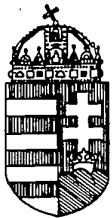


(19) Országkód:

HU



**MAGYAR
KÖZTÁRSASÁG
ORSZÁGOS
TALÁLMÁNYI
HIVATAL**

SZABADALMI LEÍRÁS

(11) Lajstromszám:

208 324 B

(21) A bejelentés száma: 4989/90
(22) A bejelentés napja: 1990. 08. 13.
(30) Elsőbbségi adatok:
P 39 26 822 1989. 08. 14. DE

(51) Int. Cl.⁵

C 07 K 7/06

A 61 K 37/02

(40) A közzététel napja: 1991. 03. 28.
(45) A megadás meghirdetésének dátuma a Szabadalmi
Közlönyben: 1993. 09. 28. SZKV 93/09

(72) Feltalálók:

dr. Henke, Stephan, Hofheim/Taunus (DE)
dr. Breipohl, Gerhard, Frankfurt/Main (DE)
dr. Knolle, Jochen, Kriftel (DE)
dr. Schölkens, Bernward, Kelkheim/Taunus (DE)
dr. Gerhards, Hermann Josef, Hofheim/Taunus (DE)

(73) Szabadalmaz:

Hoechst Ag., Frankfurt/Main (DE)

(74) Képviselő:

Danubia Szabadalmi és Védjegy Iroda Kft.,
Budapest

(54) **Eljárás bradikinin-antagonista peptidok és az azokat tartalmazó
gyógyszerkészítmények előállítására**

(57) KIVONAT

A találmány szerint előállítható, bradikinin-antagonis-
ta peptidok az (I) képletnek felelnek meg:

A-B-C-E-F-(D)-Phe-G-Arg-OH (I)
amelyben

A (D)- vagy (L)-H-Arg;

B Arg;

C Pro-Hyp-Gly;

E Phe;

F Ser;

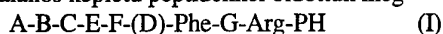
G cisz-endo-, cisz-exo-, transz-oktahidroindol-2-kar-
bonsav maradéka.

A vegyületeket szilárdfázisú szintézissel állítják elő.

A találmány bradikinin-antagonista hatású peptidek előállítására vonatkozik.

Bradikinin-antagonista hatású peptidek a WO 86/07263 szám alatt publikált nemzetközi szabadalmi bejelentésből ismertek, például olyanok, amelyekben a bradikinin nevű peptidhormon vagy analógjainak 7-es helyzetű L-Pro aminosavát D-aminosav, így D-Phe, D-Thi, D-Pal, CDF, D-Nal, MDY, D-Phg, D-His, D-Trp, D-Tyr, D-hPhe, D-Val, D-Ala, D-His, D-Ile, D-Leu vagy DOMT helyettesíti.

A találmány feladata új, bradikinin-antagonista hatású peptidek előállítása volt. Ezt a feladatot az (I) általános képletű peptidekkel oldottuk meg



amelyben

A (D)- vagy (L)-H Arg;

B Arg;

C Pro-Hyp-Gly;

E Phe;

F Ser;

G cisz-endo-, cisz-exo-, transz-oktahidroindol-2-karbonsav-maradék.

A találmány a fenti vegyületek fiziológiailag elviselhető sóinak az előállítására is vonatkozik.

Amennyiben mást nem kötünk ki, a sztereojelzés nélküli aminosav rövidítés az L-formát jelenti (vö.: Schröder, Lübke, *The Peptides*, I. köt., New York 1965, XXII–XXIII. old.; Houben-Weyl, *Methoden der organischen Chemie*, XV/1. és 2. köt., Stuttgart 1974), mint például:

Arg, Pro, Ser.

A csoportok alapját képező heterociklusos vegyületek például az alábbi szabadalmi irodalomból ismert:

US-A 4 344 949, US-A 4 374 847, US-A 4 350 704, EP-A 50 800, EP-A 31 741, EP-A 51 020, EP-A 49 658, EP-A 49 605, EP-A 29 488, EP-A 46 953, EP-A 52 870, EP-A 271 865, DE-A 32 26 768, DE-A 311 51 690, DE-A 32 10 496, DE-A 32 11 397, DE-A 32 11 676, DE-A 32 27 055, DE-A 32 42 151, DE-A 32 46 503 és DE-A 32 46 757 (US-A = amerikai egyesült államokbeli szabadalmi leírás; EP-A = publikált európai szabadalmi bejelentés; DE-A = NSZK-beli közrebecsátási irat.) A fenti heterociklusok néhányát a DE-A 38 18 850 3 ismerteti.

Az (I) képletű vegyületek sóiként a szervetlen és szerves savakkal (pl. HCl, HBr, kénsav, foszforsav, maleinsav, fumársav, citromsav, borkósav, ecetsav) képzett sók jöhetnek számításba. A savaddíciós sókat úgy állíthatjuk elő, hogy az (I) általános képletű vegyületet megfelelő oldószerben feloldjuk és – adott esetben gyenge melegítés közben – adagoljuk a savat az oldathoz. Hidroklorid előállítása céljából a sósavgázt bevezetjük a peptid oldatába.

A találmány értelmében az (I) általános képletű vegyületeket úgy állítjuk elő, hogy C-terminálisán szabad karboxilcsoportot hordozó aminosavat szilárd fázisú hordozóhoz kötünk, és a következő aminosavval kondenzálunk, így lépésenként felépítjük az (I) általános képletű vegyületet, majd a kapott vegyületről adott esetben egy vagy több, más reakcióképes csoportok

védelmére ideiglenesen bevezetett védőcsoportot lehasítunk és kívánt esetben a kapott (I) általános képletű vegyületet fiziológiailag elviselhető sóvá alakítjuk.

- A jelen találmányban szereplő peptideket a peptid-kémiai általánosan ismert módszerekkel (pl. Houben-Weyl, *Methoden der organischen Chemie*, 15/2. köt.), előnyösen szilárd fázison történő szintézissel [pl. B. Merrifield, *J. Am. Chem. Soc.* 85, 2149 (1963), vagy R. C. Sheppard, *Int. J. Peptide Protein Res.* 21, 118 (1983)] vagy egyéb ismert, ekvivalens módszerrel állítjuk elő. Az α -aminocsoport védelmére uretánvédőcsoportok, így terc-butoxikarbonil(Boc)-, vagy a fluorenil-metoxikarbonil(Fmoc)-védőcsoportok alkalmazhatók. Amennyiben mellékreakciók elnyomása vagy különleges peptidek szintézise céljából szükségessé válik, az aminosavak oldalláncában lévő egyéb reakcióképes csoportokat alkalmas védőcsoportokkal (pl. T. W. Greene, „Protective Groups in Organic Synthesis”) védjük, elsősorban az alábbiak szerint: Arg(Tos), Arg(Mts), Arg(Mtr), Arg(Pmc), Ser(Bzl), Ser(But).

- A szilárd fázison történő szintézis a peptid C-terminális végén kezdődik azzal, hogy egy védett aminosavat megfelelő gyantához kapcsolunk; a védett aminosavat például észter- vagy amidkötés révén klór-metil-, hidroximetil-, benzhidrilamino(BHA)-, metil-benzhidrilamino(MBHA)-csoporttal módosított polisztirol- vagy poliakrilamid gyantához kapcsolhatjuk. A hordozóként alkalmazható gyanták a kereskedelemben kapható termékek. BHA- és MBHA-gyantákat többnyire akkor használunk, ha az előállítani kívánt peptid C-terminálisán szabad amidcsoport lesz. Amennyiben a peptid C-terminális végén szekunder amidcsoport lesz, klór-metil-, illetve hidroximetil-gyantát alkalmazunk, és a lehasítást a megfelelő aminnal végezzük. Ha például etilamidot akarunk előállítani, a peptidet etilaminnal hasítjuk le a hordozóról. Az oldalláncban lévő védőcsoportokat ezt követően, más reagensekkel hasítjuk le. Ha a peptid oldalláncán lévő terc-butyl-védőcsoportokat meg kívánjuk hagyni, az aminosav α -aminocsoportját ideiglenesen Fmoc-védőcsoporttal blokkoljuk például R. C. Sheppard (*J. Chem. Soc., Chem. Comm.* 1982, 587) módszerével; az arginin guanidincsoportját piridinium-perklóráttal végzett protonálás segítségével védjük, és az egyéb, az oldalláncban reakcióképes aminosavakat a katalitikus transzfer-hidrogenezéssel [A. Felix et al., *J. Org. Chem.* 13, 4194 (1978)] vagy folyékony ammóniában oldott nátriummal [W. Roberts, *J. Am. Chem. Soc.* 76, 6203 (1954)] lehasítható benzilcsoporttal védjük.

- A gyantához kapcsolt aminosav aminosav-védőcsoportjának alkalmas reagenssel (Boc esetén pl. diklórmetános trifluorecetsav, Fmoc esetén 20%-os dimetilformamidos piperidin-oldat) végzett lehasítása után a következő védett aminosavakat a kívánt sorrendben kapcsoljuk. A következő aminosav hozzákapcsolása előtt a közbelső terméként keletkező, N-terminálisán védett peptid-gyantán a fent megadott reagensekkel a blokkolást megszüntetjük.

- Kapcsolási reagensként a peptid-szintézisben szokásos aktiváló reagenseket (pl. Houben-Weyl, *Metho-*

den der organischen Chemie, 15/2. köt.) alkalmazhatjuk. A karbodiimidek, így az N,N'-diciklohexil-karbodiimid, az N,N'-diizopropil-karbodiimid vagy az N-etil-N'-(3-dimetil-amino-propil)-karbodiimid különösen előnyös. A kapcsolási műveletet közvetlenül végezhetjük úgy, hogy az aminosav-származékot – az aktiváló reagens és adott esetben a racemálódást visszaszorító adalék, pl. 1-hidroxi-benzotriazol (HOBt) [W. König, R. Geiger, Chem. Ber. 103, 708 (1970)] vagy 3-hidroxi-4-oxo-3,4-dihidrobenzotriazin (HOObt) [W. König, R. Geiger, Chem. Ber. 103, 2054 (1970)] jelenlétében – a gyantához kapcsoljuk. Eljárhatunk úgy is, hogy az aminosav-származék szimmetrikus anhidrid vagy HOBt-, illetve HOObt-észter képzése révén történő aktiválását külön végezzük és az aktivált vegyületet alkalmas oldószerben adjuk a kapcsolódásra képes gyantához.

Az aminosav-származékok kapcsolása, illetve aktiválása oldószerben történik. Alkalmas oldószerek a dimetil-formamid, az N-metil-pirrolidon, diklór-metán vagy a felsoroltak elegyei. Az aktivált aminosav-származékot általában 1,5-4-szeres feleslegben alkalmazuk. Ha a kapcsolódás nem teljes, a kapcsolási műveletet ismételjük anélkül, hogy a peptidgyanta α -aminocsoportján a blokkolást megszüntetnénk (ahogy ez a következő aminosav hozzákapcsolása előtt szükséges lenne).

A kapcsolat sikeres lefutását a ninhidrin-reakció segítségével ellenőrizhetjük [ld. pl. E. Kaiser et al., Anal. Biochem. 34, 595 (1970)]. A szintézist automatán, például az Applied Biosystem cég Synthesizer 430A típusú automatikus szintézisgépén is végezhetjük, ahol a cég szintézis-programjait, vagy pedig saját programokat alkalmazunk, az utóbbira főleg Fmoc-csoporttal védett aminosav-származékok esetén kerül sor.

A fent leírt szintézise után a peptidet egy reagenssel, például folyékony hidrogén-fluoriddal (előnyös a Boc-módszerrel előállított peptidek esetén) vagy trifluor-ecetsavval (előnyös az Fmoc-módszerrel előállított peptidek esetén) lehasíthatjuk. Az említett reagens nemcsak a peptidet hasítja le a gyantáról, hanem az aminosav-származékok oldalláncában lévő egyéb védőcsoportokat is. Így a peptidet – kivéve BHA- és MBHA-gyanták alkalmazása esetén – szabad sav formájában kapjuk. BHA-, illetve MBHA-gyanta alkalmazása esetén a hidrogén-fluoriddal vagy trifluor-metánszulfonsavval végzett lehasítás során a peptidet savamid formájában kapjuk. Peptidamidok előállítására irányuló egyéb eljárások a 37 11 866 és 38 44 378 sz. NSZK-beli közbeocsátási iratokból ismertek. Az ott részletezett eljárásokban a peptidamidot a peptidkémiai szokásosan alkalmazott közepesen erős savakkal (pl. trifluor-ecetsavval) végzett kezelés útján hasítják le a gyantáról, amikor is kationfogó reagensként az alábbiakat használják: fenol, krezol, tiokrezol, anizol, tioanizol, etánditiol, dimetil-szulfid, etil-metil-szulfid vagy hasonló, a szilárd fázisú peptidkémiai szokásosan alkalmazott kationfogók. A felsoroltak egyikét, vagy pedig kettő vagy több kationfogó elegyét alkal-

mazzák. A trifluor-ecetsav alkalmas oldószerrel, például diklór-metánnal hígított is lehet.

Amennyiben azt akarjuk, hogy az oldalláncokon lévő tercbutil-, illetve benzil-védőcsoportok megmaradjanak, a különlegesen módosított hordozón szintetizált peptid lehasítása trifluor-ecetsav 1%-os diklór-metános oldallátával végezhető el (vö. pl. R. C. Sheppard, J. Chem. Soc., Chem. Comm. 1982, 587). Ha csak egyes terc-butil-, illetve benzilcsoportokat akarunk megtartani, a szintézis- és hasítás-lépések alkalmas kombinációjával dolgozunk.

C-terminális amidcsoporttal vagy ω -amino-, illetve ω -guanidinoalkil-csoporttal rendelkező peptidek szintézisét szintén a Sheppard által leírt módosított hordozó gyantán végezzük. Szintézis után az oldalláncban teljesen védett peptidet a gyantáról lehasítjuk, és ezt követően a klasszikus oldat-szintézisben reagáltatjuk a megfelelő aminnal, illetve ω -aminoalkilaminnal vagy ω -guanidinoalkilaminnal, amikor esetleg meglévő további reakcióképes csoportokat ismert módon ideiglenesen védünk.

ω -aminoalkil-csoportot tartalmazó peptidek szintézisére a 264 802 sz. publikált európai szabadalmi bejelentés is ismertetett eljárást.

A jelen találmányban szereplő peptidek főleg a szilárd fázisú technika segítségével készültek, a védőcsoportok vonatkozásában két alapvető taktika szerint:

A szintézishez az Applied Biosystems 430A típusú peptid-szintetizáló gépet alkalmaztuk, az α -aminocsoport ideiglenes védelmére Boc-, illetve Fmoc-csoportokat használva.

Boc-csoport esetén a szintézis során a gép gyártójának előprogramozott szintézis-ciklusait alkalmaztuk.

A C-terminális végén szabad karboxilcsoportot tartalmazó peptidek előállítását a megfelelő aminosavval aktivált 4-(hidroximetil)-fenil-acetamidometil-polisztirol gyanánt [R. B. Merrifield, J. Org. Chem. 43, 2845 (1978)] végeztük. A gyanta az Applied Biosystems terméke. A peptidamidok előállítására MBHA-gyantát (szintén Applied Biosystems) alkalmaztunk. Aktiváló reagensként N,N'-diciklohexil-karbodiimid vagy N,N'-diizopropil-karbodiimid kerültek felhasználásra. Az aktiválás szimmetrikus anhidrid, HOBt-észter vagy HOObt-észter képzése útján történt, oldószer gyanánt diklór-metán, diklór-metán és dimetil-formamid elegye vagy NMP jelenlétében. Az aktivált aminosav-származékot 2-4 ekvivalensnyi feleslegben alkalmaztuk. Nem teljes kapcsolódás esetén a lépést ismételtük.

Amikor is az α -aminocsoport ideiglenes védelmét Fmoc-védőcsoportokkal oldjuk meg, a fent említett szintézisgépbe saját szintézis-programjainkat tápláltuk be. Hordozóként ismert módon a megfelelő aminosavval észtereztett (E. Atherton et al., J. C. S. Chem. Comm. 1981, 336) p-benziloxi-benzil-alkohol gyantát [S. Wang, J. Am. Chem. Soc. 95, 1328 (1973)] alkalmaztunk, amely a Bachem cég terméke. Az aminosav-származék HOBt- vagy HOObt-észterezéssel történő aktiválását közvetlenül a gép gyártója szállítója patronokban végeztük úgy, hogy az aminosav, HOBt vagy HOObt patronban lévő elegyéhez diizopropil-karbo-

diimid dimetil-formamidos oldatát adtuk. Alkalmazhatunk azonban kész Fmoc-aminosav-OObt-észtereket is (247 573 sz. publikált európai szabadalmi bejelentés). A Fmoc-védőcsoportot a reakcióedényben hasítottuk le, piperidin 20%-os dimetil-formamidos oldatával. A reakcióképes aminosav-származék feleslege a sztöchiometrikus mennyiség 1,5–2,5-szerese volt. Ha a kapcsolódás nem volt teljes, ugyanúgy, mint a Boc-módszer esetén is, megismételtük.

Az (I) általános képletű peptidek – egyenként vagy egymással kombinálva – bradikinin-antagonista hatást mutatnak, amelyet különböző modelleken lehet tesztelni (Handbook of Exp. Pharmacol. Vol. 25, Springer Verlag, 1970, 53–55. old.), így például az izolált patkányuteruszon, a tengerimalac ileumán vagy a tengerimalac izolált pulmonális artériáján.

Az izolált Arteria pulmonalis-on végzett kísérletekhez Dunklin Hartley fajtájú, 400–450 g testtömegű tengerimalacokat tarkóncsapással megöltünk. A mellkast felnyitottuk, és az Arteria pulmonalis-t óvatosan kikapartuk. A környező szövetet eltávolítottuk, és az artériát 45°-os szögben spirálszerűen felvágtuk.

A 2,5 cm hosszúságú, 3–4 mm szélességű ércsíkot 10 ml térfogatú szervfürdőben rögzítettük. A fürdő Ringer-féle oldattal van töltve, amelynek összetétele az alábbi:

	mmol/l
NaCl	154
KCl	5,6
CaCl ₂	1,9
NaHCO ₃	2,4
glükóz	5,0.

Az oldaton keresztül 95 tf% O₂ és 5 tf% CO₂ tartalmú gázkeveréget buborékolattunk, és az oldatot 37 °C-ra melegítettük. A pH 7,4, a csík előterhelése 1,0 g volt.

Az izotonikus összehúzódás változását emelővel HF-modem típusú útmérőre (gyártja: Hugo Sachs) közvetítettük, és kompenzációs írókészülékkel (BEC, Goerz Metrawatt SE 460) regisztráltuk.

Az órák kiegyenlítődés után a kísérlet kezdődött. Miután az ércsíkok a 2×10^{-7} mol/l koncentrációjú bradikinnel szembeni maximális érzékenységet érték el (bradikinin az ércsík összehúzódását eredményezi), a peptideket 5×10^{-8} – 1×10^{-5} dózisokban 10 percen át hatni hagyjuk, és újabb bradikinin-adagolás után a bradikinin hatásának csökkenését vizsgáltuk, és a kontrollal hasonlítottuk össze.

Esetleges parciál-agonista hatás kimutatására a peptideket 1×10^{-5} és 1×10^{-3} közötti dózisban alkalmazzuk.

A dózis/hatás-görbékből kiszámított IC₅₀-értékeket az alábbi táblázatban adjuk meg.

Táblázat:

Vegyület	IC ₅₀ [M]
H-(D)-Arg-Arg-Pro-Hyp-Gly-Phe-Ser-(D)-Phe-Oic-Arg-OH	$1,4 \times 10^8$

A találmány szerint előállítható peptidek terápiás alkalmazhatósága az összes olyan kóros állapotra kiter-

jed, amelyet a bradikinin és rokon hatású peptidek közvetítenek, kiváltanak vagy fokoznak. Ide tartoznak egyebek között a traumák, így sebek, égési sérülések, továbbá kiütések, eritémák, ödémák, angina, artritisz, asztma, allergiák, rinitis, sokk, gyulladások, alacsony vérnyomás, fájdalom, viszketés és a spermiumok megváltozott mozgékonyága.

Ezért a találmány az (I) általános hatóanyagokat tartalmazó gyógyszerkészítmények előállítására is kiterjed.

A készítmények egy vagy több (I) általános képletű hatóanyagot tartalmaznak hatékony dózisban, a gyógyászatban alkalmazható szerves vagy szervetlen hordozóanyag mellett.

Az alkalmazás enterálisan, parenterálisan – így pl. szubkután, i. m. vagy i. v. –, szublingválisan, epikután, nazálisan, rektál, hüvelyen belül, intrabukkálisan vagy inhalációval történhet. A dózis a melegvérű fajától, testtömegétől, korától és az alkalmazás módjától függ.

A gyógyászati készítményeket ismert oldási, keverési, granulálási vagy drasztéképző műveletekkel állítjuk elő. Orális beadás vagy a nyálkahártyákon keresztül történő alkalmazás céljából a hatóanyagokat a szokásosan ilyen célra alkalmazott hordozóanyagokkal, stabilizátorokkal vagy közömbös hígítószerrel összekeverjük és ismert módon alkalmazható készítménnyé alakítjuk. Alkalmas formák például a tabletták, draszték, kapszulák, vizes, alkoholos vagy olajos szuszpenziók vagy vizes, alkoholos vagy olajos oldatok. Közömbös hordozóként például az alábbiak alkalmazhatók: gumi arabikum, magnézium-oxid, magnézium-karbonát, kálium-foszfát, tejcukor, glükóz, magnézium-sztearil-fumarát vagy keményítő, előnyösen kukoricakeményítő. Az elkészítés során mind száraz, mind nedves granulálást alkalmazhatunk. Olajos hordozó anyagnaként vagy oldószerként például növényi vagy állati eredetű olajokat, így napraforgóolajat vagy csukamájolajat alkalmazhatunk.

Helyi alkalmazás céljára a készítmény például vizes vagy olajos oldat, lotion, emulzió vagy zselé, kenőcs, zsíros kenőcs vagy amennyiben lehetséges spray (permet) lehet, adott esetben tapadásjavító polimer adalékkal.

Intranazális alkalmazás céljára a hatóanyaghoz az erre a célra alkalmas adalékokat, így stabilizátort vagy közömbös hígítószeret adunk és alkalmas készítménnyé, így vizes, alkoholos vagy olajos szuszpenzióvá vagy oldattá alakítunk. Vizes intranazális készítményű kelátképzőt, etilén-diamin-N,N,N',N'-tetraecetsavat, citromsavat, borkósavat vagy a felsoroltak sóit adhatjuk. Az oldat adagolása adagoló porlasztó segítségével történhet, vagy a viszkozitást növelő adalékkal ellátott oldatot cseppentővel adagoljuk, vagy kenhető gél vagy orrkremet készítenek.

Inhalációs alkalmazáshoz közömbös nyomógázzal permetezhető készítményt állíthatunk elő.

Intravénás, szubkután, epikután vagy intradermális alkalmazás céljára az aktív vegyületből vagy fiziológiailag elviselhető sójából oldatot, szuszpenziót vagy emulziót készítenek, adott esetben a gyógyszerkészítés-

ben szokásos segédanyagokkal, így izotonikus szerrel, a pH-érték beállításához alkalmas adalékkal, oldódást elősegítő adalékkal, emulgeátorral vagy egyéb segédanyaggal.

Tekintettel arra, hogy az új hatóanyagok közül néhánynak testnedvekben rövid a felezési ideje, célszerű, ha befecskendezhető, késleltetett hatású gyógyszert készítenek. Ilyenek például olajos kristály-szuszpenziók, mikrokapszulák, rodok vagy implantátumok; az utóbbiakhoz szövetbarát polimerek, különösen biológiailag lebontható polimerek alkalmazhatók, amelyek például politejsav-poliglikolsav-kopolimer vagy humán-albumin alapúak lehetnek.

Helyileg és inhalációval alkalmazható készítmények általában 0,01–5 mg/ml, szisztémikus formák 0,01–10 mg/kg hatóanyag tartalmúak.

Az aminosavak rövidítései a peptidkémiaiában szokásos hárombetűs kódznak felelnek meg [Europ. J. Biochem. 138, 9 (1984)]. A további rövidítések az alábbi jelentésűek:

Boc	terc-butoxikarbonil-csoport
tBu	terc-butilcsoport
DMF	dimetil-formamid
Fmoc	9-fluorenil-metil-oxikarbonil-csoport
Hyp	hidroxiprolin
NMP	N-metil-pirrolidin
Oic	cisz,endo-oktahidroindol-2-karbonil-csoport
Pmc	2,2,5,7,8-pentametil-kromán-6-szulfonil-cs.

Az alábbi példákkal a találmány szerint előállítható peptidek szilárd fázison történő szintézisének előnyös módszereit közelebbről ismertetjük anélkül, hogy a találmányt ezekre a példákra korlátoznánk.

Az alábbi aminosav-származékok kerültek alkalmazásra:

Fomac-Arg(Mtr)-OH, Boc-(D)-Arg-OH, Fmoc-Arg(Pmc)-OH,
Fmoc-Hyp-OH, Fmoc-Pro-OObt, Fmoc-Gly-OObt, Fmoc-Phe-OObt,
Fmoc-Ser(tBu)-OObt, Fmoc-(D)-Phe-OH, Fmoc-Gln-OH,
Fmoc-Aoc-OH, Fmoc-Thia-OH, Fmoc-Opr-OH, Fmoc-(D)-Asn-OH,
Fmoc-β-Ala-OH, Fmoc-Oic-OH:

Példa

H-(D)-Arg-Arg-Pro-Hyp-Gly-Phe-Ser-(D)-Phe-Oic-Arg-OH

A cím szerinti vegyületet az Applied Biosystems cég 430 A típusú peptid-szintetizáló gépével állítjuk elő az Fmoc-módszer szerint, Fmoc-Arg(Mtr)-OH-val észterezett p-benzil-oxibenzilalkohol-gyanánt (gyártja: Novabiochem; terhelés: kb. 0,5 mmol/g gyanta), az Fmoc-módszernek megfelelően módosított szintézisprogram segítségével.

A szintetizáló gép patronjaiba 1 mmol szabad karboxil-csoportos aminosav-származékot és 0,95 mmol HOOBt-ot mérünk be. Az aminosav aktiválását közvetlenül a patronban végezzük úgy, hogy az aminosavat 4 ml dimetil-formamidban oldjuk és 2 ml 0,55 mólos dimetil-formamidos diizopropil-karbodiimid-oldatot adagolunk.

A többi aminosav HOOBt-észterét 6 ml N-metil-pirrolidinben oldjuk és utána – akár az in situ előaktivált aminosavat – az előzetesen piperidin 20%-os DMF-os oldatával védőcsoportjaitól megszabadított gyantához kötjük. A szintézis befejeztével a peptidet trifluor-ecetsavval, kationfogóként tioanizolt és etándiol alkalmazva lehasítjuk a gyantáról, miközben az oldalláncok védőcsoportjai szintén lehasadnak. A trifluor-ecetsav ledesztillálása után kapott maradékot többszörösen etil-acetátban digeráljuk, majd centrifugáljuk. A maradékot Sephadex LH 20 adszorbensen 10%-os ecetsavval kromatografáljuk. A tiszta peptidet tartalmazó frakciókat egyesítjük és fagyaszttva szárítjuk. MS(FAB): 1292,4 (M+H).

SZABADALMI IGÉNYPONTOK

1. Eljárás (I) általános képletű peptidek és fiziológiailag elviselhető savaddíciós sóik előállítására

A-B-C-E-F-(D)-Phe-G-Arg-OH (I)
amelyben

30 A (D)- vagy (L)-H-Arg;
B Arg;
C Pro-Hyp-Gly;
E Phe;
F Ser;

35 G cisz-endo-, cisz-exo-, transz-oktahidroindol-2-karbonsav-maradéka,

40 azzal jellemezve, hogy az (I) általános képletnek megfelelő C-terminálisán szabad karboxilcsoportot hordozó aminosavat szilárd fázisú hordozóhoz kötjük, és ezt a következő aminosavat szilárd fázisú hordozóhoz kötjük, és ezt a következő aminosavval kondenzáljuk, lépésként, majd a kapott vegyületről adott esetben egy vagy több, az oldalláncbeli reakcióképes csoportok védelmére ideiglenesen bevezetett védőcsoportot lehasítjuk és kívánt esetben a kapott (I) általános képletű vegyületet fiziológiailag elviselhető savaddíciós sóvá alakítjuk.

2. Eljárás gyógyszerkészítmény előállítására, azzal jellemezve, hogy egy, az 1. igénypont szerint előállított (I) általános képletű peptidet – ahol A, B, C, E, F és G jelentése az 1. igénypont szerinti – vagy fiziológiailag elviselhető savaddíciós sóját a gyógyszergyártásban szokásos hordozó és egyéb segédanyagokkal összekeverjük és gyógyszerkészítménnyé alakítjuk.