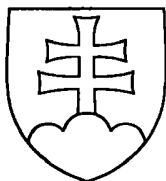


SLOVENSKÁ REPUBLIKA

(19) SK



ÚRAD
PRIEMYSELNÉHO
VLASTNÍCTVA
SLOVENSKEJ REPUBLIKY

ZVEREJNENÁ PRIHLÁŠKA VYNÁLEZU

- (22) Dátum podania: 27.10.97
(31) Číslo prioritnej prihlášky: 60/029 224, 9626309.0,
60/042 921, 9718160.6
(32) Dátum priority: 30.10.96, 18.12.96,
04.04.97, 28.08.97
(33) Krajina priority: US, GB, US, GB
(40) Dátum zverejnenia: 18.01.2000
(86) Číslo PCT: PCT/US97/19225, 27.10.97

(21) Číslo dokumentu:

573-99

(13) Druh dokumentu: A3

(51) Int. Cl.7 :

A 61K 47/48

(71) Prihlasovateľ: MERCK & CO., INC., Rahway, NJ, US;

(72) Pôvodca vynálezu: Garsky Victor M., Rahway, NJ, US;
Feng Dong-Mei, Rahway, NJ, US;
DeFeo-Jones Deborah, Rahway, NJ, US;

(74) Zástupca: Majlingová Marta, Ing., Bratislava, SK;

(54) Názov prihlášky vynálezu: **Konjugát na liečenie karcinómu prostaty, farmaceutický prostriedok s jeho obsahom a jeho použitie**

(57) Anotácia:
Konjugát na liečenie karcinómu prostaty, ktorý obsahuje cytotoxický prostriedok nadviazaný na oligopeptid, pričom oligopeptid obsahuje sekvenciu aminokyselín, ktorá je selektívne proteolyticky štiepená voľným antigénom špecifickým pre prostatu, PSA a kde nadviazanie je uskutočnené kovalentnou väzbou alebo chemickou spojovacou skupinou. Uvedená sekvencia aminokyselín obsahuje aspoň jednu cyklickú aminokyselinu s hydrofilným substituentom alebo jeho farmaceuticky prijateľnú soľ.

Konjugát na liečenie karcinómu prostaty, farmaceutický prostriedok s jeho obsahom a jeho použitie

Oblasť techniky

Opisujú sa chemické konjugáty, obsahujúce oligopeptidy s aminokyselínovými sekvenciami, ktoré sa selektívne proteolyticky štiepia voľným antigénom špecifickým pre prostatu (PSA) a ktoré obsahujú cyklickú aminokyselinu s hydrofilným substituentom a známe cytotoxické prostriedky. Tieto konjugáty sú použiteľné pri liečení rakoviny prostaty a benígnej hyperplazie prostaty (BPH).

Doterajší stav techniky

Predpokladá sa, že v roku 1994 bude rakovina prostaty diagnostikovaná u 200 000 mužov v USA a 38 000 Američanov na toto ochorenie zomrie (Garnick, M. B. (1994), The Dilemmas of Prostate Cancer, Scientific American, apríl 72 až 81). Rakovina prostaty je teda najčastejšie diagnostikované zhubné bujnenie (iné ako koža) u Američanov a druhou najčastejšou príčinou úmrtí spojených s rakovinou (za rakovinou pľúc) v tejto skupine.

Antigén (PSA) špecificky pre prostatu je jednoreťazcový glykoproteín s molekulovou hmotnosťou 33 kDa, ktorý je produkovaný takmer výlučne ľudským prostatickým epitelom a vyskytuje sa v hladinách 0,5 až 2,0 mg/ml v ľudskej tekutine (Nadji, M. Taber, S. Z., Castro, A. a ďalší (1981) Cancer 48: 1229; Papsidero, L., Kuriyama, M., Wang, M., a ďalší (1990), J. Urol. 144: 1550; Wang, M. C., Valenzuela, L. A., Murphy, G. P., a ďalší (1979), Invest. Urol., 17:159). Na asparagínový zvyšok v polohe 45 je pripojená jediná uhľohydrátová jednotka, ktorá tvorí 2 až 3 kDa z celkovej molekulovej hmotnosti. PSA je proteáza so špecifitou podobnou chymotrypsínu (Christensson, A., Laurell, C. B., Lilja, H., (1990), Eur. J. Biochem. 194: 755 až 763). Bolo ukázané, že PSA je hlavne zodpovedný za rozpustenie gélovej štruktúry, vytvorenej pri ejakulácii proteolýzou hlavných proteínov gélu zachycujúceho sperma, Semenogelínu I a Semenogelínu II a fibronektínu (Lilja, H. (1985), J. Clin. Invest. 76: 1899; Lilja, H., Oldbring, J.,

Rannevik, G., a ďalší (1987), J. Clin. Invest 80: 281; McGee, R. S., Herr, J. C. (1988). Biol. Reprod. 39: 499). Proteolýza sprostredkovaná PSA proteínov, tvoriacich gél, vytvára niekoľko rozpustných fragmentov Semenogelínu I a Semenogelínu II a rozpustné fragmenty fibronektínu so skvapalnením ejakulátu a uvoľnením pohybujúcich sa spermii (Lilja, H., Lauerll, C. B. (1984), Scand. J. Clin. Lab. Invest. 44: 447; McGee, R. S., Herr, J. C. (1987), Biol. Reprod. 37: 431). PSA môže ďalej proteolyticky degradovať IGFBP-3 (väzbový proteín 3 rastového faktora podobný inzulínu), čo umožňuje IGF špecificky stimulovať rast buniek vylučujúcich PSA (Cohen a ďalší (1992), J. Clin. Endo. & Meta. 75: 1048 až 1053).

PSA v komplexe s alfa 1 – antichymotrypsínom je prevažujúca molekulárna forma PSA séra a môže sa podieľať až na 95 % nájdeného PSA v sére (Christensson, A., Björg, T., Nilsson, O., a ďalší (1993), J. Urol., 150: 100 až 105; Lilja, H., Christensson, A., Dahlén, U. (1991), Clin. Chem. 37: 1618 až 1625; Stenman, U. H., Leinoven, J. Alfthan, H., a ďalší (1991), Cancer Res. 51: 222 až 226). Prostatické tkanivo (normálne, benígne hyperplastické alebo malígne) podľa predpokladov uvoľňuje prevažne zrelú, enzymaticky aktívnu formu PSA, pretože táto forma je nutná na tvorbu komplexov s alfa 1 – antichymotrypsínom (Mast, A. E., Enghild, J. J., Pizzo, S. V., a ďalší (1991), Biochemistry 30: 1723 až 1730; Perlmutter, D., H., Glover, G. I., Rivetna, M., a ďalší (1990), Proc. Natl. Acad. Sci. USA 87: 3753 až 3757). Preto sa predpokladá, že PSA je upravovaný (procesovaný) a vylučovaný v mikroprostredí prostatických buniek, vylučujúcich PSA vo svojej zrelej enzymaticky aktívnej forme, ktorá nie je v komplexe so žiadnou inhibičnou molekulou. PSA tvorí tiež stabilné komplexy s alfa 2 – makroglobulínom, ale pretože to vedie k zapuzdreniu PSA a úplnej strate epitopov PSA, význam tvorby tohto komplexu *in vivo* je nejasný. Voľná, v komplexe naviazaná forma PSA tvorí menšiu časť PSA v sére (Christensson, A., Björg, T., Nilsson, O., a ďalší (1993), J. Urol., 150: 100 až 105; Lilja, H., Christensson, A., Dahlén, U. (1991), Clin. Chem. 37: 1618 až 1625). Veľkosť tejto formy sérového PSA je podobná veľkosti PSA v semennej tekutine (Lilja, H., Christensson, A., Dahlén, U. (1991), Clin. Chem. 37: 1618 až 1625) ale doteraz sa nevie, či môže byť voľná forma sérového PSA zymogén; vnútorne rozštiepená neaktívna forma zrelého PSA alebo PSA

s enzymatickou aktivitou. Zdá sa však nepravdepodobné, že voľná forma sérového PSA prejavuje enzymatickú aktivitu, pretože existuje značný (100 až 1000 násobný) molárny prebytok tak nezreagovaného alfa 1-antichymotrypsínu ako aj alfa 2-makroglobulínu v sére v porovnaní s hladinami voľnej formy PSA s molekulovou hmotnosťou 33 kDa zistenými v sére (Christensson, A., Björg, T., Nilsson, O., a ďalší (1993), J. Urol., 150: 100 až 105; Lilja, H., Christensson, A., Dahmén, U. (1991), Clin. Chem. 37: 1618 až 1625).

Merania PSA v sére sú využiteľné na monitorovanie liečenia adenokarcinómu prostaty (Duffy, M. S. (1989), Ann. Clin. Biochem. 26: 379 až 387; Brawer, M. K. a Lnge, P. H. (1989), Urol. Suppl. 5: 11 až 16, Hara, M. a Kimura, H. (1989), J. Lab. Clin. Med., 113: 541 až 548), hoci koncentrácie PSA v sére vyššie ako normálne boli tiež hlásené u benígnej hyperplazie prostaty a po chirurgickom zásahu na prostate (Lilja, H., Christensson, A., Dahmén, U. (1991), Clin. Chem. 37: 1618 až 1625). Je tiež známe, že imunologicky reaktívny PSA vylučuje aj metastázy prostaty, pretože PSA v sére je zistiteľný vo vysokých hladinách u pacientov s odstránenou prostatou s rozšírenými metastázami rakoviny prostaty (Ford, T. F., Butcher, D. N., Masters, R. W., a ďalší (1985), Brit. J. Urology 57: 5055). Preto by mala byť cytotoxická zlúčenina, aktivovateľná proteolytickou aktivitou PSA špecifická pre prostatické bunky rovnako ako pre metastázy prostatických buniek vylučujúcich PSA.

Predmetom predkladaného vynálezu je preto poskytnutie nového protirakovinového prostriedku použiteľného na liečenie rakoviny prostaty, ktorý obsahuje oligopeptidy, ktoré sú selektívne proteolyticky štiepené voľným antigénom špecifickým pre prostatu (PSA) a ktoré obsahujú cyklickú aminokyselinu s hydrofilným substituentom v spojení s cytotoxickým prostriedkom.

Ďalším predmetom vynálezu je použitie na liečenie rakoviny prostaty.

Podstata vynálezu

Podstatou vynálezu sú protirakovinové prostriedky, použiteľné na liečenie rakoviny prostaty. Tieto prostriedky obsahujú oligopeptidy kovalentne naviazané priamo alebo cez chemickú spojovaciu skupinu (linker) na cytotoxický prostriedok.

Oligopeptidy sú zvolené z oligomérov, ktoré sú selektívne rozpoznávané voľným antigénom špecifickým pre prostatu (PSA) a ktoré sú schopné proteolytického štiepenia enzymatickou aktivitou voľného antigénu špecifického pre prostatu. Táto kombinácia oligopeptidu a cytotoxického prostriedku môže byť označovaná ako konjugát.

Konjugáty podľa predkladaného vynálezu sú ďalej charakterizované prítomnosťou cyklickej aminokyseliny s hydrofilným substituentom ako časti oligopeptidov, kde uvedená cyklická aminokyselina prispieva k rozpustnosti konjugátu vo vode. Príklady týchto hydrofilných cyklických aminokyselín zahŕňujú bez obmedzenia hydroxylované, polyhydroxylované a alkoxylované skupiny prolínu a kyseliny pipekolovej.

V ideálnom prípade je cytotoxická aktivita cytotoxického prostriedku značne znížená alebo neprítomná, ak je na cytotoxický prostriedok priamo alebo prostredníctvom chemického linkéra naviazaný oligopeptid, obsahujúci proteolytické štiepiace miesto a je inaktívny. V ideálnom prípade taktiež podstatne stúpa cytotoxická aktivita cytotoxického prostriedku alebo opäť nadobúda pôvodnú aktivitu nemodifikovaného cytotoxického prostriedku, ak sa proteolyticky odštiepi z pripojeného oligopeptidu v štiepiacom mieste.

Naviac je výhodné, ak sa oligopeptid volí z oligopeptidov, ktoré nie sú štiepené alebo sa štiepia oveľa nižšou rýchlosťou v prítomnosti proteolytických enzýmov iných ako PSA v porovnaní so štiepením uvedených oligopeptidov v prítomnosti voľného enzymaticky aktívneho PSA.

Z vyššie uvedených dôvodov je žiadúce, aby oligopeptid obsahoval krátku peptidovú sekvenciu, výhodne menej ako desiatich aminokyselín. Najvýhodnejší oligopeptid obsahuje sedem alebo šesť krátkych aminokyselín. Pretože konjugát obsahuje výhodne krátku aminokyselinovú sekvenciu, rozpustnosť konjugátu môže byť vo väčšom rozsahu ovplyvnená všeobecne hydrofóbnym charakterom cytotoxickéj zložky. Preto sa hydrofilné substituenty cyklickej aminokyseliny v uvedených konjugátoch volia tak, aby hydrofóbný príspevok cytotoxického prostriedku odstránili alebo zmenšili.

Aj keď to nie je nutné, výhodne uskutočnenie tohto vynálezu predstavuje konjugát, v ktorom sa oligopeptid a chemický linker, pokiaľ je prítomný, odštiepujú

z cytotoxického prostriedku proteolytickou aktivitou voľného PSA a akýchkoľvek iných natívnych proteolytických enzýmov prítomných v okolitom tkanive, čím sa uvoľňuje účinný cytotoxický prostriedok alebo cytotoxický prostriedok so zvyškom oligopeptidu/linkéra, ktorý aj napriek tomu zostáva cytotoxický, do fyziologického prostredia v mieste proteolytického štiepenia. Zahnuté sú tiež farmaceuticky prijateľné soli konjugátov.

Rozumie sa, že oligopeptid, či už je pripojený k cytotoxickému prostriedku prostredníctvom priamej kovalentnej väzby alebo cez chemický linkér, nemusí byť oligopeptid, ktorý je najviac rozpoznávaný voľným PSA a ktorý sa voľným PSA najľahšie proteolyticky štiepi. Tak bude oligopeptid zvolený na použitie v uvedenom protirakovinovom prostriedku zvolený tak z hľadiska selektívneho proteolytického štiepenia voľným PSA ako aj z hľadiska cytotoxickej aktivity konjugátu cytotoxický prostriedok–proteolytický zvyšok (alebo v ideálnej situácii, nemodifikovaného cytotoxického prostriedku) vzniknutého takýmto štiepením. Termín „selektívny“ ako sa tu používa v spojení s proteolytickým štiepením PSA znamená väčšiu rýchlosť štiepenia oligopeptidovej zložky podľa predkladaného vynálezu voľným PSA proti štiepeniu oligopeptidu, ktorý obsahuje náhodnú sekvenciu aminokyselín. Preto je oligopeptidová zložka podľa predkladaného vynálezu výhodným substrátom voľného PSA. Termín „selektívny“ tiež označuje, že oligopeptid je proteolyticky štiepený voľným PSA medzi dvoma špecifickými aminokyselinami v oligopeptide.

Oligopeptidové zložky podľa predkladaného vynálezu sú selektívne rozpoznávané antigénom špecifickým pre prostatu (PSA) a sú schopné proteolytického štiepenia enzymatickou aktivitou voľného antigénu, špecifického pre prostatu. Takéto oligopeptidy obsahujú oligomér, zvolený zo skupiny:

- a) HaaXaaSerTyrGlnSerSer (SEQ.ID.NO.: 1);
- b) HaaTyrGlnSerSer (SEQ.ID.NO.: 2);
- c) HaaXaaLysTyrGlnSerSer (SEQ.ID.NO.: 3);
- d) HaaXaaLysTyrGlnSerSer (SEQ.ID.NO.: 4);
- e) HaaXaahArgTyrGlnSerSer (SEQ.ID.NO.: 5);
- f) HaaXaahArgChaGlnSerSer (SEQ.ID.NO.: 6);
- g) HaaXaaSerTyrGlnSerXaa (SEQ.ID.NO.: 7);

- h) HaaTyrGlnSerXaa (SEQ.ID.NO.: 8);
- i) HaaXaaSerChgGlnSerXaa (SEQ.ID.NO.: 9);
- j) HaaChgGlnSerXaa (SEQ.ID.NO.: 10);

kde Haa je cyklická aminokyselina substituovaná hydrofilnou skupinou, Xaa je akákoľvek aminokyselina, hArg je homoarginín, Cha je cyklohexylalanín a Chg je cyklohexylglycín.

V inom uskutočnení predkladaného vynálezu obsahuje oligopeptid oligomér zvolený zo skupiny:

- a) HaaTyrGlnSerSerSerLeu (SEQ.ID.NO.: 11);
- b) HaaXaaSerTyrGlnSerAla (SEQ.ID.NO.: 12);
- c) AlaHaaXaaSerTyrTyrSer (SEQ.ID.NO.: 13);
- d) AlaAsnHaaXaaSerTyrGlnSer (SEQ.ID.NO.: 14);
- e) HaaXaaSerTyrGlnSerSerThr (SEQ.ID.NO.: 15);
- f) HaaTyrGlnSerSerThr (SEQ.ID.NO.: 16);
- g) HaaXaaSerTyrGlnSerSerSer (SEQ.ID.NO.: 17);
- h) HaaTyrGlnSerSerSer (SEQ.ID.NO.: 18);
- i) HaaXaaLysTyrGlnSerSerSer (SEQ.ID.NO.: 19);
- j) HaaXaaArgTyrGlnSerSerSer (SEQ.ID.NO.: 20);
- k) HaaXaaSerTyrGlnSerSerLeu (SEQ.ID.NO.: 21);
- l) HaaTyrGlnSerSerLeu (SEQ.ID.NO.: 22);
- m) HaaXaaSerTyrGlnSerLeu (SEQ.ID.NO.: 23);
- n) HaaTyrGlnSerLeu (SEQ.ID.NO.: 24);
- p) HaaXaaSerTyrGlnSerNle (SEQ.ID.NO.: 25);
- q) HaaTyrGlnSerNle (SEQ.ID.NO.: 26);
- r) HaaXaaSerTyrGlnSerTIC (SEQ.ID.NO.: 27);
- s) HaaTyrGlnSerTIC (SEQ.ID.NO.: 28);
- t) HaaXaaSerChgGlnSerLeu (SEQ.ID.NO.: 29);
- u) HaaChgGlnSerLeu (SEQ.ID.NO.: 30);
- v) HaaXaaSerChgGlnSerNle (SEQ.ID.NO.: 31);
- w) HaaChgGlnSerNle (SEQ.ID.NO.: 32);

- x) HaaXaaSerChgGlnSerTIC (SEQ.ID.NO.: 33);
- y) HaaChgGlnSerTIC (SEQ.ID.NO.: 34);
- z) hArgChgGlnSerLeu (SEQ.ID.NO.: 35); a
- aa) hArgTyrGlnSerLeu (SEQ.ID.NO.: 36).

Vo výhodnejšom uskutočnení predkladaného vynálezu obsahuje oligopeptid oligomér zvolený zo skupiny:

- a) 4-HypXaaSerTyrGlnSerSer (SEQ.ID.NO.: 37);
- b) 4-HypXaaSerTyrGlnSerAla (SEQ.ID.NO.: 38);
- c) Ala4-HypXaaSerTyrTyrSer (SEQ.ID.NO.: 39);
- d) AlaAsn4-HypXaaSerTyrGlnSer (SEQ.ID.NO.: 40);
- e) 4-HypXaaSerTyrGlnSerSerThr (SEQ.ID.NO.: 41);
- f) 4-HypTyrGlnSerSerThr (SEQ.ID.NO.: 42);
- g) 4-HypXaaSerTyrGlnSerSerSer (SEQ.ID.NO.: 43);
- h) 4-HypTyrGlnSerSerSer (SEQ.ID.NO.: 44);
- i) 4-HypXaaLysTyrGlnSerSerSer (SEQ.ID.NO.: 45);
- j) 4-HypXaaahArgTyrGlnSerSerSer (SEQ.ID.NO.: 46);
- k) 4-HypXaaSerTyrGlnSerSerLeu (SEQ.ID.NO.: 47);
- l) 4-HypTyrGlnSerSerLeu (SEQ.ID.NO.: 48);
- m) 4-HypXaaSerTyrGlnSerLeu (SEQ.ID.NO.: 49);
- n) 4-HypTyrGlnSerLeu (SEQ.ID.NO.: 50);
- p) 4-HypXaaSerTyrGlnSerNle (SEQ.ID.NO.: 51);
- q) 4-HypTyrGlnSerNle (SEQ.ID.NO.: 52);
- r) 4-HypXaaSerTyrGlnSerTIC (SEQ.ID.NO.: 53);
- s) 4-HypTyrGlnSerTIC (SEQ.ID.NO.: 54);
- t) 4-HypXaaSerChgGlnSerLeu (SEQ.ID.NO.: 55);
- u) 4-HypChgGlnSerLeu (SEQ.ID.NO.: 56);
- v) 4-HypXaaSerChgGlnSerNle (SEQ.ID.NO.: 57);
- w) 4-HypChgGlnSerNle (SEQ.ID.NO.: 58);
- x) 4-HypXaaSerChgGlnSerTIC (SEQ.ID.NO.: 59);

y) 4-HypChgGlnSerTIC (SEQ.ID.NO.: 60);

kde 4-Hyp je 4-hydroxyprolín, Xaa je akákoľvek aminokyselina, hArg je homo-arginín, Cha je cyklohexylalanín a Chg je cyklohexylglycín.

Vo výhodnejšom uskutočnení vynálezu je Xaa výhodne zvolená z Ala, Ser a Ile.

Výraz „oligoméry, obsahujúce sekvenciu aminokyselín“, ako sa tu používa vyššie a aj na iných miestach v opise vynálezu, opisuje oligoméry s dĺžkou od 3 do približne 100 aminokyselinových zvyškov, ktoré obsahujú vo svojej aminokyselinovej sekvencii špecifitou opísanú aminokyselinovú sekvenciu a ktoré sú tak proteolyticky štiepené vo vnútri opísanej aminokyselinovej sekvencie voľným PSA. Oligomér má výhodne 5 až 10 aminokyselinových zvyškov. Tak napríklad nasledujúci oligomér:

hArgSer4-HypChgGlnSerLeu (SEQ.ID.NO.: 61);

obsahuje aminokyselinovú sekvenciu:

4-HypChgGlnSerLeu (SEQ.ID.NO.: 56);

a spadal by teda do rámca predkladaného vynálezu.

Odborníkovi so zvyčajnou znalosťou chémie peptidov bude zrejmé, že niektoré aminokyseliny v biologicky aktívnom oligopeptide môžu byť nahradené inými homológny, izosterickými a/alebo izoelektronickými aminokyselinami, pričom biologická aktivita pôvodného oligopeptidu bola u modifikovaného oligopeptidu zachovaná. Ako náhrada zodpovedajúcich prírodných aminokyselín v oligopeptidoch podľa predkladaného vynálezu môžu byť tiež použité niektoré aminokyseliny, ktoré sa v prírode nevyskytujú a modifikované prírodné aminokyseliny. Tak napríklad tyrozín môže byť nahradený zlúčeninami 3-jódtyrozín, 2-metyltirozín, 3-fluórtirozín, 3-metyltirozín a podobne. Ďalej môže byť napríklad lyzín nahradený N'-(2-imidazolyl)lyzínom a podobne. Na ilustráciu je uvedený neobmedzujúci zoznam náhrad aminokyselín:

<u>Pôvodná aminokyselina</u>	<u>Náhradná aminokyselina(y)</u>
Ala	Gly
Arg	Lys, Ornitín
Asn	Gln

Asp	Glu
Glu	Asp
Gln	Asn
Gly	Ala
Ile	Val, Leu, Met, Nle
Leu	Ile, Val, Met, Nle
Lys	Arg, Ornitín
Met	Leu, Ile, Nle, Val
Ornitín	Lys, Arg
Phe	Tyr, Trp
Ser	Thr
Thr	Ser
Trp	Phe, Tyr
Tyr	Phe, Trp
Val	Leu, Ile, Met, Nle

Tak napríklad spôsobmi známymi odborníkom v danej oblasti techniky môžu byť syntetizované nasledujúce oligopeptidy, u ktorých je možné čakať, že budú proteolyticky štiepené pri zavedení do konjugátu podľa predkladaného vynálezu voľným PSA:

Asn ⁴ -HypIleSerTyrGlnSer	(SEQ.ID.NO.: 62);
Asn ⁴ -HypValSerTyrGlnSer	(SEQ.ID.NO.: 63);
4-HypAlaSerTyrGlnSerSer	(SEQ.ID.NO.: 64);
(3,4-dyhydroxyprolín)AlaSerTyrGlnSerSer	(SEQ.ID.NO.: 65);
3-hydroxyprolínSerChgGlnSer	(SEQ.ID.NO.: 66);
4-HypAlaSerChgGlnSerSer	(SEQ.ID.NO.: 67).

Symbol „I“ v aminokyselinovej sekvencii označuje miesto vo vnútri sekvencie, v ktorom je oligopeptid proteolyticky štiepený voľným PSA.

Zlúčeniny podľa predkladaného vynálezu môžu obsahovať asymetrické centrá a vyskytovať sa ako racemáty, racemické zmesi a ako jednotlivé diastereoméry, pričom v rámci predkladaného vynálezu sú zahrnuté všetky možné

izoméry vrátane optických izomérov. Pokiaľ nie je špecifikované inak, predpokladá sa, že uvádzané aminokyseliny budú mať prírodnú stereokonfiguráciu „L“.

Na označenie uvedených aminokyselín a skupín sa v opise a v tabuľkách používajú nasledujúce skratky:

hR alebo hArg:	homoarginín
hY alebo hTyr:	homotyrozín
Cha:	cyklohexylalanín
Amf:	4-aminometylfenylalanín
DPL:	2-(4,6-dimetylpyrimidiny)lyzín
(imidazoly)K:	N'-(2-imidazolyl)lyzín
Me ₂ PO ₃ -Y:	O-dimetylfosfotyrozín
O-Me-Y:	O-metyltyrozín
TIC:	kyselina 1,2,3,4-tetrahydro-3-izochinolín- karboxylová
DAP:	1,3-diaminopropán
TFA:	kyselina trifluóroctová
AA:	kyselina octová
3PAL:	3-pyridyl-alanín
4-Hyp:	4-hydroxyprolín
Abu:	kyselina alfa-aminomaslová
Thi:	tierylalanín

V danej oblasti techniky je dobre známe a platí to aj o predkladanom vynáleze, že peptidylové terapeutické prostriedky ako sú tu uvedené konjugáty oligopeptid-cytotoxický prostriedok majú výhodne koncovú aminokyselinu akéhokoľvek oligopeptidového substituenta chránenú vhodnou ochrannou skupinou, ako je acetyl, benzoyl, pivaloyl a podobne. Táto ochrana koncovkej aminoskupiny obmedzuje alebo odstraňuje enzymatickú degradáciu týchto peptidylových terapeutických prostriedkov pôsobením peptidáz, ktoré sú prítomné v krvnej plazme teplokrvných zvierat.

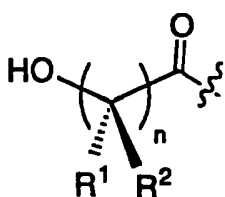
Medzi tieto ochranné skupiny patria aj hydrofilné blokovacie skupiny, ktoré sa volia na základe prítomnosti hydrofilnej funkčnej skupiny. Blokovacie skupiny, ktoré

zvyšujú hydrofilnosť konjugátov a tým rozpustnosť konjugátov vo vode, zahŕňujú bez obmedzenia hydroxylovaný alkanoyl, polyhydroxylovaný alkanoyl, hydroxylovaný aroyl, polyhydroxylovaný aroyl, polyetylénglykol, glykozyláty, cukry a crown étery, N-koncové neprirodné aminokyselinové skupiny môžu byť tiež odstránené enzymatickou degradáciou aminopeptidázami.

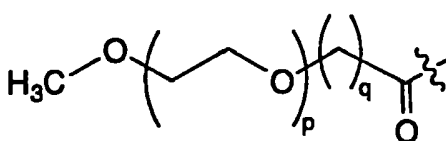
N-koncová ochranná skupina sa výhodne volí zo skupiny:

a) acetyl;

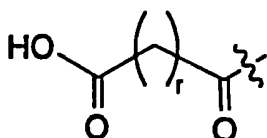
b)



c)



d)



kde

R¹ a R² sú nezávisle zvolené zo skupiny:

a) atóm vodíka,

b) nesubstituovaný alebo substituovaný aryl, nesubstituovaný alebo substituovaný heterocyklyl, C₃-C₁₀cykloalkyl, C₂-C₆alkenyl, C₂-C₆alkynyl, halogén, C₁-C₆perfluóralkyl, R³O-, R³C(O)NR³-, (R³)₂NC(O)-, (R³)₂N-C(NR³)-, R⁴S(O)_mNH, CN, NO₂, R³C(O)-, N₃, -N(R³)₂ alebo R⁴OC(O)NR³-,

c) nesubstituovaný C₁-C₆alkyl,

d) nesubstituovaný C₁-C₆alkyl, kde substituent na substituovanom C₁-C₆alkyle je zvolený zo skupiny nesubstituovaný alebo substituovaný aryl, nesubstituovaný

alebo substituovaný heterocyklyl, C₃-C₁₀cykloalkyl, C₂C₆alkenyl, C₂-C₆alkinyl, R³O-, R³C(O)NR³-, (R³)₂NC(O)-, (R³)₂N-C(NR³)-, R⁴S(O)_mNH, CN, R³C(O)-, N₃, -N(R³)₂ alebo R⁴OC(O)NR³-, alebo

R¹ a R² sú spojené za vytvorenia skupiny -(CH₂)_s, kde jeden z atómov uhlíka je prípadne nahradený skupinou zvolenou z: O, S(O)_m, -NC(O), NH a -N(COR⁴);

R³ je zvolené zo skupiny: atóm vodíka, aryl, substituovaný aryl, heterocyklyl, substituovaný heterocyklyl, C₁-C₆alkyl a C₃-C₁₀cykloalkyl;

R⁴ je zvolené zo skupiny: aryl, substituovaný aryl, heterocyklyl, substituovaný heterocyklyl, C₁-C₆alkyl a C₃-C₁₀cykloalkyl;

m je 0, 1 alebo 2;

n je 1, 2, 3 alebo 4;

p je nula alebo celé číslo medzi 1 a 100;

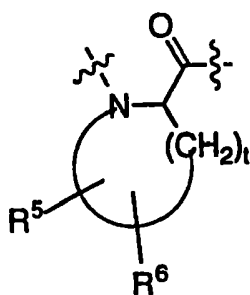
q je 0 alebo 1, za predpokladu, že ak p je 0, q je 1;

r je celé číslo medzi 1 a 10; a

s je 3, 4 alebo 5,

r je výhodne 1, 2 alebo 3.

Oligopeptidy z uvedených konjugátov obsahujú cyklickú aminokyselinu substituovanú hydrofilnou skupinou, vyššie označenou termínom „Haa“, ktorá môže byť tiež vyjadrená vzorcom:



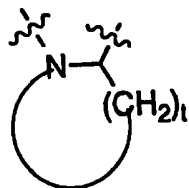
kde

R⁵ je zvolené z HO- a C₁-C₆alkoxy;

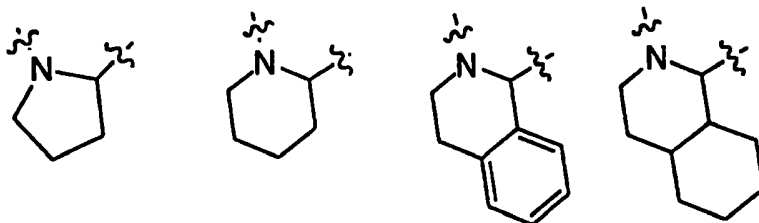
R⁶ je zvolené zo skupiny atóm vodíka, halogén, C₁-C₆alkyl, HO- a C₁-C₆alkoxy a

t je 3 alebo 4.

Štruktúra



znamená skupinu cyklického amínu s 5 alebo 6 členmi v kruhu ako je cyklický amín, ktorý môže byť napríklad fúzovaný k fenylovému alebo cyklohexylovému kruhu. Príklady takejto cyklickej aminovej skupiny zahŕňujú bez obmedzenia konkrétne štruktúry:



Konjugáty podľa predkladaného vynálezu môžu mať asymetrické centrá a vyskytujú sa vo forme racemátov, racemických zmesí a ako jednotlivé diastereoméry, pričom všetky možné izoméry, vrátane optických izomérov, sú zahrnuté do predkladaného vynálezu. Ak sa v niektorej zložke vyskytuje niektorá premenná (napríklad aryl, heterocyklyl, R^3 a podobne) viackrát ako raz, jej definícia pre každý výskyt je nezávislá na každom ďalšom výskyte. Napríklad $HO(CR^1R^2)_2$ znamená $HOCH_2CH_2-$, $HOCH_2CH(OH)-$, $HOCH(CH_3)CH(OH)-$ a podobne. Kombinácie substituentov a/alebo premenných sú prípustné len v prípadoch, kedy týmito zlúčeninami vznikajú stabilné látky.

Termín „alkyl“ a alkylová časť a podobné termíny ako sa tu používajú, majú označovať nasýtené alifatické uhľovodíkové skupiny s priamym alebo rozvetveným reťazcom s konkrétnym počtom atómov uhlíka. „Alkoxy“ znamená alkylovú skupinu s uvedeným počtom atómov uhlíka pripojenú cez kyslíkový mostík.

Termín „cykloalkyl“ ako sa tu používa má označovať nearomatické cyklické uhľovodíkové skupiny s uvedeným počtom atómov uhlíka. Príklady cykloalkylových skupín sú cyklopropyl, cyklobutyl, cyklopentyl, cyklohexyl a podobne.

„Alkenylové“ skupiny zahrnujú skupiny s uvedeným počtom atómov uhlíka, ktoré majú jednu alebo niekoľko dvojitéch väzieb. Príklady alkenylových skupín sú vinyl, alyl, izopropenyl, pentenyl, hexenyl, heptenyl, cyklopropenyl, cyklobutenyl, cyklopentenyl, cyklohexenyl, 1-propenyl, 2-butenyl, 2-metyl-2-butenyl, izoprenyl, farnesyl, geranyl, geranylgeranyl a podobne.

„Alkinylové“ skupiny sú skupiny s uvedeným počtom atómov uhlíka, obsahujúce trojitú väzbu. Ako príklady alkinylových skupín je možné uviesť acetylén, 2-butenyl, 2-pentynyl, 3-pentynyl a podobne.

„Halogén“ alebo „halo“, ako sa tu používa, znamená fluór, chlór, bróm a jód.

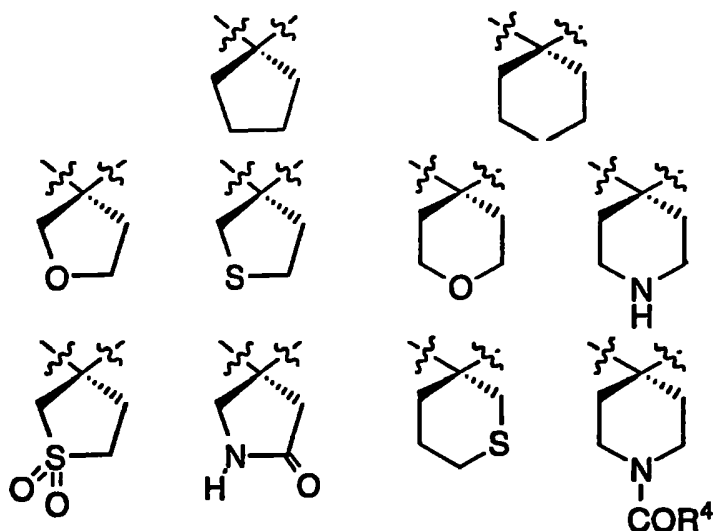
„Aryl“, arylová časť, aralkyl a aroyl ako sa tu používa má označovať akýkoľvek stabilný až sedemčlenný monocyklický alebo bicyklický uhlíkový kruh, pričom aspoň jeden kruh je aromatický. Príklady týchto arylových prvkov sú fenyl, naftyl, tetrahydronaftyl, indanyl, bifenyl, fenantryl, antryl alebo acenaftyl.

Termín heterocyklyl alebo heterocyklický ako sa tu používa, znamená stabilný 5- až 7-členný monocyklický alebo stabilný 8- až 11-členný bicyklický heterocyklický kruh, ktorý je buď nasýtený alebo nenasýtený a ktorý sa skladá z atómov uhlíka a jedného až štyroch heteroatómov, zvolených zo skupiny N, O a S vrátane akejkoľvek bicyclickej skupiny, v ktorej je niektorý z vyššie uvedených heterocyklických kruhov fúzovaný k benzénovému kruhu. Heterocyklický kruh môže byť pripojený v mieste ktoréhokoľvek heteroatómu alebo atómu uhlíka, kedy toto pripojenie vedie k vytvoreniu stabilnej štruktúry. Príklady týchto heterocyklických prvkov zahrnujú bez obmedzenia azepinyl, benzimidazolyl, benzizoxazolyl, benzofurazanyl, benzopyranyl, benzotiopyranyl, benzofuryl, benzotiazolyl, benzotienyl, benzoxazolyl, chromanyl, cinnolinyl, dihydrobenzofuryl, dihydrobenzotienyl, dihydrobenzotiopyranyl, dihydrobenzotiopyranylsulfón, furyl, imidazolidinyl, imidazolinyl, imidazolyl, indolinyl, indolyl, izochromanyl, izoindolinyl, izochinolinyl, izotiazolidinyl, izotiazolyl, izotiazolidinyl, morfolinyl, naftyrinyl, oxadiazolyl, 2-oxoazepinyl, oxazolyl, 2-oxopiperazinyl, 2-oxopiperidinyl, 2-oxopyrolidinyl, piperidyl, piperazinyl, pyridyl, pyrazinyl, pyrazolidinyl, pyrazolyl, pyridazinyl, pyrimidinyl, pyrolidinyl, pyrolyl, chinazolinyl, chinolinyl, chinoxalinyl, tetrahydrofuryl, tetrahydroizochinolinyl, tetrahydrochinolinyl, tiamorfolinyl, tiamorfolinylsulfoxid, tiazolyl, tiazolinyl, tienofuryl, tienotienyl a tienyl.

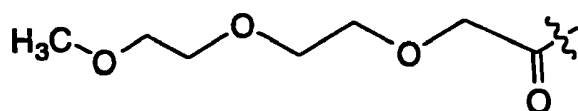
Termíny „substituovaný C₈alkyl“, „substituovaný aryl“ a „substituovaný heterocyklyl“ ako sa tu používa, znamenajú skupiny, obsahujúce od 1 do 3 substituentov naviac k miestam pripojenia ku zvyšku zlúčeniny. Tieto ďalšie substituenty sú zvolené zo skupiny F, Cl, Br, CF₃, NH₂, N(C₁-C₆alkyl)₂, NO₂, CN, (C₁-C₆alkyl)O-, -OH, (C₁-C₆alkyl)S(O)_m-, (C₁-C₆alkyl)C(O)NH-, H₂N-C(NH)-, (C₁-C₆alkyl)C(O)-, (C₁-C₆alkyl)OC(O)-, N₃, (C₁-C₆alkyl)OC(O)NH- a C₁-C₂₀alkyl.

Termín „celé číslo medzi 1 a 10) znamená čísla 1 a 10 rovnako ako celé čísla medzi týmito číslami. Termín „celé číslo medzi 1 a 100“ znamená čísla 1 a 100 rovnako ako celé čísla medzi týmito číslami.

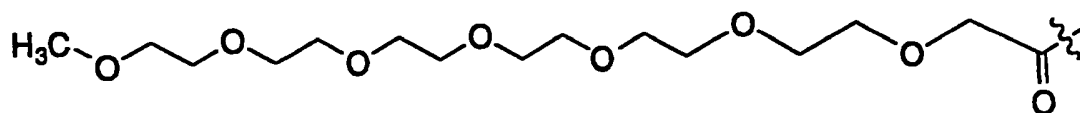
Ak sú skupiny R¹ a R² spojené za vytvorenia skupiny -(CH₂)_s-, cyklickej skupiny a cyklickej skupiny s obsahom heteroatómu, ktoré sú takto definované, zahŕňujú bez obmedzenia skupiny:



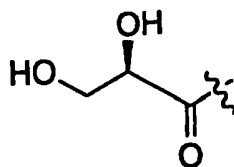
Termín „PEG“ ako sa tu používa, znamená niektoré substituenty, obsahujúce polyetylén glykol s určeným počtom etylénoxidových podjednotiek. Termín PEG(2) teda znamená



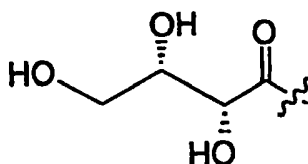
a termín PEG(6) znamená



Termín „(2R)(2,3-dihydroxypropionyl)“ ako sa tu používa znamená nasledujúcu štruktúru:



Termín „(2R,3S)-2,3,4-trihydroxybutanoly“ ako sa tu používa znamená nasledujúcu štruktúru:



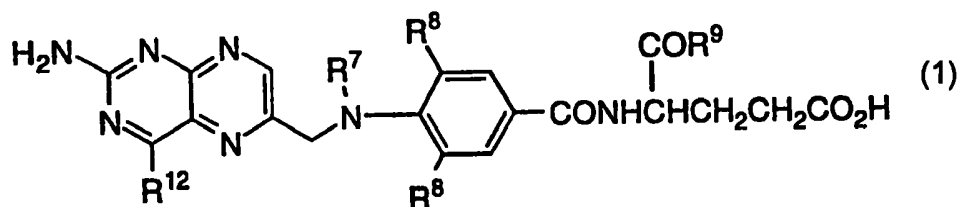
Pretože konjugáty podľa vynálezu môžu byť použité na modifikáciu danej biologickej odozvy, cytotoxický prostriedok nemá byť obmedzený na klasické chemické liečivé prostriedky. Cytotoxický prostriedok môže byť napríklad proteín alebo polypeptid s požadovanou biologickou aktivitou. Medzi tieto proteíny môže napríklad patriť toxín ako je abríň, ricín A, exotoxín pseudomonas, alebo toxín záškrtu; proteíny ako je tumorový nekrozný faktor, α -interferón, β -interferón, nervový rastový faktor, rastový faktor odvodený z doštičiek, tkanivový plazminogénny aktivátor alebo modifikátory biologickej odpovede ako sú napríklad lymfokíny, interleukín-1 („IL-1“), interleukín-2 („IL-2“), interleukín-6 („IL-6“), granulocytový makrofágový faktor stimulujúci kolónie („GM-CSF“), granulocytový faktor stimulujúci kolónie („G-CSF“) alebo iné rastové faktory.

Medzi výhodné cytotoxické prostriedky všeobecne patria alkylačné činidlá, antiproliferatívne činidlá, prostriedky viažuce sa na tubulín a podobne. Výhodnými triedami cytotoxických prostriedkov sú napríklad liečiva zo skupiny antracyklínov, alkaloidy skupiny vinca mitomycíny, bleomycíny, cytotoxické nukleozidy, taxány a lieky pteridínovej skupiny, diynény a podofylotoxíny. Medzi zvlášť použiteľné členy týchto skupín patrí napríklad doxorubicín, karminomycín, daunorubicín, aminopterín,

metotrexát, metopterín, dichlórmototrexát, mitomycín C, porfiromycín, 5-fluóruracil, 6-merkaptopurín, cytozín arabinozid, podofylotoxín alebo deriváty podofylotoxínu ako je etopozid alebo etopozid fosfát, melfalan, vinblastín, vincristín, leurozidín, vindezín, leurozín, taxol a podobne. Medzi ďalšie použiteľné cytotoxické prostriedky patria estramustín, cisplatina a cyklofosfamid. Odborník v danej oblasti techniky môže uskutočniť chemické modifikácie požadovaných cytotoxických prostriedkov na uľahčenie reakcií týchto zlúčenín na účely prípravy konjugátov podľa vynálezu.

Medzi veľmi výhodnú skupinu cytotoxických prostriedkov použiteľných v predkladanom vynáleze patria liečivá nasledujúcich vzorcov:

Metotrexátová skupina vzorca (1):



kde

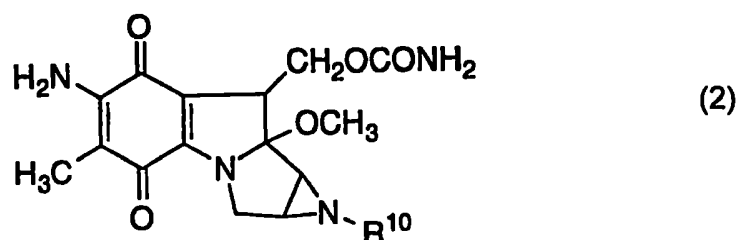
R¹² je amino alebo hydroxy,

R⁷ je atóm vodíka alebo metyl,

R⁸ je atóm vodíka, fluór, chlór, bróm alebo jód,

R⁹ je hydroxy alebo skupina, ktorá umožní vytvorenie soli kyseliny karboxylovej;

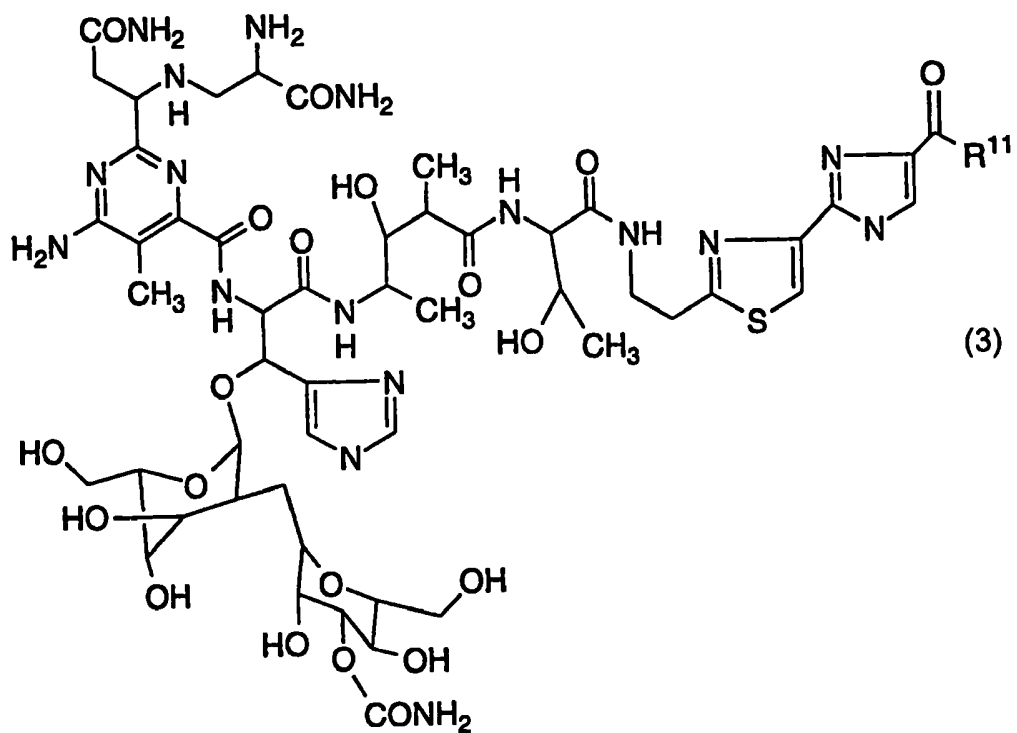
Mitomycínová skupina vzorca (2):



kde

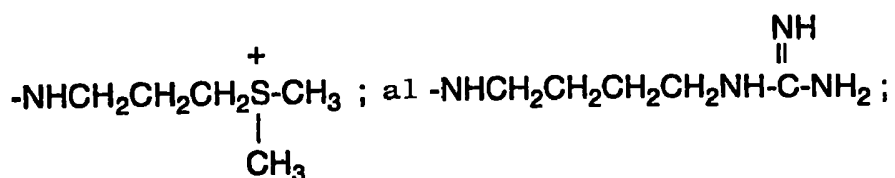
R¹⁰ je atóm vodíka alebo metyl;

Bleomycínová skupina vzorca (3):

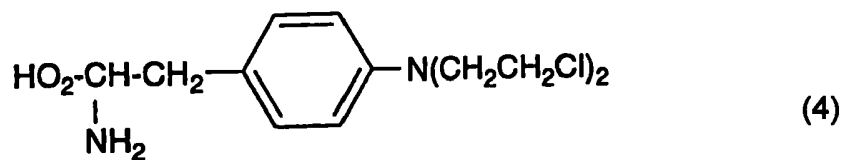


kde

R¹¹ je hydroxy, amino, C₁-C₃alkylamino, di(C₁-C₃alkyl)amino, C₄-C₆polymetylén-amino,



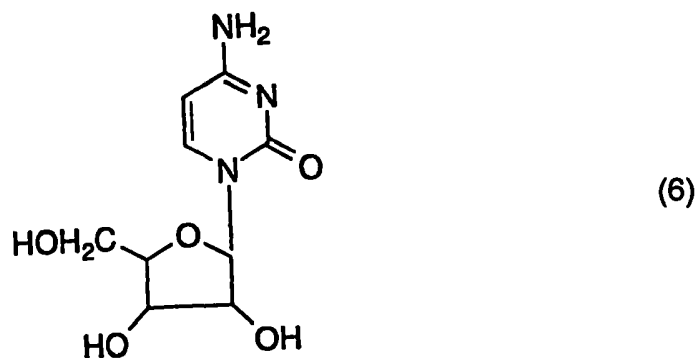
Meftalán vzorca (4):



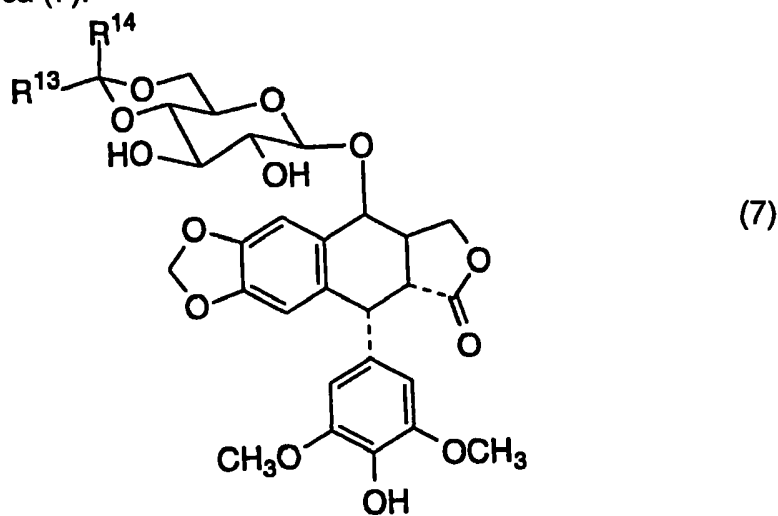
6-Merkaptopurín vzorca (5):



Cytozín arabinozid vzorca (6):



Podofylotoxíny vzorca (7):



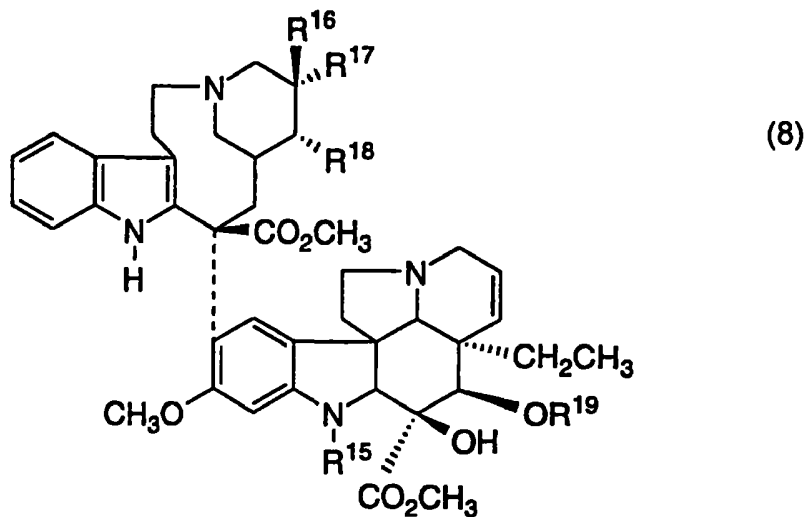
kde

R^{13} je atóm vzorca alebo metyl,

R^{14} je metyl alebo tienyl,

alebo ich fosfátová soľ;

Skupina liečiv zo skupiny alkaloidov vinca vzorca (8):



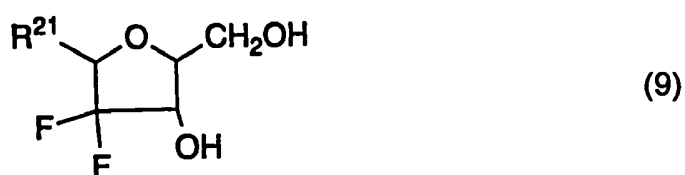
kde

R^{15} je H, CH_3 alebo CHO , ak R^{17} a R^{18} sa berú jednotlivo;

R^{18} je H a jedno z R^{16} a R^{17} je etyl a druhé je H alebo OH; ak R^{17} a R^{18} sa berú spoločne s atómami uhlíka, ku ktorým sú pripojené, vytvárajú oxiránový kruh, pričom v takomto prípade R^{16} je etyl;

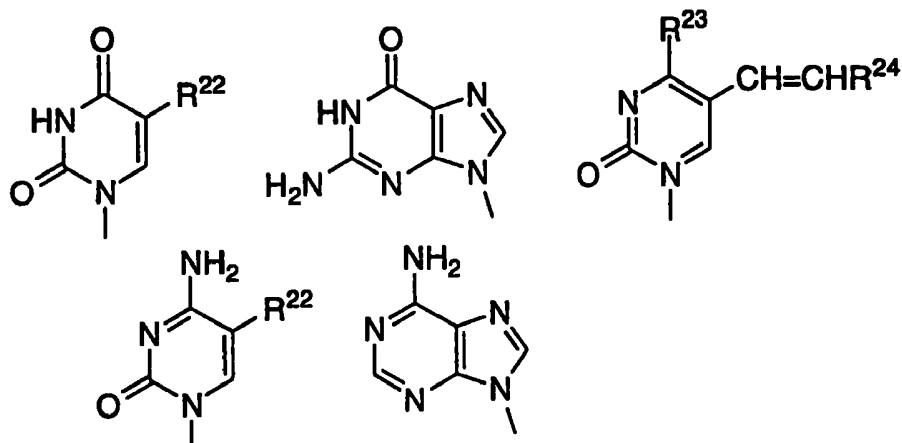
R^{19} je atóm vodíka, $(C_1-C_3\text{alkyl})CO$ alebo chlórsubstituovaný $(C_1-C_3\text{alkyl})CO$;

Difluórnukleozidy vzorca (9):



kde

R^{21} je báza jedného zo vzorcov:



kde

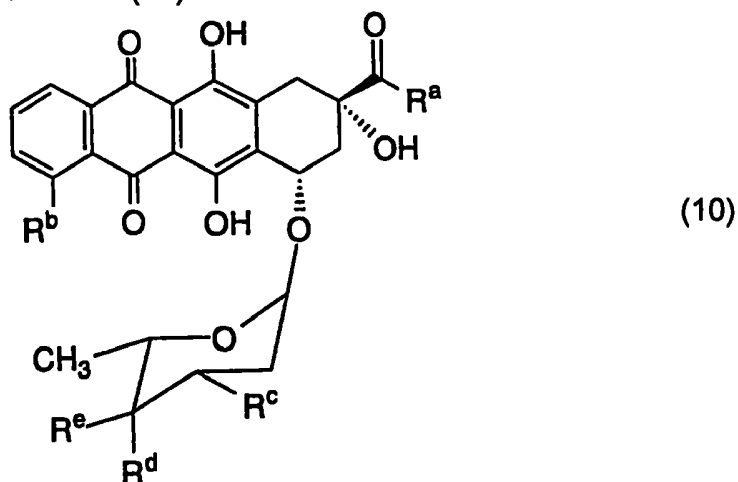
R^{22} je atóm vodíka, metyl, bróm, fluór, chlór alebo jód;

R^{23} je $-OH$ alebo $-NH_2$;

R^{24} je atóm vodíka, bróm, chlór alebo jód;

alebo

Antracyklínové antibiotiká vzorca (10):



kde

R^a je $-\text{CH}_3$, $-\text{CH}_2\text{OH}$, $-\text{CH}_2\text{OCO}(\text{CH}_2)_3\text{CH}_3$ alebo $-\text{CH}_2\text{OCOCH}(\text{OC}_2\text{H}_5)_2$;

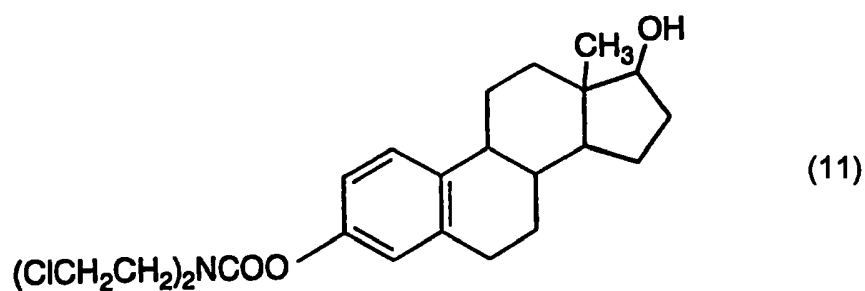
R^b je $-\text{OCH}_3$, $-\text{OH}$ alebo $-\text{H}$;

R^c je $-\text{NH}_2$, $-\text{NHCOCF}_3$, 4-morfoliny, 3-kyano-4-morfoliny, 1-piperidiny, 4-metoxy-1-piperidiny, benzylamín, dibenzylamín, kyanometylamín alebo 1-kyano-2-metoxyetylamín;

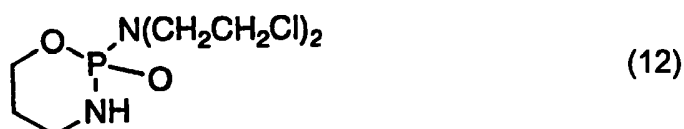
R^d je $-\text{OH}$, $-\text{OTHP}$ alebo $-\text{H}$; a

R^e je $-\text{OH}$ alebo $-\text{H}$ za predpokladu, že R^6 nie je skupina $-\text{OH}$, ak R^5 je $-\text{OH}$ alebo $-\text{OTHP}$.

Estramustín (11):

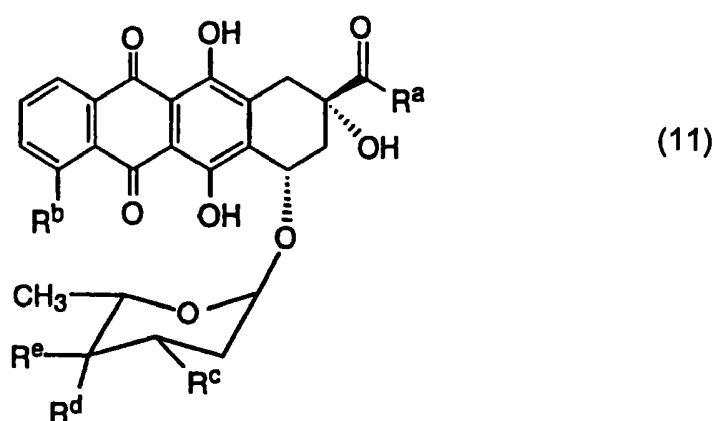


Cyklofosfamid (12):



Najvýhodnejšie liečivá sú antracyklínové antibiotiká vzorca (10), opísané vyššie. Odborník v danej oblasti techniky bude rozumieť, že tento štruktúrny vzorec zahŕňa zlúčeniny, ktoré sú liečivá alebo deriváty liečiv, ktoré získali v danej oblasti techniky rôzne generické alebo triviálne názvy. Tabuľka 1, ktorá nasleduje, uvádza celý rad antracyklínových liečiv a ich generické alebo triviálne názvy, ktoré sú zvlášť výhodné na použitie v predkladanom vynáleze.

Tabuľka 1



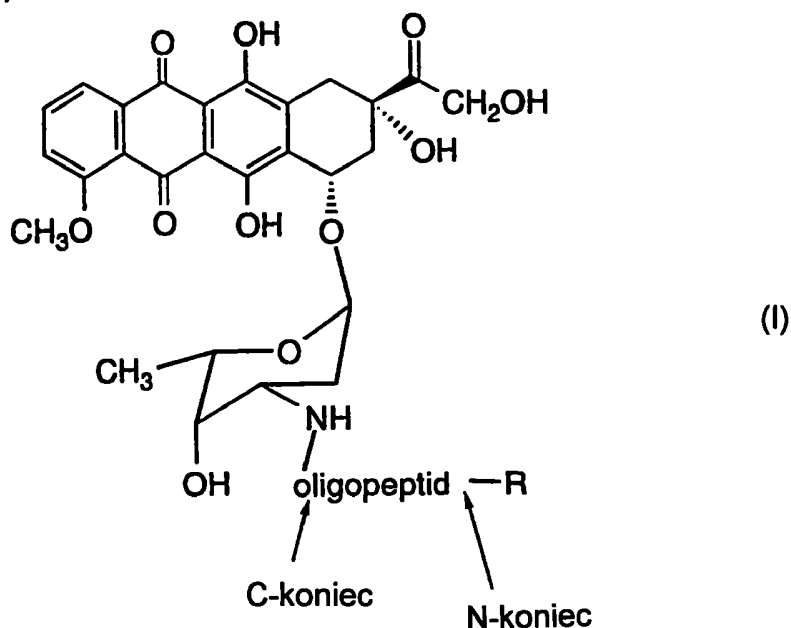
Zlúčenina	R ^a	R ^b	R ^c	R ^d	R ^e
daunorubicín ^a	CH ₃	OCH ₃	NH ₂	OH	H
doxorubicín ^b	CH ₂ OH	OCH ₃	NH ₂	OH	H
detorubicín	CH ₂ OCOCH(OC ₂ H ₅) ₂	OCH ₃	NH ₂	OH	H
karminomycín	CH ₃	OH	NH ₂	OH	H
idarubicín	CH ₃	H	NH ₂	OH	H
epirubicín	CH ₂ OH	OCH ₃	NH ₂	OH	OH
esorubicín	CH ₂ OH	OCH ₃	NH ₂	H	H
THP	CH ₂ OH	OCH ₃	NH ₂	OTHP	H
AD-32	CH ₂ OCO(CH ₂) ₃ CH ₃	OCH ₃	NHCOF ₃	OH	H

^a „daunomycín“ je alternatívny názov pre daunorubicín,

^b „adriamycín“ je alternatívny názov pre doxorubicín

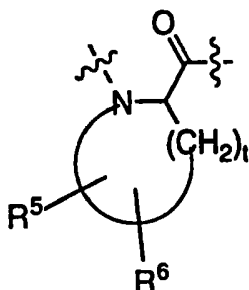
Zo zlúčenín uvedených v tabuľke 1 sú najvýhodnejšie cytotoxické prostriedky doxorubicín, vinblastín a desacetylvinblastín. Doxorubicín (označovaný tu ako „DOX“) je antracyklín vzorca (10), v ktorom R^a je $-\text{CH}_2\text{OH}$, R^b je $-\text{OCH}_3$, R^c je $-\text{NH}_2$, R^d je $-\text{OH}$ a R^e je $-\text{H}$.

Konjugát oligopeptid-cytotoxický prostriedok podľa vynálezu, kde cytotoxickým prostriedkom je vhodný cytotoxický prostriedok doxorubicín, môže byť opísaný všeobecným vzorcom I



kde

oligopeptidom je oligopeptid, ktorý je selektívne rozpoznávaný voľným antigénom špecifickým pre prostatu, PSA a ktorý je schopný proteolytického štiepenia enzymatickou aktivitou voľného antigénu špecifického pre prostatu, a kde oligopeptid obsahuje cyklickú aminokyselinu vzorca

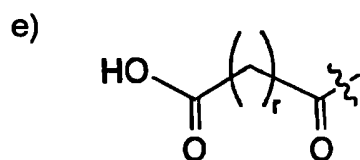
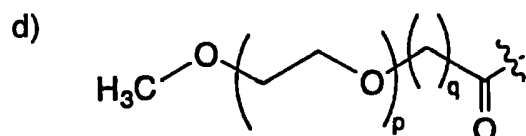
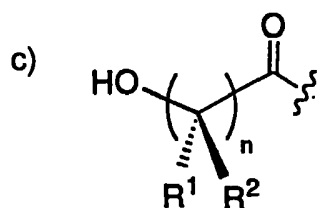
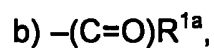


a kde

C-koncový karbonyl je kovalentne naviazaný na amín doxorubicínu,

R je zvolené z

a) atóm vodíka,



R^1 a R^2 sú nezávisle zvolené zo skupiny: atóm vodíka, OH, C_1 - C_6 alkyl, C_1 - C_6 alkoxy, C_1 - C_6 aralkyl a aryl,

R^{1a} je C_1 - C_6 alkyl, hydroxylovaný aryl, polyhydroxylovaný aryl alebo aryl,

R^5 je zvolené a HO- a C_1 - C_6 alkoxy,

R^6 je zvolené zo skupiny atóm vodíka, halogén, C_1 - C_6 alkyl, HO- a C_1 - C_6 alkoxy a n je 1, 2, 3 alebo 4,

p je nula alebo celé číslo medzi 1 a 100,

q je 0 alebo 1, za predpokladu, že ak p je nula, q je 1,

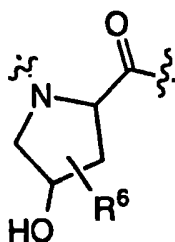
r je celé číslo medzi 1 a 10 a

t je 3 alebo 4,

alebo ich farmaceuticky prijateľná soľ.

Vo výhodnom uskutočnení vynálezu konjugát oligopeptid-cytotoxický prostriedok je

cyklickou aminokyselinou

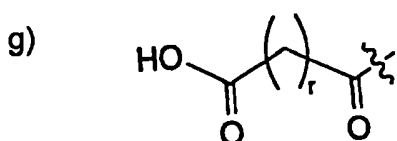
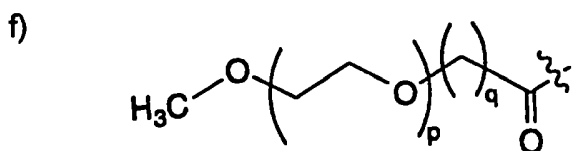
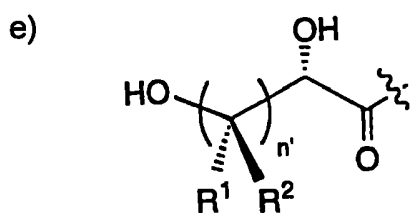
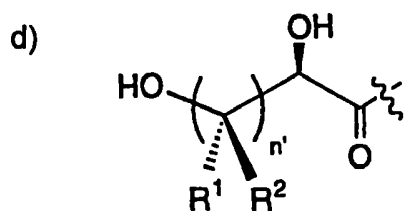
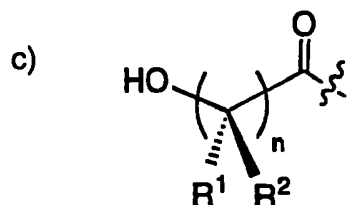


kde

R je zvolené z

a) atóm vodíka,

b) $-(C=O)R^{1a}$,



R^1 a R^2 sú nezávisle zvolené zo skupiny: atóm vodíka, C_1 - C_6 alkyl a aryl,

R^{1a} je C_1 - C_6 alkyl alebo aryl,

n je 1, 2, 3 alebo 4,

n' je 0, 1, 2 alebo 3,

p je nula alebo celé číslo medzi 1 a 14,

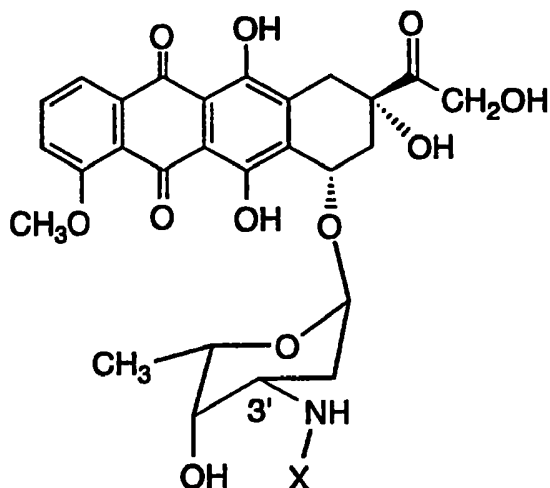
q je 0 alebo 1, za predpokladu, že ak p je nula, q je 1,

r je celé číslo medzi 1 a 10 a

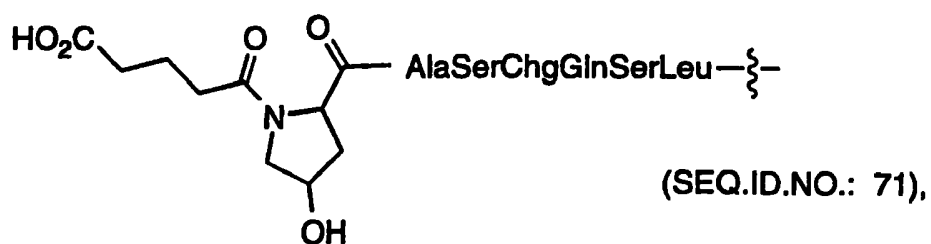
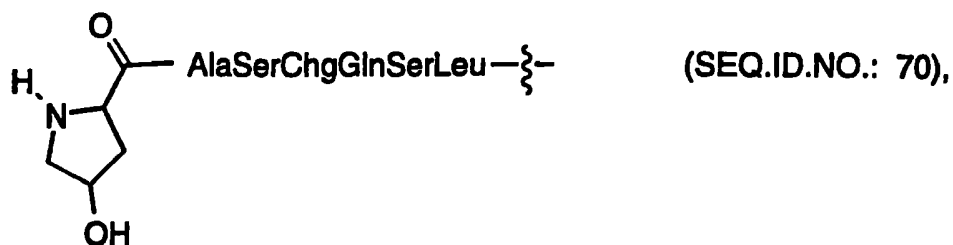
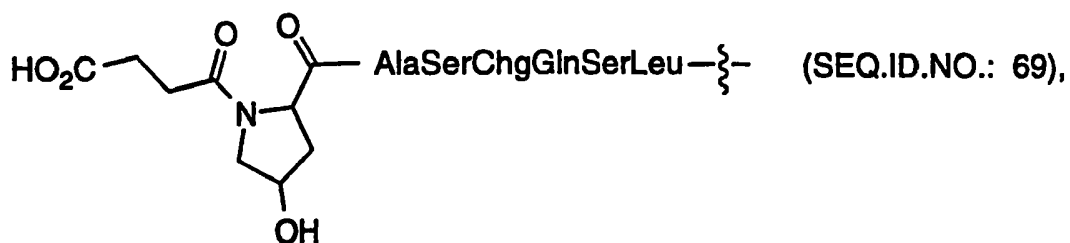
t je 3,

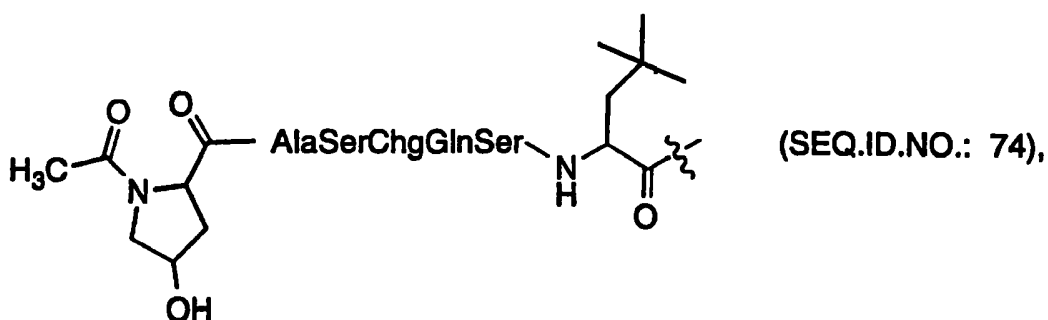
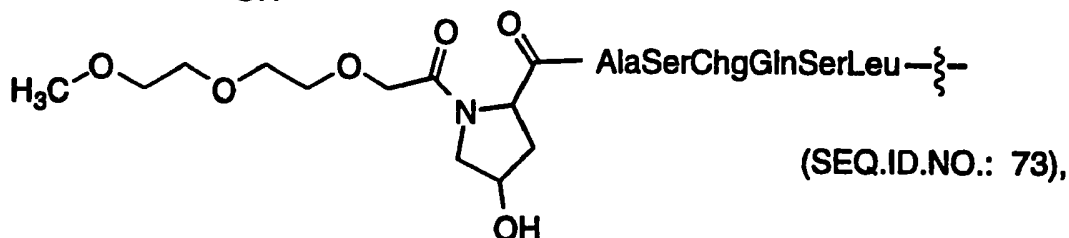
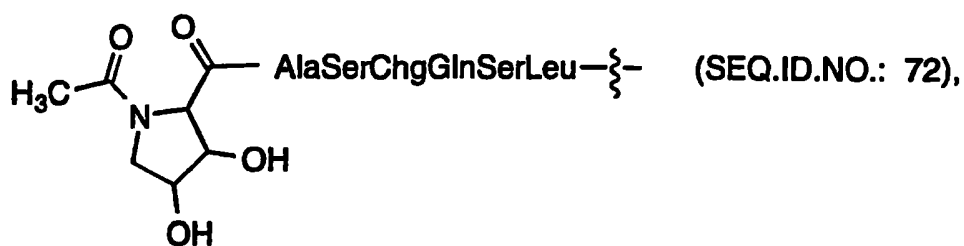
alebo optický izomér alebo ich farmaceuticky prijateľná soľ.

Nasledujúce zlúčeniny sú konkrétnymi príkladmi konjugátu oligopeptid-cytotoxický prostriedok podľa predkladaného vynálezu



kde X je

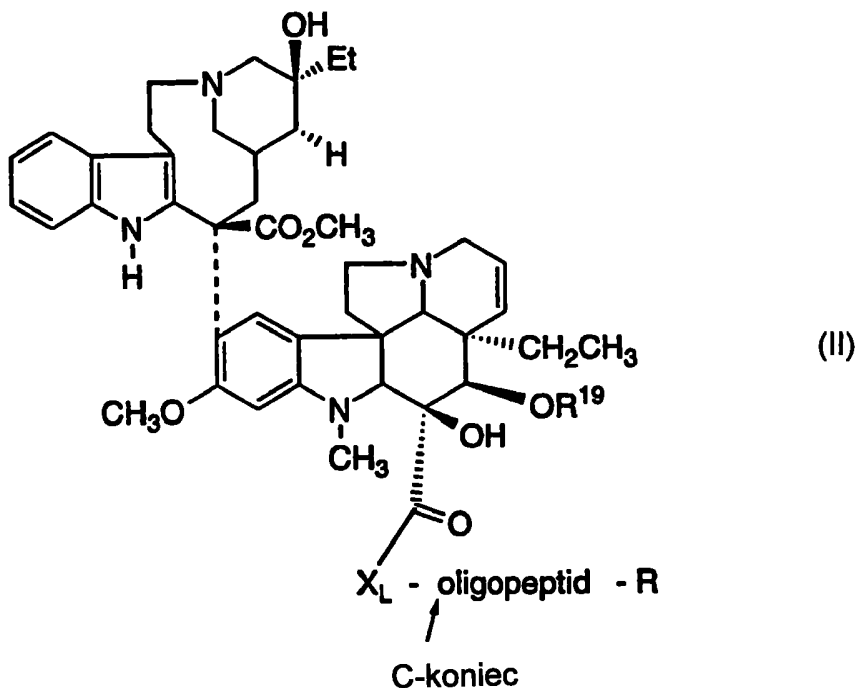




	SEQ.ID.No
Sukciny-(4-Hyp)ASChgQ-SV-DOX (3')	75
Glutaryl-(4-Hyp)ASChgQ-SV-DOX (3')	76
Glutaryl-(4-Hyp)ASChgQ-SI-DOX (3')	77
Sukciny-(4-Hyp)SSChgQ-SI-DOX (3')	78
Sukciny-(4-Hyp)ASChgQ-SI-DOX (3')	79
Sukciny-(4-Hyp)ASChgQ-SAbu-DOX (3')	80
Glutaryl-(4-Hyp)SSChgQ-SI-DOX (3')	81
Glutaryl-(4-Hyp)SSChgQ-SL-DOX (3')	82
PEG(2)-(4-Hyp)SSChgQ-SL-DOX (3')	83
Sukciny-(4-Hyp)ASChgQ-SThi-DOX (3')	84
PEG(4)-(4-Hyp)SSChgQ-SL-DOX (3')	85
PEG(2)-(4-Hyp)ASChgQ-SThi-DOX (3')	86
Sukciny-3,4-(diOH)PASChgQ-SL-DOX (3')	87
Malonyl-(4-Hyp)ASChgQ-SL-DOX (3')	88

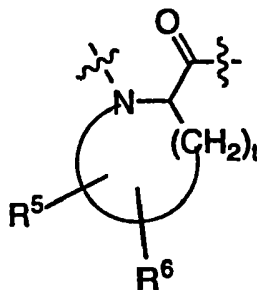
alebo ich optický izomér alebo ich farmaceuticky prijateľná soľ.

Konjugát oligopeptid-cytotoxický prostriedok podľa predkladaného vynálezu, v ktorom je cytotoxický prostriedok s výhodou vinblastín alebo desacetylvinblastín, môže byť opísaný všeobecným vzorcom II nižšie



kde

oligopeptidom je oligopeptid, ktorý je špecifický rozpoznávaný voľným antigénom špecifickým pre prostatu, PSA a ktorý je schopný proteolytického štiepenia enzymatickou aktivitou voľného antigénu špecifického pre prostatu a kde oligopeptid obsahuje cyklickú aminokyselinu vzorca



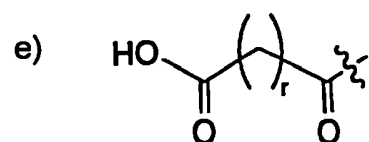
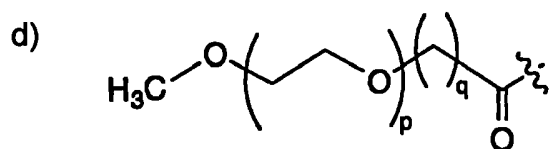
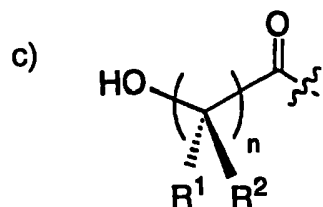
kde

X_L je -NH-(CH₂)_u-NH-

R je zvolené z

a) atóm vodíka,

b) $-(C=O)R^{1a}$,



R^1 a R^2 sú nezávisle zvolené zo skupiny: atóm vodíka, OH, C_1 - C_6 alkyl, C_1 - C_6 alkoxy, C_1 - C_6 aralkyl a aryl,

R^{1a} je C_1 - C_6 alkyl, hydroxylovaný aryl, polyhydroxylovaný aryl alebo aryl,

R^{19} je atóm vodíka, (C_1 - C_3 alkyl)-CO, alebo chlórsubstituovaný (C_1 - C_3 alkyl)-CO,

n je 1, 2, 3 alebo 4,

p je nula alebo celé číslo medzi 1 a 100,

q je 0 alebo 1, za predpokladu, že p je nula, q je 1,

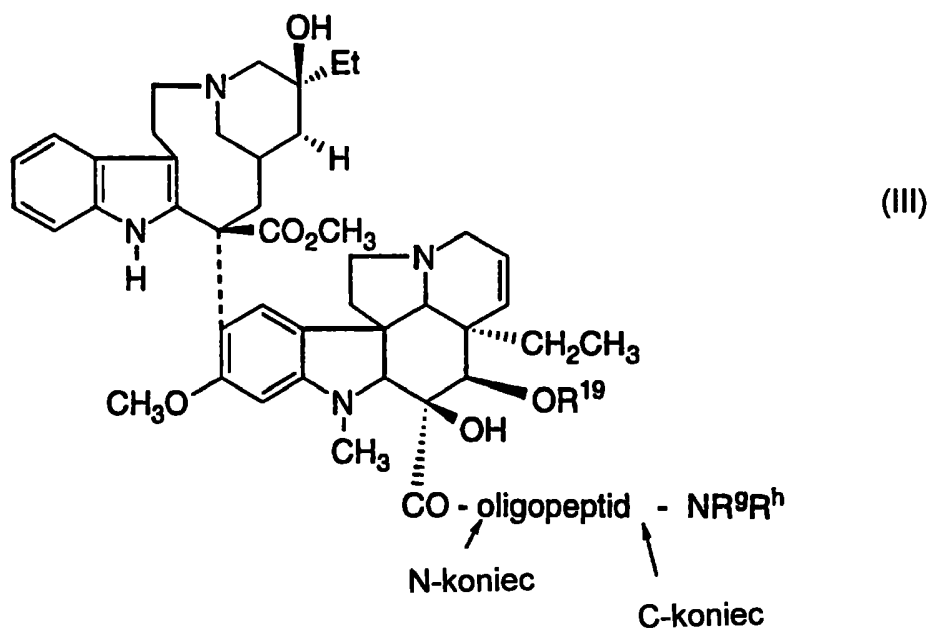
r je 1, 2 alebo 3,

t je 3 alebo 4

u je 1, 2, 3, 4 alebo 5,

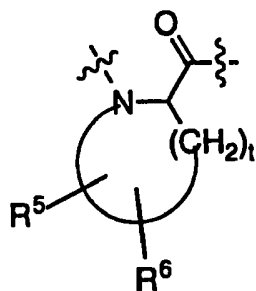
alebo ich farmaceuticky prijateľné soli.

Ďalšie uskutočnenie konjugátu oligopeptid-cytotoxický prostriedok podľa predkladaného vynálezu, kde cytotoxickým prostriedkom je výhodne vinblastín alebo desacetylvinblastín, môže byť opísané všeobecným vzorcom III

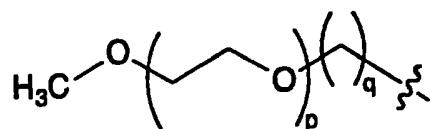


kde

oligopeptidom je oligopeptid, ktorý je špecifický rozpoznávaný voľným antigénom špecifickým pre prostatu, PSA a ktorý je schopný proteolytického štiepenia enzymatickou aktivitou voľného antigénu špecifického pre prostatu a kdeoligopeptid obsahuje cyklickú aminokyselinu vzorca



R^g a R^h sú nezávisle zvolené zo skupiny: atóm vodíka, C_1 - C_6 alkyl, $-C_1$ - C_6 alkyl-OH, $-C_1$ - C_6 alkyl-di-OH, $-C_1$ - C_6 alkyl-tri-OH a



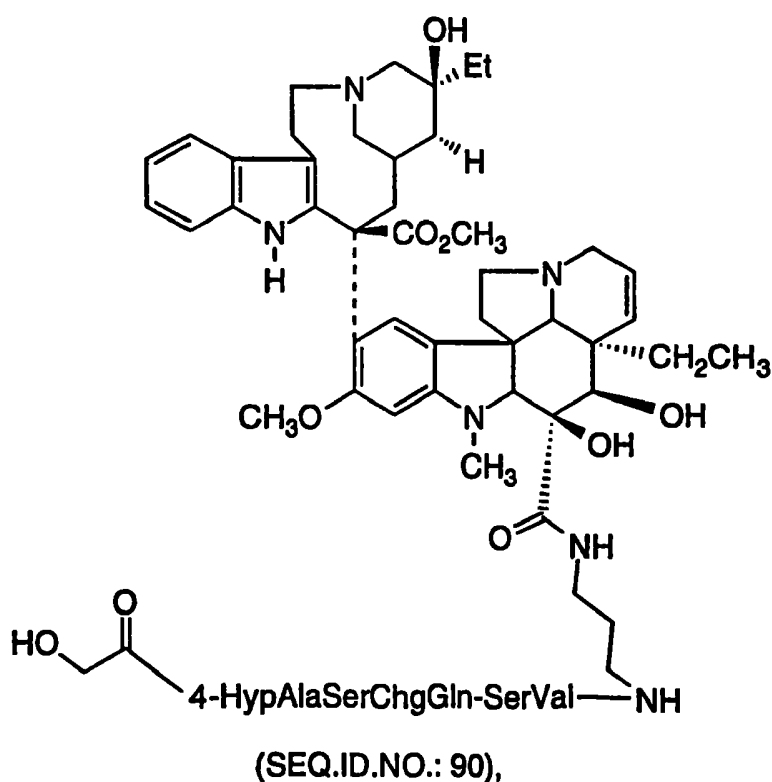
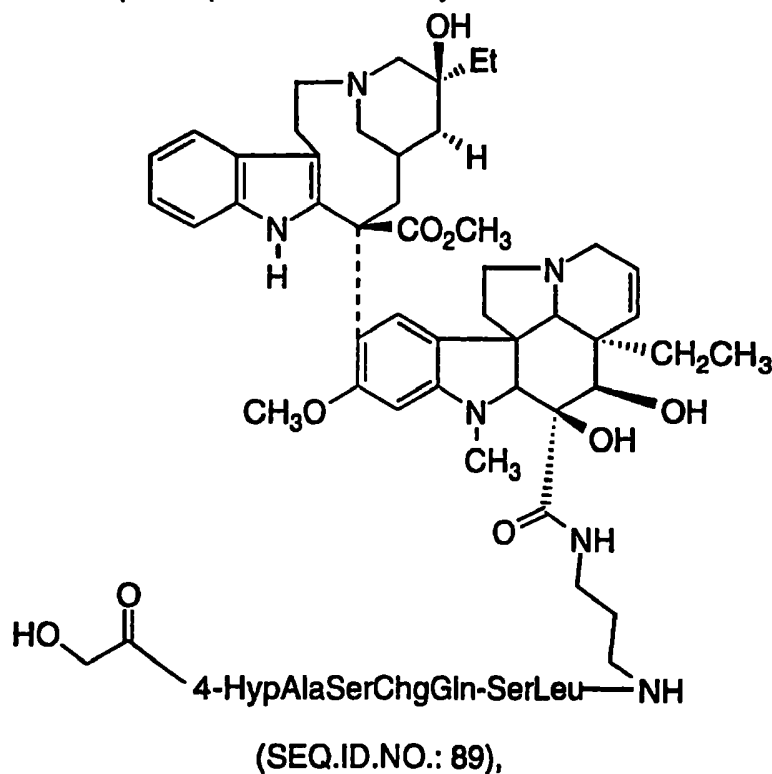
za predpokladu, že aspoň jedna zo skupín R^d a R^e nie je atóm vodíka alebo C_1 - C_6 -alkyl alebo

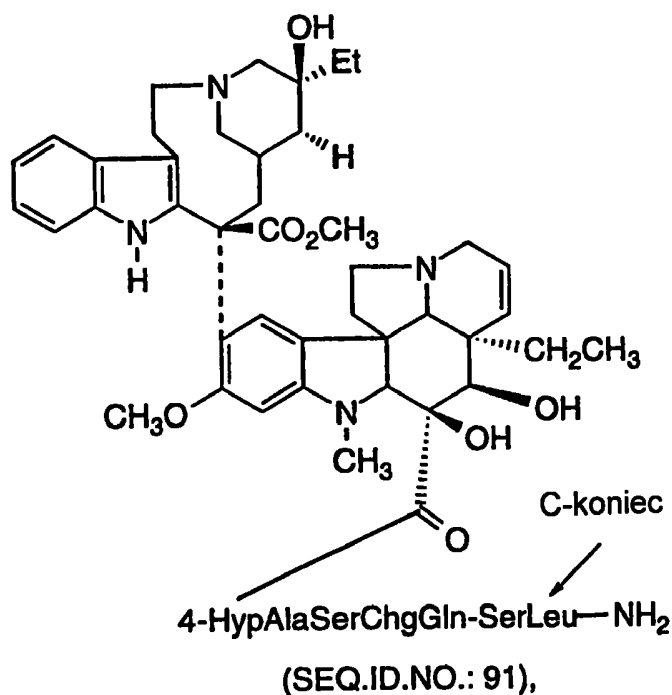
R^g a R^h sú spojené za vytvorenia diradikálu $-CH_2CH_2OCH_2CH_2-$,

R^{19} je atóm vodíka (C_1 - C_3 alkyl)-CO alebo chlórsubstituovaný (C_1 - C_3 alkyl)-CO,

p je nula alebo celé číslo medzi 1 a 100,
q je 0 alebo 1, za predpokladu, že p je nula, q je 1,
alebo ich farmaceuticky prijateľná soľ.

Nasledujúce zlúčeniny sú konkrétne príklady konjugátov oligopeptid-
desacetylvinblastín podľa predkladaného vynálezu:





alebo ich opticky izomér alebo farmaceuticky prijateľná soľ.

Oligopeptidy, peptidové podjednotky a deriváty peptidov (taktiež označované „peptidy“) podľa predkladaného vynálezu môžu byť syntetizované z jednotlivých aminokyselín bežnými spôsobmi syntézy peptidov, výhodne technológiou syntézy na tuhej fáze. Peptidy sa potom vyčistia vysokovýkonnou kvapalinovou chromatografiou na reverznej fáze (HPLC).

Štandardné spôsoby syntézy peptidov sú opísané napríklad v nasledujúcich prácach: Schroeder a ďalší, „The Peptides“, diel I, Academic Press 1965; Bodansky a ďalší, „Peptide Synthesis“, Interscience Publishers, 1966; McOmie (ed.), „Protective Groups in Organic Chemistry“, Plenum Press, 1973; Barany a ďalší, „The Peptides: Analysis, Synthesis, Biology“, 2, kapitola 1, Academic Press, 1980 a Stewart a ďalší, „Solid Phase Peptide Synthesis“, druhé vydanie, Pierce Chemical Company, 1984. Obsahy týchto prameňov sa týmto zaraďujú odkazom.

Vhodne substituovaná cyklická aminokyselina s hydrofilným substituentom, ktorá môže byť zaradená do opisovaných konjugátov štandardnými spôsobmi syntézy peptidov, je sama buď komerčne dostupná alebo môže byť ľahko syntetizovaná v danej oblasti techniky známymi spôsobmi. Syntézy vhodne substituovaných prolínov sa opisujú v nasledujúcich článkoch a citovaných referenciách: J. Ezquerra a ďalší J. Org. Chem., 60: 2925 až 2930 (1995); P. Gill a

W. D. Lubell, J. Org. Chem., 60: 2658 až 2859 (1995); a M. W. Holladay a ďalší, J. Med. Chem., 34: 457 až 461 (1991). Obsah týchto spisov sa týmto zaraďuje odkazom.

Farmaceuticky prijateľné soli zlúčenín podľa vynálezu zahrnujú bežné netoxické soli zlúčenín podľa vynálezu, ktoré sa tvoria napríklad z netoxických anorganických alebo organických kyselín. Medzi tieto bežné netoxické soli patria soli odvodené z anorganických kyselín, ako je kyselina chlorovodíková, bromovodíková, sírová, sulfámová, fosforečná, dusičná a podobne a soli vyrobené z organických kyselín ako je kyselina octová, propiónová, jantárová, glykolová, stearová, mliečna, jablčná, vinná, citrónová, askorbová, pamová, maleínová, hydroxymaleínová, fenyloctová, glutamová, benzoová, salicylová, sulfanilová, 2-acetoxybenzoová, fumarová, toluénsulfónová, metánsulfónová, etándisulfónová, šťavelová, izetiónová, trifluóroctová a podobne.

Konjugáty podľa predkladaného vynálezu, ktoré obsahujú oligopeptid so štiepiacim miestom PSA a cytotoxický prostriedok, môžu byť podobne syntetizované spôsobmi dobre známymi v danej oblasti lekárskej chémie. Napríklad voľná amínová skupina na cytotoxickom prostriedku môže byť kovalentne pripojená k oligopeptidu na karboxylovom konci, takže sa vytvorí amidová väzba. Podobne sa môže amidová väzba vytvoriť kovalentnou väzbou amínovej skupiny oligopeptidu a karboxylovej skupiny cytotoxického prostriedku. Na tieto účely je možné použiť látky ako je 2-(1H-benzotriazol-1-yl)-1,3,3-tetrametyluróniumhexafluórfosfát (známy ako HBTU) a 1-hydroxybenzotriazolhydrát (známy ako HOBt), dicyklohexylkarbodiimid (DCC), N-etyl-N-(3-dimetylamino)propylkarbodiimid (EDC), difenylfosforylazid (DPPA), benzotriazol-1-yl-oxy-tris-(dimetylamino)-fosfóniumhexafluórfosfát (BOP) a podobne, používaných jednotlivo alebo v kombinácii.

Predkladaný konjugát môže byť ďalej vytvorený nepeptidovou väzbou medzi štiepiacim miestom PSA a cytotoxickým prostriedkom. Cytotoxický prostriedok môže byť napríklad kovalentne pripojený ku karboxylovému koncu oligopeptidu cez hydroxylovú skupinu na cytotoxickom prostriedku za vytvorenia esterovej väzby. Na tento účel je možné použiť činidlá ako kombinácie HBTU a HOBt, kombinácie BOP a imidazolu, kombinácie DCC a DMAP a podobne. Karboxylovú kyselinu je tiež

možné aktivovať vytvorením nitrofenylového esteru a podobne a uskutočniť reakciu v prítomnosti DBU (1,8-diazabicyklo[5.4.0]undek-7-én).

Predkladaný konjugát môže byť tiež vytvorený naviazaním oligopeptidu na cytotoxický prostriedok pomocou linkera. Táto jednotka linkera je napríklad biskarbonylalkylový diradikál, pričom je amínová skupina cytotoxického prostriedku spojená s jednotkou linkera za vytvorenia amidovej väzby a amínový koniec oligopeptidu je pripojený na druhý koniec jednotky linkera, taktiež za vytvorenia amidovej väzby. Je tiež možné použiť diaminoalkyl diradikálovej jednotky linkera, kde je karbonylová skupina cytotoxického prostriedku kovalentne pripojená na jeden z amínov linkerovej jednotky, zatiaľ čo druhý amín jednotky linkera je kovalentne naviazaný na C-koniec oligopeptidu. Sú tiež možné aj iné jednotky linkerov stabilné k fyziologickému prostrediu, pokiaľ nie sú v prítomnosti voľnej PSA, ale odštiepiteľné po rozštiepení proteolytického štiepiaceho miesta PSA. Navyše môžu byť použité jednotky linkera, ktoré po odštiepení proteolytického štiepiaceho miesta PSA zostanú naviazané na cytotoxický prostriedok, ale významne neznižujú cytotoxickú aktivitu derivátu cytotoxického prostriedku vytvoreného štiepením v porovnaní s nemodifikovaným cytotoxickým prostriedkom.

Odborník v danej oblasti techniky bude rozumieť, že pri syntéze zlúčenín podľa vynálezu je v niektorých prípadoch potreba chrániť rôzne reaktívne funkčné skupiny na východiskových zlúčeninách a v medziproduktoch, pokiaľ sa na iných častiach molekuly uskutočňuje požadovaná reakcia. Po ukončení uskutočňovaných reakcií alebo v akomkoľvek vhodnom čase môžu byť normálne tieto ochranné skupiny odstránené napríklad hydrolýzou alebo hydrogenolýzou. Tieto kroky naviazania a odštiepenia ochranných skupín sú v organickej chémii bežné. Odborníka je možné odkázať na publikácie: *Protective Groups in Organic Chemistry*, McOmie ed., Plenum Press, NY, NY (1973); a *Protective Groups in Organic Synthesis*, Green, ed., John Wiley & Sons, NY, NY (1981), kde je možné nájsť ochranné skupiny, využiteľné pri príprave zlúčenín podľa predkladaného vynálezu.

Ako príklad využiteľných ochranných skupín aminoskupiny je možné uviesť napríklad skupiny C₁-C₁₀alkanoyl ako je formyl, acetyl, dichlóracetyl, propionyl, hexanoyl, 3,3-dietylhexanoyl, γ -chlórbutyl a podobne; skupiny C₁-C₁₀alkoxykarbonyl

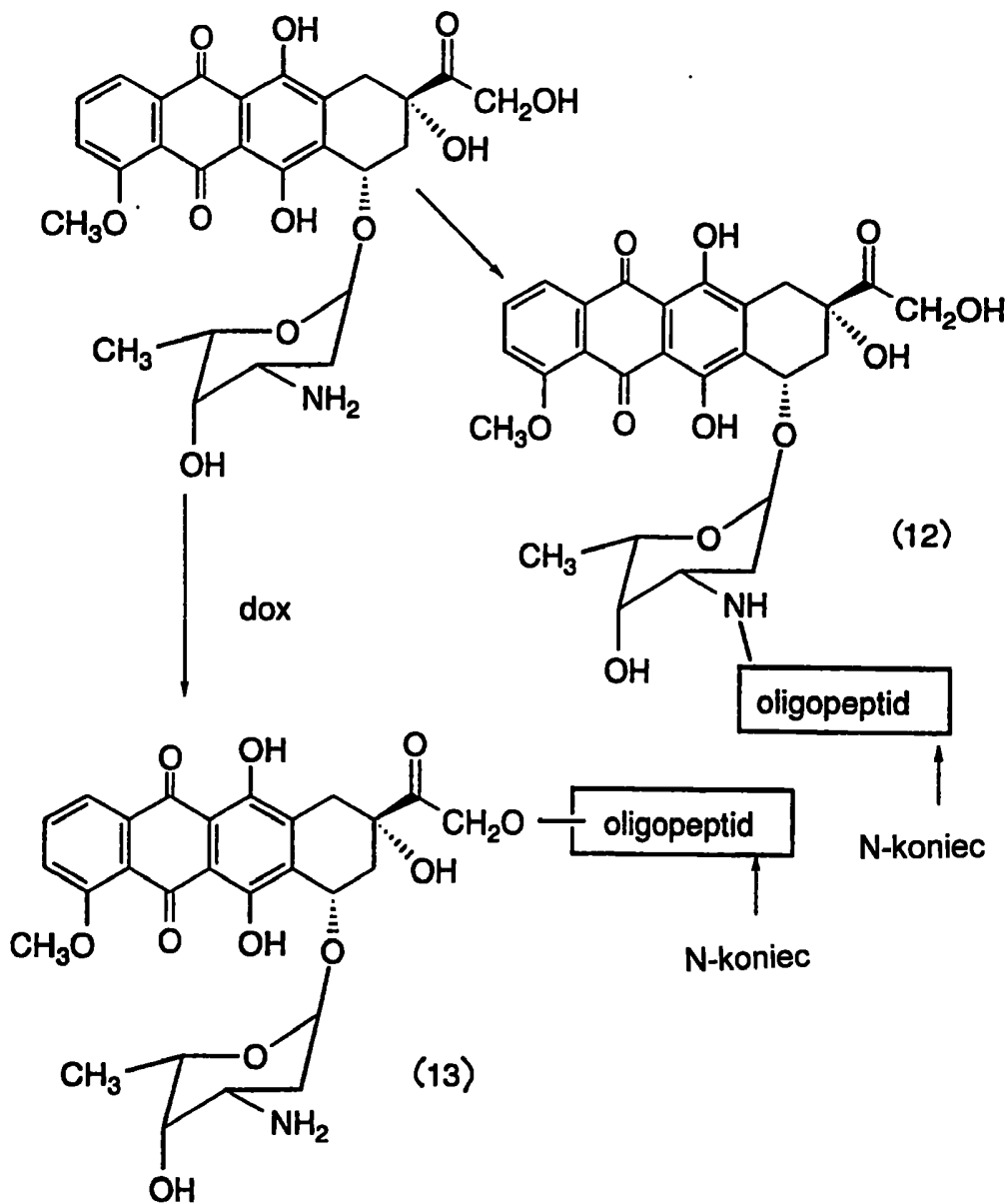
a C₅-C₁₅aryloxykarbonyl ako je terc-butylkarbonyl, benzyloxykarbonyl, alyloxykarbonyl, 4-nitrobenzyloxykarbonyl, fluorenylmetyloxykarbonyl a cinamoyloxykarbonyl; skupinu halogén-(C₁-C₁₀)alkoxykarbonyl ako je 2,2,2-trichlóretoxykarbonyl; a skupinu C₁-C₁₅arylalkyl a alkenyl ako je benzyl, fenetyl, alyl, trityl a podobne. Ďalšie bežne používané ochranné skupiny aminoskupín sú skupiny vo forme n-amínov pripravené s β-ketoestery ako je metyl- alebo etylacetoacetát.

Použiteľnými ochrannými skupinami karboxyskupín môžu byť napríklad C₁-C₁₀alkylové skupiny ako je metyl, terc-butyl, decyl; halogén-C₁-C₁₀alkyl ako je 2,2,2-trichlóretyl a 2-jódetyl; C₅-C₁₅arylalkyl ako je benzyl, 4-metoxibenzyl, 4-nitrobenzyl, trifenylmetyl, difenylmetyl, C₁-C₁₀alkanoyloxymetyl ako je acetoxymetyl, propiónoxymetyl a podobne; a skupiny ako je fenacyl, 4-halogénfenacyl, alyl, dimetylalyl, tri-(C₁-C₃alkyl)silyl ako je trimetylsilyl, β-p-toluénsulfonyletyl, β-p-nitrofenyltioetyl, 2,4,6-trimetylbenzyl, β-metyltioetyl, ftalimidometyl, 2,4-dinitrofenylsulfenyl, 2-nitrobenzhydryl a príbuzné skupiny.

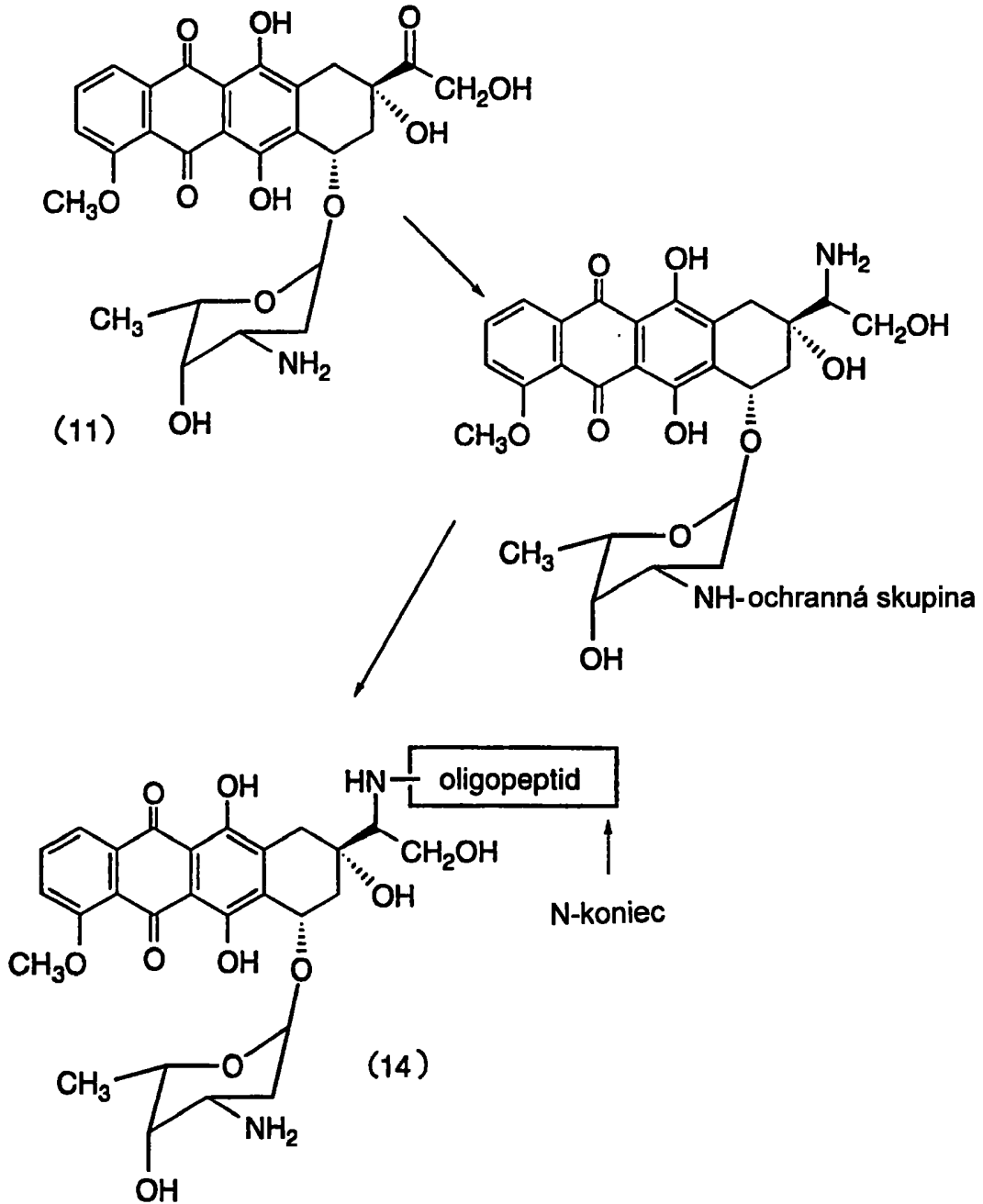
Použiteľné ochranné skupiny hydroxyskupín môžu napríklad zahrnovať skupinu formyl, chlóracetyl, benzyl, benzhydryl, trityl, 4-nitrobenzyl, trimetylsilyl, fenacyl, terc-butyl, metoxymetyl, tetrahydropyranyl a podobne.

Ako výhodne uskutočnenie oligopeptidu v kombinácii s antracyklínovým antibiotikom doxorubicín ilustrujú nasledujúce reakčné schémy na syntézu konjugátu podľa predkladaného vynálezu.

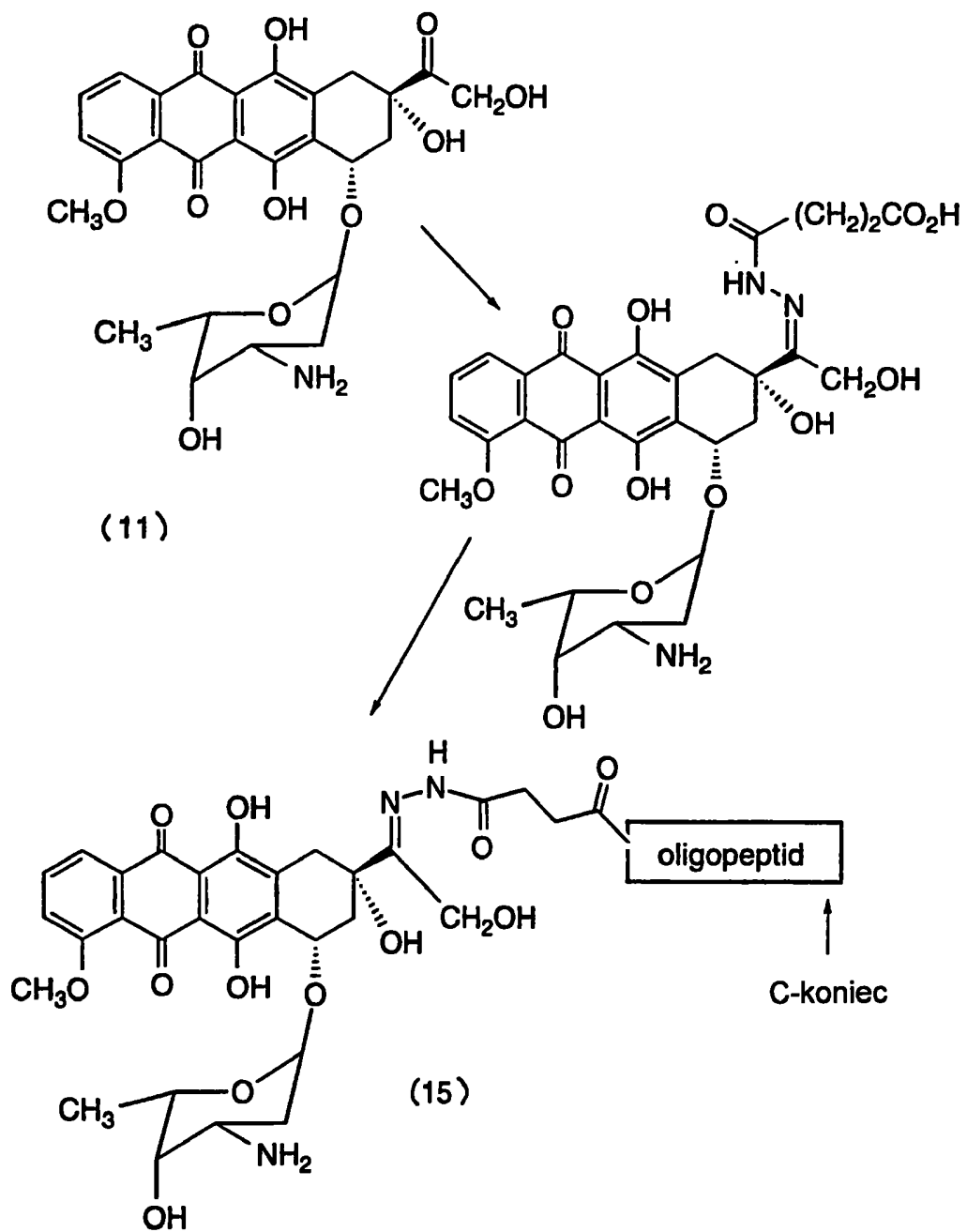
Reakčná schéma I



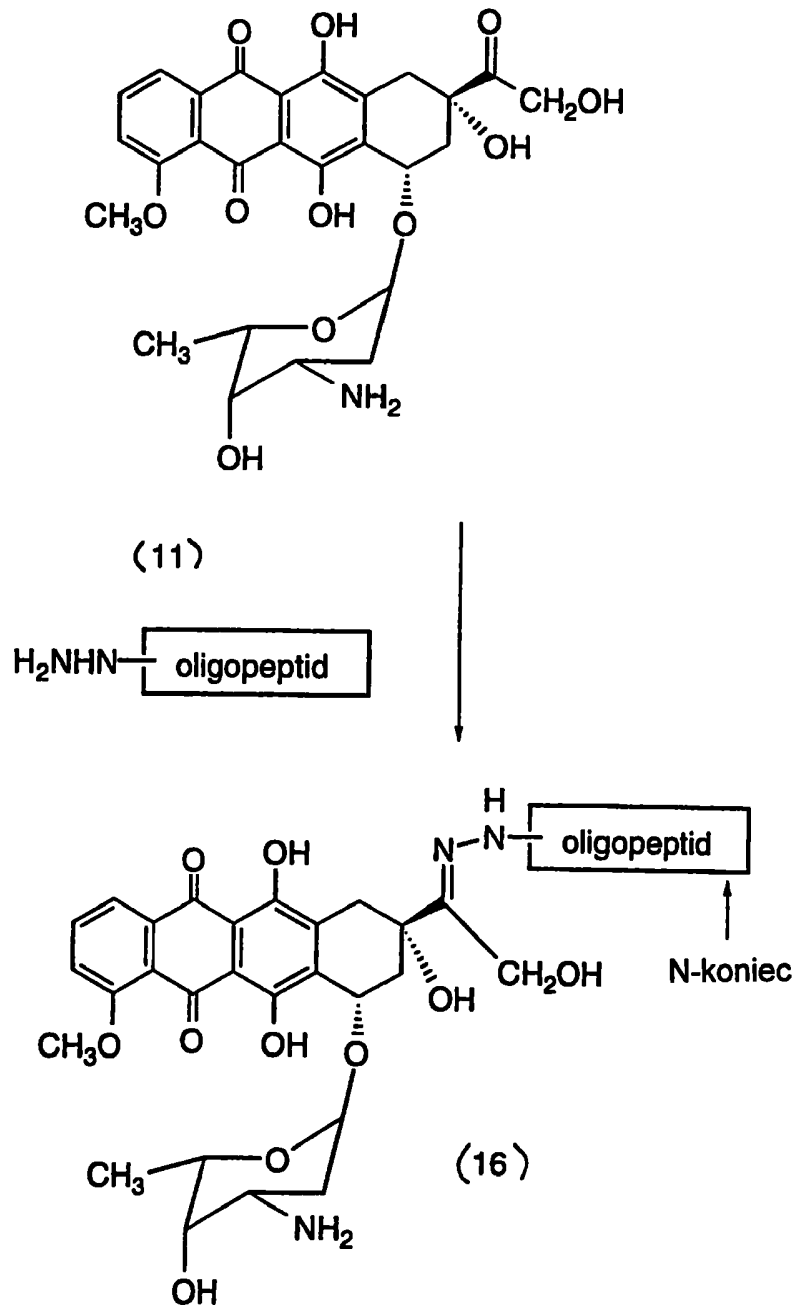
Reakčná schéma II



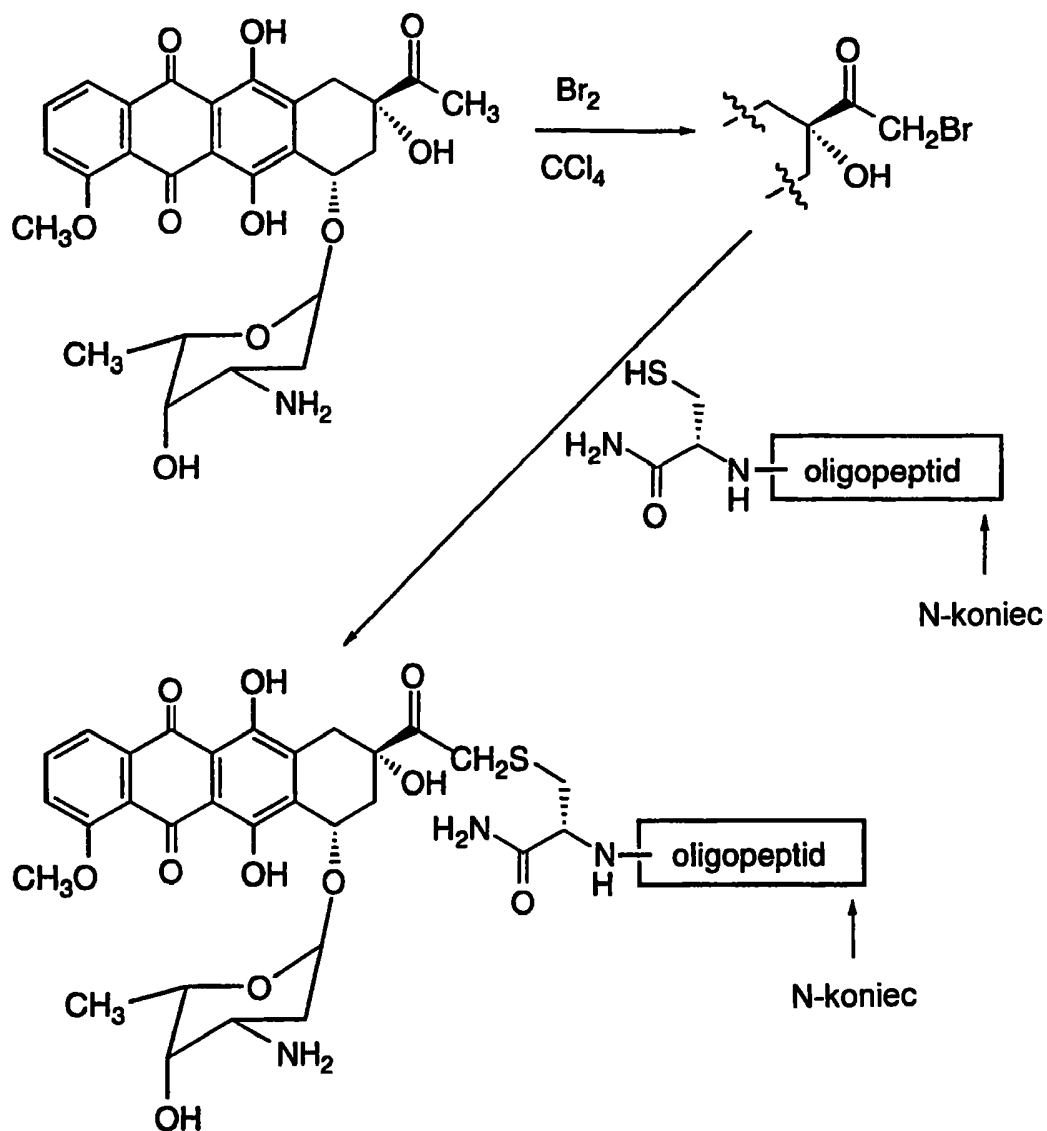
Reakčná schéma III



Reakčná schéma IV

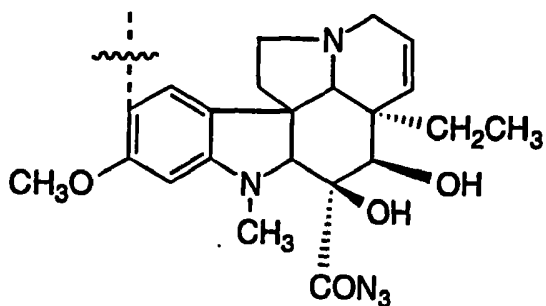
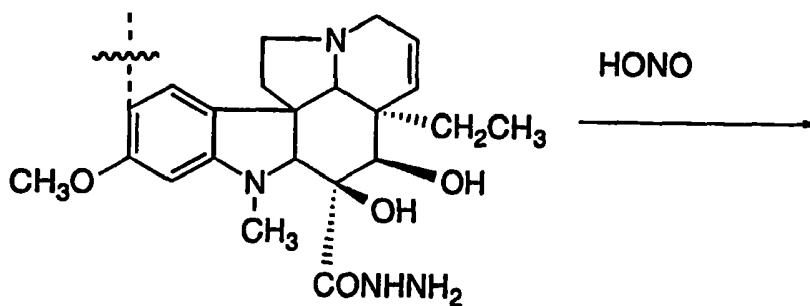
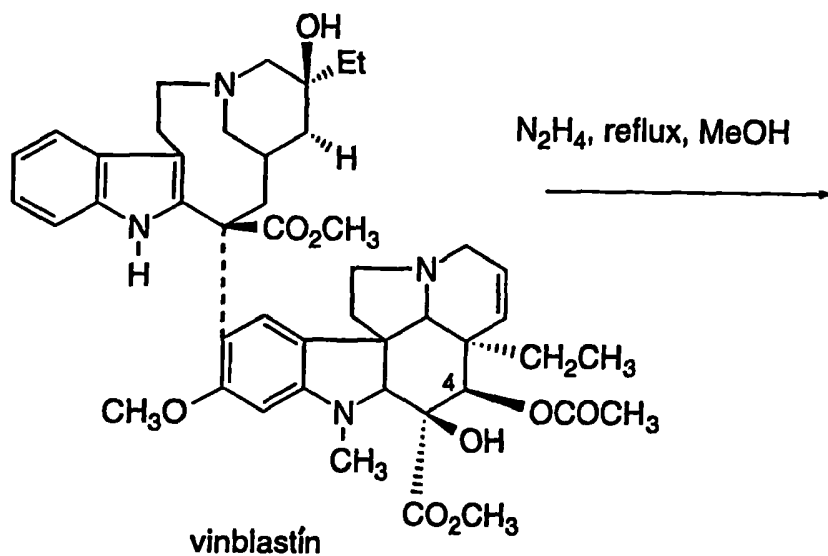


Reakčná schéma V

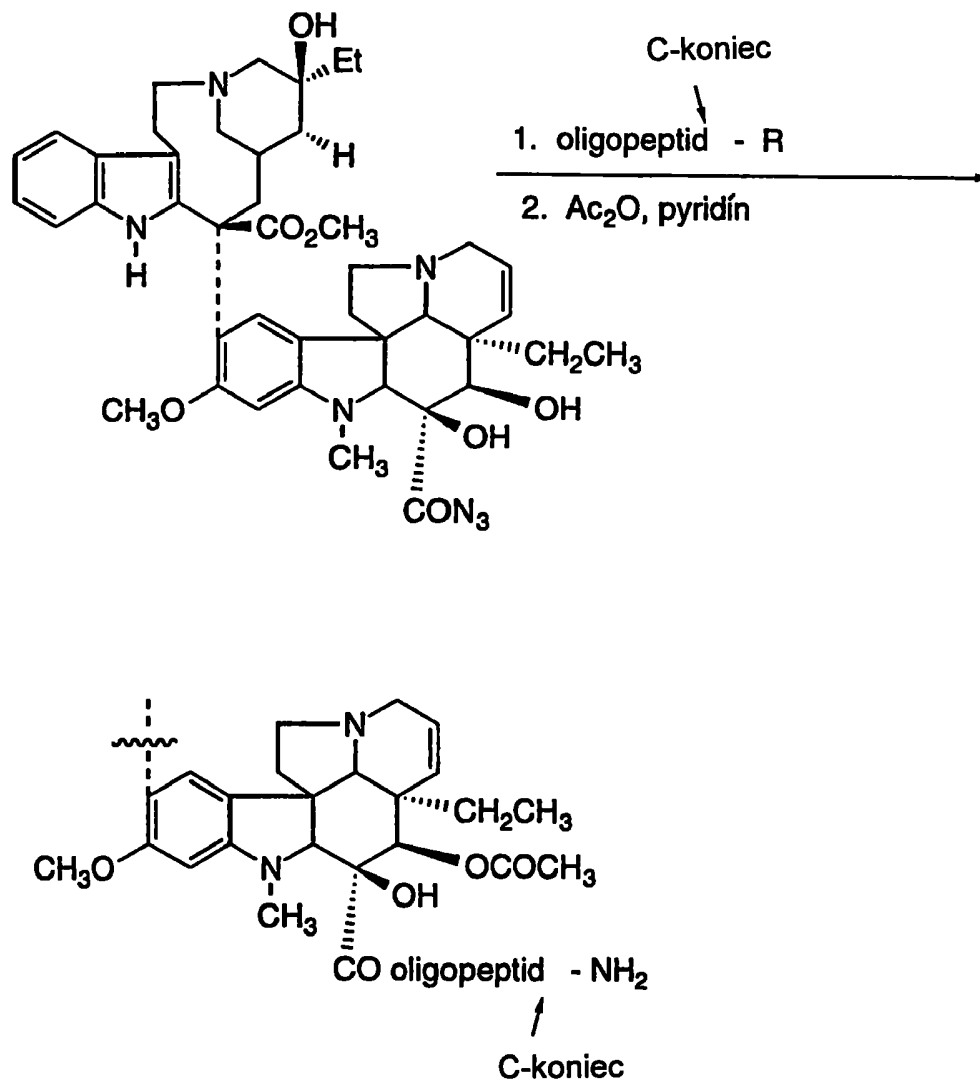


Reakčná schéma VI ilustruje výrobu konjugátov použitých v rámci predkladaného vynálezu, kde oligopeptidy sú kombinované s cytotoxickým prostriedkom vinblastinom zo skupiny alkaloidov vinca. Pripojenie N-konca oligopeptidu na vinblastín je ilustrované v práci (S. P. Kaukuri a ďalší, J. Med. Chem., 28: 1079 až 1088 (1985)).

Reakčná schéma VI



Reakčná schéma VI – pokračovanie



kde

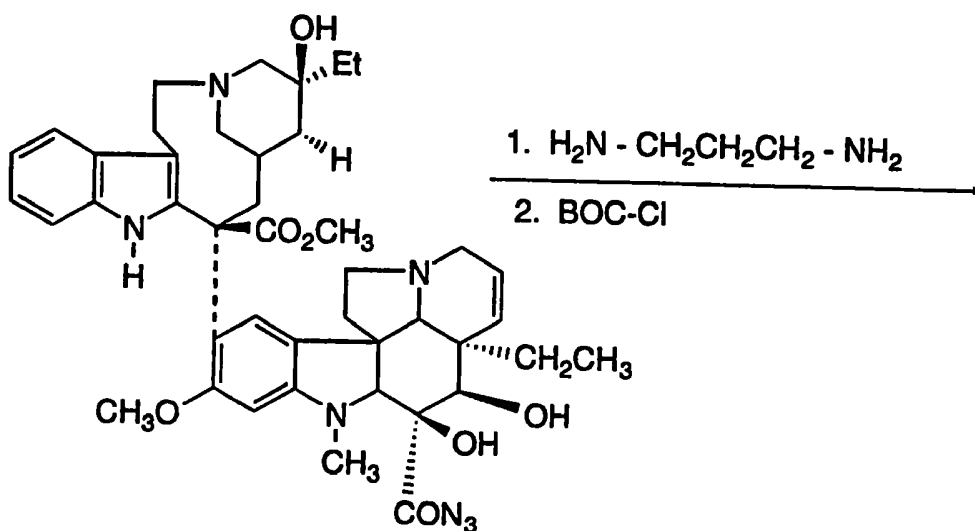
R znamená -NH₂, -O-alkyl a podobne.

Reakčná schéma VII ilustruje výrobu konjugátov oligopeptidov podľa predkladaného vynálezu a cytotoxického prostriedku vinblastínu zo skupiny alkaloidov vinca, pričom pripojenie vinblastínu je na C-koniec oligopeptidu. Použitie 1,3-diaminopropánového linkera je len ilustračné; je možné použiť aj iné oddeľovacie skupiny medzi karbonylom vinblastínu a C-koncom oligopeptidu. Schéma VII ďalej ilustruje syntézu konjugátov, kde hydroxylová skupina v polohe

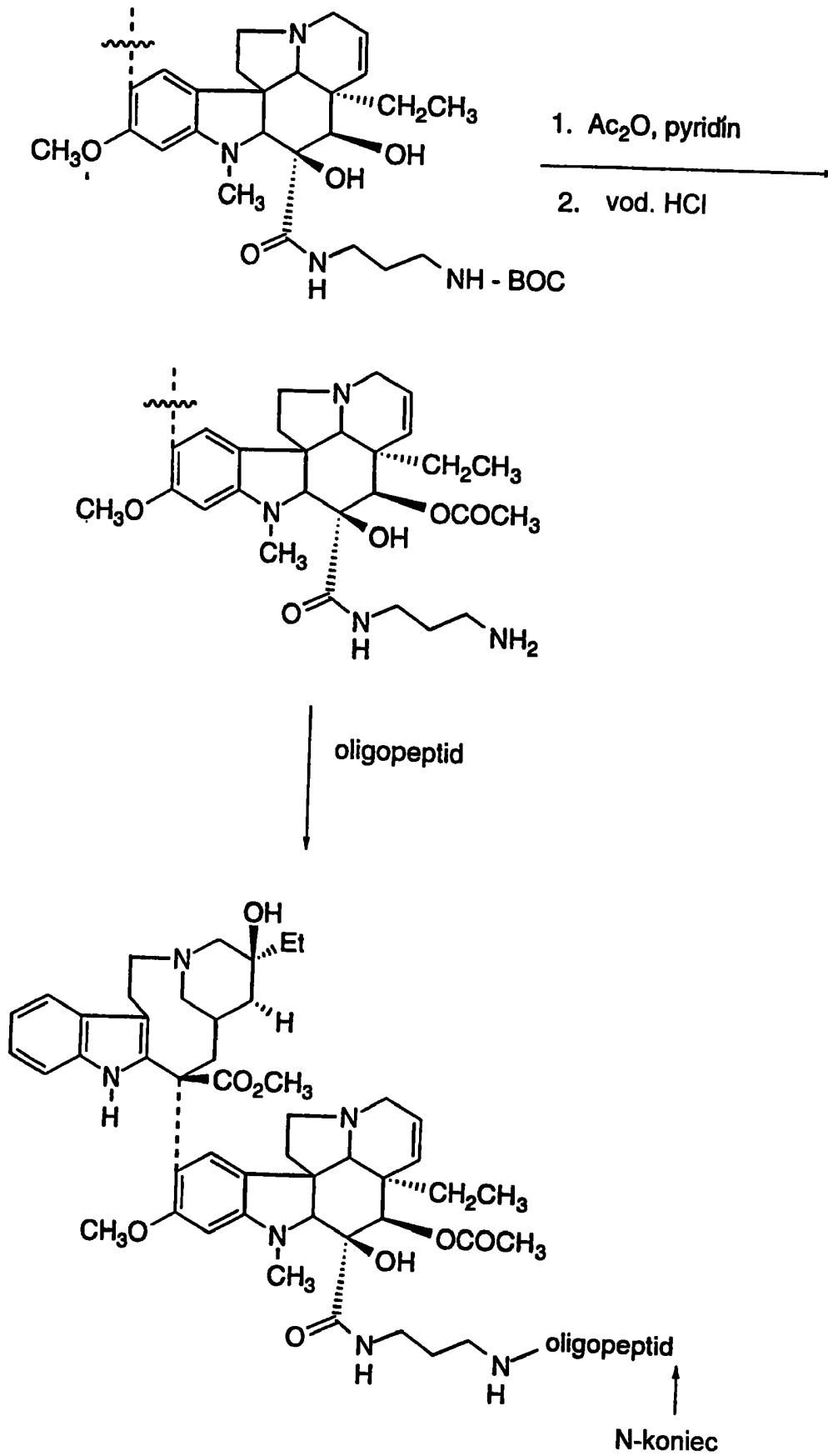
C-4 sa po prídavku linkerovej jednotky reacetyluje. Prihlasovatelia objavili, že desacetylvinblastínový konjugát je tiež účinný a môže byť vyrobený vynechaním krokov ukázaných v reakčnej schéme VII ochrany primárneho amínu linkera a reakciou medziproduktu s anhydridom kyseliny octovej s následným odstránením ochranej skupiny z amínu. Konjugácia oligopeptidu v iných polohách a funkčných skupinách vinblastínu môže byť odborníkom v danej oblasti techniky ľahko uskutočnená a pravdepodobne tiež poskytne zlúčeniny použiteľné pri liečbe rakoviny prostaty.

Rozumie sa tiež, že je možné pripraviť konjugáty, v ktorých N-koniec oligopeptidu, obsahujúci cyklickú aminokyselinu s hydrofilným substituentom používané pri spôsobe liečenia podľa vynálezu, sa kombinujú s cytotoxickým činidlom ako je vinblastín, zatiaľ čo C-koniec sa súčasne naviaže na iný cytotoxický prostriedok, ktorý môže byť rovnaký alebo rôzny, napríklad doxorubicín. Reakčná schéma VIII ilustruje syntézu takéhoto polycytotoxického konjugátu. Takýto polycytotoxický konjugát môže mať proti konjugátu, obsahujúcemu len jeden cytotoxický prostriedok výhody.

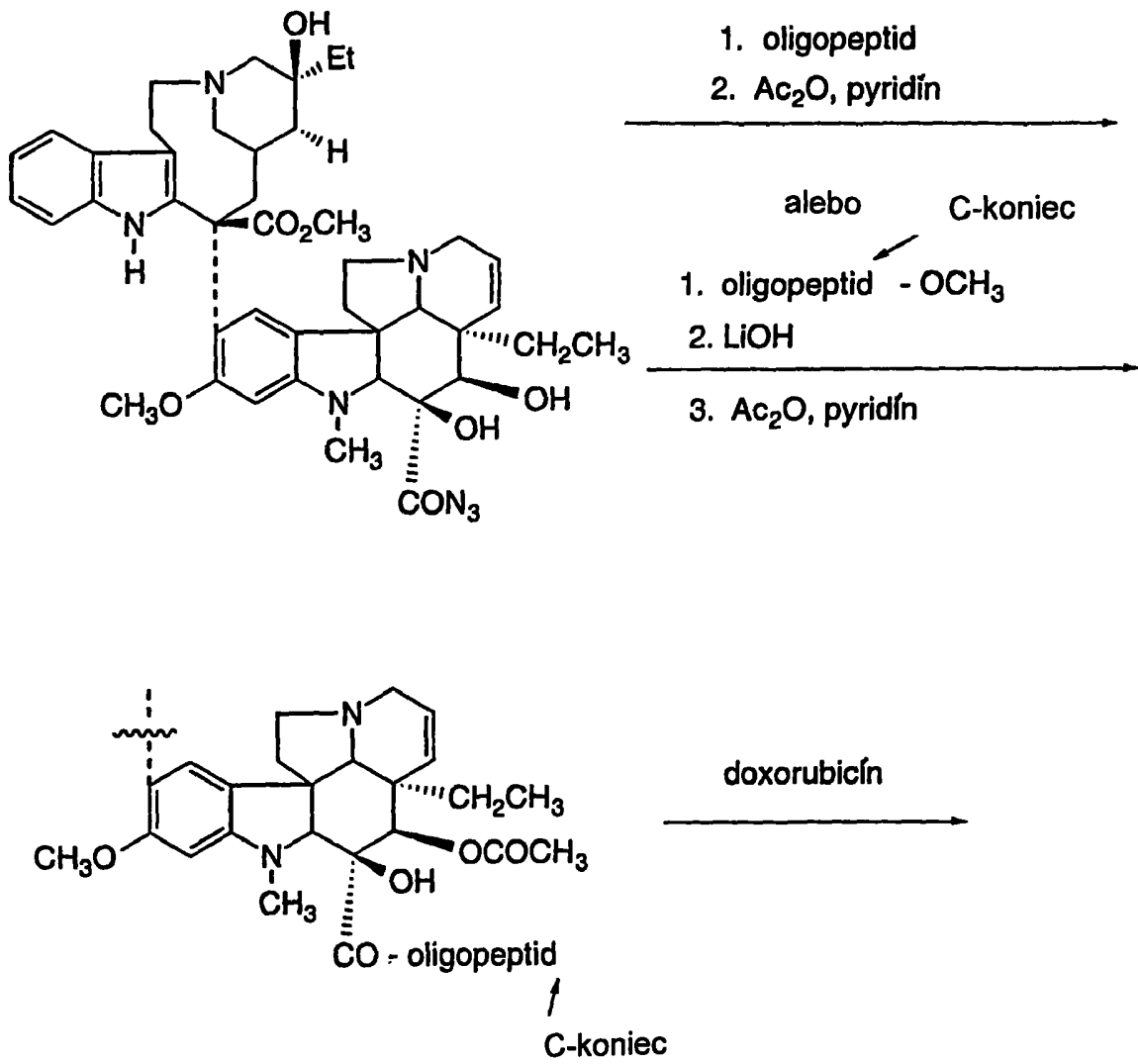
Reakčná schéma VII



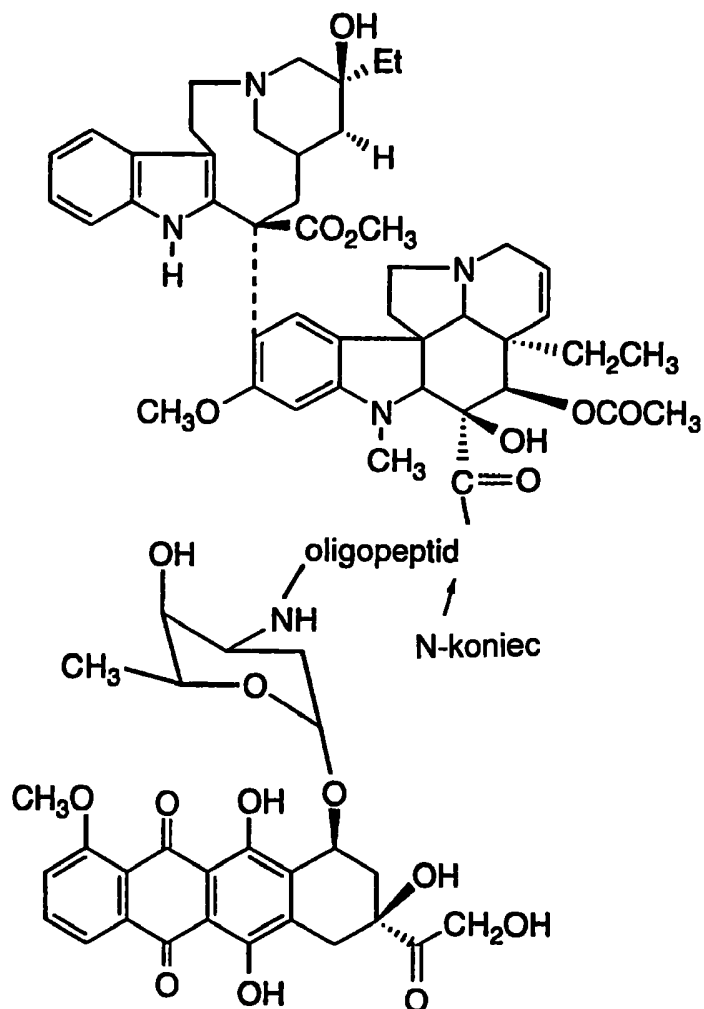
Reakčná schéma VII - pokračovanie



Reakčná schéma VIII



Reakčná schéma VIII – pokračovanie



Konjugáty oligopeptid-cytotoxický prostriedok sa podávajú pacientom vo forme farmaceutického prostriedku, ktorý obsahuje konjugát podľa predkladaného vynálezu a farmaceutický prijateľný nosič, excipient alebo diluent. Termín „farmaceuticky prijateľný“ označuje prostriedky, ktoré sú použiteľné pri liečení alebo diagnóze teplokrvných zvierat vrátane napríklad ľudí, ošípaných, hovädzieho dobytku, oviec, psov, mačiek alebo iných cicavcov, rovnako aj vtákov alebo iných teplokrvných zvierat. Výhodný spôsob podávania je parenterálny, najmä

intravenózne, intramuskulárne, subkutánne, intraperitonálne alebo intralymfatickou cestou. Tieto prostriedky môžu byť vyrobené s použitím nosičov, riedidiel alebo pomocných látok, ktoré sú v danej oblasti techniky bežné. V tomto ohľade pozri napríklad Remington's Pharmaceutical Sciences, 16th ed., 1980, Mack Publishing Company, ed. Osol a ďalší. Tieto prostriedky môžu obsahovať proteíny, ako sú sérové proteíny, napríklad ľudský sérový albumín, pufre alebo pufrajúce látky ako sú fosfáty, iné soli alebo elektrolyty a podobne. Vhodnými diluentami môžu byť napríklad sterilná voda, izotonický roztok, zriedený vodný roztok dextrózy, polyhydroxyalkohol alebo zmesi alkoholov ako je napríklad glycerol, propylénglykol, polyetylénglykol a podobne. Prostriedky môžu obsahovať ochranné látky ako fenetylalkohol, metyl a propylparabény, trimerosal a podobne. V prípade potreby môže prostriedok obsahovať približne 0,05 až približne 0,20 % hmotnostných antioxidantu ako je siričitan sodný alebo hydrogensiričitan sodný.

Ako sa tu používa termín „prostriedok“ má označovať produkt, obsahujúci špecifické zložky v špecifických množstvách rovnako ako akýkoľvek produkt, ktorý vznikne priamo alebo nepriamo kombináciou špecifických zložiek v špecifických množstvách.

Na intravenózne podanie bude prostriedok výhodne vyrobený tak, že množstvo podané pacientovi bude od približne 0,01 do približne 1 g konjugátu. Výhodne bude podané množstvo v rozmedzí od približne 0,2 g do približne 1 g konjugátu. Konjugáty podľa vynálezu sú účinné v širokom rozmedzí dávok v závislosti na faktoroch, ako je stav liečeného ochorenia alebo modifikovaný biologický účinok, spôsob podávania konjugátu, vek, hmotnosť a stav pacienta, rovnako ako iné faktory, ktoré môže určiť ošetrojúci lekár. Množstvo podané pacientovi musí teda byť určené individuálne.

Odborníkovi v danej oblasti techniky bude zrejmé, že hoci v nasledujúcich príkladoch sú uvedené konkrétne činidlá a reakčné podmienky, v rámci vynálezu sú zahrnuté aj rôzne modifikácie. Nasledujúce výroby a príklady sú preto poskytované na ďalšiu ilustráciu vynálezu a nie sú obmedzujúce.

Príklady uskutočnenia vynálezu

Príklad 1

Výroba oligopeptidov, obsahujúcich štiepiace miesto PSA

Technikou syntézy na tuhej fáze boli vyrobené blokované oligopeptidy s použitím protokolu dvojitej väzby na zavádzanie aminokyselín na automatickom peptidovom syntezeátore Applied Biosystems model 430A. Odstránenie ochranných skupín a oddelenie oligopeptidu zo živcového nosiča bolo uskutočnené pôsobením kvapalnej kyseliny fluorovodíkovej. Oligopeptidy boli čistené preparatívnou vysokotlakovou kvapalinovou chromatografiou na kolónach silikagélu s reverznou fázou C18 s použitím gradientu vodná 0,1% kyselina trifluóroctová/acetonitril. Identita a homogenita oligopeptidov bola potvrdená analýzou zloženia aminokyselín, vysokotlakovou kvapalinovou chromatografiou a hmotnostnou spektrálnou analýzou s bombardovaním rýchlymi atómami. Oligopeptidy pripravené týmto spôsobom sú uvedené v tabuľke 2.

SEQ.ID.No	Konjugát peptid/peptid-DOX	Čas pre 50% štiepenie substrátu PSA (min)
73	Ac-PSSCHgQ-SV-kyselina	120
74	Ac-PASCHgQ-SL-kyselina	150
75	Ac-(Dehydro-Pro)-ASCHgQ-SL-kyselina	3 h = 28 %
68	Ac-(4-trans-L-Hyp)ASCHgQ-SL-kyselina	75
76	Ac-(4-trans-L-Hyp)CHgQ-SSSL-kyselina	3 h = 0 %, n = 2
77	Ac-(4-trans-L-Hyp)ASCHgQ-SThi-kyselina	20
78	Ac-(4-trans-L-Hyp)ASChgQ-S(TIC)-kyselina	3 h = 16 %
68	PEG(2)-(4-trans-L-Hyp)-ASChgQ-SL-kyselina	3 h = 44 %

4-trans-L-Hyp je *trans*-4-hydroxy-L-prolín

Dehydro-Pro je 3,4-dehydro-L-prolín

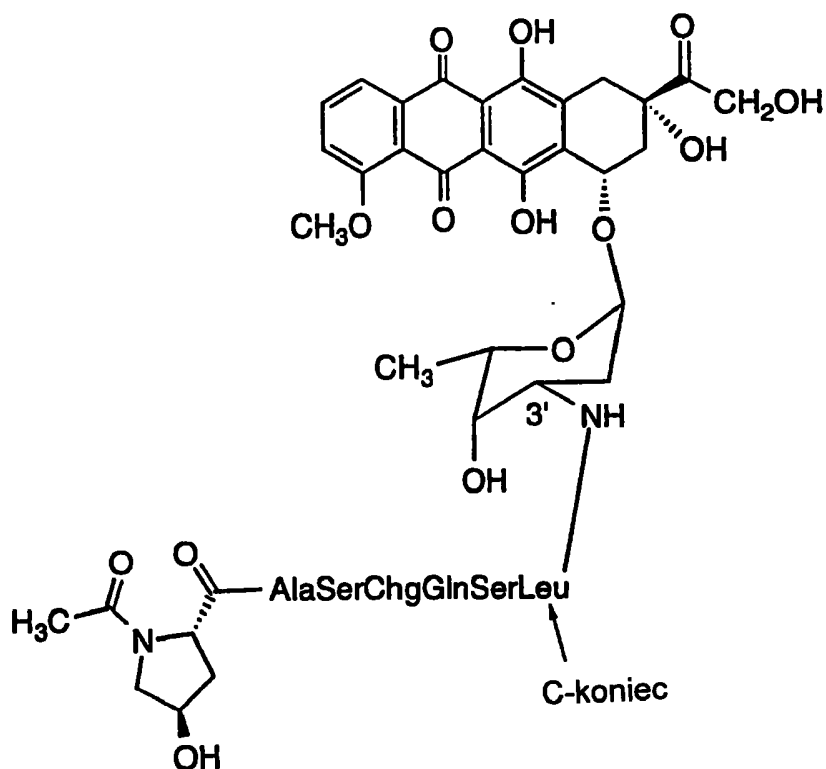
Príklad 2

Testovanie rozpoznávania oligopeptidu voľným PSA

Oligopeptidy vyrobené ako bolo opísané v príklade 1, boli jednotlivito rozpustené v štiepiacom pufrí PSA (12 mM tri(hydroxymetyl)aminometán pH 8,0, 25 mM NaCl, 0,5 mM CaCl₂) a roztok bol pridaný k PSA v molárnom pomere 100:1. Alternatívne bol použitý štiepiaci pufr PSA, obsahujúci 50 mM tri(hydroxymetyl)aminometán pH 7,4, 140 mM NaCl. Reakcia sa zastavuje po rôznych reakčných časoch prídavkom kyseliny trifluóroctovej (TFA) na konečnú koncentráciu 1 % (obj.). Alternatívne sa reakcia ukončí 10 mM ZnCl₂. Zastavená reakcia sa analyzuje HPLC na kolóne s reverznou fázou C18 použitím gradientu vodná 0,1% TFA/acetonitril. Výsledky stanovenia sú uvedené v tabuľke 2. Tabuľka 2 ukazuje dobu (v min) nutnú na 50% štiepenie uvedených oligopeptidov enzymaticky aktívnym voľným PSA. Oligopeptidy, obsahujúce voľné aminové skupiny (t.j. obsahujúce hArg, Orn, Lys a/alebo 3/AL) boli testované ako soli TFA. Všetky ostatné oligopeptidy boli testované ako neutrálne zlúčeniny.

Príklad 3

Výroba [N-Ac-(4-trans-L-Hyp)]-Ala-Ser-Chg-Gln-Ser-Leu-Dox (SEQ.ID.No. 68)



Krok A: [N-Ac-(4-trans-L-Hyp(Bzl))]-Ala-Ser(Bzl)Chg-Gln-Ser(Bzl)Leu-
živica PAM (3-1)

Z východiskových 0,5 mmol (0,67 g) živice Boc-Leu-PAM, bol syntetizovaný chránený peptid na syntezátore peptidov 430A ABI. V použítom protokole bol štvornásobný prebytok (2 mmol) každej z nasledujúcich chránených aminokyselín: Boc-Ser(Bzl), Boc-Gln, Boc-Chg, Boc-Ala, N-Boc-(4-trans-L-Hyp(Bzl)). Väzba bola dosiahnutá použitím aktivácie DCC a HOBT v metyl-2-pyrrolidinóne. Po zavedení N-koncovkej acetylovej skupiny bola použitá kyselina octová. Odstránenie skupiny Boc bolo uskutočnené s použitím 50% TFA v metylénchloride a TFA soľ bola neutralizovaná diizopropyletylamínom. Pri ukončení syntézy bola peptidová živica usušená za získania medziproduktu 3-1.

Krok B: [N-Ac-(4-trans-L-Hyp))]-Ala-Ser-Chg-Gln-Ser-Leu-OH (3-2)

Chránená peptidová živica (3-1), 1,2 g bola zmiešaná s HF (20 ml) na 1 hodinu pri 0 °C v prítomnosti anizolu (2 ml). Po odparení HF bol zvyšok premytý éterom, prefiltrovaný a extrahovaný H₂O (200 ml). Filtrát bol lyofilizovaný za získania medziproduktu 3-2.

Krok C: [N-Ac-4-trans-L-Hyp]-Ala-Ser-Chg-Gln-Ser-Leu-Dox

Vyššie opísaný medziprodukt (3-2), 1,157 g (1,45 mmol) bol rozpustený v DMSO (30 ml) a zriedený DMF (30 ml). K roztoku bol pridaný hydrochlorid doxorubicínu, 516 mg (0,89 mmol) a potom 0,310 ml diizopropyletylamínu (1,78 mmol). Miešaný roztok bol ochladený (0 °C) a bolo pridaných 0,278 ml difenylfosforylazidu (1,28 mmol). Po 30 minútach bolo pridaných ďalších 0,278 ml (1,28 mmol) DPPA a pH bolo upravené na približne -7,5 (pH papierikom) diizopropyletylamínom (DIEA). pH ochladenej reakčnej zmesi (0 °C) bolo udržiavané na približne na približne -7,5 pomocou DIEA ďalšie 3 hodiny a reakčná zmes bola miešaná pri 0 °C cez noc. Po 18 hodinách bola reakčná zmes (ukončenie

reakcie zistené analytickou HPLC, systém A), zakoncentrovaná na olej. Čistenie surového produktu bolo uskutočnené preparatívnou HPLC, pufor A = 0,1 % NH₄OAc-H₂O; B = CH₃CN. Surový produkt bol rozpustený v 400 ml 100% pufru A, prefiltrovaný a čistený na HPLC na C-18 s reverznou fázou na kolóne s radiálnym stlačením (Waters, Delta-Pak, 15 μM, 100 Å). Bol použitý stupňovitý gradient 100 % A až 60 % A s prietokom 75 ml/minútu (UV = 214 nm). Homogénne frakcie produktu (vyhodnotené HPLC, systém A) boli spojené a lyofilizované. Produkt bol rozpustený v H₂O (300 ml), prefiltrovaný a lyofilizovaný za získania purifikovanej v názve uvedenej zlúčeniny.

Podmienky HPLC, systém A

Kolóna: Vydac 15 cm #218TP5415, C 18
Eluent: Gradient 95:5 (A:B) až 5:95 (A:B) počas 45 minút A=0,1 % TFA/H₂O, B=0,1 % TFA/acetonitril
Prietok: 1,5 ml/minútu
Vlnová dĺžka: 214 nm, 254 nm
Retenčné časy: doxorubicín = 13,66 min
Ac-Hyp-Ala-Ser-Chg-Gln-Ser-Leu-OH = 10,8 min
Ac-Hyp-Ala-Ser-Chg-Gln-Ser-Leu-Dox = 18,2 min

Fyzikálne vlastnosti

Fyzikálno-chemické vlastnosti produktu z kroku C sú ukázané nižšie:

Molekulový vzorec: C₆₂H₈₅N₉O₂₃

Molekulová hmotnosť: 1323,6

ES hmotnostná spektroskopia s vysokým rozlíšením: 1341,7 (NH₄⁺)

HPLC: Systém A

Kolóna: Vydac 15 cm #218TP5415, C 18
Eluent: Gradient 95:5 (A:B) až 5:95 (A:B) počas 45 minút A=0,1 % TFA/H₂O, B=0,1 % TFA/acetonitril
Prietok: 1,5 ml/minútu
Vlnová dĺžka: 214 nm, 254 nm
Retenčný čas: doxorubicín = 18,2 min

Analyza aminokyselinového zloženia¹:

Teória	Nájdene
Ala (1)	1,00
Ser(2)	1,88
Chg (1)	0,91
Gln ² (1)	1,00 (ako Glu)
Hyp (1)	0,80
Leu (1)	1,01
Obsah peptidu:	0,657 $\mu\text{mol/mg}$

Pozn.: ¹20 hod, 100 °C, 6N HCl

²Gln premenený na Glu

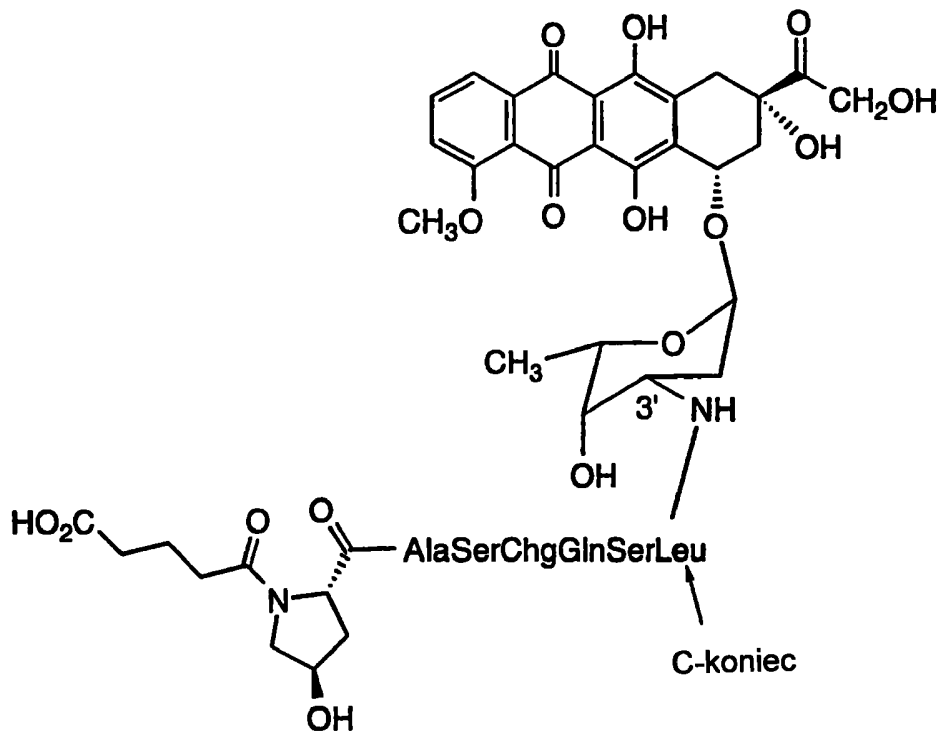
Tabuľka 3 ukazuje ďalšie konjugáty peptid-doxorubicín, ktoré boli pripravené postupmi opísanými v príklade 3, ale s použitím vhodných zvyškov aminokyselín a acylácie blokovacej skupiny.

Tabuľka 3

SEQ.ID.No	Konjugát peptid/peptid-DOX	Čas pre 50% štípenie PSA (min)
89	Ac-(4-trans-L-Hyp)ASChgQ-S ^{Thi} -DOX (3')	nerozpustný
74	Ac-(4-trans-L-Hyp)ASChgQ-S ^{Bu} Ala-DOX (3')	25
73	PEG(2)-(4-trans-L-Hyp)ASChgQ-S ^L -DOX (3')	20
68	Ac-(4-tarns-L-Hyp)ASChgQ-L-DOX (3')	20

Príklad 4

Výroba [N-glutaryl-(4-trans-L-Hyp)]-Ala-Ser-Chg-Gln-Ser-Leu-Dox (SEQ.ID.No.: 71)



Krok A: [N-glutaryl(OFm)-(4-trans-L-Hyp)]-Ala-Ser-Chg-Gln-Ser-Leu-
živica PAM

Zo živice 0,5 mmol (0,67 g) Boc-Leu-PAM bol syntetizovaný chránený peptid na peptidovom syntezátore 430A ABI. V protokole sa používal štvornásobný prebytok (2 mmol) každej z nasledujúcich chránených aminokyselín: Fmoc-Ser(tBu), Fmoc-Gln(Trt), Fmoc-Chg, Fmoc-Ala, Boc-(4-trans-L-Hyp). Väzba bola uskutočnená aktiváciou pomocou DCC a HOBT v metyl-2-pyrrolidinóne. Medziprodukt mono-fluorenylmetyléster kyseliny glutarovej [glutaryl(OFm)] bol použitý na zavedenie N-koncovkej glutarylovej skupiny. Odstránenie skupiny Fmoc bol vykonané 20% piperidínom. Ochranné skupiny citlivé na kyseliny, Boc, Trt a tBu, boli odstránené 50% TFA v metylénchloride. Neutralizácia soli TFA bola uskutočnená diizopropyl-etylamiénom. Pri ukončení syntézy bola peptidová živica usušená za získania v názve uvedenej zlúčeniny.

Krok B: [N-Glutaryl(OFm)-(4-trans-L-Hyp)]-Ala-Ser-Chg-Gln-Ser-Leu-OH

Chránená peptidová živica z kroku 1, 1,2 g, bola ponechaná reagovať s HF (20 ml) 1 h pri 0 °C v prítomnosti anizolu (2 ml). Po odparení HF bol zvyšok premytý éterom, prefiltrovaný a extrahovaný DMF. Filtrát DMF (75 ml) bol zakoncentrovaný do sucha a rozotrený s H₂O. Nerozpustný produkt bol prefiltrovaný a sušený za získania v názve uvedenej zlúčeniny.

Krok C: [N-Glutaryl(OFm)-(4-trans-L-Hyp)]-Ala-Ser-Chg-Gln-Ser-Leu-Dox

Medziprodukt pripravený vyššie v kroku B (1,33 g, 1,27 mmol) bol rozpustený v DMSO (6 ml) a DMF (69 ml). K roztoku bol pridaný hydrochlorid doxorubicínu, 599 mg (1,03 mmol) nasledovaný 376 µl diizopropyletylamínu (2,16 mmol). Miešaný roztok bol ochladený (0 °C) a bolo pridaných 324 µl difenylfosforylazidu (2,16 mmol). Po 30 minútach bolo pridaných ďalších 324 µl DPPA a pH bolo nastavené na približne 7,5 (pH papierik) diizopropyletylamínom (DIEA). pH ochladenej reakčnej zmesi (0 °C) bolo udržiavané na približne 7,5 DIEA ďalšie 3 hodiny a reakčná zmes bola miešaná pri 0 až 4 °C cez noc. Po 18 hodinách bola reakčná zmes (ukončenie reakcie potvrdené analytickou HPLC, systém A) zakoncentrovaný za získania v názve uvedenej zlúčeniny ako oleja.

Krok D: [N-Glutaryl-(4-trans-L-Hyp)]-Ala-Ser-Chg-Gln-Ser-Leu-Dox

Vyššie opísaný produkt z kroku C bol rozpustený v DMF (54 ml), ochladený na 0 °C a bolo pridaných 14 ml piperidínu. Roztok bol koncentrovaný do sucha a čistený preparatívnou HPLC (A = 0,1 % NH₄OAc-H₂O; B = CH₃CN). Surový produkt bol rozpustený v 100 ml 80% pufru A, prefiltrovaný a čistený na kolóne C-18 s reverznou fázou HPLC s radiálnym stlačením (Waters, Delta-Pak, 15 µM, 100 Å). Bol použitý stupňovitý gradient 80 % A až 67 % A s prietokom 75 ml/minútu (UV = 214 nm). Homogénne frakcie produktu (vyhodnotené HPLC, systém A) boli spojené a lyofilizované. Produkt bol ďalej čistený na vyššie uvedenej kolóne HPLC. Pufor A

= 15% kyselina octová-H₂O; B = 15% kyselina octová-metanol. Produkt bol rozpustený v 100 ml 20 % B/80 % pufru A a čistený. Bol použitý gradient 20 % B až 80 % B s prietokom 75 ml/minútu (UV = 260 nm). Homogénne frakcie produktu (vyhodnotený HPLV, systém A) boli spojené, koncentrované a lyofilizované z H₂O za získania v názve uvedenej zlúčeniny.

Podmienky HPLC, systém A

Kolóna: Vydac 15 cm #218TP5415, C 18
Eluent: Gradient 95:5 (A:B) až 5:95 (A:B) počas 45 minút A=0,1 % TFA/H₂O, B=0,1 % TFA/acetonitril
Prietok: 1,5 ml/minútu
Vlnová dĺžka: 214 nm, 254 nm
Retenčné časy: doxorubicín = 13,66 min
[N-Glutaryl(OFm)-(4-trans-L-Hyp)]-Ala-Ser-Chg-Gln-Ser-Leu-OH = 19,66 min
[N-Glutaryl(OFm)-(4-trans-L-Hyp)]-Ala-Ser-Chg-Gln-Ser-Leu-Dox = 24,8 min
[N-Glutaryl-(4-trans-L-Hyp)]-Ala-Ser-Chg-Gln-Ser-Leu-Dox = 18,3 min

Hmotnostná spektroskopia ES s vysokým rozlíšením: 1418,78 (Na⁺)

HPLC: Systém A

Kolóna: Vydac 15 cm #218TP5415, C 18
Eluent: Gradient 95:5 (A:B) až 5:95 (A:B) počas 45 minút A=0,1 % TFA/H₂O, B=0,1 % TFA/acetonitril
Prietok: 1,5 ml/minútu
Vlnová dĺžka: 214 nm, 254 nm
Retenčný čas: 18,3 min

Analýza aminokyselinového zloženia¹:

Teória	Nájdene
Ala (1)	0,99
Ser(2)	2,02
Chg (1)	1,00

Gln ² (1)	1,01 (ako Glu)
Hyp (1)	0,99
Leu (1)	1,00
Obsah peptidu:	0,682 µmol/mg

Pozn.: ¹20 hod, 100 °C, 6N HCl

²Gln premenený na Glu

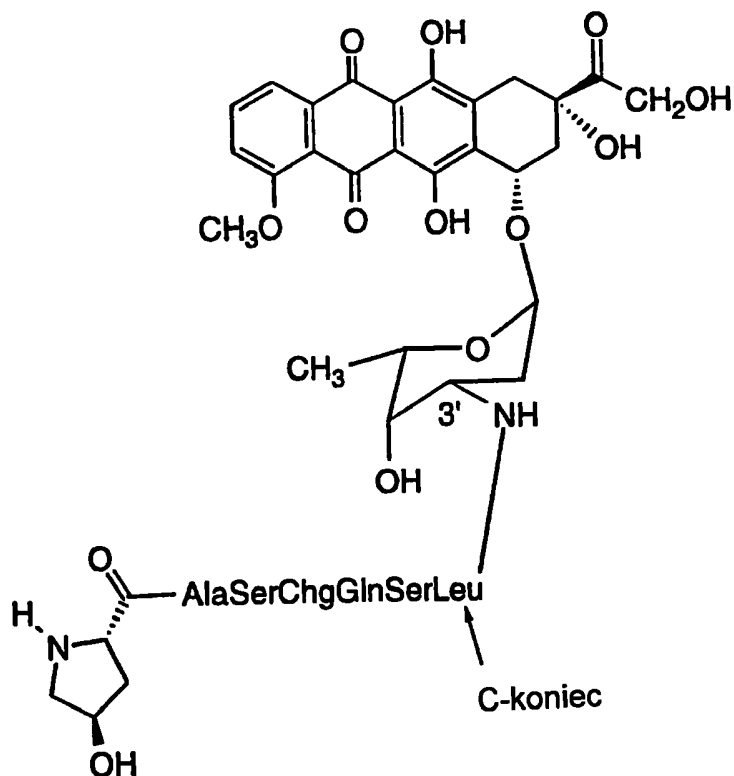
Tabuľka 4 ukazuje ďalšie konjugáty peptid-doxorubicín, ktoré boli pripravené postupmi opísanými v príklade 4, ale s použitím vhodných zvyškov aminokyselín a acylácie blokovacej skupiny.

Tabuľka 4

	SEQ.ID.No.
Sukcinylyl-(4-trans-L-Hyp)ASChgQ-SV-DOX (3')	75
Glutarylyl-(4-trans-L-Hyp)ASChgQ-SV-DOX (3')	76
Glutarylyl-(4-trans-L-Hyp)ASChgQ-SI-DOX (3')	77
Sukcinylyl-(4-trans-L-Hyp)SSChgQ-SI-DOX (3')	78
Sukcinylyl-(4-trans-L-Hyp)ASChgQ-SI-DOX (3')	79
Sukcinylyl-(4-trans-L-Hyp)ASChgQ-SAbu-DOX (3')	80
Glutarylyl-(4-trans-L-Hyp)SSChgQ-SI-DOX (3')	81
Glutarylyl-(4-trans-L-Hyp)SSChgQ-SL-DOX (3')	82
PEG(2)-(4-trans-L-Hyp)SSChgQ-SL-DOX (3')	83
Sukcinylyl-(4-trans-L-Hyp)ASChgQ-SThi-DOX (3')	84
PEG(4)-(4-trans-L-Hyp)SSChgQ-SL-DOX (3')	85
PEG(2)-(4-trans-L-Hyp)ASChgQ-SThi-DOX (3')	86
Sukcinylyl-3,4-(diOH)ASChgQ-SL-DOX (3')	87
Malonylyl-(4-trans-L-Hyp)ASChgQ-SL-DOX (3')	88

Príklad 5

Výroba (4-trans-L-Hyp)-Ala-Ser-Chg-Gln-Ser-Leu-Dox (SEQ.ID.No. 70)



Krok A: Fmoc-(4-trans-L-Hyp(Bzl))-Ala-Ser(Bzl)Chg-Gln-Ser(Bzl)Leu-
živica PAM

Z východiskovej živice 0,5 mml (0,67 g) Boc-Leu-PAM bol syntetizovaný chránený peptid na syntezátore peptidov 430A ABI. V protokole sa používal štvornásobný prebytok (2 mmol) každej z nasledujúcich chránených aminokyselín: Boc-Ser(Bzl), Boc-Gln, Boc-Chg, Boc-Ala, N-Boc-(4-trans-L-Hyp(Bzl)). Väzba bola uskutočnená aktiváciou pomocou DCC a HOBT v metyl-2-pyrrolidinóne. Po zavedení N-koncovej ochrannej skupiny bol použitý Fmoc-OSu (sukcínamidylester Fmoc). Odstránenie skupiny Boc bol vykonané 50% TFA v metylénchloride. Pri ukončení syntézy bola peptidová živica sušená za získania v názve uvedeného medziproduktu.

Krok B: Fmoc-(4-trans-L-Hyp)-Ala-Ser-Chg-Gln-Ser-Leu-OH

Chránená peptidová živica z kroku 1, 1,1 g, bola ponechaná reagovať s HF (20 ml) 1 h pri 0 °C v prítomnosti anizolu (2 ml). Po odparení HF bol zvyšok premytý éterom, prefiltrovaný a extrahovaný H₂O (200 ml). Filtrát bol lyofilizovaný za získania v názve uvedeného medziproduktu.

Krok C: Fmoc-(4-trans-L-Hyp)-Ala-Ser-Chg-Gln-Ser-Leu-Dox

Medziprodukt pripravený vyššie v kroku B 0,27 g bol rozpustený v DMSO (10 ml) a DMF (10 ml). K roztoku bol pridaný hydrochlorid doxorubicínu, 104 mg, nasledovaný 62 µl diizopropyletylamínu. Miešaný roztok bol ochladený (0 °C) a bolo pridaných 56 µl difenylfosforylazidu. Po 30 minútach bolo pridaných ďalších 56 µl DPPA a pH bolo upravené na približne 7,5 (pH papierik) diizopropyletylamínom (DIEA). pH ochladenej reakčnej zmesi (0 °C) bolo udržiavané na približne 7,5 DIEA. Po 4 hodinách bola reakcia (ukončenie reakcie zistené analytickou HPLC, systém A) zakoncentrovaný na olej, podmienky HPLC, systém A.

Krok D: (4-trans-L-Hyp)-Ala-Ser-Chg-Gln-Ser-Leu-Dox

Produkt z kroku C bol rozpustený v DMF (10 ml), ochladený na 0 °C a boli pridané 4 ml piperidínu. Roztok bol koncentrovaný do sucha a čistený preparatívnou HPLC (A = 0,1 % NH₄OAc-H₂O; B = CH₃CN). Surový produkt bol rozpustený v 100 ml 90% pufru A, prefiltrovaný a čistený na kolóne C-18 s reverznou fázou HPLC s radiálnym stlačením (Waters, Delta-Pak, 15 µM, 100 Å). Bol použitý stupňovitý gradient 90 % A až 65 % A s prietokom 75 ml/minútu (UV = 214 nm). Homogénne frakcie produktu (vyhodnotené HPLC, systém A) boli spojené a lyofilizované.

Podmienky HPLC, systém A

Kolóna: Vydac 15 cm #218TP5415, C 18
Eluent: Gradient 95:5 (A:B) až 5:95 (A:B) počas 45 minút A=0,1 % TFA/H₂O, B=0,1 % TFA/acetonitril
Prietok: 1,5 ml/minútu

Vlnová dĺžka: 214 nm, 254 nm

Retenčné časy: doxorubicín = 13,66 min

Fmoc-(4-trans-L-Hyp)-Ala-Ser-Chg-Gln-Ser-Leu-OH = 18,6 min

Fmoc-(4-trans-L-Hyp)-Ala-Ser-Chg-Gln-Ser-Leu-Dox = 23,8 min

(4-trans-L-Hyp)-Ala-Ser-Chg-Gln-Ser-Leu-Dox = 17,6 min

Molekulový vzorec: $C_{60}H_{83}N_9O_{22}$

Molekulová hmotnosť: 1281,56

Hmotnostná spektroskopia ES s vysokým rozlíšením: 1282,59 (NH_4^+)

HPLC: Systém A

Kolóna: Vydac 15 cm #218TP5415, C 18

Eluent: Gradient 95:5 (A:B) až 5:95 (A:B) počas 45 minút A=0,1 %
TFA/ H_2O , B=0,1 % TFA/acetonitril

Prietok: 1,5 ml/minútu

Vlnová dĺžka: 214 nm, 254 nm

Retenčný čas: 17,6 min

Analýza aminokyselinového zloženia¹:

Teória	Nájdené
Ala (1)	1,00
Ser(2)	1,94
Chg (1)	0,94
Gln ² (1)	1,05 (ako Glu)
Hyp (1)	0,96
Leu (1)	1,03
Obsah peptidu:	0,690 $\mu\text{mol/mg}$

Pozn.: ¹20 hod, 100 °C, 6N HCl

²Gln premenený na Glu

Príklad 6

Testovanie rozpoznávania konjugátov oligopeptid – doxorubicín voľným PSA

Konjugáty vyrobené ako je opísané v príkladoch 3 až 5, boli jednotlivo rozpustené v štiepiacom pufrí PSA (12 mM tri(hydroxymetyl)aminometán pH 8,0, 25 mM NaCl, 0,5 mM CaCl₂) a roztok bol pridaný k PSA v molárnom pomere 100:1. Alternatívne bol použitý štiepiaci pufr PSA, obsahujúci 50 mM tri(hydroxymetyl)aminometán pH 7,4, 140 mM NaCl. Reakcia sa zastavuje po rôznych reakčných časoch prídavkom kyseliny trifluóroctovej (TFA) na konečnú koncentráciu 1 % (obj.). Alternatívne sa reakcia ukončí 10 mM ZnCl₂. Zastavená reakcia sa analyzuje HPLC na kolóne s reverznou fázou C18 použitím gradienta vodná 0,1% TFA/acetónitril. Výsledky testov sú uvedené v tabuľke 3. Tabuľka 3 ukazuje potrebný čas (v min) na 50% štiepenie uvedených konjugátov oligopeptid – cytotoxický prostriedok enzymaticky aktívnym voľným PSA. Ak nie je uvedená pri konjugáte žiadna soľ, bol testovaný voľný konjugát. Konjugáty oligopeptid-cytotoxický prostriedok opísané v príkladoch 4 a 5 boli testované na čas (v minútach) potrebný na 50% rozštiepenie oligopeptidu enzymaticky aktívnym voľným PSA. 50% štiepenie prebehlo pri týchto konjugátov za čas kratší ako 2 hodiny.

Príklad 7

Test cytotoxicity peptidylových derivátov doxorubicínu *in vitro*

Cytotoxicity štiepiteľných konjugátov oligopeptid-doxorubicín vyrobené podľa príkladov 3 a 4, boli testované testom s farbivom Alamar Blue proti líniam buniek, o ktorých je známe, že sú usmrtené nemodifikovaným doxorubicínom.

Konkrétne boli bunkové kultúry prostatických tumorových buniek LNCap (ktoré exprimujú enzymaticky aktívny PSA) alebo bunky DuPRO v 96-jamkových doštičkách zriedené médiom (Dulbecco's Minimum Essential Medium- α [MEM- α]) s obsahom rôznych koncentrácií uvedeného konjugátu (konečný objem v jamke doštičky 200 μ l). Bunky boli inkubované 3 dni pri 37 °C, do každej testovacej jamky bolo pridaných 20 μ l Alamar Blue. Bunky boli ďalej inkubované a testovacie doštičky boli odčítané na zariadení EL-310 ELISA reader pri dvoch vlnových dĺžkach 570 a 600 nm 4 a 7 hodín po pridaní Alamar Blue. Relatívna životaschopnosť v percentách pri rôznych koncentráciách konjugátu bola potom vypočítaná

v porovnaní s kontrolou (bez konjugátu). Niektoré výsledky tohto stanovenia sú uvedené v tabuľke 5. Ak nie je uvedená soľ, bol testovaný voľný konjugát.

Tabuľka 5

SEQ.ID.No.	Konjugát peptid/peptid-DOX	Usmrtenie buniek LNCaP v 72 h EC ₅₀ (μM)
74	AC-(4-trans-L-Hyp)ASChgQ-StBuAla-DOX (3')	100(DuPRO>100) n = 2
68	Ac-(4-trans-L-Hyp)ASChgQ-SL-DOX (3')	4,5(DuPRP = 90)

Príklad 8

Účinnosť konjugátov peptidyl-cytotoxický prostriedok *in vivo*

Bunky LNCaP.FGC alebo DuPRO-1 boli trypsinizované, resuspendované v rastovom médiu a centrifugované 6 minút pri 200 x g. Bunky boli resuspendované v bezsérovom MEM-α a počítané. Vhodný objem tohto roztoku, obsahujúci požadovaný počet buniek bol potom preložený do kužeľovej centrifugačnej skúmavky, centrifugovaný ako bolo uvedené vyššie a resuspendovaný vo vhodnom objeme studenej zmesi 1:1 MEM-α Matrigel (Collaborative Biomedical Products, New Bedford, Mass.). Suspenzia sa udržuje na ľade až do zaočkovania zvierat.

Samci obnažených myši Harlan Sprague Dawley (vek 10 až 12) sa bez anestézie naočkujú 0,5 ml bunkovej suspenzie do ľavého boku podkožnou injekciou kalibru 22G. Myšiam sa podá buď približne 5×10^5 buniek DuPRO alebo $1,5 \times 10^7$ buniek LNCaP.FGC.

Po inokulácii tumorovými bunkami sa myši ošetrujú podľa jedného z nasledujúcich protokolov.

Protokol A

Jeden deň po inokulácii bunkami sa zvieratám podá interperitoneálne 0,1 až 0,5 ml testovaného konjugátu, doxorubicínu alebo vehikula ako kontroly (sterilná voda). Dávky konjugátu a doxorubicínu sú na začiatku vo veľkosti maximálnej neletálnej dávky, ale neskoršie sa môžu znížiť. Identické dávky sa podávajú 5 dní v intervaloch 24 hodín. Po 10 dňoch sa odoberú myšiam vzorky krvi a stanoví sa hladina PSA v sére. Podobné hladiny PSA v sére sa udržujú v intervaloch 5 až 10 dní. Na konci 5,5 týždňov sa myši usmrčia a zvážia sa akékoľvek prítomné tumory a opäť sa stanoví hladina PSA v sére. Hmotnosti zvierat sa zistia na začiatku a na konci testu.

Protokol B

Desať dní po inokulácii buniek sa zvieratám odoberú vzorky krvi a stanovia sa hladiny PSA v sére. Zvieratá sa potom rozdelia do skupín podľa hladín sérového PSA. 14 až 15 dní po inokulácii bunkami sa zvieratám dávkuje intraperitoneálne 0,1 až 0,5 ml testovacieho konjugátu, doxorubicínu alebo kontrolného vehikula (sterilná voda). Dávky konjugátu a doxorubicínu sú na začiatku maximálne neletálne množstvá, ale neskoršie môžu byť znížené. Identické dávky sa podávajú v 24 hodinových intervaloch počas 5 dní. Hladiny PSA v sére sa stanovujú v intervaloch 5 až 10 dní. Po 5,5 týždňoch sa myši usmrčia, prítomné tumory sa zvážia a opäť sa stanoví sérový PSA. Zvieratá sa zvážia na začiatku a na konci testu.

Protokol C

Jeden deň po inokulácii sa zvieratám interperitoneálne podá 0,1 až 0,5 ml testovaného konjugátu, doxorubicínu alebo kontrolného vehikula (sterilná voda). Dávky konjugátu a doxorubicínu sú na začiatku maximálne neletálne množstvá, ale neskoršie sa môžu znížiť. Identické dávky sa podávajú v intervaloch 7 dní počas 5 nasledujúcich týždňov. Hladiny PSA v sére sa stanovia ihneď pred alebo v dobe usmrtenia myši. Na konci 5,5 týždňov sa myši usmrčia a zvážia sa všetky prítomné tumory. Zvieratá sa zvážia na začiatku a na konci testu.

Príklad 9

Stanovenie proteolytického štiepenia konjugátov endogénnymi proteázami odlišnými od PSA *in vitro*

Krok A: Príprava extraktov proteolytického tkaniva

Všetky postupy sa uskutočňujú pri 4 °C. Vhodné zvieratá sa usmrčia a príslušné tkanivá sa izolujú a uchovávajú v kvapalnom dusíku. Zmrazené tkanivo sa práškuje v trecej miske paličkou a preloží sa do Potter-Elvehovho homogénizátora za pridania 2 objemov pufru A (50 mM Tris, obsahujúci 1,15 % KCl, pH 7,5). Tkanivo sa potom rozdrví 20 zdvihmi najskôr voľného a potom tesného piesta. Homogenát sa centrifuguje pri 10 000 x g vo výkyvnom rotore (HB4-5), centrifugát sa oddelí a supernatant sa centrifuguje pri 100 000 x g (Ti70). Supernatant (cytosol) sa uschová.

Centrifugát sa resuspenduje v pufri B (10 mM EDTA, obsahujúcej 1,15 % KCl, pH 7,5) použitím rovnakého objemu pufru A. Suspenzia sa homogenizuje v homogénizátore dounce a roztok sa centrifuguje pri 100 000 x g. Supernatant sa odleje a centrifugát (membrány) resuspenduje v pufri C (10 mM pufru na báze fosforečnanu draselného), obsahujúceho 0,25 M sacharózu, pH 7,4), v 1/2 vyššie použitého objemu a homogenizuje sa homogénizátorom dounce.

Obsah proteínov v dvoch roztokoch (cytosol a membrána) sa stanoví Bradfordovým testom. Alikvóty pre testy sa potom oddelia a zmrazia v kvapalnom dusíku. Alikvóty sa skladujú pri -70 °C.

Krok B: Test proteolytického štiepenia

Pre každý čas sa vloží 20 µg konjugátu peptid-doxorubicín a 150 µg tkanivového proteínu, pripraveného ako bolo opísané v kroku A podľa stanovenia Bradfordovou metódou v reakčnom pufri do roztoku s konečným objemom 200 µl pufru (50 mM TRIS, 140 mM NaCl, pH 7,2). Testovacie reakcie sa nechajú prebiehať 0, 30, 60, 120 a 180 minút a potom sa rýchlo zastavia vriacou vodou 90 s. reakčné produkty sa analyzujú HPLC s použitím kolóny VYDAC C18 15 cm v mobilnej fáze voda/acetonitril (5 % až 50 % acetonitrilu počas 30 minút).

VÝPIS SEKVENCIÍ

(1) Všeobecná informácia:

(i) Žiadateľ: Garsky, Victor M.

Feng, Dong-Mei

DeFeo-Jones, Deborah

(ii) Názov vynálezu: Konjugáty na liečenie karcinómu prostaty

(iii) Počet sekvencií: 97

(iv) Adresa pre korešpondenciu:

(A) Meno: Merck & Co., Inc.

(B) Ulica: P.O.Box 2000, 126 E. Lincoln Ave.

(C) Mesto: Rahway

(D) Štát: NJ

(E) Krajina: USA

(F) PSČ: 07065-0900

(v) Počítačová forma:

(A) Typ média: disketa

(B) Počítač: IBM PC kompatibilný

(C) Operačný systém: DOS

(D) Software: FastSEQ for Windows Version 2.0

(vi) Údaje o predkladanej prihláške:

(A) Číslo prihlášky:

(B) Dátum podania:

(C) Zaradenie do triedenia:

(vii) Údaje o prioritnej prihláške:

(A) Číslo prihlášky: 60/029,224

(B) Dátum podania: 30 október 1996

(C) Číslo prihlášky: 60/042,921

(D) Dátum podania: 4. apríl 1997

(viii) Informácie o zástupcovi:

(A) Meno: Muthard, David A.

(B) Registračné číslo: 35,297

(C) Referenčné číslo: 19821Y

(ix) Telekomunikačné informácie:

(A) Telefón: 908-594-3903

(B) Telefax: 908-594-4720

(2) Informácie pre SEQ ID No. 1:

(i) Charakteristika sekvencie:

(A) Dĺžka: 7 aminokyselín

(B) Typ: aminokyselina

(C) Typ reťazca: jednoduchý

(D) Topológia: lineárna

(ii) Typ molekuly: peptid

(ix) Vlastnosti:

(A) Meno/Kľúč: iná

(B) Umiestnenie: 1...1

(D) Ďalšie informácie: cyklická aminokyselina substituovaná hydrofilnou skupinou

(xi) Opis sekvencie: SEQ ID No. 1:

Xaa Xaa Ser Tyr Gln Ser Ser

1

5

(2) Informácie pre SEQ ID No. 2:

(i) Charakteristika sekvencie:

(A) Dĺžka: 5 aminokyselín

(B) Typ: aminokyselina

(C) Typ reťazca: jednoduchý

(D) Topológia: lineárna

(ii) Typ molekuly: peptid

(ix) Vlastnosti:

(A) Meno/Kľúč: iná

(B) Umiestnenie: 1...1

(D) Ďalšie informácie: cyklická aminokyselina substituovaná hydrofilnou skupinou

(xi) Opis sekvencie: SEQ ID No. 2:

Xaa Tyr Gln Ser Ser
1 5

(2) Informácie pre SEQ ID No. 3:

(i) Charakteristika sekvencie:

(A) Dĺžka: 7 aminokyselín

(B) Typ: aminokyselina

(C) Typ reťazca: jednoduchý

(D) Topológia: lineárna

(ii) Typ molekuly: peptid

(ix) Vlastnosti:

(A) Meno/Kľúč: iná

(B) Umiestnenie: 1...1

(D) Ďalšie informácie: cyklická aminokyselina substituovaná hydrofilnou skupinou

(xi) Opis sekvencie: SEQ ID No. 3:

Xaa Xaa Lys Tyr Gln Ser Ser
1 5

(2) Informácie pre SEQ ID No. 4:

(i) Charakteristika sekvencie:

(A) Dĺžka: 7 aminokyselín

(B) Typ: aminokyselina

(C) Typ reťazca: jednoduchý

(D) Topológia: lineárna

(ii) Typ molekuly: peptid

(ix) Vlastnosti:

(A) Meno/Kľúč: iná

(B) Umiestnenie: 1...1

(D) Ďalšie informácie: cyklická aminokyselina substituovaná hydrofilnou skupinou

(xi) Opis sekvencie: SEQ ID No. 4:

Xaa	Xaa	Lys	Tyr	Gln	Ser	Ser
1				5		

(2) Informácie pre SEQ ID No. 5:

(i) Charakteristika sekvencie:

(A) Dĺžka: 7 aminokyselín

(B) Typ: aminokyselina

(C) Typ reťazca: jednoduchý

(D) Topológia: lineárna

(ii) Typ molekuly: peptid

(ix) Vlastnosti:

(A) Meno/Kľúč: iná

(B) Umiestnenie: 3...3

(D) Ďalšie informácie: homoarginín

(xi) Opis sekvencie: SEQ ID No. 5:

Xaa	Xaa	Xaa	Tyr	Gln	Ser	Ser
1				5		

(2) Informácie pre SEQ ID No. 6:

(i) Charakteristika sekvencie:

(A) Dĺžka: 7 aminokyselín

(B) Typ: aminokyselina

(C) Typ reťazca: jednoduchý

(D) Topológia: lineárna

(ii) Typ molekuly: peptid

(ix) Vlastnosti:

- (A) Meno/Kľúč: iná
- (B) Umiestnenie: 1...1
- (D) Ďalšie informácie: cyklická aminokyselina substituovaná hydrofilnou skupinou

- (A) Meno/Kľúč: iná
- (B) Umiestnenie: 3...3
- (D) Ďalšie informácie: homoarginín

- (A) Meno/Kľúč: iná
- (B) Umiestnenie: 4...4
- (D) Ďalšie informácie: cyklohexylalanín

(xi) Opis sekvencie: SEQ ID No. 6:

Xaa Xaa Ser Tyr Gln Ser Ser
1 5

(2) Informácie pre SEQ ID No. 7:

(i) Charakteristika sekvencie:

- (A) Dĺžka: 7 aminokyselín
- (B) Typ: aminokyselina
- (C) Typ reťazca: jednoduchý
- (D) Topológia: lineárna

(ii) Typ molekuly: peptid

(ix) Vlastnosti:

- (A) Meno/Kľúč: iná
- (B) Umiestnenie: 1...1
- (D) Ďalšie informácie: cyklická aminokyselina substituovaná hydrofilnou skupinou

(xi) Opis sekvencie: SEQ ID No. 7:

Xaa Xaa Ser Tyr Gln Ser Xaa
1 5

(xi) Opis sekvencie: SEQ ID No. 9:

Xaa Xaa Ser Xaa Gln Ser Xaa
1 5

(2) Informácie pre SEQ ID No. 10:

(i) Charakteristika sekvencie:

- (A) Dĺžka: 5 aminokyselín
- (B) Typ: aminokyselina
- (C) Typ reťazca: jednoduchý
- (D) Topológia: lineárna

(ii) Typ molekuly: peptid

(ix) Vlastnosti:

- (A) Meno/Kľúč: iná
- (B) Umiestnenie: 1...1
- (D) Ďalšie informácie: cyklická aminokyselina substituovaná hydrofilnou skupinou
- (A) Meno/Kľúč: iná
- (B) Umiestnenie: 2...2
- (D) Ďalšie informácie: cyklohexylglycín

(xi) Opis sekvencie: SEQ ID No. 10:

Xaa Xaa Gln Ser Xaa
1 5

(2) Informácie pre SEQ ID No. 11:

(i) Charakteristika sekvencie:

- (A) Dĺžka: 7 aminokyselín
- (B) Typ: aminokyselina
- (C) Typ reťazca: jednoduchý
- (D) Topológia: lineárna

(ii) Typ molekuly: peptid

(ix) Vlastnosti:

(A) Meno/Kľúč: iná

(B) Umiestnenie: 1...1

(D) Ďalšie informácie: cyklická aminokyselina substituovaná hydrofilnou skupinou

(xi) Opis sekvencie: SEQ ID No. 11:

Xaa Xaa Gln Ser Ser Ser Leu
1 5

(2) Informácie pre SEQ ID No. 12:

(i) Charakteristika sekvencie:

(A) Dĺžka: 7 aminokyselín

(B) Typ: aminokyselina

(C) Typ reťazca: jednoduchý

(D) Topológia: lineárna

(ii) Typ molekuly: peptid

(ix) Vlastnosti:

(A) Meno/Kľúč: iná

(B) Umiestnenie: 1...1

(D) Ďalšie informácie: cyklická aminokyselina substituovaná hydrofilnou skupinou

(xi) Opis sekvencie: SEQ ID No. 12:

Xaa Xaa Ser Tyr Gln Ser Ala
1 5

(2) Informácie pre SEQ ID No. 13:

(i) Charakteristika sekvencie:

(A) Dĺžka: 7 aminokyselín

(B) Typ: aminokyselina

(C) Typ reťazca: jednoduchý

- (D) Topológia: lineárna
- (ii) Typ molekuly: peptid
- (ix) Vlastnosti:
 - (A) Meno/Kľúč: iná
 - (B) Umiestnenie: 2...2
 - (D) Ďalšie informácie: cyklická aminokyselina substituovaná hydrofilnou skupinou
- (xi) Opis sekvencie: SEQ ID No. 13:

Ala Xaa Xaa Ser Tyr Tyr Ser
1 5

(2) Informácie pre SEQ ID No. 14:

- (i) Charakteristika sekvencie:
 - (A) Dĺžka: 8 aminokyselín
 - (B) Typ: aminokyselina
 - (C) Typ reťazca: jednoduchý
 - (D) Topológia: lineárna
- (ii) Typ molekuly: peptid
- (ix) Vlastnosti:
 - (A) Meno/Kľúč: iná
 - (B) Umiestnenie: 3...3
 - (D) Ďalšie informácie: cyklická aminokyselina substituovaná hydrofilnou skupinou
- (xi) Opis sekvencie: SEQ ID No. 14:

Ala Asn Xaa Xaa Ser Tyr Gln Ser
1 5

(2) Informácie pre SEQ ID No. 15:

- (i) Charakteristika sekvencie:
 - (A) Dĺžka: 8 aminokyselín

(B) Typ: aminokyselina

(C) Typ reťazca: jednoduchý

(D) Topológia: lineárna

(ii) Typ molekuly: peptid

(ix) Vlastnosti:

(A) Meno/Kľúč: iná

(B) Umiestnenie: 1...1

(D) Ďalšie informácie: cyklická aminokyselina substituovaná hydrofilnou skupinou

(xi) Opis sekvencie: SEQ ID No. 15:

Xaa	Xaa	Ser	Tyr	Gln	Ser	Ser	Thr
1				5			

(2) Informácie pre SEQ ID No. 16:

(i) Charakteristika sekvencie:

(A) Dĺžka: 6 aminokyselín

(B) Typ: aminokyselina

(C) Typ reťazca: jednoduchý

(D) Topológia: lineárna

(ii) Typ molekuly: peptid

(ix) Vlastnosti:

(A) Meno/Kľúč: iná

(B) Umiestnenie: 1...1

(D) Ďalšie informácie: cyklická aminokyselina substituovaná hydrofilnou skupinou

(xi) Opis sekvencie: SEQ ID No. 16:

Xaa	Tyr	Gln	Ser	Ser	Thr
1				5	

(2) Informácie pre SEQ ID No. 17:

(i) Charakteristika sekvencie:

- (A) Dĺžka: 8 aminokyselín
- (B) Typ: aminokyselina
- (C) Typ reťazca: jednoduchý
- (D) Topológia: lineárna

(ii) Typ molekuly: peptid

(ix) Vlastnosti:

- (A) Meno/Kľúč: iná
- (B) Umiestnenie: 1...1
- (D) Ďalšie informácie: cyklická aminokyselina substituovaná hydrofilnou skupinou

(xi) Opis sekvencie: SEQ ID No. 18:

Xaa Tyr Gln Ser Ser Ser
1 5

(2) Informácie pre SEQ ID No. 19:

(i) Charakteristika sekvencie:

- (A) Dĺžka: 8 aminokyselín
- (B) Typ: aminokyselina
- (C) Typ reťazca: jednoduchý
- (D) Topológia: lineárna

(ii) Typ molekuly: peptid

(ix) Vlastnosti:

- (A) Meno/Kľúč: iná
- (B) Umiestnenie: 1...1
- (D) Ďalšie informácie: cyklická aminokyselina substituovaná hydrofilnou skupinou

(xi) Opis sekvencie: SEQ ID No. 19:

Xaa Xaa Lys Tyr Gln Ser Ser Ser
1 5

(xi) Opis sekvencie: SEQ ID No. 21:

Xaa Xaa Ser Tyr Gln Ser Ser Leu
1 5

(2) Informácie pre SEQ ID No. 22:

(i) Charakteristika sekvencie:

- (A) Dĺžka: 6 aminokyselín
- (B) Typ: aminokyselina
- (C) Typ reťazca: jednoduchý
- (D) Topológia: lineárna

(ii) Typ molekuly: peptid

(ix) Vlastnosti:

- (A) Meno/Kľúč: iná
- (B) Umiestnenie: 1...1
- (D) Ďalšie informácie: cyklická aminokyselina substituovaná hydrofilnou skupinou

(xi) Opis sekvencie: SEQ ID No. 22:

Xaa Tyr Gln Ser Ser Leu
1 5

(2) Informácie pre SEQ ID No. 23:

(i) Charakteristika sekvencie:

- (A) Dĺžka: 7 aminokyselín
- (B) Typ: aminokyselina
- (C) Typ reťazca: jednoduchý
- (D) Topológia: lineárna

(ii) Typ molekuly: peptid

(ix) Vlastnosti:

- (A) Meno/Kľúč: iná
- (B) Umiestnenie: 1...1

(D) Ďalšie informácie: cyklická aminokyselina substituovaná hydrofilnou skupinou

(xi) Opis sekvencie: SEQ ID No. 23:

Xaa Xaa Ser Tyr Gln Ser Leu
1 5

(2) Informácie pre SEQ ID No. 24:

(i) Charakteristika sekvencie:

(A) Dĺžka: 5 aminokyselín

(B) Typ: aminokyselina

(C) Typ reťazca: jednoduchý

(D) Topológia: lineárna

(ii) Typ molekuly: peptid

(ix) Vlastnosti:

(A) Meno/Kľúč: iná

(B) Umiestnenie: 1...1

(D) Ďalšie informácie: cyklická aminokyselina substituovaná hydrofilnou skupinou

(xi) Opis sekvencie: SEQ ID No. 24:

Xaa Tyr Gln Ser Leu
1 5

(2) Informácie pre SEQ ID No. 25:

(i) Charakteristika sekvencie:

(A) Dĺžka: 7 aminokyselín

(B) Typ: aminokyselina

(C) Typ reťazca: jednoduchý

(D) Topológia: lineárna

(ii) Typ molekuly: peptid

(ix) Vlastnosti:

(A) Meno/Kľúč: iná

(B) Umiestnenie: 1...1

(D) Ďalšie informácie: cyklická aminokyselina substituovaná hydrofilnou skupinou

(A) Meno/Kľúč: iná

(B) Umiestnenie: 7...7

(D) Ďalšie informácie: norleucín

(xi) Opis sekvencie: SEQ ID No. 25:

Xaa Xaa Ser Tyr Gln Ser Leu
1 5

(2) Informácie pre SEQ ID No. 26:

(i) Charakteristika sekvencie:

(A) Dĺžka: 5 aminokyselín

(B) Typ: aminokyselina

(C) Typ reťazca: jednoduchý

(D) Topológia: lineárna

(ii) Typ molekuly: peptid

(ix) Vlastnosti:

(A) Meno/Kľúč: iná

(B) Umiestnenie: 1...1

(D) Ďalšie informácie: cyklická aminokyselina substituovaná hydrofilnou skupinou

(A) Meno/Kľúč: iná

(B) Umiestnenie: 5...5

(D) Ďalšie informácie: norleucín

(xi) Opis sekvencie: SEQ ID No. 26:

Xaa Tyr Gln Ser Leu
1 5

hydrofilnou skupinou

(A) Meno/Kľúč: iná

(B) Umiestnenie: 5...5

(D) Ďalšie informácie: kyselina 1,2,3,4-tetrahydroizochinolín-3
karboxylová

(xi) Opis sekvencie: SEQ ID No. 28:

Xaa Tyr Gln Ser Xaa

1

5

(2) Informácie pre SEQ ID No. 29:

(i) Charakteristika sekvencie:

(A) Dĺžka: 7 aminokyselín

(B) Typ: aminokyselina

(C) Typ reťazca: jednoduchý

(D) Topológia: lineárna

(ii) Typ molekuly: peptid

(ix) Vlastnosti:

(A) Meno/Kľúč: iná

(B) Umiestnenie: 1...1

(D) Ďalšie informácie: cyklická aminokyselina substituovaná
hydrofilnou skupinou

(A) Meno/Kľúč: iná

(B) Umiestnenie: 4...4

(D) Ďalšie informácie: cyklohexylglycín

(xi) Opis sekvencie: SEQ ID No. 29:

Xaa Xaa Ser Xaa Gln Ser Leu

1

5

(2) Informácie pre SEQ ID No. 30:

(i) Charakteristika sekvencie:

- (D) Ďalšie informácie: cyklohexylglycín
- (A) Meno/Kľúč: iná
- (B) Umiestnenie: 7...7
- (D) Ďalšie informácie: norleucín
- (xi) Opis sekvencie: SEQ ID No. 31:

Xaa Xaa Ser Xaa Gln Ser Leu
1 5

(2) Informácie pre SEQ ID No. 32:

(i) Charakteristika sekvencie:

- (A) Dĺžka: 5 aminokyselín
- (B) Typ: aminokyselina
- (C) Typ reťazca: jednoduchý
- (D) Topológia: lineárna

(ii) Typ molekuly: peptid

(ix) Vlastnosti:

- (A) Meno/Kľúč: iná
- (B) Umiestnenie: 1...1
- (D) Ďalšie informácie: cyklická aminokyselina substituovaná hydrofilnou skupinou

- (A) Meno/Kľúč: iná
- (B) Umiestnenie: 2...2
- (D) Ďalšie informácie: cyklohexylglycín
- (A) Meno/Kľúč: iná
- (B) Umiestnenie: 5...5
- (D) Ďalšie informácie: norleucín

(xi) Opis sekvencie: SEQ ID No. 32:

Xaa Xaa Gln Ser Leu
1 5

(2) Informácie pre SEQ ID No. 33:

(i) Charakteristika sekvencie:

- (A) Dĺžka: 7 aminokyselín
- (B) Typ: aminokyselina
- (C) Typ reťazca: jednoduchý
- (D) Topológia: lineárna

(ii) Typ molekuly: peptid

(ix) Vlastnosti:

- (A) Meno/Kľúč: iná
- (B) Umiestnenie: 1...1
- (D) Ďalšie informácie: cyklická aminokyselina substituovaná hydrofilnou skupinou
- (A) Meno/Kľúč: iná
- (B) Umiestnenie: 4...4
- (D) Ďalšie informácie: cyklohexylglycín
- (A) Meno/Kľúč: iná
- (B) Umiestnenie: 7...7
- (D) Ďalšie informácie: kyselina 1,2,3,4-tetrahydroizochinolín-3-karboxylová

(xi) Opis sekvencie: SEQ ID No. 33:

Xaa Xaa Ser Xaa Gln Ser Xaa
1 5

(2) Informácie pre SEQ ID No. 34:

(i) Charakteristika sekvencie:

- (A) Dĺžka: 5 aminokyselín
- (B) Typ: aminokyselina
- (C) Typ reťazca: jednoduchý
- (D) Topológia: lineárna

(ii) Typ molekuly: peptid

(ix) Vlastnosti:

- (A) Meno/Kľúč: iná
- (B) Umiestnenie: 1...1
- (D) Ďalšie informácie: cyklická aminokyselina substituovaná hydrofilnou skupinou

- (A) Meno/Kľúč: iná
- (B) Umiestnenie: 2...2
- (D) Ďalšie informácie: cyklohexylglycín

- (A) Meno/Kľúč: iná
- (B) Umiestnenie: 5...5
- (D) Ďalšie informácie: kyselina 1,2,3,4-tetrahydroizochinolín-3-karboxylová

(xi) Opis sekvencie: SEQ ID No. 34:

Xaa	Xaa	Gln	Ser	Xaa
1			5	

(2) Informácie pre SEQ ID No. 35:

(i) Charakteristika sekvencie:

- (A) Dĺžka: 6 aminokyselín
- (B) Typ: aminokyselina
- (C) Typ reťazca: jednoduchý
- (D) Topológia: lineárna

(ii) Typ molekuly: peptid

(ix) Vlastnosti:

- (A) Meno/Kľúč: iná
- (B) Umiestnenie: 1...1
- (D) Ďalšie informácie: cyklická aminokyselina substituovaná hydrofilnou skupinou
- (A) Meno/Kľúč: iná
- (B) Umiestnenie: 2...2
- (D) Ďalšie informácie: homoarginín
- (A) Meno/Kľúč: iná

- (D) Topológia: lineárna
- (ii) Typ molekuly: peptid
- (ix) Vlastnosti:
 - (A) Meno/Kľúč: iná
 - (B) Umiestnenie: 2...2
 - (D) Ďalšie informácie: cyklohexylglycín
- (xi) Opis sekvencie: SEQ ID No. 39:

Ala Pro Xaa Ser Tyr Tyr Ser
1 5

- (2) Informácie pre SEQ ID No. 40:
- (i) Charakteristika sekvencie:
 - (A) Dĺžka: 8 aminokyselín
 - (B) Typ: aminokyselina
 - (C) Typ reťazca: jednoduchý
 - (D) Topológia: lineárna
 - (ii) Typ molekuly: peptid
 - (ix) Vlastnosti:
 - (A) Meno/Kľúč: iná
 - (B) Umiestnenie: 3...3
 - (D) Ďalšie informácie: 4-hydroxyprolín
 - (xi) Opis sekvencie: SEQ ID No. 40:

Ala Asn Pro Xaa Ser Tyr Gln Ser
1 5

- (2) Informácie pre SEQ ID No. 41:
- (i) Charakteristika sekvencie:
 - (A) Dĺžka: 8 aminokyselín
 - (B) Typ: aminokyselina
 - (C) Typ reťazca: jednoduchý

(C) Typ reťazca: jednoduchý

(D) Topológia: lineárna

(ii) Typ molekuly: peptid

(ix) Vlastnosti:

(A) Meno/Kľúč: iná

(B) Umiestnenie: 1...1

(D) Ďalšie informácie: 4-hydroxyprolín

(xi) Opis sekvencie: SEQ ID No. 42:

Pro Tyr Gln Ser Ser Thr

1

5

(2) Informácie pre SEQ ID No. 43:

(i) Charakteristika sekvencie:

(A) Dĺžka: 8 aminokyselín

(B) Typ: aminokyselina

(C) Typ reťazca: jednoduchý

(D) Topológia: lineárna

(ii) Typ molekuly: peptid

(ix) Vlastnosti:

(A) Meno/Kľúč: iná

(B) Umiestnenie: 1...1

(D) Ďalšie informácie: 4-hydroxyprolín

(xi) Opis sekvencie: SEQ ID No. 43:

Pro Xaa Ser Tyr Gln Ser Ser Ser

1

5

(2) Informácie pre SEQ ID No. 44:

(i) Charakteristika sekvencie:

(A) Dĺžka: 6 aminokyselín

(B) Typ: aminokyselina

(C) Typ reťazca: jednoduchý

(D) Topológia: lineárna

(ii) Typ molekuly: peptid

(ix) Vlastnosti:

(A) Meno/Kľúč: iná

(B) Umiestnenie: 1...1

(D) Ďalšie informácie: 4-hydroxyprolín

(xi) Opis sekvencie: SEQ ID No. 44:

Pro Tyr Gln Ser Ser Ser

1

5

(2) Informácie pre SEQ ID No. 45:

(i) Charakteristika sekvencie:

(A) Dĺžka: 8 aminokyselín

(B) Typ: aminokyselina

(C) Typ reťazca: jednoduchý

(D) Topológia: lineárna

(ii) Typ molekuly: peptid

(ix) Vlastnosti:

(A) Meno/Kľúč: iná

(B) Umiestnenie: 1...1

(D) Ďalšie informácie: 4-hydroxyprolín

(xi) Opis sekvencie: SEQ ID No. 45:

Pro Xaa Lys Tyr Gln Ser Ser Ser

1

5

(2) Informácie pre SEQ ID No. 46:

(i) Charakteristika sekvencie:

(A) Dĺžka: 8 aminokyselín

(B) Typ: aminokyselina

(C) Typ reťazca: jednoduchý

(D) Topológia: lineárna

(ii) Typ molekuly: peptid

(ix) Vlastnosti:

(A) Meno/Kľúč: iná

(B) Umiestnenie: 1...1

(D) Ďalšie informácie: 4-hydroxyprolín

(A) Meno/Kľúč: iná

(B) Umiestnenie: 3...3

(D) Ďalšie informácie: homoarginín

(xi) Opis sekvencie: SEQ ID No. 46:

Pro Xaa Xaa Tyr Gln Ser Ser Ser
1 5

(2) Informácie pre SEQ ID No. 47:

(i) Charakteristika sekvencie:

(A) Dĺžka: 8 aminokyselín

(B) Typ: aminokyselina

(C) Typ reťazca: jednoduchý

(D) Topológia: lineárna

(ii) Typ molekuly: peptid

(ix) Vlastnosti:

(A) Meno/Kľúč: iná

(B) Umiestnenie: 1...1

(D) Ďalšie informácie: 4-hydroxyprolín

(xi) Opis sekvencie: SEQ ID No. 47:

Pro Xaa Ser Tyr Gln Ser Ser Leu
1 5

(2) Informácie pre SEQ ID No. 48:

Pro Xaa Ser Tyr Gln Ser Leu

1 5

(2) Informácie pre SEQ ID No. 52:

(i) Charakteristika sekvencie:

- (A) Dĺžka: 5 aminokyselín
- (B) Typ: aminokyselina
- (C) Typ reťazca: jednoduchý
- (D) Topológia: lineárna

(ii) Typ molekuly: peptid

(ix) Vlastnosti:

- (A) Meno/Kľúč: iná
- (B) Umiestnenie: 1...1
- (D) Ďalšie informácie: 4-hydroxyprolín
- (A) Meno/Kľúč: iná
- (B) Umiestnenie: 5...5
- (D) Ďalšie informácie: norleucín

(xi) Opis sekvencie: SEQ ID No. 52:

Pro Tyr Gln Ser Leu

1 5

(2) Informácie pre SEQ ID No. 53:

(i) Charakteristika sekvencie:

- (A) Dĺžka: 7 aminokyselín
- (B) Typ: aminokyselina
- (C) Typ reťazca: jednoduchý
- (D) Topológia: lineárna

(ii) Typ molekuly: peptid

(ix) Vlastnosti:

- (A) Meno/Kľúč: iná
- (B) Umiestnenie: 1...1

(D) Ďalšie informácie: 4-hydroxyprolín

(A) Meno/Kľúč: iná

(B) Umiestnenie: 7...7

(D) Ďalšie informácie: kyselina 1,2,3,4-tetrahydroizochinolín-3-karboxylová

(xi) Opis sekvencie: SEQ ID No. 53:

Pro Xaa Ser Tyr Gln Ser Xaa

1

5

(2) Informácie pre SEQ ID No. 54:

(i) Charakteristika sekvencie:

(A) Dĺžka: 5 aminokyselín

(B) Typ: aminokyselina

(C) Typ reťazca: jednoduchý

(D) Topológia: lineárna

(ii) Typ molekuly: peptid

(ix) Vlastnosti:

(A) Meno/Kľúč: iná

(B) Umiestnenie: 1...1

(D) Ďalšie informácie: 4-hydroxyprolín

(A) Meno/Kľúč: iná

(B) Umiestnenie: 5...5

(D) Ďalšie informácie: kyselina 1,2,3,4-tetrahydroizochinolín-3-karboxylová

(xi) Opis sekvencie: SEQ ID No. 54:

Pro Tyr Gln Ser Xaa

1

5

(2) Informácie pre SEQ ID No. 55:

(i) Charakteristika sekvencie:

- (A) Dĺžka: 7 aminokyselín
- (B) Typ: aminokyselina
- (C) Typ reťazca: jednoduchý
- (D) Topológia: lineárna

(ii) Typ molekuly: peptid

(ix) Vlastnosti:

- (A) Meno/Kľúč: iná
- (B) Umiestnenie: 1...1
- (D) Ďalšie informácie: 4-hydroxyprolín
- (A) Meno/Kľúč: iná
- (B) Umiestnenie: 4...4
- (D) Ďalšie informácie: cyklohexylglycín

(xi) Opis sekvencie: SEQ ID No. 55:

Pro Xaa Ser Xaa Gln Ser Leu

1

5

(2) Informácie pre SEQ ID No. 56:

(i) Charakteristika sekvencie:

- (A) Dĺžka: 5 aminokyselín
- (B) Typ: aminokyselina
- (C) Typ reťazca: jednoduchý
- (D) Topológia: lineárna

(ii) Typ molekuly: peptid

(ix) Vlastnosti:

- (A) Meno/Kľúč: iná
- (B) Umiestnenie: 1...1
- (D) Ďalšie informácie: 4-hydroxyprolín
- (A) Meno/Kľúč: iná
- (B) Umiestnenie: 2...2
- (D) Ďalšie informácie: cyklohexylglycín

(xi) Opis sekvencie: SEQ ID No. 56:

Pro Xaa Gln Ser Leu

1 5

(2) Informácie pre SEQ ID No. 57:

(i) Charakteristika sekvencie:

- (A) Dĺžka: 7 aminokyselín
- (B) Typ: aminokyselina
- (C) Typ reťazca: jednoduchý
- (D) Topológia: lineárna

(ii) Typ molekuly: peptid

(ix) Vlastnosti:

- (A) Meno/Kľúč: iná
- (B) Umiestnenie: 1...1
- (D) Ďalšie informácie: 4-hydroxyprolín
- (A) Meno/Kľúč: iná
- (B) Umiestnenie: 4...4
- (D) Ďalšie informácie: cyklohexylglycín
- (A) Meno/Kľúč: iná
- (B) Umiestnenie: 7...7
- (D) Ďalšie informácie: norleucín

(xi) Opis sekvencie: SEQ ID No. 57:

Pro Xaa Ser Xaa Gln Ser Leu

1 5

(2) Informácie pre SEQ ID No. 58:

(i) Charakteristika sekvencie:

- (A) Dĺžka: 5 aminokyselín
- (B) Typ: aminokyselina
- (C) Typ reťazca: jednoduchý
- (D) Topológia: lineárna

(ii) Typ molekuly: peptid

(ix) Vlastnosti:

(A) Meno/Kľúč: iná

(B) Umiestnenie: 1...1

(D) Ďalšie informácie: 4-hydroxyprolín

(A) Meno/Kľúč: iná

(B) Umiestnenie: 2...2

(D) Ďalšie informácie: cyklohexylglycín

(A) Meno/Kľúč: iná

(B) Umiestnenie: 5...5

(D) Ďalšie informácie: norleucín

(xi) Opis sekvencie: SEQ ID No. 58:

Pro Xaa Gln Ser Leu

1

5

(2) Informácie pre SEQ ID No. 59:

(i) Charakteristika sekvencie:

(A) Dĺžka: 7 aminokyselín

(B) Typ: aminokyselina

(C) Typ reťazca: jednoduchý

(D) Topológia: lineárna

(ii) Typ molekuly: peptid

(ix) Vlastnosti:

(A) Meno/Kľúč: iná

(B) Umiestnenie: 1...1

(D) Ďalšie informácie: 4-hydroxyprolín

(A) Meno/Kľúč: iná

(B) Umiestnenie: 4...4

(D) Ďalšie informácie: cyklohexylglycín

(A) Meno/Kľúč: iná

(B) Umiestnenie: 7...7

(D) Ďalšie informácie: kyselina 1,2,3,4-tetrahydroizochinolín-3-karboxylová

(xi) Opis sekvencie: SEQ ID No. 59:

Pro Xaa Ser Xaa Gln Ser Xaa

1 5

(2) Informácie pre SEQ ID No. 60:

(i) Charakteristika sekvencie:

(A) Dĺžka: 5 aminokyselín

(B) Typ: aminokyselina

(C) Typ reťazca: jednoduchý

(D) Topológia: lineárna

(ii) Typ molekuly: peptid

(ix) Vlastnosti:

(A) Meno/Kľúč: iná

(B) Umiestnenie: 1...1

(D) Ďalšie informácie: 4-hydroxyprolín

(A) Meno/Kľúč: iná

(B) Umiestnenie: 2...2

(D) Ďalšie informácie: cyklohexylglycín

(A) Meno/Kľúč: iná

(B) Umiestnenie: 5...5

(D) Ďalšie informácie: kyselina 1,2,3,4-tetrahydroizochinolín-3-karboxylová

(xi) Opis sekvencie: SEQ ID No. 60:

Pro Xaa Gln Ser Xaa

1 5

(2) Informácie pre SEQ ID No. 61:

(i) Charakteristika sekvencie:

Asn Pro Ile Ser Tyr Gln Ser
1 5

(2) Informácie pre SEQ ID No. 63:

(i) Charakteristika sekvencie:

- (A) Dĺžka: 7 aminokyselín
- (B) Typ: aminokyselina
- (C) Typ reťazca: jednoduchý
- (D) Topológia: lineárna

(ii) Typ molekuly: peptid

(ix) Vlastnosti:

- (A) Meno/Kľúč: iná
- (B) Umiestnenie: 2...2
- (D) Ďalšie informácie: 4-hydroxyprolín

(xi) Opis sekvencie: SEQ ID No. 63:

Asn Pro Val Ser Tyr Gln Ser
1 5

(2) Informácie pre SEQ ID No. 64:

(i) Charakteristika sekvencie:

- (A) Dĺžka: 7 aminokyselín
- (B) Typ: aminokyselina
- (C) Typ reťazca: jednoduchý
- (D) Topológia: lineárna

(ii) Typ molekuly: peptid

(ix) Vlastnosti:

- (A) Meno/Kľúč: iná
- (B) Umiestnenie: 1...1
- (D) Ďalšie informácie: 4-hydroxyprolín

(xi) Opis sekvencie: SEQ ID No. 64:

Pro Ala Ser Tyr Gln Ser Ser

1

5

(2) Informácie pre SEQ ID No. 65:

(i) Charakteristika sekvencie:

(A) Dĺžka: 7 aminokyselín

(B) Typ: aminokyselina

(C) Typ reťazca: jednoduchý

(D) Topológia: lineárna

(ii) Typ molekuly: peptid

(ix) Vlastnosti:

(A) Meno/Kľúč: iná

(B) Umiestnenie: 1...1

(D) Ďalšie informácie: 3,4-dihydroxyprolín

(xi) Opis sekvencie: SEQ ID No. 65:

Xaa Ala Ser Tyr Gln Ser Ser

1

5

(2) Informácie pre SEQ ID No. 66:

(i) Charakteristika sekvencie:

(A) Dĺžka: 5 aminokyselín

(B) Typ: aminokyselina

(C) Typ reťazca: jednoduchý

(D) Topológia: lineárna

(ii) Typ molekuly: peptid

(ix) Vlastnosti:

(A) Meno/Kľúč: iná

(B) Umiestnenie: 1...1

(D) Ďalšie informácie: 3-hydroxyprolín

(A) Meno/Kľúč: iná

(B) Umiestnenie: 3...3

(D) Ďalšie informácie: cyklohexylglycín

(xi) Opis sekvencie: SEQ ID No. 66:

Xaa	Ser	Xaa	Gln	Ser
1			5	

(2) Informácie pre SEQ ID No. 67:

(i) Charakteristika sekvencie:

(A) Dĺžka: 7 aminokyselín

(B) Typ: aminokyselina

(C) Typ reťazca: jednoduchý

(D) Topológia: lineárna

(ii) Typ molekuly: peptid

(ix) Vlastnosti:

(A) Meno/Kľúč: iná

(B) Umiestnenie: 1...1

(D) Ďalšie informácie: 4-hydroxyprolín

(A) Meno/Kľúč: iná

(B) Umiestnenie: 4...4

(D) Ďalšie informácie: cyklohexylglycín

(xi) Opis sekvencie: SEQ ID No. 67:

Pro	Ala	Ser	Xaa	Gln	Ser	Ser
1				5		

(2) Informácie pre SEQ ID No. 68:

(i) Charakteristika sekvencie:

(A) Dĺžka: 7 aminokyselín

(B) Typ: aminokyselina

(C) Typ reťazca: jednoduchý

(D) Topológia: lineárna

(ii) Typ molekuly: peptid

(ix) Vlastnosti:

- (A) Meno/Kľúč: iná
- (B) Umiestnenie: 1...1
- (D) Ďalšie informácie: N-acetyl-4-hydroxyprolín
- (A) Meno/Kľúč: iná
- (B) Umiestnenie: 4...4
- (D) Ďalšie informácie: cyklohexylglycín

(xi) Opis sekvencie: SEQ ID No. 68:

Xaa Ala Ser Xaa Gln Ser Leu

1 5

(2) Informácie pre SEQ ID No. 69:

(i) Charakteristika sekvencie:

- (A) Dĺžka: 7 aminokyselín
- (B) Typ: aminokyselina
- (C) Typ reťazca: jednoduchý
- (D) Topológia: lineárna

(ii) Typ molekuly: peptid

(ix) Vlastnosti:

- (A) Meno/Kľúč: iná
- (B) Umiestnenie: 1...1
- (D) Ďalšie informácie: N-sukcínyl-4-hydroxyprolín
- (A) Meno/Kľúč: iná
- (B) Umiestnenie: 4...4
- (D) Ďalšie informácie: cyklohexylglycín

(xi) Opis sekvencie: SEQ ID No. 69:

Xaa Ala Ser Xaa Gln Ser Leu

1 5

(2) Informácie pre SEQ ID No. 70:

(i) Charakteristika sekvencie:

- (A) Dĺžka: 7 aminokyselín
- (B) Typ: aminokyselina
- (C) Typ reťazca: jednoduchý
- (D) Topológia: lineárna

(ii) Typ molekuly: peptid

(ix) Vlastnosti:

- (A) Meno/Kľúč: iná
- (B) Umiestnenie: 1...1
- (D) Ďalšie informácie: 4-hydroxyprolín
- (A) Meno/Kľúč: iná
- (B) Umiestnenie: 4...4
- (D) Ďalšie informácie: cyklohexylglycín

(xi) Opis sekvencie: SEQ ID No. 70:

Pro Ala Ser Xaa Gln Ser Leu

1

5

(2) Informácie pre SEQ ID No. 71:

(i) Charakteristika sekvencie:

- (A) Dĺžka: 7 aminokyselín
- (B) Typ: aminokyselina
- (C) Typ reťazca: jednoduchý
- (D) Topológia: lineárna

(ii) Typ molekuly: peptid

(ix) Vlastnosti:

- (A) Meno/Kľúč: iná
- (B) Umiestnenie: 1...1
- (D) Ďalšie informácie: N-glutaryl-4-hydroxyprolín
- (A) Meno/Kľúč: iná
- (B) Umiestnenie: 4...4
- (D) Ďalšie informácie: cyklohexylglycín

(xi) Opis sekvencie: SEQ ID No. 71:

Xaa Ala Ser Xaa Gln Ser Leu
1 5

(2) Informácie pre SEQ ID No. 72:

(i) Charakteristika sekvencie:

- (A) Dĺžka: 7 aminokyselín
- (B) Typ: aminokyselina
- (C) Typ reťazca: jednoduchý
- (D) Topológia: lineárna

(ii) Typ molekuly: peptid

(ix) Vlastnosti:

- (A) Meno/Kľúč: iná
- (B) Umiestnenie: 1...1
- (D) Ďalšie informácie: N-acetyl-3,4-dihydroxyprolín
- (A) Meno/Kľúč: iná
- (B) Umiestnenie: 4...4
- (D) Ďalšie informácie: cyklohexylglycín

(xi) Opis sekvencie: SEQ ID No. 72:

Xaa Ala Ser Xaa Gln Ser Leu
1 5

(2) Informácie pre SEQ ID No. 73:

(i) Charakteristika sekvencie:

- (A) Dĺžka: 7 aminokyselín
- (B) Typ: aminokyselina
- (C) Typ reťazca: jednoduchý
- (D) Topológia: lineárna

(ii) Typ molekuly: peptid

(ix) Vlastnosti:

- (A) Meno/Kľúč: iná
- (B) Umiestnenie: 1...1
- (D) Ďalšie informácie: N-(PEG-2)-4-hydroxyprolín

- (A) Meno/Kľúč: iná
- (B) Umiestnenie: 4...4
- (D) Ďalšie informácie: cyklohexylglycín

(xi) Opis sekvencie: SEQ ID No. 73:

Xaa Ala Ser Xaa Gln Ser Leu
1 5

(2) Informácie pre SEQ ID No. 74:

(i) Charakteristika sekvencie:

- (A) Dĺžka: 7 aminokyselín
- (B) Typ: aminokyselina
- (C) Typ reťazca: jednoduchý
- (D) Topológia: lineárna

(ii) Typ molekuly: peptid

(ix) Vlastnosti:

- (A) Meno/Kľúč: iná
- (B) Umiestnenie: 1...1
- (D) Ďalšie informácie: N-acetyl-4-hydroxyprolín
- (A) Meno/Kľúč: iná
- (B) Umiestnenie: 4...4
- (D) Ďalšie informácie: cyklohexylglycín
- (A) Meno/Kľúč: iná
- (B) Umiestnenie: 7...7
- (D) Ďalšie informácie: kyselina 2-amino-4,4-dimetylpropánová

(xi) Opis sekvencie: SEQ ID No. 74:

Xaa Ala Ser Xaa Gln Ser Xaa
1 5

(2) Informácie pre SEQ ID No. 75:

(i) Charakteristika sekvencie:

- (A) Dĺžka: 7 aminokyselín
- (B) Typ: aminokyselina
- (C) Typ reťazca: jednoduchý
- (D) Topológia: lineárna

(ii) Typ molekuly: peptid

(ix) Vlastnosti:

- (A) Meno/Kľúč: iná
- (B) Umiestnenie: 1...1
- (D) Ďalšie informácie: N-sukcinyl-4-hydroxyprolín
- (A) Meno/Kľúč: iná
- (B) Umiestnenie: 4...4
- (D) Ďalšie informácie: cyklohexylglycín

(xi) Opis sekvencie: SEQ ID No. 75:

Xaa Ala Ser Xaa Gln Ser Val
1 5

(2) Informácie pre SEQ ID No. 76:

(i) Charakteristika sekvencie:

- (A) Dĺžka: 7 aminokyselín
- (B) Typ: aminokyselina
- (C) Typ reťazca: jednoduchý
- (D) Topológia: lineárna

(ii) Typ molekuly: peptid

(ix) Vlastnosti:

- (A) Meno/Kľúč: iná
- (B) Umiestnenie: 1...1
- (D) Ďalšie informácie: N-glutaryl-4-hydroxyprolín
- (A) Meno/Kľúč: iná
- (B) Umiestnenie: 4...4

(D) Ďalšie informácie: cyklohexylglycín

(xi) Opis sekvencie: SEQ ID No. 76:

Xaa Ala Ser Xaa Gln Ser Val
1 5

(2) Informácie pre SEQ ID No. 77:

(i) Charakteristika sekvencie:

- (A) Dĺžka: 7 aminokyselín
- (B) Typ: aminokyselina
- (C) Typ reťazca: jednoduchý
- (D) Topológia: lineárna

(ii) Typ molekuly: peptid

(ix) Vlastnosti:

- (A) Meno/Kľúč: iná
- (B) Umiestnenie: 1...1
- (D) Ďalšie informácie: N-glutaryl-4-hydroxyprolín
- (A) Meno/Kľúč: iná
- (B) Umiestnenie: 4...4
- (D) Ďalšie informácie: cyklohexylglycín

(xi) Opis sekvencie: SEQ ID No. 77:

Xaa Alaa Ser Xaa Gln Ser Ile
1 5

(2) Informácie pre SEQ ID No. 78:

(i) Charakteristika sekvencie:

- (A) Dĺžka: 7 aminokyselín
- (B) Typ: aminokyselina
- (C) Typ reťazca: jednoduchý
- (D) Topológia: lineárna

(ii) Typ molekuly: peptid

(ix) Vlastnosti:

- (A) Meno/Kľúč: iná
- (B) Umiestnenie: 1...1
- (D) Ďalšie informácie: N-sukcinyl-4-hydroxyprolín
- (A) Meno/Kľúč: iná
- (B) Umiestnenie: 4...4
- (D) Ďalšie informácie: cyklohexylglycín

(xi) Opis sekvencie: SEQ ID No. 78:

Xaa Ser Ser Xaa Gln Ser Ile
1 5

(2) Informácie pre SEQ ID No. 79:

(i) Charakteristika sekvencie:

- (A) Dĺžka: 7 aminokyselín
- (B) Typ: aminokyselina
- (C) Typ reťazca: jednoduchý
- (D) Topológia: lineárna

(ii) Typ molekuly: peptid

(ix) Vlastnosti:

- (A) Meno/Kľúč: iná
- (B) Umiestnenie: 1...1
- (D) Ďalšie informácie: N-sukcinyl-4-hydroxyprolín
- (A) Meno/Kľúč: iná
- (B) Umiestnenie: 4...4
- (D) Ďalšie informácie: cyklohexylglycín

(xi) Opis sekvencie: SEQ ID No. 79:

Xaa Ala Ser Xaa Gln Ser Ile
1 5

(2) Informácie pre SEQ ID No. 80:

(i) Charakteristika sekvencie:

- (A) Dĺžka: 7 aminokyselín
- (B) Typ: aminokyselina
- (C) Typ reťazca: jednoduchý
- (D) Topológia: lineárna

(ii) Typ molekuly: peptid

(ix) Vlastnosti:

- (A) Meno/Kľúč: iná
- (B) Umiestnenie: 1...1
- (D) Ďalšie informácie: N-Sukcinyl-4-hydroxyprolín
- (A) Meno/Kľúč: iná
- (B) Umiestnenie: 4...4
- (D) Ďalšie informácie: cyklohexylglycín
- (A) Meno/Kľúč: iná
- (B) Umiestnenie: 7...7
- (D) Ďalšie informácie: kyselina 2-aminomaslová

(xi) Opis sekvencie: SEQ ID No. 80:

Xaa Ala Ser Xaa Gln Ser Xaa
1 5

(2) Informácie pre SEQ ID No. 81:

(i) Charakteristika sekvencie:

- (A) Dĺžka: 7 aminokyselín
- (B) Typ: aminokyselina
- (C) Typ reťazca: jednoduchý
- (D) Topológia: lineárna

(ii) Typ molekuly: peptid

(ix) Vlastnosti:

- (A) Meno/Kľúč: iná
- (B) Umiestnenie: 1...1
- (D) Ďalšie informácie: N-glutaryl-4-hydroxyprolín

- (A) Meno/Kľúč: iná
- (B) Umiestnenie: 4...4
- (D) Ďalšie informácie: cyklohexylglycín

(xi) Opis sekvencie: SEQ ID No. 81:

Xaa	Ser	Ser	Xaa	Gln	Ser	Ile
1				5		

(2) Informácie pre SEQ ID No. 82:

(i) Charakteristika sekvencie:

- (A) Dĺžka: 7 aminokyselín
- (B) Typ: aminokyselina
- (C) Typ reťazca: jednoduchý
- (D) Topológia: lineárna

(ii) Typ molekuly: peptid

(ix) Vlastnosti:

- (A) Meno/Kľúč: iná
- (B) Umiestnenie: 1...1
- (D) Ďalšie informácie: N-glutaryl-4-hydroxyprolín
- (A) Meno/Kľúč: iná
- (B) Umiestnenie: 4...4
- (D) Ďalšie informácie: cyklohexylglycín

(xi) Opis sekvencie: SEQ ID No. 82:

Xaa	Ser	Ser	Xaa	Gln	Ser	Leu
1				5		

(2) Informácie pre SEQ ID No. 83:

(i) Charakteristika sekvencie:

- (A) Dĺžka: 7 aminokyselín
- (B) Typ: aminokyselina
- (C) Typ reťazca: jednoduchý

(D) Topológia: lineárna

(ii) Typ molekuly: peptid

(ix) Vlastnosti:

(A) Meno/Kľúč: iná

(B) Umiestnenie: 1...1

(D) Ďalšie informácie: N-(PEG-2)-4-hydroxyprolín

(A) Meno/Kľúč: iná

(B) Umiestnenie: 4...4

(D) Ďalšie informácie: cyklohexylglycín

(xi) Opis sekvencie: SEQ ID No. 83:

Xaa Ser Ser Xaa Gln Ser Leu

1

5

(2) Informácie pre SEQ ID No. 84:

(i) Charakteristika sekvencie:

(A) Dĺžka: 7 aminokyselín

(B) Typ: aminokyselina

(C) Typ reťazca: jednoduchý

(D) Topológia: lineárna

(ii) Typ molekuly: peptid

(ix) Vlastnosti:

(A) Meno/Kľúč: iná

(B) Umiestnenie: 1...1

(D) Ďalšie informácie: N-sukcinyl-4-hydroxyprolín

(A) Meno/Kľúč: iná

(B) Umiestnenie: 4...4

(D) Ďalšie informácie: cyklohexylglycín

(A) Meno/Kľúč: iná

(B) Umiestnenie: 7...7

(D) Ďalšie informácie: tienylalanín

(xi) Opis sekvencie: SEQ ID No. 84:

Xaa Ala Ser Xaa Gln Ser Xaa
1 5

(2) Informácie pre SEQ ID No. 85:

(i) Charakteristika sekvencie:

- (A) Dĺžka: 7 aminokyselín
- (B) Typ: aminokyselina
- (C) Typ reťazca: jednoduchý
- (D) Topológia: lineárna

(ii) Typ molekuly: peptid

(ix) Vlastnosti:

- (A) Meno/Kľúč: iná
- (B) Umiestnenie: 1...1
- (D) Ďalšie informácie: N-(PEG-4)-4-hydroxyprolín
- (A) Meno/Kľúč: iná
- (B) Umiestnenie: 4...4
- (D) Ďalšie informácie: cyklohexylglycín

(xi) Opis sekvencie: SEQ ID No. 85:

Xaa Ser Ser Xaa Gln Ser Leu
1 5

(2) Informácie pre SEQ ID No. 86:

(i) Charakteristika sekvencie:

- (A) Dĺžka: 7 aminokyselín
- (B) Typ: aminokyselina
- (C) Typ reťazca: jednoduchý
- (D) Topológia: lineárna

(ii) Typ molekuly: peptid

(ix) Vlastnosti:

- (A) Meno/Kľúč: iná
- (B) Umiestnenie: 1...1

(D) Ďalšie informácie: N-(PEG-4)-4-hydroxyprolín

(A) Meno/Kľúč: iná

(B) Umiestnenie: 4...4

(D) Ďalšie informácie: cyklohexylglycín

(A) Meno/Kľúč: iná

(B) Umiestnenie: 7...7

(D) Ďalšie informácie: tienylalanín

(xi) Opis sekvencie: SEQ ID No. 86:

Xaa	Ala	Ser	Xaa	Gln	Ser	Xaa
1				5		

(2) Informácie pre SEQ ID No. 87:

(i) Charakteristika sekvencie:

(A) Dĺžka: 7 aminokyselín

(B) Typ: aminokyselina

(C) Typ reťazca: jednoduchý

(D) Topológia: lineárna

(ii) Typ molekuly: peptid

(ix) Vlastnosti:

(A) Meno/Kľúč: iná

(B) Umiestnenie: 1...1

(D) Ďalšie informácie: N-sukcinyl-3,4-dihydroxyprolín

(A) Meno/Kľúč: iná

(B) Umiestnenie: 4...4

(D) Ďalšie informácie: cyklohexylglycín

(xi) Opis sekvencie: SEQ ID No. 87:

Xaa	Ala	Ser	Xaa	Gln	Ser	Leu
1				5		

(2) Informácie pre SEQ ID No. 88:

(i) Charakteristika sekvencie:

- (A) Dĺžka: 7 aminokyselín
- (B) Typ: aminokyselina
- (C) Typ reťazca: jednoduchý
- (D) Topológia: lineárna

(ii) Typ molekuly: peptid

(ix) Vlastnosti:

- (A) Meno/Kľúč: iná
- (B) Umiestnenie: 1...1
- (D) Ďalšie informácie: N-malonyl-4-hydroxyprolín
- (A) Meno/Kľúč: iná
- (B) Umiestnenie: 4...4
- (D) Ďalšie informácie: cyklohexylglycín

(xi) Opis sekvencie: SEQ ID No. 88:

Xaa Ala Ser Xaa Gln Ser Leu
1 5

(2) Informácie pre SEQ ID No. 89:

(i) Charakteristika sekvencie:

- (A) Dĺžka: 7 aminokyselín
- (B) Typ: aminokyselina
- (C) Typ reťazca: jednoduchý
- (D) Topológia: lineárna

(ii) Typ molekuly: peptid

(ix) Vlastnosti:

- (A) Meno/Kľúč: iná
- (B) Umiestnenie: 1...1
- (D) Ďalšie informácie: N-acetylprolín
- (A) Meno/Kľúč: iná
- (B) Umiestnenie: 4...4
- (D) Ďalšie informácie: cyklohexylglycín

(xi) Opis sekvencie: SEQ ID No. 89:

Xaa Ser Ser Xaa Gln Ser Val
1 5

(2) Informácie pre SEQ ID No. 90:

(i) Charakteristika sekvencie:

- (A) Dĺžka: 7 aminokyselín
- (B) Typ: aminokyselina
- (C) Typ reťazca: jednoduchý
- (D) Topológia: lineárna

(ii) Typ molekuly: peptid

(ix) Vlastnosti:

- (A) Meno/Kľúč: iná
- (B) Umiestnenie: 1...1
- (D) Ďalšie informácie: N-acetylprolín
- (A) Meno/Kľúč: iná
- (B) Umiestnenie: 4...4
- (D) Ďalšie informácie: cyklohexylglycín

(xi) Opis sekvencie: SEQ ID No. 90:

Xaa Ala Ser Xaa Gln Ser Leu
1 5

(2) Informácie pre SEQ ID No. 91:

(i) Charakteristika sekvencie:

- (A) Dĺžka: 7 aminokyselín
- (B) Typ: aminokyselina
- (C) Typ reťazca: jednoduchý
- (D) Topológia: lineárna

(ii) Typ molekuly: peptid

(ix) Vlastnosti:

- (A) Meno/Kľúč: iná
- (B) Umiestnenie: 1...1
- (D) Ďalšie informácie: N-acetyl-3,4-dehydroprolín
- (A) Meno/Kľúč: iná
- (B) Umiestnenie: 4...4
- (D) Ďalšie informácie: cyklohexylglycín

(xi) Opis sekvencie: SEQ ID No. 91:

Xaa Ala Ser Xaa Gln Ser Leu
1 5

(2) Informácie pre SEQ ID No. 92:

(i) Charakteristika sekvencie:

- (A) Dĺžka: 7 aminokyselín
- (B) Typ: aminokyselina
- (C) Typ reťazca: jednoduchý
- (D) Topológia: lineárna

(ii) Typ molekuly: peptid

(ix) Vlastnosti:

- (A) Meno/Kľúč: iná
- (B) Umiestnenie: 1...1
- (D) Ďalšie informácie: N-acetyl-4-hydroxyprolín
- (A) Meno/Kľúč: iná
- (B) Umiestnenie: 2...2
- (D) Ďalšie informácie: cyklohexylglycín

(xi) Opis sekvencie: SEQ ID No. 92:

Xaa Xaa Gln Ser Ser Ser Leu
1 5

(2) Informácie pre SEQ ID No. 93:

(i) Charakteristika sekvencie:

(B) Umiestnenie: 4...4

(D) Ďalšie informácie: cyklohexylglycín

(A) Meno/Kľúč: iná

(B) Umiestnenie: 7...7

(D) Ďalšie informácie: kyselina 1,2,3,4-tetrahydroichinolín-3-
karboxylová

(xi) Opis sekvencie: SEQ ID No. 94:

Xaa	Ala	Ser	Xaa	Gln	Ser	Xaa
1				5		

(2) Informácie pre SEQ ID No. 95:

(i) Charakteristika sekvencie:

(A) Dĺžka: 7 aminokyselín

(B) Typ: aminokyselina

(C) Typ reťazca: jednoduchý

(D) Topológia: lineárna

(ii) Typ molekuly: peptid

(ix) Vlastnosti:

(A) Meno/Kľúč: iná

(B) Umiestnenie: 1...1

(D) Ďalšie informácie: N-(hydroxyacetyl)-4-hydroxyprolín

(A) Meno/Kľúč: iná

(B) Umiestnenie: 4...4

(D) Ďalšie informácie: cyklohexylglycín

(xi) Opis sekvencie: SEQ ID No. 95:

Xaa	Ala	Ser	Xaa	Gln	Ser	Val
1				5		

(2) Informácie pre SEQ ID No. 96:

(i) Charakteristika sekvencie:

(B) Umiestnenie: 4...4

(D) Ďalšie informácie: cyklohexylglycín

(xi) Opis sekvencie: SEQ ID No. 97:

Xaa Ala Ser Xaa Gln Ser Leu

1

5

PATENTOVÉ NÁROKY

1. Konjugát na liečenie karcinómu prostaty, ktorý obsahuje cytotoxický prostriedok naviazaný na oligopeptid, pričom oligopeptid obsahuje sekvenciu aminokyselín, ktorá je selektívne proteolyticky štiepená voľným antigénom špecifickým pre prostatu a kde naviazanie je uskutočnené kovalentnou väzbou alebo chemickou spojovacou skupinou a uvedená sekvencia aminokyselín obsahuje aspoň jednu cyklickú aminokyselinu s hydrofilným substituentom, alebo jeho farmaceuticky prijateľnú soľ.

2. Konjugát podľa nároku 1, v ktorom cytotoxický prostriedok patrí do triedy cytotoxických prostriedkov zo skupiny:

- a) látky zo skupiny antracyklínových liečiv,
 - b) liečivá zo skupiny alkaloidov vinca,
 - c) mitomycíny,
 - d) bleomycíny,
 - e) cytotoxické nukleozidy,
 - f) látky zo skupiny pteridínov,
 - g) diynény,
 - h) estramustín,
 - i) cyklofosfamid,
 - j) taxány a
 - k) podofyllotoxíny,
- alebo ich farmaceuticky prijateľných solí.

3. Konjugát podľa nároku 1, v ktorom cytotoxický prostriedok je zvolený zo skupiny:

- a) doxorubicín,
- b) karminomycín,
- c) daunorubicín,
- d) aminopterín,
- e) metotrexát,

- f) metopterín,
 - g) dichlórmetotrexát,
 - h) mitomycín C,
 - i) porfiromycín,
 - j) 5-fluóruracil,
 - k) 6-merkaptopurín,
 - l) cytozínarabinozid,
 - m) podofyllotoxín,
 - n) etopozid,
 - o) etopozidfosfát,
 - p) melfalán,
 - q) vinblastín,
 - r) vinkristín,
 - s) leurosidín,
 - t) vindezín,
 - u) estramustín,
 - v) cisplatina,
 - w) cyklofosfamid,
 - x) taxol a
 - y) leurozín,
- alebo ich farmaceuticky prijateľných solí.

4. Konjugát podľa nároku 2, v ktorom cytotoxický prostriedok je zvolený zo skupiny doxorubicín a vinblastín alebo ich cytotoxických derivátov.

5. Konjugát podľa nároku 2, v ktorom cytotoxickým prostriedkom je doxorubicín alebo jeho cytotoxický derivát.

6. Konjugát podľa nároku 1, v ktorom oligopeptid obsahuje oligomér zvolený zo skupiny:

- a) HaaXaaSerTyrGlnSerSer (SEQ.ID.NO.: 1);
- b) HaaTyrGlnSerSer (SEQ.ID.NO.: 2);

- c) HaaXaaLysTyrGlnSerSer (SEQ.ID.NO.: 3);
- d) HaaXaaLysTyrGlnSerSer (SEQ.ID.NO.: 4);
- e) HaaXaahArgTyrGlnSerSer (SEQ.ID.NO.: 5);
- f) HaaXaahArgChaGlnSerSer (SEQ.ID.NO.: 6);
- g) HaaXaaSerTyrGlnSerXaa (SEQ.ID.NO.: 7);
- h) HaaTyrGlnSerXaa (SEQ.ID.NO.: 8);
- i) HaaXaaSerChgGlnSerXaa (SEQ.ID.NO.: 9);
- j) HaaChgGlnSerXaa (SEQ.ID.NO.: 10);

kde Haa je cyklická aminokyselina substituovaná hydrofilnou skupinou, Xaa je akákoľvek aminokyselina, hArg je homoarginín, Cha je cyklohexylalanín a Chg je cyklohexylglycín.

7. Konjugát podľa nároku 1, v ktorom oligopeptid obsahuje oligomér zvolený zo skupiny:

- a) HaaTyrGlnSerSerSerLeu (SEQ.ID.NO.: 11);
- b) HaaXaaSerTyrGlnSerAla (SEQ.ID.NO.: 12);
- c) AlaHaaXaaSerTyrTyrSer (SEQ.ID.NO.: 13);
- d) AlaAsnHaaXaaSerTyrGlnSer (SEQ.ID.NO.: 14);
- e) HaaXaaSerTyrGlnSerSerThr (SEQ.ID.NO.: 15);
- f) HaaTyrGlnSerSerThr (SEQ.ID.NO.: 16);
- g) HaaXaaSerTyrGlnSerSerSer (SEQ.ID.NO.: 17);
- h) HaaTyrGlnSerSerSer (SEQ.ID.NO.: 18);
- i) HaaXaaLysTyrGlnSerSerSer (SEQ.ID.NO.: 19);
- j) HaaXaahArgTyrGlnSerSerSer (SEQ.ID.NO.: 20);
- k) HaaXaaSerTyrGlnSerSerLeu (SEQ.ID.NO.: 21);
- l) HaaTyrGlnSerSerLeu (SEQ.ID.NO.: 22);
- m) HaaXaaSerTyrGlnSerLeu (SEQ.ID.NO.: 23);
- n) HaaTyrGlnSerLeu (SEQ.ID.NO.: 24);
- p) HaaXaaSerTyrGlnSerNle (SEQ.ID.NO.: 25);
- q) HaaTyrGlnSerNle (SEQ.ID.NO.: 26);

r) HaaXaaSerTyrGlnSerTIC	(SEQ.ID.NO.: 27);
s) HaaTyrGlnSerTIC	(SEQ.ID.NO.: 28);
t) HaaXaaSerChgGlnSerLeu	(SEQ.ID.NO.: 29);
u) HaaChgGlnSerLeu	(SEQ.ID.NO.: 30);
v) HaaXaaSerChgGlnSerNle	(SEQ.ID.NO.: 31);
w) HaaChgGlnSerNle	(SEQ.ID.NO.: 32);
x) HaaXaaSerChgGlnSerTIC	(SEQ.ID.NO.: 33);
y) HaaChgGlnSerTIC	(SEQ.ID.NO.: 34);
z) hArgChgGlnSerLeu	(SEQ.ID.NO.: 35); a
aa) hArgTyrGlnSerLeu	(SEQ.ID.NO.: 36).

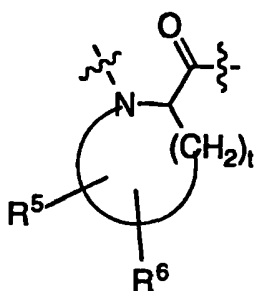
8. Konjugát podľa nároku 1, v ktorom oligopeptid obsahuje oligomér zvolený zo skupiny:

a) 4-HypXaaSerTyrGlnSerSer	(SEQ.ID.NO.: 37);
b) 4-HypXaaSerTyrGlnSerAla	(SEQ.ID.NO.: 38);
c) Ala4-HypXaaSerTyrTyrSer	(SEQ.ID.NO.: 39);
d) AlaAsn4-HypXaaSerTyrGlnSer	(SEQ.ID.NO.: 40);
e) 4-HypXaaSerTyrGlnSerSerThr	(SEQ.ID.NO.: 41);
f) 4-HypTyrGlnSerSerThr	(SEQ.ID.NO.: 42);
g) 4-HypXaaSerTyrGlnSerSerSer	(SEQ.ID.NO.: 43);
h) 4-HypTyrGlnSerSerSer	(SEQ.ID.NO.: 44);
i) 4-HypXaaLysTyrGlnSerSerSer	(SEQ.ID.NO.: 45);
j) 4-HypXaaahArgTyrGlnSerSerSer	(SEQ.ID.NO.: 46);
k) 4-HypXaaSerTyrGlnSerSerLeu	(SEQ.ID.NO.: 47);
l) 4-HypTyrGlnSerSerLeu	(SEQ.ID.NO.: 48);
m) 4-HypXaaSerTyrGlnSerLeu	(SEQ.ID.NO.: 49);
n) 4-HypTyrGlnSerLeu	(SEQ.ID.NO.: 50);
p) 4-HypXaaSerTyrGlnSerNle	(SEQ.ID.NO.: 51);
q) 4-HypTyrGlnSerNle	(SEQ.ID.NO.: 52);
r) 4-HypXaaSerTyrGlnSerTIC	(SEQ.ID.NO.: 53);

- s) 4-HypTyrGlnSerTIC (SEQ.ID.NO.: 54);
t) 4-HypXaaSerChgGlnSerLeu (SEQ.ID.NO.: 55);
u) 4-HypChgGlnSerLeu (SEQ.ID.NO.: 56);
v) 4-HypXaaSerChgGlnSerNle (SEQ.ID.NO.: 57);
w) 4-HypChgGlnSerNle (SEQ.ID.NO.: 58);
x) 4-HypXaaSerChgGlnSerTIC (SEQ.ID.NO.: 59);
y) 4-HypChgGlnSerTIC (SEQ.ID.NO.: 60);

kde 4-Hyp je 4-hydroxyprolín, Xaa je akákoľvek aminokyselina, hArg je homo-arginín, Cha je cyklohexylalanín a Chg je cyklohexylglycín.

9. Konjugát podľa nároku 1, v ktorom cyklická aminokyselina obsahujúca hydrofilný substituent je zvolená zo zlúčenín vzorca

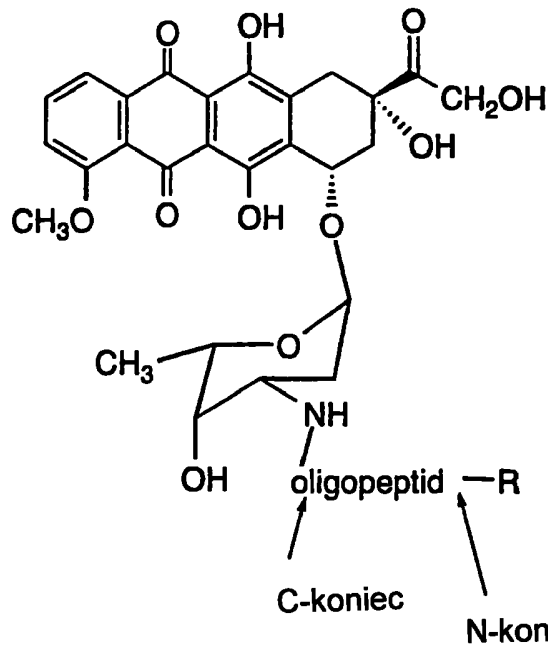


kde

R⁵ je zvolené z HO- a C₁-C₆alkoxy;

R⁶ je zvolené zo skupiny atóm vodíka, halogén, C₁-C₆alkyl, HO- a C₁-C₆alkoxy a t je 3 alebo 4.

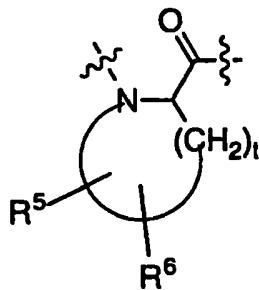
10. Konjugát na liečenie karcinómu prostaty všeobecného vzorca I



(I)

kde

oligopeptidom je oligopeptid, ktorý je selektívne rozpoznávaný voľným antigénom špecifickým pre prostatu, PSA a ktorý je schopný proteolytického štiepenia enzymatickou aktivitou voľného antigénu špecifického pre prostatu, pričom oligopeptid obsahuje cyklickú aminokyselinu vzorca

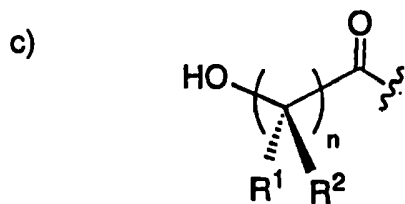


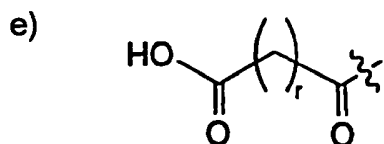
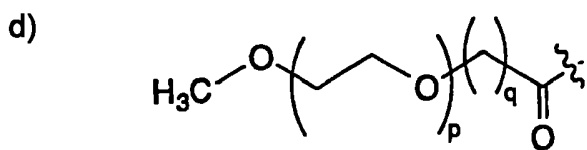
kde

C-koncový karbonyl je kovalentne naviazaný na amínovú skupinu doxorubicínu,

R je zvolené z

- atóm vodíka,
- (C=O)R^{1a},





R^1 a R^2 sú nezávisle zvolené zo skupiny: atóm vodíka, OH, C_1 - C_6 alkyl, C_1 - C_6 alkoxy, C_1 - C_6 aralkyl a aryl,

R^{1a} je C_1 - C_6 alkyl, hydroxylovaný aryl, polyhydroxylovaný aryl alebo aryl,

R^5 je zvolené a HO- a C_1 - C_6 alkoxy,

R^6 je zvolené zo skupiny atóm vodíka, halogén, C_1 - C_6 alkyl, HO- a C_1 - C_6 alkoxy a

n je 1, 2, 3 alebo 4,

p je nula alebo celé číslo medzi 1 a 100,

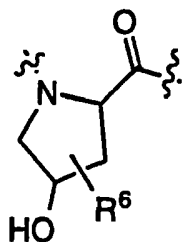
q je 0 alebo 1, za predpokladu, že ak p je nula, q je 1,

r je celé číslo medzi 1 a 10 a

t je 3 alebo 4,

alebo jeho farmaceuticky prijateľná soľ.

11. Konjugát podľa nároku 10, v ktorom cyklickou aminokyselinou je

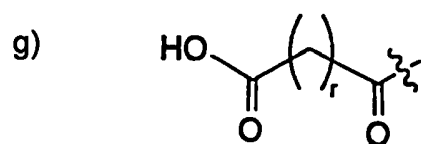
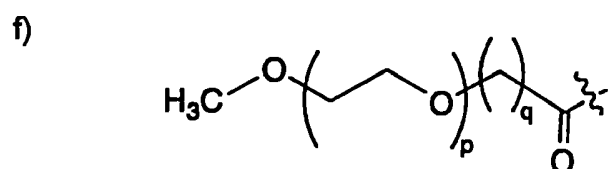
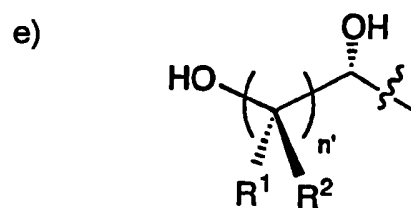
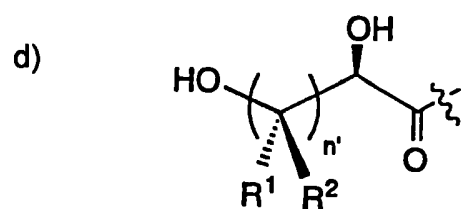
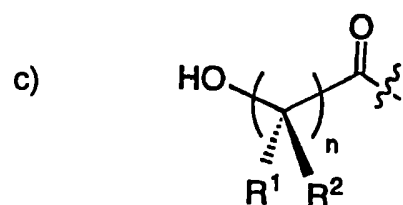


kde

R je zvolené z

a) atóm vodíka,

b) $-(C=O)R^{1a}$,



R^1 a R^2 sú nezávisle zvolené zo skupiny: atóm vodíka, C_1 - C_6 alkyl a aryl,

R^{1a} je C_1 - C_6 alkyl alebo aryl,

n je 1, 2, 3 alebo 4,

n' je 0, 1, 2 alebo 3,

p je nula alebo celé číslo medzi 1 a 14,

q je 0 alebo 1, za predpokladu, že ak p je nula, q je 1,

r je celé číslo medzi 1 a 10 a

t je 3,

alebo optický izomér alebo farmaceuticky prijateľná soľ.

12. Konjugát podľa nároku 10, v ktorom oligopeptidom je oligomér obsahujúci sekvenciu aminokyselín zvolenú zo skupiny:

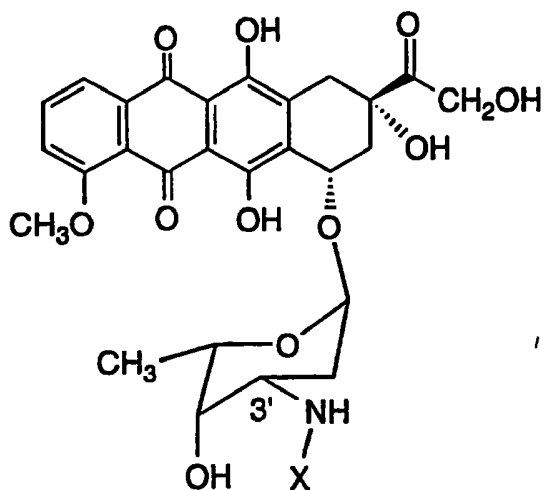
- a) 4-HypXaaSerTyrGlnSerSer (SEQ.ID.NO.: 37);
- b) 4-HypXaaSerTyrGlnSerAla (SEQ.ID.NO.: 38);
- c) Ala4-HypXaaSerTyrTyrSer (SEQ.ID.NO.: 39);
- d) AlaAsn4-HypXaaSerTyrGlnSer (SEQ.ID.NO.: 40);
- e) 4-HypXaaSerTyrGlnSerSerThr (SEQ.ID.NO.: 41);
- f) 4-HypTyrGlnSerSerThr (SEQ.ID.NO.: 42);
- g) 4-HypXaaSerTyrGlnSerSerSer (SEQ.ID.NO.: 43);
- h) 4-HypTyrGlnSerSerSer (SEQ.ID.NO.: 44);
- i) 4-HypXaaLysTyrGlnSerSerSer (SEQ.ID.NO.: 45);
- j) 4-HypXaaHArgTyrGlnSerSerSer (SEQ.ID.NO.: 46);
- k) 4-HypXaaSerTyrGlnSerSerLeu (SEQ.ID.NO.: 47);
- l) 4-HypTyrGlnSerSerLeu (SEQ.ID.NO.: 48);
- m) 4-HypXaaSerTyrGlnSerLeu (SEQ.ID.NO.: 49);
- n) 4-HypTyrGlnSerLeu (SEQ.ID.NO.: 50);
- p) 4-HypXaaSerTyrGlnSerNle (SEQ.ID.NO.: 51);
- q) 4-HypTyrGlnSerNle (SEQ.ID.NO.: 52);
- r) 4-HypXaaSerTyrGlnSerTIC (SEQ.ID.NO.: 53);
- s) 4-HypTyrGlnSerTIC (SEQ.ID.NO.: 54);
- t) 4-HypXaaSerChgGlnSerLeu (SEQ.ID.NO.: 55);
- u) 4-HypChgGlnSerLeu (SEQ.ID.NO.: 56);
- v) 4-HypXaaSerChgGlnSerNle (SEQ.ID.NO.: 57);
- w) 4-HypChgGlnSerNle (SEQ.ID.NO.: 58);
- x) 4-HypXaaSerChgGlnSerTIC (SEQ.ID.NO.: 59);

y) 4-HypChgGlnSerTIC (SEQ.ID.NO.: 60);

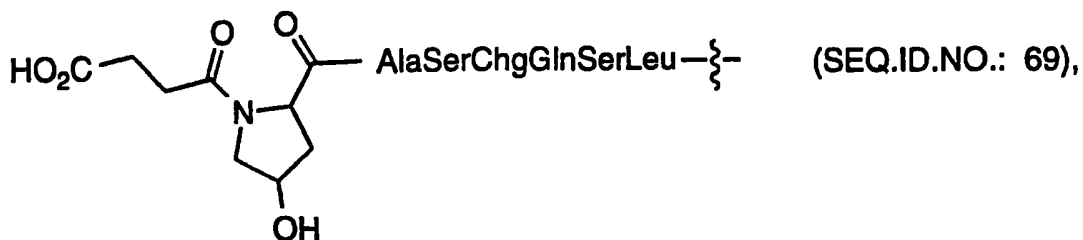
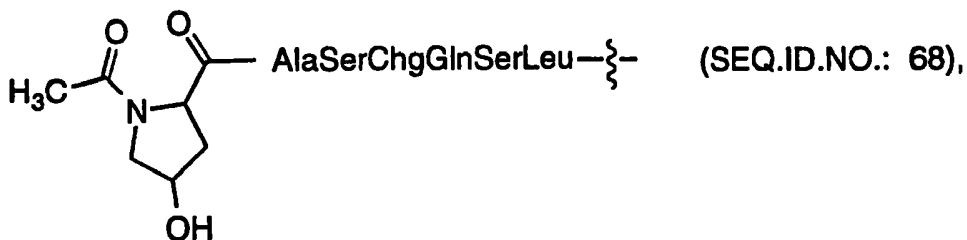
kde 4-Hyp je 4-hydroxyprolín, Xaa je akákoľvek aminokyselina, hArg je homo-arginín, Cha je cyklohexylalanín a Chg je cyklohexylglycín, alebo optický izomér alebo farmaceuticky prijateľná soľ.

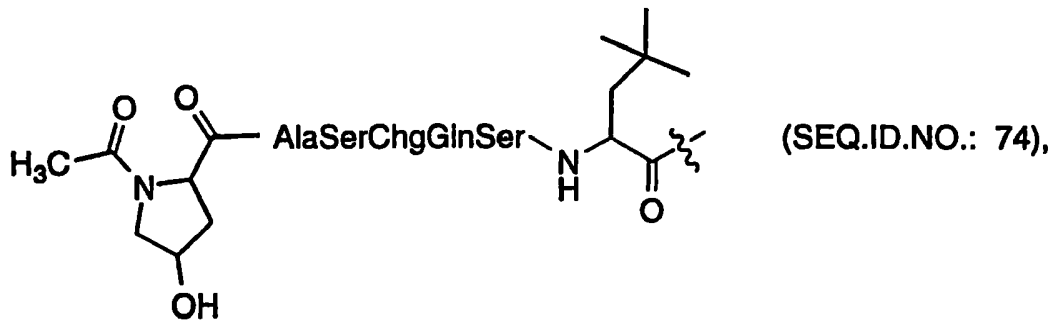
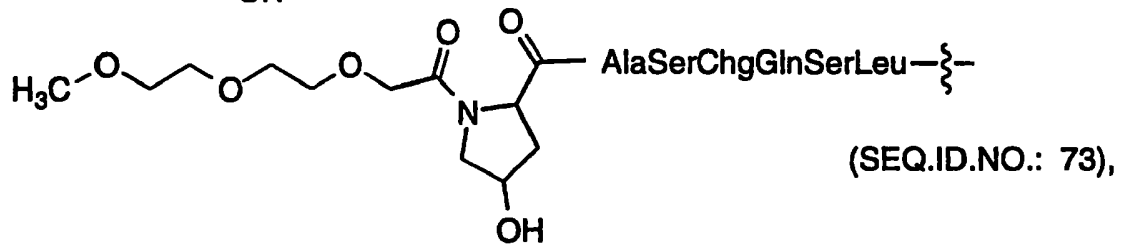
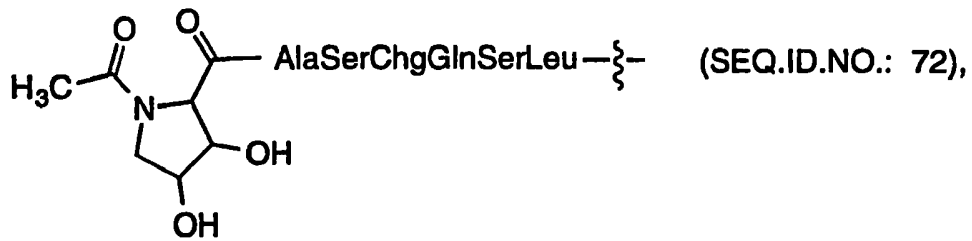
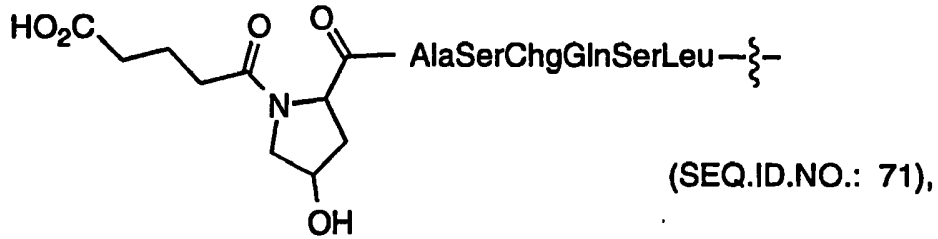
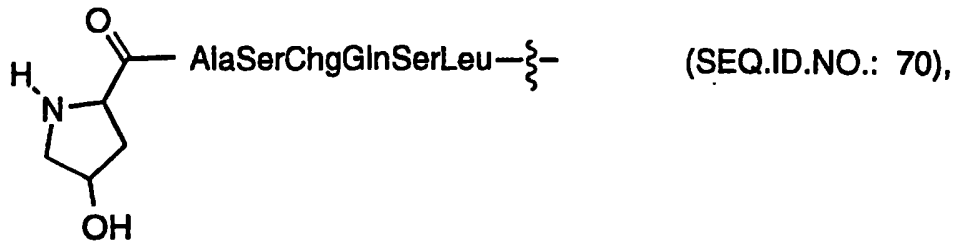
13. Konjugát podľa nároku 12, v ktorom Xaa je alanín alebo izoleucín, alebo jeho optický izomér alebo farmaceuticky prijateľná soľ.

14. Konjugát podľa nároku 10, ktorý je zvolený zo zlúčenín vzorca:



kde X je





	SEQ.ID.No
SukcinyI-(4-Hyp)ASChgQ-SV-DOX (3')	75
Glutaryl-(4-Hyp)ASChgQ-SV-DOX (3')	76
Glutaryl-(4-Hyp)ASChgQ-SI-DOX (3')	77
SukcinyI-(4-Hyp)SSChgQ-SI-DOX (3')	78
SukcinyI-(4-Hyp)ASChgQ-SI-DOX (3')	79

Sukcinyl-(4-Hyp)ASChgQ-SAbu-DOX (3')	80
Glutaryl-(4-Hyp)SSChgQ-SI-DOX (3')	81
Glutaryl-(4-Hyp)SSChgQ-SL-DOX (3')	82
PEG(2)-(4-Hyp)SSChgQ-SL-DOX (3')	83
Sukcinyl-(4-Hyp)ASChgQ-SThi-DOX (3')	84
PEG(4)-(4-Hyp)SSChgQ-SL-DOX (3')	85
PEG(2)-(4-Hyp)ASChgQ-SThi-DOX (3')	86
Sukcinyl-3,4-(diOH)PASChgQ-SL-DOX (3')	87
Malonyl-(4-Hyp)ASChgQ-SL-DOX (3')	88

alebo ich optického izoméru alebo ich farmaceuticky prijateľnej soli.

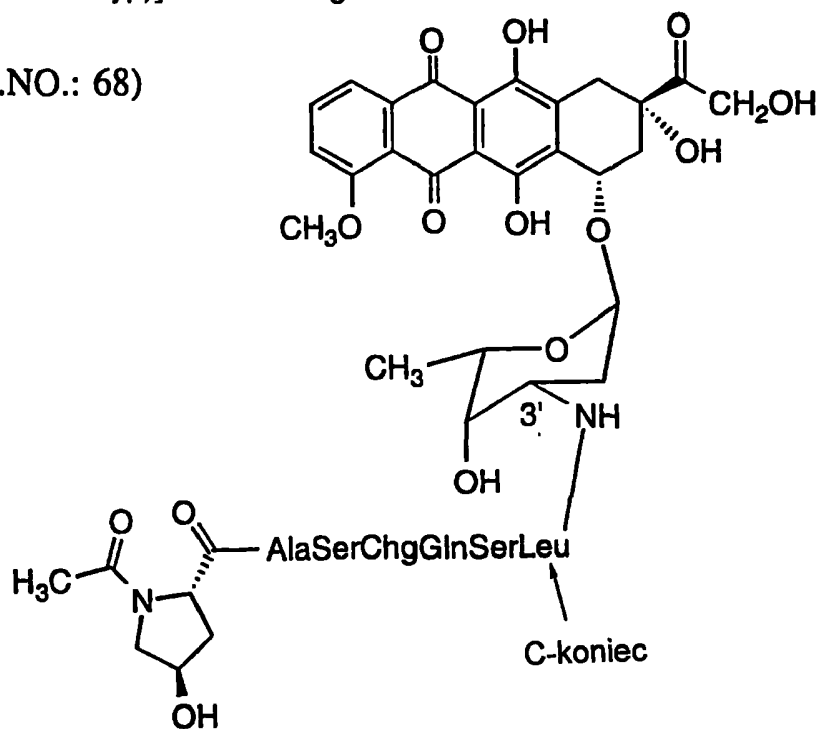
15. Konjugát podľa nároku 10, ktorým je :

	SEQ.ID.No
Sukcinyl-(4-Hyp)ASChgQ-SV-DOX (3')	75
Glutaryl-(4-Hyp)ASChgQ-SV-DOX (3')	76
Glutaryl-(4-Hyp)ASChgQ-SI-DOX (3')	77
Sukcinyl-(4-Hyp)SSChgQ-SI-DOX (3')	78
Sukcinyl-(4-Hyp)ASChgQ-SI-DOX (3')	79
Sukcinyl-(4-Hyp)ASChgQ-SAbu-DOX (3')	80
Glutaryl-(4-Hyp)SSChgQ-SI-DOX (3')	81
Glutaryl-(4-Hyp)SSChgQ-SL-DOX (3')	82
PEG(2)-(4-Hyp)SSChgQ-SL-DOX (3')	83
Sukcinyl-(4-Hyp)ASChgQ-SThi-DOX (3')	84
PEG(4)-(4-Hyp)SSChgQ-SL-DOX (3')	85
PEG(2)-(4-Hyp)ASChgQ-SThi-DOX (3')	86
Sukcinyl-3,4-(diOH)PASChgQ-SL-DOX (3')	87
Malonyl-(4-Hyp)ASChgQ-SL-DOX (3')	88

alebo ich optický izomér alebo ich farmaceuticky prijateľná soľ.

16. Konjugát podľa nároku 10, ktorým je
[N-Ac(4-trans-L-Hyp)]-Ala-Ser-Chg-Gln-Ser-Leu-Dox

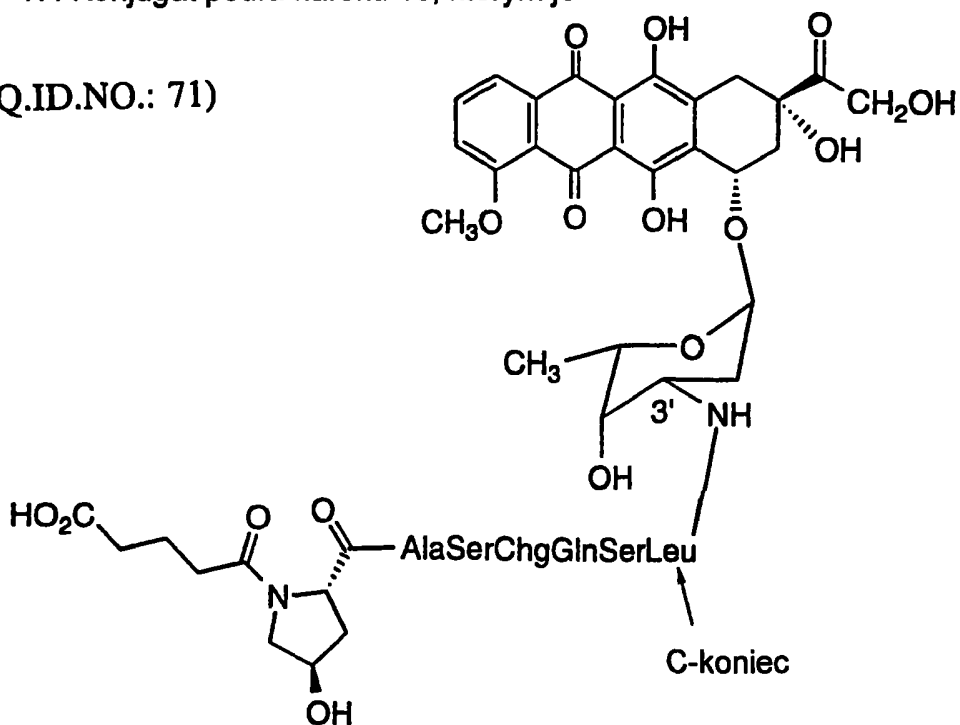
(SEQ.ID.NO.: 68)



alebo jeho optický izomér alebo farmaceuticky prijateľná soľ.

17. Konjugát podľa nároku 10, ktorým je

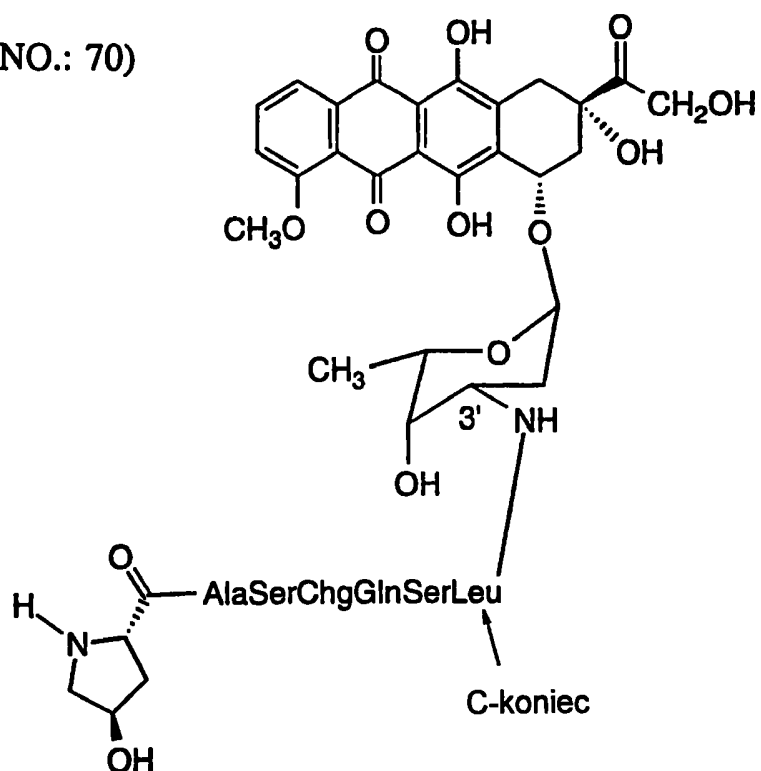
(SEQ.ID.NO.: 71)



alebo jeho optický izomér alebo farmaceuticky prijateľná soľ.

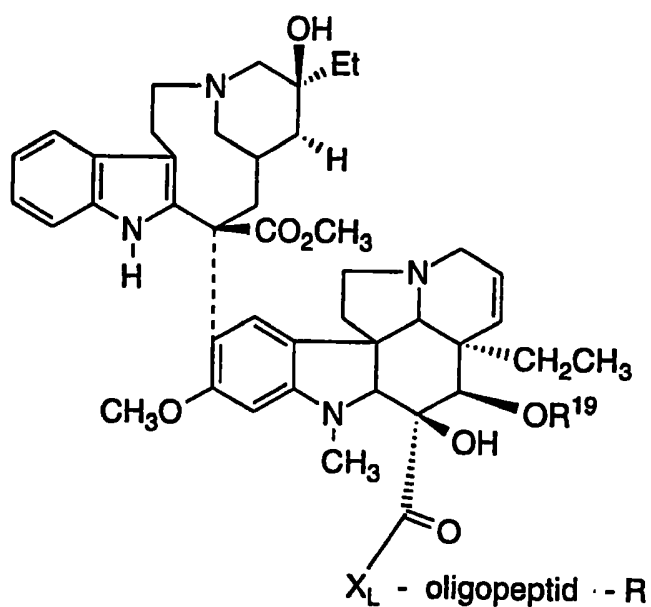
18. Konjugát podľa nároku 10, ktorým je

(SEQ.ID.NO.: 70)



alebo jeho optický izomér alebo farmaceuticky prijateľná soľ.

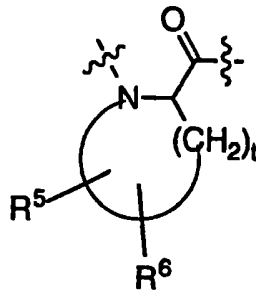
19. Konjugát podľa nároku 1, všeobecného vzorca II



(II)

kde

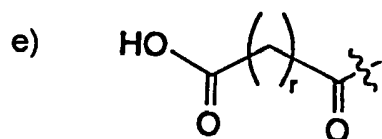
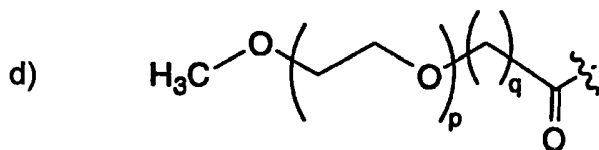
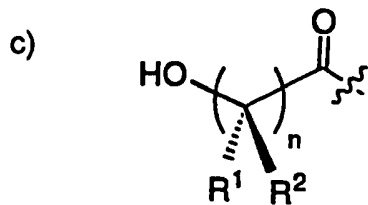
oligopeptidom je oligopeptid, ktorý je selektívne rozpoznávaný voľným antigénom špecifickým pre prostatu, PSA a ktorý je proteolytický štiepateľný enzymatickou aktivitou voľného antigénu špecifického pre prostatu, pričom oligopeptid obsahuje cyklickú aminokyselinu vzorca



XL je $-\text{NH}-(\text{CH}_2)_u-\text{NH}-$,

R je zvolené z

- a) atóm vodíka,
- b) $-(\text{C}=\text{O})\text{R}^{1a}$,



R^1 a R^2 sú nezávisle zvolené zo skupiny: atóm vodíka, OH, C_1 - C_6 alkyl, C_1 - C_6 alkoxy, C_1 - C_6 aralkyl a aryl,

R^{1a} je C_1 - C_6 alkyl, hydroxylovaný aryl, polyhydroxylovaný aryl alebo aryl,

R^{19} je atóm vodíka, (C_1 - C_3 alkyl)-CO, alebo chlórsubstituovaný (C_1 - C_3 alkyl)-CO,

n je 1, 2, 3 alebo 4,

p je nula alebo celé číslo medzi 1 a 100,

q je 0 alebo 1, za predpokladu, že p je nula, q je 1,

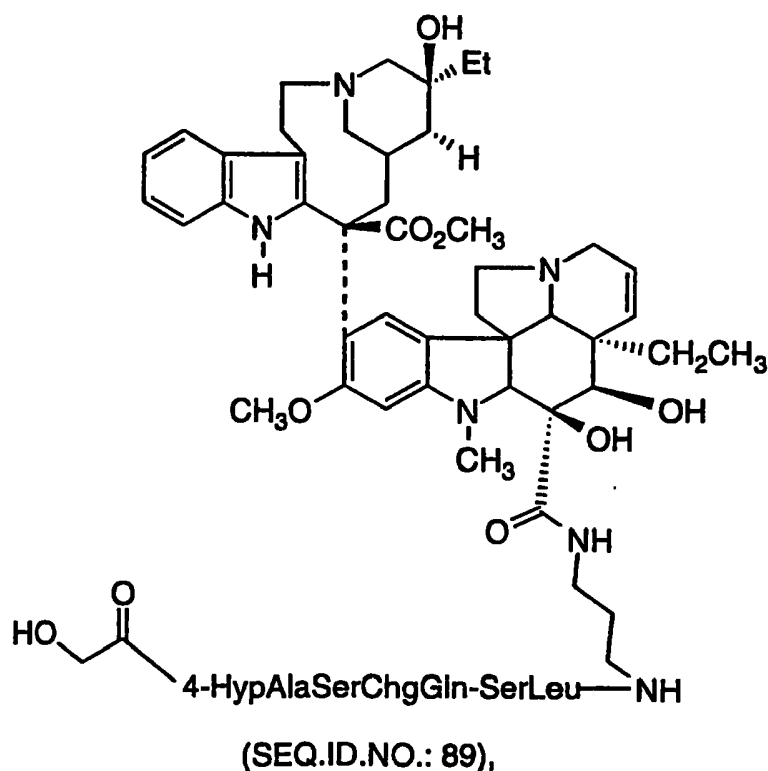
r je 1, 2 alebo 3,

t je 3 alebo 4

u je 1, 2, 3, 4 alebo 5,

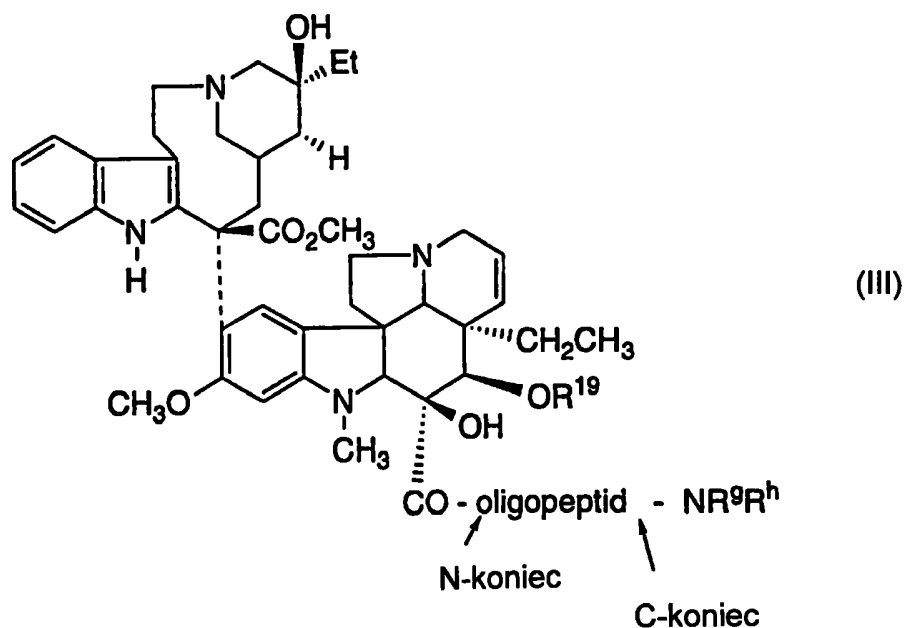
alebo jeho farmaceuticky prijateľná soľ.

20. Konjugát podľa nároku 16, ktorý je zvolený z



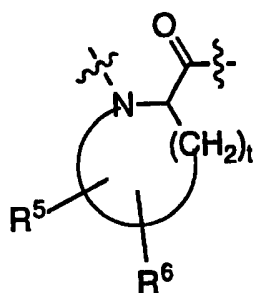
alebo jeho farmaceuticky prijateľnej soli alebo optického izoméru.

21. Konjugát podľa nároku 1 vzorca III

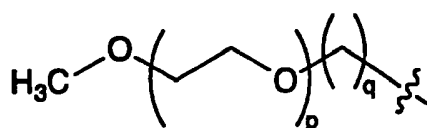


kde

oligopeptidom je oligopeptid, ktorý je špecifický rozpoznávaný voľným antigénom špecifickým pre prostatu, PSA a ktorý je schopný proteolytického štiepenia enzymatickou aktivitou voľného antigénu špecifického pre prostatu a pričom oligopeptid obsahuje cyklickú aminokyselinu vzorca



R^g a R^h sú nezávisle zvolené zo skupiny: atóm vodíka, C_1 - C_6 alkyl, $-C_1$ - C_6 alkyl-OH, $-C_1$ - C_6 alkyl-di-OH, $-C_1$ - C_6 alkyl-tri-OH a



za predpokladu, že aspoň jedna zo skupín R^d a R^e nie je atóm vodíka alebo C_1 - C_6 alkyl alebo

R^g a R^h sú spojené za vytvorenia diradikálu $-CH_2CH_2OCH_2CH_2-$,

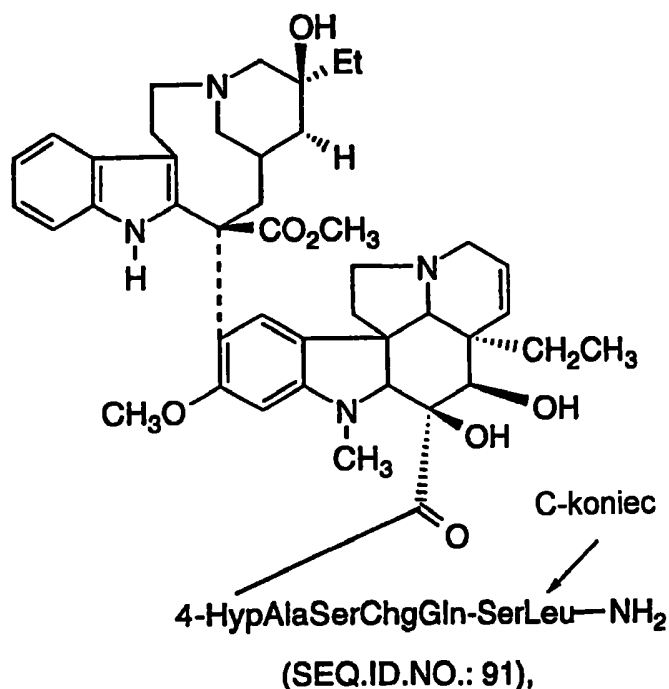
R^{19} je atóm vodíka (C_1 - C_3 alkyl)-CO alebo chlórsubstituovaný (C_1 - C_3 alkyl)-CO,

p je nula alebo celé číslo medzi 1 a 100,

q je 0 alebo 1, za predpokladu, že p je nula, q je 1,

alebo jeho farmaceuticky prijateľná soľ.

22. Konjugát podľa nároku 18, ktorým je



alebo jeho farmaceuticky prijateľná soľ alebo optický izomér.

23. Farmaceutický prostriedok, v y z n a č u j ú c i s a t ý m, že obsahuje vo farmaceutickom nosiči dispergované terapeuticky účinné množstvo konjugátu podľa nároku 1.

24. Farmaceutický prostriedok, v y z n a č u j ú c i s a t ý m, že obsahuje vo farmaceutickom nosiči dispergované terapeuticky účinné množstvo konjugátu podľa nároku 10.

25. Farmaceutický prostriedok, v y z n a č u j ú c i s a t ý m, že obsahuje vo farmaceutickom nosiči dispergované terapeuticky účinné množstvo konjugátu podľa nároku 14.

26. Farmaceutický prostriedok, v y z n a č u j ú c i s a t ý m, že obsahuje vo farmaceutickom nosiči dispergované terapeuticky účinné množstvo konjugátu podľa nároku 17.

27. Farmaceutický prostriedok vyrobený kombináciou konjugátu podľa nároku 1 a farmaceuticky prijateľného nosiča.

28. Spôsob výroby farmaceutického prostriedku, v y z n a č u j ú c i s a t ý m, že zahŕňa kombináciu konjugátu podľa nároku 1 s farmaceuticky prijateľným nosičom.

29. Použitie konjugátu podľa nároku 1 na výrobu farmaceutického prostriedku podľa nároku 23 na liečenie karcinómu prostaty cicavca.

30. Použitie konjugátu podľa nároku 10 na výrobu farmaceutického prostriedku podľa nároku 24 na použitie na liečenie karcinómu prostaty cicavca.

31. Použitie konjugátu podľa nároku 14 na výrobu farmaceutického prostriedku podľa nároku 25 na použitie na liečenie karcinómu prostaty cicavca.

32. Použitie konjugátu podľa nároku 17 na výrobu farmaceutického prostriedku podľa nároku 26 na použitie na liečenie karcinómu prostaty cicavca.

33. Použitie konjugátu podľa nároku 1 na výrobu farmaceutického prostriedku podľa nároku 23 na liečenie benígnej hyperplazie prostaty cicavca.

34. Použitie konjugátu podľa nároku 10 na výrobu farmaceutického prostriedku podľa nároku 24 na použitie na liečenie benígnej hyperplazie prostaty cicavca.

35. Použitie konjugátu podľa nároku 14 na výrobu farmaceutického prostriedku podľa nároku 25 na použitie na liečenie benígnej hyperplazie prostaty cicavca.

36. Použitie konjugátu podľa nároku 17 na výrobu farmaceutického prostriedku podľa nároku 26 na použitie na liečenie benígnej hyperplazie prostaty cicavca.