

(19) Országkód:

HU



**MAGYAR
KÖZTÁRSASÁG**

**MAGYAR
SZABADALMI
HIVATAL**

SZABADALMI LEÍRÁS

(11) Lajstromszám:

213 098 B

(21) A bejelentés ügyszáma: 5868/88
(22) A bejelentés napja: 1988. 08. 24.
(30) Elsőbbségi adatok:
07/088 431 1987. 08. 24. US
(86) Nemzetközi bejelentési szám: PCT/US 88/02922
(87) Nemzetközi közzétételi szám: WO 89/01944

(51) Int. Cl.⁶

C 07 K 7/23
A 61 K 38/09

(40) A közzététel napja: 1992. 07. 28.
(45) A megadás meghirdetésének dátuma a Szabadalmi
Közlönyben: 1997. 02. 28.

(72) Feltalálók:

Bowers, Cyril Yardling, New Orleans, Louisiana (US)
Feng, Dong-Mei, Austin, Texas (US)
Folkers, Karl, Austin, Texas (US)
Kobota, Minoru, Yotsukaido-shi, Chiba (JP)
Ljungquist, Anders, Austin, Texas (US)
Tang, Pui-Fun Louisa, Kowloon (HK)

(73) Szabadalmasok:

The Administrators of the Tulane Educational
Fund, New Orleans, Louisiana (US)
Board of Regents the University of Texas System,
Austin, Texas (US)

(74) Képviselő:

DANUBIA Szabadalmi és Védjegy Iroda Kft.,
Budapest

(54) **Eljárás luteinizáló hormont felszabadító hormon hatását antagonizáló
decapeptidek és hatóanyagként ezeket tartalmazó gyógyászati készítmények
előállítására**

(57) KIVONAT

A találmány tárgya új

AA¹-D-pClPhe²-D-3-Pal³-Ser⁴-AA⁵-AA⁶-Leu⁷-AA⁸-
Pro⁹-D-Ala¹⁰-NH₂ (I)

általános képletű decapeptidek előállítása – a képlet-
ben

AA¹ jelentése (1–4 szénatomos)alkil-karbonil-cso-
porttal N-acilezett D-2-Nal, D-pClPhe vagy D-
Cl₂Phe,

AA⁵ jelentése Tyr, His, Ile, 3-Pal, Dpo, NicOrn, 1–6
szénatomos alkilcsoporttal N^ε-alkilezett, vagy
di(1–4 szénatomos)alkil-amino-(1–4 szénato-
mos)alkil-karbonil-csoporttal vagy hattagú, aro-
más, 1 vagy 2 nitrogénatomot tartalmazó, adott
esetben 1–4 szénatomos alkil-csoporttal szubsztí-
tuált heterociklusos magkarbonsavból származó
acilcsoporttal N^ε-acilezett Lys,

AA⁶ jelentése D-Dpo, D-AnGlu, D-Et₂hArg, egy vagy
két 1–4 szénatomos alkilcsoporttal N^ε-alkilezett

D-Lys; vagy hattagú, aromás karbociklusos vagy
adott esetben 1–4 szénatomos alkilcsoporttal
szubsztituált 1 vagy 2 nitrogénatomot tartalmazó
heterociklusos magkarbonsavból származó acil-
csoporttal N^ε-acilezett D-Lys vagy Lys; vagy hat-
tagú, aromás, 1 nitrogénatomot tartalmazó hetero-
ciklusos magkarbonsavból származó acilcsoporttal
N-acilezett D-ACAla, és

AA⁸ jelentése Orn, IO₂Orn, Dpo, 1 vagy 2 1–6 szénato-
mos alkil- vagy egy 3–6 szénatomos cikloalkilcso-
porttal N-alkilezett, vagy hattagú, aromás, 1 nitro-
génatomot tartalmazó heterociklusos magkarbon-
savból származó acilcsoporttal N^ε-acilezett Lys –
melyek nagy ovulációgátló aktivitásuk mellett kismér-
tékű hisztamin-felszabadító aktivitással rendelkeznek.

A fenti LHRH-antagonista vegyületek ovuláció gát-
lására és a gonád-funkció gátlására alkalmas gyógyá-
szati készítmények hatóanyagaként használhatók.

A találmány tárgya eljárás a luteinizáló hormont felszabadító hormon (LHRH) új szintetikus analógjainak előállítására, valamint eljárás hatóanyagként e vegyületeket tartalmazó gyógyászati készítmények előállítására.

Az LHRH aminosav-szekvenciája az alábbi:
pGlu¹-His²-Trp³-Ser⁴-Tyr⁵-Gly⁶-Leu⁷-Arg⁸-Pro-Gly¹⁰-NH₂

A találmány közelebbről az új
AA¹-D-pClPhe²-D-3-Pal³-Ser⁴-AA⁵-AA⁶-Leu⁷-AA⁸-Pro⁹-D-Ala¹⁰-NH₂ (I)
általános képletű decapeptidek előállítására vonatkozik, – a képletben

AA¹ jelentése (1–4 szénatomos)alkil-karbonil-csoporttal N-acilezett D-2-Nal, D-pClPhe vagy D-Cl₂Phe,
AA⁵ jelentése Tyr, His, Ile, 3-Pal, Dpo, NicOrn, 1–6 szénatomos alkilcsoporttal N^e-alkilezett, vagy di(1–4 szénatomos)alkil-amino-(1–4 szénatomos)alkil-karbonil-csoporttal vagy hattagú, aromás, 1 vagy 2 nitrogénatomot tartalmazó, adott esetben 1–4 szénatomos alkil-csoporttal szubsztituált heterociklusos magkarbonsavból származó acilcsoporttal N^e-acilezett Lys,

AA⁶ jelentése D-Dpo, D-AnGlu, D-Et₂hArg, egy vagy két 1–4 szénatomos alkilcsoporttal N^e-alkilezett D-Lys; vagy hattagú, aromás karbociklusos vagy adott esetben 1–4 szénatomos alkilcsoporttal szubsztituált 1 vagy 2 nitrogénatomot tartalmazó heterociklusos magkarbonsavból származó acilcsoporttal N^e-acilezett D-Lys vagy Lys; vagy hattagú, aromás, 1 nitrogénatomot tartalmazó heterociklusos magkarbonsavból származó acilcsoporttal N-acilezett D-ACAla, és

AA⁸ jelentése Orn, IOrn, Dpo, 1 vagy 2 1–6 szénatomos alkil- vagy egy 3–6 szénatomos cikloalkilcsoporttal N^e-alkilezett, vagy hattagú, aromás, 1 nitrogénatomot tartalmazó heterociklusos magkarbonsavból származó acilcsoporttal N^e-acilezett Lys.

A találmány szerinti eljárással előállított LHRH-antagonista hatású decapeptidek erősen gátolják az ovulációt és csak elhanyagolható mennyiségű hisztamin felszabadulását teszik lehetővé. Mivel előre nem lehetett következtetni olyan molekulaszervezetre, amely az antagonistá vegyület erős hatását és egyúttal igen alacsony hisztamin-felszabadulást biztosítana, széleskörű kutatásokkal lehetett csak felderíteni azt, hogy milyen szerkezeti jellemzők eredményeznek olyan LHRH-antagonista hatású vegyületet, amely erősen gátolja az ovulációt, míg hisztamin-felszabadító aktivitása igen alacsony.

Ismeretes, hogy különféle peptidek – például a P anyag, vazóaktív intesztinális peptid, gasztrin, szomatostatín – hízósejtekből hisztamint szabadítanak fel. Ilyen sejtek számos szövetségben – például bőr-, tüdő-, bélfodor-, inyszövetben – előfordulnak. A legtöbb sejten vannak hisztamint és más gyulladás-mediátorokat tartalmazó granulák, amelyek peptidek hatására felszabadulnak, és kapilláris-tágulást, valamint fokozott érpermeabilitást okoznak. Amikor megfigyelték, hogy LHRH-antagonista vegyületek, például az [Ac-D-2-Nal¹, D-4-F-Phe²-D-Trp³-D-Arg⁶]-LHRH patkányok pofáján és végtagjain ödémát okoznak, valószínűnek

tűnt, hogy az ilyen antagonistá vegyületek fogamzásgátlóként embernek alkalmazva súlyos ödémát okozhatnak a kezelt személy arcán, vagy a test egyéb részein. A fenti mellékhatások valószínűleg lehetetlenné teszik az ilyen antagonistá vegyületek humán gyógyászati alkalmazását.

A hisztamint tartalmazó leukociták bazofil sejtek, amelyekből hisztamin válhat szabaddá, ha azokat valamely fent említett peptid stimulálja. A bazofilek biokémiaiilag különböznek a hízósejtektől, és ezen különbségek miatt mind előre látható, mind előre nem látható hisztamin-felszabadulás következhet be az LHRH-antagonista vegyületek hatására. Az ovuláció gátlására gyógyászatiilag alkalmazható LHRH-antagonistákkal szembeni követelmény, hogy nem szabad számottevő mennyiségű hisztamint felszabadítaniuk sem hízósejtekből, sem bazofilekből.

Az LHRH-antagonista vegyületek mellékhatásainak, így ödémát és anafilaxiát kiváltó hatásának felfedezése szükségessé tette olyan új LHRH-antagonista vegyületek felderítését, amelyek gátolják az ovulációt, de nem szabadítanak fel jelentős mennyiségű hisztamint. Ilyen nemkívánatos mellékhatásokat patkányokban már megfigyelték, és nem valószínű, hogy az egészségügyi hatóságok engedélyeznék az ilyen antagonistá vegyületek klinikai vizsgálatát embereken.

Az LHRH-analógok potenciális hisztamin-felszabadító hatásához szükséges szerkezeti jellemzőkről hozzáférhető ismereteket Karten és munkatársai [Karten, M. D. Hook, W. A., Siraganian, R. P., Coy D. H., Folkers K., Rivier J. E. és Roeske R. W.: LHRH and its Analogs; Contraceptive and Therapeutic Applications 2. rész, szerk. Vickery B. H. és Nestor J. J. ifj. (MTP Press Ltd., Lancaster, Anglia, 179–190. old. 1987)] foglalták össze. A hisztamin felszabadulását célzó LHRH-antagonista vegyületek közül in vitro leghatásosabb vegyületben egy erősen bázikus D-aminosav oldallánc (Arg vagy Lys) van 6-os helyzetben, közel az Arg⁸-hoz, és az N-terminálison egy hidrofób aromás aminosavakból álló rész. Így nincs specifikus aminosav a hisztamin felszabadulásért egyedül felelős első 10 aminosav között. Ennek ellenére úgy tűnik, hogy az N-terminálistól (az első néhány, 1–4 helyzetű aminosavaktól) a C-terminális felé eső, (6-os és 8-as helyzetű) bázikus aminosavakig terjedő szakasz szerkezeti tulajdonságai valamiképpen közrejátszanak a hisztamin felszabadulásában. Még a 10-es helyzetben lévő D-Ala is befolyásolja némiképpen a hisztamin felszabadulását, amelynek oka még ismeretlen. Önmagában két bázikus oldallánc egymáshoz oly közel, mint 6-os és 8-as helyzetben önmagában nem elég a hisztamin nagymértékű felszabadulásának kiváltásához. A hidrofób aminosavakból álló szekvencia az N-terminálison önmagában szintén nem elég a nagy hisztamin-felszabadító aktivitás biztosítására. Még egy hexapeptid fragmentum is csak enyhe hisztamin-felszabadító aktivitással rendelkezik. Nem látható összefüggés ezen antagonisták ovulációt gátló és hisztamin-felszabadító aktivitása között in vitro.

Várhatólag az ilyen decapeptid-antagonista vegyületek teljes láncának nagy része befolyásolhatja a hisz-

tamin felszabadulást. Ugyanez érvényes – eltérő mértékben – az ovulációt gátló aktivitásra. Ezek az LHRH-antagonista vegyületek rendszerint dekapeptidek, ami azt jelenti, hogy tíz változó áll rendelkezésre a hisztamin-felszabadító aktivitás kiküszöbölésére. A fenti tíz változó is egyenként húszféleképpen változtatható, így a megtervezhető, szintetizálható és vizsgálható peptidok száma szinte meghatározhatatlan. Feltehetőleg a tíz változó közül némelyik független az ovulációt gátló hatástól és hisztamint felszabadító hatástól, míg bizonyos változók esetén a kétféle biológiai hatásra nézve átfedés van. Ebben a helyzetben rendkívül nehéz olyan antagonistát találni, amely rendkívül magas ovulációgátló aktivitással és rendkívül alacsony hisztamin-felszabadító aktivitással rendelkezik.

A mellékhatásoktól lényegében mentes antagonisták felderítésére a tíz aminosavban különféle szerkezeti változtatásokat és kombinációkat kell végrehajtani, majd a kapott vegyületeket mind ovulációgátló, mind hisztamin-felszabadító aktivitás szempontjából meg kell vizsgálni. Új aminosavak szintézisét is meg kell valósítani, amelyeket azután a dekapeptid-láncba beépíthetünk, hiszen a könnyen hozzáférhető aminosavak nem biztos, hogy megfelelnek.

A találmány szerinti eljárásban az antagonista vegyületek előállítására nem használunk arginint és származékait. A lizint acil-származékká alakítjuk, vagy ϵ -amino-csoportját alkilezzük. Az ornitint δ -amino-csoportján acilezzük vagy alkilezzük. Az acil- és alkil-származékok előállítására a lizin D- és L-formáját és az ornitin L-izomerjét is használjuk fel. Szerkezetileg hasonló köztitermékeket is előállítunk. Összességében számos új peptidet szintetizálunk, az antiovlációs aktivitás tíz változójának és a hisztamin-felszabadító aktivitás tíz változójának alapvető és minimális variálásával, amely aktivitások vagy függetlenek, vagy részben átfedik egymást. Ilyen alapon a megtervezhető és szintetizálható peptidok száma óriási, és minden irodalmi ismeretet figyelembe kell venni ahhoz, hogy az előállítandó peptidok számát csökkentjük, és mégis megtaláljuk a kívánt hatású vegyületeket.

A szintetizált peptidok közül vizsgálataink alapján találtunk néhány előnyös tulajdonságú peptidet, ezek között van az alábbi kettő is:

az [N-Ac-D-2-Nal¹-D-pCIPhe²-D-3-Pal³-NicLys⁵-D-NicLys⁶-ILys⁸-D-Ala¹⁰]-LHRH meggátolja az ovulációt és figyelemreméltóan kis mennyiségű hisztamint szabadít fel;

az [N-Ac-D-2-Nal¹-D-pCIPhe²-D-3-Pal³-PicLys⁵-D-PicLys⁶-ILys⁸-D-Ala¹⁰]-LHRH kétszer olyan hatásos, mint a fenti peptid, és nem szabadít fel több hisztamint, mint a jelenleg ismert leghatásosabb LHRH-agonista vegyület.

A fenti két új peptid, a találmány szerinti eljárással előállított további hasonló szerkezetű peptidokkal együtt olyan vegyületeket képviselnek, amelyekben a nagy ovulációgátló aktivitás és az alacsony hisztamin-felszabadító aktivitás aránya elfogadható a potenciális klinikai alkalmazás szempontjából.

A találmány szerinti eljárással előállított, minimális

hisztamin-felszabadító aktivitással rendelkező, ovulációgátló hatású dekapeptidek például az alábbi aminosav-kombinációkat tartalmazzák, míg a molekula fennmaradó része az (I) általános képlet szerinti:

- 5 Ser⁴, PicLys⁵ és D-PicLys⁶;
N-Ac-D-2-Nal¹, D-pCIPhe², Ser⁴, D-PicLys⁵ és Pro⁹;
N-Ac-D-2-Nal¹, D-pCIPhe², D-3-Pal³, Ser⁴, D-PicLys⁶, Pro⁹ és D-Ala¹⁰;
N-Ac-D-2-Nal¹, D-pCIPhe², D-3-Pal³, Ser⁴, NicLys⁵, Pro⁹ és D-Ala¹⁰;
- 10 N-Ac-D-2-Nal¹, D-pCIPhe², D-3-Pal³, Ser⁴, Leu⁷, Pro⁹ és D-Ala¹⁰;
D-pCIPhe², Pro⁹ és D-Ala¹⁰;
N-Ac-D-2-Nal¹, D-pCIPhe², D-3-Pal³, NicLys⁵, D-NicLys⁶, ILys⁸ és D-Ala¹⁰;
- 15 N-Ac-D-2-Nal¹, D-pCIPhe², D-3-Pal³, NicLys⁵, D-NicLys⁶, ILys⁸ és D-Ala¹⁰;
N-Ac-D-2-Nal¹, D-pCIPhe², D-3-Pal³, PicLys⁵, D-PicLys⁶, ILys⁸ és D-Ala¹⁰;
- 20 N-Ac-D-2-Nal¹, D-pCIPhe², D-3-Pal³, NicLys⁵, D-NicLys⁶, IOrn⁸ és D-Ala¹⁰;
N-Ac-D-2-Nal¹, D-pCIPhe², D-3-Pal³, PicLys⁵, D-PicLys⁶, IOrn⁸ és D-Ala¹⁰;
N-Ac-D-2-Nal¹, D-pCIPhe², D-3-Pal³, MNicLys⁵, D-MNicLys⁶, IOrn⁸ és D-Ala¹⁰;
- 25 N-Ac-D-2-Nal¹, D-pCIPhe², D-3-Pal³, PzcLys⁵, D-PzcLys⁶, IOrn⁸ és D-Ala¹⁰;
N-Ac-D-pCIPhe¹, D-3-Pal³, Tyr⁵, D-NicLys⁶ és ILys⁸;
N-Ac-D-Cl₂Phe², D-3-Pal³, Tyr⁵, D-NicLys⁶ és ILys⁸;
- 30 acilezett Lys⁵, D-acilezett Lys⁶ és N-alkilezett diaminosav⁸;
NicLys⁵, D-NicLys⁶ és ILys⁸;
PicLys⁵, D-PicLys⁶ és ILys⁸;
NicLys⁵, D-NicLys⁶ és IOrn⁸;
- 35 PicLys⁵, D-PicLys⁶ és IOrn⁸;
MNicLys⁵, D-MNicLys⁶ és IOrn⁸;
PzcLys⁵, D-PzcLys⁶ és IOrn⁸;
Tyr⁵, D-NicLys⁶ és ILys⁸;
Tyr⁵, D-NicLys⁶ és IOrn⁸ és
- 40 N-Ac-D-2-Nal¹, D-pCIPhe², D-3-Pal³, Ser⁴, NicLys⁵, D-NicLys⁶, Leu⁷, ILys⁸, Pro⁹ és D-Ala¹⁰NH₂.

A találmány szerinti eljárással előállított fenti deka-peptidek állati szervezetekben ovuláció gátlására használhatók, oly módon, hogy a kezelendő állatnak egy (I) általános képletű dekapeptidet, előnyösen egy N-Ac-D-2-Nal¹-D-pCIPhe²-D-3-Pal³-Ser⁴-NicLys⁵-D-NicLys⁶-Leu⁷-ILys⁸-Pro⁹-D-Ala¹⁰NH₂ szerkezetű dekapeptidet adunk. A találmány szerinti eljárással előállított vegyületek állatok ovulációjának gátlására; a pubertás fellépésének gátlására; a gonád-funkció megváltoztatására; a hormon-dependens tumorok növekedésének gátlására; és a klimax után lévő nők szérumában az LH- és FSH-szint csökkentésére egyaránt használhatók. Ezek és a hasonló alkalmazások szakemberek számára a leírásból világosan kitűnnek.

A leírásban használt rövidítések jelentése az alábbi:

- | | |
|--------|------------------------------------|
| Ac | acetylcsoport |
| BOC | terc-butoxi-karbonil-csoport |
| Br-Z | o-bróm-benzil-oxi-karbonil-csoport |
| nBuOAc | n-butyl-acetát |

n-BuOH	n-butanol
CDCl ₃	deutero-kloroform
CHCl ₃	kloroform
CH ₂ Cl ₂	diklór-metán
CH ₃ CN	acetonitril
Cl-Z	o-klór-benzil-oxi-karbonil-csoport
DCC	diciklohexil-karbodiimid
DIEA	diizopropil-etil-amin
DMF	dimetil-formamid
Et	etil-csoport
EtOAc	etil-acetát
Et ₂ O	dietyl-éter
HF	hidrogén-fluorid
HOAc	ecetsav
KH ₂ PO ₄	kálium-dihidrogén-foszfát
MeOH	metanol
MgSO ₄	magnézium-szulfát
NH ₄ OAc	ammónium-acetát
iPrOH	izopropanol
py	piridin
TFA	trifluor-ecetsav
THF	tetrahidrofuran
TOS	p-toluolszulfonil-csoport
μ	mikro
Z	benzil-oxi-karbonil
ACAAla	3-(4-amino-ciklohexil)-alanin
AnGlu	4-(4-metoxi-fenil-karbamoil)-2-amino-vajsav
Arg	arginin
BzLys	N ^ε -benzoiil-lizin
Cl ₂ Phe	3,4-diklór-fenilalanin
CypLys	N ^ε -ciklopentil-lizin
DMGLys	N ^ε -(N,N-dimetil-glicil)-lizin
Dpo	N ^δ -(4,6-dimetil-2-pirimidil)-ornitin
Et ₂ hArg	N ^G ,N ^G dietil-homoarginin
FPhe	α-fluor-fenilalanin
Gly	glicin
His	hisztidin
Ile	izoleucin
ILys	N ^ε -izopropil-lizin
INicLys	N ^ε -izonikotinoil-lizin
IOm	N ^δ -izopropil-ornitin
Leu	leucin
Lys	lizin
Me ₂ Lys	N ^ε ,N ^ε -dimetil-lizin
MNicLys	N ^ε -(6-metil-nikotinoil)-lizin
MPicLys	N ^ε -(6-metil-pikolinoil)-lizin
NACAAla	3-(4-nikotinoil-amino-ciklohexil)-alanin
2-Nal	3-(2-naftil)-alanin
NicLys	N ^ε -nikotinoil-lizin
NicOrn	N ^δ -nikotinoil-ornitin
Orn	ornitin
PACAAla	3-(4-pikolinoil-amino-ciklohexil)-alanin
3-Pal	3-(3-piridil)-alanin
pClPhe	3-(4-klór-fenil)-alanin
pGlu	piroglutaminsav
PicLys	N ^ε -pikolinoil-lizin
PmcLys	N ^ε -(4-pirimidinil-karbonil)-lizin
Pro	prolin

PzcLys	N ^ε -(pirazinil-karbonil)-lizin
Ser	szerin
Trp	triptofán
Tyr	tirozin.

- 5 A szintézishez használt legtöbb természetes aminosavat a Peninsula Laboratories-től (San Carlos, CA, USA) szereztük be. A Ser hidroxilcsoportját benzil-észterként, a Tyr fenolos hidroxilcsoportját Br-Z származékként, a Lys ε-amino-csoportját Cl-Z származékként, az Arg guanidinocsoportját és a His imidazolcsoportját TOS-származékként védjük. Az α-amino-funkciót BOC-származékként védjük. A BOC-Orn(Z)-t a Sigma Chemical Co.-tól (St. Louis, Mo, USA) szereztük be. A BOC-D-2-Nal, BOC-D-3-Pal, BOC-D-Cl₂Phe, BOC-pClPhe és BOC-ILys(Z).diciklohexil-amin-só a Southwest Foundation for Biomedical Research (San Antonio, TX, USA) terméke. A benzhidril-amin-hidrogén-klorid gyantát a Beckman Bioproducts (Palo Alto, CA, USA) gyártja. A nitrogén-tartalom mintegy 0,65 mmól/g. A CH₂Cl₂-t használat előtt desztilláljuk.

- 20 A találmány új LHRH-antagonista vegyületek szintézisét és hatóanyagként e vegyületeket tartalmazó gyógyszerkészítmények előállítását foglalja magában. Ezek a vegyületek nagy antiovolációs aktivitás mellett csekély hisztamin-felszabadító aktivitással rendelkeznek [Ljungqvist A., Feng D. M., Tang P. F. L., Kubota M., Okamoto T., Zhand Y., Bowers C. Y., Hook W. A. és Folkers K., Biochem. Biophys. Res. Commun. 148(2), 849–886 (1987)]. Ezen új antagonisták jellegét például a 6-os helyzetű D-N^ε-nikotinoil-lizin (D-NicLys) és a 8-as helyzetű N^ε-izopropil-lizin (ILys) határozza meg.

- 25 A D-Arg⁶, különösen Arg⁸-nal és az N-terminálison hidrofób aromás aminosav-maradékokkal kombinálva, a hisztamin felszabadulásával jár [Karten M. D. és Rivier J. E., Endocr. Rev. 7, 44–56 (1986); Hook W. A., Karten M. és Siraganian R. P., Fed. Proc. Fed. Am. Soc. Exptl. Biol. 44, 1323 (1985); és Karten M. D., Hook W. A., Siraganian R. P., Coy D. H., Folkers K., Rivier J. E. és Roeske R. W., LHRH and its Analogs: Contraceptive and Therapeutic Applications 2. rész, szerk. Vickery B. H. és Nestor J. J., Jr., MTP Press Ltd., Lancaster, Anglia: 179–190. oldal (1987)].

- 35 Az anafilaxiás aktivitás további csökkentése elérhető a 6-os és a 8-as helyzetű pozitív töltések közötti távolság növelésével, Arg⁵-tel, és egy semleges maradék 6-os helyzetben való beillesztésével, mint például az [N-Ac-D-2-Nal¹, D-pClPhe²-D-3-Pal³, Arg⁵, D-4-(p-metoxi-benzoiil)-2-amino-vajsav⁶, D-Ala¹⁰]-LHRH esetén [Rivier J. E., Porter J., Rivier C. L., Perrin M., Corrigan A., Hook W. A., Siraganian R. P. és Vale W. W., J. Med. Chem. 29, 1846–1851 (1986)]; vagy az [N-Ac-D-2-Nal¹, D-αMepClPhe², D-Trp³, Arg⁵, D-Tyr⁶, D-Ala¹⁰]-LHRH [αMepClPhe jelentése 2-metil-3-(4-klór-fenil)-alanin] esetén [Roeske R. W., Chaturvedi N. C., Hrinio-Pavlina T. és Kowalczyk M., LHRH and its Analogs; Contraceptive and Therapeutic Applications, 2. rész, szerk. Vickery B. H. és Nestor J. J., Jr., MTP Press Ltd., Lancaster, Anglia, 17–24. oldal (1987)].
- 50 6-os helyzetben végrehajtott változtatások még a D-Lys⁶ reduktív alkilezése [Hocart S. J., Nekola M. V. és

Coy D. H. J. Med. Chem. 30, 739–743 (1987)] és az N,N-dietil-homoarginin beépítése [Nestro J. J., Tahilramani R., Ho T. L., McRae G. I. és Vickery B. H., J. Med. Chem. 31, 65–72 (1988)]. A nemrégén szintetizált ciklusos analógok nem okoztak csökkenést a hisztamin-felszabadító aktivitásban, a lineáris megfelelő vegyületekhez hasonlóan [Rivier J., Kupyszewski G., Varga J., Porter J., Rivier C., Perrin M., Hagler A., Struthers S., Corrigan A. és Vale W., J. Med. Chem. 31, 677–682 (1988)].

A találmány szerinti eljárással előállított peptidek közül eredetileg kettőt választottunk ki a további tervezésekhez. Az [N-Ac-D-2-Nal¹-D-pCIPhe²-D-3-Pal³-NicLys⁵-D-NicLys⁶-ILys⁸-D-Ala¹⁰]-LHRH (amelyet antitdnek nevezünk) igen alacsony hisztamin-felszabadulással párosult jelentős aktivitást mutat: ovulációgátló aktivitása (AOA) 1 µg-ban 100%, 0,5 µg-ban 36%; hisztamin-felszabadító ED₅₀ értéke in vitro állandóan 300 µg/µl feletti, a standard analóg [N-Ac-D-2-Nal¹, D-pFPhe², D-Trp³, D-Arg⁴]-LHRH [pFPhe jelentése 3-(4-fluor-fenil)-alanin] 0,17 µg/µl értékéhez képest [Rivier J. E., Porter J., Rivier C. L., Perrin M., Corrigan A., Hook W. A., Siragania R. P. és Vale W. W., J. Med. Chem. 29, 1846–1851 (1986)]. A másik analóg az antiddal azonos, azzal az eltéréssel, hogy 5-ös és 6-os helyzetben PicLys⁵ és D-PicLys⁶ van: AOA értéke 100% 0,5 µg-ban és 40% 0,25 µg-ban, ED₅₀ értéke 93±11.

Az (I) általános képletű vegyületek előállítását az alábbiakban részletesen ismertetjük.

A megadott olvadáspontokat nem korrigáltuk. Az NMR-adatok a TMS belső standarddal kapott δ értékeket jelentik. A vékonyréteg-kromatográfiás futtatást szilikagélén végeztük.

Acilezés előtt a Lys és Orn Z és Cl-Z csoportjait hidrogenolízissal hasfjúk le, metanolban, 10% fémét tartalmazó szénhordozós palládiumkatalizátor jelenlétében.

A BOC-D-BzLys-t BOC-D-Lys-ből állítjuk elő, benzoil-kloriddal végzett acilezéssel, a Bernardi és munkatársai által L-izomerekre ismertetett eljárással [J. Pharm. Pharmacol. 19, 95 (1967)].

A BOC-DMG-Lys-t úgy állítjuk elő, hogy a BOC-Lys-t klór-acetil-kloriddal acilezzük a fenti eljárással, és a 10 mmól BOC-Lys-ből kapott nyersteget 10 ml THF-ban 10 ml 40%-os vizes dimetil-aminnal reagáltatjuk. A reakcióelegyet 15 percen keresztül jeges fürdőn keverjük, majd a szobahőmérsékleten 2,5 órán keresztül folytatjuk a keverést. Az elegyet vákuumban bepároljuk, majd a nyersteget 10 ml H₂O-ben oldjuk és Bio-Rad Agl-X8 oszlopra (acetát forma 1×25 cm) visszük. Az oszlopot először 200 µl vízzel mossuk, majd a terméket 6%-os HOAc-val eluáljuk és a HOAc-at többszöri liofilizálással eltávolítjuk. A termék amorf anyag, a hozam 60–70%.

R_f = 0,27 (n-BuOH:py:HOAc:H₂O = 30:10:3:12).

Tisztaság: 95%.

NMR (CDCl₃): 1,45 (s, 9H, terc-butoxi-csoport), 1,85–1,48 (m, 6H, β, γ, δ-CH₂ csoportok), 2,6 [s, 6H, N(CH₃)₂], 3,25 (m, 2H, ε-CH₂), 3,37 (s, 2H, N-CH₂-CO), 4,15 (m, 1H, α-CH).

A táblázatokban feltüntetett egyéb acilezett Lys-

származékot BOC-D- vagy -L-Lys-ből és a megfelelő p-nitro-fenil-észterből állítjuk elő.

A p-nitro-fenil-nikotinátot úgy állítjuk elő, hogy 9,85 g (80 mmól) nikotinsavhoz és 13,35 g (96 mmól) p-nitro-fenolhoz 250 ml DMF-ban 16,5 g (80 mmól) DCC-t adunk, jeges fürdőn való keverés közben. A reakcióelegyet 0 °C-on 1 órán keresztül, majd szobahőmérsékleten 3 órán keresztül keverjük, ezután a karbamidot leszűrjük és a terméket azonos térfogatú víz hozzáadásával kicsapjuk. Szűrés, vákuumban való szárítás és izopropanolból történő átkristályosítás után 11,22 g (57%) fehér, tűs kristályos anyagot kapunk, olvadáspontja 172,5–173 °C [Zinner H. és Fiedler H., Arch. Pharm. 291(63), 330 (1958)] szerinti olvadáspont: 172 °C.

A p-nitro-fenil-izonikotinátot a fentiekkel analóg módon állítjuk elő, 12 g (61%) terméket kapunk, olvadáspontja 139–141 °C; 137–139 °C [Fife T. H. és Przystas T. J., J. Am. Chem. Soc. 107, 1041 (1985)].

A p-nitro-fenil-6-metil-nikotinátot is ugyanígy állítjuk elő. 70 mmól 6-metil-nikotinsavból a hozam 6,0 g (33%), metanolból végzett átkristályosítás után, olvadáspontja 156–157 °C.

R_f = 0,57 (2% MeOH CHCl₃-ban).

NMR (CDCl₃): 2,7 (s, 3H, CH₃), 7,36 (d, 1H, py-H⁵), 7,45 (m, 2H, fenilgyűrűben oxigénnel szomszédos H), 8,34 (m, 3H, fenilgyűrűben NO₂-tal szomszédos H, py-H⁴-nel átfedésben), 9,27 (d, 1H, py-H²).

A p-nitro-fenil-pikolinátot úgy állítjuk elő, hogy 4,92 g (40 mmól) pikolinsavat és 5,84 g (42 mmól) p-nitro-fenolt 200 ml CH₂Cl₂-ban szuszpendálunk/oldunk. Ezután intenzív keverés közben hozzáadunk 8,24 g (40 mmól) DCC-t 20 ml CH₂Cl₂-ban. A reakcióelegyet szobahőmérsékleten 17 órán keresztül tovább keverjük. Az elegyet szűrjük és a szűrőn maradt csapadékot 30–40 ml CH₂Cl₂-nal mossuk. A nyersteget először 100 ml Et₂O-rel jeges fürdőn keverjük, majd szűrjük. 250 ml iPrOH-ból átkristályosítva 6,24 g (63%) terméket kapunk, olvadáspontja 154–156 °C (bomlás közben); olvadáspont 145–147 °C [Fife T. H. és Przystas T. J., J. Am. Chem. Soc. 107, 1041 (1958)].

A pirazinkarbonsav-p-nitro-fenil-észtert ugyanazzal az eljárással állítjuk elő, mint az előző vegyületet. 40 mmól pirazinkarbonsavból és 44 mmól p-nitro-fenolból 35,2 g (88%) terméket kapunk, olvadáspontja 180–182 °C (bomlás közben).

R_f = 0,72 (CHCl₃:MeOH = 49:1).

NMR (CDCl₃): 7,5 és 8,37 (m, 2H, a fenolgyűrűben az oxigénnel illetve nitrocsoporttal szomszédos H-ek), 8,84 (m, 1H, pirazin-H⁵), 8,9 (d, 1H, pirazin-H⁶), 9,48 (d, 1H, pirazin-H³).

A BOC-NicLys-t úgy állítjuk elő, hogy 2,5 g (2,5 mmól) L- vagy D-BOC-Lys-t 200 µl DMF-ban szuszpendálunk keverés közben. Ezután hozzáadunk 2,75 mmól p-nitro-fenil-nikotinátot, és az elegyet szobahőmérsékleten 36 órán keresztül keverjük. Az elegyet ezután szűrjük, és a szűrletet csökkentett nyomáson szárazra pároljuk. A kapott sárga olajat 2-szer 50 ml Et₂O-rel jeges fürdőn elkeverjük. Az első Et₂O-es fázist dekantáljuk, a másodikat leszűrjük. EtOAc/he-

xán elegyből végzett átkristályosítással 2,05 g (58%) terméket kapunk, (L-izomer), olvadáspontja 138 °C; irodalmi érték [Bernardi és munkatársai, J. Pharm. Pharmacol. 19, 95 (1967)] 138–141 °C. L-izomer $[\alpha]_D^{20} = -2,91^\circ$ (c = 1, MeOH), D-izomer $[\alpha]_D^{20} = -3,35^\circ$ (c = 1, MeOH).

Az L- és D-BOC-INicLys-t is hasonló eljárással állítjuk elő, 10 mmól L- vagy D-BOC-Lys-t p-nitro-fenil-izotikotináttal acilezve 100 ml DMF-ben, 40 órán keresztül, szobahőmérsékleten. A nyersteget 120 ml EtOAc és 50 ml H₂O között megosztjuk. Az EtOAc-os fázist 2-szer 50 ml H₂O-zel és 50 ml sóoldattal extraháljuk. Az eredeti vizes fázist 30 ml EtOAc-tal visszaextraháljuk. Az egyesített EtOAc-os fázisokat MgSO₄ felett szárítjuk és bepároljuk, a maradékot Et₂O-rel kezeljük és a fentiek szerint átkristályosítjuk. 1,07 g L-BOC-INicLys-t kapunk, a hozam 30,5%.

NMR (acetone-d₆): 1,4 (s, 9H, tBu), 1,8–1,48 (m, 6H, β, γ, δ-CH₂), 3,44 (t, 2H, ε-CH₂), 4,13 (m, 1H, α-CH), 7,77 (m, 2H, py-H⁵ és -H³), 8,70 (m, 2H, py-H² és -H⁶).

L- és D-BOC-PicLys

1,23 g (5 mmól) L- vagy D-BOC-Lys-t 1,34 g (5,5 mmól) p-nitro-fenil-pikolináttal 60 ml DMF-ban 16 órán keresztül keverünk. A reakcióelegyet szűrjük és bepároljuk, majd a terméket szilikagéllal töltött 4,5×32 cm-es oszlopon kromatografálva tisztítjuk, az eluálást n-BuOH:py:HOAc:H₂O = 30:10:3:12 eleggyel végezzük. A kromatografálás után kapott terméket EtOAc-ban oldjuk és H₂O-zel, sóoldattal mossuk, szárítjuk és vákuumban bepároljuk. A hozam rendszert 60–70%.

NMR (CDCl₃): 1,43 (s, 9H, t-butoxi-csoport), 1,73–1,45 (m, 6H, β, γ, δ-CH₂), 3,47 (m, 2H, ε-CH₂), 4,32 (m, 1H, α-CH), 7,43 (m, 1H, py-H⁵), 7,85 (m, 1H, py-H⁴), 8,2 (m, 1H, py-H³), 8,55 (m, 1H, py-H⁶).

L- és D-BOC-MNicLys

10 mmól BOC-Lys-t és 10,5 mmól p-nitro-fenil-6-metil-nikotinátot 150 ml DMF-ban a szokásos módon reagáltatunk. A reakcióelegyet 27 óra elteltével szűrjük és bepároljuk. A kapott sárga olajat Et₂O-rel kezelve (kétszer 50 ml) 3,3 g terméket kapunk, amelyet 50 ml, 20% MeOH-t tartalmazó EtOAc/hexán elegyből átkristályosítunk. 2,87 g terméket kapunk, a hozam 78,6% (L-izomer).

$R_f = 0,61$ (n-BuOH:py:HOAc:H₂O = 32:10:3:12).

NMR (CDCl₃): 1,46 (s, 3H, py-CH₃), 3,36 (m, 2H, ε-CH₂), 4,11 (m, 1H, α-CH), 7,22 (d, 1H, py-H⁵), 8,08 (m, 1H, py-H⁴), 8,95 (széles s, 1H, py-H²).

L- és D-BOC-PzLys

A fentiek szerint eljárva, 7,7 mmól pirazinkarbonsav-p-nitro-fenil-észterből és 7 mmól L- vagy D-BOC-Lys-ből 100 ml DMF-ban kb. 6 mmól cím szerinti terméket kapunk, iPrOH-ból végzett átkristályosítás után. $R_f = 0,47$ (n-BuOH:py:HOAc:H₂O) = 30:10:3:12).

NMR (CDCl₃): 1,45 (s, 9H, terc-butoxi-csoport), 1,9–

1,48 (m, 6H, β, γ, δ-CH₂), 3,51 (m, 2H, ε-CH₂), 4,29 (m, 1H, α-CH), 8,52 (q, 1H, pirazin-H⁵), 8,77 (d, 1H, pirazin-H⁶), 9,41 (d, 1H, pirazin-H³).

BOC-L-NicOrn

A cím szerinti vegyületet a szokásos módon eljárva állítjuk elő, 7 mmól p-nitro-fenil-nikotinátot 5 mmól BOC-Orn-nel 75 ml DMF-ban 36 órán keresztül reagáltatva. Bepárlás és EtOAc-ból végzett átkristályosítás után 3,5 mmól (70%) NicOrn-t kapunk, olvadáspontja 143–144 °C.

$R_f = 0,70$ (n-BuOH:HOAc:H₂O = 4:1:2).

NMR (CDCl₃): 1,25 (s, 9H, terc-butoxi-csoport), 7,45 (m, 1H, py-H⁵), 8,27 (m, py-H⁴), 8,69 (m, 1H, py-H⁶), 9,05 (m, 1H, py-H²).

BOC-D-transz-NACAla

1,43 g (5 mmól) BOC-D-transz-3-(4-amino-ciklohexil)-alanint (gyártja a Southwest Foundation for Biomedical Research) 1,35 g (5,5 mmól) p-nitro-fenil-nikotináttal 60 ml DMF-ban keverünk szobahőmérsékleten, 120 órán keresztül. Az elegyet ezután szűrjük, bepároljuk, jeges fürdőn Et₂O-rel kezeljük és újra szűrjük. Az átkristályosítást úgy végezzük, hogy 12 ml EtOH-lal melegítjük és 18 ml forró H₂O-et adunk hozzá. Tiszta oldatot kapunk, amelyből hűlés közben kristályok válnak ki. A fenti műveletet kétszer megismételjük. 0,98 g cím szerinti terméket kapunk, a hozam 50%. A termék tisztasága nagyobb, mint 95%, olvadáspontja: >220 °C.

NMR (DMSO-d₆): 1,46 (s, 9H, terc-butoxi-csoport), 1,9–1,48 (m, 11H, gyűrű-CH₂, gyűrű-CH 1-es helyzetben és β-CH₂), 3,72 (m, 1H, gyűrű-CH 4-es helyzetben), 3,95 (m, 1H, α-CH), 7,48 (m, 1H, py-H⁵), 8,16 (m, 1H, py-H⁴), 8,67 (m, 1H, py-H⁶), 8,96 (m, 1H, py-H²).

BOC-D-cisz-NACAla

5 mmól BOC-D-cisz-3-(4-amino-ciklohexil)-alanint (a fenti cégtől) 5,5 mmól p-nitro-fenil-nikotináttal reagáltatunk DMF-ban, a fent ismertetett módon. A tisztítást Et₂O-rel a fentiek szerint kezelve, majd 4,5×32 cm-es oszlopon, szilikagélen kromatografálva, CHCl₃:MeOH:py:HOAc = 75:10:10:5 eleggyel eluálva végezzük. 1,3 g cím szerinti vegyületet kapunk, amorf por formájában, a hozam 61%.

$R_f = 0,58$ (CHCl₃:MeOH:py:HOAc = 75:10:10:5)

NMR (CDCl₃): 1,44 (s, 9H, terc-butoxi-csoport), 1,95–1,45 (m, 11H, gyűrű-CH₂, gyűrű-CH 1-es helyzetben és β-CH₂), 4,22 (m, 1H, α-CH), 4,35 (m, 1H, gyűrű-CH 4-es helyzetben), 7,35, 8,24, 8,63 és 8,98 (mindegyik 1H, értelmezés mint az előző vegyületnél).

BOC-IOrn(Z)

A cím szerinti vegyületet BOC-Orn(Z)-ből állítjuk elő, Prasad és munkatársai [J. Med. Chem. 19, 492 (1976)] módszere szerint végzett redukzív alkilezéssel, acetonnal és H₂/Pd-mal, majd benzil-klór-formiáttal vizes lúgban (Schotten-Baumann körülmények között) N⁸-Z-származékká alakítással. A tisztítást szilikagélen,

kromatografálással végezzük, $\text{CHCl}_3:\text{MeOH} = 85:15$ eleggyel.

$R_f = 0,8$ ($\text{CHCl}_3:\text{MeOH}:\text{HOAc} = 85:15:3$).

NMR (CHCl_3): 1,10 (d, 6H, iPr- CH_3), 1,40 (s, 9H, tBuO), 1,7–1,5 (m, 4H, β , γ - CH_2), 3,09 (m, 2H, δ - CH_2), 4,2 (m, 1H, α -CH), 5,10 (s, 2H, benzil- CH_2), 7,3 (m, 5H, aromások).

BOC-CypLys(Z)

2,04 g BOC-Lys(Z)-t 8 ml ciklopentanonban és 0,22 g NaOH-ot tartalmazó 32 ml H_2O -ben oldunk. A hidrogénezést Parr-készülékben végezzük, 0,4 g 10% fémet tartalmazó Pd/C jelenlétében, $3,45 \times 10^5$ – $4,14 \times 10^5$ Pa nyomáson 4 óra elteltével a hidrogénezést megszakítjuk, és az elegyhez 2 ml 0,5 mol/l koncentrációjú NaOH-ot és 10 ml MeOH-t adunk. A hidrogénezést ezután $3,45 \times 10^5$ – $4,14 \times 10^5$ Pa nyomáson 16 órán keresztül folytatjuk. Az elegyet ezután szűrjük és bepároljuk. A maradékot 75 ml H_2O -ben oldjuk, és a vizes fázist háromszor Et_2O -rel és egyszer hexánnal extraháljuk. A pH-t HCl-dal 6–7-re állítjuk, és az oldatot rotációs bepárlóval, 40 °C-os fürdőn bepároljuk. A kapott terméket ezután benzil-klór-formiáttal Z-származékká alakítjuk, vizes NaOH-ban (Schotten-Baumann körülmények között). 1,3 g cím szerinti vegyületet kapunk, az összhozam 58%.

$R_f = 0,69$ (n-BuOH:py:HOAc: $\text{H}_2\text{O} = 30:10:3:12$).

Tisztaság: >95%.

NMR (CDCl_3): 1,45 (s, 9H, tBuO), 1,95–1,35 (m, 14H, gyűrű- CH_2 + β , γ , δ - CH_2), 3,13 (széles t, 2H, ϵ - CH_2), 4,34–4,05 (m, 2H, α -CH+gyűrű-CH), 5,13 (s, 2H, benzil- CH_2), 7,35 (m, 5H, aromás protonok).

D- és L-BOC-Me₂Lys

A fenti vegyületeket a megfelelő Z- vagy Cl-Z-származékok 37%-os formaldehid jelenlétében végzett hidrogenolízisével állítjuk elő, lényegében L. Benoitonnak az N^α-acetil-analóg előállítására ismertetett módszere [Can. J. Chem. 42, 2043 (1969)]. A tisztítást szilikagélen kromatografálással végezzük, n-BuOH:py: $\text{H}_2\text{O} = 2:2:1$ oldószerrendszert használva. A cím szerinti termékeket amorf por formájában kapjuk, a hozam 40–65%.

NMR (CDCl_3): 1,41 (s, 9H, terc-butoxi-csoport), 1,9–1,5 (m, 6H, β , γ , δ - CH_2), 2,6 [s, 6H, N(CH_3)₂], 2,8 (m, 2H, ϵ - CH_2), 4,03 (m, 1H, α -CH).

BOC-D-AnGlu

0,62 g (3 mmól) DCC-t adunk 1,10 g (3 mmól) BOC-D-Glu- α -benzil-észter és 0,39 (3 mmól) p-anizidin 25 ml CH_2Cl_2 -nal készült, jéghideg oldatához. A reakcióelegyet szobahőmérsékletre való felmelegedés után még 17 órán keresztül keverjük. A diciklohexilkarbamidot leszűrjük és a térfogatot kloroformmal 125 ml-re egészítjük ki. A kapott oldatot kétszer 1 n H_2SO_4 -val, H_2O -zel, telített NaHCO_3 -oldattal, kétszer H_2O -zel extraháljuk, és vízmentes magnézium-szulfát felett szárítjuk. Bepárlás és EtOH-ból végzett átkristályosítás után 0,99 g terméket kapunk, a hozam 74%, olvadáspont: 129,5–131 °C.

$R_f = 0,53\%$ (4% MeOH CHCl_3 -ban).

A fenti terméket 30 ml MeOH-ban és 10 ml EtOH-ban oldjuk és 0,3 g Pd/C jelenlétében, $3,45 \times 10^5$ Pa nyomáson 2,5 órán keresztül hidrogénezük. Szűrés és bepárlás után kvantitatív hozammal kapjuk a BOC-D-AnGlu-t, amely nem kristályos. Tisztasága: >98%.

NMR (CDCl_3): 1,45 (s, 9H, terc-butoxi-csoport), 2,35–1,95 (m, 2H, β - CH_2), 2,6–2,4 (m, 2H, γ - CH_2), 3,76 (s, 3H, OCH₃), 4,3 (m, 1H, α -CH), 6,82 és 7,42 (széles d, 2H mindkettő, aromás protonok).

BOC-Dpo

10 mmól arginin-hidrogén-klorid és 1,72 g nátrium-hidrogén-karbonát 17 ml H_2O -zel készült oldatából, 28,6 ml acetil-acetonból és 28,6 ml EtOH-ból 7,5 mmól Dpo-t kapunk Tjoeng és munkatársai eljárása szerint [Chem. Ber. 108, 862 (1975)].

A terméket ezután di(terc-butyl)-dikarbonáttal 50%-os vizes dioxánban, nátrium-hidroxid jelenlétében a megfelelő BOC-származékká alakítjuk. Ez a reakció lényegében kvantitatív hozammal megy végbe.

$R_f = 0,63$ (nBuOH:HOAc: $\text{H}_2\text{O} = 4:1:2$).

NMR (CDCl_3): 1,45 (s, 9H, terc-butoxi-csoport), 1,9–1,5 (m, 4H, B, γ - CH_2), 2,33 (s, 6H, CH₃), 3,46 (m, 2H, δ - CH_2), 4,24 (m, 1H, α -CH), 6,35 (s, 1H, aromás H).

Az L- és D-forma hasonlóan reagál.

BOC-D-Et₂hArg

A cím szerinti vegyületet Nestor és Vickery eljárása szerint állítjuk elő (4 530 920 számú amerikai egyesült államokbeli szabadalmi leírás).

$R_f = 0,52$ (nBuOH:HOAc: $\text{H}_2\text{O} = 4:1:2$).

Az LHRH-antagonista decapeptideket ismert módon folyadék fázisban végzett kapcsolással, előnyösen szilárd fázisú szintézissel állítjuk elő, Beckman Model 990 peptid-szintetizátorban [Ljungqvist A. és munkatársai, Biochem. Biophys. Res. Commun. 148(2), 849–856 (1987); Folkers K. és munkatársai, Biochem. Biophys. Res. Commun. 123(3), 1221–1226 (1984)]. Szilárd hordozóként benzilhidril-amin-hidrogén-klorid gyantát (BHA-gyantát) használunk. A szintetizátor programját alprogramokra osztjuk.

1. Védőcsoport eltávolítás

1. CH_2Cl_2 (mosás kétszer, 1 vagy 2 perc);
2. 50% TFA 0,1% indolt tartalmazó CH_2Cl_2 -ban (mosás egyszer, 1 vagy 2 perc);
3. 50% TFA 0,1% indolt tartalmazó CH_2Cl_2 -ban (védőcsoport eltávolítás, 20 perc);
4. CH_2Cl_2 (mosás kétszer).

2. Semlegesítés

1. CH_2Cl_2 (mosás kétszer, 1 vagy 2 perc);
2. 10% DIEA CH_2Cl_2 -ban (mosás kétszer, 1 vagy 2 perc);
3. 10% DIEA CH_2Cl_2 -ban (semlegesítés, 5 perc);
4. CH_2Cl_2 (mosás kétszer, 1 vagy 2 perc).

3. Kapcsolás DCC-dal

1. CH_2Cl_2 (mosás kétszer, 1 vagy 2 perc);
2. aminosav CH_2Cl_2 -ban oldva (bemérés, szállítás és keverés, 5 perc);
3. 10% DCC CH_2Cl_2 -ban (bemérés és keverés, 180 perc);

4. CH_2Cl_2 (mosás kétszer, 1 vagy 2 perc).
4. Kapcsolás aktív észterrel: nem használjuk.
5. Befejező mosás

1. CH_2Cl_2 (mosás kétszer, 1 vagy 2 perc);
2. i-PrOH (mosás háromszor, 1 vagy 2 perc);
3. DMF (mosás háromszor, 1 vagy 2 perc);
4. CH_2Cl_2 (mosás háromszor, 1 vagy 2 perc).
6. Mosás a TFA-s kezelés után

1. CH_2Cl_2 (mosás kétszer, 1 vagy 2 perc);
2. i-PrOH (mosás kétszer, 1 vagy 2 perc);
3. CH_2Cl_2 (mosás háromszor, 1 vagy 2 perc).

7. Acetilézés

1. CH_2Cl_2 (mosás kétszer, 1 vagy 2 perc);
2. 25% Ac_2O és Py CH_2Cl_2 -ban (mosás egyszer, 1 vagy 2 perc);
3. 25% Ac_2O és Py CH_2Cl_2 -ban (acetilezés, 20 perc);
4. CH_2Cl_2 (mosás kétszer, 1 vagy 2 perc).

Az első aminosavat a 2–3–5 program-sorozattal kapcsoljuk a gyantához. A gyantát a reakcióedénybe való bevitel előtt választótölcsérben 1 g gyantára számítva 25 ml CH_2Cl_2 -nal mossuk, a finom részecskék eltávolítása céljából. Az egyes kapcsolásokban a BOC-aminosavat a gyanta nitrogéntartalmára számítva 3–4-szeres feleslegben használjuk. A fenti módon eljárva általában a kapcsolási reakció teljesen végbemegy. Ha pozitív ninhidrin-színreakciót észlelünk, második kapcsolást is végzünk (3–5 program-sorozat). Ezután a gyantát acetilezzük (7–5 program-sorozat).

A következő aminosavat az 1-6-2-3-5 program-sorozattal kapcsoljuk. A DCC-vel végzett kapcsolásra mindegyik aminosavat CH_2Cl_2 -ban oldjuk. Az aminosav-maradék 1-es helyzetben való acetilezésére az 1-6-2-7-5 program-sorozatot használjuk. A mosásra használt oldószerek és a kémiai reakciókban használt reaktánsok térfogata mintegy 10 ml/g gyanta.

Az összes aminosav kapcsolása után a peptid-gyantát egy éjszakán keresztül vákuumban szárítjuk. A gyantát ezután 10–20% desztillált anizolt vagy p-krezolt tartalmazó, kétszer desztillált cseppfolyós hidrogén-fluoriddal kezeljük, 0 °C-on 1 órán keresztül, 10 ml/g gyanta mennyiségben. A HF-ot ezután csökkentett nyomáson ledesztilláljuk, és a maradékot olajszivattyúval létesített vákuumban egy éjszakán keresztül szárítjuk. Az elegyet ezután néhányszor Et_2O -rel (25 ml/g gyanta), majd 30%-os, 50%-os, 10%-os vizes HOAc-val, és egyszer desztillált ionmentes vízzel extraháljuk. Az egyesített vizes oldatokat liofilizálva kapjuk a nyers peptidet.

A peptidek többségét szilikagélen, kromatográfiás eljárással tisztítjuk (1×60 cm-es oszlopon), oldószerszisztemként $\text{nBuOH}:\text{HOAc}:\text{H}_2\text{O} = 4:1:2$ vagy $4:1:5$ elegy felső fázisát vagy $\text{nBuOAc}:\text{nBuOH}:\text{HOAc}:\text{H}_2\text{O} = 2:8:2:3$ elegyet használva, majd Sephadex G 25-ön géliszűrést végzünk, eluensként 6%-os HOAc-at használva. Ha a peptidek tisztasága a fenti műveletek elvégzése után nem kielégítő, a további tisztítást félpreparatív HPLC eljárással végezzük, 660 oldószerszisztemmel ellátott Waters folyadékkromatográfot használva. 1,2×25 cm-es μ -Bondapak C_{18} oszlopot használunk, és A oldószerszisztemként 0,1 mól/l NH_4OAc -ot (pH 5,0), B oldószerszisztemként 20% A+80%

CH_3CN -t használunk. Az eluálást a B növekvő mennyiségével kialakított gradienssel 15–25 perc alatt végzzük.

Másik tisztítási eljárásaként Sephadex G-25-ön géliszűrést végzünk, 6%-os HOAc-val, majd Sephadex LH 20-on (2,5×100 cm) $\text{H}_2\text{O}:\text{nBuOH}:\text{HOAc}:\text{MeOH} = 90:10:10:8$ oldószerszisztemmel kromatografálunk. Amennyiben szükséges, az utóbbi műveletet 1–2-szer megismételjük.

- 10 A peptidek tisztaságát szilikagél-lemezen (Merck) vékonyréteg-kromatográfiás eljárással határoztuk meg, legalább négy különböző oldószerszisztem alkalmazva, amelyeket az IA táblázatban ismertetünk. A foltokat klór/o-tolidin reagenssel hívtuk elő. Az IA táblázatban az analitikai HPLC körülményeit és eredményeit is ismertetjük. A berendezés a fent ismertetett volt, azzal az eltéréssel, hogy analitikai μ -Bondapak C_{18} oszlopot (3,9 mm×30 cm) használtunk.

- 20 Az aminosav-analízist Beckman model 118 CL aminosav-analizátorral végeztük. A mintegy 0,5 mg tömegű mintákat 6 n HCl-val leforrasztott üvegcsőben hidrolizáltuk 110 °C-on 24 órán keresztül. A maradékot ezután bepároltuk, és citrát pufferben (pH 2,2) oldottuk, és így vittük az analizátorba. Az eredményeket az IB táblázat tartalmazza.

- 25 A találmány szerinti eljárással előállított peptidek biológiai aktivitásának vizsgálatát az alábbiak szerint végeztük.

- 30 Az ovulációgátló aktivitást (AOA) patkányban határoztuk meg Humphries és munkatársai módszere szerint [J. Med. Chem. 21(1), 120–123 (1978)].

- A csalánhólyag vizsgálatot altatott patkányokon végeztük, amelyeknek intradermálisan 10 μg peptidet injektáltunk 100 μl sóoldatban, mértük az ideálisan kapott keringési csalán-reakciót és kiszámítottuk a területet.

- 35 Az in vitro hisztamin-felszabadulás vizsgálatát Karten és munkatársai leírása szerint hajtottuk végre [LHRH and its Analogs: Contraceptive and Therapeutic Applications 2. rész, szerk.: Vickery B. H. és Nestor J. J. jr., MTP Press Ltd., Lancaster, England, 179–190. oldal (1978)].

- 40 A biológiai vizsgálatok eredményeit az I. táblázatban, valamint a III–XII. táblázatokban ismertetjük.

- 45 Az I. táblázatban ismertetett peptidek közül 11 peptid rendelkezik mintegy 90%, vagy annál nagyobb AOA aktivitással 1 μg dózisban a fenti vizsgálatban. A hisztamin-felszabadító hatás szempontjából patkány hízósejt-vizsgálatnak alávetett peptidek közül 10 peptid ED_{50} értéke 300 vagy annál nagyobb, szemben a standard vegyületként használt [N-Ac-D-2-Nal¹,D-4-F-Phe²,D-Trp³,D-Arg⁶]-LHRH-val kapott 0,17 értékkel. 8 további analóg ED_{50} értéke 86 és 288 közötti, ami azt jelenti, hogy nem szabadítanak fel több hisztamint, mint a klinikai gyakorlatban használt „szuperagonisták”.

- 55 A patkány hízósejt-vizsgálattal tesztelt I. táblázatbeli peptidek közül 7 [szám szerint a 4., 23., 24., 43. (antid), 44., 53. és 55. vegyület] 1 μg dózisban 90% vagy annál nagyobb AOA aktivitást mutatott, és ugyanakkor ED_{50} értéke $\geq 86 \mu\text{g}/\mu\text{l}$ volt. Ezen vegyületek

között van a leghatásosabb analóg, az 53. vegyület, amelynek AOA értéke 100% 0,5 µg dózisban, és 40% 0,25 µg dózisban. Ezen analóg ED₅₀ értéke 93±28 µg/ml. Kimutattuk tehát, hogy a nagy AOA aktivitás mellett az alacsony hisztamin felszabadítás megtalálható a találmány szerinti eljárással előállított analógokban.

A fenti hét peptid közös szerkezeti jellemzői az alábbiak: (1) 6-os helyzetben D-Lys-maradékot tartalmaznak, amely enyhén bázikus nikotinsavval vagy annak analógjaival, például pikolinsavval vagy 6-metil-nikotinsavval van acilezve. (2) 5-ös helyzetben a megfelelő acilezett L-Lys-maradékot vagy természetes Tyr-t tartalmaznak. (3) 8-as helyzetben alkilezett ILys-t vagy IOrn-t tartalmaznak. (4) Szekvenciájukból hiányzik az Arg.

Az Arg-nek a hisztamin felszabadulásra kifejtett hatására két vegyületet, a 43. és a 4. vegyületet említjük példaként. A 43. vegyület (antid) szekvenciája N-Ac-D-2-Nal¹-D-pClPhe-D-3-Pal³-Ser⁴-NicLys⁵-D-NicLys⁶-Leu⁷-ILys⁸-Pro⁹-D-Ala¹⁰-NH₂. ED₅₀ értéke >300. Az összehasonlításra használt vegyület szekvenciája azonos, azzal az eltéréssel, hogy NicLys⁵ helyett Arg⁵-öt tartalmaz. Ennek következtében ED₅₀ értéke 4,3±0,52-re csökkent. A 4. vegyület szekvenciája azonos a 43. vegyületével, azzal az eltéréssel, hogy 5-ös helyzetben Tyr-t tartalmaz. ED₅₀ értéke 133±22. Az összehasonlításra használt vegyületben ILys⁸ helyett Arg⁸ van a szekvenciában, amelynek következtében az ED₅₀ érték 39,2±7-re csökkent. Az Arg maradék jelenléte tehát 5-ös vagy 8-as helyzetben fokozott hisztamin-felszabadulást okoz, míg a találmány szerinti peptidok – amelyekből az Arg hiányzik – csak elhanyagolható mennyiségű hisztamint szabadítanak fel.

8-as helyzetben az alkilezett ILys- és IOrn-maradékok előnyösebbek, mint a megfelelő Lys- és Orn-maradékok mind az AOA, mind a hisztamin felszabadító aktivitás szempontjából (3. és 4., illetve 6. és 7. vegyületek). Az, hogy az ILys⁸ vagy az IOrn⁸ előnyösebb-e, úgy tűnik, hogy a szekvenciától függ.

A hatás időtartamának meghatározására a vizsgálandó antagonistá vegyületet sc. vagy orálisan adagoltuk 26 napos nőtény patkányoknak a (D-Qal⁶)-LHRH agonista vegyület beadása előtt meghatározott idővel. Ezután az agonista beadása után 2 órával, RIA módszerrel meghatároztuk a patkányok szérumban a luteinizáló hormon (LH) és a follikulusz-stimuláló hormon (FSH) koncentrációját. Az orális adagolást gyomorszonda segítségével végeztük.

A IV. táblázatban ismertetjük az acilezett amino-ciklohexil-alanin-maradékot tartalmazó analógok AOA és hisztamin-felszabadító hatását. A NicLys⁵,D-NACAla⁶-analógok esetén (IV-1 és IV-2 vegyület) a cisz-D-NACAla⁶-ot tartalmazó IV-2 vegyület valamivel aktívabb, 1 µg-ban 100% az AOA, 70% AOA-val szemben.

A PicLys⁵, transz- és cisz-PACAla⁶-analógok (IV-3 és IV-4 vegyület) azonos hatásúak, 0,5 µg-ban az AOA 50%, illetve 54%.

Már korábban is megállapították [Ljugqvist és munkatársai, Biochem. Biophys. Res. Commun. 148(2), 849–856 (1987)], hogy a szekvenciától függ,

vajon az ILys vagy az IOrn a jobb szubsztituens a 8-as helyzetben. A fenti megállapítás további vizsgálatára előállítottuk a legelőnyösebb peptidnek megfelelő IOrn⁸-analógokat, és megvizsgáltuk ezeket. Az V. táblázat eredményei alapján az ILys⁸ és IOrn⁸ analógok közelítőleg egyenértékűek.

A VI-19 analógot (V. táblázat) in vitro vizsgáltuk hisztamin-felszabadító hatás szempontjából. ED₅₀ értéke 42±3,1, azaz a hisztamin felszabadítás az egy CH₂ egységgel hosszabb maradékot tartalmazó analógnak kétszerese. A csalánhólyag-reakció nem változik jelentősen.

A VI. táblázat tartalmazza az antid (43. vegyület) és a [Tyr⁵]-antid (4. vegyület) hatásának időtartamát. Ha az antidot 50 ng [D-Qal⁶]-LHRH [Qal jelentése 3-(3-kinolil)-alanin], mint „szuperagonista” beadása előtt 44 órával injektáljuk 3, 10, illetve 30 µg dózisban, a két magasabb dózis esetén jelentős mértékben csökken a szérum LH-koncentrációja. Az LH 113±11 ng/µl-ről 46±12, illetve 5±0,7 ng/µl-re csökken. A szérum FSH koncentrációja is csökken, legjelentősebben mintegy 300-ról mintegy 300 ng/µl-re 30 mg dózisban.

A [Tyr⁵]-antidot 24 órával az agonista beadása előtt injektáljuk. A [Tyr⁵]-antid nagy aktivitást mutat, az LH-szintet 3 µg dózisban 19±4 ng/µl-re, 10 µg dózisban 3±0,4 ng/µl-re és 30 µg dózisban 0,3±0,03 ng/µl-re csökkenti.

A VII. táblázatban ismertetjük az antid hatásának időtartamát, orális adagolás esetén. 100 µg, illetve 300 µg antid beadolása után 48 órával az 5 ng [D-Qal⁶]-LHRH sc. adagolására felszabaduló LH-koncentráció a szérumban jelentősen csökken. Az LH-koncentráció 21±3 ng/µl-ről 4±0,8 ng/µl-re, illetve 8±2 ng/µl-re csökken. Szinte azonos eredményeket kapunk a –24 órás kísérletben is (9±2 ng/µl és 6±0,3 ng/µl). Az antid láthatólag igen ellenálló a lebontó enzimekkel szemben. Ha az antidot 2 órával adjuk az agonista beadolása előtt, az LH-szint igen jelentős csökkenését észleljük. 30 µg dózisban az LH-szint jelentősen, 6±1 ng/µl-re csökken. 100 és 300 µg dózis esetén az LH-szint 1±0,3 ng/µl, illetve 0,4±0,4 ng/µl, vagyis igen alacsony. Ha 10 ng agonistát használunk, minőségileg nagyon hasonló eredményeket kapunk.

A VIII. táblázat adatai szerint nincs jelentős különbség akkor, ha az antidot vízben vagy kukoricaolajban adagoljuk.

Az antid ovulációgátló hatását orális adagolás esetén is megvizsgáltuk (IX. táblázat). Az AOA értékek 300, 600 és 1200 µg dózisban 18, 73, illetve 100%. A peteérésen átesett patkány/összes patkány arányban kifejezve, a számok: 9/11, 3/11, illetve 0/11.

A X. táblázatban hasonlítjuk össze az antid és a 36. vegyület orális aktivitását.

15 ng [D-Qal⁶]-LHRH sc. beadolása után az LH-szint 91±4,6 ng/µl-re emelkedik. Az antid 30, 100 és 300 µg orális dózisban az LH-szintet 75±3, 20±4, illetve 5±1 ng/µl-re csökkenti. A 36. vegyület aktivitása azonos az antidéval. Ez nem meglepő, mivel a két analóg között az egyetlen szerkezeti különbség az, hogy pirazin-maradék van piridin-maradék helyett a D-Lys⁶ maradék N^ε-acil-csoportjában.

A X. és XI. táblázatban láthatók olyan eredmények is az antidra vonatkozóan, amikor 50 ng agonistát adagolunk. Az így kapott eredményeket a 15 ng agonista adagolásakor kapott eredményekkel összehasonlítva a kompetitív antagonizmusra jellemző dózis-hatás összefüggést kapunk. 15 ng agonista alkalmazása esetén 100 és 300 µg antid 115±15 ng/µl-ről 20±4, illetve 5±1 ng/µl-re csökkenti az LH-szintet, míg 50 ng agonista adagolása esetén 300 és 900 µg antid csökkenti az LH-t azonos szintre (19±3, illetve 5,3±1,2 ng/µl-re).

A XII. táblázatban közöljük az antid biológiai hatását diszpergált hipofízis-sejttenyésztet rendszerben.

Véleményünk szerint az antid és más találmány szerinti eljárással előállított LHRH-antagonisták reverzibilis gyógyszeres kasztráció előidézésére használhatók, amely például különféle betegségek – így méhnyálkahártyagyulladás, méh-fibrómák és hormon-dependens daganatok (proszтата-, mellrák) – kezelésében lehet hasznos. Bizonyos betegek esetén a gonádok funkciójának átmeneti gátlása antiddal – miközben a beteg kemoterápiás vagy besugárzásos kezelést kap – kivédheti, vagy csökkentheti ezen szereknek gonádokra kifejtett káros hatását, így segít a későbbi fogamzási képesség megőrzésében. Gyógyászati példaként említhetjük a csontvelő-transzplantálás, méhnyak-karcinóma, metasztatizáló pajzsmirigy- és méh-karcinóma, esetleges kóros pajzsmirigy-túltengés során, a szétszórt erythemás bőrtuberkulózis kemoterápiás kezelése alatti, és szerv-átültetések bizonyos szakaszaiban folytatott besugárzást. A találmány szerinti antagonisták, például antid további gyógyászati alkalmazási lehetőségét jelenti a fogamzásgátlás, mind hím-, mind nőnemű egyedekben.

Az antid és a találmány szerinti decapeptidek még különlegesebb lehetséges felhasználása lehet bizonyos kóros állapotok esetén a szexuális viselkedés módosítása. Ilyen kóros állapot alatt értünk pl. egy AIDS-es beteget, vagy a börtönökben a szexuális támadók agresszív viselkedését, vagy a javítóintézet-re ítélt agresszív kiskorúakat. Az is lehetséges, hogy a gonadotrop-hormonok magas szérumszintje a zsírszövetek működésében zavart okoz, és így hízást eredményez, vagy a csontszövetekben szerepet játszik a csonttriturálás felgyorsulásában klimaxon túljutott nőkben. Ezek a működési rendellenességek antid alkalmazásával valószínűleg csökkenthetők, mivel ez-

zel csökkenthető a magas LH- és/vagy FSH-szint a klimax utáni szakaszban lévő nők szérumszintjében.

A 6-os és/vagy 8-as helyzetben töltéssel rendelkező aminosav-helyettesítéseket tartalmazó szelektív LHRH-antagonisták valószínűleg a hízósejtekre kifejtett közvetlen hatással serkentik a hisztamin-fel szabadulást, míg a más LHRH-antagonisták – az antidhoz hasonlóan – nem. Ezért feltételezhető, hogy a bőrön lévő sebekre helyileg alkalmazott hízósejt-stimuláló antagonisták felgyorsítják a sebgyógyulást, míg a hisztamint nem stimuláló antagonisták gátolhatják az emberben előforduló allergiás reakciók nemelyikét.

Kisnövésű gyermekek pubertásának késleltetése antid adagolásával, GH és GH-fel szabadító peptidek egyidejű adagolásával vagy anélkül, a testmagasság növelésének különleges módszere lehet. Az ivarmirigy-hormonok jelenléte összeforrasztja a hosszú csontok epifizisét és megakadályozza további növekedésüket. Ez a lehetőség tovább bővíti a GH és GH-fel szabadító peptidek alkalmazását.

A találmány szerinti LHRH-antagonista vegyületek adagolása a gonádok működését gyorsan, 24 órán belül gátolja. LHRH-szuperagonisták folyamatos adagolásával a gonádok működése szintén gátolható, de ez csak akkor következik be, ha a gonádokat néhány napon keresztül túlműködésre serkentettük. Az ilyen szuperagonista vegyületek adagolása számos nemkívánatos klinikai problémát okozhat, prosztata-rákban, méhnyálkahártya-gyulladásban, méh-fibrómában szenvedő betegek, valamint a szexuális támadók, és olyan betegek esetén, akiket átmenetileg gyógyszeresen kasztráltak. Ezért feltételezzük, hogy az LHRH-antagonisták jobban megfelelnek a reverzibilis gyógyszeres kasztrálás céljára, mint az LHRH-agonisták. Diagnosztikai szinten, például az adrenális eredetű szteroid-szekréció megkülönböztetésére az ovárium-eredetűtől, vagy a kalcium-ürítés gonádok szteroid-hormonoktól való függése mértékének meghatározására, az LHRH-antagonisták hatására gyorsan fellépő gonád-funkció gátlás miatt ezek a vegyületek egyértelműen sokkal előnyösebbek, mint az LHRH-agonisták. Véleményünk szerint minden olyan helyzetben, amikor LHRH-szuperagonistát használnak a gonád-funkció gátlására, előnyösebb egy találmány szerinti LHRH-antagonistát használni.

I. táblázat

$[(1)^1\text{-D-pCIPhe}^2\text{-D-3-Pal}^3\text{-Ser}^4\text{-(})^5\text{-(})^6\text{-Leu}^7\text{-(})^8\text{-Pro}^9\text{-D-Ala}^{10}\text{]-NH}_2$ képletű LHRH-antagonisták szerkezete és biológiai hatása

Sorszám	IBR szám	Vegyület				AOA %/μg			Csalánhó- lyag területe mm ² /10 μg	ED ₅₀ μg/ml
		() ¹	() ⁵	() ⁶	() ⁸	0,5	1,0	2,0		
6-os helyzetben D-NicLys-t tartalmazó analógok										
3.	24 825	N-Ac-D-2-Nal	Tyr	D-NicLys	Lys	–	27	–	119,5±3,2	
4.	24 315	N-Ac-D-2-Nal	Tyr	D-NicLys	ILys	45	89	100	79,0±9,2	133±22

Sorszám	IBR szám	Vegyület				AOA %/µg			Csalánhó- lyag területe mm ² /10 µg	ED ₅₀ µg/ml
		O ¹	O ⁵	O ⁶	O ⁸	0,5	1,0	2,0		
6-os helyzetben D-Niclys-t tartalmazó analógok										
5.	24 443*	N-Ac-D-2-Nal	Tyr	D-NicLys	Me ₂ Lys	–	90	100	122,7	18,4
6.	24 748	N-Ac-D-2-Nal	Tyr	D-NicLys	Orn	–	–	67	129,4±3,3	19,3
7.	24 756	N-Ac-D-2-Nal	Tyr	D-NicLys	IOrn	22	71	–	92,2±2,9	>300
12.	25 506	N-Ac-D-2-Nal	Dpo	D-NicLys	ILys	56	–	–	110±3	
13.	24 543	N-Ac-D-2-Nal	ILys	D-NicLys	ILys	–	89	–	132,7±0	20,3
16.	25 383	N-Ac-D-2-Nal	3-Pal	D-NicLys	ILys	–	75	–	132,8±6,0	86±28*
17.	25 384	N-Ac-D-2-Nal	3-Pal	D-NicLys	IOrn	–	100	–	139,9±7,2	55±13*
18.	25 144	N-Ac-D-2-Nal	Ile	D-NicLys	ILys	–	82	–	147,7±7,1	324±20
19.	25 145	N-Ac-D-2-Nal	Ile	D-NicLys	IOrn	–	55	–	116,5±8,7	151±75
20.	25 333	N-Ac-D-2-Nal	NicOrn	D-NicLys	IOrn	–	73	–	113,6±10,9	57±13
21.	25 509	N-Ac-D-2-Nal	DMGLys	D-NicLys	ILys	20	–	–	110±3	34±1,1
22.	25 510	N-Ac-D-2-Nal	PicLys	D-NicLys	ILys	64	100	–	116±3,3	39±1,0
23.	25 337	N-Ac-D-pClPhe	Tyr	D-NicLys	ILys	–	100	–	139,9±7,2	198±33*
24.	25 338	N-Ac-D-Cl ₂ Phe	Tyr	D-NicLys	ILys	0	89	–	103,9±5,3	311±65*
5-ös helyzetben NicLys-t tartalmazó analógok										
28.	25 334	N-Ac-D-2-Nal	NicLys	D-Dpo	ILys	40	100	–	165,2±6,7	6,7±2,2
29.	25 332	N-Ac-D-2-Nal	NicLys	D-BzLys	ILys	–	50	–	119,6±6,7	>300
30.	25 507	N-Ac-D-2-Nal	NicLys	D-Et ₂ hArg	ILys	–	67	–	123±5,8	
31.	25 589	N-Ac-D-2-Nal	NicLys	D-PicLys	ILys	36	–	–	120±7	60±1,4
32.	25 588	N-Ac-D-2-Nal	NicLys	D-AnGlu	ILys	–	67	–	113±7	>300
33.	25 647	N-Ac-D-2-Nal	NicLys	t-D-NA-CAla	ILys	–	70	–	119,5±3,2	
34.	25 648	N-Ac-D-2-Nal	NicLys	c-D-NA-CAla	ILys	–	100	–	113,6±10,9	37±1,1
35.	25 591	N-Ac-D-2-Nal	NicLys	D-Me ₂ Lys	ILys	–	82	–	111±2	262±23

Sorszám	IBR szám	Vegyület				AOA %/µg			Csalánhó- lyag területe mm ² /10 µg	ED ₅₀ µg/ml		
		0 ¹	0 ⁵	0 ⁶	0 ⁸	0,5	1,0	2,0				
5-ös helyzetben NicLys-t tartalmazó analógok												
36.	25 649	N-Ac-D-2-Nal	NicLys	D-PzcLys	ILys	78	92	–	122,2±5,1			
8-as helyzetben NicLys-t tartalmazó analógok												
39.	24 824	N-Ac-D-2-Nal	Tyr	D-ILys	NicLys	–	–	100	122,8±5,8			
5-ös, 6-os vagy 8-as, 6-os helyzetben NicLys-t és D-NicLys-t tartalmazó analógok												
42.	25 143	N-Ac-D-2-Nal	NicLys	D-NicLys	Dpo	–	18	–	113,6±11,1	<300		
43.	24 542	N-Ac-D-2-Nal	NicLys	D-NicLys	ILys	36	100	100	132,7±0	300		
44.	24 933	N-Ac-D-2-Nal	NicLys	D-NicLys	IOm	88	100	–	136,0±3,4	206±64		
45.	25 078	N-Ac-D-2-Nal	NicLys	D-NicLys	CypLys	–	64	–	147,0±7,1	171±49		
46.	24 540	N-Ac-D-2-Nal	Tyr	D-NicLys	NicLys	–	0	–	82,6±2,8	300		
47.	24 745	N-Ac-D-2-Nal	His	D-NicLys	NicLys	–	–	18	136,3±6,8			
48.	24 746	N-Ac-D-2-Nal	ILys	D-NicLys	NicLys	–	30	–	132,8±5,9			
Sor- szám	IBR szám	Vegyület				AOA %/µg					Csalánhó- lyag területe mm ² /10 µg	ED ₅₀ µg/ml
		0 ¹	0 ⁵	0 ⁶	0 ⁸	0,25	0,5	1,0	2,0	10,0		
50.	24 596	N-Ac-D-2-Nal	NicLys	D-NicLys	NicLys	–	–	0	–	–	122,8±5,7	
51.	24 934	N-Ac-D-2-Nal	NicLys	NicLys	ILys	–	–	–	–	8	123±5,9	>300
52.	25 146	N-Ac-D-2-Nal	INicLys	D-INicLys	ILys	–	63	91	–	–	140,3±13,9	15±8,2
53.	25 147	N-Ac-D-2-Nal	PicLys	D-PicLys	ILys	40	100	90	–	–	123,0±0	93±28
55.	25 386	N-Ac-D-2-Nal	MNicLys	D-MNicLys	ILys	–	56	100	–	–	126,1±6,7	>300*
56.	25 508	N-Ac-D-2-Nal	DMGLys	D-BzLys	ILys	–	–	100	–	–	136,6±6,7	24±0,3
57.	25 560	N-Ac-D-2-Nal	PzcLys	D-PzcLys	ILys	–	17	–	–	–	110,2±8,1	288±30

* ebben a tesztorsorozatban a standard vegyület ED₅₀ értéke 0,46, a szokásos 0,1–0,2 helyett

t = transz

c = cisz.

IA táblázat
LHRH-antagonisták kromatográfiás adatai

Vegyület száma	Lineáris gradi- ens CH ₃ CN % válto- zása	HPLC retenci- ós idő (perc)	TLC									
			Rf ₁	Rf ₂	Rf ₃	Rf ₄	Rf ₅	Rf ₆	Rf ₇	Rf ₈	Rf ₉	Rf ₁₀
3.	24–80	7,3	–	0,16	0,38	–	–	–	0,82	0,67	0,05	–
4.	16–64	10,4	–	0,16	0,36	–	–	–	0,73	0,67	0,05	–
5.	16–64	10,1	–	0,10	0,31	–	–	–	0,63	0,49	0,09	–
6.	24–80	7,0	–	0,25	0,42	0,30	–	–	0,76	0,75	0,05	–

Vegyület száma	Lineáris gradiens CH ₃ CN % változása	HPLC retenció idő (perc)	TLC									
			R _{f1}	R _{f2}	R _{f3}	R _{f4}	R _{f5}	R _{f6}	R _{f7}	R _{f8}	R _{f9}	R _{f10}
7.	24-80	7,6	–	0,23	0,42	0,27	–	–	0,77	0,74	–	–
12.	24-80	7,2	0,45	–	0,38	–	–	0,76	0,72	–	–	–
13.	24-80	6,0	0,46	0,09	0,41	0,33	–	–	0,63	–	–	0,59
16.	24-80	7,2	0,45	–	0,41	–	–	0,75	0,69	–	–	0,54
17.	24-80	7,2	0,46	–	0,38	–	–	0,76	0,71	–	–	0,56
18.	28-80	7,7	0,51	–	0,37	–	–	0,77	0,71	0,63	–	–
19.	28-80	7,5	0,51	–	0,37	–	–	0,78	0,72	0,63	–	–
20.	24-72	7,2	0,48	–	0,33	–	–	0,72	0,66	0,59	–	–
21.	16-64	9,1	–	–	0,28	–	0,71	–	–	0,07	–	0,17
22.	16-64	11,2	–	–	0,34	–	0,87	–	0,65	–	–	0,55
23.	40-80	10,7	–	0,23	0,43	–	–	–	0,79	0,71	–	–
24.	40-80	11,2	–	0,24	0,39	–	–	–	0,76	0,73	–	–
28.	24-80	7,0	0,47	–	0,39	–	–	0,77	0,73	–	–	–
29.	24-72	8,5	0,51	–	0,36	–	–	0,78	0,72	0,66	–	–
30.	24-80	6,9	0,44	–	0,38	–	–	0,69	0,67	–	–	–
31.	16-64	11,0	–	–	0,32	–	0,92	–	0,68	–	–	0,55
32.	16-64	11,3	–	–	0,35	–	0,93	–	0,71	–	–	0,56
33.	–	–	–	–	0,38	–	0,86	–	0,67	–	–	0,47
34.	–	–	–	–	0,38	–	0,87	–	0,65	–	–	0,51
35.	–	–	–	–	0,39	–	–	0,79	0,78	–	–	0,64
36.	–	–	0,50	–	0,41	–	–	0,78	0,78	–	–	0,65
39.	24-80	8,0	–	0,17	0,38	–	–	–	0,87	0,68	0,08	–
43.	24-80	7,3	0,49	0,14	0,43	0,36	–	–	0,71	0,67	–	–
44.	24-80	7,5	–	0,11	0,35	–	–	–	0,85	0,64	0,04	–
45.	24-72	7,8	0,52	–	0,39	–	–	0,78	0,73	0,63	–	–
46.	24-80	7,7	0,53	0,02	0,51	0,47	–	–	0,83	–	–	–
47.	24-80	7,0	0,53	0,14	0,45	0,39	–	–	0,73	0,69	–	–
48.	24-80	7,0	0,53	0,16	0,46	0,36	–	–	0,76	0,68	–	–
50.	16-64	10,9	–	0,17	0,38	–	–	–	0,72	0,66	0,17	–
51.	24-80	7,3	–	0,10	0,36	–	–	–	0,85	0,64	0,04	–
52.	24-72	7,0	0,47	–	0,36	–	–	0,70	0,65	0,60	–	–
53.	24-72	8,9	0,50	–	0,32	–	–	0,78	0,73	0,62	–	–
55.	16-64	7,9	–	–	0,31	–	0,86	–	0,65	–	–	0,55
56.	16-64	10,3	–	–	0,29	–	0,75	–	–	0,16	–	0,35
57.	–	–	0,46	–	0,39	–	–	0,77	0,73	–	–	0,61

HPLC oldószer-rendszerek

A puffer = 0,01 mol/l KH₂PO₄, pH = 3B puffer = 30% A CH₃CN-benAz eluálást a CH₃CN % lineáris gradiens szerinti változtatásával végeztük, 15 perc alatt, 2 ml/perc átfolyási sebességgel

TLC oldószer-rendszerek

R_{f1} = nBuOH:piridin:HOAc:H₂O = 40:1:10:20R_{f2} = nBuOAc:nBuOH:HOAc:H₂O = 2:8:2:3R_{f3} = nBuOH:HOAc:H₂O = 4:1:2R_{f4} = nBuOH:HOAc:H₂O = 4:1:5 (felső)R_{f5} = EtOAc:piridin:HOAc:H₂O = 5:5:1:3

Rf₆ = nBuOH:piridin:HOAc:H₂O = 5:3:1:4

Rf₇ = nBuOH:piridin:HOAc:H₂O = 4:1:1:2

Rf₈ = EtOAc:nBuOH:HOAc:H₂O = 1:1:1:1

Rf₉ = EtOAc:piridin:HOAc:H₂O = 20:5:3:3

Rf₁₀ = nBuOH:piridin:HOAc:H₂O = 30:10:3:12

IB táblázat
Az LHRH-antagonisták aminosav-analízis adatai

Vegyület száma	Aminosav													
	Ser	Tyr	Arg	Leu	Pro	Ala	Lys	His	Ile	2-Nal	pClPhe	3-Pal	ILys	Egyéb
3.	0,77	0,96	–	0,98	1,08	0,90	2,22	–	–	+	+	1,08	–	–
4.	0,83	1,20	–	1,01	0,92	0,92	1,07	–	–	+	+	1,06	+	–
5.	0,89	0,98	–	1,01	0,95	0,97	1,22	–	–	+	+	0,98	–	Me ₂ Lys (+)
6.	0,94	0,78	–	1,07	0,98	1,14	+	–	–	+	+	1,08	–	Orn(+)
7.	0,88	0,98	–	1,03	1,00	1,01	1,04	–	–	+	+	1,06	–	IOm (+)
12.	0,86	–	–	1,00	1,13	1,01	+	–	–	+	+	+	+	Dpo(+)
13.	0,94	–	–	1,04	1,00	0,94	1,04	–	–	+	+	1,05	+	–
16.	0,80	–	–	1,02	0,99	1,19	1,03	–	–	+	+	1,98	+	–
17.	0,84	–	–	1,05	1,02	1,03	1,04	–	–	+	+	2,02	–	Orn (+)
18.	0,95	–	–	1,05	1,04	1,07	0,97	–	0,92	+	+	0,99	+	–
19.	0,97	–	–	1,10	1,05	1,09	0,93	–	0,89	+	+	0,97	–	IOm(+)
20.	0,91	–	–	0,97	0,90	0,96	1,33	–	–	+	+	0,93	–	Orn(+), IOm(+)
21.	1,01	–	–	0,99	0,96	1,00	2,01	–	–	+	+	1,02	+	–
22.	0,87	–	–	0,98	0,96	0,96	2,15	–	–	+	+	1,07	+	–
23.	1,01	0,89	–	1,04	1,02	1,08	0,97	–	–	–	+	1,00	+	–
24.	0,99	0,91	–	1,04	1,01	1,04	0,99	–	–	–	+	1,02	+	3,4-Cl ₂ Phe
28.	1,04	–	–	1,12	1,12	1,12	0,63	–	–	+	+	0,97	+	Dpo(+)
29.	0,93	–	–	1,03	1,04	1,03	1,97	–	–	+	+	1,00	+	–
30.	0,99	–	–	1,02	1,00	1,03	1,00	–	–	+	+	0,96	+	Et ₂ hArg (+)
31.	0,94	–	–	1,02	1,04	1,02	1,94	–	–	+	+	1,03	+	–
32.	0,93	–	–	1,01	0,99	1,00	1,01	–	–	+	+	1,06	+	Glu 1,00
33.	0,91	–	–	1,02	1,03	0,98	1,04	–	–	+	+	1,04	+	ACA-la(+)
34.	0,93	–	–	0,98	1,02	0,99	1,01	–	–	+	+	1,07	+	ACA-la(+)
35.	0,94	–	–	1,00	1,00	0,98	+	–	–	+	+	1,08	+	Me ₂ Lys (+)
36.	0,86	–	–	1,00	1,04	0,99	2,06	–	–	+	+	1,11	+	–
39.	0,82	0,95	–	1,02	1,13	0,93	1,04	–	–	+	–	1,11	–	–
42.	0,90	–	–	1,03	1,07	1,00	2,03	–	–	+	–	–	–	Dpo(+)
43.	0,91	–	–	1,03	1,05	0,99	2,02	–	–	+	+	1,01	+	–
44.	0,92	–	–	1,02	1,05	1,01	2,03	–	–	+	+	0,96	–	IOm(+)
45.	0,82	–	–	0,99	1,04	0,97	2,04	–	–	+	+	1,10	–	CypLys (+)
46.	0,93	0,99	–	1,02	1,04	0,98	2,02	–	–	+	–	1,02	–	–

Vegyület száma	Aminosav													
	Ser	Tyr	Arg	Leu	Pro	Ala	Lys	His	Ile	2-Nal	pClPhe	3-Pal	ILys	Egyéb
47.	0,97	–	–	1,03	0,97	0,94	2,07	0,98	–	+	–	1,03	–	–
48.	0,90	–	–	1,02	1,01	1,00	2,03	–	–	+	+	1,03	+	–
50.	0,89	–	–	1,01	0,98	0,98	3,02	–	–	+	+	1,02	–	–
51.	0,91	–	–	1,03	0,99	1,01	2,06	–	–	+	+	1,01	+	–
52.	0,88	–	–	0,99	1,07	0,95	2,01	–	–	+	+	1,11	+	–
53.	0,94	–	–	0,99	0,97	1,08	1,95	–	–	+	+	1,07	+	–
55.	0,91	–	–	1,04	1,00	0,99	2,05	–	–	+	+	1,00	+	–
56.	1,01	–	–	0,98	0,96	1,02	2,01	–	–	+	+	1,00	+	–
57.	0,95	–	–	0,99	1,03	0,98	2,00	–	–	+	+	1,04	+	–

II. táblázat

Sorszám	IBR szám	Szekvencia									
		1	2	3	4	5	6	7	8	9	10
PicLys ⁵ -D-PicLys ⁶ -analógok											
58.	26 100	N-Ac-D-Cl ₂ Phe	D-pClPhe	D-3-Pal	Ser	PicLys	D-PycLys	Leu	ILys	Pro	D-Ala-NH ₂
77.	25 933	N-Ac-D-Cl ₂ Phe	D-pClPhe	D-3-Pal	Ser	PicLys	D-PicLys	Leu	IOm	Pro	D-Ala-NH ₂
D-PicLys ⁶ -analóg											
91.	26 363	N-Ac-D-2-Nal	D-pClPhe	D-3-Pal	Ser	Tyr	D-PicLys	Leu	IOm	Pro	D-Ala-NH ₂
NicLys ⁵ -analóg											
95.	25 991	N-Ac-D-2-Nal	D-pClPhe	D-3-Pal	Ser	NicLys	D-PzcLys	Leu	IOm	Pro	D-Ala-NH ₂
5-ös és 6-os helyzetben különféleképpen helyettesített analógok											
96.	25 808	N-Ac-D-2-Nal	D-pClPhe	D-3-Pal	Ser	MPicLys	D-MPicLys	Leu	ILys	Pro	D-Ala-NH ₂
97.	26 322	N-Ac-D-2-Nal	D-pClPhe	D-3-Pal	Ser	PmcLys	D-PmcLys	Leu	ILys	Pro	D-Ala-NH ₂

III. táblázat
Biológiai adatok

Sorszám	IBR szám	AOA/μg			Hólyagterület mm ² /10 μg	In vitro hisztamin felszabadítás ED ₅₀ μg/ml ±SEM
		0,25	0,5	1,0		
PicLys ⁵ -D-PicLys ⁶ -analógok						
58.	26 100	–	38	–	116,2±3,7	
77.	25 933	50	90	100	113,0±0	
D-PicLys ⁶ -analóg						
91.	26 383	0	–	–	113,2±5,5	
NicLys ⁵ -analóg						
95.	25 991	–	44	–	104,3±10,5	
5-ös és 6-os helyzetben különféleképpen helyettesített analógok						
96.	25 808	–	67	91	106,2±4,3	
97.	26 322	0	–	–	130,2±2,5	

IV. táblázat
[N-Ac-D-2-Nal¹-D-pClPhe²-D-3-Pal³-X⁵-Y⁶-ILys⁸-D-Ala¹⁰]-LHRH-analógok biológiai adatai

Szám	X	Y	AOA %/μg				In vitro hisztamin felszabadítás ED ₅₀ μg/ml ±SEM	Csalánhólyag területe mm ² /10 μg
			0,125	0,25	0,5	1,0		
IV-1.	NicLys	transz-D-NACAla	–	–	–	70		119,5±3,2
IV-2.	NicLys	cisz-D-NACAla	–	–	50	100	37±1,1	101,8±4,3
IV-3.	PicLys	transz-D-PACAla	–	–	50	–	64±5,4	101,0±3,0
IV-4.	PicLys	cisz-D-PACAla	–	–	54	–	41±5,4	123,0±5,0

V. táblázat
[N-Ac-D-2-Nal¹-D-pClPhe²-D-3-Pal³-PicLys⁵-X⁶-Y⁷-Z⁸-D-Ala¹⁰]-LHRH-analógok biológiai adatainak összehasonlítása

Szám	X	Y	Z	AOA %/μg			In vitro hisztamin felszabadítás ED ₅₀ μg/ml ±SEM	Csalánhólyag területe mm ² /10 μg
				0,25	0,5	1,0		
VI-10.*	D-PicLys	Leu	ILys	40	100	90	93±11	123±0
VI-19.			IOm	50	90	100	42±3,1	113,0±0

* Ljungqvist A. és munkatársai [Biochem. Biophys. Res. Commun. 148(2), 849–886 (1987)]

VI. táblázat
Antid és a [Tyr⁵]-antid hatásának időtartama, szubkután* adagolás esetén

Analóg	Injektálás időpontja	Dózis μg	0. óra ng sc. [D-3-Qal ⁶]-LHRH	+2 óra			
				LH ng/ml ±SEM	p érték	FSH ng/ml ±SEM	p érték
–	–	–	–	0,4±0,03	<0,001	143±10	<0,001
–	–	–	50	113±11	–	2899±387	–
Antid**	–44 óra	3	50	90±5	NS	2497±155	NS
		10	50	46±12	<0,001	1413±230	<0,01
		30	50	5±0,7	<0,001	311±34	<0,001
[TYR ⁵]-antid***	–24 óra	3	50	19±4	<0,001	719±123	<0,001
		10	50	3±0,4	<0,001	289±30	<0,001
		30	50	0,3±0,03	<0,001	147±10	<0,001

* 6 mérés átlaga ±SEM

** 43. vegyület (I. táblázat)

*** 4. vegyület (I. táblázat)

VII. táblázat
Antid hatásának időtartama orális adagolás esetén

Antagonista	Beadagolás ⁺⁺ időpontja óra	Dózis μg	0. óra Agonista ⁺ Dózis (s. c.) ng	+2 óra			
				szérum LH ng/ml ±SEM	p érték	FSH ng/ml ±SEM	p érték
–	–	–	–	3±1	<0,001	298±20	<0,001
–	–	–	5	21±3	–	796±102	–

Antagonista	Beadagolás ⁺⁺ időpontja óra	Dózis µg	0. óra Agonista ⁺ Dózis (s. c.) ng	+2 óra			
				szérum LH ng/ml±SEM	p érték	FSH ng/ml ±SEM	p érték
Antid	-48	100	5	4±0,8	<0,001	481±27	<0,02
	-48	300	5	8±2	<0,01	600±72	NS
	-24	100	5	9±2	<0,01	596±50	NS
	-24	300	5	6±0,3	<0,001	462±54	<0,02
	-2	10	5	19±4	NS	588±70	NS
	-2	30	5	6±1	<0,001	573±67	NS
	-2	100	5	1±0,3	<0,001	320±48	<0,01
	-2	300	5	0,4±0,4	<0,001	327±63	<0,01
-	-	-	-	3±1	<0,001	298±20	<0,001
-	-	-	10	44±4	-	1488±168	-
Antid	-48	100	10	18±2	<0,001	782±110	<0,01
	-48	300	10	25±3	<0,01	1021±202	NS
	-24	100	10	24±6	<0,02	1008±285	NS
	-24	100	10	25±3	<0,01	1119±71	NS
	-2	10	10	51±8	NS	1729±243	NS
	-2	30	10	22±4	<0,01	1051±141	NS
	-2	100	10	7±3	<0,001	548±83	<0,001
	-2	300	10	0,5±0,06	<0,001	251±24	<0,001

⁺ [D-Qal⁶]-LHRH

⁺⁺ vízben adagolva

VIII. táblázat
Antid orális aktivitása különböző hordozóanyagokban

Hordozóanyag	-2 óra Antagonista Dózis µg (p. o.)	0. óra Agonista Dózis ng (s. c.)	+2 óra			
			LH ng/ml±SEM	p érték	FSH ng/ml ±SEM	p érték
víz	-	-	1,1±0,1	<0,001	243±35	<0,001
	-	50	148±9	-	3041±238	-
	100	50	44±5	<0,001	1372±84	<0,001
	300	50	20±4	<0,001	936±150	<0,001
	900*	50	6,3±3	<0,001	374±80	<0,001
kukoricaolaj	-	-	0,8±0,6	<0,001	138±6	<0,001
	-	50	115±8	-	2935±133	-
	100	50	72±12	<0,01	2148±234	<0,02
	300	50	20±4	<0,001	792±137	<0,001
	900	50	7±2	<0,001	599±59	<0,001

Kísérlet tervezése:

-2 óra: antagonistá

0 óra: [D-3-Qal⁶]-LHRH

+2 óra: állatok (26 napos nőstény patkány) elpusztítása (6 mérés átlaga $\pm$ SEM)

* 1:1 térfogatarányú hígítás 10 mmól/l HOAc/H₂O eleggyel (enyhén opálos), 0,1 ml orálisan, további koncentrációk vízzel hígítva

IX. táblázat
Antid orális aktivitása ovulációgátlás-vizsgálatban*

Dózis (p. o.) μ g	AOA %-os gátlás (ovulált patkányok száma/összes vizsgált patkány száma)
–	0 (6/6)
300	18 (9/11)
600	73 (3/11)
1200	100 (0/11)

* 1:1 térfogatarányú 10 mmól/l ecetsav/víz elegyben

X. táblázat
Antid és a 36. vegyület orális aktivitása

Antagonista	–2 óra Dózis μ g (p. o.)	0. óra Agonista ng (sc.)	+2 óra			
			LH ng/ml $\pm$ SEM	p érték	FSH ng/ml $\pm$ SEM	p érték
Antid	–	–	3,4 $\pm$ 2,2	<0,001	271 $\pm$ 56	<0,001
	–	15	91 $\pm$ 4,6	–	2491 $\pm$ 146	–
	30	15	75 $\pm$ 3	<0,02	1718 $\pm$ 223	<0,02
	100	15	20 $\pm$ 4	<0,001	738 $\pm$ 89	<0,001
	300	15	5 $\pm$ 1	<0,001	472 $\pm$ 26	<0,001
	30	15	75 $\pm$ 9	NS	2438 $\pm$ 207	NS
	100	15	19 $\pm$ 3	<0,001	845 $\pm$ 149	<0,001
36*	300	15	6 $\pm$ 1,4	<0,001	431 $\pm$ 22	<0,001
	–	50	115 $\pm$ 15	–	2372 $\pm$ 126	–
Antid	30	50	93 $\pm$ 75	NS	2262 $\pm$ 55	NS
	100	50	49 $\pm$ 7	<0,001	1345 $\pm$ 199	<0,001
	300	50	19 $\pm$ 3	<0,001	630 $\pm$ 40	<0,001
	900	50	5,3 $\pm$ 1,2	<0,001	450 $\pm$ 48	<0,001

Kísérlet tervezése:

–2 óra: antagonistá

0 óra: [D-3-Qal⁶]-LHRH

+2 óra: állatok (26 napos nőstény patkány) elpusztítása (6 mérés átlaga $\pm$ SEM)

Hordozóanyag: 0,1 ml 100 mmól/l HOAc/H₂O = 1:1

*: [D-N^E-(pirazinil-karbonil)-lizin⁶]-antid

XI. táblázat
Antid orális aktivitása az [N-Ac-D-2-Nal¹-D-pClPhe²-D-3-Pal³-NicLys⁵-D-NicLys⁶-ILys⁸-D-Ala¹⁰]-LHRH szuperagonistával együtt vizsgálva különböző adagolási tervek és dózisok esetén

Antagonista		Agonista* dózis (s. c.) 0 óra	LH ng/ml $\pm$ SEM	p érték	FSH ng/ml $\pm$ SEM	p érték
adagolás ideje óra	dózis (p. o.) μ g					
–	–	–	3 $\pm$ 1	<0,001	298 $\pm$ 20	<0,001
–	–	5 ng	21 $\pm$ 3	–	796 $\pm$ 120	–
–48	100	5 ng	4 $\pm$ 0,8	<0,001	481 $\pm$ 27	<0,02
–48	300	5 ng	8 $\pm$ 2	<0,01	600 $\pm$ 72	NS
–24	100	5 ng	9 $\pm$ 2	<0,01	596 $\pm$ 50	NS
–24	300	5 ng	6 $\pm$ 0,3	<0,001	462 $\pm$ 54	<0,02
–2	10	5 ng	19 $\pm$ 4	NS	588 $\pm$ 70	NS

Antagonista		Agonista* dózis (s. c.) 0 óra	LH ng/ml±SEM	p érték	FSH ng/ml ±SEM	p érték
adagolás ideje óra	dózis (p. o.) µg					
-2	30	5 ng	6±1	<0,001	573±67	NS
-2	100	5 ng	1±0,3	<0,001	320±48	<0,01
-2	300	5 ng	0,4±0,4	<0,001	327±63	<0,01
-	-	-	3±1	<0,001	298±20	<0,001
-	-	10 ng	44±4	-	1488±168	-
-48	100	10 ng	18±2	<0,001	792±110	<0,01
-48	300	10 ng	25±3	<0,01	1021±202	NS
-24	100	10 ng	24±6	<0,02	1008±285	NS
-24	300	10 ng	25±3	<0,01	1119±71	NS
-2	10	10 ng	51±8	NS	1729±243	NS
-2	30	10 ng	22±4	<0,01	1051±141	NS
-2	100	10 ng	7±3	<0,001	548±83	<0,001
-2	300	10 ng	0,5±0,06	<0,001	251±24	<0,001
-2	10**	10 ng	59±11	NS	1794±329	NS
-2	30	10 ng	39±6	NS	1470±190	NS
-2	100	10 ng	26±7	<0,05	1161±277	NS

* 24 270 [D-3-Qal⁶]-LHRH

** AH-195-3 [N-Ac-D-pClPhe^{1,2},D-Trp³,D-Ala¹⁰]-LHRH (dr. David Coy)

eredmények: 6 mérés átlaga ±SEM

XII. táblázat
Antid hatása diszpergált hipofízis-sejtenyészet vizsgálatban

Peptid	Dózis nM	LHRH nM	RLH ng/ml ±SEM	p érték	IDR ₅₀	FSH ng/ml ±SEM	p érték	IDR ₅₀
kontroll	-	-	10±0,4	-		196±23	-	
LHRH	-	0,1	40±7	<0,05		221±18	NS	
	-	0,3	80±1	<0,001		562±48	=0,02	
	-	1,0	118±	NA		802±	NA	
	-	3,0	150±1	<0,001	-	646±123	NS	-
	-	10,0	141±4	<0,001		602±26	,0,01	
	-	30,0	152±7	<0,01		557±15	<0,01	
Antid	0,01	3,0	118±11	NS*	0,26:1	546±93	NS*	0,52:1
	0,03	3,0	117±10	NS		499±26	NS	
	0,1	3,0	116±7	<0,05		472±59	NS	
	0,3	3,0	107±11	NS		617±73	NS	
	1,0	3,0	80±2	<0,001		481±17	NS	
	3,0	3,0	34±2	<0,001		233±38	NS	
	10,0	3,0	11±1	<0,001		165±21	NS	

* p értékek 3 nM LHRH-val szemben

SZABADALMI IGÉNYPONTOK

1. Eljárás

AA¹-D-pClPhe²-D-3-Pal³-Ser⁴-AA⁵-AA⁶-Leu⁷-AA⁸-
Pro⁹-D-Ala¹⁰-NH₂ (I)

(I) általános képletű decapeptidek – a képletben
AA¹ jelentése (1–4 szénatomos)alkil-karbonil-csoporttal
N-acilezett D-2-Nal, D-pClPhe vagy D-Cl₂Phe,

AA⁵ jelentése Tyr, His, Ile, 3-Pal, Dpo NicOrn, 1–6
szénatomos alkilcsoporttal N^e-alkilezett, vagy di(1–
4 szénatomos)alkil-amino-(1–4 szénatomos)alkil-
karbonil-csoporttal vagy hattagú aromás 1 vagy 2
nitrogénatomot tartalmazó, adott esetben 1–4 szén-
atomos alkilcsoporttal szubsztituált heterociklusos
magkarbonsavból származó acilcsoporttal N^e-acile-
zett Lys,

AA⁶ jelentése D-Dpo, D-AnGlu, D-Et₂-hArg, egy vagy két 1–4 szénatomos alkilcsoporttal N^ε-alkilezett D-Lys; vagy hattagú aromás karbociklusos vagy adott esetben 1–4 szénatomos alkilcsoporttal szubsztituált, 1 vagy 2 nitrogénatomot tartalmazó heterociklusos magkarbonsavból származó acilcsoporttal N^ε-acilezett D-Lys vagy Lys; vagy hattagú aromás 1 nitrogénatomot tartalmazó, heterociklusos magkarbonsavból származó acilcsoporttal N-acilezett D-ACAla, és

AA⁸ jelentése Orn, IOrn, Dpo, 1 vagy 2 1–6 szénatomos alkil- vagy egy 3–6 szénatomos cikloalkilcsoporttal N^ε-alkilezett, vagy hattagú aromás 1 nitrogénatomot tartalmazó, heterociklusos magkarbonsavból származó acilcsoporttal N^ε-acilezett Lys – előállítására, *azzal jellemezve*, hogy az (I) általános képletnek megfelelő aminosavakat vagy peptid-fragmentumokat a megfelelő sorrendben ismert módon kondenzáljuk.

2. Az 1. igénypont szerinti eljárás olyan (I) általános képletű dekapeptid előállítására, amelyek képletében AA¹ jelentése N-Ac-D-2-Nal és AA⁵, AA⁶ és AA⁸ jelentése az 1. igénypontban megadott, *azzal jellemezve*, hogy a megfelelő aminosavakat vagy peptid-fragmentumokat alkalmazzuk.

3. Az 1. vagy 2. igénypont szerinti eljárás olyan (I) általános képletű dekapeptid előállítására, amelyek képletében AA⁵ jelentése Tyr és AA¹, AA⁶ és AA⁸ jelentése az 1. vagy a 2. igénypontban megadott, *azzal jellemezve*, hogy a megfelelő aminosavakat vagy peptid-fragmentumokat alkalmazzuk.

4. A 3. igénypont szerinti eljárás olyan (I) általános képletű dekapeptid előállítására, amelyek képletében AA⁶ jelentése az 1. igénypontban megadott módon acilezett D-Lys és AA¹, AA⁵ és AA⁸ jelentése a 3. igénypontban megadott, *azzal jellemezve*, hogy a megfelelő aminosavakat vagy peptid-fragmentumokat alkalmazzuk.

5. A 4. igénypont szerinti eljárás olyan (I) általános képletű dekapeptid előállítására, amelyek képletében AA⁶ jelentése D-NicLys és AA¹, AA⁵ és AA⁸ jelentése a 4. igénypontban megadott, *azzal jellemezve*, hogy a megfelelő aminosavakat vagy peptid-fragmentumokat alkalmazzuk.

6. Az 1. vagy 2. igénypont szerinti eljárás olyan (I) általános képletű dekapeptid előállítására, amelyek képletében AA⁵ jelentése az 1. igénypontban megadott módon acilezett Lys, AA⁶ jelentése az 1. igénypontban megadott módon acilezett D-Lys, és AA¹ és AA⁸ jelentése az 1. vagy 2. igénypontban megadott, *azzal jellemezve*, hogy a megfelelő aminosavakat vagy peptid-fragmentumokat alkalmazzuk.

7. A 6. igénypont szerinti eljárás olyan (I) általános képletű dekapeptid előállítására, amelyek képletében AA⁵ jelentése NicLys, PicLys, MNicLys, INicLys, DMGLys vagy PzcLys; AA⁶ jelentése D-NicLys, D-PicLys, D-MNicLys, D-INicLys, D-BzLys vagy D-PzcLys; és AA¹ AA⁸ jelentése a 6. igénypontban megadott, *azzal jellemezve*, hogy a megfelelő aminosavakat vagy peptid-fragmentumokat alkalmazzuk.

8. Az 1. vagy 2. igénypont szerinti eljárás olyan (I) általános képletű dekapeptid előállítására, amelyek képletében AA⁵ jelentése az 1. igénypontban megadott módon acilezett Lys; AA⁶ jelentése az 1. igénypontban megadott módon acilezett D-ACAla és AA¹ és AA⁸ jelentése az 1. vagy 2. igénypontban megadott, *azzal jellemezve*, hogy a megfelelő aminosavakat vagy peptid-fragmentumokat alkalmazzuk.

9. A 8. igénypont szerinti eljárás olyan (I) általános képletű dekapeptid előállítására, amelyek képletében AA⁵ jelentése NicLys vagy PicLys; AA⁶ jelentése D-NACAla, és AA¹ és AA⁸ jelentése a 8. igénypontban megadott, *azzal jellemezve*, hogy a megfelelő aminosavakat vagy peptid-fragmentumokat alkalmazzuk.

10. A 2. igénypont szerinti eljárás olyan (I) általános képletű dekapeptid előállítására, amelynek képletében AA⁵ jelentése DMGLys, AA⁶ jelentése D-NicLys és AA⁸ jelentése ILys és AA¹ jelentése a 2. igénypontban megadott, *azzal jellemezve*, hogy a megfelelő aminosavakat vagy peptid-fragmentumokat alkalmazzuk.

11. A 2. igénypont szerinti eljárás olyan (I) általános képletű dekapeptid előállítására, amelyek képletében AA⁵ jelentése PicLys, AA⁶ jelentése D-NicLys, AA⁸ jelentése ILys és AA¹ jelentése a 2. igénypontban megadott, *azzal jellemezve*, hogy a megfelelő aminosavakat vagy peptid-fragmentumokat alkalmazzuk.

12. A 2. igénypont szerinti eljárás olyan (I) általános képletű dekapeptid előállítására, amelyek képletében AA⁵ jelentése INicLys, AA⁶ jelentése D-INicLys, AA⁸ jelentése ILys és AA¹ jelentése a 2. igénypontban megadott, *azzal jellemezve*, hogy a megfelelő aminosavakat vagy peptid-fragmentumokat alkalmazzuk.

13. A 2. igénypont szerinti eljárás olyan (I) általános képletű dekapeptid előállítására, amelyek képletében AA⁵ jelentése NicLys, AA⁶ jelentése D-BzLys, AA⁸ jelentése ILys és AA¹ jelentése a 2. igénypontban megadott, *azzal jellemezve*, hogy a megfelelő aminosavakat vagy peptid-fragmentumokat alkalmazzuk.

14. A 2. igénypont szerinti eljárás olyan (I) általános képletű dekapeptid előállítására, amelyek képletében AA⁵ jelentése NicLys, AA⁶ jelentése D-PicLys, és AA⁸ jelentése ILys és AA¹ jelentése a 2. igénypontban megadott, *azzal jellemezve*, hogy a megfelelő aminosavakat vagy peptid-fragmentumokat alkalmazzuk.

15. A 2. igénypont szerinti eljárás olyan (I) általános képletű dekapeptid előállítására, amelyek képletében AA⁵ jelentése NicLys, AA⁶ jelentése D-PzcLys, AA⁸ jelentése ILys, és AA¹ jelentése a 2. igénypontban megadott, *azzal jellemezve*, hogy a megfelelő aminosavakat vagy peptid-fragmentumokat alkalmazzuk.

16. A 2. igénypont szerinti eljárás olyan (I) általános képletű dekapeptid előállítására, amelyek képletében AA⁵ jelentése NicLys, AA⁶ jelentése D-

PzcLys, AA⁸ jelentése IO^{rn}, és AA¹ jelentése a 2. igénypontban megadott, *azzal jellemezve*, hogy a megfelelő aminosavakat vagy peptid-fragmentumokat alkalmazzuk.

17. A 2. igénypont szerinti eljárás olyan (I) általános képletű decapeptidek előállítására, amelyek képletében AA⁵ jelentése NicLys, AA⁶ jelentése D-NACAla, AA⁸ jelentése ILys, és AA¹ jelentése a 2. igénypontban megadott, *azzal jellemezve*, hogy a megfelelő aminosavakat vagy peptid-fragmentumokat alkalmazzuk.

18. A 2. igénypont szerinti eljárás olyan (I) általános képletű decapeptidek előállítására, amelyek képletében AA⁵ jelentése PicLys, AA⁶ jelentése D-PicLys, AA⁸ jelentése ILys, és AA¹ jelentése a 2. igénypontban megadott, *azzal jellemezve*, hogy a megfelelő aminosavakat vagy peptid-fragmentumokat alkalmazzuk.

19. A 2. igénypont szerinti eljárás olyan (I) általános képletű decapeptidek előállítására, amelyek képletében AA⁵ jelentése DMGLys, AA⁶ jelentése D-BzLys, AA⁸ jelentése ILys és AA¹ jelentése a 2. igénypontban megadott, *azzal jellemezve*, hogy a megfelelő aminosavakat vagy peptid-fragmentumokat alkalmazzuk.

20. A 2. igénypont szerinti eljárás olyan (I) általános képletű decapeptidek előállítására, amelyek képletében AA⁵ jelentése Tyr, AA⁶ jelentése D-NicLys, AA⁸ jelentése ILys és AA¹ jelentése a 2. igénypontban megadott, *azzal jellemezve*, hogy a megfelelő aminosavakat vagy peptid-fragmentumokat alkalmazzuk.

21. A 2. igénypont szerinti eljárás olyan (I) általános képletű decapeptidek előállítására, amelyek képletében AA⁵ jelentése Tyr, AA⁶ jelentése D-NicLys, AA⁸ jelentése IO^{rn}, és AA¹ jelentése a 2. igénypontban megadott, *azzal jellemezve*, hogy a megfelelő aminosavakat vagy peptid-fragmentumokat alkalmazzuk.

22. A 2. igénypont szerinti eljárás olyan (I) általános képletű decapeptidek előállítására, amelyek képletében AA⁵ jelentése NicLys, AA⁶ jelentése D-NicLys, AA⁸ jelentése ILys és AA¹ jelentése a 2. igénypontban megadott, *azzal jellemezve*, hogy a megfelelő aminosavakat vagy peptid-fragmentumokat alkalmazzuk.

23. A 2. igénypont szerinti eljárás olyan (I) általános képletű decapeptidek előállítására, amelyek képletében AA⁵ jelentése NicLys, AA⁶ jelentése D-NicLys, AA⁸ jelentése IO^{rn}, és AA¹ jelentése a 2. igénypontban megadott, *azzal jellemezve*, hogy a megfelelő aminosavakat vagy peptid-fragmentumokat alkalmazzuk.

24. A 2. igénypont szerinti eljárás olyan (I) általános képletű decapeptidek előállítására, amelyek képletében AA⁵ jelentése PicLys, AA⁶ jelentése D-PicLys, AA⁸ jelentése ILys, és AA¹ jelentése a 2. igénypontban megadott, *azzal jellemezve*, hogy a megfelelő aminosavakat vagy peptid-fragmentumokat alkalmazzuk.

25. A 2. igénypont szerinti eljárás olyan (I) általános képletű decapeptidek előállítására, amelyek képletében AA⁵ jelentése MNicLys, AA⁶ jelentése D-MN^{ic}Lys, AA⁸ jelentése ILys és AA¹ jelentése a 2. igénypontban megadott, *azzal jellemezve*, hogy a megfelelő aminosavakat vagy peptid-fragmentumokat alkalmazzuk.

26. A 2. igénypont szerinti eljárás olyan (I) általános képletű decapeptidek előállítására, amelyek ké-

letében AA⁵ jelentése PzcLys, AA⁶ jelentése D-PzcLys, AA⁸ jelentése ILys és AA¹ jelentése a 2. igénypontban megadott, *azzal jellemezve*, hogy a megfelelő aminosavakat vagy peptid-fragmentumokat alkalmazzuk.

5

27. Az 1. igénypont szerinti eljárás az

N-Ac-D-2-Nal¹-D-pCIPhe²-D-3-Pal³-Ser⁴-Tyr⁵-D-

NicLys⁶-Leu⁷-ILys⁸-Pro⁹-D-Ala¹⁰-NH₂,

N-Ac-D-2-Nal¹-D-pCIPhe²-D-3-Pal³-Ser⁴-Tyr⁵-D-

10

NicLys⁶-Leu⁷-Me₂Lys⁸-Pro⁹-D-Ala¹⁰-NH₂,

N-Ac-D-2-Nal¹-D-pCIPhe²-D-3-Pal³-Ser⁴-ILys⁵-D-

NicLys⁶-Leu⁷-ILys⁸-Pro⁹-D-Ala¹⁰-NH₂,

N-Ac-D-2-Nal¹-D-pCIPhe²-D-3-Pal³-Ser⁴-3-Pal⁵-D-

NicLys⁶-Leu⁷-IO^{rn}⁸-Pro⁹-D-Ala¹⁰-NH₂,

15

N-Ac-D-2-Nal¹-D-pCIPhe²-D-3-Pal³-Ser⁴-PicLys⁵-D-

NicLys⁶-Leu⁷-ILys⁸-Pro⁹-D-Ala¹⁰-NH₂,

N-Ac-D-pCIPhe¹-D-pCIPhe²-D-3-Pal³-Ser⁴-Tyr⁵-D-

NicLys⁶-Leu⁷-ILys⁸-Pro⁹-D-Ala¹⁰-NH₂,

N-Ac-D-Cl₂-Phe¹-D-pCIPhe²-D-3-Pal³-Ser⁴-Tyr⁵-D-

20

NicLys⁶-Leu⁷-ILys⁸-Pro⁹-D-Ala¹⁰-NH₂,

N-Ac-D-2-Nal¹-D-pCIPhe²-D-3-Pal³-Ser⁴-NicLys⁵-D-

Dpo⁶-Leu⁷-ILys⁸-Pro⁹-D-Ala¹⁰-NH₂,

N-Ac-D-2-Nal¹-D-pCIPhe²-D-3-Pal³-Ser⁴-NicLys⁵-c-

D-NACAla⁶-Leu⁷-ILys⁸-Pro⁹-D-Ala¹⁰-NH₂,

25

N-Ac-D-2-Nal¹-D-pCIPhe²-D-3-Pal³-Ser⁴-NicLys⁵-D-

PzcLys⁶-Leu⁷-ILys⁸-Pro⁹-D-Ala¹⁰-NH₂,

N-Ac-D-2-Nal¹-D-pCIPhe²-D-3-Pal³-Ser⁴-NicLys⁵-D-

NicLys⁶-Leu⁷-ILys⁸-Pro⁹-D-Ala¹⁰-NH₂,

N-Ac-D-2-Nal¹-D-pCIPhe²-D-3-Pal³-Ser⁴-NicLys⁵-D-

30

NicLys⁶-Leu⁷-IO^{rn}⁸-Pro⁹-D-Ala¹⁰-NH₂,

N-Ac-D-2-Nal¹-D-pCIPhe²-D-3-Pal³-Ser⁴-PicLys⁵-D-

PicLys⁶-Leu⁷-ILys⁸-Pro⁹-D-Ala¹⁰-NH₂,

N-Ac-D-2-Nal¹-D-pCIPhe²-D-3-Pal³-Ser⁴-MNicLys⁵-

D-MN^{ic}Lys⁶-Leu⁷-ILys⁸-Pro⁹-D-Ala¹⁰-NH₂,

35

N-Ac-D-2-Nal¹-D-pCIPhe²-D-3-Pal³-Ser⁴-DMGLys⁵-

D-BzLys⁶-Leu⁷-ILys⁸-Pro⁹-D-Ala¹⁰-NH₂ vagy

N-Ac-D-Cl₂-Phe¹-D-pCIPhe²-D-3-Pal³-Ser⁴-PicLys⁵-

D-PicLys⁶-Leu⁷-IO^{rn}⁸-Pro⁹-D-Ala¹⁰-NH₂

képletű decapeptidek előállítására, *azzal jellemezve*,

40

hogy a megfelelő aminosavakat vagy peptid-fragmentumokat alkalmazzuk.

28. Az 1. igénypont szerinti eljárás az

N-Ac-D-2-Nal¹-D-pCIPhe²-D-3-Pal³-Ser⁴-Tyr⁵-D-

NicLys⁶-Leu⁷-ILys⁸-Pro⁹-D-Ala¹⁰-NH₂,

45

N-Ac-D-2-Nal¹-D-pCIPhe²-D-3-Pal³-Ser⁴-Tyr⁵-D-

NicLys⁶-Leu⁷-IO^{rn}⁸-Pro⁹-D-Ala¹⁰-NH₂,

N-Ac-D-2-Nal¹-D-pCIPhe²-D-3-Pal³-Ser⁴-3-Pal⁵-D-

NicLys⁶-Leu⁷-ILys⁸-Pro⁹-D-Ala¹⁰-NH₂,

N-Ac-D-2-Nal¹-D-pCIPhe²-D-3-Pal³-Ser⁴-Ile⁵-D-

50

NicLys⁶-Leu⁷-ILys⁸-Pro⁹-D-Ala¹⁰-NH₂,

N-Ac-D-2-Nal¹-D-pCIPhe²-D-3-Pal³-Ser⁴-Ile⁵-D-

NicLys⁶-Leu⁷-IO^{rn}⁸-Pro⁹-D-Ala¹⁰-NH₂,

N-Ac-D-pCIPhe¹-D-pCIPhe²-D-3-Pal³-Ser⁴-Tyr⁵-D-

NicLys⁶-Leu⁷-ILys⁸-Pro⁹-D-Ala¹⁰-NH₂,

55

N-Ac-D-Cl₂-Phe¹-D-pCIPhe²-D-3-Pal³-Ser⁴-Tyr⁵-D-

NicLys⁶-Leu⁷-ILys⁸-Pro⁹-D-Ala¹⁰-NH₂,

N-Ac-D-2-Nal¹-D-pCIPhe²-D-3-Pal³-Ser⁴-NicLys⁵-D-

BzLys⁶-Leu⁷-ILys⁸-Pro⁹-D-Ala¹⁰-NH₂,

N-Ac-D-2-Nal¹-D-pCIPhe²-D-3-Pal³-Ser⁴-NicLys⁵-D-

60

AnGlu⁶-Leu⁷-ILys⁸-Pro⁹-D-Ala¹⁰-NH₂,

N-Ac-D-2-Nal¹-D-pClPhe²-D-3-Pal³-Ser⁴-NicLys⁵-D-Me₂Lys⁶-Leu⁷-ILys⁸-Pro⁹-D-Ala¹⁰-NH₂,
 N-Ac-D-2-Nal¹-D-pClPhe²-D-3-Pal³-Ser⁴-NicLys⁵-D-NicLys⁶-Leu⁷-Dpo⁸-Pro⁹-D-Ala¹⁰-NH₂,
 N-Ac-D-2-Nal¹-D-pClPhe²-D-3-Pal³-Ser⁴-NicLys⁵-D-NicLys⁶-Leu⁷-ILys⁸-Pro⁹-D-Ala¹⁰-NH₂,
 N-Ac-D-2-Nal¹-D-pClPhe²-D-3-Pal³-Ser⁴-NicLys⁵-D-NicLys⁶-Leu⁷-IOrn⁸-Pro⁹-D-Ala¹⁰-NH₂,
 N-Ac-D-2-Nal¹-D-pClPhe²-D-3-Pal³-Ser⁴-NicLys⁵-D-NicLys⁶-Leu⁷-CypLys⁸-Pro⁹-D-Ala¹⁰-NH₂,
 N-Ac-D-2-Nal¹-D-pClPhe²-D-3-Pal³-Ser⁴-Tyr⁵-D-NicLys⁶-Leu⁷-NicLys⁸-Pro⁹-D-Ala¹⁰-NH₂,
 N-Ac-D-2-Nal¹-D-pClPhe²-D-3-Pal³-Ser⁴-NicLys⁵-NicLys⁶-Leu⁷-ILys⁸-Pro⁹-D-Ala¹⁰-NH₂,
 N-Ac-D-2-Nal¹-D-pClPhe²-D-3-Pal³-Ser⁴-PicLys⁵-D-PicLys⁶-Leu⁷-ILys⁸-Pro⁹-D-Ala¹⁰-NH₂,
 N-Ac-D-2-Nal¹-D-pClPhe²-D-3-Pal³-Ser⁴-MNicLys⁵-D-MNicLys⁶-Leu⁷-ILys⁸-Pro⁹-D-Ala¹⁰-NH₂ vagy
 N-Ac-D-2-Nal¹-D-pClPhe²-D-3-Pal³-Ser⁴-PzcLys⁵-D-PzcLys⁶-Leu⁷-ILys⁸-Pro⁹-D-Ala¹⁰-NH₂
 azzal jellemezve, hogy a megfelelő aminosavakat vagy aminosav-fragmentumokat alkalmazzuk.

29. Az 1. igénypont szerinti eljárás olyan (1) általános képletű decapeptid előállítására, amelynek képletében AA¹ jelentése N-Ac-D-pClPhe, AA⁵ jelentése Tyr, AA⁶ jelentése D-NicLys és AA⁸ jelentése ILys, azzal jellemezve, hogy a megfelelő aminosavakat vagy peptid-fragmentumokat alkalmazzuk.

30. Az 1. igénypont szerinti eljárás olyan (I) általános képletű decapeptid előállítására, amelynek képletében AA¹ jelentése N-Ac-D-Cl₂Phe, AA⁵ jelentése Tyr, AA⁶ jelentése D-NicLys és AA⁸ jelentése ILys, azzal jellemezve, hogy a megfelelő aminosavakat vagy peptid-fragmentumokat alkalmazzuk.

31. Eljárás ovulációgátló és gonád-funkciót gátló hatású gyógyászati készítmények előállítására, azzal jellemezve, hogy valamely, az 1. igénypont szerinti eljárással előállított (I) általános képletű decapeptidet – a képletben AA¹, AA⁵, AA⁶ és AA⁸ jelentése az 1. igénypontban megadott –, mint hatóanyagot a gyógyszerkészítésben szokásosan használt hordozó- és/vagy egyéb segédanyagokkal összekeverünk és gyógyászati készítménnyé alakítunk.

32. A 31. igénypont szerinti eljárás, azzal jellemezve, hogy hatóanyagként egy
 N-Ac-D-2-Nal¹-D-pClPhe²-D-3-Pal³-Ser⁴-Tyr⁵-D-NicLys⁶-Leu⁷-ILys⁸-Pro⁹-D-Ala¹⁰-NH₂,
 N-Ac-D-2-Nal¹-D-pClPhe²-D-3-Pal³-Ser⁴-Tyr⁵-D-NicLys⁶-Leu⁷-Me₂Lys⁸-Pro⁹-D-Ala¹⁰-NH₂,
 N-Ac-D-2-Nal¹-D-pClPhe²-D-3-Pal³-Ser⁴-ILys⁵-D-NicLys⁶-Leu⁷-ILys⁸-Pro⁹-D-Ala¹⁰-NH₂,
 N-Ac-D-2-Nal¹-D-pClPhe²-D-3-Pal³-Ser⁴-3-Pal⁵-D-NicLys⁶-Leu⁷-IOrn⁸-Pro⁹-D-Ala¹⁰-NH₂,
 N-Ac-D-2-Nal¹-D-pClPhe²-D-3-Pal³-Ser⁴-PicLys⁵-D-NicLys⁶-Leu⁷-ILys⁸-Pro⁹-D-Ala¹⁰-NH₂,
 N-Ac-D-pClPhe¹-D-pClPhe²-D-3-Pal³-Ser⁴-Tyr⁵-D-NicLys⁶-Leu⁷-ILys⁸-Pro⁹-D-Ala¹⁰-NH₂,
 N-Ac-D-Cl₂Phe¹-D-pClPhe²-D-3-Pal³-Ser⁴-Tyr⁵-D-NicLys⁶-Leu⁷-ILys⁸-Pro⁹-D-Ala¹⁰-NH₂,
 N-Ac-D-2-Nal¹-D-pClPhe²-D-3-Pal³-Ser⁴-D-NicLys⁵-D-Dpo⁶-Leu⁷-ILys⁸-Pro⁹-D-Ala¹⁰-NH₂,

N-Ac-D-2-Nal¹-D-pClPhe²-D-3-Pal³-Ser⁴-D-NicLys⁵-c-D-NACAla⁶-Leu⁷-ILys⁸-Pro⁹-D-Ala¹⁰-NH₂,
 N-Ac-D-2-Nal¹-D-pClPhe²-D-3-Pal³-Ser⁴-NicLys⁵-D-PzcLys⁶-Leu⁷-ILys⁸-Pro⁹-D-Ala¹⁰-NH₂,
 5 N-Ac-D-2-Nal¹-D-pClPhe²-D-3-Pal³-Ser⁴-NicLys⁵-D-NicLys⁶-Leu⁷-ILys⁸-Pro⁹-D-Ala¹⁰-NH₂,
 N-Ac-D-2-Nal¹-D-pClPhe²-D-3-Pal³-Ser⁴-NicLys⁵-D-NicLys⁶-Leu⁷-IOrn⁸-Pro⁹-D-Ala¹⁰-NH₂,
 N-Ac-D-2-Nal¹-D-pClPhe²-D-3-Pal³-Ser⁴-PicLys⁵-D-PicLys⁶-Leu⁷-ILys⁸-Pro⁹-D-Ala¹⁰-NH₂,
 10 N-Ac-D-2-Nal¹-D-pClPhe²-D-3-Pal³-Ser⁴-MNicLys⁵-D-MNicLys⁶-Leu⁷-ILys⁸-Pro⁹-D-Ala¹⁰-NH₂,
 N-Ac-D-Cl₂Phe¹-D-pClPhe²-D-3-Pal³-Ser⁴-DMGLys⁵-D-BzLys⁶-Leu⁷-ILys⁸-Pro⁹-D-Ala¹⁰-NH₂
 15 vagy
 N-Ac-D-Cl₂Phe¹-D-pClPhe²-D-3-Pal³-Ser⁴-PicLys⁵-D-PicLys⁶-Leu⁷-IOrn⁸-Pro⁹-D-Ala¹⁰-NH₂,
 képletű decapeptidet alkalmazzunk.

33. A 31. igénypont szerinti eljárás, azzal jellemezve, hogy hatóanyagként egy
 N-Ac-D-2-Nal¹-D-pClPhe²-D-3-Pal³-Ser⁴-Tyr⁵-D-NicLys⁶-Leu⁷-ILys⁸-Pro⁹-D-Ala¹⁰-NH₂,
 N-Ac-D-2-Nal¹-D-pClPhe²-D-3-Pal³-Ser⁴-Tyr⁵-D-NicLys⁶-Leu⁷-IOrn⁸-Pro⁹-D-Ala¹⁰-NH₂,
 25 N-Ac-D-2-Nal¹-D-pClPhe²-D-3-Pal³-Ser⁴-3-Pal⁵-D-NicLys⁶-Leu⁷-ILys⁸-Pro⁹-D-Ala¹⁰-NH₂,
 N-Ac-D-2-Nal¹-D-pClPhe²-D-3-Pal³-Ser⁴-Ile⁵-D-NicLys⁶-Leu⁷-ILys⁸-Pro⁹-D-Ala¹⁰-NH₂,
 N-Ac-D-2-Nal¹-D-pClPhe²-D-3-Pal³-Ser⁴-Ile⁵-D-NicLys⁶-Leu⁷-IOrn⁸-Pro⁹-D-Ala¹⁰-NH₂,
 30 N-Ac-D-pClPhe¹-D-pClPhe²-D-3-Pal³-Ser⁴-Tyr⁵-D-NicLys⁶-Leu⁷-ILys⁸-Pro⁹-D-Ala¹⁰-NH₂,
 N-Ac-D-Cl₂Phe¹-D-pClPhe²-D-3-Pal³-Ser⁴-Tyr⁵-D-NicLys⁶-Leu⁷-ILys⁸-Pro⁹-D-Ala¹⁰-NH₂,
 35 N-Ac-D-2-Nal¹-D-pClPhe²-D-3-Pal³-Ser⁴-NicLys⁵-D-BzLys⁶-Leu⁷-ILys⁸-Pro⁹-D-Ala¹⁰-NH₂,
 N-Ac-D-2-Nal¹-D-pClPhe²-D-3-Pal³-Ser⁴-NicLys⁵-D-AnGlu⁶-Leu⁷-ILys⁸-Pro⁹-D-Ala¹⁰-NH₂,
 N-Ac-D-2-Nal¹-D-pClPhe²-D-3-Pal³-Ser⁴-NicLys⁵-D-Me₂Lys⁶-Leu⁷-ILys⁸-Pro⁹-D-Ala¹⁰-NH₂,
 40 N-Ac-D-2-Nal¹-D-pClPhe²-D-3-Pal³-Ser⁴-NicLys⁵-D-NicLys⁶-Leu⁷-Dpo⁸-Pro⁹-D-Ala¹⁰-NH₂,
 N-Ac-D-2-Nal¹-D-pClPhe²-D-3-Pal³-Ser⁴-NicLys⁵-D-NicLys⁶-Leu⁷-ILys⁸-Pro⁹-D-Ala¹⁰-NH₂,
 45 N-Ac-D-2-Nal¹-D-pClPhe²-D-3-Pal³-Ser⁴-NicLys⁵-D-NicLys⁶-Leu⁷-IOrn⁸-Pro⁹-D-Ala¹⁰-NH₂,
 N-Ac-D-2-Nal¹-D-pClPhe²-D-3-Pal³-Ser⁴-NicLys⁵-D-NicLys⁶-Leu⁷-CypLys⁸-Pro⁹-D-Ala¹⁰-NH₂,
 N-Ac-D-2-Nal¹-D-pClPhe²-D-3-Pal³-Ser⁴-Tyr⁵-D-NicLys⁶-Leu⁷-NicLys⁸-Pro⁹-D-Ala¹⁰-NH₂,
 50 N-Ac-D-2-Nal¹-D-pClPhe²-D-3-Pal³-Ser⁴-NicLys⁵-NicLys⁶-Leu⁷-ILys⁸-Pro⁹-D-Ala¹⁰-NH₂,
 N-Ac-D-2-Nal¹-D-pClPhe²-D-3-Pal³-Ser⁴-PicLys⁵-D-PicLys⁶-Leu⁷-ILys⁸-Pro⁹-D-Ala¹⁰-NH₂,
 55 N-Ac-D-2-Nal¹-D-pClPhe²-D-3-Pal³-Ser⁴-MNicLys⁵-D-MNicLys⁶-Leu⁷-ILys⁸-Pro⁹-D-Ala¹⁰-NH₂ vagy
 N-Ac-D-2-Nal¹-D-pClPhe²-D-3-Pal³-Ser⁴-PzcLys⁵-D-PzcLys⁶-Leu⁷-ILys⁸-Pro⁹-D-Ala¹⁰-NH₂,
 képletű decapeptidet alkalmazzunk.

60 34. A 31. igénypont szerinti eljárás, azzal jellemezve,

ve, hogy hatóanyagként olyan (I) általános képletű dekaeptidet alkalmazunk, amelynek képletében AA¹ jelentése N-Ac-D-2-Nal, AA⁵ jelentése NicLys, AA⁶ jelentése D-NicLys, AA⁸ jelentése ILys.

35. A 31. igénypont szerinti eljárás, *azzal jellemezve*, hogy hatóanyagként olyan (I) általános képletű dekaeptidet alkalmazunk, amelynek képletében AA¹ jelentése N-Ac-D-pClPhe, AA⁵ jelentése Tyr, AA⁶ jelentése D-NicLys és AA⁸ jelentése ILys.

36. A 31. igénypont szerinti eljárás, *azzal jellemezve*, hogy hatóanyagként olyan (I) általános képletű dekaeptidet alkalmazunk, amelynek képletében AA¹ jelentése N-Ac-D-Cl₂Phe, AA⁵ jelentése Tyr, AA⁶ jelentése D-NicLys és AA⁸ jelentése ILys.

37. A 31. igénypont szerinti eljárás, *azzal jellemezve*, hogy hatóanyagként olyan (I) általános képletű dekaeptidet alkalmazunk, amelynek képletében AA¹ je-

lentése N-Ac-D-2-Nal, AA⁵ jelentése Tyr, AA⁶ jelentése D-NicLys, AA⁸ jelentése ILys.

38. A 31. igénypont szerinti eljárás, *azzal jellemezve*, hogy hatóanyagként olyan (I) általános képletű dekaeptidet alkalmazunk, amelynek képletében AA¹ jelentése N-Ac-D-2-Nal, AA⁵ jelentése NicLys, AA⁶ jelentése D-NicLys, AA⁸ jelentése IOm.

39. A 31. igénypont szerinti eljárás, *azzal jellemezve*, hogy hatóanyagként olyan (I) általános képletű dekaeptidet alkalmazunk, amelynek képletében AA¹ jelentése N-Ac-D-2-Nal, AA⁵ jelentése PicLys, AA⁶ jelentése D-PicLys, AA⁸ jelentése ILys.

40. A 31. igénypont szerinti eljárás, *azzal jellemezve*, hogy hatóanyagként olyan (I) általános képletű dekaeptidet alkalmazunk, amelynek képletében AA¹ jelentése N-Ac-D-2-Nal, AA⁵ jelentése MNicLys, AA⁶ jelentése D-MNcLys, AA⁸ jelentése ILys.