



H U 0 0 0 2 1 7 6 3 6 B

(19) Országkód

HU

MAGYAR
KÖZTÁRSASÁGMAGYAR
SZABADALMI
HIVATALSZABADALMI
LEÍRÁS

(21) A bejelentés ügyszáma: 4481/90
(22) A bejelentés napja: 1990. 04. 23.
(23) Módosítási elsőbbség: 1994. 07. 01.
(30) Elsőbbségi adatok:
07/343,325 1989. 04. 26. US
(86) Nemzetközi bejelentési szám: PCT/US 90/02196
(87) Nemzetközi közzétételi szám: WO 90/12811

(40) A közzététel napja: 1992. 08. 28.
(45) A megadás meghirdetésének dátuma a Szabadalmi
Közlönyben: 2000. 03. 28.

(11) Lajstromszám:

217 636 B

(51) Int. Cl.⁷

C 07 K 7/06

A 61 K 38/08

(72) Feltalálók:

Coy, David H., New Orleans, Louisiana (US)
Murphy, William A., Covington, Louisiana (US)

(73) Szabadalmaz:

The Administrators of the Tulane Educational
Fund, New Orleans, Louisiana (US)

(74) Képviseelő:

dr. Gárdonyi Zoltánné, DANUBIA Szabadalmi és
Védjegy Iroda Kft., Budapest

(54) **Szomatosztatin analógok, ezeket tartalmazó gyógyszerkészítmények,
és eljárás előállításukra**

KIVONAT

A találmány tárgya

 $R_1 - A^1 - A^2 - A^3 - D-Trp - Lys - A^6 - A^7 - A^8 - R_3$ $\begin{array}{c} | \\ R_2 \end{array}$

(I)
általános képletű szomatosztatin analógok és gyó-
gyászatilag elfogadható savaddíciós sóik, valamint eze-
ket tartalmazó gyógyszerkészítmények és eljárás előál-
lításukra – a képletben

R_1 és R_2 jelentése hidrogénatom vagy 1–4 szénatomos
alkilcsoport,

R_3 jelentése aminocsoport,

A_1 jelentése D- β -Nal, o-X-D-Phe, p-X-D-Phe, 2,4-di-
klór-D-Phe vagy pentafluor-D-Phe, ahol

X jelentése hidrogén-, klór-, bróm- vagy fluoratom
vagy hidroxilcsoport,

A^2 jelentése Ala, Leu, Ile, Val, Nle, β -Nal, o-X-Phe,
p-X-Phe, 2,4-diklór-Phe vagy pentafluor-Phe,
ahol

X jelentése hidrogén-, klór-, bróm- vagy fluor-
atom, vagy nitrocsoport,

A^3 jelentése β -Nal, p-X-Phe, o-X-Phe, ahol

X jelentése hidrogénatom vagy hidroxilcsoport,

A^6 jelentése Ala, Leu, Ile, Val, Nle, Ser, Thr,

A^7 jelentése Ala, Leu, Ile, Val, Nle, Phe, β -Nal,

A^8 jelentése D-Ala, D-Leu, D-Ile, D-Val, D-Nle, Ser,
Thr, β -Nal, D- β -Nal, D-Phe, azzal a feltétellel, hogy
ha A^2 vagy A^7 aromás aminosavmaradék, akkor A^8
nem aromás aminosavmaradék.

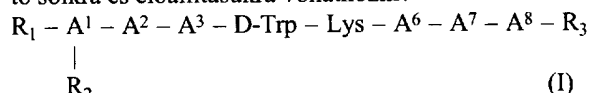
A találmány tárgya gyógyhatású új peptidek és azok előállítása.

A szakirodalomban már számos szomatostatin analógot írtak le, amelyek növekedéshormon-kibocsátást gátló hatást mutatnak. Az analógok között találhatók olyanok is, amelyek kevesebb aminosavat tartalmaznak, mint a természetben előforduló 14 aminosav. Így például Coy és munkatársai a 4 485 101 számú amerikai egyesült államokbeli szabadalmi leírásban olyan dodekapeptideket írnak le, amelyek N-terminális acetilcsoportot, C-terminális aminocsoportot, továbbá a 6. helyen D-Trp- és a 4. helyen p-Cl-Phe csoportot tartalmaznak. (A leírásban, amikor a konfigurációt nem jelöljük, az L-izomert értjük.)

A leírásban alkalmazott kevésbé ismert rövidítések:

Nle=norleucin; β -Nal= β -naftil-1-alanin; Cpa=p-klór-fenil-alanin

A találmány az alábbi (I) általános képletű szomatostatin analógokra, illetve gyógyászatilag elfogadható sóikra és előállításukra vonatkozik:



ahol a képletben

R₁ és R₂ jelentése hidrogénatom vagy rövid szénláncú alkilcsoport,

R₃ jelentése aminocsoport,

A₁ jelentése D- β -Nal, o-X-D-Phe, p-X-D-Phe, 2,4-diklór-D-Phe vagy pentafluor-D-Phe, ahol

X jelentése hidrogén-, klór-, bróm- vagy fluoratom, vagy hidroxilcsoport,

A² jelentése Ala, Leu, Ile, Val, Nle, β -Nal, o-X-Phe, p-X-Phe, 2,4-diklór-Phe vagy pentafluor-Phe, ahol

X jelentése hidrogén-, klór-, bróm- vagy fluoratom, vagy nitrocsoport,

A³ jelentése β -Nal, p-X-Phe, o-X-Phe, ahol

X jelentése hidrogénatom vagy hidroxilcsoport,

A⁶ jelentése Ala, Leu, Ile, Val, Nle, Ser, Thr,

A⁷ jelentése Ala, Leu, Ile, Val, Nle, Phe, β -Nal,

A⁸ jelentése D-Ala, D-Leu, D-Ile, D-Val, D-Nle, Ser, Thr, β -Nal, D- β -Nal, D-Phe,

azzal a feltétellel, hogy ha A² vagy A⁷ aromás aminosavmaradék, akkor A⁸ nem aromás aminosavmaradék.

A¹ és A² közül előnyösen legalább az egyik aromás aminosavmaradék, és A⁷ és A⁸ közül legalább az egyik aromás aminosavmaradék.

Előnyösek azok az oktapeptidek, ahol a képletben A¹ jelentése D- β -Nal, és A⁸ jelentése D-Ala, D-Leu, D-Ile, Ser, Thr, D-Val vagy D-Phe.

Előnyösek továbbá azok az oktapeptidek, ahol a képletben A₁ jelentése o-X-D-Phe, p-X-D-Phe, 2,4-diklór-D-Phe vagy pentafluor-D-Phe, ahol X jelentése hidrogén-, klór-, bróm- vagy fluoratom, vagy hidroxilcsoport, A⁸ jelentése D-Ala, D-Leu, D-Ile, Thr, D-Val, D-Nle, β -Nal, D- β -Nal, D-Phe.

A vegyületek még további előnyös csoportját képezik az olyan oktapeptidek, ahol a képletben A¹ jelentése o-X-D-Phe, p-X-D-Phe, 2,4-diklór-D-Phe vagy pentafluor-D-Phe, ahol X jelentése hidrogén-, klór-, bróm-

vagy fluoratom, vagy hidroxilcsoport, és A⁸ jelentése Thr vagy β -Nal, D- β -Nal.

A vegyületek még előnyösebb csoportját képezik az olyan oktapeptidek, ahol a képletben A¹ jelentése D- β -Nal és A⁸ jelentése Ser, Thr.

A „rövid szénláncú alkilcsoport” kifejezésen 1–4 szénatomos alkilcsoportot, előnyösen metilcsoportot értünk.

A találmány szerinti előnyös vegyületek között találjuk az alábbiakat:

D-Phe-p-klór-Phe-Tyr-D-Trp-Lys-Val-Phe-Thr-NH₂;

D-Phe-Phe-Tyr-D-Trp-Lys-Val-Phe-Thr-NH₂;

D-Phe-Phe-Phe-D-Trp-Lys-Thr-Phe-Thr-NH₂;

D-Phe-Ala-Tyr-D-Trp-Lys-Val-Ala-D- β -Nal-NH₂.

A találmány továbbá olyan gyógyszerkészítményekre és előállításukra vonatkozik, amelyek a találmány szerinti vegyületek hatékony mennyiségét és valamely gyógyászatilag elfogadható hordozóanyagot, például magnézium-karbonátot, laktózt vagy olyan foszfolipidet tartalmaznak, amellyel a gyógyhatású vegyület micellát képezhet. A gyógyszerkészítmények lehetnek például pilulák, tabletták, kapszulák vagy folyadékok orális alkalmazás céljára; vagy kenhető krémek, gélek, balzsamok vagy kenőcsök helyi alkalmazásra, vagy iontoforézishez bőrön át történő alkalmazás céljára; vagy orrcseppek vagy permetek nazális bejuttatás céljára; vagy intravénás, parenterális, szubkután vagy intraperitoneális beadásra alkalmas folyadékok. A pilula, tableta vagy kapszula be lehet vonva olyan anyaggal, amely a gyógyhatású anyagot képes megvédeni az emésztősavaktól a beteg gyomrában annyi ideig, amíg a kompozíció szétesés nélkül áthalad a beteg vékonybélébe. A terápiás kompozíció lehet biológiailag lebontható formában, vagy biológiailag nem lebontható, lassú és egyenletes kibocsátású formában intramuszkuláris adagoláshoz. A maximális hatékonysághoz zérórendű kibocsátás szükséges, ezt el lehet érni például beültethető vagy külső adagolószivattyúval, például Infusoid szivattyúval.

A találmány szerinti vegyületek a növekedési hormon, szomatomedinek (például IGF-1), inzulin, glukagon és más autoparakrin-növekedési faktorok vagy hasnyálmirigy-növekedési faktorok szekréciójának gátlásában hatékonyak. A találmány szerinti vegyületek aciklusosak, ennek megfelelően stabilak és oxidációra rezisztensek. Ezenkívül a peptid aciklusos természete megkönnyíti a szintézist és a tisztítást, javítja a hatékonyságot, és csökkenti az előállítási költségeket.

A találmány szerinti megoldást az ábrákon és a kiviteli példákban mutatjuk be közelebbről.

Az 1. ábra olyan diagram, amely bemutatja a lineáris analógok hatását a patkányhipofízis által végzett növekedéshormon-kibocsátásra.

A 2. ábra szintén olyan diagram, amely bemutatja a lineáris analógok hatását a patkányhipofízis által végzett növekedéshormon-kibocsátásra.

A vegyület szerkezete

A találmány szerinti vegyületek általános képletét már bemutattuk a leírás elején. Ezek a vegyületek mind a szomatostatin oktapeptid analógjai, amelyek a 4. he-

lyen D-Trp-t és az 5. helyen Lys-t tartalmaznak. Úgy találtuk, hogy különösen fokozzák az aktivitást azok a módosítások, amelyekben az A² helyen p-klór-fenilalanin és az A⁸ helyen treonin található. Azok a vegyületek viszont, amelyek az A⁸ helyen aromás aminosavat tartalmaznak, inaktívak, ha akár az A², akár az A⁷ helyen szintén aromás aminosav található.

A vegyületek gyógyászatilag elfogadható sói, például savaddíciós sói is előállíthatók a peptidkémiaiában jártas szakemberek számára ismert módon. Egy tipikus ilyen eljárást ismertet például az US-5 552 520 számú dokumentum. Az előnyös sókra példák lehetnek gyógyászatilag szerves savakkal, például ecetsavval, tejsavval, maleinsavval, citromsavval, almasavval, aszkorbinsavval, borostyánkőssavval, benzoosavval, szalicilsavval, metánszulfonsavval, toluolszulfonsavval vagy pamoésavval képzett sók, polimersavakkal, például cseresavval vagy karboxi-metil-cellulózzal képzett sók, valamint szerves savakkal, például halogén-hidrogénekkel, mint sósavval, kénsavval és foszforsavval képzett sók.

A találmány szerinti gyógyszerkészítmények alkalmazása

Emlősöknek, elsősorban embereknek adagolva (például orálisan, helyileg, intravénásan, parenterálisan készletetett kibocsátással biológiailag lebontható vagy le nem bontható formában, nazálisan vagy végbélben át) a vegyületek hatásosak a növekedési hormon kibocsátásának gátlásában, valamint a szomatomedinek (például IGF-1), inzulin, glukagon, más autoparakrin-növekedési faktorok vagy hasnyálmirigy külső elválasztású anyagai szekréciójának gátlásában, továbbá hatásosak lehetnek a központi idegrendszerre.

A vegyületeket emlősöknek, például embereknek, például olyan dózisban adagolhatjuk, mint a szomatostatint, vagy kisebb adagokban, mivel ezeknek a vegyületeknek a hatása nagyobb.

A találmány szerinti gyógyszerkészítmények közé tartoznak a hosszan tartó kibocsátásra alkalmas gyógyszerkészítmények, amelyek biológiailag lebontható vagy biológiailag le nem bontható hordozó- és/vagy egyéb segédanyagokat tartalmaznak.

A biológiailag lebontható anyagokon olyan anyagokat értünk, amelyek biológiai környezetben olyan kisebb komponensekre bomlanak, amelyek nem lépnek káros kölcsönhatásba a kezelt egyed szervezetével. A biológiailag le nem bontható anyagokon olyan anyagokat értünk, amelyek viszont nem bomlanak le biológiai környezetben.

A találmány szerinti vegyületek alkalmazhatók rák, elsősorban növekedési hormontól függő rák [pl. csont-, porc-, hasnyálmirigy (külső- és belső elválasztású egyaránt) -, prosztata- vagy mellrák], akromegália és ezekkel kapcsolatos túlkiválasztó endokrin állapotok, valamint vérző fekélyek kezelésére sürgős beavatkozást igénylő betegek, valamint olyan betegek esetén, akik hasnyálmirigy-gyulladásban vagy hasmenésben szenvednek. A vegyületek alkalmazhatók cukorbetegség kezelésére és a májzsugorban, valamint hepatitiszben szenvedők májának védelmére. A vegyületek alkalmazha-

tók Alzheimer-kór kezelésére is mint fájdalomcsillapítók a fájdalom kezelésére, mivel bizonyos opiát receptorokra fajlagosan hatnak, de alkalmazhatók emésztősejtvédő vegyületeként is a fekélyterápiában. A vegyületek alkalmazhatók a gombamérgezések bizonyos típusainak kezelésére is.

A vegyületek alkalmazhatók a cukorbetegséggel társult retinopátia kezelésében is. A vegyületek rákellenes aktivitása valószínűleg azon képességükön alapul, hogy antagonizálnak a rákkal kapcsolatos növekedési faktorokkal, például az epidermális növekedési faktorokkal.

A vegyületeket emlősöknek, például embereknek, 0,01–1000×10⁻⁵ g/kg/nap, előnyösen 0,1–100×10⁻⁵ g/kg/nap adagban adagoljuk.

Mechanizmus

A szomatostatint korábban leírt analógjainak aktivitása egy diszulfid jelenlététől függ, amely a peptid végein vagy végeinek közelében elhelyezhető ciszteingyökök között alakul ki (ezzel kapcsolatban lásd Coy és munkatársai 4 485 101 számú amerikai egyesült államokbeli szabadalmi leírást). A diszulfidkötések eredményezik az aktivitáshoz szükséges ciklusos konformációt.

Egy diszulfidhíd beépítése az említett szintetikus peptidekbe nemkívánatos tulajdonságot eredményez, amennyiben a diszulfidhíd képződését elősegítő szintézis drámai csökkenést okoz a szintézis általános kitermelésében. Ezenkívül a diszulfidkötések ki vannak téve az oxidáció hatásának, így kevésbé stabil terméket képeznek.

A találmány szerinti megoldás elkerüli a diszulfidkötések alkalmazását és az azokkal járó hátrányokat. A találmány szerinti oktapeptidek nem kovalens kölcsönhatásokat hasznosítanak a kritikus helyzetben levő láncalkotó aminosavgyökök oldalláncjai között, így hajtű- vagy kváziciklusos konformációt adnak a peptideknek.

A találmány szerinti aminosavak oldalláncjai és helyettesített oldalláncjai kölcsönhatások két típusának vannak kitéve, amelyek abban az irányban hatnak, hogy kialakuljon a peptid kívánt terciér szerkezete. A kölcsönhatások egyik típusa akkor jön létre, amikor hidrofób oldalláncokat viselő aminosavak helyezkednek el a peptid egyik vagy mindkét végénél. Az ilyen szerkezetű peptidek a hidrofób maradékoknak azt a tendenciáját használják ki, hogy elkerüljék a kapcsolatot a poláris anyagokkal. A peptid két végén jelen levő hidrofób csoportok közti kölcsönhatások, amelyek meghaladják az ezen csoportok és a fiziológiai környezet poláris oldószerei közötti kölcsönhatásokat, hajtű- vagy kváziciklusos konfigurációt adnak a peptideknek.

A kölcsönhatások második típusa a peptid két végén levő aminosavak elektronátadó és elektronvonzó kölcsönhatásának eredményeképpen alakul ki. A találmányra jellemzőek az olyan peptidek, amelyekben a peptid egyik végénél elektronátadó csoport, míg a peptid másik végénél elektronvonzó csoport helyezkedik el. A vonzás a peptid egyik végén levő elektronátadó és a másik végén levő elektronvonzó csoport között

úgy működik, hogy hajtű- vagy kváziciklusos szerkezetet ad a peptidnek. Egy adott peptidben mind a hidrofób-hidrofób, mind az elektronátadó–elektronvonzó kölcsönhatások működhetnek.

A peptidok szintézise

Egy gyógyhatású peptid előállítását ismertetjük az alábbiakban. A további peptidket ugyanígy lehet előállítani a megfelelő módosításokkal, amelyek a szintetikus peptidok előállításában átlagosan jártas szakemberek számára nyilvánvalóak.

A D-Phe-Phe-Phe-D-Trp-Lys-Thr-Phe-Thr-NH₂ peptid előállításában az első lépés a

Boc-D-Phe-Phe-Phe-D-Trp-N-benzil-oxi-karbonil-Lys-O-benzil-Thr-Phe-O-benzil-Thr-benzhidril-amin gyanta köztitermék előállítása a következők szerint.

Benzhidril-amin-polisztirol gyantát (Advanced Chem Tech. Inc.) (1,2 g; 0,5 mmol) kloridion formában egy Advanced Chem Tech peptidszintetizáló berendezés reakcióedényébe helyezünk; ez a berendezés úgy van programozva, hogy az alábbi reagenseket adagoló reakcióciklust hajtja végre: (a) metilén-klorid; (b) 33% trifluor-ecetsav metilén-kloridban (kétszer, mindegyiket 1 óra 25 percen át végezve); (c) metilén-klorid; (d) etanol; (e) metilén-klorid; és (f) 10% trietil-amin kloroformban.

A semlegesített gyantát Boc-O-benzil-treoninnal és diizopropil-karbodiimiddal (1,5–1,5 mmol/l) metilén-kloridban kevertetjük 1 órán át, és az így keletkezett aminosavgyantát átvisszük a fenti mosási program (a)–(f) lépéseire. Ezután egymás után rákapcsoljuk az alábbi aminosavakat (1,5 mmol) hasonló munkame-
nettel:

Boc-Phe, Boc-O-benzil-Thr, Boc-N-benzil-oxi-karbonil-lizin, Boc-D-Trp, Boc-Phe, továbbá Boc-Phe és Boc-D-Phe. Mosás és szárítás után a teljes gyanta 1,70 g tömegű.

- 5 A gyantát (1,70 g; 0,5 mmol) azután összekeverjük krezollal (5 ml), ditiotreitollal (100 mg) és vízmentes hidrogén-fluoriddal (35 ml) 0 °C hőmérsékleten; és kevertetjük 45 percen át. A fölösleges hidrogén-fluoridot gyorsan elpárologtatjuk száraz nitrogénáramban, és a szabad peptidet kicsapjuk, majd éterrel mossuk. A nyers peptidet azután feloldjuk minimális térfogatú 50%-os ecetsavval és Sephadex G–25 oszlopon (2,5×100 cm) eluáljuk, azonos oldószert alkalmazva. A fő alkotórészt tartalmazó frakciókat – amelyeket UV-abszorpcióval és vékonyréteg-kromatográfiával azonosítunk – össze-
gyűjtjük, kis térfogatra bepároljuk, és Vydac okta-decilszilán szilikagél (10–15 µm) oszlopra (2,5×50 cm) visszük fel.

- 20 Az oszlopot acetonitril 10–45%-os lineáris gradien-
sével eluáljuk 0,1% trifluor-ecetsavat tartalmazó vízben. A frakciókat vékonyréteg-kromatográfiával (TLC) és analitikai nagy teljesítményű folyadékkromatográfiával (HPLC) vizsgáljuk, és úgy gyűjtjük össze a megfelelő frakciókat, hogy maximális tisztaságú terméket kapjunk. Az oldat ismételt liofilizálásával vízből 65 mg terméket kapunk fehér, pelyhes por formájában.

A terméket HPLC-vel és TLC-vel homogennek találjuk. A savas hidrolizátum aminosavelemzése igazolja az oktapeptidösszetételt.

- 30 A találmány szerinti további peptidket azonos módon állítjuk elő, mint a fenti peptidet, és az I. táblázatban foglaljuk össze.

I. táblázat

Szomatostatin analóg	Képlet	Móltömeg (MS)**	Móltömeg (számított)
BIM–23 049	D-β-Nal-Ala-Tyr-D-Trp-Lys-Val-Ala-Thr-NH ₂	1034,7	1034,24
BIM–23 051	D-Phe-Ala-Phe-D-Trp-Lys-Thr-Ala-Thr-NH ₂	970,3	970,15
BIM–23 052	D-Phe-Phe-Phe-D-Trp-Lys-Thr-Phe-Thr-NH ₂	1122,7	1122,35
BIM–23 053	D-Phe-Ala-Tyr-D-Trp-Lys-Val-Ala-β-Nal-NH ₂	1180,7	1080,31
BIM–23 055*	D-Phe-Phe-Tyr-D-Trp-Lys-Val-Phe-D-Phe-NH ₂	1182,9	1182,43
BIM–23 056*	D-Phe-Phe-Tyr-D-Trp-Lys-Val-Phe-D-β-Nal-NH ₂	1233,0	1232,48
BIM–23 057	D-Phe-Cpa-Tyr-D-Trp-Lys-Val-Phe-Thr-NH ₂	1170,8	1170,82
BIM–23 058	D-Phe-Phe-Tyr-D-Trp-Lys-Val-Phe-Thr-NH ₂	1138,5	1138,35
BIM–23 062	D-Cpa-Ala-Tyr-D-Trp-Lys-Val-Ala-D-β-Nal-NH ₂	1114,7	1114,75
BIM–23 063*	D-Phe-Cpa-Tyr-D-Trp-Lys-Thr-Phe-β-Nal-NH ₂	1268,9	1268,92
BIM–23 064	D-Phe-Cpa-Tyr-D-Trp-Lys-Val-Phe-D-Ala-NH ₂	1140,6	1140,79
BIM–23 065	D-β-Nal-Cpa-Tyr-D-Trp-Lys-Thr-Phe-Thr-NH ₂	1222,8	1222,85
BIM–23 066	D-Phe-p-NO ₂ -Phe-Tyr-D-Trp-Lys-Val-Phe-Thr-NH ₂	1181,8	1181,39
BIM–23 067	D-Cpa-Ala-Tyr-D-Trp-Lys-Val-Ala-D-Phe-NH ₂	1064,5	1064,69
BIM–23 068	D-Phe-Cpa-Tyr-D-Trp-Lys-Thr-Phe-Thr-NH ₂	1172,7	1172,79
BIM–23 069	D-Cpa-Ala-Tyr-D-Trp-Lys-Val-Ala-β-Nal-NH ₂	1194,6	1114,75
BIM–23 070	D-Phe-Ala-Tyr-D-Trp-Lys-Thr-Ala-β-Nal-NH ₂	1082,6	1082,28

I. táblázat (folytatás)

Szomatostatin analóg	Képlet	Móltömeg (MS)**	Móltömeg (számított)
BIM-23 073	D-Phe-Ala-Tyr-D-Trp-Lys-Val-Ala-D-β-Nal-NH ₂	1180,6	1080,31
BIM-23 108	D-β-Nal-Ala-Tyr-D-Trp-Lys-Val-Ala-β-Nal-NH ₂	1130,7	1130,37
BIM-23 126	D-Tyr-Phe-Phe-D-Trp-Lys-Thr-Phe-Thr-NH ₂	1138,7	1138,35

Megjegyzések:

* Az oltalmi körbe nem tartozó vegyületek.

** A móltömeget infúziós tömegspektroszkópiával, egy elektronsugár ionizációs (ESI) forrással felszerelt Finnigan SSQ 7000 jelű spektrométerrel határoztuk meg.

A lineáris szomatostatin analógok hatása a növekedési hormon szekréciójára patkányhipofizissejt-tenyészet diszperzióban

A találmány szerinti polipeptideket megvizsgáltuk növekedéshormon-kibocsátási aktivitás gátlására, patkányhipofizissejteket alkalmazva a következő módon.

Szabályozott körülmények (fényhatás 5,00 és 10,00 óra) között tartott, 200–250 g testtömegű felnőtt hím Charles River CD (Wilmington, Maryland) patkányok elülső hipofiziseit kiemeltük, és aseptikus körülmények között tenyésztjük korábban a leírt eljárások módosított változatai szerint [Hoefler és munkatársai: Mol. Cell. Endocrinol. 35, 229 (1984); Ben-Jonathan és munkatársai: Methods Enzymol. 103, 249 (1983); Heiman és munkatársai: Endocrinology 116, 410 (1985)]. Az agyalapi mirigyeket a lefejezett patkányokból eltávolítjuk, feldaraboljuk, majd szilikonozott folyadékszintillációs kémcsőbe helyezzük, amely 0,2% tripszint (Worthington Biochemicals, Freehold, New Jersey) tartalmaz sterilre szűrt Krebs–Ringer-bikarbonátpufferban, amely ki van egészítve 1% szarvasmarha-szérumalbuminnal, 14 mmol/l g glükózzal, módosított Eagle tápközeg (MEM) vitaminoldattal és MEM aminosavakkal (Gibco Laboratories, Grand Island, New York) (KRGBA). Az összes üvegáru szilikonozott, amint ezt Sayers és munkatársai leírták [Endocrinology 88, 1063 (1971)]. A fragmentumokat 35 percig 37 °C hőmérsékleten kevertetés közben vízfürdőben inkubáljuk. A kémcsővek tartalmát azután olyan szcintillációs kémcsőbe öntjük, amely 2 ml 0,1%-os DN-ázt (Sigma Chemical Co., St. Louis, Missouri) tartalmazott KRGBA-ban, majd 2 percen át 37 °C hőmérsékleten kevertetés közben inkubáljuk. Inkubálás után a szövetet visszadekantáljuk a centrifugácsőbe, és hagyjuk leülepedni. A tápközeget leöntjük, és a hipofizismetszeteket háromszor mossuk 1 ml friss KRGBA-val. A sejteket azután óvatosan diszpergáljuk olyan módon, hogy a fragmentumokat beszívjuk egy szilikonozott, lánggal kezelt Pasteur-pipettába 2 ml 0,05% LBI-ben (limababtripszin inhibitor; Worthington Biochemicals), majd kifűjük belőle. A diszpergált sejteket 630 μm nyílású nejlonhálón átszűrjük (Nylon Mesh, Tetko, Elmsford, New York) egy új, 15 ml-es centrifugácsőbe, és 100×g-nél 1 órán át végzett centrifugálással kinyerjük. A végső sebességet fokozatosan érjük el a centrifugálási periódus első 17 perce alatt.

A centrifugálás után a tápközeget eldobjuk, és az üledékbe jutott sejteket újrasszuspendáljuk friss LBI-ben (2 ml), Pasteur-pipetta segítségével. A diszpergált sejteket azután mintegy 15 ml sterilre szűrt, Dulbecco-féle módosított Eagle tápközeggel (GIBCO) hígítjuk, amely még ki van egészítve 2,5% borjúembrió-szérummal (GIBCO), 3% lószérummal (GIBCO), 10% friss patkányszérummal a hipofízis donorjától (ezt legfeljebb 1 óráig szabad jégen tárolva eltartani), 1% MEM nem esszenciális aminosavkeverékkel (GIBCO), 10 ng/ml gentamicinnel (Sigma) és 10 000 egység/ml nisztatinnal (GIBCO). A sejteket 50 ml-es, kerek fenekű, nagy átmérőjű nyílással bíró üveg extrahálólombikba öntjük, és hemacitóméterrel megszámláljuk (hipofízisenként mintegy 2 000 000 sejt), majd 200 000 sejt/üreg sűrűséggel véletlenszerűen lemezre visszük (Co-star Cluster 24, Rochester Scientific Co., Rochester, New York). A lemezre vitt sejteket a fenti Dulbecco-féle tápközegen tartjuk fenn nedvesített atmoszférában – amelynek összetétele 95% levegő és 5% CO₂ –, 37 °C hőmérsékleten 96 órán át.

A hormonos kezeléshez való előkészítésnél a sejteket háromszor mossuk 199. számú tápközeggel (GIBCO), hogy eltávolítsuk az elhasznált tápközeget és a lebegő sejteket. Az analógok egyes adagjait (normál fiziológiás konyhasóoldatban hígítva szilikonozott kémcsövekben) 1 mmol/l GRF (1–29)NH₂ (növekedési-hormon-kibocsátó faktor) jelenlétében vizsgáljuk négy párhuzamos üregben, összesen 1 ml 199. számú tápközegben, amely 1% BSA-t is tartalmaz (V. frakció; Sigma). 3 órás, 37 °C hőmérsékleten, levegő–széndioxid atmoszférában (95:5) végzett inkubálás után a tápközeget eltávolítjuk, és –20 °C hőmérsékleten tároljuk, amíg megvizsgáljuk hormontartalomra. A növekedési hormont hagyományos radioimmuno-assayval mérjük, antinövekedési hormonantitestet alkalmazva.

Az 1. és 2. ábrán 9 különböző peptidnek a növekedési hormon kibocsátására gyakorolt hatását mutatjuk be tenyésztett patkányhipofizissejtekben. A DC–25–4 (1. ábra) és DC–25–24 (2. ábra) peptid a legaktívabban a növekedési hormon kibocsátásának gátlásában. Mind a DC–25–4, mind a DC–25–24 tartalmaz egy elektronvonzó csoportot a molekula egyik végének közelében és egy elektronátadó csoportot a molekula másik végének közelében. A DC–23–85 (1. ábra) és DC–25–16 (2. ábra) peptid, amelyek nem tartoznak a

találmány szerinti peptidek körébe, lényegében nem mutatnak aktivitást.

¹²⁵I szomatotropin-kibocsátást gátló faktor- (SRIF-14) kötés gátlása lineáris szomatostatín analógokkal

Nyers membránkészítményeket nyerünk patkány-hasnyálmirigyből, -agykéregből vagy humán aprósejtes tüdőrák- (NCI-H69) sejtekből olyan módon, hogy a szöveteket vagy sejteket homogenizáljuk (Polytron, 6. állás, 15 másodperc) jéghideg 50 mmol/l-es trisz.HCl-ban, majd kétszer centrifugáljuk 39 000 × g-nél (10-10 perc), a két centrifugálás között újrasszuszpendálva friss pufferban. A membránkészítmény alikvotjait újra szuszpendáljuk 10 mmol/l trisz.HCl-ban a vizsgálathoz. A membránkészítmény alikvotjait 25 percig inkubáljuk 30 °C hőmérsékleten jelzett szomatotropin-kibocsátást gátló faktorról [¹²⁵I-Tyr¹¹]SRIF-14-gyel (2000 Ci/mmol; Amersham Corp.) 50 mmol/l HEPES-ben, amely tartalmaz még szarvasmarha-szérumalbumint (10 mg/ml; V. frakció; Sigma Chem.), MgCl₂-ot (5 mmol/l), trasyolt (200 KI egység/ml); bacitracint (0,02 mg/ml) és fenil-metil-szulfonil-fluoridot (0,02 mg/ml). A végső vizsgálati

térfogat 0,3 ml. Az inkubálást úgy fejezzük be, hogy gyorsan átszűrjük a keveréket Whatman GF/C szűrőn (amelyet előzőleg 0,3% polietiléniminnel átöblítettünk), csökkentett nyomáson. Az egyes csöveket és szűrőket azután háromszor mostuk jéghideg puffer 5 ml-es alikvotjaival. Fajlagos kötés az az érték, amely a teljes kötött [¹²⁵I]SRIF-14-től a 200 nmol/l nem jelzett SRIF-14 jelenlétében kötődött értéke kivonásával adódik.

A II. táblázat tartalmazza a [¹²⁵I]SRIF-14 kötés találmány szerinti lineáris peptidek általi gátlásának eredményeit. A [¹²⁵I]SRIF-14 koncentrációja mintegy 0,05 nmol/l. (A zárójelben megadott értékek a független meghatározások számát jelzik.) Az IC₅₀-et (az analógok az a koncentrációja, amely 50% versengő gátlást eredményez) nmol/l értékekben jelöljük a hasnyálmirigynél, az aprósejtes tüdőráknál (SCLC) és az agynál. Az eredmények azt mutatják, hogy a DC-25-4 és a DC-23-99 analógok különösen hatékonyak a [¹²⁵I]SRIF-14 kötésének gátlásában. A DC-23-85 peptid, amely nem tartozik a találmány szerinti peptidek körébe, a [¹²⁵I]SRIF-14 kötését csak nagyon gyengén gátolja.

II. táblázat

A [¹²⁵I]SRIF-14 kötés gátlása szomatostatín lineáris analógjaival

Analóg	IC ₅₀ (nmol/l)		
	Hasnyálmirigy	SCLC*	Agy
Szomatostatín	0,53 (5)	4,2 (5)	0,53 (3)
BIM-23053/DC-25-4	2,8 (2)	2,2 (1)	109
BIM-23052/DC-23-99	9,4 (1)	1,2 (1)	7,3 (1)
BIM-23049/DC-23-76	9,2 (3)	2,1 (1)	>10 000 (1)
BIM-23051/DC-23-89	34 (2)	15 (1)	>10 000 (1)
BIM-23050/DC-23-85	264 (1)		2189

* SCLC=tüdő aprósejtes karcinóma

Az eredmények az analóg nmol/l koncentrációjában vannak kifejezve, amely a [¹²⁵I]SRIF-14 kötés 50%-os gátlását idézi elő (IC₅₀). A zárójelben levő számok a kísérletek számát jelzik. Az analógok szerkezete az alábbi:

BIM-23049/DC-23-76: D-β-Nal-Ala-Tyr-D-Trp-Lys-Val-Ala-Thr-NH₂;

BIM-23050/DC-23-85: N-metil-D-Ala-Tyr-D-Trp-Lys-Val-Phe-NH₂;

BIM-23051/DC-23-89: D-Phe-Ala-Phe-D-Trp-Lys-Thr-Ala-Thr-NH₂;

BIM-23052/DC-23-99: D-Phe-Phe-Phe-D-Trp-Lys-Thr-Phe-Thr-NH₂;

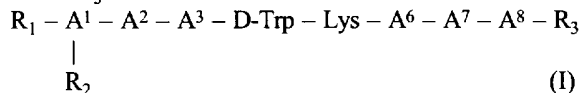
BIM-23053/DC-23-4: D-Phe-Ala-Tyr-D-Trp-Lys-Val-Ala-D-β-Nal-NH₂.

A SRIF-14 szerkezete az alábbi:

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

SZABADALMI IGÉNYPONTOK

1. Eljárás



általános képletű oktapeptidek és gyógyászati lág elfogadható savaddíciós sóik előállítására – a képletben

R₁ és R₂ jelentése hidrogénatom vagy rövid szénláncú alkilcsoport,

R₃ jelentése aminocsoport,

A₁ jelentése D-β-Nal, o-X-D-Phe, p-X-D-Phe, 2,4-diklór-D-Phe vagy pentafluor-D-Phe, ahol

X jelentése hidrogén-, klór-, bróm- vagy fluoratom, vagy hidroxilcsoport,

A₂ jelentése Ala, Leu, Ile, Val, Nle, β-Nal, o-X-Phe, p-X-Phe, 2,4-diklór-Phe vagy pentafluor-Phe, ahol

X jelentése hidrogén-, klór-, bróm- vagy fluoratom, vagy nitrocsoport,

A³ jelentése β-Nal, p-X-Phe, o-X-Phe, ahol

X jelentése hidrogénatom vagy hidroxilcsoport,

A⁶ jelentése Ala, Leu, Ile, Val, Nle, Ser, Thr,

A⁷ jelentése Ala, Leu, Ile, Val, Nle, Phe, β-Nal,

A⁸ jelentése D-Ala, D-Leu, D-Ile, D-Val, D-Nle, Ser, Thr, β-Nal, D-β-Nal, D-Phe,

azzal a feltétellel, hogy ha A² vagy A⁷ aromás aminosavmaradék, akkor A⁸ nem aromás aminosavmaradék, *azzal jellemezve*, hogy a megfelelő aminosavakat a megfelelő sorrendben ismert módon kondenzáljuk, és kívánt esetben a kapott (I) általános képletű vegyületet savaddíciós sóvá alakítjuk.

2. Az 1. igénypont szerinti eljárás olyan (I) általános képletű oktapeptidek előállítására, ahol a képletben A¹ és A² közül legalább az egyik aromás aminosavmaradék, és A⁷ és A⁸ közül legalább az egyik aromás aminosavmaradék, *azzal jellemezve*, hogy a megfelelő kiindulási vegyületeket reagáltatjuk.

3. Az 1. igénypont szerinti eljárás olyan (I) általános képletű oktapeptidek előállítására, ahol a képletben A¹ jelentése D-β-Nal, és

A⁸ jelentése D-Ala, D-Leu, D-Ile, Ser, Thr, D-Val vagy D-Phe,

azzal jellemezve, hogy a megfelelő kiindulási vegyületeket reagáltatjuk.

4. Az 1. igénypont szerinti eljárás olyan (I) általános képletű oktapeptidek előállítására, ahol a képletben A₁ jelentése o-X-D-Phe, p-X-D-Phe, 2,4-diklór-D-Phe vagy pentafluor-D-Phe, ahol

X jelentése hidrogén-, klór-, bróm- vagy fluoratom, vagy hidroxilcsoport,

A⁸ jelentése D-Ala, D-Leu, D-Ile, Thr, D-Val, D-Nle, β-Nal, D-β-Nal, D-Phe,

azzal jellemezve, hogy a megfelelő kiindulási vegyületeket reagáltatjuk.

5. Az 1. igénypont szerinti eljárás olyan (I) általános képletű oktapeptidek előállítására, ahol a képletben A¹ jelentése o-X-D-Phe, p-X-D-Phe, 2,4-diklór-D-Phe vagy pentafluor-D-Phe, ahol

X jelentése hidrogén-, klór-, bróm- vagy fluoratom, vagy hidroxilcsoport, és

A⁸ jelentése Thr vagy β-Nal, D-β-Nal,

azzal jellemezve, hogy a megfelelő kiindulási vegyületeket reagáltatjuk.

6. Az 1. igénypont szerinti eljárás olyan (I) általános képletű oktapeptidek előállítására, ahol a képletben A¹ jelentése D-β-Nal, és

A⁸ jelentése Ser, Thr,

azzal jellemezve, hogy a megfelelő kiindulási vegyületeket reagáltatjuk.

7. Az 1. igénypont szerinti eljárás olyan (I) általános képletű oktapeptidek előállítására, ahol a képletben A¹ jelentése D-β-Nal vagy D-Phe;

A² jelentése Ala, Phe vagy p-klór-Phe;

A³ jelentése Tyr vagy Phe;

A⁶ jelentése Val vagy Thr;

A⁷ jelentése Ala vagy Phe; és

A⁸ jelentése Thr vagy β-D-Nal,

azzal jellemezve, hogy a megfelelő kiindulási vegyületeket reagáltatjuk.

8. Az 1. igénypont szerinti eljárás az (I) általános képletű oktapeptidek körébe tartozó következő peptidek előállítására:

D-Phe-p-klór-Phe-Tyr-D-Trp-Lys-Val-Phe-Thr-NH₂;

D-Phe-Phe-Tyr-D-Trp-Lys-Val-Phe-Thr-NH₂;

D-Phe-Phe-Phe-D-Trp-Lys-Thr-Phe-Thr-NH₂;

10 D-Phe-Ala-Tyr-D-Trp-Lys-Val-Ala-D-β-Nal-NH₂, *azzal jellemezve*, hogy a megfelelő kiindulási vegyületeket reagáltatjuk.

9. Eljárás gyógyszerkészítmények előállítására, *azzal jellemezve*, hogy valamely, az 1. igénypont szerinti eljárással előállított (I) általános képletű oktapeptidet – a képletben a szimbólumok jelentése az 1. igénypont szerinti – vagy savaddíciós sóját a gyógyszerkészítésben szokásos hígító-, hordozó- és/vagy egyéb segédanyagokkal összekeverve gyógyszerkészítménnyé alakítunk.

10. A 9. igénypont szerinti eljárás orális adagolás céljára pilula, tableta vagy kapszula formájú gyógyszerkészítmények előállítására, *azzal jellemezve*, hogy a megfelelő hígító-, hordozó- és/vagy egyéb segédanyagokat alkalmazva a megfelelő gyógyszerformát alakítjuk ki.

11. A 9. igénypont szerinti eljárás orális adagolás céljára folyadék formájú gyógyszerkészítmények előállítására, *azzal jellemezve*, hogy a megfelelő hígító-, hordozó- és/vagy egyéb segédanyagokat alkalmazva a megfelelő gyógyszerformát alakítjuk ki.

12. A 9. igénypont szerinti eljárás olyan bevonattal ellátott gyógyszerkészítmények előállítására, amelyek a készítményt képesek megvédeni az emésztősavaktól a kezelt emlős gyomrában annyi ideig, amely elegendő ahhoz, hogy a kompozíció szétesés nélkül eljusson a vékonybélbe, *azzal jellemezve*, hogy a megfelelő hígító-, hordozó- és/vagy egyéb segédanyagokat alkalmazva a megfelelő gyógyszerformát alakítjuk ki.

13. A 9. igénypont szerinti eljárás helyi vagy iontoforézises alkalmazás céljára krém, gél, permet vagy kenőcs formájú gyógyszerkészítmények előállítására, *azzal jellemezve*, hogy a megfelelő hígító-, hordozó- és/vagy egyéb segédanyagokat alkalmazva a megfelelő gyógyszerformát alakítjuk ki.

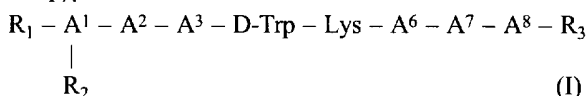
14. A 9. igénypont szerinti eljárás nazális adagolás céljára folyadék formájú gyógyszerkészítmények előállítására, *azzal jellemezve*, hogy a megfelelő hígító-, hordozó- és/vagy egyéb segédanyagokat alkalmazva a megfelelő gyógyszerformát alakítjuk ki.

15. A 9. igénypont szerinti eljárás intravénás, szubkután, parenterális vagy intraperitoneális adagolás céljára folyadék formájú gyógyszerkészítmények előállítására, *azzal jellemezve*, hogy a megfelelő hígító-, hordozó- és/vagy egyéb segédanyagokat alkalmazva a megfelelő gyógyszerformát alakítjuk ki.

16. A 9. igénypont szerinti eljárás intramuszkuláris adagolás céljára szolgáló, hosszan tartó kibocsátásra alkalmas formájú gyógyszerkészítmények előállítására, *azzal jellemezve*, hogy a megfelelő hígító-, hordozó-

és/vagy egyéb segédanyagokat alkalmazva a megfelelő gyógyszerformát alakítjuk ki.

17.



általános képletű oktapeptidek és gyógyászati lag elfogadható savaddíciós sóik – a képletben

R₁ és R₂ jelentése hidrogénatom vagy rövid szénláncú alkilcsoport,

R₃ jelentése aminocsoport,

A₁ jelentése D-β-Nal, o-X-D-Phe, p-X-D-Phe, 2,4-diklór-D-Phe vagy pentafluor-D-Phe, ahol

X jelentése hidrogén-, klór-, bróm- vagy fluoratom, vagy hidroxilcsoport,

A² jelentése Ala, Leu, Ile, Val, Nle, β-Nal, o-X-Phe, p-X-Phe, 2,4-diklór-Phe vagy pentafluor-Phe, ahol

X jelentése hidrogén-, klór-, bróm- vagy fluoratom, vagy nitrocsoport,

A³ jelentése β-Nal, p-X-Phe, o-X-Phe, ahol

X jelentése hidrogénatom vagy hidroxilcsoport,

A⁶ jelentése Ala, Leu, Ile, Val, Nle, Ser, Thr,

A⁷ jelentése Ala, Leu, Ile, Val, Nle, Phe, β-Nal,

A⁸ jelentése D-Ala, D-Leu, D-Ile, D-Val, D-Nle, Ser, Thr, β-Nal, D-β-Nal, D-Phe,

azzal a feltétellel, hogy ha A² vagy A⁷ aromás aminosavmaradék, akkor A⁸ nem aromás aminosavmaradék.

18. A 17. igénypont szerinti olyan (I) általános képletű oktapeptidek, ahol a képletben A¹ és A² közül legalább az egyik aromás aminosavmaradék, és A⁷ és A⁸ közül legalább az egyik aromás aminosavmaradék.

19. A 17. igénypont szerinti olyan (I) általános képletű oktapeptidek, ahol a képletben

A¹ jelentése D-β-Nal, és

A⁸ jelentése D-Ala, D-Leu, D-Ile, Ser, Thr, D-Val vagy D-Phe.

20. A 17. igénypont szerinti olyan (I) általános képletű oktapeptidek, ahol a képletben

A₁ jelentése o-X-D-Phe, p-X-D-Phe, 2,4-diklór-D-Phe vagy pentafluor-D-Phe, ahol

X jelentése hidrogén-, klór-, bróm- vagy fluoratom, vagy hidroxilcsoport,

A⁸ jelentése D-Ala, D-Leu, D-Ile, Thr, D-Val, D-Nle, β-Nal, D-β-Nal, D-Phe.

21. A 17. igénypont szerinti olyan (I) általános képletű oktapeptidek, ahol a képletben

A¹ jelentése o-X-D-Phe, p-X-D-Phe, 2,4-diklór-D-Phe vagy pentafluor-D-Phe, ahol

X jelentése hidrogén-, klór-, bróm- vagy fluoratom, vagy hidroxilcsoport, és

A⁸ jelentése Thr vagy β-Nal, D-β-Nal.

22. A 17. igénypont szerinti olyan (I) általános képletű oktapeptidek, ahol a képletben

A¹ jelentése D-β-Nal, és

A⁸ jelentése Ser, Thr.

23. A 17. igénypont szerinti olyan (I) általános képletű oktapeptidek, ahol a képletben

5 A¹ jelentése D-β-Nal vagy D-Phe;

A² jelentése Ala, Phe vagy p-klór-Phe;

A³ jelentése Tyr vagy Phe;

A⁶ jelentése Val vagy Thr;

A⁷ jelentése Ala vagy Phe; és

10 A⁸ jelentése Thr vagy D-β-Nal.

24. A 17. igénypont szerinti (I) általános képletű oktapeptidek körébe tartozó következő peptidek:

D-Phe-p-klór-Phe-Tyr-D-Trp-Lys-Val-Phe-Thr-NH₂;

D-Phe-Phe-Tyr-D-Trp-Lys-Val-Phe-Thr-NH₂;

15 D-Phe-Phe-Phe-D-Trp-Lys-Thr-Phe-Thr-NH₂;

D-Phe-Ala-Tyr-D-Trp-Lys-Val-Ala-D-β-Nal-NH₂.

25. Gyógyszerkészítmény, amely hatóanyagként valamely 17. igénypont szerinti peptidet vagy gyógyászati lag elfogadható savaddíciós sóját tartalmazza a gyógyszergyártásban szokásos hordozó-, hígító- és/vagy egyéb segédanyagok mellett.

26. A 25. igénypont szerinti, orális adagolás céljára szolgáló pilula, tabletta vagy kapszula formájú gyógyszerkészítmények, amelyek a megfelelő hígító-, hordozó- és/vagy egyéb segédanyagokat tartalmazzák.

27. A 25. igénypont szerinti, orális adagolás céljára szolgáló, folyadék formájú gyógyszerkészítmények, amelyek a megfelelő hígító-, hordozó- és/vagy egyéb segédanyagokat tartalmazzák.

30 28. A 25. igénypont szerinti, olyan bevonattal ellátott gyógyszerkészítmények, amelyek a készítményt képesek megvédeni az emésztősavaktól a kezelt emlős gyomrában annyi ideig, amely elegendő ahhoz, hogy a kompozíció szétesés nélkül eljusson a vékonybélbe, amelyek a megfelelő hígító-, hordozó- és/vagy egyéb segédanyagokat tartalmazzák.

35 29. A 25. igénypont szerinti, helyi vagy iontoforézises alkalmazás céljára szolgáló krém, gél, permet vagy kenőcs formájú gyógyszerkészítmények, amelyek a megfelelő hígító-, hordozó- és/vagy egyéb segédanyagokat tartalmazzák.

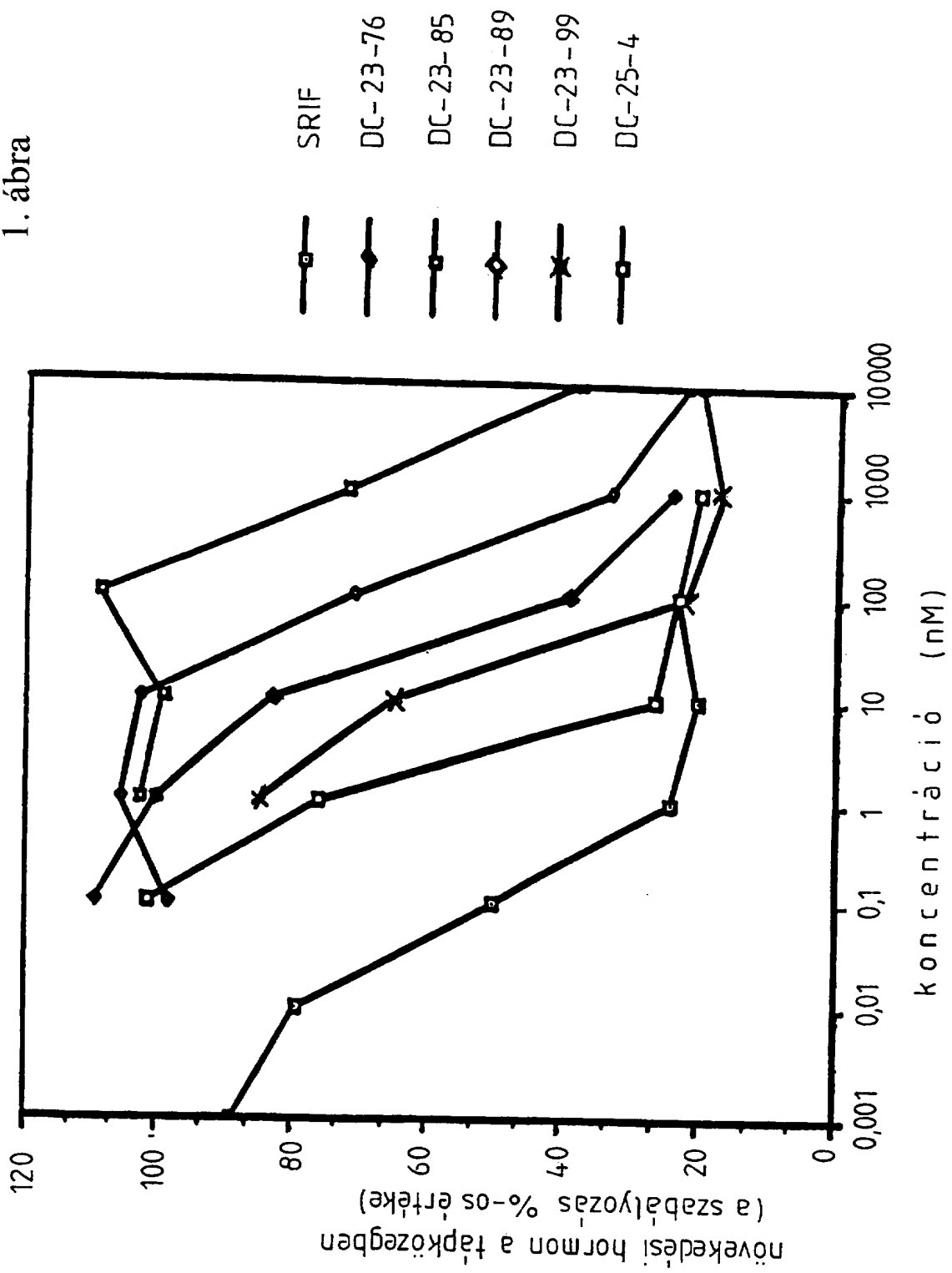
40 30. A 25. igénypont szerinti, nazális adagolás céljára szolgáló, folyadék formájú gyógyszerkészítmények, amelyek a megfelelő hígító-, hordozó- és/vagy egyéb segédanyagokat tartalmazzák.

45 31. A 25. igénypont szerinti, intravénás, szubkután, parenterális vagy intraperitoneális adagolás céljára szolgáló folyadék formájú gyógyszerkészítmények, amelyek a megfelelő hígító-, hordozó- és/vagy egyéb segédanyagokat tartalmazzák.

50 32. A 25. igénypont szerinti, intramuszkuláris adagolás céljára szolgáló, hosszan tartó kibocsátásra alkalmas formájú gyógyszerkészítmények, amelyek a megfelelő hígító-, hordozó- és/vagy egyéb segédanyagokat tartalmazzák.

55

1. ábra



2. ábra

