A pátyok egyike sem mutatott semmilyen mellékreakciót egyik vegyületnél sem.

A fenti leírás és példák teljes mértékben ismertetik a találmányt, beleértve annak előnyös megvalósítását is. Nyilvánvaló, hogy a módszerek változtatása, módosítása lehetséges, ezek a peptid-kémiában jártas szakember számára jól ismertek. Az ilyen jellegű módosításokat és változtatásokat ezért a találmány oltalmi körébe tartozónak tekintjük.

Szabadalmi igénypontok

1. Eljárás



általános képletű vegyületek - ebben a képletben

X jelentése N-terminális rész,

Y jelentése C-terminális rész, G-I általános képletű csoport, vagy a G-I általános képletű csoport alkotója, ahol az X és Y legalább egyike egy kationos rész,

D jelentése Phe, Tyr, pF-Phe vagy pCl-Phe,

E jelentése Lys vagy Lys(R₁) általános képletű csoport, ahol R₁ jelentése rövidszénláncu alkilcsoport vagy 1-8 szénatomos fluor-alkil-csoport,

F jelentése Thr, Val vagy Ser,

mimellett

G jelentése D vagy L konfigurációjú Thr, Phe vagy NaI(2) és

I jelentése hidroxilcsoport vagy -NHR₂ általános képletű csoport, ahol az R₂ jelentése hidrogénatom vagy jelentése megegyezik az R₁ fenti jelentésével -

és ezek gyógyászatilag elfogadható sói előállítására,

a z z a l j e l l e m e z v e, hogy

a) valamely (III) általános képletű vegyületből -
ebben a képletben

X, Y, D, E és F jelentése egyezik a fent megadottakkal,
 P^1 , P^2 , P^3 és P^4 mindegyikének jelentése védőcsoport, ahol
 P^1 jelentése α -amino-védőcsoport, P^2 jelentése
hidroxil-védőcsoport, P^3 jelentése N^{IH} -védőcso-
port és P^4 jelentése ε -amino-védőcsoport,
S jelentése karboxil-védőcsoport és
a, b, c, d, e és f mindegyikének jelentése 0 vagy 1, azzal
a feltétellel, hogy az a-f közül valamennyinek a
jelentése nem lehet 0 -

a védőcsoportokat eltávolítjuk; vagy

b) valamely (IV) általános képletű vegyületből -
ebben a képletben

X, Y, D, E, F, P^1 , P^2 , P^3 és P^4 jelentése egyezik a fenti
a) szakaszban megadottakkal,

a, b, c, d és e mindegyikének jelentése 0 vagy 1, azzal a
feltétellel, hogy az a-e közül valamennyinek a
jelentése nem lehet 0 és

S' jelentése polimer hordozó -

egyidejűleg eltávolítjuk a védőcsoportokat és a polimer
hordozót; vagy

c) valamely



általános képletű vegyületből - ebben a képletben X, Y,
D, E, F és S' jelentése egyezik a fenti b) szakaszban meg-
adottakkal - a polimer hordozót eltávolítjuk; vagy

3. Az 1. igénypont szerinti eljárás az X helyén



általános képletű csoportot - ahol az

- A jelentése acilcsoport vagy hidrogénatom,
- B jelentése $hArg(R_1, R_2)$, $Arg(R_1, R_2)$ vagy $Lys(R_1)$ csoport, mimellett R_1 jelentése rövidszénláncu alkilcsoport vagy 1-8 szénatomos fluor-alkil-csoport és R_2 jelentése hidrogénatom vagy megegyezik az R_1 szubsztituens jelentésével,
- m jelentése 1, 2 vagy 3 egész szám,
- C jelentése Gly, Ala, β -Ala és
- n jelentése 0-5-ig terjedő egész szám -

tartalmazó (I) általános képletű vegyületek- ebben a képletben D, E, F és Y jelentése egyezik a fent megadottakkal - a z z a l j e l l e m e z v e, hogy a megfelelő kiindulási anyagokat alkalmazzuk az 1. igénypont szerinti eljárásban.

4. Az 1. igénypont szerinti eljárás az X helyén



általános képletű csoportot - ahol az

- A jelentése acilcsoport vagy hidrogénatom,
- B jelentése $hArg(R_1, R_2)$, $Arg(R_1, R_2)$ vagy $Lys(R_1)$ általános képletű csoport, mimellett R_1 jelentése rövidszénláncu alkilcsoport vagy 1-8 szénatomos fluor-alkil-csoport és R_2 jelentése hidrogénatom vagy megegyezik az R_1 jelentésével,
- m jelentése 1-3-ig terjedő egész szám,

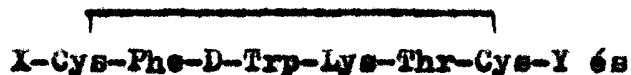
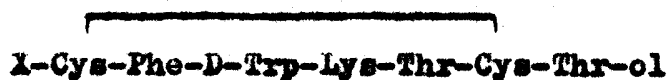
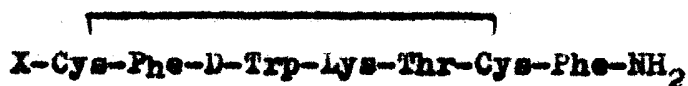
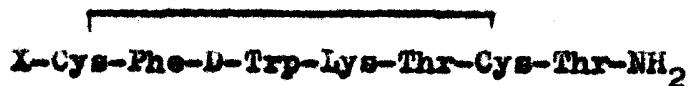
C jelentése Gly, Ala, β -Ala vagy $hArg(R_1, R_2)$ - ahol R_1 és R_2 jelentése egyezik a fent megadottakkal - és

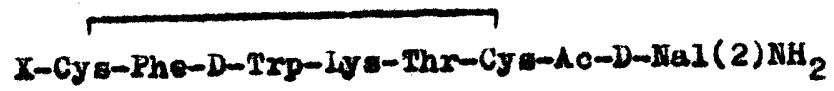
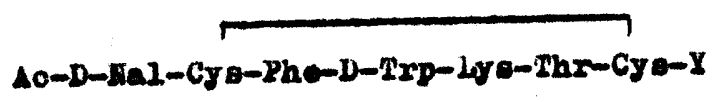
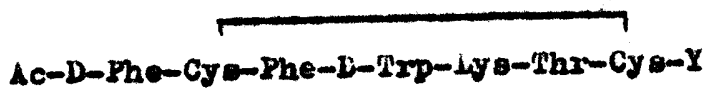
n jelentése 0 vagy 1 -

tartalmazó (I) általános képletű vegyületek - ebben a képletben D, E, F és Y jelentése egyezik a fent megadottakkal - előállítására, a z z a l j e l l e m e z v e, hogy a megfelelő kiindulási anyagokat alkalmazzuk az 1. igénypont szerinti eljárásban.

5. Az 1. igénypont szerinti eljárás az Y helyén $A-(B)_m-(C)_n$ általános képletű C-terminális részt - ahol az A, B, C, m és n jelentése egyezik a 3. igénypontban megadottakkal - tartalmazó (I) általános képletű vegyületek - ebben a képletben X, D, E és F jelentése egyezik a fent megadottakkal - ^{előállítására} a z z a l j e l l e m e z v e, hogy a megfelelő kiindulási anyagokat alkalmazzuk az 1. igénypont szerinti eljárásban.

6. Az 1. igénypont szerinti eljárás az (I) általános képletű





vegyületek - ahol az

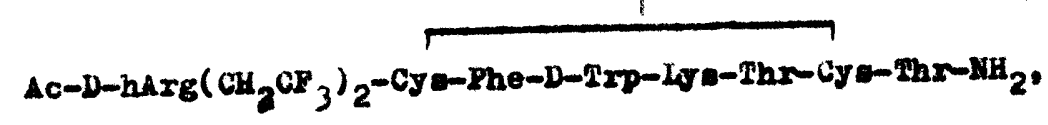
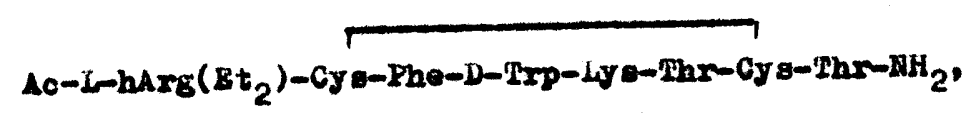
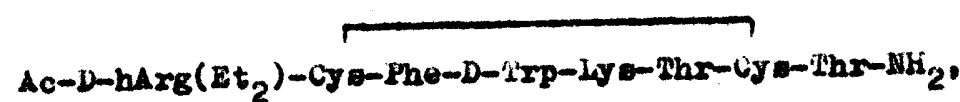
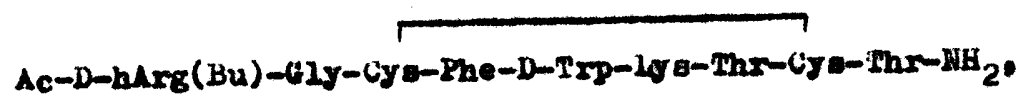
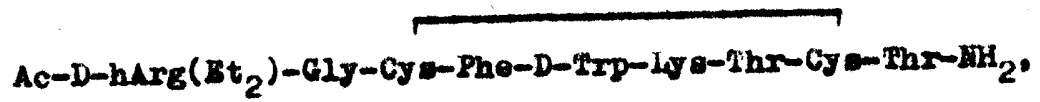
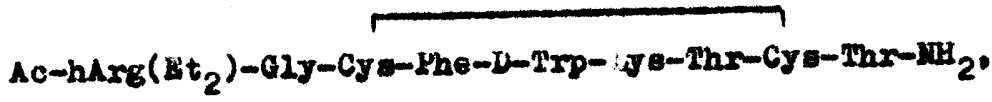
X jelentése egy kationos rész,

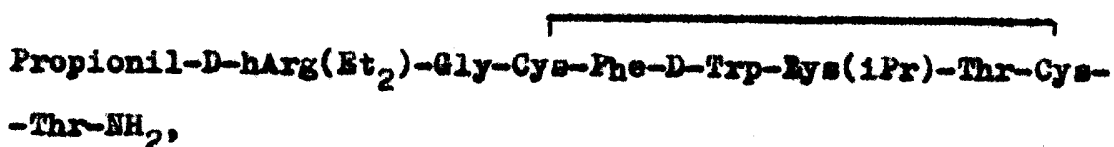
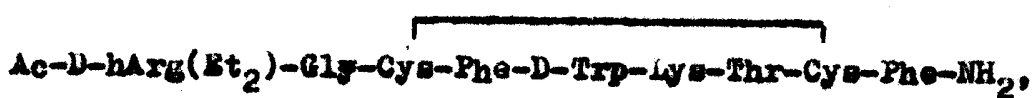
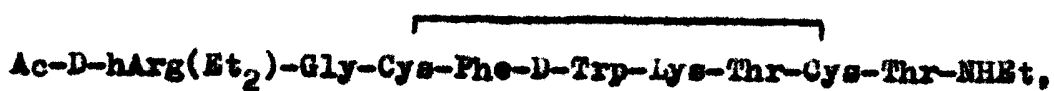
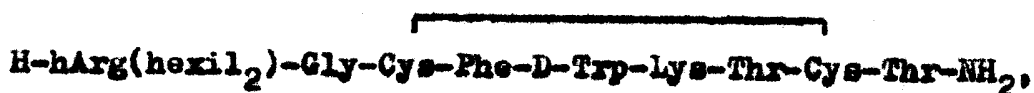
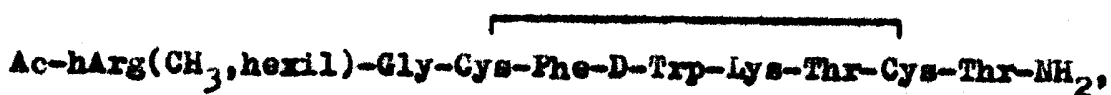
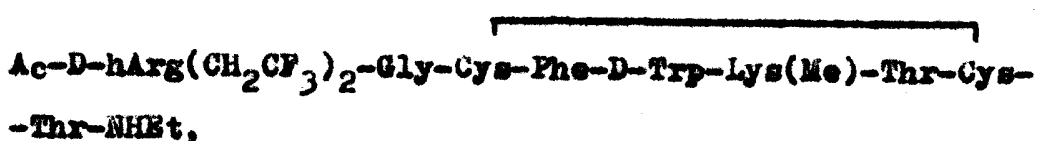
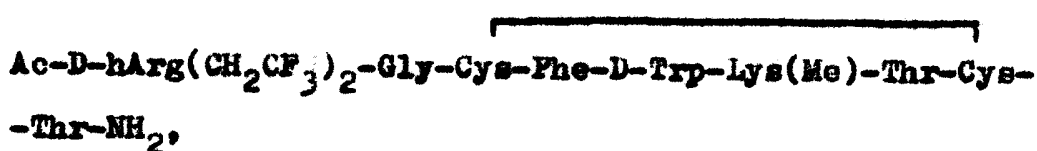
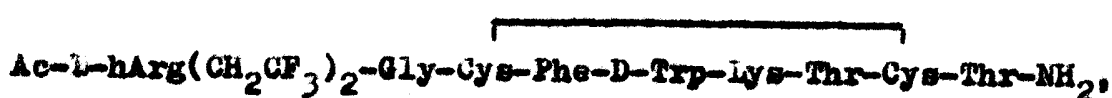
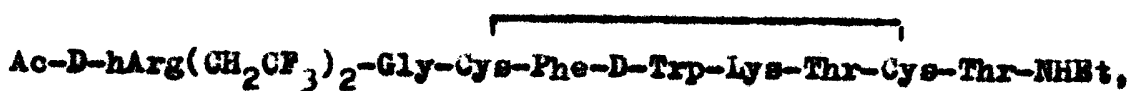
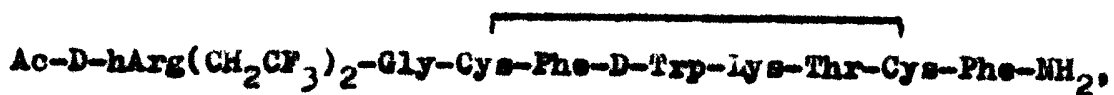
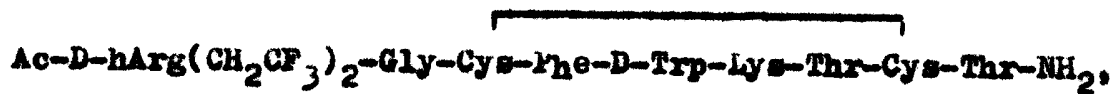
Y jelentése egy C-terminális rész és

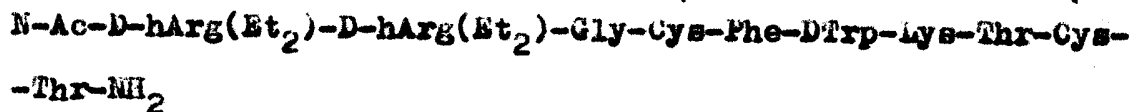
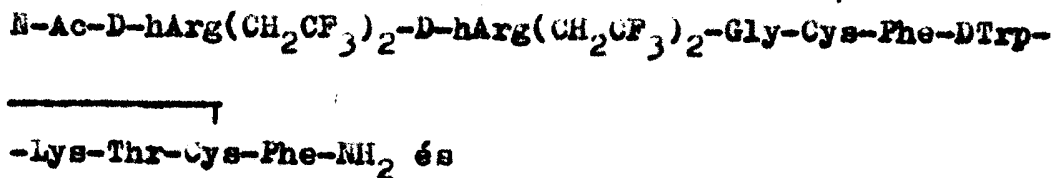
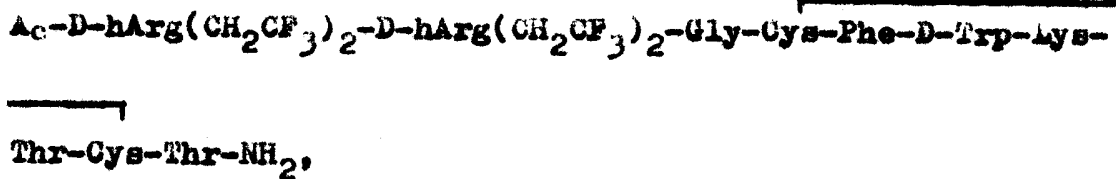
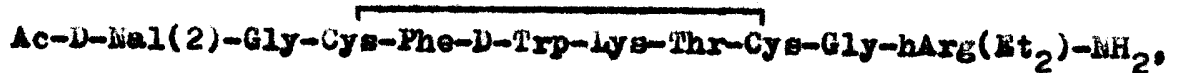
D jelentése egyezik a fent megadottakkal -

előállítására, a z s a l j e l l e m e z v e, hogy a megfelelő kiindulási anyagokat alkalmazzuk az 1. igénypont szerinti eljárásban.

7. Az 1. igénypont szerinti eljárás az (I) általános képletű







vegyületek - ahol D jelentése egyezik a fent megadottakkal - és ezek gyógyászatilag elfogadható sói előállítására, a z z a l j e l l e m e z v e, hogy a megfelelő kiindulási anyagokat alkalmazzuk az 1. igénypont szerinti eljárásban.

8. Az 1. igénypont szerinti eljárás az



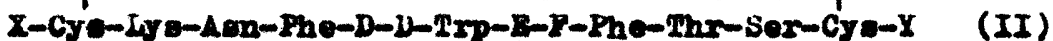
(I) általános képletű vegyület - ahol D jelentése egyezik a fent megadottakkal - és gyógyászatilag elfogadható sói előállítására, a z z a l j e l l e m e z v e, hogy a megfelelő kiindulási anyagokat alkalmazzuk az 1. igénypont szerinti eljárásban.

9. Az 1. igénypont szerinti eljárás az



(I) általános képletű vegyület - ahol D jelentése egyezik a fent megadottakkal - és gyógyászatilag elfogadható sói előállítására, a z z a l j e l l e m e z v e, hogy a megfelelő kiindulási anyagokat alkalmazzuk az 1. igénypont szerinti eljárásban.

10. Eljárás a



általános képletű vegyületek - ebben a képletben

X jelentése N-terminális csoport,

Y jelentése C-terminális csoport, G-I általános képletű csoport, vagy a G-I általános képletű csoport alkoholja, mimellett X és Y legalább egyike egy kationos részt képvisel,

D jelentése Phe, Tyr, pF-Phe, pCl-Phe,

E jelentése Lys vagy Lys(R₁) általános képletű csoport, ahol az R₁ jelentése rövidszénláncu alkilcsoport vagy 1-8 szénatomos fluor-alkil-csoport,

F jelentése Thr, Val, Ser,

mimellett G jelentése D- vagy L-konfigurációjú Thr, Phe, NaI(2) vagy (Gly)_m általános képletű csoport, ahol a jelentése 0-3 és I jelentése hidroxilcsoport vagy -NHR₂ általános képletű csoport, ahol az R₂ jelentése hidrogénatom vagy megegyezik az R₁ fent megadott jelentésével -

és gyógyászatiilag elfogadható sói előállítására, a z z a l j e l l e m e z v e, hogy

a) valamely (VII) általános képletű vegyületből - ebben a képletben

X, Y, D, E és F jelentése egyezik a fent megadottakkal, P^1 , P^2 , P^3 és P^4 mindegyikének a jelentése védőcsoport, ahol P^1 jelentése α -amino-védőcsoport, P^2 jelentése hidroxil-védőcsoport, P^3 jelentése N^{IN} -védőcsoport és P^4 jelentése ϵ -amino-védőcsoport, S jelentése karboxil-védőcsoport és

a, b, c, d, e, f, g, h és i mindegyikének jelentése 0 vagy 1, azzal a feltétellel, hogy a-i mindegyikének jelentése egyidejűleg nem lehet 0 -

a védőcsoportokat eltávolítjuk; vagy

b) valamely (VIII) általános képletű vegyületből - ebben a képletben

X, Y, D, E, F, P^1 , P^2 , P^3 és P^4 jelentése egyezik az a) szakaszban megadott jelentéssel,

a, b, c, d, e, f, g és h mindegyikének jelentése 0 vagy 1, azzal a feltétellel, hogy a-h mindegyikének jelentése egyidejűleg nem lehet 0 és

S' jelentése polimer hordozó -

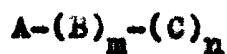
a védőcsoportokat és a polimer hordozót egyidejűleg eltávolítjuk; vagy

c) valamely

X-Cys-Lys-Asn-Phe-D-D-Trp-E-F-Phe-Thr-Ser-Cys-Y-(S') (IX)

Általános képletű vegyületből - ebben a képletben

12. A 10. igénypont szerinti eljárás az X helyén



általános képletű csoportot - ahol az

- A jelentése acilcsoport vagy hidrogénatom,
- B jelentése $hArg(R_1, R_2)$, $Arg(R_1, R_2)$ vagy $Lys(R_1)$ általános képletű csoport, ahol az R_1 jelentése rövidszénláncu alkilcsoport vagy 1-8 szénatomos fluor-alkil-csoport és R_2 jelentése hidrogénatom vagy R_1 jelentésével megegyező,
- m jelentése 1, 2 vagy 3 egész szám
- C jelentése Gly, Ala, β -Ala és
- n jelentése 0-5-ig terjedő egész szám -

tartalmazó (II) általános képletű vegyületek - ebben a képletben D, E, F és Y jelentése egyezik a fent megadottakkal - előállítására, a z z a l j e l l e m e z v e, hogy a megfelelő kiindulási anyagokat alkalmazzuk a 10. igénypont szerinti eljárásban.

13. A 10. igénypont szerinti eljárás az X helyén



általános képletű csoportot - ahol az

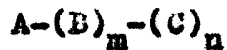
- A jelentése acilcsoport vagy hidrogénatom,
- B jelentése $hArg(R_1, R_2)$, $Arg(R_1, R_2)$ vagy $Lys(R_1)$ általános képletű csoport, ahol az R_1 jelentése rövidszénláncu alkilcsoport vagy 1-8 szénatomos fluor-alkil-csoport és R_2 jelentése hidrogénatom vagy megegyezik az R_1 fent megadott jelentésével,
- m jelentése 1, 2 vagy 3,

C jelentése Gly, Ala, β -Ala és

n jelentése 0 vagy 1 -

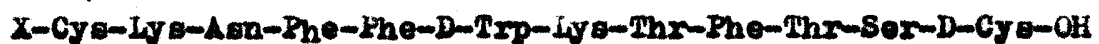
tartalmazó (II) általános képletű vegyületek - ebben a képletben D, E, F és Y jelentése egyezik a fent megadottakkal - előállítására, a z z a l j e l l e m e z v e, hogy a megfelelő kiindulási anyagokat alkalmazzuk a 10. igénypont szerinti eljárásban.

14. A 10. igénypont szerinti eljárás az Y helyén



általános képletű C-terminális részt - ebben a képletben A, B, C, m és n jelentése egyezik a 10. igénypontban megadottakkal - tartalmazó (II) általános képletű vegyületek - ebben a képletben D, E, F és X jelentése egyezik a fent megadottakkal - előállítására, a z z a l j e l l e m e z v e, hogy a megfelelő kiindulási anyagokat alkalmazzuk a 10. igénypont szerinti eljárásban.

15. A 10. igénypont szerinti eljárás a (II) általános képletű



és



dodekapeptid-analógok - ahol az X jelentése egy kationos rész és D jelentése egyezik a fent megadottakkal - előállítására, a z z a l j e l l e m e z v e, hogy a megfelelő kiindulási anyagokat alkalmazzuk a 10. igénypont szerinti eljárásban.

16. Eljárás az (I) általános képletű vegyületeket - ebben a képletben D, E, F, X és Y jelentése egyezik az 1. igénypontban adott meghatározás vagy a 2-9. igénypontok bármelyikében adott szűkebbkörű meghatározások szerinti-vel - vagy ezek sóit hatóanyagként tartalmazó gyógyszerkészítmények előállítására, a z z a l j e l l e m e z v e, hogy valamely az 1-9. igénypontok bármelyike szerint előállított (I) általános képletű vegyületet - ahol a D, E, F, X és Y jelentése a fentivel egyező - vagy annak gyógyászati szempontból elfogadható sóját valamely gyógyszerészeti vivőanyaggal és/vagy egyéb gyógyszerészeti segédanyaggal összekeverve gyógyászati alkalmazásra - előnyösen gyomorfekély, tumorok és cukorbetegség kezelésére alkalmas - megfelelő készítményé alakítjuk.

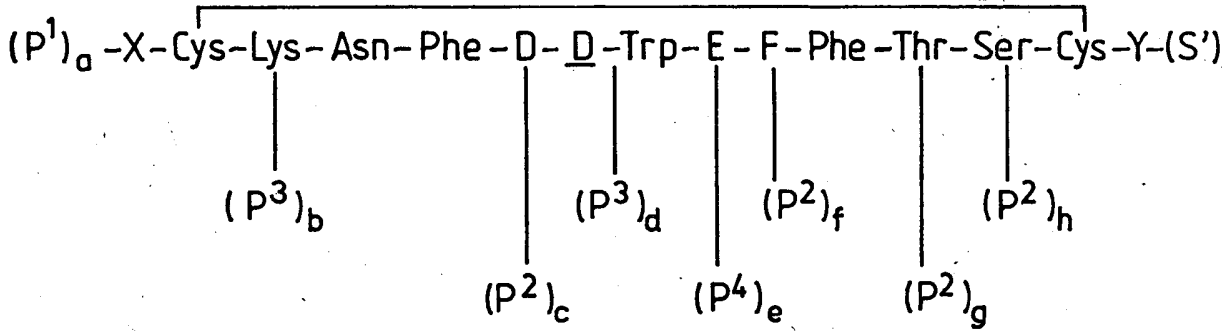
17. Eljárás a (II) általános képletű vegyületeket - ebben a képletben D, E, F, X és Y jelentése egyezik a 10. igénypontban adott meghatározás vagy a 11-15. igénypontok bármelyikében adott szűkebbkörű meghatározások szerintivel - vagy ezek sóit hatóanyagként tartalmazó gyógyszerkészítmények előállítására, a z z a l j e l l e m e z v e, hogy valamely a 10-15. igénypontok bármelyike szerint előállított (II) általános képletű vegyületet - ahol a D, E, F, X és Y jelentése a fentivel egyező - vagy annak gyógyászati

szempontból elfogadható sóját valamely gyógyszerészeti
 vivőanyaggal és/vagy egyéb gyógyszerészeti segédanyag-
 gal összekeverve gyógyászati alkalmazásra - előnyösen
 gyomorfekély, tumorok és cukorbetegség kezelésére al-
 kalmas - megfelelő készítménnyé alakítjuk.

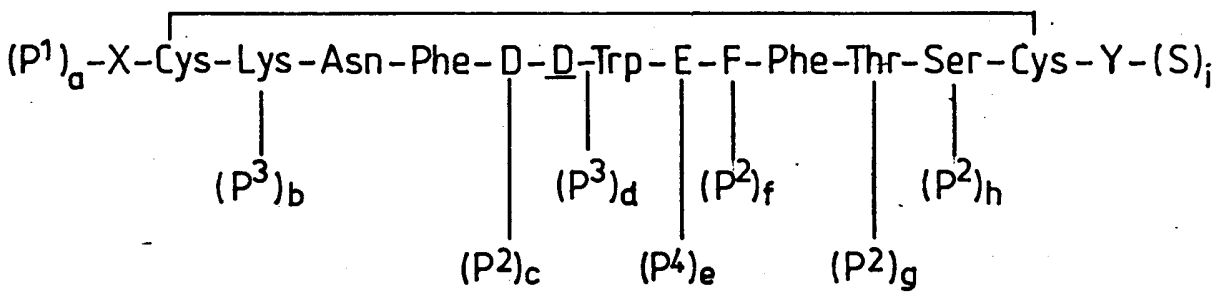
A meghatalmazott:

29. sz. Ügyvédi Munkaközösség
 SZABADALMI IRODA
 1011 Budapest, Fő utca 11.
~~KARÁCSONKI-BÉLA~~
 szabadalmi ügyvivő

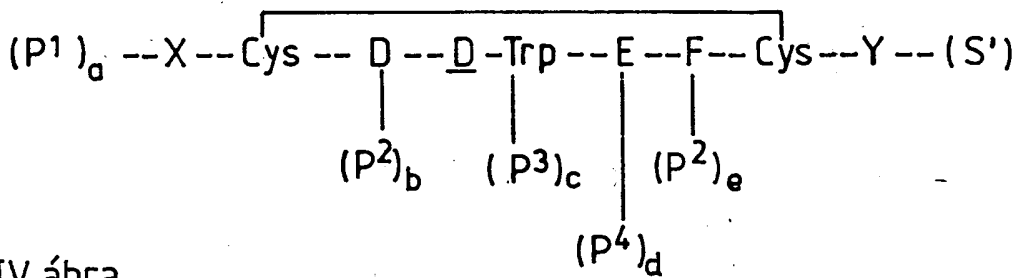
A megz Gwald



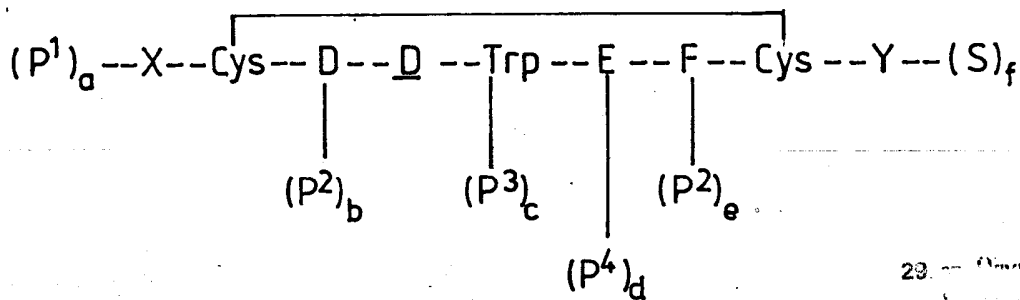
VIII. ábra



VII. ábra



IV. ábra



III. ábra