

61.612/SM

K I V O N A T

Háromfunkciós antitrombin és antiplatelet peptidek

Merrell Pharmaceuticals Inc., CINCINNATI, Ohio,

AMERIKAI EGYESÜLT ÁLLAMOK

A bejelentés napja: 1994. 05. 13.

Elsőbbsége: 1993. 06. 11. (08/076,066)

AMERIKAI EGYESÜLT ÁLLAMOK

A nemzetközi bejelentés száma: PCT/US94/05355

A nemzetközi közzététel száma: WO 94/29349

A találmány tárgya az

X-A-B-C-Y (1)

(1) általános képletű vegyületek, ahol az általános képletben

X jelentése terminális aminocsoport, amely lehet hidrogénatom, egy vagy két 1-6 szénatomszámú alkilcsoport, egy vagy két 2-10 szénatomszámú acil-csoport, karbobenziloxi-csoport, $H_2NC(=NH)$ -csoport vagy terc-butoxi-karbonil-csoport;

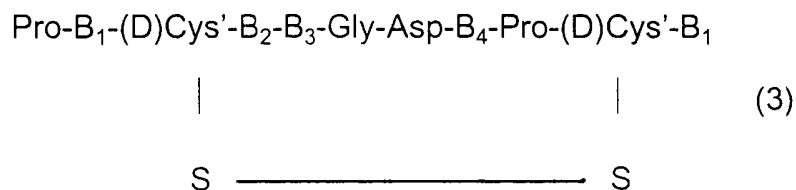
A jelentése $[A_1-A_2-A_3]^{(2)}$ általános képletű peptid analóg-csoport; ahol A_1 jelentése (D)Phe, (D)Phg, (D)1-Tiq, (D)3-Tiq, N-Me-(D)Phe, (D)Cha, (D)Chg, (D)Nag, vagy (D)Thg;

A_2 jelentése Pro, Pip, vagy Azt;

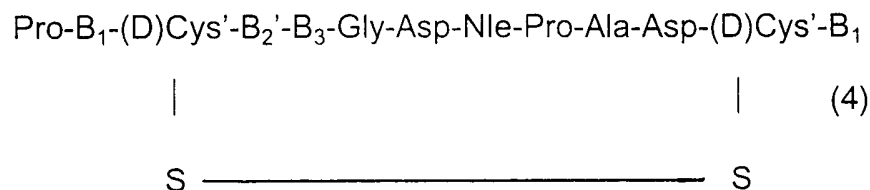
A_3 jelentése Arg, Lys, Orn, vagy hArg;

B jelentése γ (3) ^{yaan (4)} általános képletű peptid-analóg

- 2 -



~~vagy~~



ahol

B₁ jelentése Gly, Ala, (D)Ala, Val, (D)Val, vagy Gly-Gly;

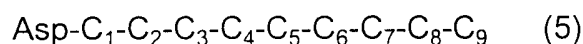
B₂ jelentése Gly, Gly-Gly, Gly-Gly-Gly, Gly-Gly-Gly-Gly vagy bármely (D) aminosav;

B₂' jelentése Arg-Ile-Pro vagy Lys-Ile-Pro;

B₃ jelentése Arg, hArg, N-Me-Arg vagy Lys;

B₄ jelentése Nle, Phe, Met vagy Cha;

C jelentése ~~az~~ (5) általános képletű peptid-analóg



ahol

C₁ jelentése Phe, pClPhe, pNO₂Phe, Tha, Npa, Tyr vagy Trp;

C₂ jelentése Glu vagy Asp;

C₃ jelentése bármely aminosav;

C₄ jelentése Ile, Val, Leu vagy Phe;

C₅ jelentése Pro, Hyp, Sar, NMePgl vagy D-Ala;

C₆ jelentése bármely aminosav;

C₇ jelentése bármely aminosav;

- 3 -

C₈ jelentése Tyr, Glu, Pro, Ala-Cha, Tyr-Cha, Tyr-Leu és Ala-Tyr;

C₉ jelentése egy kötés vagy Glu, (D)Glu, Gln, Pro, Leu-Gln, Asp-Glu vagy Leu-Pro; és

Y jelentése karboxi-terminális csoport, amely lehet hidroxilcsoport, 1-6 szén-atomszámú alkoxi-csoport, aminocsoport, mono- vagy di-(1-4 szénatom-számú)-alkil-szubsztituált-amino-csoport vagy benzil-amino-csoport; vagy gyógyszerészetileg elfogadható sói.

A találmány szerinti vegyületet antikoaguláns vagy vérlemez aggregáció ellenes hatóanyagként alkalmazzák és gyógyszerészetben használható.

jelölés és címkés
Gualar

3530/95

61.612/SM

S.B.G. & K.
Nemzetközi
Szabadalmi Iroda
H-1062 Budapest, Andrássy út 113.
Telefon: 34-24-950, Fax: 34-24-323

3 1 5

A

3 5 3 0 / 9 5

KÖZZÉTÉTELI PÉLDÁNY

Háromfunkciós antitrombin és antiplatelet peptidek



Merrell Pharmaceuticals Inc., CINCINNATI, Ohio,

AMERIKAI EGYESÜLT ÁLLAMOK

Feltalálók: BROERSMA Robert James, CINCINNATI, Ohio,

OWEN Thomas Joseph, CINCINNATI, Ohio,

KRSTENANSKY John Leonard, PALO ALTO, California,

AMERIKAI EGYESÜLT ÁLLAMOK

A bejelentés napja: 1994. 05. 13.

Elsőbbsége: 1993. 06. 11. (08/076,066)

AMERIKAI EGYESÜLT ÁLLAMOK

A nemzetközi bejelentés száma: PCT/US94/05355

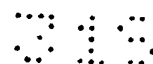
A nemzetközi közzététel száma: WO 94/29349



Az antikoaguláns hatású anyagok terápiás hatóanyagként alkalmazhatók például akut mélyvénás trombózis, tüdő embólia, a végtagokban akut artériás embólia, szívizom infarktus, gutaütés és szórt intravaszkuláris koaguláció gyógyászati kezelésében. Kimutatták, hogy az antikoagulánsok megelőző adagolása megakadályozza az embólia kialakulását reumatikus vagy arterioszklerotikus szívbetegség esetén és megakadályozza sebészeti beavatkozás bizonyos trombó-embóliás szövődményeit. Az antikoagulánsok (alvadásgátlók) továbbá alkalmazhatók szívkoszorúér és agy érrendszeri betegségek kezelésében is. Az artériás trombózis különösen a szívmot és az agyat ellátó artériák esetében a halálokok között vezető helyen áll.

A fenti betegségek kialakulásában a patogén mechanizmus elsősorban a vérlemez mediált artériás trombózis következtében alakul ki. Ebből eredően amennyiben a vérlemez aggregációt inhibiáló és a trombint inhibiáló hatóanyagot fejlesztenek ki, ez egy trombózis ellenes ideális szer létrejöttét jelenti. A vérlemez aggregáció alapvető lépése (amelyet különféle agonista hatású anyagok indukálnak) a fibrinogén kötődése az Arg-Gly-Asp (RGD) szekvencián keresztül a vérlemez aktivált glükoproteinjéhez (GP) IIb/IIIa receptorokon, amely utóbbi az integrin család körébe tartozik [F.A. Marguerie és munkatársai, J. Biol. Chem. 254,5357-5363 (1979); D. Collen, és munkatársai, *Thrombolysis in Cardiovascular Disease*, D. Juian, és munkatársai, Marcel Dekker, Inc., New York (1989); 45-67]. Ezt a kötődést lineáris és ciklusos RGD-tartalmú szintetikus peptidek inhibiálják [E.F. Plow és munkatársai, Prog. Hemostas, Thromb. 9, 117-156 (1989); E.F. Plow és munkatársai, Proc. Natl. Acad. Sci., USA 82, 8057-8061 (1985)].

Az utóbbi vizsgálatok során kimutatták, hogy amennyiben kombinálják a trombin inhibiálást és a vérlemezt glükoprotein (GP) IIb/IIIa (integrin) receptor



blokkolását, egyetlen hibrid peptidben, ez a peptid ezután antikoaguláns és vérlemez képződés ellenes aktivitással is rendelkezik [F.C. Church és munkatársai, J. Biol. Chem. 266, 11975-11979 (1991)]. Ezen túlmenően leírtak olyan peptid típusú trombin inhibitorokat, amelyek egyben katalitikus és anionkötő exo-helyzetű szekvencia inhibitorokat kombinálnak [J.M. Maraganore, és munkatársai, Biochemistry, 29, 7095-7101 (1990) és J. DiMaio, és munkatársai, J. Biol. Chem., 265, 21698-21703 (1990)]. Ezen peptidek aktivitásának meghatározását úgy végezték, hogy a két komponenst elválasztották, amely két komponens a trombin aktív helyhez kötődő komponens, illetve a megfelelő hosszúságú távtartó révén kialakított exo-helyzeten kötődő komponens. Ezek a vizsgálatok kimutatták, hogy az olyan peptidek, amelyek minimálisan 4-aminősav-maradékból álló láncot tartalmaznak a katalitikus hely inhibitor és az anion-kötő exo-helyzet szekvencia között, mutatják a maximális trombin inhibáló hatást. Ezek az eredmények egyben alátámasztják a keresztkötés (térhálósító) vizsgálatok eredményeit, amelyekben kimutatták, hogy a hirudin-analógok NH₂-terminális csoport (amelyek az anion-kötő exo-helyzethez kötődnek a trombinon) távolsága, valamint a trombin katalitikus helyén található Ser-195 hidroxilcsoport közötti távolság kb. 18-20 Å [B. Furie, és munkatársai, J. Biol. Chem., 257, 3875-3882 (1982) és W. Bode, és munkatársai, EMBO J., 8, 3467-3475 (1989)].

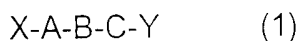
A WO 92/10575 számú 1992. június 25-én közzétett szabadalmi bejelentésben trifunkciós inhibitorokat írtak le, amelyek inhibálják a vérlemez aktiválást és a trombint. Ezek az inhibitorok egy glükoprotein IIb/IIIa inhibáló egységet és egy trombin inhibáló egységet tartalmaznak, amely egy katalitikus helyhez (receptorhoz) kötődő egységet tartalmaz, és ehhez a receptorhoz kötődik és a trombin aktív receptorhelyét inhibálja. A katalitikus receptorhoz kapcsolódó egy-



ség egy anionkötő exo-receptorhoz kapcsolódik és ez a kapcsolódás egy összekötő molekulaegységen át történik, amely egy gerincláncot tartalmaz és ezen lánc számított hossza kb. 18A-42A közötti.

Kísérleteink során kimutattuk, hogy amennyiben egy trombin katalitikus-receptor inhibitor (például (D)Phe-Pro-Arg vagy analóg) egységet kapcsolunk egy anion-kötő exo-helyzettel kapcsolódó egységgel (hirudin₅₅₋₆₅ analóg) egy ciklusos Arg-Gly-Asp-X „áthidaló” szekvencián keresztül trifunkcionális peptidet nyerünk, amely a katalitikus és anion-kötődő exo-helyzet inhibícióval rendelkezik a trombinban, ugyanakkor viszont ugyanilyen aktivitással rendelkezik a vélemez glükoprotein (GP) IIb/IIIa receptor inhibícióban is. Vizsgálatainkban továbbá kimutattuk, hogy a peptid vélemez aggregáció inhibíció hatása, valamint antikoaguláns aktivitása jelentősen megnövelt, abban az esetben, amennyiben a trombin katalitikus-helyzet inhibitor és a hirudin₅₅₋₆₅ analóg kötésére szolgáló diszulfid hidakat képző cisztein maradékok (D)-konfigurációjúak. Az aktivitás további növekedését tapasztaltuk, amennyiben a ciklusos Arg-Gly-Asp-X „áthidaló” szekvenciában a fenil-alanint norleucinnal helyettesítettük. A fenti új vegyületcsoport egy kiegészítő terápiát is lehetővé tesz, mivel megnövelt potenciállal és két hatásmechanizmussal is rendelkezik.

A találmány tárgya az



általános képletű vegyületek, ahol az általános képletben

X jelentése terminális aminocsoport, amely lehet hidrogénatom, egy vagy két 1-6 szénatomszámú alkilcsoport, egy vagy két 2-10 szénatomszámú acilcsoport, karbobenziloxi-csoport, H₂NC(=NH)-csoport vagy terc-butoxi-karbonil-csoport;

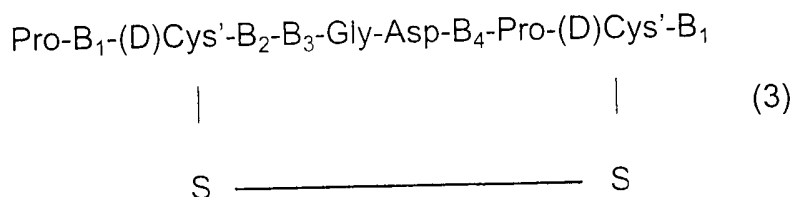


A jelentése $A_1-A_2-A_3$ (2) általános képletű peptid analóg-csoport; ahol
 A_1 jelentése (D)Phe, (D)Phg, (D)1-Tiq, (D)3-Tiq, N-Me-(D)Phe, (D)Cha,
 (D)Chg, (D)Nag, vagy (D)Thg;

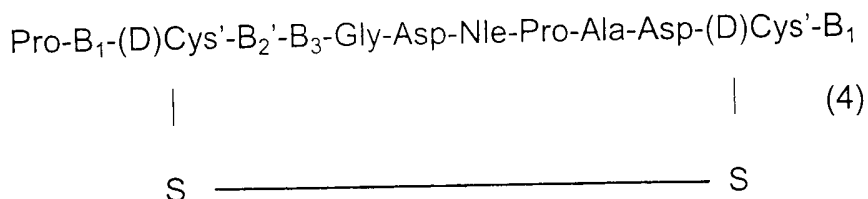
A_2 jelentése Pro, Pip, vagy Azt;

A_3 jelentése Arg, Lys, Orn, vagy hArg;

B jelentése a (3) általános képletű peptid-analóg



vagy



ahol

B_1 jelentése Gly, Ala, (D)Ala, Val, (D)Val, vagy Gly-Gly;

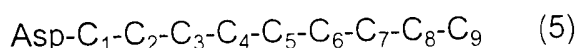
B_2 jelentése Gly, Gly-Gly, Gly-Gly-Gly, Gly-Gly-Gly-Gly vagy bármely (D)
 aminosav;

B_2' jelentése Arg-Ile-Pro vagy Lys-Ile-Pro;

B_3 jelentése Arg, hArg, N-Me-Arg vagy Lys;

B_4 jelentése Nle, Phe, Met vagy Cha;

C jelentése az (5) általános képletű peptid-analóg



ahol

C_1 jelentése Phe, pClPhe, pNO₂Phe, Tha, Npa, Tyr vagy Trp;

C_2 jelentése Glu vagy Asp;



C₃ jelentése bármely aminosav;

C₄ jelentése Ile, Val, Leu vagy Phe;

C₅ jelentése Pro, Hyp, Sar, NMePgl vagy D-Ala;

C₆ jelentése bármely aminosav;

C₇ jelentése bármely aminosav;

C₈ jelentése Tyr, Glu, Pro, Ala-Cha, Tyr-Cha, Tyr-Leu és Ala-Tyr;

C₉ jelentése egy kötés vagy Glu, (D)Glu, Gln, Pro, Leu-Gln, Asp-Glu vagy Leu-Pro; és

Y jelentése karboxi-terminális csoport, amely lehet hidroxilcsoport, 1-6 szénatomszámú alkoxi-csoport, aminocsoport, mono- vagy di-(1-4 szénatomszámú)-alkil-szubsztituált-amino-csoport vagy benzil-amino-csoport;

vagy gyógyszerészetileg elfogadható sóik, amelyek antikoaguláns hatóanyagként alkalmazhatók. A találmány tárgya továbbá a fenti vegyületek alkalmazása akut érplasztikai elzáródás, testen kívüli cirkuláció által indukált vérbeni sejthiány, szívizom infarktus kialakulása és fibrinolysis terápiát követő érelzáródás kezelésében.

A diagrammok rövid ismertetése

1. ábra: Oszlopdigrammban bemutatjuk a (2) peptid hatását az FeCl₃ artériás elzáródás időre patkányokban. A kontrollcsoport a nem-sötétített oszlopokkal jelzett, a (2) peptiddel végzett kezelést pedig a sötétített oszlopokban mutatjuk be. Az ábrán p jelentése a valószínűség, n jelentése a tesztvizsgálatnak alávetett állatok száma.

2. ábra: Az ábrán oszlopdigrammban bemutatjuk a (2d) (nem jelen találmány szerinti) peptid hatását FeCl₃ által előidézett artériás elzáródási időre patkányokban. A kontroll csoportot a nem sötétített oszlopokkal jelezzük, míg a (2d)

peptid hatását a sötétített oszlopok jelzik. Az ábrán p jelentése a valószínűség és n jelentése a tesztvizsgálatnak alávetett állatok száma.

3. ábra: Az ábrán bemutatjuk az (1) peptid hatását a trombin-növelt teljes vér aggregációra. (▲) humán vérminták, (+) patkány vérminták.

4. ábra: Az (1) általános képletű peptid infúzió hatása a trombin időre érzéstelenített kutyában (▲) 5 nmol/kg/perc sebességű infúzió esetében, (+) 1 nmol/kg/perc sebesség esetében. (■) az infúziós idő.

5. ábra: (1) általános képletű peptid hatása aPTT-re érzéstelenített kutyában (▲) 5 nmol/kg/perc infúzió sebesség, (+) 1 nmol/kg/perc infúzió sebesség, (■) az infúzió időtartama.

6. ábra: (1) peptid hatása infúzió esetében a trombin-vérlemez aggregációra kutyákban (▲) 5 nmol/kg/perc infúzió sebesség, (+) 1 nmol/kg/perc infúzió sebesség (■) infúzió időtartama.

7. ábra: (1) peptid hatása érzéstelenített kutyákban a vérzés időtartamára (▲) 5 nmol/kg/perc infúzió sebesség, (+) 1 nmol/kg/perc infúzió sebesség, (■) az infúzió időtartama.

8. ábra: Az (1) peptid infúzió hatása érzéstelenített kutyában a vérlemez számra, (▲) 5 nmol/kg/perc infúzió sebesség, (+) 1 nmol/kg/perc infúzió sebesség, (■) infúzió időtartama.

9. ábra: (1) peptid hatása érzéstelenített kutyákban az átlagos vérnyomásra, (▲) 5 nmol/kg/perc infúzió sebesség, (+) 1 nmol/kg/perc infúzió sebesség, (■) infúzió időtartama.

10. ábra: (1) peptid infúzió hatása érzéstelenített kutyákban a szíverrés sebességére. (▲) 5 nmol/kg/perc infúzió sebesség, (+) 1 nmol/kg/perc infúzió sebesség, (■) infúzió időtartama.

11. ábra: Az ábrán oszlopdiagramm formában bemutatjuk az (1) peptid hatását FeCl_3 által okozott artériás elzáródás időre patkányokban. A kontrollt nem sötétített oszlopokkal jelezzük, míg az (1) peptiddel kezelt csoportot a sötétített oszlopok jelzik. Az ábrán p jelentése valószínűség és n jelentése a tesztvizsgálatnak alávetett állatok száma.

A találmány szerinti leírásban az aminosavak és az amino-, valamint a karboxi-terminális csoportok leírására az alábbi rövidítéseket alkalmaztuk:

Aly (vagy G) - glicin

Ala (vagy A) - alanin

Val (vagy V) - valin

Leu (vagy L) - leucin

Ile (vagy I) - izoleucin

Pro (vagy P) - prolin

Phe (vagy F) - fenil-alanin

Trp (vagy W) - triptofán

Ser (vagy S) - szerin

Met (vagy M) - metionin

Thr (vagy T) - treonin

Cys (vagy C) - cisztein

Tyr (vagy Y) - tirozin

Gln (vagy Q) - glutamin

Asn (vagy N) - aszparagin

Asp (vagy D)	- aszparaginsav
Glu (vagy E)	- glutaminsav
Lys (vagy K)	- lizin
Arg (vagy R)	- arginin
His (vagy H)	- hisztidin
Nle	- norleucin
Chg	- ciklohexil-glicin
Cha	- β -ciklohexil-alanin
Pip	- pipekolsav, pipekolinsav vagy 2-piperidin-karbonsav
Azt	- 2-azetidin-karbonsav
Orn	- ornitin
hArg	- homoarginin
N-Me-Arg	- N-metil-arginin
N-Me-(D)Phe	- N-metil-D-fenil-alanin
Thg	- 3-tienil-glicin
Nag	- naftil-glicin
1-Tiq	- 1,2,3,4-tetrahidro-izokinolin-1-karbonsav
3-Tiq	- 1,2,3,4-tetrahidro-izokinolin-3-karbonsav
Phg	- fenilglicin
pClPhe	- para-klór-fenil-alanin
pNO ₂ Phe	- para-nitro-fenil-alanin
Tha	- 3-(2-tienil-alanin)
Npa	- β -(2-naftil)-alanin
Hyp	- hidroxiprolin
Sar	- szarkozin (N-metil-glicin)

N-Me-Phg - N-metil-fenil-glicin

Pen - penicil-amin

Cys' - (5)

Amennyiben kettő vagy több aminosav egybekapcsolódik és peptidet képez és a víz elemei eltávoznak, az egyes aminosavakból származó maradékot aminosav-maradéknak nevezzük a leírásban. Ennek következtében az aminosav-maradék alatt valamely aminosavat értünk, amely a terminális-aminocsoporton egy hidrogén hiánnyal rendelkezik és/vagy a karboxi-terminális csoporton hidroxilcsoport hiánnyal rendelkezik. A szokásos jelzéseknek megfelelően, amennyiben egy vonalat (-) alkalmazunk az előoldalon (ez a hidrogén hiányt jelzi) és/vagy a hátsó oldalon (amely a hidroxilcsoport hiányt jelzi), a hárombetűs aminosav kód előtt vagy után vagy aminosav származékot jelző kód előtt vagy után, ez egy aminosav-maradékot jelez.

Az (5) képlettel jelzett Cys'-maradék azt jelenti, hogy egy olyan cisztein-maradékról van szó, amely az R-csoport oldalláncon nem tartalmaz szulfid-csoportot. Amint a (3) és (4) általános képletekben bemutattuk, a (D)Cys'-maradékok diszulfid-kötésen keresztül kapcsolódtak. A diszulfid-csoport a (D)Cys'-maradékokhoz a (D)Cys'-maradék metilén-csoportján keresztül kötődtek, amint ezt a (6) képletben bemutatjuk.

Megjegyzendő, hogy az (5) és a (6) általános képletek egyaránt jelölhetnek (D)- vagy (L)-maradékokat.

A leírásban a különféle védőcsoportok rövidítésére az alábbi rövidítéseket alkalmazzuk:

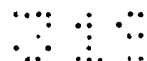
Boc = t-butiloxi-karbonil-csoport

Bzl = benzil-csoport

Mbz	= p-metil-benzil-csoport
Chx	= ciklohexil-csoport
Tos vagy Tozil	= p-toluol-szulfonil-csoport
Cbz	= karbobenziloxi-csoport
BrZ	= bróm-benziloxi-karbonil-csoport
Suc	= szukcinil-csoport
Ac	= acetil-csoport
PAM	= fenil-acetamido-metil-csoport

Az alkilcsoport, illetve az alkoxicssoportban található alkilcsoport lehet egyenes vagy elágazó szénláncú vagy ciklusos alkilcsoport, mint például metil-csoport, etilcsoport, propilcsoport, izopropilcsoport, butil-csoport, izobutil-csoport, terc-butil-csoport, pentil-csoport, izopentil-csoport, szek-pentil-csoport, ciklopentil-csoport, hexil-csoport, izohexil-csoport, ciklohexil-csoport és ciklopentil-metil-csoport. A 2-10 szénatomszámú acilcsoport lehet egyenes, elágazó vagy ciklusos telített és telítetlen acilcsoport, amely egy vagy két karbonilcsoportot tartalmazhat és lehet például acetil-csoport, benzoil-csoport, szukcinil-csoport, maleil-csoport és glutaril-csoport. A halogénatom jelentése lehet fluoratom, klóratom, brómatom vagy jódatom.

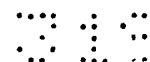
A „bármely aminosav” elnevezés alatt természetesen előforduló aminosavakat, továbbá nem-fehérje típusú α -aminosavakat értünk, amelyeket szokásosan alkalmaznak a szakirodalomban, a peptidkémiaiban, a természetesen előforduló peptidek szintetikus analógjai előállításában. A természetesen előforduló aminosavak a glicin, az alanin, a valin, a leucin, az izoleucin, a szerin, metionin, a treonin, a fenil-alanin, a tirozin, a triptofán, a cisztein, a prolin, a hisztidin, az aszparaginsav, az aszparagin, a glutaminsav, a glutamin, az arginin, az ornitin és



a lizin. A nem-fehérje típusú α -aminosavak a norleucin, a norvalin, az allo-izoleucin, a homoarginin, a tiaprolin, a dehidro-prolin, a hidroxiprolin (Hyp), a homoszerin, a ciklohexil-glicin (Chg), az α -amino-n-butánsav (Aba), a ciklohexil-alanin (Cha), az amino-fenil-butánsav (Pba), a fenil-alaninok, amelyek orto-, meta- vagy para-helyzetben a fenilcsoporton egy vagy két alábbi szubsztituenst tartalmazhatnak: 1-4 szénatomszámú alkilcsoport, 1-4 szénatomoszámú alkoxi-csoport, halogénatom vagy nitrocsoporthoz vagy metiléndioxi-csoport, a β -2- és 3-tienil-alanin, a β -2- és 3-furanil-alanin, a β -2-3- és 4-piridil-alanin, a β -(benzotienil-2- és 3-il)-alanin, a β -(1- és 2-naftil)-alanin, az O-alkilezett szerin származékok, a treonin vagy tirozin-származékok, az S-alkilezett cisztein, a tirozin O-szulfát észtere, a 3,5-dijód-tirozin és a természetesen előforduló aminosavak D-izomerjei.

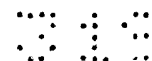
A természetesen előforduló aminosavak a glicin kivételével, királis szénatomot tartalmaznak. Hacsak másképp nem jelezzük, az itt leírt optikailag aktív aminosavak L-konfigurációjúak. Az R szubsztituenst tartalmazó szénatom sztereokémiája D- vagy L-konfiguráció lehet. Amennyiben az aminosav D-konfigurációjú, ezt a leírásban D-aminosavként (D)-aminosav formában jelöljük vagy a betű elnevezésű rendszerben egy kisbetűvel jelöljük, mint például D-fenil-alanin, D-Phe, (D)Phe vagy f, elfogadható jelölés. Mint általában a szakirodalomban, a peptidek leírását a jelen leírásban is úgy végezzük, hogy a láncban az amino-terminális csoport a baloldalon található és a karboxi-terminális csoport a lánc jobb oldalán található.

Az (1) általános képletű találmány szerinti polipeptidek gyógyszerészetileg elfogadható savaddíciós sókat képezhetnek nem-toxikus szerves vagy szervetlen savakkal. A sóképzésben alkalmazható megfelelő savaddíciós só képző szerves-



len savak például a hidrogén-klorid, a hidrogén-bromid, a kénsav és a foszforsav, valamint a savas fémsók, mint például a nátrium-monohidrogén-ortofoszfát és a kálium-hidrogén-szulfát. A megfelelő só képző szerves savak például a mono-, di- és tri-karbonsavak. Ilyen savak például az ecetsav, a trifluor-ecetsav, a glikolsav, a tejsav, a piruvinsav, a malonsav, a borostyánkősav, a glutársav, a fumársav, az almasav, a borkősav, a citromsav, az aszkorbinsav, a maleinsav, a hidroxi-maleinsav, a benzoésav, a hidroxi-benzoésav, a fenil-ecetsav, a fahéjsav, a szalicilsav, a 2-fenoxi-benzoésav, és a szulfonsavak, mint például a metán-szulfonsav és a 2-hidroxi-etánszulfonsav. A karboxi-terminális aminocsoporton képzett sók lehetnek nem-toxikus karbonsav sók, amelyeket bármely szerves vagy szervetlen bázissal képezhetünk. Ilyen sók lehetnek például az alkálifém sók, mint például nátrium és kálium só, az alkáliföldfém sók, mint például a kalcium só és magnézium só, a IIIA csoportba tartozó könnyűfém sók, mint például az alumínium só és a szerves elsőrendű, másodrendű és terciér-aminokkal képzett sók, mint például a trialkil-amin sók, például a trietilamin só, a prokain-só, a dibenzil-amin só, az 1-etán-amin-só, az N,N'-dibenzil-etilén-diamin só, a dihidro-abietilamin só, az N-(kis szénatomszámú)-alkil-piperidin só vagy bármely más alkalmas amin só.

Az (1) általános képletű találmány szerinti új peptid vegyületek a trombin inhibíciót és a vérlemez glükoprotein (GP) IIb/IIIa receptor antagonizmust egyetlen hibrid peptidben kombinálják. A találmány szerinti peptidok tartalmazzak egy trombin katalitikus helyet inhibítor (amely az A rész), amely egy trombin anion-kötő exo-helyzetű inhibítorhoz kapcsolódik (C rész), egy kötő egységen keresztül, amely egy „hidat” és egy ciklusos RGD-X szekvenciát tartalmaz, amely szekvencia GP vérlemez IIb/IIIa receptor antagonista (B rész) hatású.



Az A molekularész egy trombin katalitikus helyzethez kötődő inhibitor egység. Ez a katalitikus helyzethez kötődő egység a trombin aktív receptorához kötődik és inhibálja vagy késlelteti a trombin fehérjebontó aktivitását. A C molekularész egy trombin inhibáló egység, amely úgy jellemezhető, hogy egy anionkötő exo-helyzettel kapcsolódó molekularész. Mivel a C csoport vagy molekularész permutációi szerkezetükben hasonlóak a hirudin karboxi-terminális részéhez, ebből eredően feltehető, hogy a C molekularész könnyen kötődik a trombinon az anion kötő exo-receptorokhoz.

A B molekularész két funkciós részletből áll. Az egyik egy úgynevezett „híd” szekvencia, amely a katalitikus receptor inhibitor (A molekularész) és az anionkötő exo-helyzet inhibitor (C molekularész) közötti kapcsolatot biztosítja, a másik funkciós csoport pedig egy ciklusos RGD-X glükoprotein IIb/IIIa inhibáló csoport. A katalitikus receptor inhibitor egységet (A molekularész) és az anionkötő exo-receptor inhibitor egységet (C molekularész) összekötő „híd” egység a ciklusos RGD-X szekvencia alján található. Ez az áthidaló egység B₁-csoportot Pro, (D)Cys' csoportot tartalmaz és a B rész (D)Cys' két csoportját összekötő biszulfid hidakat tartalmazza. Feltehetően a csoport megfelelő távtartóként szerepel a katalitikus helyzet inhibáló szekvencia és az anion-kötődés exo-helyzet felismerő szekvencia között. Az összekötő „híd” egység a B₁ és az A₃ egységek között prolin-csoportot tartalmaz, mivel a természetes imid-kötés az A₃ és Pro csoport között sokkal lassabban hasad, mint az egyéb aminosav-maradékok közötti amidkötés. Ez elvi feltételezés, azonban a jelen találmányban nem állítjuk, hogy a fenti imid-kötés szerepet játszik a katalitikus helyzet-irányított inhibáló hatásában. Természetesen a leírásba beleértjük, hogy egyéb amidkötés helyettesítő amino-

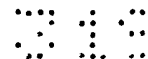
savak funkcionális ekvivalensként alkalmazhatók, ezek lehetnek például redukált amidok, észterek, ketonok és szulfidok is.

A B molekularészben található ciklusos RGD-X glükoprotein IIb/IIIa inhibiáló egység, azaz azon aminosav-maradékok, amelyek a B molekularész D-Cys-maradéka között helyezkednek el, inhibiálják a fibrinogén és receptora, a glükoprotein IIb/IIIa közötti kölcsönhatást. A ciklusos RGD-X glükoprotein IIb/IIIa inhibiáló egység a B molekularészben 6-11 aminosavat tartalmazhat a III és IV képletek szerint. Előnyösen a ciklusos RGD-X glükoprotein IIb/IIIa inhibiáló egység a B molekularészben a (3) képlet szerinti és 6-9 aminosavat tartalmaz a (3) képletben.

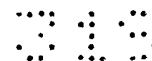
A találmány szerinti molekulákban az A₁ egység az (X) amino-terminális csoporthoz kötött és az A₃ egység a Pro-maradékhoz kapcsolt, amely a B molekularész bal oldalán vagy az N-terminális végén található. A C molekularész bal oldalán vagy N-terminális végén található Asp-maradék a B₁ csoporthoz kötött, amely a B molekularész C-terminális vagy jobb oldalán található.

A találmány szerinti vegyületek közül bizonyos vegyületek előnyösek. Az előnyös (1) általános képletű peptid-származékok azok, amelyekben az általános képletben

- X jelentése hidrogénatom, acetil-csoport, szukcinil-csoport vagy terc-butiloxi-karbonil-csoport;
- A₁ jelentése (D)Phe, (D)Chg, (D)Cha, (D)Phg, (D)1-Tiq, (D)3-Tiq vagy N-Me-(D)Phe;
- A₂ jelentése Pro;
- A₃ jelentése Arg vagy Lys;
- B jelentése (3) vagy (4) általános képletű csoport;



- B₁ jelentése Gly, Ala vagy Gly-Gly;
- B₂ jelentése Gly, Gly-Gly vagy bármely (D) aminosav, ahol B jelentése (3) általános képletű csoport;
- B₂' jelentése Arg-Ile-Pro vagy Lys-Ile-Pro, amennyiben B jelentése (4) általános képletű csoport;
- B₃ jelentése Arg vagy N-Me-Arg;
- B₄ jelentése Nle, Phe, Cha, Met;
- C₁ jelentése Phe, Npa vagy Tyr;
- C₂ jelentése Glu vagy Asp;
- C₃ jelentése bármely aminosav csoport;
- C₄ jelentése Ile vagy Val;
- C₅ jelentése Pro, Hyp vagy (D)Ala;
- C₆ jelentése bármely aminosav csoport;
- C₇ jelentése Glu, Asp, vagy Ala;
- C₈ jelentése Tyr, Glu, Tyr-Leu, Tyr-Cha vagy Ala-Cha;
- C₉ jelentése egy kötés, (D)Glu, Glu, Gln, Leu-Gln vagy Leu-Pro;
- és
- Y jelentése hidroxilcsoport, 1-6 szénatomszámú alkoxics csoport vagy mono- vagy di-(1-4 szénatomszámú) alkil-szubsztituált aminocsoport.
- Ugyancsak előnyös (1) általános képletű találmány szerinti vegyületek, ahol az általános képletben
- X jelentése hidrogénatom, acetyl csoport vagy terc-butoxi-karbonil-csoport;
- A₁ jelentése (D)Phe, (D)Phg, (D)3-Tiq vagy N-Me-(D)Phe;
- A₂ jelentése Pro;
- A₃ jelentése Arg;



- B jelentése (3) vagy (4) általános képletű csoport;
- B₁ jelentése Gly;
- B₂ jelentése Gly, (D)Tyr, (D)Val, (D)Thr, vagy (D)Pro, ahol B jelentése (3) általános képletű csoport;
- B₂' jelentése Arg-Ile-Pro, ahol B jelentése (4) általános képletű csoport;
- B₃ jelentése Arg vagy N-Me-Arg;
- B₄ jelentése Nle vagy Phe, azzal a feltétellel, hogy amennyiben B₂ jelentése (D)Tyr, (D)Val, (D)Thr vagy (D)Pro, ahol B₄ jelentése Nle;
- C₁ jelentése Phe vagy Tyr;
- C₂ jelentése Glu;
- C₃ jelentése Glu vagy Pro;
- C₄ jelentése Ile;
- C₅ jelentése Pro vagy (D)Ala;
- C₆ jelentése Glu vagy Ala;
- C₇ jelentése Glu;
- C₈ jelentése Tyr, Tyr-Leu, Tyr-Cha vagy Ala-Cha;
- C₉ jelentése egy kötés vagy (D)Glu; és
- Y jelentése hidroxilcsoport, 1-6 szénatomszámú alkoxicssoport vagy mono- vagy di-(1-4 szénatomszámú) alkil-szubsztituált aminocsoport.
- Különösen előnyös (1) általános képletű találmány szerinti peptid-származékok, ahol az általános képletben
- X jelentése hidrogénatom, acetylcssoport vagy terc-butoxi-karbonil-csoport;
- A₁ jelentése (D)Phe, (D)Phg, (D)3-Tiq vagy N-Me-(D)Phe;
- A₂ jelentése Pro;
- A₃ jelentése Arg;

- B jelentése (3) általános képletű csoport;
- B₁ jelentése Gly;
- B₂ jelentése Gly, (D)Tyr, (D)Val, (D)Thr vagy (D)Pro;
- B₃ jelentése Arg;
- B₄ jelentése Nle vagy Phe, azzal a feltétellel, hogy amennyiben, B₂ jelentése (D)Tyr, (D)Val, (D)Thr vagy (D)Pro, akkor B₄ jelentése Nle;
- C₁ jelentése Phe;
- C₂ jelentése Glu;
- C₃ jelentése Pro;
- C₄ jelentése Ile;
- C₅ jelentése Pro;
- C₆ jelentése Glu vagy Ala;
- C₇ jelentése Glu;
- C₈ jelentése Tyr, Tyr-Cha vagy Ala-Cha;
- C₉ jelentése egy kötés vagy (D)Glu; és
- Y jelentése hidroxilcsoport vagy 1-6 szénatomszámú alkoxicssoport.

A találmány szerinti peptideket a szakirodalomban leírt eljárásoknak megfelelően több módon előállíthatjuk. Ilyen előállítási eljárás nem limitáltan lehet a szilárd fázisú szekvenciális eljárás, amelyet automata módszerrel, mint például automata peptid szintetizáló berendezés alkalmazásával hajthatunk végre. Az eljárás során az α -aminocsoporton védett-aminosavakat egy gyanta hordozóhoz kötjük. Az alkalmazott gyanta hordozó bármely alkalmas gyanta lehet, amelyet a szilárd fázisú polipeptid előállítási eljárásokban a szakirodalomban alkalmaznak. Előnyösen az alkalmazott gyanta polisztirol, amely 0,5 - kb. 3% divinil-benzol segítségével térhálósított. Ez a gyanta lehet klór-metilezett vagy hidroximetilezett



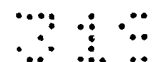
és így a kezdetben bevezetett α -aminocsoporton védett-aminosavakkal észterkötést tud létrehozni.

Az egyik alkalmazható hidroximetil-gyántát leírták a Bodanszky és munkatársai, Chem. Ind. (London) 38, 1597-98 (1966) közleményükben. Egy klór-metilezet-gyanta kereskedelemben kapható (a Bio Rad Laboratories, Richmond, California terméke) és a gyanta előállítási eljárását leírták a Stewart és munkatársai, a „Solid Phase Peptide Synthesis” (Freeman & Co., San Francisco 1969) Chapter 1, 1-6 közleményben. A védett-aminosavat a gyantához azzal az eljárással kapcsolhatjuk, amelyet leírtak a Gisin, Helv. Chem. Acta, 56, 1476 (1973) közleményben. Például amennyiben olyan polipeptidet kívánunk előállítani, amelynek karboxi-terminális csoportja egy (D)Glu-maradék, egy Boc-D-Glu(Bzl) molekulát kapcsolunk, cézium só formájú klór-metilezett polisztirolhoz kb. 50°C hőmérsékleten.

Miután az α -aminosavat a gyantához kötjük bármely alkalmas eljárás alkalmazásával, a védőcsoportot eltávolítjuk, amely lehet például trifluorecetsav metanolos oldatának használata, trifluorecetsav önmagában történő felhasználása vagy HCL dioxános oldat használata. A védőcsoport eltávolítást 0°C és szobahőmérséklet közötti hőmérsékleten hajtjuk végre. Az egyes α -aminocsoport védőcsoportok eltávolítására egyéb standard hasításban alkalmazható reagenseket is felhasználhatunk. Miután az α -aminosav védőcsoportot eltávolítjuk, egyéb α -aminocsoporton védett-aminosavakat kapcsolhatunk kívánt sorrendben lépésenként a molekulához. Más eljárás szerint oldatban végzett kapcsolási eljárással több aminosav-csoportot kapcsolhatunk, majd az így kapott szekvenciát kapcsoljuk a gyantához kötött aminosav-szekvenciához.

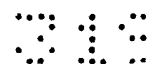
A polipeptid szekvenciába bevezetett egyes aminosavakban alkalmazott α -aminocsoport védőcsoport bármely szakirodalomban ismert ilyen védőcsoport lehet. Az α -aminocsoport védőcsoportok az alábbi típusúak lehetnek: (1) acil-típusú védőcsoportok, mint például formil-csoport, trifluor-acetil-csoport, ftalil-csoport, toluol-szulfonil-csoport (tozil-csoport), benzol-szulfonil-csoport, nitro-fenil-szulfenil-csoport, tritil-szulfenil-csoport, o-nitro-fenoxi-acetil-csoport és α -klór-butiril-csoport; (2) aromás karbamid-típusú védőcsoportok, mint például benziloxi-karbonil-csoport és szubsztituált-benziloxi-karbonil-csoport, mint például p-klór-benziloxi-karbonil-csoport, p-nitro-benziloxi-karbonil-csoport, p-bróm-benziloxi-karbonil-csoport, p-metoxi-benziloxi-karbonil-csoport, 1-(p-bifenilil)-1-metil-etoxi-karbonil-csoport, α,α -dimetil-3,5-dimetoxi-benziloxi-karbonil-csoport, és benzhidriloxi-karbonil-csoport; (3) alifás karbamid-típusú védőcsoportok, mint például terc-butoxi-karbonil-csoport (Boc), diizopropil-metoxi-karbonil-csoport, izopropiloxi-karbonil-csoport, etoxi-karbonil-csoport és alliloxi-karbonil-csoport; (4) cikloalkil-karbamid-típusú védőcsoportok, mint például ciklopentiloxi-karbonil-csoport, adamantiloxi-karbonil-csoport és ciklohexiloxi-karbonil-csoport; (5) tiokarbamid-típusú védőcsoportok, mint például fenil-tiokarbonil-csoport; (6) alkil-csoport-típusú védőcsoportok, mint például trifenil-metil-csoport (tritil-csoport) és benzil-csoport; és (7) trialkil-szilil-csoportok, mint például trimetil-szilil-csoport. Előnyösen alkalmazható α -aminocsoport védőcsoport a terc-butoxi-karbonil-csoport.

A megfelelő kapcsoló reagens megválasztása a szakirodalomban ismert. Amennyiben a bevezetendő aminosav Gln, Asn vagy Arg különösen előnyösen alkalmazható kapcsoló reagens az N,N'-diizopropil-karbodiimid és az 1-hidroxibenzotriazol. Ezen reagensek alkalmazása megakadályozza a nitril és a laktám



képződést. Egyéb alkalmazható kapcsoló reagensek az alábbiak: (1) karbodiimidok [például N,N'-diciklohexil-karbodiimid és N-etil-N'-(γ -dimetil-amino-propil)-karbodiimid]; (2) cián-amidok [például N,N-dibenzil-ciánamid]; (3) ketén-iminek; (4) izoxazolium-sók [például N-etil-5-fenil-izoxazolium-3'-szulfonát]; (5) monociklusos-nitrogéntartalmú heterociklusos-amidok, amelyek aromás jellegűek és 1-4 nitrogénatomot tartalmaznak [például imidazolidok, pirazolidok és 1,2,4-triazolidok], előnyösen alkalmazható heterociklusos-amidok például az N,N'-karbonil-diimidazol és az N,N'-karbonil-di-1,2,4-triazol; (6) alkoxilezett-acetilének [például etoxi-acetilén]; (7) az aminosav karboxilcsoportjával vegyes anhidridet képző reagensek [például etil-klór-formiát és izobutil-klór-formiát] vagy a kapcsolandó aminosav szimmetrikus anhidridjei [például Boc-Ala-O-Ala-Boc] és (8) nitrogéntartalmú heterociklusos vegyületek, amelyek a gyűrű egyik nitrogénatomján hidroxilcsoportot tartalmaznak [például N-hidroxi-ftálimin, N-hidroxi-szukcinimid és 1-hidroxi-benzotriazol]. Egyéb peptid kapcsolásban alkalmazható aktiváló reagenseket leírtak a Kapoor, J. Pharm. Sci., 59, 1-27 (1970) közleményben. Eljárásunkban előnyösen szimmetrikus anhidridet alkalmaztunk kapcsoló reagensként, kivéve az Arg, Asn és Gln aminosavak esetét.

Valamennyi védett aminosavat vagy aminosav szekvenciát a szilárd fázisú reaktorban körülbelül kétszeres - körülbelül négyszeres feleslegben alkalmazunk. A kapcsolást dimetil-formamid:diklórmétán 1:1 elegyben vagy önmagában dimetil-formamidban vagy önmagában diklórmétánban hajtjuk végre. Amennyiben nem teljes kapcsolás történik, a kapcsolási eljárást megismétljük, mielőtt az α -aminocsoport védőcsoportot eltávolítjuk, amely védőcsoport eltávolítást el kell végezni azelőtt, mielőtt a következő aminosavat a szilárd fázisú reaktorba visszük. Az egyes lépésekben a szintézis során a kapcsolási reakció végbemenetelét

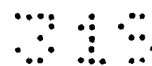


ninhidrin-reakcióval ellenőrizzük az E. Kaiser és munkatársai, Analyt. Biochem. 34, 595 (1970) közleményben leírt eljárásnak megfelelően.

Miután a kívánt aminosav szekvenciát előállítottuk, a peptidet a szakirodalomban ismert eljárások szerint a gyantáról lehasítjuk. Például a hasítási reakciót úgy végezhetjük, hogy a gyantához kötött polipeptidet 5% anizol vízmentes hidrogén-fluoridban készült oldatával kezeljük.

Mint a szilárd fázisú peptid szintézis szakirodalmából ismeretes, számos aminosav funkciós csoportokat tartalmaz, amelyek védőcsoporttal látandók el a lánc kialakítási reakciók során. Az ilyen esetekben alkalmazott védőcsoportok megválasztását a szakember könnyen elvégzi és ez függ az aminosav típusától, illetve a peptidben található egyéb védett aminosav-maradékok jellemzőitől. Az ilyen oldalláncban funkciós csoportot tartalmazó aminosavak védőcsoportjainak megválasztása döntő befolyású, mivel ezek a védőcsoportok olyanok, hogy az α -aminocsoport védőcsoportjának eltávolítása során ezek nem hasadhatnak. Például az aszparaginsav karboxilcsoport hidroxilcsoportját és a glutaminsav karboxilcsoport hidroxilcsoportját benzilcsoport vagy ciklohexil-csoport védőcsoporttal láthatjuk el. Előnyösen alkalmazható védőcsoport a benzilcsoport.

Az ilyen oldallánc védőcsoportok a szakirodalomban jól ismert eljárásokkal távolíthatók el. Jellemzően az ilyen védőcsoportok eltávolítását akkor végezzük, amikor a teljes peptidláncot előállítottuk. Például a peptidet egyidőben védőcsoport mentesíthetjük, miközben a peptidet a gyantáról is lehasítjuk. Ezt a hasítási és védőcsoport eltávolítási reakciót 5%-os vízmentes hidrogén-fluoridban készült anizol oldattal végzett kezeléssel hajthatjuk végre. A védőcsoportokat egyéb megfelelő lépésben is eltávolíthatjuk.



A találmány szerinti peptid analóg antikoaguláns és vérlemez képződés ellenes dózisa 0,2 mg/kg testtömeg - 250 mg/kg testtömeg/nap közötti érték, amely függ a beteg típusától, a trombózisos betegség súlyosságától és a választott peptid analóg típusától. Az egyes beteg esetében alkalmazandó dózist könnyen meghatározhatjuk. Előnyösen alkalmazható dózis a naponta 1-4 alkalommal alkalmazott dózis, amely jellemzően dózisonként 5 mg-100 mg közötti aktív hatóanyagot tartalmaz.

Az antikoaguláns terápiát általában különféle trombózisos betegségek kezelésére vagy megelőzésére alkalmazzuk, amely lehet például koronaér artéria és agy érrendszeri betegség, mint például koronaér elzáródás és így az adott rögök (vérrögök) oldása. A vérlemez ellenes terápiát arra a célra alkalmazzuk, hogy a szívizom infarktus és a gutaütés újbóli kialakulását megelőzzük. A szakember könnyen felismeri azokat a betegségeket, amikor antikoaguláns, illetve vérlemez képződés ellenes terápiát kell alkalmazni. Feltehető, hogy a találmány szerinti peptidek különösen előnyösek a koronaér trombózis kezelésében, amely érplasztikai műtét után állhat be, mivel megakadályozzák a thrombocytopenia kialakulását a végtag keringésben, továbbá a fibrinolitikus terápia utáni elzáródás kezelésében alkalmazhatók és alkalmazhatók a kialakuló szívizom infarktus leállítására vagy késleltetésére.

A „beteg” elnevezés alatt a leírásban általánosan emlősöket, mint például főemlősöket, az embert is beleértve, értünk, amely emlősök lehetnek továbbá bika, ló, szarvasmarha, sertés, kutya, macska, patkány és egér.

A találmány szerinti egyes peptid származékok az orális adagolást átvészelik, azonban javasoljuk a vegyületek nem orális adagolását, amely lehet például szubkután, intravénás, intramuszkuláris vagy intraperitoneális adagolás, to-



vábbb a beültetett injektálásos adagolás implant beültetéssel vagy a nyálkahárgyára történő adagolás, mint például az orr, a torok és a tüdő hörgőkbe történő aeroszol formában történő adagolás, amely aeroszol a találmány szerinti peptid származékot spré vagy száraz por formában tartalmazhatja.

A parenterális adagolás céljára a találmány szerinti vegyületeket oldat vagy szuszpenzió injektálható dózis formában adagolhatjuk, amelynek során a vegyületet fiziológiailag elfogadható hígítóanyagban szuszpendáljuk vagy oldjuk. A gyógyszerészetileg elfogadható hordozóanyag lehet steril folyadék, mint például víz és olajok és tartalmazhat felületaktív anyagokat és egyéb gyógyszerészetileg elfogadható segédanyagokat. Ilyen célra alkalmazható olajok például lehetnek a petróleum, az állati, növényi és szintetikus olajok, mint például mogyoróolaj, szójaolaj és ásványi olaj. Általában ilyen célra az injektálható oldat előállításában előnyösen vizet, fiziológiás sóoldatot, vizes dextróz és hasonló cukor oldatokat, etanolt és glikolokat, mint például propilén-glikolt vagy polietilén-glikolt alkalmazunk.

Példák

Az 1-12. példákban részletesen bemutatjuk az (1) általános képletű peptid előállítási eljárását. A példák illusztratív jellegűek és nem korlátozzák a találmány tárgykörét. Az 1-12. példákban alkalmazott reagensek és kiindukási anyagok a szakember számára könnyen rendelkezésre állnak. Az 1-12. példákban az alábbi elnevezéseket alkalmazzuk: „DCM” diklórmétán; „DIEA” diizopropil-etil-amin; „MeOH” metanol; „DCC” N,N'-diciklohexil-karbodiimid; „DMF” N,N'-dimetil-formamid; „HOBt” 1-hidroxi-benzotriazol; „TFA” trifluor-ecetsav; „ekv” ekvivalens; „mekv” milliekvivalens; „g” gramm; „mg” milligramm; „mmol” millimol; „ml” milliliter; „°C” Celsius fok; „VRK” vékonyréteg kromatográfia; „R_f” retenciós index; „μl”

1. példa

(D)Phe-Pro-Arg-Pro-Gly-(D)Cys'-Gly-Arg-Gly-Asp
 S-S
 Pro-Ile-Pro-Glu-Tyr-Asp-Gly-(D)Cys'-Pro-Nle
 Glu-Glu-Ala-Cha-(D)Glu-OH

<u>Reagens/oldószer</u>	<u>Idő (másodperc)</u>	<u>Ismétlés száma</u>
DCM	30	1
MeOH	30	2
DCM	30	3
TFA:anizol:DCM (48:2:50)	60	1
TFA:anizol:DCM (48:2:50)	1200	1
DCM	30	3
DIEA:DCM (10:90)	60	3
DCM	30	2
Boc-aminosav	1800	1
DMF	30	1
DCM	30	1
DIEA:DCM (10:90)	30	1

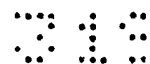
Valamennyi Boc-aminosavat úgy kapcsolunk, hogy szimmetrikus anhidridet állítunk elő és ezt kétszeres feleslegben alkalmazzuk az Arg kivételével, amelyet négyszeres feleslegben HOBt-észter formában használunk. A szimmetrikus anhidrideket az alábbi eljárással állítjuk elő.

4 ekvivalens Boc-aminosavat diklórmétánban oldunk, majd az oldathoz 0,5m DCC/DCM (2 ekvivalens) elegyet adagolunk. A reakcióelegyet 5 percen át keverjük. A szimmetrikus anhidrid kialakulása során a diciklohexil-karbamid csapadékként kiválik, amelyet leszűrünk. Ezt követően a szűrletet a peptid-gyantához adagoljuk és a kapcsoló reakcióelegyet ekvivalens térfogatú dimetil-formamiddal hígítjuk.

A HOBt Arg-észtert hasonlóan állítjuk elő. 4 ekvivalens Boc-Arg(Tos) diklórmétánban oldunk. Ezután az oldathoz 4 ekvivalens 0,5m HOBt/DMF elegyet adagolunk, majd a keverékhez 0,5m DCC/DCM (4 ekvivalens) reagenst adunk. A kivált diciklohexil-karbamidot leszűrjük, majd a szűrletet a peptid-gyantához adagoljuk és a kapott kapcsoló elegyet ekvivalens térfogatú DMF segítségével hígítjuk.

A peptid-gyanta elegyet mindenegybes kapcsolási reakció végeztével teszt-vizsgálatnak vetjük alá és meghatározzuk, hogy szabad amin jelenléte tapasztalható-e. Ennek meghatározását a Kaiser féle ninhidrin-eljárással végezzük, amely a szakirodalomban ismert eljárás. Amennyiben szükséges, az aminosavak újra-kapcsolását is elvégezzük.

A fenti eljárás szerint 8,06 g (0,31 meq/gm, 2,5 mmol) Peninsula Laboratories, Belmont, California termék Boc-D-Glu(Bzl)-Pan-gyantát peptiddé építünk ki, és így az alábbi peptid-gyanta terméket nyerjük: (D)-Phe¹-Pro-Arg(Tos)-Pro-Gly⁵-(D)Cys(Mbz)-Gly-Arg(Tos)-Gly-Asp(CHx)¹⁰-Nle-Pro-



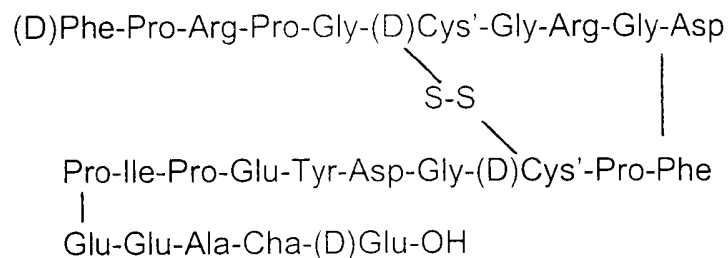
(D)Cys(Mbz)-Gly-Asp(Chx)¹⁵-Tyr(BrZ)-Glu(Bzl)-Pro-Ile-Pro²⁰-Glu(Bzl)-Glu(Bzl)-Ala-Cha-(D)Glu(Bzl)-Pam-gyanta (19,4 g peptid-gyanta). Az eljárás során az alábbi aminosavak esetében kell újabb molekvivalens szimmetrikus-anhidridjük segítségével kapcsolást ismételni: Boc-Cha²⁴, Boc-Glu(Bzl)²¹, Boc-Tyr(BrZ)¹⁶, Boc-Asp(Chx)¹⁵, Boc-(D)Cys(Mbz)⁶, Boc-Pro⁴, Boc-Pro² és Boc-(D)Phe¹. A Boc-Arg(Tos)² kapcsolását kétszeres feleslegű HOBt-észter formájuk alkalmazásával készter ismételjük meg. A terméket ezután ecetsavanhidrid:DIEA:DCM segítségével (10:5:85) izoláljuk.

A fent előállított peptid-gyanta anyagot (D)-Phe¹-Pro-Arg(Tos)-Pro-Gly⁵-(D)Cys(Mbz)-Gly-Arg(Tos)-Gly-Asp(Chx)¹⁰-Nle-Pro-(D)Cys(Mbz)-Gly-Asp(Chx)¹⁵-Tyr(BrZ)-Glu(Bzl)-Pro-Ile-Pro²⁰-Glu(Bzl)-Glu(Bzl)-Ala-Cha-(D)Glu(Bzl)-Pam-gyanta, ezt követően öt részletre oszjuk. Valamennyi részletet hasítjuk és a védőcsoportokat ebből eltávolítjuk, majd az alábbi reakciók alkalmazásával ciklizáljuk. 3,88 g peptid-gyantát oldunk 20 ml vízmentes hidrogén-fluoridban 5% anizol jelenlétében. A reakcióelegyet kb. 30 percen át kb. 0°C hőmérsékleten keverjük. Ezt követően a hidrogén-fluoridot vákuummal elpárologtatjuk, majd a maradékot kétszer 10 ml 50%-os ecetsavval, 2 x 5 ml ecetsavval és 3 x 10 ml vízzel extraháljuk. A kapott extraktumokat 1 liter vízzel hígítjuk, majd az oldat pH értékét ammónium-hidroxid segítségével 8,5 értékre állítjuk be. Ezt követően az elegyhez 1,0 m (kb. 55 ml) K₃Fe(CN)₆ reagenst adagolunk. Az adagolást 15 percen át végezzük, míg a sárga szín fennmarad. Ezután az elegyet 30 percen át szobahőmérsékleten keverjük. Az elegy pH értékét ecetsav segítségével 4,0 értékre állítjuk be. Ezt követően az elegyhez AG3 x 4A, Bio-Rad anioncserélő gyantát adagolunk. Az elegyet a sárga szín eltűnéséig keverjük. Ezt követően a

A nyerstermék peptidet 50%-os ecetsavban oldjuk, majd 2,5 x 70 cm méretű Sephadex G-10 oszlopra visszük. Ezután az oszlopot kb. 10,5 ml/óra áramlási sebességgel 50%-os ecetsavval eluáljuk. A peptid kb. 70-150 ml értéknél eluálódik. Ezt az eluátumot vízzel hígítjuk, majd liofilizáljuk, és így 6,17 g terméket nyerünk. A kívánt anyagot ezután reverz fázisú preparatív nagynyomású folyadékkromatográfia (HPLC) (Dynamax C₁₈, 21,4 x 250 mm, Rainin) segítségével kb. 40 ml/perc áramlási sebesség alkalmazásával tisztítjuk. Eluensként 0,1% vizes TFA/acetonitril eluenst alkalmazunk. Az elválasztásban Beckman Prep 350 rendszert használunk, így 1,3 g tiszta peptidet nyerünk.

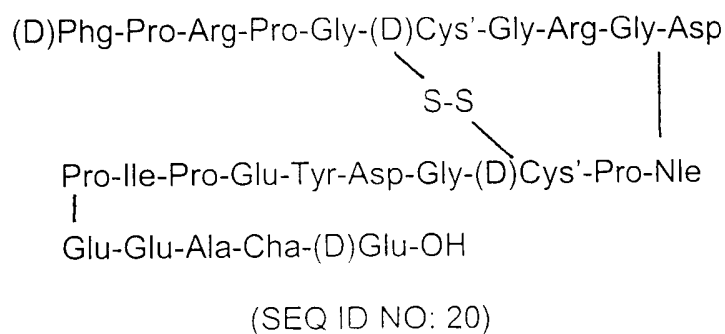
(D)Phe-Pro-Arg-Pro-Gly-(D)Cys'-Gly-Arg-Gly-Asp
 S-S
 Pro-Ile-Pro-Glu-Tyr-Asp-Gly-(D)Cys'-Pro-Nle
 Glu-Glu-Ala-Cha-(D)Glu-OH

2. példa

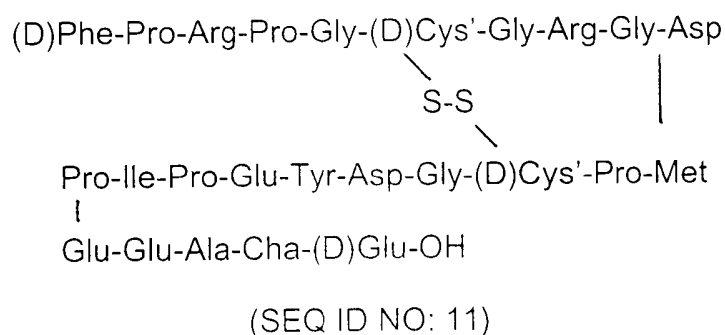


61.612/SM

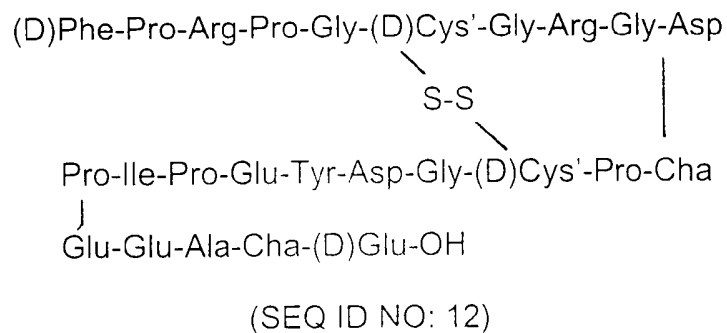
3. példa



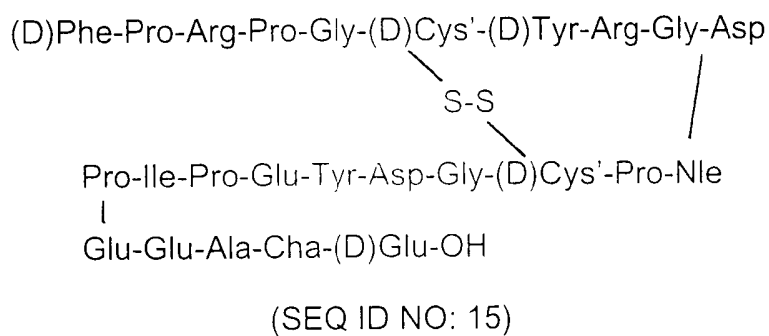
4. példa



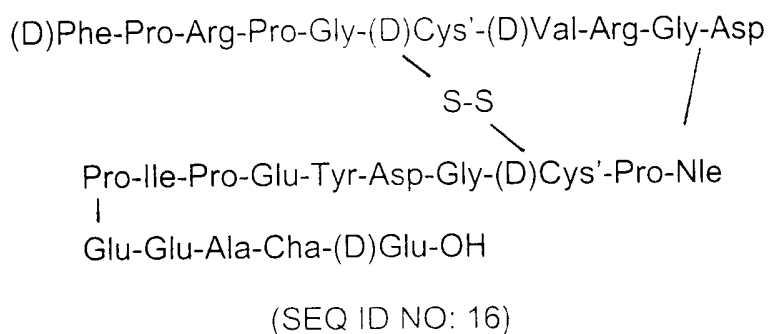
5. példa



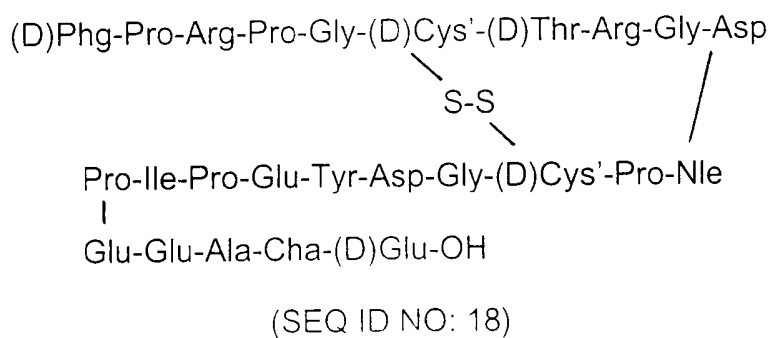
6. példa



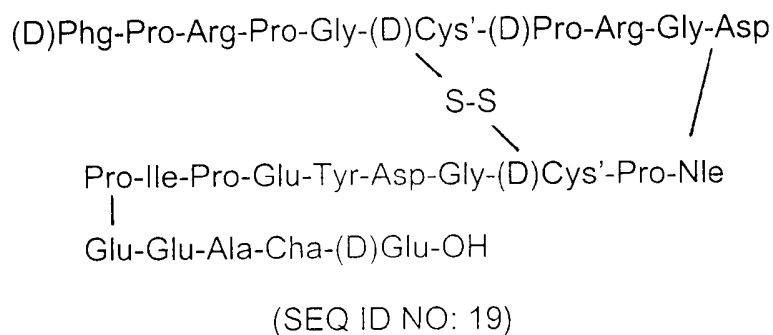
7. példa



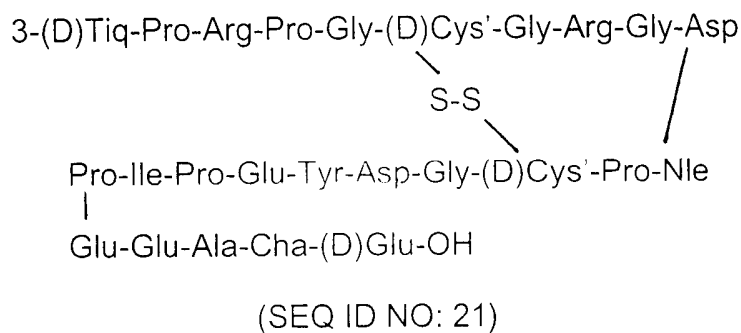
8. példa



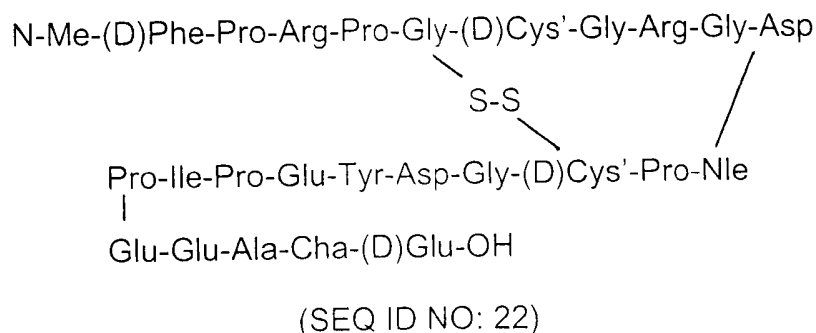
9. példa



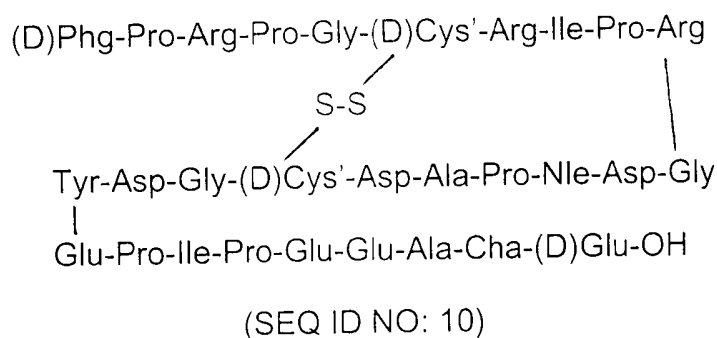
10. példa



11. példa



12. példa



Biológiai tesztvizsgálatok

Mint fent leírtuk, a találmány szerinti vegyületek jelentősen inhibíálják a trombint, amely azt jelzi, hogy ezek hatásos antikoaguláns anyagok. A találmány szerinti anyagok alkalmazhatók a vénás és az artériás trombózisos betegségek, valamint az instabil angina kezelésére, továbbá az érelmeszesedés hirtelen elzáródásának megelőzésére, amely koronaér érplasztikai műtét után következhet be, illetve trombolízis párhuzamos terápiára és az ortopédiai sebészeti eljárás után bekövetkező mélyvénás trombózis kezelésére. Mivel a találmány szerinti vegyületek továbbá ciklusos RGD-X szekvenciát tartalmaznak, amely a B összekötő egységben helyezkedik el, ezek vérlemez GP IIb/IIIa receptor antagonisták hatásúak is.

A 2. példa szerinti peptid antokoaguláns és antitrombotikus hatásai

A 2. példa szerinti peptidet (2 peptid) (SEQ ID NO: 2), amely egy katalitikus-helyzetű trombin inhibitor (fPR) tartalmaz egy hirudin₅₅₋₆₅ analóggal kapcsol-

va, ahol a kapcsolást egy ciklusos vérlemez GP IIb/IIIa receptor antagonist (RGD-X) biztosítja, vizsgáltuk és összehasonlítottuk hatását az egyes alkotó peptidek hatásával. Az alábbi kísérleti eljárás és berendezés csak javasolt berendezés és nem jelenti a találmány tárgykörének korlátozását.

Kísérleti állatok

300-400 g testtömegű hím Sprague-Dawley patkányokat, amelyek a Sprague Dawley, Inc., (Indianapolis, IN 46229) termékei, alkalmaztunk ezekben a vizsgálatokban.

Vérminta vétel

A vérmintákat műanyag fecskendővel vehetjük, amelyek 3,8% trinátrium-citrát (1:10) tartalmúak. A plazmát 2000 g erő alkalmazásával 10 percen át végzett centrifugálással nyerjük. In vitro vizsgálatokban vénás vért vettünk egészséges hatóanyagmentes hím önkéntesektől.

Koagulációs tesztvizsgálat

Az aktivált részleges tromboplastin idő (aPTT) meghatározását a Dade Diagnostics, Inc. (Aguada, Puerto Rico 00602) eljárásával és reagenseivel végeztük. A véralvadási időt úgy határoztuk meg, hogy 0,1 ml patkány plazmát 37°C hőmérsékleten 0,1 ml 0,1m Tris pufferrel pH = 7,5 inkubáltunk 30 perc időtartamon át. A koagulációt 0,1 ml marhatrombin (Sigma Diagnostics, St. Louis, MO 63178) adagolásával végeztük, amely 12 NIH egység/ml oldat. A véralvadási időt félautomata módon mértük MLA-Electra 750 automata koagulációs időmérő segítségével, amely a MLA, Inc. (Pleasantville, NY 10570) terméke. Az alvadási idő megkésztetéséhez (ID₂) szükséges koncentrációt egyszerű lineáris regresszió segítségével számoltuk.

In vitro vérlemez aggregáció

Humán vérlemezben gazdag plazmát (PRP) állítottunk elő úgy, hogy a vérmintát 200 g erővel 10 percen át szobahőmérsékleten centrifugáltuk. Vérlemezben szegény plazmát (PPP) állítottunk elő úgy, hogy a vérmintát 2000 g erővel 10 percen át centrifugáltuk. A PRP mintát csak műanyag laboratóriumi edénynek tettük ki. Valamennyi kísérletet a vérminta vétel időpontja után 3 óra időn belül hajtottuk végre. A vérlemez aggregációt fotometriás méréssel határoztuk meg kétsugaras aggregométer (Chrono-log Corp., Haverstown, PA 19083) alkalmazásával. A 100% fény transzmissziót autológ PPP segítségével adtuk meg. A fény transzmisszió maximális százalékos változását PRP segítségével mértük, miután ADP (1 μ m) vagy trombin adagolást végeztünk. A trombin- (0,2-2,0 egység/ml) indukált vérlemez aggregáció koncentrációfüggő és a fél maximális koncentrációt alkalmaztuk az inhibíciós vizsgálatokban. A (2) peptidet (SEQ ID NO: 2) az ADP vagy trombin beadagolás előtt PRP (0,45 ml) eleggyel 30 percen át inkubáltuk. Az aggregációt 0,5 ml összes térfogatban mértük. Az inhibitor hatást a kontroll értékekkel való összehasonlítással százalék inhibícióban adtuk meg. Az aggregálás 50%-os inhibícióját okozó koncentrációt (IC_{50}) egyszerű lineáris regressziós számítással számítottuk.

$FeCl_3$ artériás trombosis modell patkányokban (in vivo)

Az értékelésben a (2) peptid (SEQ ID NO: 2) in vivo anti-trombózis hatását is felhasználtuk. Például megvizsgáltuk a (2) peptid (SEQ ID NO: 2) trombózis ellenes hatását vérlemez-függő trombin mediált $FeCl_3$ -indukált patkány nyaki verőér trombózis modellben a R.J. Broersma, és munkatársai, Thromb. Res. 64, 405-412 (1991) közleménynek megfelelően, amelyet referenciaként adunk meg.

Eredmények

A vizsgálatok eredményei azt mutatják, hogy a (2) képletű peptid (SEQ ID NO: 2) hatásosabb mint egyes komponensei antikoaguláns és antitrombin hatásban plazma koagulációban, illetve vérlemez aggregációs tesztvizsgálatban.

Az eredmények táblázataiban a peptid szekvenciában található aminosav-maradékok az egybetűs megnevezéssel jelöltek, kivéve néhány módosított aminosavat és/vagy védőcsoportot, amelyek hárombetűs megnevezéssel jelöltek és zárójelben találhatók az elnevezésben. Ezen túlmenően a (D)Cys'-maradékokat összekötő diszulfid kötések a két (D)Cys' egység aláhúzásával jelöljük és valamennyi ilyen maradék a B molekularész áthidaló részében található.

I. Táblázat

(2) peptid antikoaguláns aktivitása humán plazmában a komponenseivel összehasonlítva

Peptid	Peptid szekvencia	ID ₂ µm	
		aPTT	Trombin idő
2	fPRPG <u>cGRGDFPc</u> GDYEPIPEEA(Cha)e	0,060	0,024
2a	<u>cGRGDFPc</u>	-	>1,000
2b	(Suc)YEPIPEEA(Cha)e	4	0,564
2c	fPRPG	>1000	510
2d	(CH ₃)fPR	2	0,587

ID₂ érték az a koncentráció, amely a három párhuzamos kísérletben a kontrollal összehasonlítva az aladási idő kétszeres megnöveléséhez szükséges, aPTT jelentése aktivált részleges tromboplasztin idő.

Az I. táblázatban bemutatjuk a (2) általános képletű peptid (SEQ ID NO: 2) antikoaguláns aktivitását összehasonlítva komponensei, a (2a) általános képletű peptid (SEQ ID NO: 3), a (2b) általános képletű peptid (SEQ ID NO: 4), a (2c) általános képletű peptid (SEQ ID NO: 5) és a (2d) általános képletű peptid (SEQ ID NO: 6) aktivitásával az aktivált részleges tromboplastin idő (aPTT) és a trombin idő meghatározásával normál humán plazmában. A (2a)-(2d) általános képletű peptidek (SEQ ID NO: 3-6) nem képezik a találmány tárgyát. Az aPTT és a trombin idő tesztvizsgálatban 60 nm, illetve 24 nm koncentrációban alkalmazva a (2) peptidek (SEQ ID NO: 2) megkétszerezik a (ID2) aPTT időt és a trombin időt. A (2) általános képletű peptid (SEQ ID NO: 2) legalább 20-szorosan nagyobb aktivitással rendelkezik, mint akár a (2b) általános képletű peptid (SEQ ID NO: 4) vagy (2d) általános képletű peptid (SEQ ID NO: 6) (a stabil katalitikus helyzet inhibitor Me-fPR), míg a (2c) általános képletű peptid (SEQ ID NO: 5) (az fPRPG pentapeptid) csak sokkal nagyobb koncentrációban mutat antikoaguláns aktivitást. A (2a) általános képletű peptid (SEQ ID NO: 3) (a ciklusos RGD-X peptid) antikoagulánsként inaktív.

II. Táblázat

A (2) általános képletű peptid hatása patkányban és humán tesztvizsgálatban a koagulációra és a vérlemez képződésre

	Patkány	Humán
	ID ₂ , nm	
Aktikoaguláns aktivitás	181±43	60±18
Trombin idő	116±12	24±7
	IC ₅₀ , µM	
Vérlemez aggregáció inhibíció ADP	65±2	19±5
Trombin	0,014±0,002	0,060±0,026

ID₂ érték az a koncentráció, amely ahhoz szükséges, hogy három párhuzamos tesztvizsgálatban a véralvadás idejét megkétszerezzük. aPTT az aktivált részleges tromboplastin idő.

A II. táblázatban bemutatjuk a (2) általános képletű peptid (SEQ ID NO: 2) hatását a patkány plazmájára. Az ID₂ koncentráció az aPTT időre és a trombin időre kb. 181 nm, illetve 116 nm. A (2) általános képletű peptid (SEQ ID NO: 2) 3-5-szörösen kevésbé aktív antikoaguláns a patkány plazmában, amennyiben összehasonlítjuk a humán plazmában kifejtett aktivitásával.

III. Táblázat

Humán vérlemez aggregáció inhibálás

Peptid	Peptid szekvencia	ID ₂ μ m	
		ADP	Trombin
2	fPRPG <u>c</u> GRGDFP <u>c</u> GDYEPIPEEA(Cha)e	19	0,060
2a	<u>c</u> GRGDFP <u>c</u>	20	13
2b	(Suc)YEPIPEEA(Cha)e	895	3
2d	(CH ₃)fPR	>1,000	0,2

Az ID₅₀ érték az a koncentráció, amely ahhoz szükséges, hogy a PRP-ben a vérlemez aggregációt 50%-kal lecsökkentsük, összehasonlítva a kontroll aggregáció értékkel. A kísérleteket két párhuzamos tesztvizsgálatban végeztük.

Az III. táblázatban bemutatjuk, hogy az ADP és trombin indukált humán vérlemez aggregációt a (2) általános képletű peptid (SEQ ID NO: 2) inhibálja. Az ADP-indukált vérlemez aggregációt 50%-kal inhibáló koncentráció IC₅₀ körülbelül 19 μ mol. Ez a koncentráció hasonló az RGD-X peptid a (2a) általános képletű peptid (SEQ ID NO: 3) IC₅₀ = 20 μ mol értékéhez. Az antitrombin hatású peptidek a (2b) általános képletű peptid (SEQ ID NO: 4) és a (2d) általános képletű peptidek (SEQ ID NO: 6) lényegében inaktív inhibitorok az ADP-indukált vérlemez aggregációban (IC₅₀) értékük sorrendben 895 μ mol, illetve >1000 μ mol. A (2) általános képletű peptid (SEQ ID NO: 2) inhibálja a trombin indukált vérlemez aggregációt és ebben az inhibálásban IC₅₀ értéke 60 nmol. A trombin indukált vérlemez aggregáció inhibálásban ez a peptid aktívabb, mint komponens peptidjei a (2b) általános képletű peptid (SEQ ID NO: 4) (IC₅₀ = 2 μ m), a (2d) álta-

lános képletű peptid (SEQ ID NO: 6) ($IC_{50} = 200 \text{ nm}$) és a (2a) általános képletű peptid (SEQ ID NO: 3) ($IC_{50} = 13 \text{ } \mu\text{mol}$).

Ezzel szemben a patkányban az ADP, illetve a trombin által indukált vérlemez képződést a (2) általános képletű peptid (SEQ ID NO: 2) sorrendben $IC_{50} = 65 \text{ } \mu\text{mol}$, illetve 14 nm értéknél inhibálja (lásd a II. táblázatot). Ebből eredően a (2) általános képletű peptid (SEQ ID NO: 2) 3-4-szer kevésbé aktív patkány plazmában, mint a humán vérlemezben gazdag plazmában.

IV. Táblázat

(2) általános képletű peptid hatása patkányokban artériás trombózisra

(2) Peptid (nmol/kg/perc) ^a	<u>n</u>	Okklúziós idő (perc)		Állat száma
		Kontroll	Kezelt	Okkluált/kezelt
10	6	15,2±2,0	26,3±5,4*	5/6
25	5	16,9±1,1	50,8±5,4**	2/5
50	5	16,8±1,8	55,5±10,8*b	1/5

^a Az $FeCl_3$ kezelés előtt 15 perccel kezdődően 60 perc időtartamon át adagolt infúzió;

^b Elzáródási idő > 90 perc (n = 4);

*p < 0,05 összehasonlítva a kontrollal;

**p < 0,01 összehasonlítva a kontrollal.

A (2) általános képletű peptidnek (SEQ ID NO: 2) $FeCl_3$ -indukált patkány nyaki artéria trombózis modellben kifejtett trombózis ellenes aktivitását vizsgáltuk. A trombózis elzáródás dóziszfüggő módon csökken, amennyiben a (2) általános képletű peptidet (SEQ ID NO: 2) folyamatos intravénás infúzióval adagoltuk és az adagolást a patkányokban az artériára történő $FeCl_3$ adagolás előtt 15 perccel kezdve 1 órán át végeztük, az adagolt hatóanyagkoncentráció 10, 25 és 50

nmol/kg/perc érték volt (lásd az 1. ábrát). Az elzáródás az 5 vizsgált patkányból 4 esetében megakadályozható 50 nmol/kg/perc dózis adagolásával. Amennyiben az adagolt mennyiség 25 és 10 nmol/kg/perc, az elzáródás az 5 patkányból 3-ban, illetve 6 patkányból 1-ben akadályozható meg. A katalitikus-helyzet anti-trombin (2d) általános képletű peptid (SEQ ID NO: 6) dóziszfüggően meghosszabbítja az elzáródási időt 50, 100 és 200 nmol/kg/perc infúzió esetében (lásd a 2. ábrát).

V. táblázat

(2) általános képletű peptid és komponens peptidjei hatása patkányokban az artériás trombózisra

Peptid	Dózis	n	Okklúziós idő (perc)		Állat száma
			Kontroll	Kezelt	Okkluált/kezelt
2	A	5	16,8±1,8	55,5±10,8*	1/5
2a	B	4	18,5±1,2	19,1±2,0	4/4
2b	C	6	16,9±1,9	22,4±7,1	5/6
2d	D	5	19,3±1,5	44,1±1,0**	1/5

^a Az FeCl₃ kezelés előtt 15 perccel kezdve 60 percen át végzett infúzió

*p < 0,05 a kontrollal összehasonlítva;

**p < 0,01 a kontrollal összehasonlítva;

A -- 50 nmol/kg/perc i.v.

B -- 100 nmol/kg/perc i.v.

C -- 500 nmol/kg/perc i.v.

D -- 200 nmol/kg/perc i.v.

50 nmol/kg/perc dózis adagolása esetében 5 patkányból 4 esetében az elzáródás megakadályozható. Sem a hirudin-analóg (2b) általános képletű peptid (SEQ ID NO: 4) 500 nmol/kg/perc dózisa, sem a ciklusos RGD-X peptid (2a) általános képletű peptid (SEQ ID NO: 3) 100 nmol/kg/perc dózisa nem akadályozta meg az elzáródást ebben a patkány modellben.

VI. táblázat

(2) általános képletű peptid intravénás adagolásának hatása koagulációs tesztvizsgálatban^a

(2) Peptid nmol/kg/perc	Kontroll többszöröse	
	aPTT ^b	Trombin idő
10	2,9±0,7(5)	3,9±0,5(5)
25	3,6±1,2(4)	5,8±1,8(4)
50	3,7±0,7(2)	4,2±0,4(2)

^a A vérmintákat az FeCl₃-indukált artériás elzáródás vizsgálat végén vettük patkányokból

^b aPTT aktivált részleges tromboplasztin idő (n = patkányok száma)

Az 1. példa szerinti peptid antikoaguláns és antitrombotikus hatása

Az 1. példa szerinti (1) általános képletű peptid (SEQ ID NO: 1) a (2) általános képletű peptidhez hasonlóan (SEQ ID NO: 2) egy katalitikus-receptor trombin inhibitorból (fPR) továbbá egy ehhez kapcsolódó hirudin₅₅₋₆₅ analógból és az összekapcsoló ciklusos vérlemez GP IIb/IIIa receptor antagonista (RGD-X) egységből áll. Ezen (1) általános képletű peptid hatását vizsgáltuk összehasonlítva az egyes komponens peptidek hatásával. Az (1) általános képletű peptid (SEQ ID NO: 1) a (2) általános képletű peptid (SEQ ID NO: 2) analógja, amelyben a ciklusos RGD-X szekvenciában a (2) általános képletű peptidben (SEQ ID NO: 2)

a fenil-alanin-egységet (Phe) norleucinnal (Nle) helyettesítettük. A vizsgálatban az (1) általános képletű peptidet (SEQ ID NO: 1) összehasonlítottuk a (2) általános képletű peptiddel (SEQ ID NO: 2), a (3) általános képletű peptiddel (SEQ ID NO: 7) -- amely az (1) általános képletű peptid olyan analógja, amelyben az anion-kötő exo-helyzethez kötődő egységet (C molekularész) elhagytuk -- és a (4) általános képletű peptiddel (SEQ ID NO: 8) -- az (1) általános képletű peptid analógja, amely csak természetes L-aminosavakat tartalmaz. Ezen túlmenően megvizsgáltuk az (5) általános képletű peptidet (SEQ ID NO: 9) -- az (1) általános képletű peptid (SEQ ID NO: 1) analógja, amely egy 10 aminosavból álló RGD-X áthidalást tartalmaz és csak L-természetes aminosavakat tartalmaz -- és ezt a peptidet összehasonlítottuk a (6) általános képletű peptiddel (a 12. példa szerinti peptid) (SEQ ID NO: 10) -- az (1) általános képletű peptid analógja, amely egy 10 aminosavból álló RGD-X áthidalást tartalmaz -- és meghatároztuk, hogy az RGD-X áthidalás milyen szerepet játszik a találmány szerinti peptidek aktivitásában. Az (1), (2) és (6) általános képletű peptidek (SEQ ID NO: 1, 2 és 10) a találmány szerinti peptidek, míg a (3)-(5) peptidek (SEQ ID NO: 7-9) nem tartoznak a találmány tárgykörébe. Megjegyzendő, hogy az alább leírt kísérleti berendezések kizárólag illusztratív és javasolt berendezések és a találmány tárgykörét nem korlátozzák.

Kísérleti állatok

A vizsgálatokban a Sprague-Dawley Inc. (Indianapolis, IN 46229) cégtől beszerezhető 300-400 g testtömegű Sprague-Dawley patkányokat, továbbá kevert fajú kutyákat (mindkét nem, 6-11 kg testtömeg) alkalmaztunk.

A kutyákat nátrium-pentobarbitál (30 mg/kg, i.v.) segítségével érzéstelenítettük. A combi artériát és a combi vénát izoláltuk és kanült helyeztünk be a vér-

nyomásmérés céljából (Gould P23ID, Gould Inc., Medical Products Division, Oxnard, CA 93030) továbbá a vérminta-vétel, illetve a hatóanyag adagolásának céljára. A szubkután módon bevezetett végtag vezetékekkel a II ECG mérést végeztük. A vérnyomást, illetve az ECG mérés eredményeit rögzítettük (Gould 440 rekorder, Gould Inc., Instrument Systems Division, Cleveland, OH 44114).

Vérminta-vétel

A vérmintákat 3,8% trinátrium-citrát (1:10) tartalmú műanyag fecskendőkbe vettük. A plazmát a minta 2000 g erő 10 percen át történő alkalmazásával centrifugálással állítottuk elő. Az in vitro vizsgálatok céljára a vénás vért egészséges, hatóanyagmentes him önkéntesektől nyertük.

Koagulációs tesztvizsgálat, templát vérzési idő és hematológia

Az aktivált részleges tromboplastin időt (aPTT) a Dade Diagnostics, Inc. (Aguada, Puerto Rico 00601) eljárásával, illetve reagenseivel mértük. A trombin alvadási időt úgy mértük, hogy 0,1 ml patkány plazmát 37°C hőmérsékleten 0,1 ml 0,1m Tris puffer pH = 7,5 alkalmazásával 30 percen át inkubáltunk. A koagulációt 0,1 ml marha trombinnal indítottuk (Sigma Diagnostics, St. Louis, MO 63178) (12 NIH egység/ml oldat). Valamennyi alvadási időt félautomata módon NLA-Electra 750 automata koaguláció időmérővel határoztunk meg [MLA, Inc. (Pleasantville, NY 10570)]. Az alvadási idő megkétszerezéséhez szükséges koncentrációt (ID_2) egyszerű lineáris regresszió számítással számítottuk. A $t_{1/2}$ értéket az antitrombin aktivitásra (trombin idő) meghatároztuk az (1) általános képletű peptid (SEQ ID NO: 1) infúzió után, amely infúziót 1 és 5 nmol /kg/perc dózisban végeztünk. A $t_{1/2}$ érték becslését az időben nyert válaszadatok lineáris regressziós számításával becsültük.

A templát vérzés időt a bal láb középső felületén határoztuk meg, miután a szőrzetet leborotváltuk (Nair, Carter-Wallace, Inc., New York, NY 10105). A méréshez egy Surgicutt® vérzési időmérőt alkalmaztunk (International Technidyne Corp., Edison, NJ 08820). A templát vérzési időt a hatóanyag adagolása előtt 60 és 30 perccel, majd a hatóanyag adagolása után 15, 30, 60, 120, 180 és 240 perccel határoztuk meg.

Az egész véresejt számlálást, illetve a hemoglobin tartalom analízist $140\ \mu\text{l}$ vérmintán mértük, amely mintát EDTA segítségével antikoagulációs kezelésnek vetettünk alá. A mérést hematológiai analizáló berendezéssel végeztük (Technicon H1, Miles Technicon, Tarrytown, NY 10591). A mintákat a hatóanyag adagolása előtt 60 és 30 perccel, valamint a hatóanyag adagolása után 15, 30, 60, 120, 180 és 240 perccel vettük.

Vérlemez aggregációs tesztvizsgálat

Humán vérlemezben gazdag plazmát (PRP) állítottunk elő úgy, hogy a vérmintát 200 g erővel 10 percen át szobahőmérsékleten centrifugáltuk. A vérlemez szegény plazmát (PPP) úgy állítottuk elő, hogy a vérmintát 2000 g erővel 10 percen át centrifugáltuk. A PRP mintát csak műanyag laboratóriumi edénynek tettük ki. Valamennyi tesztvizsgálati kísérletet a vérminta gyűjtése után 3 órán belül befejeztük. A vérlemez aggregációt fotometriai úton Chrono-log kétcsatornás aggregométerrel mértük (Chrono-log Corp., Haverstown, PA 19083). A 100%-os fény átbocsátást autolog PPP segítségével határoztuk meg. A maximális fény átbocsátási változás százalékot a PRP alkalmazásával határoztuk meg ADP ($1\ \mu\text{l}$) vagy trombin adagolása után. A trombin (0,2-2,0 egység/ml) indukált vérlemez aggregáció koncentrációfüggő és a fél maximális koncentrációt alkalmaztuk az inhiálás tesztvizsgálatokban. A (2) általános képletű peptidet (SEQ ID

NO: 2) 0,45 ml PRP anyaggal inkubáltuk 30 másodpercen át az ADP vagy a trombin beadagolása előtt. Az aggregációt összes 0,5 ml térfogatú mintákban mértük. Az inhibitor válaszfüggvényt százalék inhibíálásban fejeztük ki a kontroll értékkel összehasonlítva. Az 50%-os aggregáció inhibíálást eredményező koncentrációt (IC_{50}) egyszerű lineáris regresszió segítségével számítottuk.

A vérben a vérlemez aggregációt fiziológiás sóoldattal hígított (1:2) citráttal kezelt vérmintában képeztük, és egy teljes vér aggregométer segítségével mértük (Chrono-log, 540-VS modell). A hígított vér alikvot mintáit műanyag küvetákba helyeztük és 15 percen át 37°C hőmérsékleten inkubáltuk. Az aggregációt ADP (2 μ mol) vagy trombin (0,4 U/ml) adagolásával indukáltuk. Az elektromos impedancia változását egy szalagos rekorder segítségével rögzítettük. Az aggregációt 1,0 ml összes vér térfogatban mértük. Az inhibáló hatást inhibíálás százalékban fejeztük ki a kontroll értékekkel összehasonlítva. Az aggregáció 50%-os inhibíálását eredményező koncentrációt (IC_{50}) egyszerű lineáris regresszió segítségével számítottuk.

FeCl₃ artériás trombózis modell patkányokban (*in vivo*)

Az (1) általános képletű peptid (SEQ ID NO: 1) *in vivo* antitrombotikus hatását patkányokban ugyancsak mértük a vegyület jellemzőinek bemutatására. Például értékeltük az (1) általános képletű peptid (SEQ ID NO: 1) trombózis ellenes aktivitását egy vérlemez-függő trombin által mediált FeCl₃-indukált patkány nyaki verőér trombózis modellben a R.J. Broersma, és munkatársai, Thromb. Res. 64, 405-412 (1991) közleménye szerint, amelyet referenciaként adunk meg.

Eredmények

A vizsgálatok eredménye azt mutatja, hogy az (1) általános képletű peptid (SEQ ID NO: 1) váratlan módon sokkal hatásosabb, mint a (3) általános képletű peptid (SEQ ID NO: 7), a (4) általános képletű peptid (SEQ ID NO: 8) vagy akár a (2) általános képletű peptid (SEQ ID NO: 2) a trombin-indukált vérlemez aggregáció inhibíálásában.

VII. Táblázat

Az (1) peptid antikoaguláns aktivitása humán plazmában a (2), (3) és (4) peptidekkel összehasonlítva

Peptid	Peptid szekvencia	ID ₂ , nM ^a	
		aPTT	Trombin idő
3	fPRPGcGRGD(Nle)PcGDYEPIPE	998±108	141±52
4	fPRPGcGRGDFPcGDYEPIPEEA	115±24	14±3
2	fPRPGcGRGDFPcGDYEPIPEEA	60±18	24±7
1	fPRPGcGRDG(Nle)PcGDYEPIPE	12±0,2	5±1

^a ID₂ érték (átlag ± S.D.) az a koncentráció, amely megkétszerezi a véralvadás időt

(másodpercben) a három párhuzamos mérés alapján a kontrollal összehasonlítva

aPTT az aktivált részleges tromboplastin idő

A VII. táblázatban alkalmazott (1) peptid (SEQ ID NO: 1) a (2) peptid (SEQ ID NO: 2) analógja, amelyben a (2) peptid (SEQ ID NO: 2) ciklusos RGD-X szekvenciájában a fenil-alanin (Phe) egységet norleucin (Nle) egységgel helyettesítettük. A (3) peptid (SEQ ID NO: 7) a (2) peptid (SEQ ID NO: 2) analógja, amelyben az anion-kötő exo-hellyel kapcsolódó egységet (C molekularész) elhagytuk. A (4) peptid (SEQ ID NO: 8), a (4) peptid (SEQ ID NO: 8) a (4) peptid (SEQ ID NO: 4)

analógja, amely csak természetes L-aminosavakat tartalmaz. Az (1) peptid (SEQ ID NO: 1) és a (2) peptid (SEQ ID NO: 2) a találmány szerinti vegyületek, a (3) peptid (SEQ ID NO: 7) és a (4) peptid (SEQ ID NO: 8) nem tartoznak a találmány tárgykörébe.

Az (1) peptid (SEQ ID NO: 1) az aPTT időt, illetve a trombin időt (ID_2) megkétszerezi 12 nm és 5 nm koncentráció mellett. Ez ötszörös antikoaguláns aktivitást jelent a (2) peptiddel (SEQ ID NO: 2) összehasonlítva. A VII. táblázatban bemutatott adatok azt mutatják, hogy a (3) peptid (SEQ ID NO: 7) és a (4) peptid (SEQ ID NO: 8) kisebb antikoaguláns aktivitásúak, mint a (2) peptid.

VIII. Táblázat

Az (1) peptid inhibáló hatása humán vérlemez aggregációra a (2), (3) és (4) peptidekkel összehasonlítva

Peptid	Peptid szekvencia	IC ₅₀ ^a	
		ADP μm	Trombin nm
3	fPRPGcGRGD(Nle)PcGDYEPIPE	29,3±7,8	407±372
4	fPRPGcGRGD(Nle)PCGDYEPIP EEAYD	35,9±.5	408±180
2	fPRPGcGRGDFPcGDYEPIPEEA (Cha)e	18,7±4,6	60±26
1	fPRPGcGRGD(Nle)PcGDYEPIPEE A(Cha)e	31,7±2,3	0,4±0,05

^aIC₅₀ érték (átlag ± S.D.) az a koncentráció, PRP mintában a vérlemez aggregációt 50%-kal inhibálja a kontroll aggregációval összehasonlítva két párhuzamos tesztvizsgálatban.

Trombin-indukált vérlemez aggregáció

A VIII. táblázatban bemutatjuk az (1)-(4) peptidek (SEQ ID NO: 1, 2, 7 és 8) dóziszfüggő inhibiáló hatását humán vérlemez aggregációra. A trombin-indukált vérlemez aggregációt leghatásosabban az (1) peptid (SEQ ID NO: 1) inhibálta, amelynek IC_{50} értéke 399 ± 76 pm és ez a (2) peptiddel (SEQ ID NO: 2) ($IC_{50} = 60 \pm 26$ nm) összehasonlítva 150-szeres hatásosságot jelent.

A (4) peptid (SEQ ID NO: 8), amely olyan analóg, ami csak L-természetes aminosavakat tartalmaz és a (3) peptid (SEQ ID NO: 7), amely olyan analóg, amely rövidített COOH-terminális résszel rendelkezik, kb. 1000-szer kevésbé aktív, mint az (1) peptid.

ADP-indukált vérlemez aggregáció

Az aggregátum bontó aktivitást az ADP-indukált humán vérlemez aggregáció dóziszfüggő inhibálásával mértük és az eredményeket a VIII. táblázatban mutatjuk be. Az (1) peptid (SEQ ID NO: 1) ($IC_{50} = 32$ μ mol) és a (2) peptid (SEQ ID NO: 2) ($IC_{50} = 19$ μ mol) hasonló aktivitást mutatott. A (4) peptid (SEQ ID NO: 8), amely olyan analóg, amely csak természetes L-aminosavakat tartalmaz és a (3) peptid (SEQ ID NO: 7) amely olyan analóg, amely rövidített COOH-terminális résszel rendelkezik, kb. ekvivalens hatásúak az (1) peptiddel (SEQ ID NO: 1) a dezintegráló hatásban.

Teljes vér vérlemez aggregáció

A humán és patkány teljes vér vérlemez aggregációt, amelyet ADP (0,5 μ mol) és trombin (0,025 U/ml) kombinációval indukáltunk, az (1) peptid sorrendben IC_{50} 2,9 nmol és 42,5 nm koncentráció alkalmazásával inhibálja (lásd 3. ábra). Ennek alapján az (1) peptid (SEQ ID NO: 1) kb. 15-ször aktívabb a humán vérben, mint a patkány vér esetében. Ezen túlmenően az (1) peptid (SEQ ID NO:

1) teljesen inhibálja humán vérben az aggregációt, ugyanakkor a patkányvérben az inhibálás kb. 50%-os értékben ellaposodik.

Az (1) peptid intravénás adagolása kutyákba

Az (1) peptid (SEQ ID NO: 1) inhibálja a trombint, illetve a vérlemez aggregációt, amennyiben érzéstelenített kutyákba 1 órán át infúzió segítségével adagoljuk. Az (1) peptid (SEQ ID NO: 1) hatása rövid ideig tart, azután, miután az infúziót leállítottuk. A trombin idő (4. ábra) és az aPTT idő (5. ábra) dóziszfüggően megnyúlik, amennyiben sorrendben 1, illetve 5 nmol/kg/perc infúziót alkalmazunk. Az (1) peptid (SEQ ID NO: 1) infúzió hatására a trombin idő érzékenyebben változik az inhibálás következtében, mint az aPTT idő. A 2. ábrán bemutatott összegző adatok azt jelzik, hogy a maximális inhibálás 15-30 percen belül kialakul. Miután az infúziót leállítottuk (60 perc), a trombin aktivitás visszaáll egy $t_{1/2}$ $17 \pm 0,1$ és $26 \pm 3,2$ perc farmakodinamikus értékkel az 1, illetve 5 nm/kg/perc dózis esetében.

A vérlemez aggregáció inhibálás bizonyítja, hogy az (1) peptid (SEQ ID NO: 1) a koagulációs tesztvizsgálatokban hatást fejt ki. Az (1) peptid (SEQ ID NO: 1) infúziója inhibálja 15 percen belül a trombin-indukált vérlemez aggregációt (6. ábra). Az inhibálás az 1 óra infúzió időtartam alatt fenntartható 3 kutyából 2 esetében. A vérlemez aktivitás $t_{1/2}$ $12,8 \pm 1/1$ perc farmakodinamikus értékkel visszaáll 1 nmol/kg/perc infúziós dózis esetében az infúzió leállítása után.

Az ADP-indukált vérlemez aggregációt 3 kutya közül 1 esetében valamilyen dózis mellett a vegyület inhibálja. Az in vitro ADP-indukált vérlemez aggregációt μ mol dózis inhibálja. Feltehető azonban (a találmány ezt a feltételezést nem foglalja magában), hogy a vér hígítása 1:2 fiziológiás sóoldattal a teljes vérlemez aggregáció tesztvizsgálatban az (1) peptid (SEQ ID NO: 1) koncentrá-

cióját hígítja és csökkenti azt a koncentrációt, amely az ADP-indukált vérlemez aggregáció hatásos inhibíálásához szükséges lenne. Az (1) peptiddel (SEQ ID NO: 1) kezelt kutyák esetében a vérzési idő (7. ábra) és a vérlemez szám (8. ábra) stabil maradt. A vérnyomás (9. ábra) és a szívverés sebessége (10. ábra) dóziszfüggő módon enyhén emelkedett. Ezek a paraméterek alapvonalra kerülnek vissza az infúzió befejezése után 2 órán belül.

IX. Táblázat

(1) peptid hatása patkányokban az artériás trombózisra

(1) peptid nmol/kg/perc ^a	Okklúziós idő		Állatok száma n Okkluált/kezelt
	Kontroll	Kezelt	
5	15,7 ± 1,4	24,1 ± 5,8	6/6
10	17,1 ± 1,3	40,4 ± 5,8**	4/7
25	18,6 ± 1,7	58,1 ± 9,5**	1/5

^a 15 perccel az FeCl₃ kezelés előtt kezdve 60 perc infúzió alkalmazása

**p < 0,01 a kontrollal összehasonlítva

Az (1) peptid (SEQ ID NO: 1) trombózis ellenes aktivitását vizsgáltuk FeCl₃-indukált patkány nyaki artéria trombózis modellben. A trombózis elzáródást dóziszfüggő módon meghosszabbíthatjuk folyamatos intravénás adagolással, amely adagolást 15 perccel az FeCl₃ adagolás előtt kezdtünk és 1 órán át folytattunk 5, 10 és 25 nmol/kg/perc dózisban (lásd IX. táblázatot és 11. ábrát). Az elzáródás megakadályozható 5 patkány közül 4 esetében 25 nmol/kg/perc dózis esetében. Amennyiben 10 vagy 5 nmol/kg/perc dózist alkalmaztunk, az elzáródás 7 patkány közül 4 esetében, illetve 6 patkány közül 0 esetében nem történt meg. Az (1) peptid (SEQ ID NO: 1) szükséges dózisa ahhoz, hogy az FeCl₃ adagolás-

sal kifejtett elzáródási időt megkétszerezze, 19,3 nmol/kg/perc összehasonlítva a (2) peptid (SEQ ID NO: 2) megfigyelt 33,7 nmol/kg/perc értékével.

X. táblázat

Humán vérlemez aggregáció inhibíálása: „(L)CYS hurok” összehasonlítva a „(D)CYS hurokkal”

Peptid	Peptid szekvencia	IC ₅₀ ^a	
		ADP	Trombin
		μm	nm
5	fPRPGCRIPRGD(Nle)PADC GDYEPIPEEA(Cha)e	1,4 ± 0,3	231 ± 187
6	fPRPGcRIPRGD(Nle)PADc GDYEPIPEEA(Cha)e	2,1 ± 0,4	21 ± 20

^aIC₅₀ érték (átlag ± S.D.) az a koncentráció, amely 50%-ban inhibálja PRP-ben a vérlemez aggregációt, összehasonlítva a három párhuzamos mérést és a kontroll aggregációt.

A X. táblázatban bemutatjuk milyen különbség van a két sztereoizomert tartalmazó vegyület hatásában, amely eltérés az áthidaló hídban a katalitikus-hely inhibitor és az anion-kötő exo-helyzet felismerő szekvencia között található a molekulában, abból eredően, hogy az áthidaló rész (D)Cys, illetve (L)Cys-maradékot tartalmaz. Az (5) peptid (SEQ ID NO: 9) és a (6) peptid (SEQ ID NO: 10) az (1) peptid (SEQ ID NO: 1) analógjai, amelyek a ciklusos RGD-szekvenciában további maradékot tartalmaznak. Az (5) peptid (SEQ ID NO: 9) abban is eltér, hogy az áthidaló részben a (D)Cys-maradék helyett (L)Cys-maradékot tartalmaz. A ciklusos RGD-szekvenciában eltérő térbeli orientáció a (D)Cys analóg esetében a (6)-peptid (SEQ ID NO: 10) nagyobb inhibálást eredményez a trombin-indukált

vérlemez aggregációra humán vérlemezek esetében. A két sztereoizomer között 10-szeres trombin aktivitás eltérést tapasztaltunk. Az ADP-indukált vérlemez aggregációban és az antikoaguláns aktivitásban azonban a két sztereoizomer nem mutatott különbséget. Megjegyzendő, hogy amennyiben az (1) peptidet (SEQ ID NO: 1) úgy módosítjuk, hogy csak természetes L-aminosavakat tartalmazzon - (4) peptid (SEQ ID NO: 8) - ez a két sztereoizomer közötti eltérést megnöveli. Az (1) peptid (SEQ ID NO: 1) körülbelül 1000-szer nagyobb inhibíciót mutat trombin-indukált vérlemez aggregációra, mint a (4) peptid (SEQ ID NO: 8) (lásd VIII. táblázat). A két sztereoizomer között nem mutatkozik különbség az ADP-indukált vérlemez aggregáció inhibíciójában. A (D)Cys-analóg antikoaguláns aktivitása azonban nagyobb - (1) peptid (SEQ ID NO: 1) - mint a természetes aminosavat tartalmazó analóg aktivitása - (4) peptid (SEQ ID NO: 8) -.

Az (1) peptid aktivitása összehasonlítva az (1) peptid analógok aktivitásával

A XI-XIV táblázatokban bemutatjuk az (1) peptid (SEQ ID NO: 1) analógok kifejtett IC_{50} vérlemez inhibáló és ID_2 antikoaguláns adatait. Az összehasonlításban az (1) peptid (SEQ ID NO: 1) minta alábbi aktivitását alkalmazzuk: koaguláció - ID_2 (aPTT = 27,9 nmol; trombin idő = 15 nmol); aggregáció - IC_{50} (trombin = 5,8 nm; ADP = 11,4 μ mol). A XI-XIV. táblázatokban található trombin és ADP adatok a (7)-(18) peptidek (SEQ ID NO: 11-22) esetében csak összehasonlító adatok és nem konkrét peptid koncentrációk, mivel nem nyertünk egységeket. Például a (7) peptid (SEQ ID NO: 11) aPTT 0,99 értéke csak azt jelzi, hogy a (7) peptid (SEQ ID NO: 11) 99%-os aktivitású az (1) peptiddel (SEQ ID NO: 1) összehasonlítva a normál humán plazmán végzett aktivált részleges tromboplasztin idő (aPTT) tesztvizsgálatban.

XI. Táblázat

Az (1) peptid relatív aktivitása a B₄-szubsztituált analógokkal összehasonlítva

Peptid	Peptid szekvencia	Koagulálás		Aggregáció	
		aPTT	Trombin idő	Trombin	ADP
7	fPRPGcGRGDMPcGDYEPIPEEA(Cha)e	0,99	0,19	0,10	0,74
8	fPRPGcGRDG(Cha)PcGDYEPIPEEA(Cha)e	0,60	1,04	0,12	0,43

A XI. táblázatban bemutatjuk két (1) peptid (SEQ ID NO: 1) analóg, a (7) peptid (SEQ ID NO: 11) és a (8) peptid (SEQ ID NO: 12) aktivitás eltérését, amely vegyületek a találmány tárgykörébe tartoznak. A (7) peptid (SEQ ID NO: 11) az (1) peptid (SEQ ID NO: 1) analógja, amelyben a B₄ egységben az Nle-maradékot Met-maradékkal helyettesítettük és a (8) peptid (SEQ ID NO: 12) az (1) peptid (SEQ ID NO: 1) analógja, amelyben a B₄-egységben az Nle-maradékot Cha-maradékkal helyettesítettük. A (8) peptid (SEQ ID NO: 12) az aPTT tesztvizsgálatban az (1) peptidhez hasonlítva (SEQ ID NO: 1) kb. egyharmaddal kisebb aktivitású. A (7) peptid (SEQ ID NO: 11) kb. azonos aktivitású az aPTT tesztvizsgálatban, mint az (1) peptid (SEQ ID NO: 1). A trombin idő értékek vonatkozásában ez az érték minden egyes peptid esetében változik. A (7) peptid (SEQ ID NO: 11) az (1) peptid (SEQ ID NO: 1) aktivitásának csak 19%-ával rendelkezik. A (8) peptid (SEQ ID NO: 12) aktívabb mint az (1) peptid (SEQ ID NO: 1). Az (1) peptid (SEQ ID NO: 1) trombin aktivitásában 10-szeres különbség van bármelyik analóggal összehasonlítva. A (8) peptid (SEQ ID NO: 12) ADP aktivitása kb. az (1) peptid

(SEQ ID NO: 1) aktivitásának fele. A (7) peptid ugyanilyen aktivitása (SEQ ID NO: 11) kb. az (1) peptid (SEQ ID NO: 1) aktivitásának 3/4-e.

XII. Táblázat

Az (I) peptid aktivitása a B₃-szubsztituált penicillamin analógokkal összehasonlítva

Peptid	Peptid szekvencia	Koagulálás		Aggregáció	
		aPTT	Trom- bin idő	Trom- bin	ADP
9	fPRPGcGRGD(Nle)P(D- Pen)GDYEPIPEEA(Cha)e	0,11	0,15	0,06	0,13
10	fPRPGcG(Me-R)GD(Nle)P(D- Pen)GDYEPIPEEA(Cha)e	0,52	0,92	0,08	6,0

A XII. táblázatban bemutatjuk az (1) peptid (SEQ ID NO: 1) két penicillamin analógjának aktivitás különbségét. Ez a két analóg a (9) peptid (SEQ ID NO: 13) és a (10) peptid (SEQ ID NO: 14). A peptidek nem tartoznak a találmány tárgykörébe. A táblázat adatait azért mutatjuk be, hogy bemutassuk, hogy a B₃-egységen az Arg-maradékot Me-Arg-maradékkal helyettesíthetjük. A (9) peptid (SEQ ID NO: 13) aktivitását a penicillamin-egység bevezetése minden tesztvizsgálatban igen nagymértékben csökkenti. A (10) peptid aktivitása (SEQ ID NO: 14) ugyanilyen mértékben csökken aktivitás vonatkozásában, mint a (9) peptidé (SEQ ID NO: 13). Ugyanezen peptid esetében azonban csak kis csökkenés mutatkozik a trombin időben, míg az ADP aktivitása 6-szorosan csökken az (1) peptiddel (SEQ ID NO: 1) összehasonlítva.

XIII. Táblázat

Az (1) peptid aktivitásának összehasonlítása a B₂-szubsztituált analógokkal

Peptid	Peptid szekvencia	Koagulálás		Aggregáció	
		aPTT	Trom- bin idő	Trom- bin	ADP
11	fPRPGcyRGD(Nle)PcGDYEPIPEEA(Cha)e	0,37	0,86	0,13	0,18
12	fPRPGcvRGD(Nle)PcGDYEPIPEEA(Cha)e	0,53	1,38	0,14	0,18
13	fPRPGcRGD(Nle)PcGDYEPIPEEA(Cha)e	0,40	0,27	0,04	0,20
14	fPRPGctRGD(Nle)PcGDYEPIPEEA(Cha)e	0,75	0,93	0,18	0,22
15	fPRPGcpRGD(Nle)PcGDYEPIPEEA(Cha)e	0,59	1,12	0,36	0,26

A XIII. táblázatban bemutatjuk, hogy a B₂-helyzetben a Gly-maradékot át-cserélhetjük különféle D-aminosav-maradékokra. A (11) peptid (SEQ ID NO: 15), a (12) peptid (SEQ ID NO: 16), a (14) peptid (SEQ ID NO: 18) és a (15) peptid (SEQ ID NO: 19) az (1) peptid (SEQ ID NO: 1) analógjai, amelyekben a B₂-egysé-
get különféle D-aminosav-maradékokkal helyettesítettük és ezek a peptidek a találmány tárgykörébe tartoznak. A (13) peptid (SEQ ID NO: 17) nem tartozik a találmány tárgykörébe, és ez az (1) peptid (SEQ ID NO: 1) olyan analógja, amely-
ben a B₂-helyzetben található Gly-maradék elhagyott.

XIV. Táblázat

Az (1) peptid aktivitásának összehasonlítása az A₁-szubsztituált analógok aktivitásával

Peptid	Peptid szekvencia	Koagulálás		Aggregáció	
		aPTT	Trom- bin idő	Trom- bin	ADP
16	(D-Phg)RPGcGRGD(Nle)Pc- GDYEPIPEEA(Cha)e	0,72	1,03	0,94	0,54
17	(D-3-Tiq)PRPGcGRGD(Nle)Pc- GDYEPIPEEA(Cha)e	0,62	0,93	0,13	1,27
18	(N-Me-f)PRPGcGRDG(Nle)Pc- GDYEPIPEEA(Cha)e	1,73	0,77	0,55	0,43

A XIV. táblázatban bemutatjuk az A₁-helyzetben a (D)Phe-maradék kicserélhetőségének lehetőségét. A (16)-(18) peptidek (SEQ ID NO: 20-22) valamennyien a találmány tárgykörébe tartoznak. A (16) peptid (SEQ ID NO: 20) lényegében ugyanolyan trombin aktivitást és trombin időt mutat, mint az (1) peptid (SEQ ID NO: 1). A (17) peptid (SEQ ID NO: 21) lényegében ugyanolyan trombin időt mutat, mint az (1) peptid (SEQ ID NO: 1), továbbá ennél nagyobb ADP értékkel rendelkezik, viszont a trombin értékben 10-szer kisebb aktivitású. A (18) peptid (SEQ ID NO: 22) jelentős növekedést mutat az aPTT értékekben az (1) peptiddel (SEQ ID NO: 1) összehasonlítva, azonban trombin ideje az (1) peptid (SEQ ID NO: 1) idejének csak 77%-a, ugyanakkor a trombin és az ADP értékek ezen peptid esetében az (1) peptid (SEQ ID NO: 1) ugyanilyen értékeinek felét teszik ki.

SZEKVENCIA LISTA

(1) Általános információk:

(i) Bejelentő:

- (A) Név: Merrell Dow Pharmaceuticals Inc.
- (B) Utca: 2110 E. Galbraith Road, P.O. Box 156300
- (C) Város: Cincinnati
- (D) Állam: Ohio
- (E) Ország: U.S.A.
- (F) Postai kód: 45215-6300
- (G) Telefon: 513/948-6566
- (H) Telefax: 513/948-7961 vagy 4681
- (I) Telex: 214320

(ii) A találmány címe: Háromfunkciós antitrombin és antiplatelet peptidek

(iii) Szekvenciák száma: 22

(iv) Komputer olvasható forma:

- (A) Média típus: Floppy disc
- (B) Számítógép: IBM PC kompatibilis
- (C) Működtető rendszer: PC-DOS/MS-DOS
- (D) Software: PatentIn Release #1.0, Verzió #1,25 (EPO)

(vi) Előzetes benyújtási adatok:

- (A) Benyújtás száma: US 08/076,066
- (B) Benyújtás dátuma: 1993. június 11.

(2) SEQ ID NO: 1 adatai:

(i) Szekvencia jellemzők:

(A) Hossz: 25 aminosav

(B) Típus: aminosav

(D) Topologia: lineáris

(ii) Molekula típus: peptid

(ix) Jellemzők:

(A) Név/jelzés: Módosított-helyzet

(B) Helyzet: 1

(D) Egyéb információ: / megjegyzés: „Xaa 1-helyzetben D-konfigurációjú fenil-alanin”

(ix) Jellemzők:

(A) Név/jelzés: Módosított-helyzet

(B) Helyzet: 6

(D) Egyéb információ: / megjegyzés: „Xaa 6-helyzetben D-Cys és szulfid-kötésű a B-helyzetű D-Cys-hez”

(ix) Jellemzők:

(A) Név/jelzés: Módosított-helyzet

(B) Helyzet: 11

(D) Egyéb információ: / megjegyzés: „Xaa a 11-helyzetben norleucin”

(ix) Jellemzők:

(A) Név/jelzés: Módosított-helyzet

(B) Helyzet: 13

(D) Egyéb információ: / megjegyzés: „Xaa a 13-helyzetben D-Cys és szulfid-kötésű a 6-helyzetű D-Cys-hez”

(ix) Jellemzők:

(A) Név/jelzés: Módosított-helyzet

(B) Helyzet: 24

(D) Egyéb információ: / megjegyzés: „Xaa a 24-helyzetben ciklohexil-alanin”

(ix) Jellemzők:

(A) Név/jelzés: Módosított-helyzet

(B) Helyzet: 25

(D) Egyéb információ: / megjegyzés: „Xaa a 25-helyzetben glutaminsav,
amely D-konfigurációjú”

(xi) Szekvencia leírása: SEQ ID NO: 1:

Xaa Pro Arg Pro Gly Xaa Gly Arg Gly Asp Xaa Pro Xaa Gly Asp Tyr

1 5 10 15

Glu Pro Ile Pro Glu Glu Ala Xaa Xaa

20 25

(2) SEQ ID NO: 2 adatai:

(i) Szekvencia jellemzők:

(A) Hossz: 25 aminosav

(B) Típus: aminosav

(D) Topologia: línearis

(ii) Molekula típus: peptid

(ix) Jellemzők:

(A) Név/jelzés: Módosított-helyzet

(B) Helyzet: 1

(D) Egyéb információ: / megjegyzés: „Xaa az 1-helyzetben D-konfigurációjú
fenil-alanin”

(ix) Jellemzők:

(A) Név/jelzés: Módosított-helyzet

(B) Helyzet: 6

(D) Egyéb információ: / megjegyzés: „Xaa a 6-helyzetben D-Cys, amely a 13-helyzetű D-Cys-maradékhoz szulfid kötéssel kötött”

(ix) Jellemzők:

(A) Név/jelzés: Módosított-helyzet

(B) Helyzet: 13

(D) Egyéb információ: / megjegyzés: „Xaa a 13-helyzetben D-Cys és a 6-helyzetben található D-Cys-maradékhoz szulfid kötéssel kötött”

(ix) Jellemzők:

(A) Név/jelzés: Módosított-helyzet

(B) Helyzet: 24

(D) Egyéb információ: / megjegyzés: „Xaa a 24-helyzetben ciklohexil-alanin”

(ix) Jellemzők:

(A) Név/jelzés: Módosított-helyzet

(B) Helyzet: 25

(D) Egyéb információ: / megjegyzés: „Xaa a 25-helyzetben D-konfigurációjú glutaminsav”

(xi) Szekvencia leírása: SEQ ID NO: 2:

Xaa Pro Arg Pro Gly Xaa Gly Arg Gly Asp Phe Pro Xaa Gly Asp Tyr

1

5

10

15

Glu Pro Ile Pro Glu Glu Ala Xaa Xaa

20

25

(2) SEQ ID NO: 3 adatai:

(i) Szekvencia jellemzők:

(A) Hossz: 8 aminosav

(B) Típus: aminosav

(D) Topologia: línearis

(ii) Molekula típus: peptid

(ix) Jellemzők:

(A) Név/jelzés: Módosított-helyzet

(B) Helyzet: 1

(D) Egyéb információ: / megjegyzés: „Xaa az 1-helyzetben D-Cys, amely a 8-helyzetben található D-Cys maradékhoz szulfid kötéssel kötött”

(ix) Jellemzők:

(A) Név/jelzés: Módosított-helyzet

(B) Helyzet: 8

(D) Egyéb információ: / megjegyzés: „Xaa a 8-helyzetben D-Cys, amely az 1-helyzetben található D-Cys-maradékhoz szulfid kötéssel kötött”

(xi) Szekvencia leírása: SEQ ID NO: 3:

Xaa Gly Arg Gly Asp Phe Pro Xaa

1

5

(2) SEQ ID NO: 4 adatai:

(i) Szekvencia jellemzők:

(A) Hossz: 5 aminosav

(B) Típus: aminosav

(D) Topologia: línearis

(ii) Molekula típus: peptid

(ix) Jellemzők:

(A) Név/jelzés: Módosított-helyzet

(B) Helyzet: 1

(D) Egyéb információ: / megjegyzés: „Xaa az 1-helyzetben Tyr, amely szukcinil-csoporttal szubsztituált”

(ix) Jellemzők:

(A) Név/jelzés: Módosított-helyzet

(B) Helyzet: 9

(D) Egyéb információ: / megjegyzés: „Xaa a 9-helyzetben ciklohexil-alanin”

(ix) Jellemzők:

(A) Név/jelzés: Módosított-helyzet

(B) Helyzet: 10

(D) Egyéb információ: / megjegyzés: „Xaa a 10-helyzetben glutaminsav, amely D-konfigurációjú”

(xi) Szekvencia leírása: SEQ ID NO: 4:

Xaa Glu Pro Ile Pro Glu Glu Ala Xaa Xaa

1

5

10

(2) SEQ ID NO: 5 adatai:

(i) Szekvencia jellemzők:

(A) Hossz: 5 aminosav

(B) Típus: aminosav

(D) Topologia: lineáris

(ii) Molekula típus: peptid

(ix) Jellemzők:

(A) Név/jelzés: Módosított-helyzet

(B) Helyzet: 1

(D) Egyéb információ: / megjegyzés: „Xaa az 1-helyzetben D-konfigurációjú
fenil-alanin”

(xi) Szekvencia leírás: SEQ ID NO: 5:

Xaa Pro Arg Pro Gly

1

5

(2) SEQ ID NO: 6 adatai:

(i) Szekvencia jellemzők:

(A) Hossz: 3 aminosav

(B) Típus: aminosav

(D) Topologia: lineáris

(ii) Molekula típus: peptid

(ix) Jellemzők:

(A) Név/jelzés: Módosított-helyzet

(B) Helyzet: 1

(D) Egyéb információ: / megjegyzés: „Xaa az 1-helyzetben D-konfigurációjú
fenil-alanin, amely metilcsoport szubsztituenst tartalmaz”

(xi) Szekvencia leírás: SEQ ID NO: 6:

Xaa Pro Arg

1

(2) SEQ ID NO: 7 adatai:

(i) Szekvencia jellemzők:

(A) Hossz: 21 aminosav

(B) Típus: aminosav

(D) Topologia: líneáris

(ii) Molekula típus: peptid

(ix) Jellemzők:

(A) Név/jelzés: Módosított-helyzet

(B) Helyzet: 1

(D) Egyéb információ: / megjegyzés: „Xaa az 1-helyzetben D-konfigurációjú fenil-alanin”

(ix) Jellemzők:

(A) Név/jelzés: Módosított-helyzet

(B) Helyzet: 6

(D) Egyéb információ: / megjegyzés: „Xaa a 6-helyzetben D-Cys, amely a 13-helyzetű D-Cys-maradékhoz szulfid kötéssel kötött”

(ix) Jellemzők:

(A) Név/jelzés: Módosított-helyzet

(B) Helyzet: 11

(D) Egyéb információ: / megjegyzés: „Xaa a 11-helyzetben norleucin”

(ix) Jellemzők:

(A) Név/jelzés: Módosított-helyzet

(B) Helyzet: 13

(D) Egyéb információ: / megjegyzés: „Xaa a 13-helyzetben D-Cys, amely a 6-helyzetben található D-Cys maradékhoz szulfid kötéssel kapcsolódik”

(xi) Szekvencia leírása: SEQ ID NO: 7:

Xaa Pro Arg Pro Gly Xaa Gly Arg Gly Asp Phe Pro Xaa Gly Asp Tyr

1 5 10 15

Glu Pro Ile Pro Glu

20

(2) SEQ ID NO: 8 adatai:

(i) Szekvencia jellemzők:

(A) Hossz: 25 aminosav

(B) Típus: aminosav

(D) Topologia: lineáris

(ii) Molekula típus: peptid

(ix) Jellemzők:

(A) Név/jelzés: Módosított-helyzet

(B) Helyzet: 1

(D) Egyéb információ: / megjegyzés: „Xaa az 1-helyzetben D-konfigurációjú
fenil-alanin”

(ix) Jellemzők:

(A) Név/jelzés: Módosított-helyzet

(B) Helyzet: 11

(D) Egyéb információ: / megjegyzés: „Xaa a 11-helyzetben norleucin”

(xi) Szekvencia leírása: SEQ ID NO: 8:

Xaa Pro Arg Pro Gly Cys Gly Arg Gly Asp Xaa Pro Cys Gly Asp Tyr

1 5 10 15

Glu Pro Ile Pro Glu Glu Ala Tyr Asp

20

25

(2) SEQ ID NO: 9 adatai:

(i) Szekvencia jellemzők:

(A) Hossz: 29 aminosav

(B) Típus: aminosav

(D) Topologia: línearis

(ii) Molekula típus: peptid

(ix) Jellemzők:

(A) Név/jelzés: Módosított-helyzet

(B) Helyzet: 1

(D) Egyéb információ: / megjegyzés: „Xaa az 1-helyzetben D-konfigurációjú fenil-alanin”

(ix) Jellemzők:

(A) Név/jelzés: Módosított-helyzet

(B) Helyzet: 13

(D) Egyéb információ: / megjegyzés: „Xaa a 13-helyzetben norleucin”

(ix) Jellemzők:

(A) Név/jelzés: Módosított-helyzet

(B) Helyzet: 28

(D) Egyéb információ: / megjegyzés: „Xaa a 28-helyzetben ciklohexil-alanin”

(ix) Jellemzők:

(A) Név/jelzés: Módosított-helyzet

(B) Helyzet: 29

(D) Egyéb információ: / megjegyzés: „Xaa a 29-helyzetben D-konfigurációjú glutaminsav”

(xi) Szekvencia leírása: SEQ ID NO: 9:

Xaa Pro Arg Pro Gly Cys Arg Ile Pro Arg Gly Asp Xaa Pro Ala Asp

1

5

10

15

Gys Gly Asp Tyr Glu Pro Ile Pro Glu Glu Ala Xaa Xaa

20

25

(2) SEQ ID NO: 10 adatai:

(i) Szekvencia jellemzők:

(A) Hossz: 29 aminosav

(B) Típus: aminosav

(D) Topologia: lineáris

(ii) Molekula típus: peptid

(ix) Jellemzők:

(A) Név/jelzés: Módosított-helyzet

(B) Helyzet: 1

(D) Egyéb információ: / megjegyzés: „Xaa az 1-helyzetben D-konfigurációjú fenil-alanin”

(ix) Jellemzők:

(A) Név/jelzés: Módosított-helyzet

(B) Helyzet: 6

(D) Egyéb információ: / megjegyzés: „Xaa a 6-helyzetben D-Cys, amely a 17-helyzetű D-Cys-maradékhoz szulfid kötéssel kötött”

(ix) Jellemzők:

(A) Név/jelzés: Módosított-helyzet

(B) Helyzet: 13

(D) Egyéb információ: / megjegyzés: „Xaa a 13-helyzetben norleucin”

(ix) Jellemzők:

(A) Név/jelzés: Módosított-helyzet

(B) Helyzet: 17

(D) Egyéb információ: / megjegyzés: „Xaa a 17-helyzetben D-Cys, amely a 6-helyzetben található D-Cys maradékhoz szulfid kötéssel kapcsolódik”

(ix) Jellemzők:

(A) Név/jelzés: Módosított-helyzet

(B) Helyzet: 28

(D) Egyéb információ: / megjegyzés: „Xaa a 28-helyzetben ciklohexil-alanin”

(ix) Jellemzők:

(A) Név/jelzés: Módosított-helyzet

(B) Helyzet: 29

(D) Egyéb információ: / megjegyzés: „Xaa a 29-helyzetben D-konfigurációjú glutaminsav”

(xi) Szekvencia leírása: SEQ ID NO: 10:

Xaa	Pro	Arg	Pro	Gly	Xaa	Arg	Ile	Pro	Arg	Gly	Asp	Xaa	Pro	Ala	Asp	
1				5					10					15		
Xaa Gly Asp Tyr Glu Pro Ile Pro Glu Glu Ala Xaa Xaa																
								20								25

(2) SEQ ID NO: 11 adatai:

(i) Szekvencia jellemzők:

(A) Hossz: 25 aminosav

(B) Típus: aminosav

(D) Topologia: lineáris

(ii) Molekula típus: peptid

(ix) Jellemzők:

(A) Név/jelzés: Módosított-helyzet

(B) Helyzet: 1

(D) Egyéb információ: / megjegyzés: „Xaa az 1-helyzetben D-konfigurációjú fenil-alanin”

(ix) Jellemzők:

(A) Név/jelzés: Módosított-helyzet

(B) Helyzet: 6

(D) Egyéb információ: / megjegyzés: „Xaa a 6-helyzetben D-Cys, amely a 13-helyzetű D-Cys-maradékhoz szulfid kötéssel kötött”

(ix) Jellemzők:

(A) Név/jelzés: Módosított-helyzet

(B) Helyzet: 13

(D) Egyéb információ: / megjegyzés: „Xaa a 13-helyzetben D-Cys, amely a 6-helyzetben található D-Cys maradékhoz szulfid kötéssel kapcsolódik”

(ix) Jellemzők:

(A) Név/jelzés: Módosított-helyzet

(B) Helyzet: 24

(D) Egyéb információ: / megjegyzés: „Xaa a 24-helyzetben ciklohexil-alanin”

(ix) Jellemzők:

(A) Név/jelzés: Módosított-helyzet

(B) Helyzet: 25

(D) Egyéb információ: / megjegyzés: „Xaa a 25-helyzetben D-konfigurációjú glutaminsav”

(xi) Szekvencia leírása: SEQ ID NO: 11:

Xaa Pro Arg Pro Gly Xaa Gly Arg Gly Asp Met Pro Xaa Gly Asp Tyr

1 5 10 15

Glu Pro Ile Pro Glu Glu Ala Xaa Xaa

20 25

(2) SEQ ID NO: 12 adatai:

(i) Szekvencia jellemzők:

(A) Hossz: 25 aminosav

(B) Típus: aminosav

(D) Topologia: línearis

(ii) Molekula típus: peptid

(ix) Jellemzők:

(A) Név/jelzés: Módosított-helyzet

(B) Helyzet: 1

(D) Egyéb információ: / megjegyzés: „Xaa az 1-helyzetben D-konfigurációjú
fenil-alanin”

(ix) Jellemzők:

(A) Név/jelzés: Módosított-helyzet

(B) Helyzet: 6

(D) Egyéb információ: / megjegyzés: „Xaa a 6-helyzetben D-Cys, amely a
13-helyzetű D-Cys-maradékhoz szulfid kötéssel kötött”

(ix) Jellemzők:

(A) Név/jelzés: Módosított-helyzet

(B) Helyzet: 11

(D) Egyéb információ: / megjegyzés: „Xaa a 11-helyzetben ciklohexil-alanin”

(ix) Jellemzők:

(A) Név/jelzés: Módosított-helyzet

(B) Helyzet: 13

(D) Egyéb információ: / megjegyzés: „Xaa a 13-helyzetben D-Cys, amely a 6-helyzetben található D-Cys maradékhoz szulfid kötéssel kapcsolódik”

(ix) Jellemzők:

(A) Név/jelzés: Módosított-helyzet

(B) Helyzet: 24

(D) Egyéb információ: / megjegyzés: „Xaa a 24-helyzetben ciklohexil-alanin”

(ix) Jellemzők:

(A) Név/jelzés: Módosított-helyzet

(B) Helyzet: 25

(D) Egyéb információ: / megjegyzés: „Xaa a 25-helyzetben D-konfigurációjú glutaminsav”

(xi) Szekvencia leírása: SEQ ID NO: 12:

Xaa	Pro	Arg	Pro	Gly	Xaa	Gly	Arg	Gly	Asp	Xaa	Pro	Xaa	Gly	Asp	Tyr
1				5				10					15		
	Glu	Pro	Ile	Pro	Glu	Glu	Ala	Xaa	Xaa						
				20				25							

(2) SEQ ID NO: 13 adatai:

(i) Szekvencia jellemzők:

(A) Hossz: 25 aminosav

(B) Típus: aminosav

(D) Topologia: lineáris

(ii) Molekula típus: peptid

(ix) Jellemzők:

(A) Név/jelzés: Módosított-helyzet

(B) Helyzet: 1

(D) Egyéb információ: / megjegyzés: „Xaa az 1-helyzetben D-konfigurációjú
fenil-alanin”

(ix) Jellemzők:

(A) Név/jelzés: Módosított-helyzet

(B) Helyzet: 6

(D) Egyéb információ: / megjegyzés: „Xaa a 6-helyzetben D-konfigurációjú
cisztein”

(ix) Jellemzők:

(A) Név/jelzés: Módosított-helyzet

(B) Helyzet: 11

(D) Egyéb információ: / megjegyzés: „Xaa a 11-helyzetben norleucin”

(ix) Jellemzők:

(A) Név/jelzés: Módosított-helyzet

(B) Helyzet: 13

(D) Egyéb információ: / megjegyzés: „Xaa a 13-helyzetben D-konfigurációjú
penicil-amin”

(ix) Jellemzők:

(A) Név/jelzés: Módosított-helyzet

(B) Helyzet: 24

(D) Egyéb információ: / megjegyzés: „Xaa a 24-helyzetben ciklohexil-alanin”

(ix) Jellemzők:

(A) Név/jelzés: Módosított-helyzet

(B) Helyzet: 25

(D) Egyéb információ: / megjegyzés: „Xaa a 25-helyzetben D-konfigurációjú glutaminsav”

(xi) Szekvencia leírása: SEQ ID NO: 13:

Xaa Pro Arg Pro Gly Xaa Gly Arg Gly Asp Xaa Pro Xaa Gly Asp Tyr

1

5

10

15

Glu Pro Ile Pro Glu Glu Ala Xaa Xaa

20

25

(2) SEQ ID NO: 14 adatai:

(i) Szekvencia jellemzők:

(A) Hossz: 25 aminosav

(B) Típus: aminosav

(D) Topologia: lineáris

(ii) Molekula típus: peptid

(ix) Jellemzők:

(A) Név/jelzés: Módosított-helyzet

(B) Helyzet: 1

(D) Egyéb információ: / megjegyzés: „Xaa az 1-helyzetben D-konfigurációjú fenil-alanin”

(ix) Jellemzők:

(A) Név/jelzés: Módosított-helyzet

(B) Helyzet: 6

(D) Egyéb információ: / megjegyzés: „Xaa a 6-helyzetben D-konfigurációjú cisztein”

(ix) Jellemzők:

(A) Név/jelzés: Módosított-helyzet

(B) Helyzet: 8

(D) Egyéb információ: / megjegyzés: „Xaa a 8-helyzetben metil-arginin”

(ix) Jellemzők:

(A) Név/jelzés: Módosított-helyzet

(B) Helyzet: 11

(D) Egyéb információ: / megjegyzés: „Xaa a 11-helyzetben norleucin”

(ix) Jellemzők:

(A) Név/jelzés: Módosított-helyzet

(B) Helyzet: 13

(D) Egyéb információ: / megjegyzés: „Xaa a 13-helyzetben D-konfigurációjú penicil-amin”

(ix) Jellemzők:

(A) Név/jelzés: Módosított-helyzet

(B) Helyzet: 24

(D) Egyéb információ: / megjegyzés: „Xaa a 24-helyzetben ciklohexil-alanin”

(ix) Jellemzők:

(A) Név/jelzés: Módosított-helyzet

(B) Helyzet: 25

(D) Egyéb információ: / megjegyzés: „Xaa a 25-helyzetben D-konfigurációjú glutaminsav”

(xi) Szekvencia leírása: SEQ ID NO: 14:

Xaa Pro Arg Pro Gly Xaa Gly Xaa Gly Asp Xaa Pro Xaa Gly Asp Tyr

1 5 10 15

Glu Pro Ile Pro Glu Glu Ala Xaa Xaa

20 25

(2) SEQ ID NO: 15 adatai:

(i) Szekvencia jellemzők:

(A) Hossz: 25 aminosav

(B) Típus: aminosav

(D) Topologia: lineáris

(ii) Molekula típus: peptid

(ix) Jellemzők:

(A) Név/jelzés: Módosított-helyzet

(B) Helyzet: 1

(D) Egyéb információ: / megjegyzés: „Xaa az 1-helyzetben D-konfigurációjú fenil-alanin”

(ix) Jellemzők:

(A) Név/jelzés: Módosított-helyzet

(B) Helyzet: 6

(D) Egyéb információ: / megjegyzés: „Xaa a 6-helyzetben D-Cys, amely a 13-helyzetű D-Cys-maradékhoz szulfid kötéssel kötött”

(ix) Jellemzők:

(A) Név/jelzés: Módosított-helyzet

(B) Helyzet: 7

(D) Egyéb információ: / megjegyzés: „Xaa a 7-helyzetben D-konfigurációjú tirozin”

(ix) Jellemzők:

(A) Név/jelzés: Módosított-helyzet

(B) Helyzet: 11

(D) Egyéb információ: / megjegyzés: „Xaa a 11-helyzetben norleucin”

(ix) Jellemzők:

(A) Név/jelzés: Módosított-helyzet

(B) Helyzet: 13

(D) Egyéb információ: / megjegyzés: „Xaa a 13-helyzetben D-Cys és a 6-helyzetben található D-Cys maradékhoz szulfid kötéssel kötött”

(ix) Jellemzők:

(A) Név/jelzés: Módosított-helyzet

(B) Helyzet: 24

(D) Egyéb információ: / megjegyzés: „Xaa a 24-helyzetben ciklohexil-alanin”

(ix) Jellemzők:

(A) Név/jelzés: Módosított-helyzet

(B) Helyzet: 25

(D) Egyéb információ: / megjegyzés: „Xaa a 25-helyzetben D-konfigurációjú glutaminsav”

(xi) Szekvencia leírása: SEQ ID NO: 15:

Xaa Pro Arg Pro Gly Xaa Xaa Arg Gly Asp Xaa Pro Xaa Gly Asp Tyr

1

5

10

15

Glu Pro Ile Pro Glu Glu Ala Xaa Xaa

20

25

(2) SEQ ID NO: 16 adatai:

(i) Szekvencia jellemzők:

(A) Hossz: 25 aminosav

(B) Típus: aminosav

(D) Topologia: lineáris

(ii) Molekula típus: peptid

(ix) Jellemzők:

(A) Név/jelzés: Módosított-helyzet

(B) Helyzet: 1

(D) Egyéb információ: / megjegyzés: „Xaa az 1-helyzetben D-konfigurációjú fenil-alanin”

(ix) Jellemzők:

(A) Név/jelzés: Módosított-helyzet

(B) Helyzet: 6

(D) Egyéb információ: / megjegyzés: „Xaa a 6-helyzetben D-Cys, amely a 13-helyzetű D-Cys-maradékhoz szulfid kötéssel kötött”

(ix) Jellemzők:

(A) Név/jelzés: Módosított-helyzet

(B) Helyzet: 7

(D) Egyéb információ: / megjegyzés: „Xaa a 7-helyzetben D-konfigurációjú valin”

(ix) Jellemzők:

(A) Név/jelzés: Módosított-helyzet

(B) Helyzet: 11

(D) Egyéb információ: / megjegyzés: „Xaa a 11-helyzetben norleucin”

(ix) Jellemzők:

(A) Név/jelzés: Módosított-helyzet

(B) Helyzet: 13

(D) Egyéb információ: / megjegyzés: „Xaa a 13-helyzetben D-Cys és a 6-helyzetben található D-Cys maradékhoz szulfid kötéssel kötött”

(ix) Jellemzők:

(A) Név/jelzés: Módosított-helyzet

(B) Helyzet: 24

(D) Egyéb információ: / megjegyzés: „Xaa a 24-helyzetben ciklohexil-alanin”

(ix) Jellemzők:

(A) Név/jelzés: Módosított-helyzet

(B) Helyzet: 25

(D) Egyéb információ: / megjegyzés: „Xaa a 25-helyzetben D-konfigurációjú glutaminsav”

(xi) Szekvencia leírása: SEQ ID NO: 16:

Xaa Pro Arg Pro Gly Xaa Xaa Arg Gly Asp Xaa Pro Xaa Gly Asp Tyr

1 5 10 15

Glu Pro Ile Pro Glu Glu Ala Xaa Xaa

20 25

(2) SEQ ID NO: 17 adatai:

(i) Szekvencia jellemzők:

(A) Hossz: 24 aminosav

(B) Típus: aminosav

(D) Topologia: lineáris

(ii) Molekula típus: peptid

(ix) Jellemzők:

(A) Név/jelzés: Módosított-helyzet

(B) Helyzet: 1

(D) Egyéb információ: / megjegyzés: „Xaa az 1-helyzetben D-konfigurációjú fenil-alanin”

(ix) Jellemzők:

(A) Név/jelzés: Módosított-helyzet

(B) Helyzet: 6

(D) Egyéb információ: / megjegyzés: „Xaa a 6-helyzetben D-Cys, amely a 12-helyzetű D-Cys-maradékhoz szulfid kötéssel kötött”

(ix) Jellemzők:

(A) Név/jelzés: Módosított-helyzet

(B) Helyzet: 10

(D) Egyéb információ: / megjegyzés: „Xaa a 10-helyzetben norleucin”

(ix) Jellemzők:

(A) Név/jelzés: Módosított-helyzet

(B) Helyzet: 12

(D) Egyéb információ: / megjegyzés: „Xaa a 12-helyzetben D-Cys, amely a 6-helyzetben található D-Cys maradékhoz szulfidkötéssel kapcsolódik”

(ix) Jellemzők:

(A) Név/jelzés: Módosított-helyzet

(B) Helyzet: 23

(D) Egyéb információ: / megjegyzés: „Xaa a 23-helyzetben ciklohexil-alanin”

(ix) Jellemzők:

(A) Név/jelzés: Módosított-helyzet

(B) Helyzet: 24

(D) Egyéb információ: / megjegyzés: „Xaa a 24-helyzetben D-konfigurációjú glutaminsav”

(xi) Szekvencia leírás: SEQ ID NO: 17:

Xaa Pro Arg Pro Gly Xaa Arg Gly Asp Xaa Pro Xaa Gly Asp Tyr Glu

1 5 10 15

Pro Ile Pro Glu Glu Ala Xaa Xaa

20

(2) SEQ ID NO: 18 adatai:

(i) Szekvencia jellemzők:

(A) Hossz: 25 aminosav

(B) Típus: aminosav

(D) Topologia: línearis

(ii) Molekula típus: peptid

(ix) Jellemzők:

(A) Név/jelzés: Módosított-helyzet

(B) Helyzet: 1

(D) Egyéb információ: / megjegyzés: „Xaa az 1-helyzetben D-konfigurációjú fenil-alanin”

(ix) Jellemzők:

(A) Név/jelzés: Módosított-helyzet

(B) Helyzet: 6

(D) Egyéb információ: / megjegyzés: „Xaa a 6-helyzetben D-Cys, amely a 13-helyzetű D-Cys-maradékhoz szulfid kötéssel kötött”

(ix) Jellemzők:

(A) Név/jelzés: Módosított-helyzet

(B) Helyzet: 7

(D) Egyéb információ: / megjegyzés: „Xaa a 7-helyzetben D-konfigurációjú treonin”

(ix) Jellemzők:

(A) Név/jelzés: Módosított-helyzet

(B) Helyzet: 11

(D) Egyéb információ: / megjegyzés: „Xaa a 11-helyzetben norleucin”

(ix) Jellemzők:

(A) Név/jelzés: Módosított-helyzet

(B) Helyzet: 13

(D) Egyéb információ: / megjegyzés: „Xaa a 13-helyzetben D-Cys és a 6-helyzetben található D-Cys maradékhoz szulfid kötéssel kötött”

(ix) Jellemzők:

(A) Név/jelzés: Módosított-helyzet

(B) Helyzet: 24

(D) Egyéb információ: / megjegyzés: „Xaa a 24-helyzetben ciklohexil-alanin”

(ix) Jellemzők:

(A) Név/jelzés: Módosított-helyzet

(B) Helyzet: 25

(D) Egyéb információ: / megjegyzés: „Xaa a 25-helyzetben D-konfigurációjú glutaminsav”

(xi) Szekvencia leírása: SEQ ID NO: 18:

Xaa	Pro	Arg	Pro	Gly	Xaa	Xaa	Arg	Gly	Asp	Xaa	Pro	Xaa	Gly	Asp	Tyr	
1			5					10					15			
Glu	Pro	Ile	Pro	Glu	Glu	Ala	Xaa	Xaa								
								20								25

(2) SEQ ID NO: 19 adatai:

(i) Szekvencia jellemzők:

(A) Hossz: 25 aminosav

(B) Típus: aminosav

(D) Topologia: lineáris

(ii) Molekula típus: peptid

(ix) Jellemzők:

(A) Név/jelzés: Módosított-helyzet

(B) Helyzet: 1

(D) Egyéb információ: / megjegyzés: „Xaa az 1-helyzetben D-konfigurációjú fenil-alanin”

(ix) Jellemzők:

(A) Név/jelzés: Módosított-helyzet

(B) Helyzet: 6

(D) Egyéb információ: / megjegyzés: „Xaa a 6-helyzetben D-Cys, amely a 13-helyzetű D-Cys-maradékhoz szulfid kötéssel kötött”

(ix) Jellemzők:

(A) Név/jelzés: Módosított-helyzet

(B) Helyzet: 7

(D) Egyéb információ: / megjegyzés: „Xaa a 7-helyzetben D-konfigurációjú prolin”

(ix) Jellemzők:

(A) Név/jelzés: Módosított-helyzet

(B) Helyzet: 11

(D) Egyéb információ: / megjegyzés: „Xaa a 11-helyzetben norleucin”

(ix) Jellemzők:

(A) Név/jelzés: Módosított-helyzet

(B) Helyzet: 13

(D) Egyéb információ: / megjegyzés: „Xaa a 13-helyzetben D-Cys és a 6-helyzetben található D-Cys maradékhoz szulfid kötéssel kötött”

(ix) Jellemzők:

(A) Név/jelzés: Módosított-helyzet

(B) Helyzet: 24

(D) Egyéb információ: / megjegyzés: „Xaa a 24-helyzetben ciklohexil-alanin”

(ix) Jellemzők:

(A) Név/jelzés: Módosított-helyzet

(B) Helyzet: 25

(D) Egyéb információ: / megjegyzés: „Xaa a 25-helyzetben D-konfigurációjú glutaminsav”

(xi) Szekvencia leírása: SEQ ID NO: 19:

Xaa Pro Arg Pro Gly Xaa Xaa Arg Gly Asp Xaa Pro Xaa Gly Asp Tyr

1

5

10

15

Glu Pro Ile Pro Glu Glu Ala Xaa Xaa

20

25

(2) SEQ ID NO: 20 adatai:

(i) Szekvencia jellemzők:

(A) Hossz: 25 aminosav

(B) Típus: aminosav

(D) Topologia: lineáris

(ii) Molekula típus: peptid

(ix) Jellemzők:

(A) Név/jelzés: Módosított-helyzet

(B) Helyzet: 1

(D) Egyéb információ: / megjegyzés: „Xaa az 1-helyzetben D-konfigurációjú fenil-alanin”

(ix) Jellemzők:

(A) Név/jelzés: Módosított-helyzet

(B) Helyzet: 6

(D) Egyéb információ: / megjegyzés: „Xaa a 6-helyzetben D-Cys, amely a 13-helyzetű D-Cys-maradékhoz szulfid kötéssel kötött”

(ix) Jellemzők:

(A) Név/jelzés: Módosított-helyzet

(B) Helyzet: 11

(D) Egyéb információ: / megjegyzés: „Xaa a 11-helyzetben norleucin”

(ix) Jellemzők:

(A) Név/jelzés: Módosított-helyzet

(B) Helyzet: 13

(D) Egyéb információ: / megjegyzés: „Xaa a 13-helyzetben D-Cys és a 6-helyzetben található D-Cys maradékhoz szulfid kötéssel kötött”

(ix) Jellemzők:

(A) Név/jelzés: Módosított-helyzet

(B) Helyzet: 24

(D) Egyéb információ: / megjegyzés: „Xaa a 24-helyzetben ciklohexil-alanin”

(ix) Jellemzők:

(A) Név/jelzés: Módosított-helyzet

(B) Helyzet: 25

(D) Egyéb információ: / megjegyzés: „Xaa a 25-helyzetben D-konfigurációjú glutaminsav”

(xi) Szekvencia leírása: SEQ ID NO: 20:

Xaa Pro Arg Pro Gly Xaa Gly Arg Gly Asp Xaa Pro Xaa Gly Asp Tyr

1

5

10

15

Glu Pro Ile Pro Glu Glu Ala Xaa Xaa

20

25

(2) SEQ ID NO: 21 adatai:

(i) Szekvencia jellemzők:

(A) Hossz: 25 aminosav

(B) Típus: aminosav

(D) Topologia: lineáris

(ii) Molekula típus: peptid

(ix) Jellemzők:

(A) Név/jelzés: Módosított-helyzet

(B) Helyzet: 1

(D) Egyéb információ: / megjegyzés: „Xaa az 1-helyzetben D-konfigurációjú 1,2,3,4-tetrahydro-izokinolin-3-karbonsav”

(ix) Jellemzők:

(A) Név/jelzés: Módosított-helyzet

(B) Helyzet: 6

(D) Egyéb információ: / megjegyzés: „Xaa a 6-helyzetben D-Cys, amely a 13-helyzetű D-Cys-maradékhoz szulfid kötéssel kötött”

(ix) Jellemzők:

(A) Név/jelzés: Módosított-helyzet

(B) Helyzet: 11

(D) Egyéb információ: / megjegyzés: „Xaa a 11-helyzetben norleucin”

(ix) Jellemzők:

(A) Név/jelzés: Módosított-helyzet

(B) Helyzet: 13

(D) Egyéb információ: / megjegyzés: „Xaa a 13-helyzetben D-Cys és a 6-helyzetben található D-Cys maradékhoz szulfid kötéssel kötött”

(ix) Jellemzők:

(A) Név/jelzés: Módosított-helyzet

(B) Helyzet: 24

(D) Egyéb információ: / megjegyzés: „Xaa a 24-helyzetben ciklohexil-alanin”

(ix) Jellemzők:

(A) Név/jelzés: Módosított-helyzet

(B) Helyzet: 25

(D) Egyéb információ: / megjegyzés: „Xaa a 25-helyzetben D-konfigurációjú glutaminsav”

(xi) Szekvencia leírása: SEQ ID NO: 21:

Xaa	Pro	Arg	Pro	Gly	Xaa	Gly	Arg	Gly	Asp	Xaa	Pro	Xaa	Gly	Asp	Tyr
1			5					10					15		
Glu Pro Ile Pro Glu glu Ala Xaa Xaa															
			20					25							

(2) SEQ ID NO: 22 adatai:

(i) Szekvencia jellemzők:

(A) Hossz: 25 aminosav

(B) Típus: aminosav

(D) Topologia: línearis

(ii) Molekula típus: peptid

(ix) Jellemzők:

(A) Név/jelzés: Módosított-helyzet

(B) Helyzet: 1

(D) Egyéb információ: / megjegyzés: „Xaa az 1-helyzetben D-konfigurációjú N-metil-fenil-alanin”

(ix) Jellemzők:

(A) Név/jelzés: Módosított-helyzet

(B) Helyzet: 6

(D) Egyéb információ: / megjegyzés: „Xaa a 6-helyzetben D-Cys, amely a 13-helyzetű D-Cys-maradékhoz szulfid kötéssel kötött”

(ix) Jellemzők:

(A) Név/jelzés: Módosított-helyzet

(B) Helyzet: 11

(D) Egyéb információ: / megjegyzés: „Xaa a 11-helyzetben norleucin”

(ix) Jellemzők:

(A) Név/jelzés: Módosított-helyzet

(B) Helyzet: 13

(D) Egyéb információ: / megjegyzés: „Xaa a 13-helyzetben D-Cys és a 6-helyzetben található D-Cys maradékhoz szulfid kötéssel kötött”

(ix) Jellemzők:

(A) Név/jelzés: Módosított-helyzet

(B) Helyzet: 24

(D) Egyéb információ: / megjegyzés: „Xaa a 24-helyzetben ciklohexil-alanin”

(ix) Jellemzők:

(A) Név/jelzés: Módosított-helyzet

(B) Helyzet: 25

(D) Egyéb információ: / megjegyzés: „Xaa a 25-helyzetben D-konfigurációjú glutaminsav”

(xi) Szekvencia leírása: SEQ ID NO: 22:

Xaa Pro Arg Pro Gly Xaa Gly Arg Gly Asp Xaa pro Xaa Gly Asp Tyr

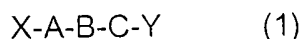
1 5 10 15

Glu Pro Ile Pro Glu Glu Ala Xaa Xaa

20 25

SZABADALMI IGÉNYPONTOK

1. Az (1)



általános képletű vegyületek, ahol az általános képletben

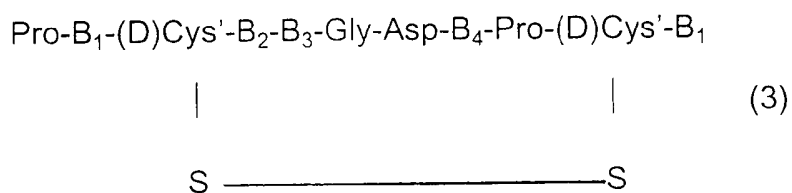
X jelentése terminális aminocsoport, amely lehet hidrogénatom, egy vagy két 1-6 szénatomszámú alkilcsoport, egy vagy két 2-10 szénatomszámú acil-csoport, karbobenziloxi-csoport, $H_2NC(=NH)$ -csoport vagy terc-butoxi-karbonil-csoport;

A jelentése $A_1-A_2-A_3$ (2) általános képletű peptid analóg-csoport; ahol A_1 jelentése (D)Phe, (D)Phg, (D)1-Tiq, (D)3-Tiq, N-Me-(D)Phe, (D)Cha, (D)Chg, (D)Nag, vagy (D)Thg;

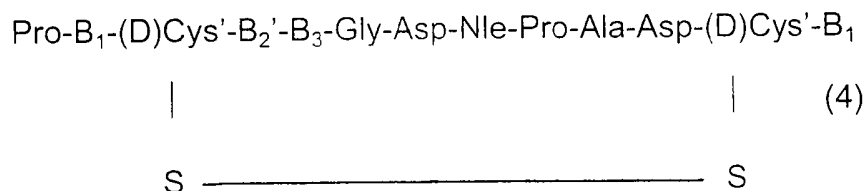
A_2 jelentése Pro, Pip, vagy Azt;

A_3 jelentése Arg, Lys, Orn, vagy hArg;

B jelentése a (3) általános képletű peptid-analóg

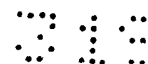


vagy



ahol

B_1 jelentése Gly, Ala, (D)Ala, Val, (D)Val, vagy Gly-Gly;



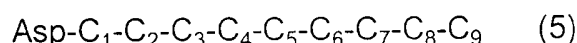
B₂ jelentése Gly, Gly-Gly, Gly-Gly-Gly, Gly-Gly-Gly-Gly vagy bármely (D) aminosav;

B₂' jelentése Arg-Ile-Pro vagy Lys-Ile-Pro;

B₃ jelentése Arg, hArg, N-Me-Arg vagy Lys;

B₄ jelentése Nle, Phe, Met vagy Cha;

C jelentése az (5) általános képletű peptid-analóg



ahol

C₁ jelentése Phe, pClPhe, pNO₂Phe, Tha, Npa, Tyr vagy Trp;

C₂ jelentése Glu vagy Asp;

C₃ jelentése bármely aminosav;

C₄ jelentése Ile, Val, Leu vagy Phe;

C₅ jelentése Pro, Hyp, Sar, NMePgl vagy D-Ala;

C₆ jelentése bármely aminosav;

C₇ jelentése bármely aminosav;

C₈ jelentése Tyr, Glu, Pro, Ala-Cha, Tyr-Cha, Tyr-Leu és Ala-Tyr;

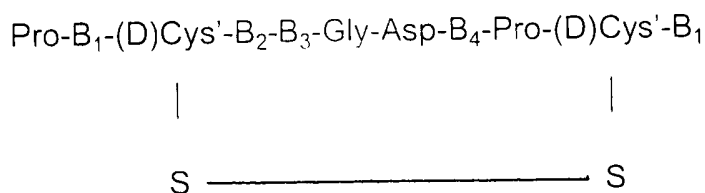
C₉ jelentése egy kötés vagy Glu, (D)Glu, Gln, Pro, Leu-Gln, Asp-Glu vagy Leu-Pro; és

Y jelentése karboxi-terminális csoport, amely lehet hidroxilcsoport, 1-6 szén-atomszámú alkoxi-csoport, aminocsoport, mono- vagy di-(1-4 szénatom-számú)-alkil-szubsztituált-amino-csoport vagy benzil-amino-csoport; vagy gyógyszerészetileg elfogadható sói.

2. Az 1. igénypont szerinti (1) általános képletű vegyület, ahol az általános képletben X jelentése hidrogénatom, acetyl-csoport, szukcinil-csoport vagy terc-butoxi-karbonil-csoport.

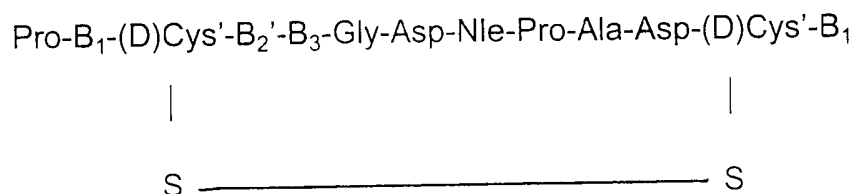
3. Az 1. igénypont szerinti (1) általános képletű vegyület, ahol az általános képletben A_1 jelentése (D)Phe, (D)Chg, (D)Cha, (D)Phg, (D)1-Tiq, (D)3-Tiq vagy N-Me-(D)Phe; A_2 jelentése Pro; és A_3 jelentése Arg vagy Lys.

4. Az 1. igénypont szerinti (1) általános képletű vegyület, ahol az általános képletben B jelentése



általános képletű peptid, ahol B_1 jelentése Gly, Ala vagy Gly-Gly; B_2 jelentése Gly, Gly-Gly vagy bármely (D)-aminosav; B_3 jelentése Arg vagy N-Me-Arg; és B_4 jelentése Nle, Phe, Cha vagy Met.

5. Az 1. igénypont szerinti (1) általános képletű vegyület, ahol az általános képletben B jelentése



általános képletű peptid, ahol B_1 jelentése Gly, Ala vagy Gly-Gly; B_2' jelentése Arg-Ile-Pro vagy Lys-Ile-Pro; B_3 jelentése Ala vagy N-Me-Arg; és B_4 jelentése Nle.

6. Az 1. igénypont szerinti (1) általános képletű vegyület, ahol az általános képletben

- C_1 jelentése Phe, Npa vagy Tyr;
- C_2 jelentése Glu vagy Asp;
- C_3 jelentése valamely aminosav;
- C_4 jelentése Ile vagy Val;
- C_5 jelentése Pro, Hyp, vagy (D)Ala;

C₆ jelentése valamely aminosav;

C₇ jelentése Glu, Asp, vagy Ala;

C₈ jelentése Tyr, Glu, Tyr, Leu, Tyr-Cha vagy Ala-Cha; és

C₉ jelentése egy kötés, (D)Glu, Glu, Gln, Leu-Gln vagy Leu-Pro.

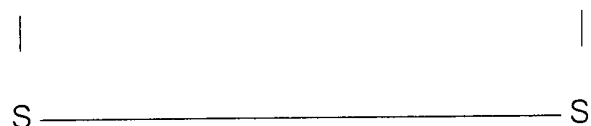
7. A 2. igénypont szerinti vegyület, ahol az általános képletben A₁ jelentése (D)Phe (D)Chg, (D)Cha, (D)Phg, (D)1-Tiq, (D)3-Tiq vagy N-Me-(D)Phe; A₂ jelentése Pro; és A₃ jelentése Arg vagy Lys.

8. A 7. igénypont szerinti vegyület, ahol az általános képletben B jelentése



általános képletű peptid

vagy



általános képletű peptid, ahol az általános képletben

B₁ jelentése Gly, Ala vagy Gly-Gly;

B₂ jelentése Gly, Gly-Gly, vagy bármely (D)-aminosav;

B₂' jelentése Arg-Ile-Pro vagy Ly-Ile-Pro;

B₃ jelentése Arg vagy N-Me-Arg; és

B₄ jelentése Nle, Phe, Cha vagy Met.

9. A 8. igénypont szerinti vegyület, ahol az általános képletben

- C₁ jelentése Phe, Npa vagy Tyr;
 C₂ jelentése Glu vagy Asp;
 C₃ jelentése bármely aminosav;
 C₄ jelentése Ile vagy Val;
 C₅ jelentése Pro, Hyp vagy (D)Ala;
 C₆ jelentése bármely aminosav;
 C₇ jelentése Glu, Asp vagy Ala;
 C₈ jelentése Tyr, Glu, Tyr-Leu, Tyr-Cha vagy Ala-Cha; és
 C₉ jelentése egy kötés; (D)Glu, Glu, Gln, Leu-Gln vagy Leu-Pro.

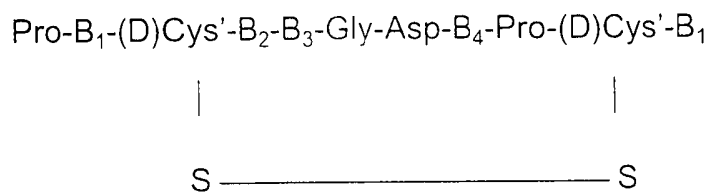
10. A 9. igénypont szerinti vegyület, ahol az általános képletben Y jelentése hidroxilcsoport, 1-6 szénatomszámú alkoxi-csoport vagy mono- vagy di-(1-4 szénatomszámú)-alkil-szubsztituált amino-csoport.

11. A 10. igénypont szerinti vegyület, ahol az általános képletben B₄ jelentése Nle.

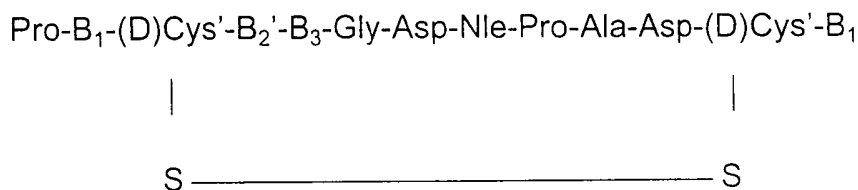
12. Az 1. igénypont szerinti vegyület, ahol az általános képletben X jelentése hidrogénatom, acetyl-csoport vagy terc-butoxi-karbonil-csoport.

13. A 12. igénypont szerinti vegyület, ahol az általános képletben A₁ jelentése (D)Phe, (D)Phg, (D)3-Tiq vagy N-Me-(D)Phe; A₂ jelentése Pro; és A₃ jelentése Arg.

14. A 13. igénypont szerinti vegyület, ahol az általános képletben B jelentése



vagy



peptid, ahol

- B₁ jelentése Gly;
 B₂ jelentése Gly, (D)Tyr, (D)Val, (D)Thr vagy (D)Pro;
 B₂' jelentése Arg-Ile-Pro;
 B₃ jelentése Arg vagy N-Me-Arg; és
 B₄ jelentése Nle vagy Phe, azzal a feltétellel, hogy amennyiben B₂ jelentése (D)Tyr, (D)Val, (D)Thr vagy (D)Pro, akkor B₄ jelentése Nle.

15. A 14. igénypont szerinti vegyület, ahol az általános képletben

- C₁ jelentése Phe vagy Tyr;
 C₂ jelentése Glu;
 C₃ jelentése Glu vagy Pro;
 C₄ jelentése Ile;
 C₅ jelentése Pro vagy (D)Ala;
 C₆ jelentése Glu vagy Ala;
 C₇ jelentése Glu;
 C₈ jelentése Tyr, Tyr-Leu, Tyr-Cha vagy Ala-Cha; és
 C₉ jelentése egy kötés vagy (D)Glu.

16. A 15. igénypont szerinti vegyület, ahol az általános képletben Y jelentése hidroxilcsoport, 1-6 szénatomszámú alkoxi-csoport vagy mono- vagy di-(1-4 szénatomszámú-alkil)-szubsztituált-amino-csoport.

17. A 16. igénypont szerinti vegyület, ahol az általános képletben B_4 jelentése Nle.

18. Az 1. igénypont szerinti vegyület, ahol az általános képletben

X jelentése hidrogénatom, acetyl-csoport vagy terc-butoxi-karbonil-csoport;

A_1 jelentése (D)Phe, (D)Phg, (D)3-Tiq vagy N-Me-(D)Phe;

A_2 jelentése Pro;

A_3 jelentése Arg;

B jelentése



képletű peptid, ahol

B_1 jelentése Gly;

B_2 jelentése Gly, (D)Tyr, (D)Val, (D)Thr, vagy (D)Pro;

B_3 jelentése Arg;

B_4 jelentése Nle vagy Phe, azzal a feltétellel, hogy amennyiben B_2 jelentése (D)Tyr, (D)Val, (D)Thr, vagy (D)Pro, akkor B_4 jelentése Nle;

C_1 jelentése Phe;

C_2 jelentése Glu;

C_3 jelentése Pro;

C_4 jelentése Ile;

C_5 jelentése Pro;

C_6 jelentése Glu vagy Ala;

C_7 jelentése Glu;

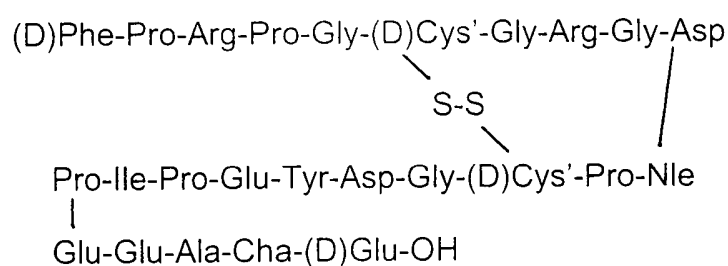
C_8 jelentése Tyr, Tyr-Cha vagy Ala-Cha;

Y jelentése hidroxilcsoport vagy 1-6 szénatomszámú alkoxi-csoport.

19. A 18. igénypont szerinti vegyület, ahol az általános képletben Y jelentése hidroxilcsoport vagy 1-6 szénatomszámú alkoxi-csoport.

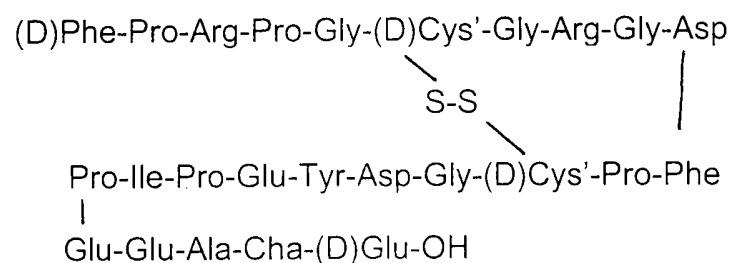
20. A 19. igénypont szerinti vegyület, ahol az általános képletben B_4 jelentése Nle.

21. Az 1. igénypont szerinti



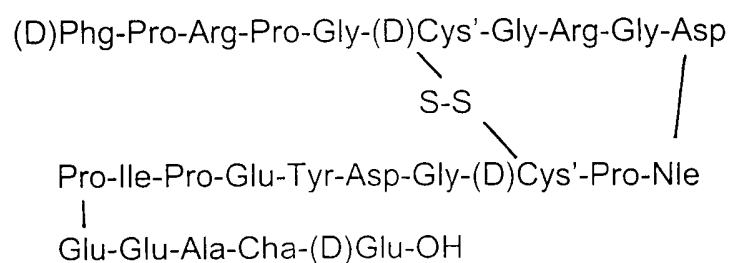
peptid (SEQ ID NO: 1).

22. Az 1. igénypont szerinti



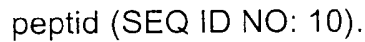
peptid (SEQ ID NO: 2).

23. Az 1. igénypont szerinti

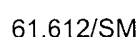


peptid (SEQ ID NO: 3).

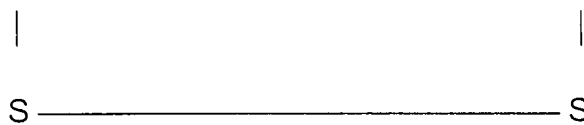
(D)Phg-Pro-Arg-Pro-Gly-(D)Cys'-Arg-Ile-Pro-Arg



31. A 25. igénypont szerinti eljárás, azzal jellemezve, hogy egy mesterséges vérkeringés során létrejövő thrombocytopenia trombózt kezelünk.



Pro-B₁-(D)Cys'-B₂'-B₃-Gly-Asp-Nle-Pro-Ala-Asp-(D)Cys'-B₁

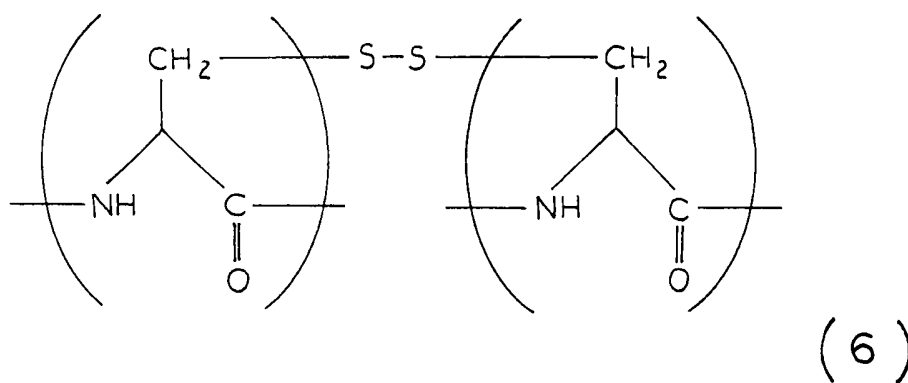
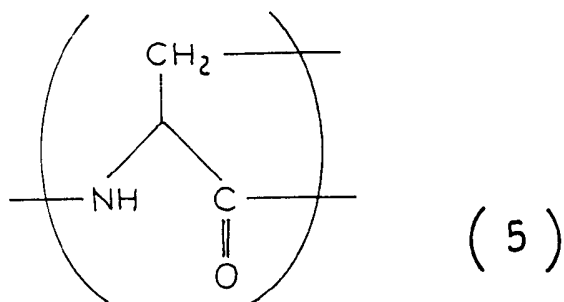


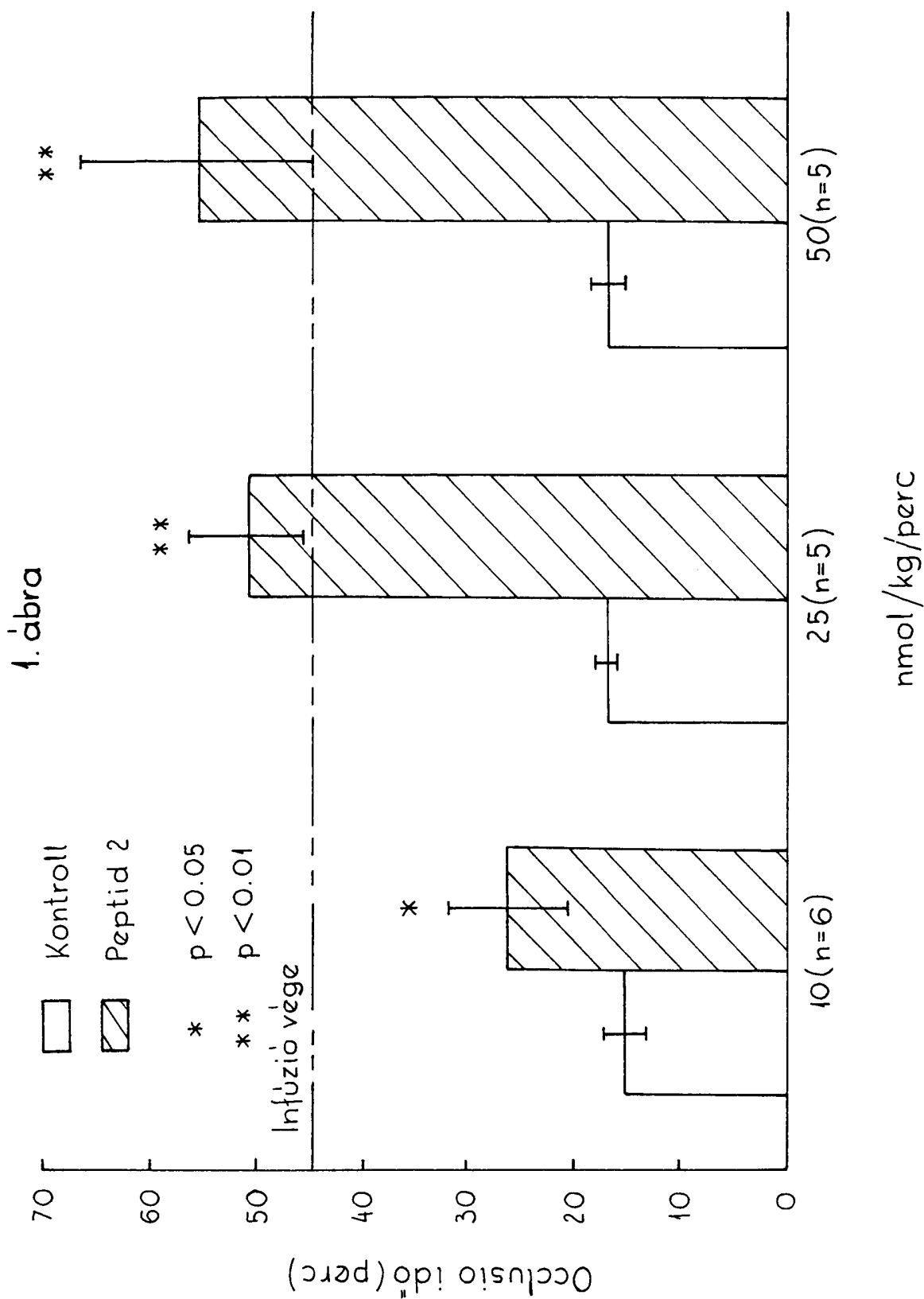
A meghatalmazott

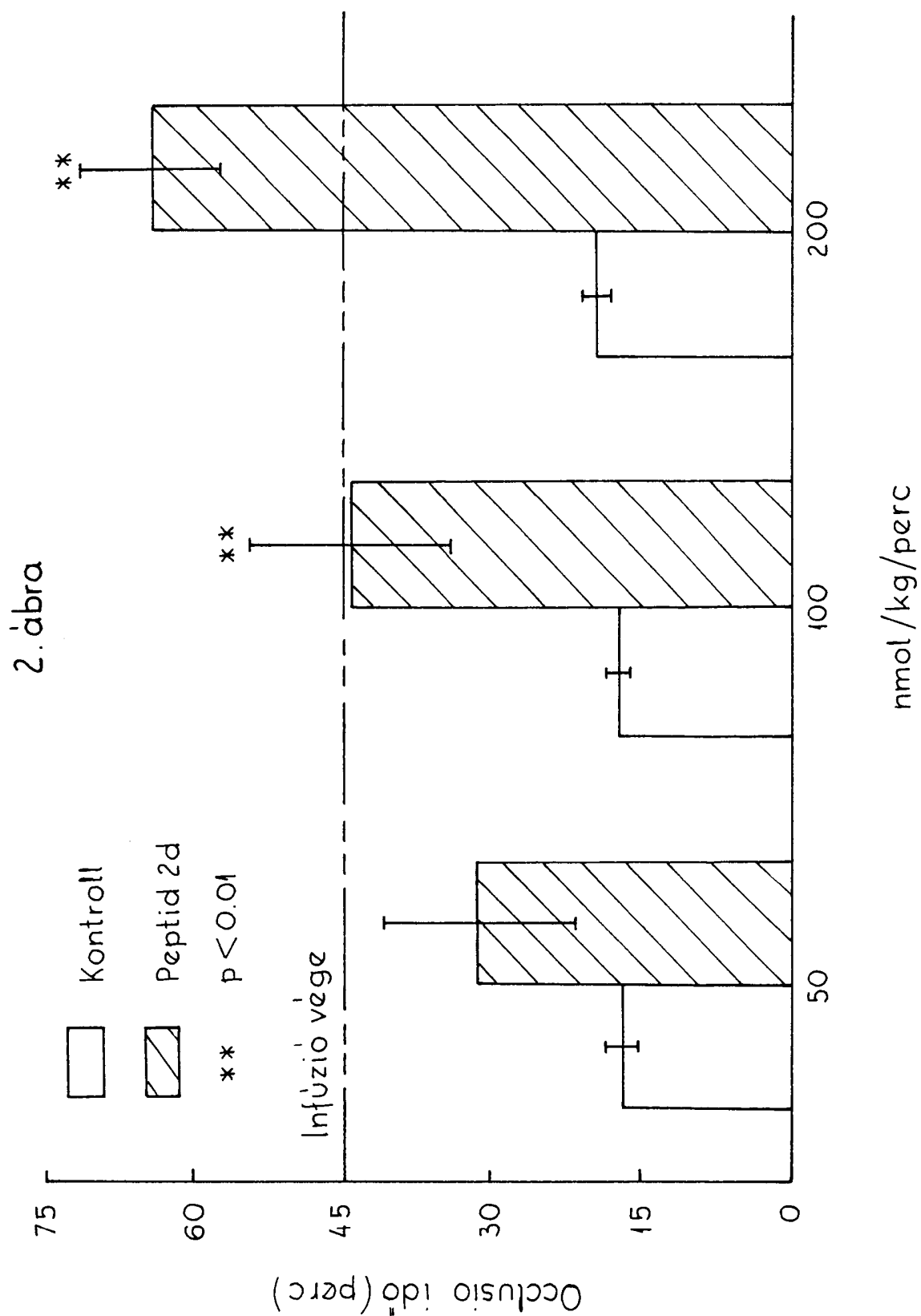

Somlai Mária

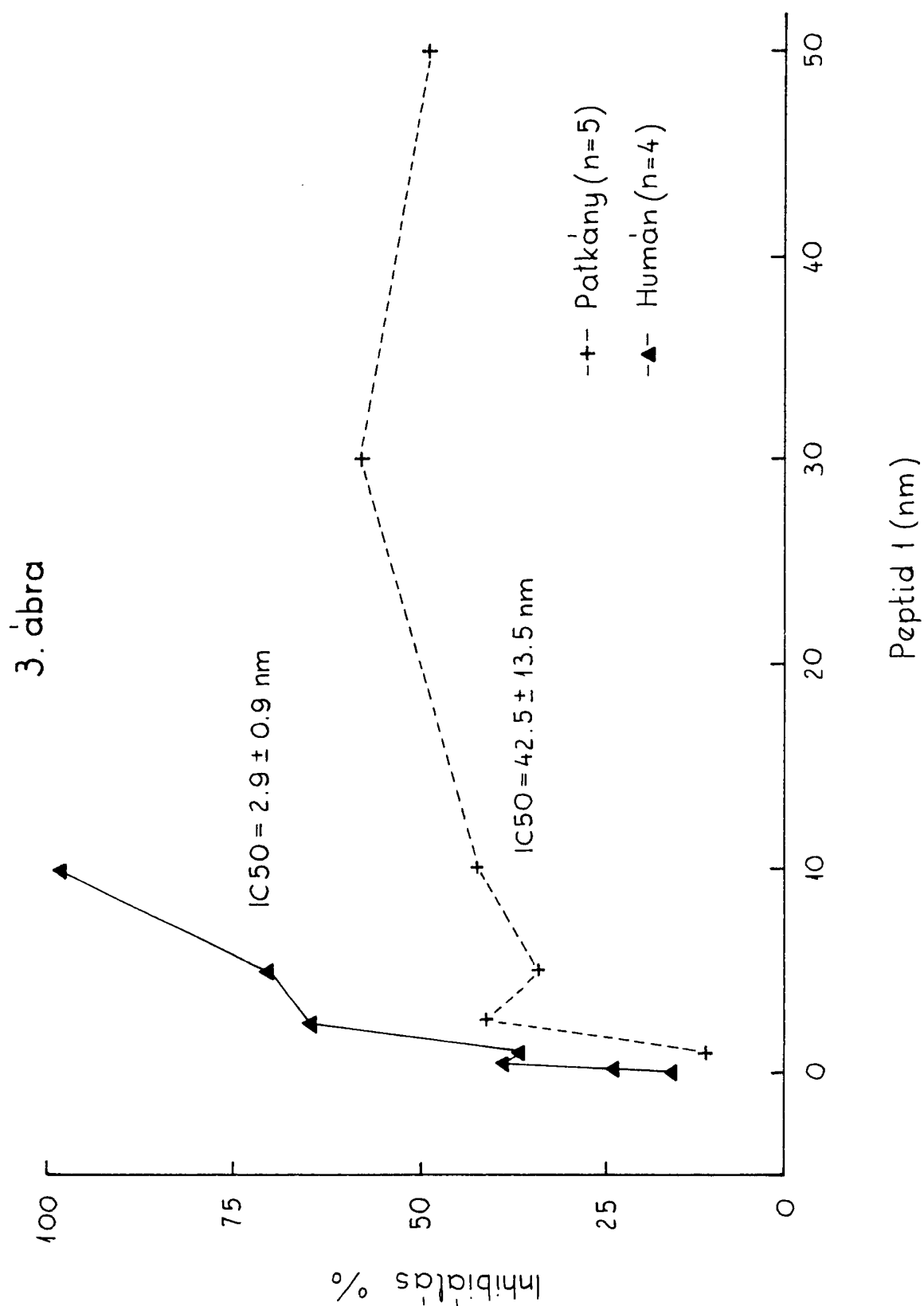
szabadalmi ügyvivő
az S.B.G. & K. Nemzetközi
Szabadalmi Iroda tagja
H-1062 Budapest, Andrássy út 113.
Telefon: 34-24-950. Fax: 34-24-323

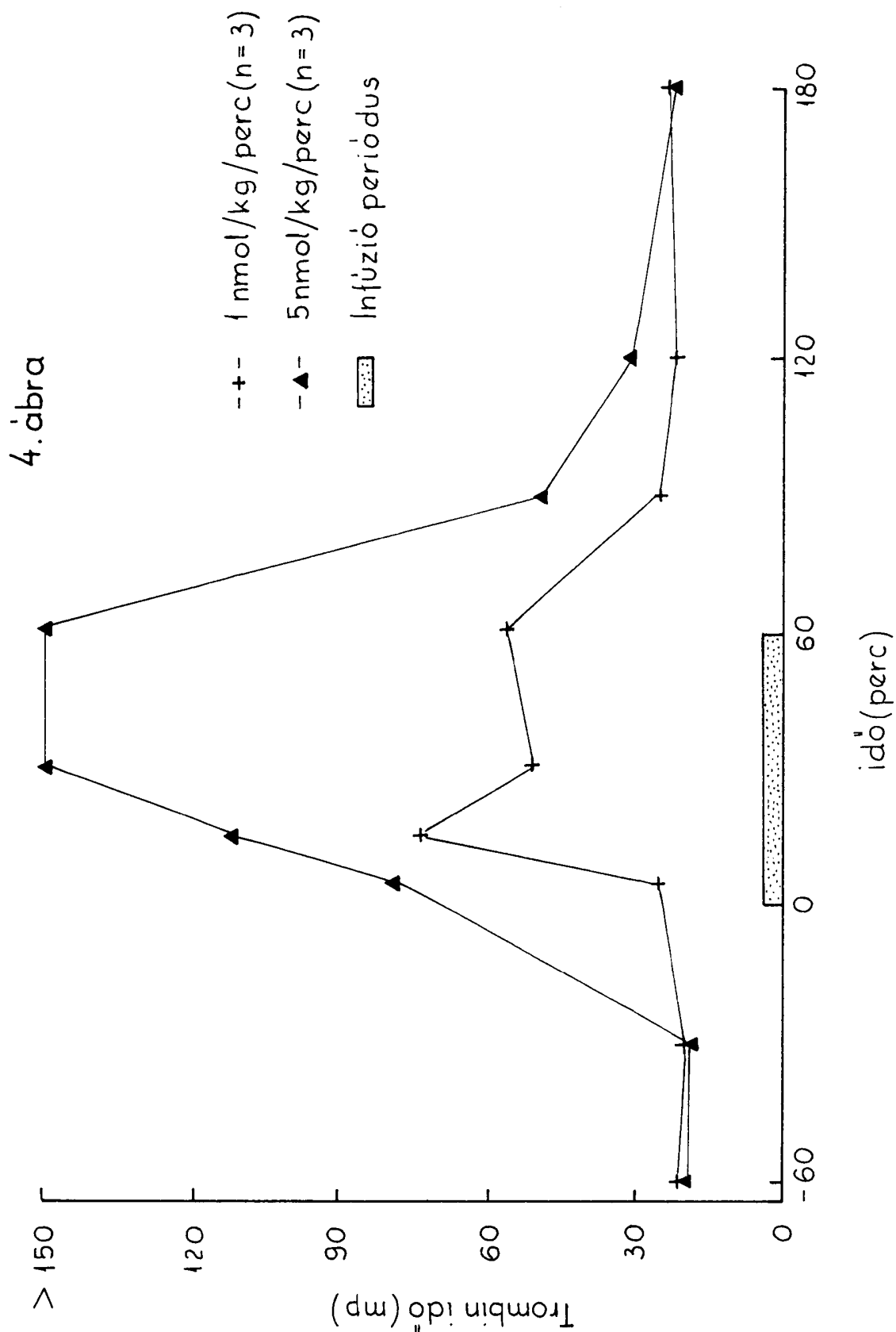
12.02.2012
Gwald

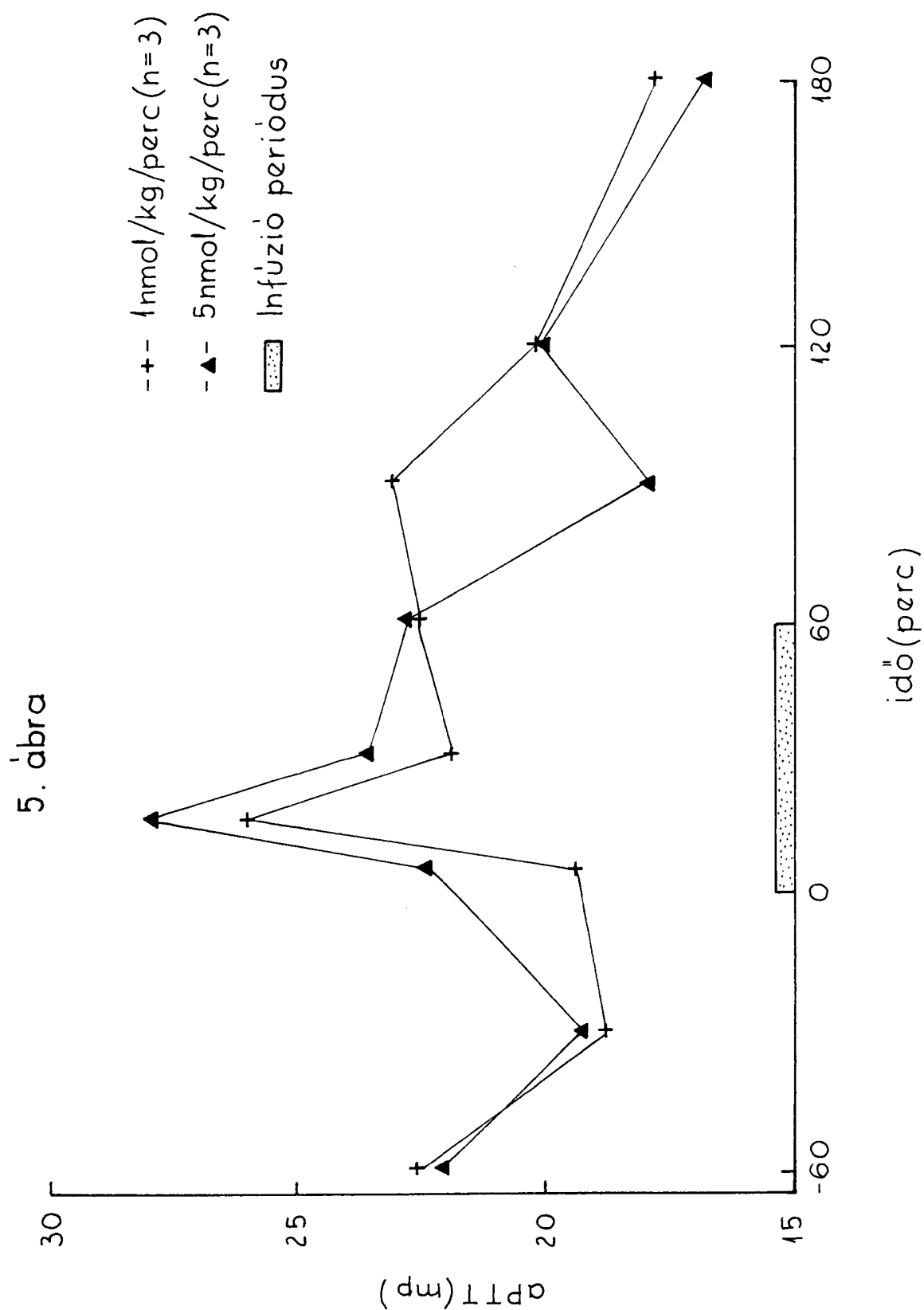




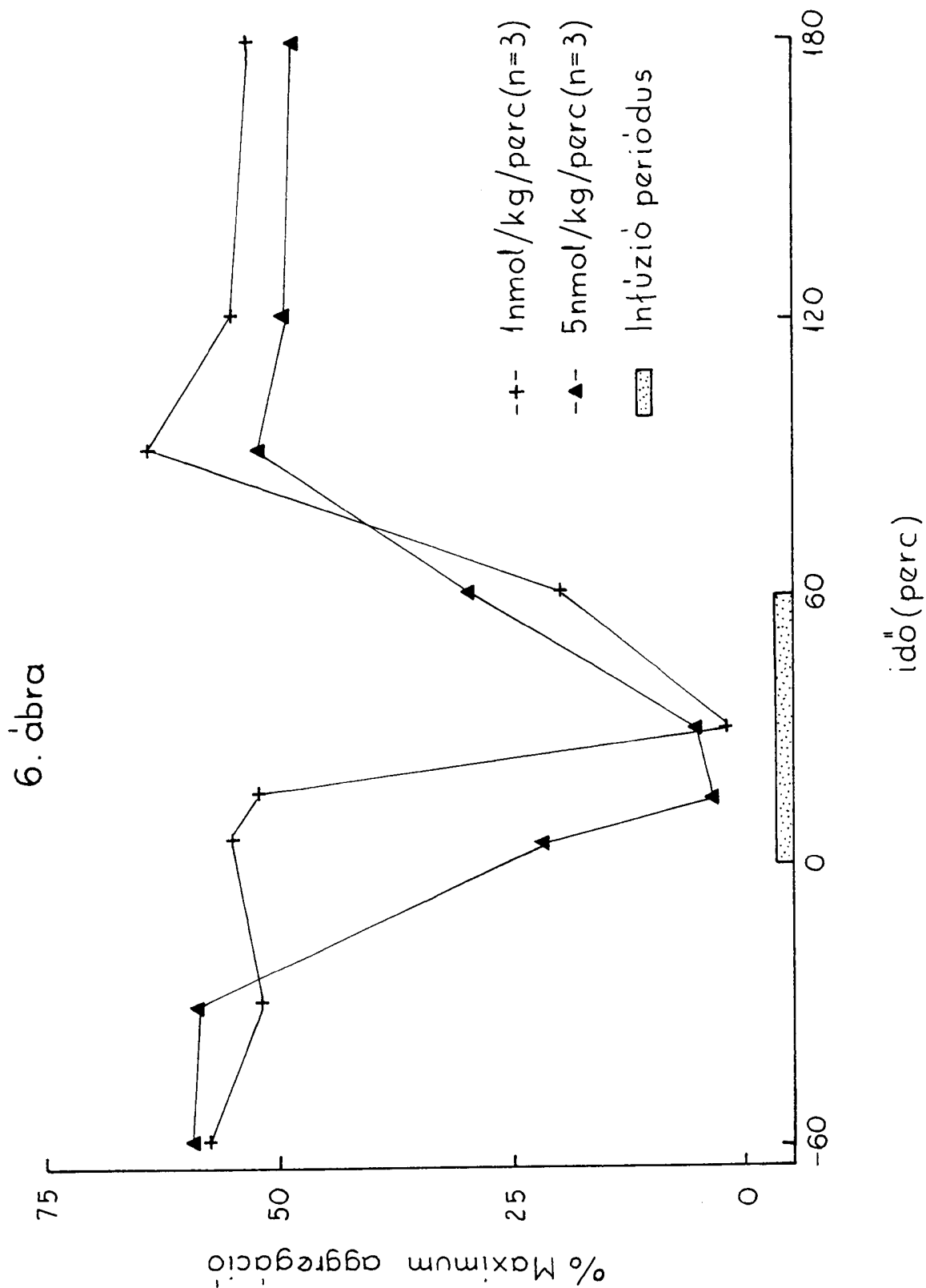




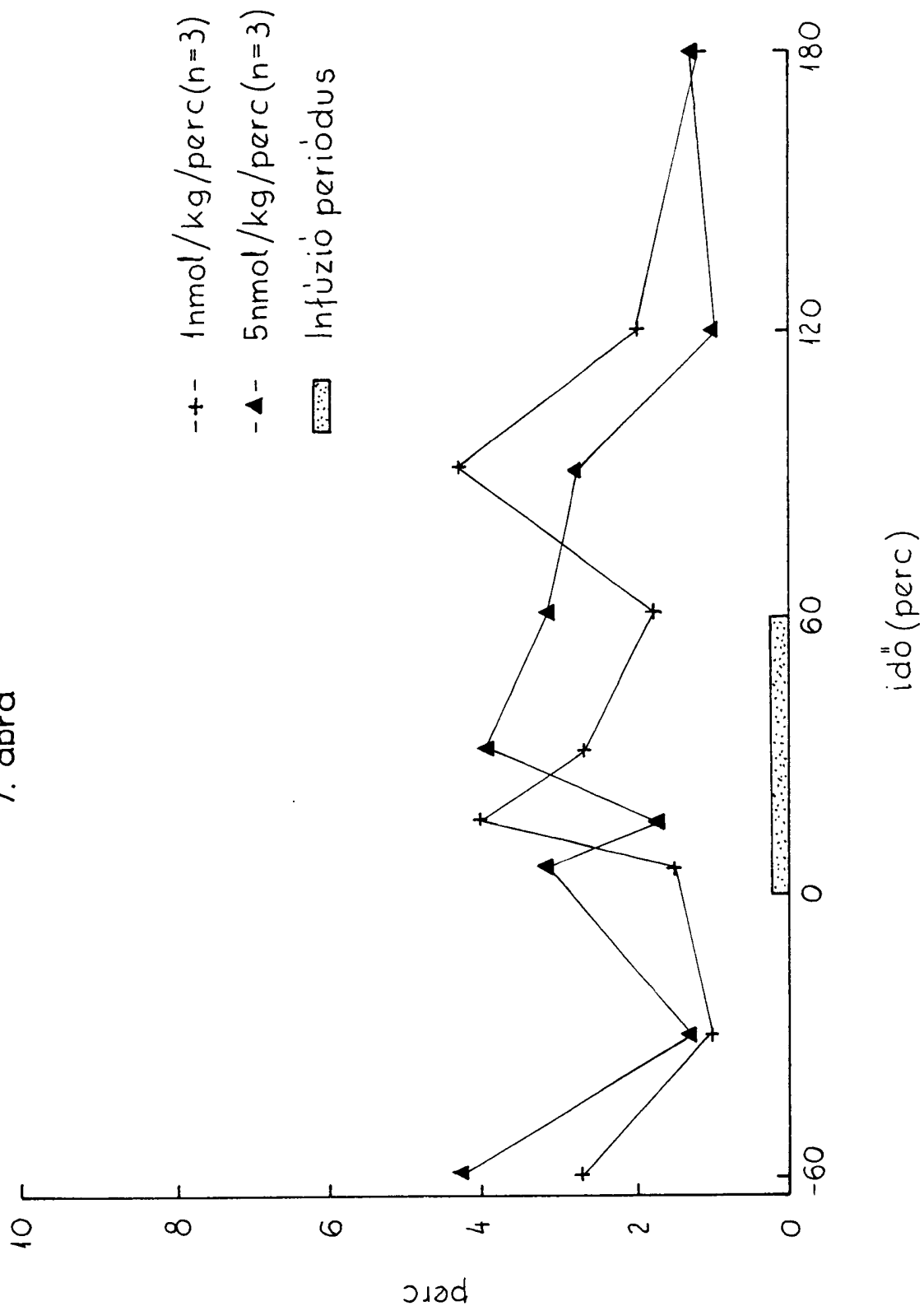


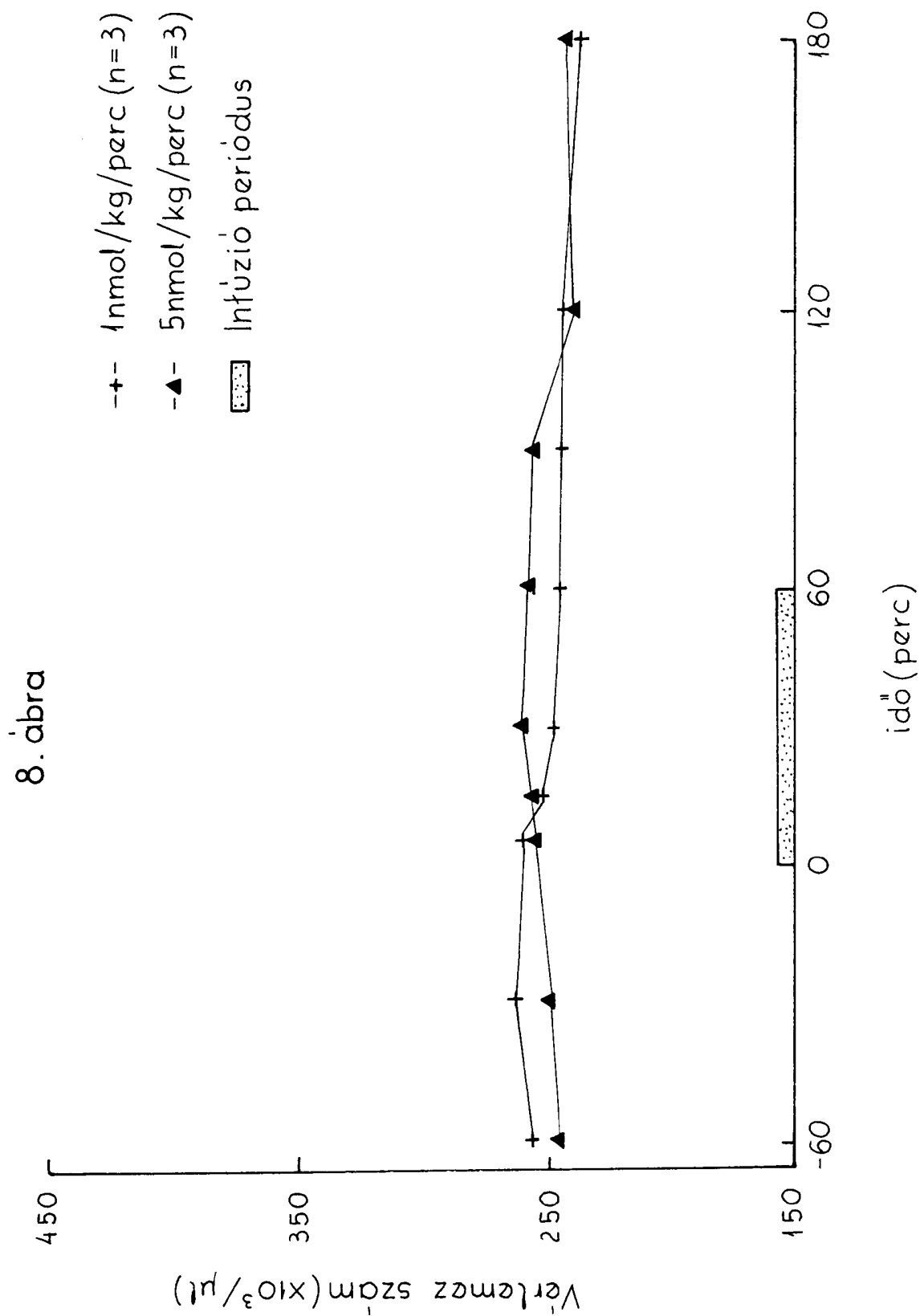


12/7

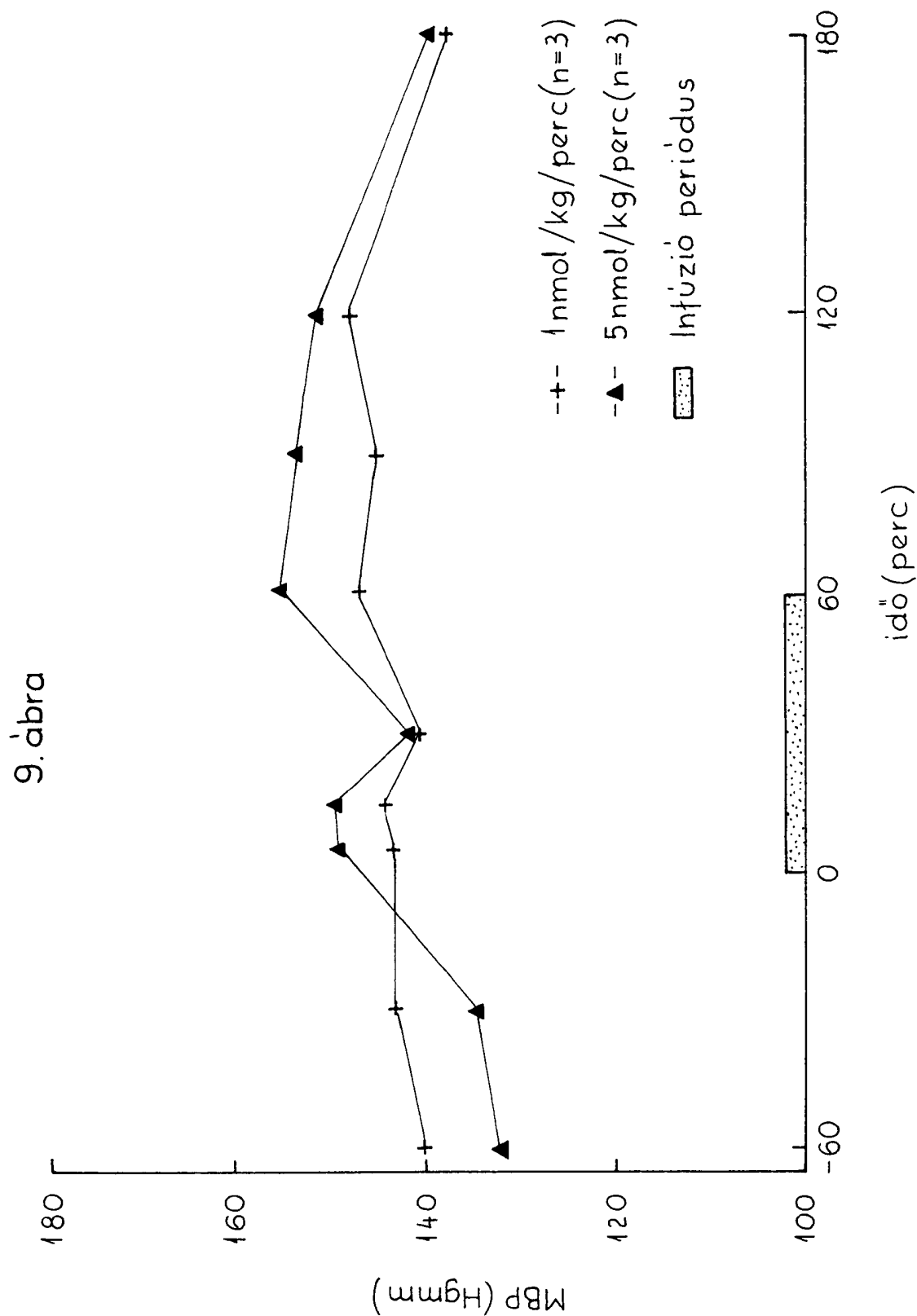


7. ábra



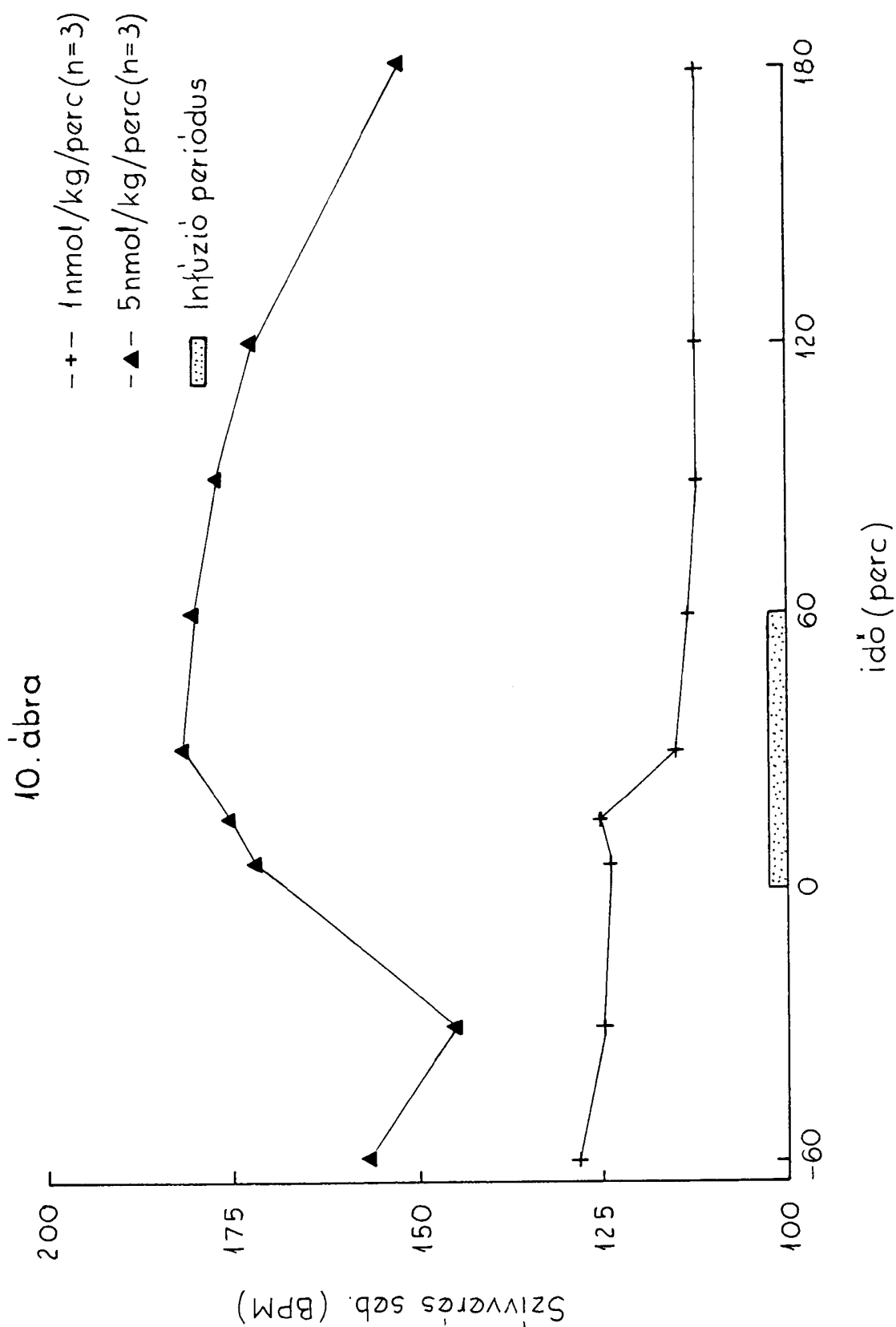


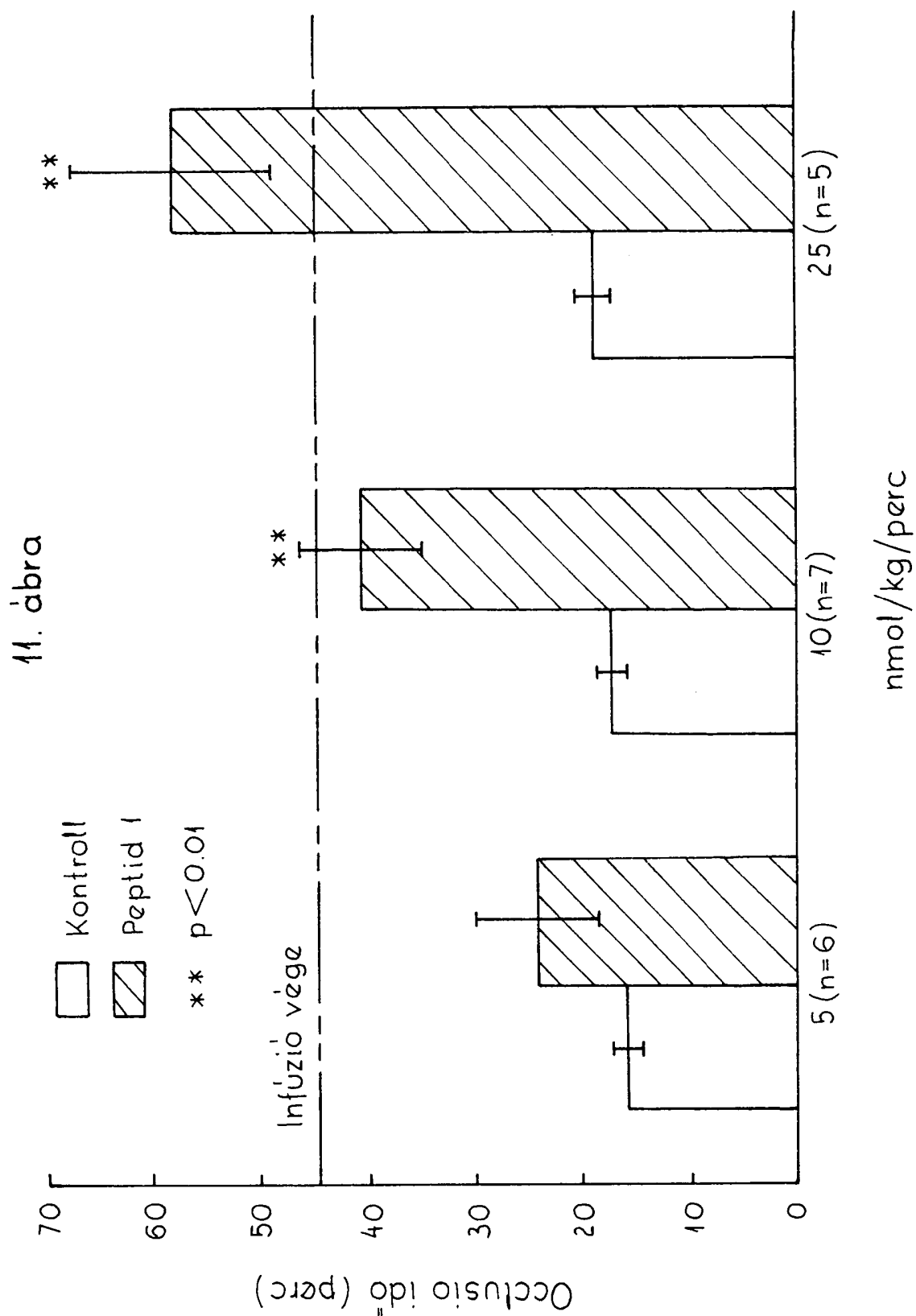
12/10

**Somlai Mária**

szabadalmi ügyvivő
 az S.B.G. és K. Nemzeti Irodájában
 Szabadalmi Iroda tagja

H-1162 Budapest, Andrásy út 113.
 Telefon: 34-24-950, Fax: 34-24-323





Somlai Mária

szabadalmi ügyvivő

az S.B.G. & K. Kérelmek

Szabadalmi Iroda tagja

H-1062 Budapest, Andrássy út 113.
Telefon: 34-24-950, Fax: 34-24-323