FI000113008B



(12) **PATENTTIJULKAISU**
PATENTSKRIFT

(10) **FI 113008 B**

(45) Patentti myönnetty - Patent beviljats **27.02.2004**

(51) Kv.lk.7 - Int.kl.7

A61K 38/04, 38/09

(21) Patenttihakemus - Patentansökning **956014**

(22) Hakemispäivä - Ansökningsdag **14.12.1995**

(24) Alkupäivä - Löpdag **02.04.1994**

(41) Tullut julkiseksi - Blivit offentlig **14.12.1995**

(86) Kv. hakemus - Int. ansökan **PCT/EP94/01037**

(32) (33) (31) Etuoikeus - Prioritet

18.06.1993 DE 4320201 P

SUOMI – FINLAND
(FI)

PATENTTI- JA REKISTERIHALLITUS
PATENT- OCH REGISTERSTYRELSEN

(73) Haltija - Innehavare

1 •Zentaris AG, Weissmüllerstrasse 45, 60314 Frankfurt/Main, SAKSA, (DE)

(72) Keksijä - Uppfinnare

1 •Engel,Jürgen, Erlenweg 3, 63755 Alzenau, SAKSA, (DE)
2 •Kutscher,Bernhard, Stresemannstrasse 9, 63477 Maintal, SAKSA, (DE)
3 •Bernd,Michael, Günthersburgallee 52, 60316 Frankfurt/Main, SAKSA, (DE)
4 •Niemeyer,Ulf, Berliner Strasse 236, 63067 Offenbach, SAKSA, (DE)

(74) Asiamies - Ombud: Kolster Oy Ab
Iso Roobertinkatu 23, 00120 Helsinki

(54) Keksinnön nimitys - Uppfinningens benämning

Menetelmä terapeuttisesti käyttökelpoisten dekapeptidien valmistamiseksi
Förfarande för framställning av terapeutiskt användbara dekapeptider

(56) Viitejulkaisut - Anförda publikationer

EP 192492 A, EP 299402 B, WO 9003980 A, WO 9209626 A

(57) Tiivistelmä - Sammandrag

LHRH-antagonistiset ja bombesiiniantagonistiset nona- ja dekapeptidit soveltuvat lääkkeen valmistamiseksi aids- ja ARC-sairauden vastaiseen taisteluun sekä lääkkeen valmistamiseksi immuunistimulaatioon.

LHRH-antagonistiska och bombesinantagonistiska nona- och dekapeptider lämpar sig för framställning av läkemedel för bekämpning av sjukdomarna Aids och ARC, samt för framställning av läkemedel för immunstimulering.

Menetelmä terapeuttisesti käyttökelpoisten dekapeptidien valmistamiseksi

Vuodesta 1981 havaittiin homoseksuaalisilla miehillä New Yorkissa ja San Fransiskossa runsaasti siihen astisesti harvinaisia parantumattomia tartuntoja. Kaikilla potilailla todettiin vakavia immuunipuolustuksen puutteita. Pian tämän jälkeen Luc Montagnier Pasteur -instituutista löysi uuden viruksen, ihmisen immuunikatoviruksen (Human Immunodeficiency Virus, HIV).

Aids-terapiaksi on tällä hetkellä käytettävissä vain dideoksinukleosidianalogi 3'-atsido-3'-deoksitymidiini (AZT) tai zidovudiini (INN). Tämä mahdollisti sairauden oireiden lievittämisen ja aids-potilaiden keskimääräisen elinajan pidentämisen (EP-patenttihakemus 206 497). AZT-terapiassa tapahtuu resistenttien viruskantojen muodostumista ja vakavia sivuvaikutuksia luuytimeen. Muita lääkkeitä on kliinisissä kokeissa. Täten kuvataan DE-patenttihakemuksessa 39 35 580 1-oktadekyyli-2-metyyli-glysero-3-fosfokoliinin käyttöä lääkkeiden valmistamiseksi HIV-tartuntojen vastaisessa taistelussa. EP-patenttihakemuksessa 493 378 kuvataan 2'-3'-dedeoksiguanosiinin tai 2'-3'-dedeoksiguanosiinin mono- tai trifosfaattien käyttöä samaan tarkoitukseen.

Kaikki nämä aineet ovat vielä kliinisen kehittämisen vaiheessa, eikä niillä ole toistaiseksi saavutettu markkinointivalmiutta.

Virusvastaisen kemoterapian alueella käytetyt lääkkeet eivät tällä hetkellä osoita toivottavaa selektiivisyyttä. Syntyy siis suuri tarve saada hyvin siedettyjä, hyvin tehokkaita lääkkeitä, jotka eivät ainoastaan estä sairauden kulkua, vaan myös ehkäisevät virusten lisääntymistä ja sen lisäksi kykenevät stabiloimaan potilaiden heikentynyttä immuunijärjestelmää.

Nyt todettiin yllättäen, että aids-seulontakokeessa CEM-IW-soluilla LHRH-analogidekapeptideillä, joiden kaavat

ovat II, III, VII ja VIII, on anti-HIV- sekä kasvua stimuloiva vaikutus soluviljelmiin.

Keksinnön kohteena on menetelmä peptidien valmistamiseksi, joilla on jäljempänä määritelty kaava I. Keksinnön mukaisesti valmistettavat peptidit ovat korkeimmalla käytetyllä annostuksella vain vähän myrkyllisiä.

LHRH:n aminohapposekvenssi on:

LHRH = p-Glu^{1}-His^{2}-Trp^{3}-Ser^{4}-Tyr^{5}-Gly^{6}-Leu^{7}-Arg^{8}-Pro^{9}-Gly^{10}-NH_2.

Tarkemmin sanottuna keksintö koskee menetelmää peptidien valmistamiseksi, joilla on yleisen kaavan I mukainen aminohapposekvenssi:

Ac-D-Nal(2) - D-Phe(4Cl) - xxx - A - B - yyy - zzz - Arg - C - D-Ala-NH_2 (I)

jossa:

xxx = D-Pal(3), D-Phe(4Cl) tai D-Trp;

yyy = D-Cit, D-Lys (R), A-Arg tai D-Hci; jolloin R on C_{1-4}-asyyli tai C_{1-10}-alkyyli;

zzz = L-Leu, Nle, Nva tai t-Leu;

A = Ser, Ser(sokeri), jolloin sokeritähde on glukoosi, galaktoosi, alloosi, altroosi, mannoosi, guloosi, idoosi tai taloosi;

B = Tyr, Lys(Nic) tai Mop;

C on Pro tai Ala sillä ehdolla, että kun C on Ala, peptidillä on aminohapposekvenssi

Ac-D-Nal(2)^{1} - D-Phe(4-Cl)^{2} - D-Pal(3)^{3} - Ser^{4} - Tyr^{5} - D-Cit^{6} - Leu^{7} - Arg^{8} - Ala^{9} - D-Ala^{10}

tai sen farmaseuttisesti hyväksyttävien suolojen, kuten esimerkiksi hydrokloridin, trifluoriasetaatin, asetaatin,

sulfaatin, fosfaatin, mesylaatin tai tosylaatin, valmistamiseksi, lukuun ottamatta seuraavia peptidejä

Ac-D-Nal(2)^1 - D-Phe(4-Cl)^2 - (D-Pal(3) tai D-Trp)^3 - Ser^4 - Tyr^5 - (D-Cit tai D-Hci)^6 - Leu^7 - Arg^8 - Pro^9 - D-Ala^{10} - NH_2,

jolloin menetelmälle on tunnusomaista, että valmistus toteutetaan sinänsä tunnetulla menetelmällä, kuten kiinteäfaasisynteesillä.

Aminohapoista, peptideistä ja niiden johdannaisista käytetyt lyhenteet ovat IUPAC-IUB-kommission biokemialliseen nimikkeistöön suosittelemia [European J. Biochem. 138 (1984) 9 - 37].

Lyhenteet vähemmän käytetyille aminohapoille:

Dpa on 2,3-diaminopropionihappo;

Nal on 3-(2-naftyyli)alaniini;

Th1 on ß-2'-tienyylialaniini;

Tp1 on 2,3,4,9-tetrahydro-1H-pyrido[3,4-b]indoli-3-karboksyylihappo;

Nic on nikotinyyli;

Mop on 4-(morfolinometyyli)fenyylialaniini.

Erityisen edullisia yleisen kaavan I mukaisia yhdisteitä ovat seuraavat aminohapposekvenssit:

kaava II = [Ac-DNal(2)^1, D-Phe(pCl)^2, D-Pal(3)^3, D-Cit^6, Nle^7, D-Ala^{10}]-LHRH;

kaava III = [Ac-DNal(2)^1, D-Phe(pCl)^2, D-Pal(3)^3, D-Cit^6, Nva^7, D-Ala^{10}]-LHRH;

kaava VII = [Ac-DNal(2)^1, D-Phe(pCl)^2, D-Pal^3, D-Cit^6, t-Leu^7, D-Ala^{10}]-LHRH;

kaava VIII = [Ac-DNal(2)^1, D-Phe(pCl)^2, D-Pal(3)^3, D-Cit^6, Ala^9, D-Ala^{10}]-LHRH;

mukaan lukien peptidien farmaseuttisesti hyväksyttävät suolat, kuten esimerkiksi hydrokloridi, trifluoriasetaatti, asetaatti, sulfaatti, fosfaatti, mesylaatti tai tosylaatti.

Keksinnön mukaisesti oligopeptidit syntetisoidaan tavanomaisten, kirjallisuudesta tuttujen menetelmien mukaan. Kuvausyhteenveto tuolloin kyseeseen tulevista menetelmistä löytyy esimerkiksi kirjasta M. Bodanszky, "Principles of Peptide Synthesis", Springer-Verlag, Berliini, Heidelberg, New York, 1984.

Polypeptidien kiinteäfaasisynteesin periaatteita esitellään esimerkiksi J.M. Stewartin ja J.D. Youngin oppikirjassa "Solid Phase Peptide Synthesis", Pierce Chem. Co., Rockford, Il, 1984 (2. painos), sekä L. Baranyn et al. katsausjulkaisussa Int. J. Peptide Protein Res. 30 (1987) 705 - 739.

Kaavojen II, III, VII ja VIII mukaisten peptidien synteesit onnistuvat blokkikaavion mukaan metyylibentshydryyliamiinihatrsilla (hydrokloridi-kauppamuoto) yritykseltä Advanced Chem. Tech/Louisville (Kentucky), USA, joka kulloinkin ennen C-pään Boc-D-alaniinin sitomista muutettiin vapaaksi emäkseksi 10-%:isella trietyyliamiinilla dikloorimetaanissa (v/v).

Kaikki seuraavat Nα-Boc-suojatut aminohapot kytkettiin 3-kertaisena mooliylimääränä di-isopropyylikarbodiimidin (DIC) ja 1-hydroksibentsotriatsolin (HOBt) läsnä ollessa CH_2Cl_2/DMF:ssä 90 minuutissa, dikloorimetaani/dimetyyliformamidi-seoksissa, jotka vastasivat koostumusta 80:20 (v/v), ja Boc-suojaryhmät lohkaistiin antamalla 50-%:isen trifluorietikkahapon (TFA) vaikuttaa ½ tunnin ajan dikloorimetaanissa. Loput vapaat aminofunktiot salvattiin asetyloimalla 5-kertaisella ylimäärällä asetyyliimidatsolia dikloorimetaanissa. Peptidin rakentamisen hartsille reaktiovaiheiden jatko ilmenee blokkikaaviosta. Hartsiin sidottujen peptidien lohkaisemiseksi kiinteäfaasisynteesin kulloinenkin lopputuote kuivattiin tyhjössä ja sitä käsiteltiin 500-kertaisella ylimäärällä HF/anisolia 10:1 (v/v) 45 - 60 minuutin ajan 0 °C:ssa.

Kun HF ja anisoli oli tislattu tyhjössä eroon, saostuivat kaikki raakapeptidiamidit sekoittamalla vedettö-

mässä etyylieetterissä valkoisina kiinteinä aineina, mukana saostuneen polymeerikantajan erottaminen tapahtui pesemällä 50-%:isella (v/v) etikkahapon vesiliuoksella. Varovaisesti haihduttamalla etikkahappoliuoksia tyhjössä voitiin kulloisetkin peptidit saada hyvin raskasliikkeisinä öljyinä, jotka lisättäessä absoluuttista eetteriä kylmässä muuttuivat vähitellen valkoisiksi kiinteiksi aineiksi. Raakapeptidit eristettiin, ne pestiin sintterillä absoluuttisella eetterillä ja kuivattiin tyhjössä.

Preparatiivinen puhdistaminen tapahtui korkeapainenestekromatografian (HPLC) avulla ilmoitetuissa olosuhteissa:

parametrit preparatiiviselle HPLC:lle:

laitteet:

pumppu Shimadzu LC-8A
detektori Shimadzu SPD-6A
integraattori Shimadzu C-R4A
kontrolloija Shimadzu SCL-6A

reagenssit:

asetonitriili Lichrosolv Merck Art. 30
trifluorietikkahappo Fluka nro 91700
puhdasta vettä (Seralpur-laitteisto)

liikkuva faasi A:

970 ml vettä (puhdasta VE-vettä)
+ 30 ml asetonitriiliä
+ 1 ml trifluorietikkahappoa

liikkuva faasi B:

300 ml vettä (puhdasta VE-vettä)
+ 700 ml asetonitriiliä
+ 1 ml trifluorietikkahappoa

virtausnopeus: 40 ml/min

paine: 14 baaria

preparatiivisen ajon keskimääräinen ajoaika: noin 30 - 40 min.

Kaikkien syntetisoitujen peptidien oikea identiteetti osoitettiin puhdistuksen HPLC:llä jälkeen aminohap-

poanalyysillä, massaspektrometrialla ja ^{1}H-nmr-spektroskopisesti.

Blokkidiagrammi LH-RH-peptidien kiinteäfaasisynteesille

Kiinteäfaasisynteesin toistuvat työvaiheet on koottu seuraavaan kaavioon; vaiheet 1 - 17 kuvaavat operaatiovaiheiden tarpeellista järjestystä kulloinkin yhden aminohapon kytkemiseksi:

Vaihe	Reagenssit ja operaatiot	Aika (min)
1	Boc-aminohappo, DIC, HOBt 1:1:1	90
2	värikoe täydelliselle konversiolle; jos tämä on positiivinen, toistetaan 1 ja 2	
3	MeOH, pesu	1
4	DIPEA, 10 % CH_2Cl_2:ssa; neutralointi	2
5	MeOH; pesu	1
6	CH_2Cl_2; pesu, 3-kertainen	2
7	$(CH_3CO)_2O$, imidatsoli, 1:1, asetylointi	30
8	MeOH; pesu, 2-kertainen	1
9	CH_2Cl_2; pesu, 3-kertainen	2
10	TFA, 50 % CH_2Cl_2:ssa, Boc:in lohkaisu	1
11	TFA, 50 % CH_2Cl_2:ssa, Boc:in lohkaisu	30
12	isopropanoli; pesu ja värinpoisto	2
13	DIPEA, 10 % CH_2Cl_2:ssa; neutralointi	3
14	MeOH; pesu	1
15	DIPEA, 10 % CH_2Cl_2:ssa; neutralointi	3
16	MeOH; pesu	1
17	CH_2Cl_2; pesu, 2-kertainen	2

Edeltävän blokkidiagrammin mukainen synteesituote:

Ac-D-Nal(2)-D-Phe(4Cl)-Xxx-A-B-Yyy-Zzz-Arg-Pro-D-Ala-NH_2 (kaavan I mukainen).

Synteesien täydellisyys todettiin kloraniilikokeella Th. Christensenin mukaan, Acta Chem. Scand. B 33 (1979)

763, ja Kaiserin ninhydriinikokeella Stewartin, Youngin mukaan.

Keksinnön mukaisesti valmistettavat peptidit ovat käyttökelpoisia lääkkeen valmistamiseksi virustartuntojen terapiaan, edullisesti aids-sairauden hoitamiseksi.

Peptidit sinänsä ovat korkeimmalla käytetyllä annostuksella vain vähän myrkyllisiä. Verrattuna testattuun verrokkiyhdisteeseen atsidotymidiini ovat EC_{50}-arvot NCI-kokeessa tutkituille peptideille $5,9 \times 10^{-7}$ mol/litra - $2,0 \times 10^{-5}$ mol/litra.

Mukaan otetun verrokkiyhdisteen AZT (atsidotymidiini) EC_{50}-arvo oli esimerkiksi $3,10 \times 10^{-9}$ mol/litra.

Kaikkia yhdisteitä annosteltiin alueella 10^{-4} - 10^{-8} mol/litra. Tavanomaisesti ilmoitettu IC_{50}-arvo (inhiboiva pitoisuus, jossa ei tartutetussa viljelmässä 50 % soluista kuolee) on siksi suurempi kuin korkein annostus.

Käsitellyn tartutetun viljelmän EC_{50}-arvo on $4,5 \times 10^{-5}$ mol/litra. Koska arvot käsitellylle, ei tartutetulle viljelmälle eivät putoa IC_{50}-arvoon, voidaan IC_{50}-arvoksi ilmoittaa vain arvo korkeimmalle annostukselle, eli $IC_{50} = > 3,3 \times 10^{-5}$ mol/litra. Terapeuttinen indeksi ($TI_{50} = IC_{50}/EC_{50}$) on siksi suurempi kuin 7,30.

Kuvaus menetelmistä anti-HIV-aktiivisuuden suhteen seulomiseksi

Menetelmä soveltuu vaikuttavien aineiden etsimiseen, jotka vaikuttavat viruksen lisääntymissyklin kaikissa vaiheissa. Kokeen periaate nojaa T4-lymfosyyttien kuolemaan HIV-viruksen vaikutuksesta.

Pieniä määriä HIV-virusta lisätään soluviljelmiin. Tarvitaan viruksen ainakin kaksi täydellistä lisääntymissykliä T4-lymfosyyttien tappamiseksi ja tulosten arvioinnin mahdollistamiseksi.

Vaikuttavat aineet, joka reagoivat virionien (viruksen kaltaisten partikkelien), solujen tai viraalisten geenien tuotteiden kanssa ollakseen vuorovaikutuksessa vi-

ruksen aktiivisuuksien kanssa ja siten salvatakseen virusten lisääntymisen, suojaavat soluja kuolemalta ja lyysiltä.

Jotta voitaisiin tutkia suurta lukumäärää virusten tartuttamia soluja, on koesysteemi automatisoitu. Yhdisteitä, jotka degeneroituvat, denaturoituvat tai jotka metaboloituvat nopeasti, ei kuitenkaan voida todeta varmasti koejärjestelyllä.

Positiivisina verrokkeina kokeessa ovat AZT (atsidotymidiini) ja DDC.

Koemenetelmä

1. T4-lymfosyytteihin (CEM-solulinja) lisätään viruksia virus/solu-suhteessa noin 1:0,05 mikrotiitterilevyillä.

2. Testattava aine liuotetaan ellei toisin ole mainittu dimetyylisulfoksidiin (DMSO) ja laimennetaan suhteessa 1:200 (paino-osina). Seuraavat laimennokset tehdään puolilogaritmisissa vaiheissa DMSO:hon, minkä jälkeen niitä lisätään sekä tartutettuihin että ei tartutettuihin soluviljelmiin.

3. Viljelmiä inkuboidaan 6 - 7 päivän ajan 37 °C:ssa ilmakehässä, joka sisältää 5 % CO_2:ta.

4. Tetratsoliumsuolaa XTT lisätään soluviljelmiin ja soluviljelmiä inkuboidaan edelleen, jotta formatsaanivärireaktio kytkemisen fenatsiinimetosulfonaattiin (PMS) kautta voisi tapahtua eloonjääneiden solujen toimesta.

5. Yksittäiset soluviljelmät analysoidaan spektrometrisesti ja mikroskooppisesti eloonjääneiden solujen osalta suojavaikutuksen osoittamiseksi.

6. Käsiteltyjä, viruksen tartuttamia soluja verrataan käsiteltyihin, ei tartutettuihin soluihin. Muut vertailut (ei käsitellyt, tartutetut solut ja ei käsitellyt, ei tartutetut solut, vaikuttavaa ainetta sisältävät, soluista vapaat kuopat) suoritetaan samoilla levyillä.

7. Määritetään testatun yhdisteen aktiivisuus.

Lisää kokeellisia yksityiskohtia löytyy julkaisusta Weislow, J. Nat. Canc. Inst. 81:8 (1989) 577.

Täten keksinnön mukaisella menetelmällä valmistettavat peptidit soveltuvat lääkkeiden valmistamiseksi aidsin hoitoon ja sairauksien hoitoon, jotka liittyvät immuunikatovirustartuntaan (Aids Related Complex, ARC).

Annosteluohjeet

Keksinnön mukaisella menetelmällä valmistettavia peptidejä sisältävän lääkkeen annostus on 0,01 mg - 10 mg päivittäisannossa.

Esimerkki 1

Kaavan II mukainen peptidi:

massaspektri: $[M+H^+]$ = 1 431

^{1}H-nmr-spektri (DMSO-d_6, 250 MHz) δ miljoonaosina: 8,65 - 7,1; useita multipletteja, aromaattisia ja NH-signaaleja; 7,0 ja 6,6, 2,1 4H, aromaattisia H Tyr; 5,95 m, $NHCONH_2$ Cit; 4,8 - 4,1, useita multipletteja, C_dH; 3,75 ja 3,5, 2 multiplettia; alifaattisia H-atomeja; 3,2 - 2,65, useita multipletteja, CßH alifaattisia ja aromaattisia aminohappoja; 2,1 - 1,3, useita multipletteja, loput alifaattisia H-atomeja; 1,780, d, 3H, CH_3CO^-; 1,20, d, 3H, CßHAla; 0,80, m, Nle.

Esimerkki 2

Kaavan III mukainen peptidi:

^{1}H-nmr-spektri (DMSO-d_6, 250 MHz) δ miljoonaosina: 8,65 - 7,1; useita multipletteja, aromaattisia ja NH-signaaleja; 7,0 ja 6,6, 2d, 4H, aromaattisia H Tyr; 5,95 m, $NHCONH_2$ Cit; 4,8 - 4,1, useita multipletteja, C_2H; 3,75 ja 3,5, 2 multiplettia; alifaattisia H-atomeja; 3,2 - 2,65, useita multipletteja, CßH alifaattisia ja aromaattisia aminohappoja; 2,1 - 1,25, useita multipletteja, loput alifaattisia H-atomeja; 1,70, 5, 3H, CH_3CO^-; 1,20, d, 3H, CßH, Ala; 0,85, m, 3H, Nva.

Massaspektri: $[M+H^+]$ = 1 417.

Esimerkki 3

Kaavan VII mukainen peptidi:

massaspektri: $[M+H^+]$ = 1 431

^{1}H-nmr-spektri (DMSO-d_6, 250 MHz) δ miljoonaosina: 8,6 - 7,1, useita multipletteja, aromaattisia ja NH-signaaleja; 7,0 ja 6,6, 2d, 4H, aromaattisia H Tyr; 5,9 m $NHCONH_2$, Cit; 4,8 - 4,0, useita multipletteja, CαH; 3,85 ja 3,5, 2 multiplettia, alifaattisia H-atomeja; 3,1 - 2,7, useita multipletteja, CβH alifaattisia ja aromaattisia aminohappoja; 2,1 - 1,3, useita multiplletteja, loput alifaattisia H-atomeja; 1,7, 5,3, H, CH_3CO^-; 1,20, d, 3H, CβH Ala; 0,85, 5, 9H, t-butyyli, Tle.

Esimerkki 4

Kaavan VIII mukainen peptidi:

massaspektri: $[M+H^+]$ = 1 405

^{1}H-nmr-spektri (DMSO-d_6, 500 MHz) δ miljoonaosina: 9,1 - 7,3, useita multipletteja, arom. ja NH-signaaleja; 7,21, dd, 4H, aromaattisia H p-cl-Phe; 7,0 ja 6,6, 2d, 4H, aromaattisia H Tyr; 5,9 ja 5,4, 2m, 3H, $NHCONH_2$ Cit; 4,7 - 4,1, useita multipletteja, cαH; 3,55 - 2,8, useita multipletteja, CβH alifaattisia ja aromaattisia aminohappoja; 1,70, 5, 3H, CH_3CO-; 1,55 ja 1,45, 2 m alifaattisia signaaleja Arg ja Leu; 0,80, dd, 6H, CδH Leu.

Patenttivaatimukset

1. Menetelmä terapeuttisesti käyttökelpoisen peptidin valmistamiseksi, jolla on yleisen kaavan I mukainen aminohapposekvenssi:

Ac-D-Nal(2) - D-Phe(4Cl) - xxx - A - B - yyy - zzz - Arg - C - D-Ala-NH_2 (I)

jossa:

xxx = D-Pal(3), D-Phe(4Cl) tai D-Trp;

yyy = D-Cit, D-Lys (R), A-Arg tai D-Hci; jolloin R on C_{1-4}-asyyli tai C_{1-10}-alkyyli;

zzz = L-Leu, Nle, Nva tai t-Leu;

A = Ser, Ser(sokeri), jolloin sokeritähde on glukoosi, galaktoosi, alloosi, altroosi, mannoosi, guloosi, idoosi tai taloosi;

B = Tyr, Lys(Nic) tai Mop;

C on Pro tai Ala sillä ehdolla, että kun C on Ala, peptidillä on aminohapposekvenssi

Ac-D-Nal(2)^1 - D-Phe(4-Cl)^2 - D-Pal(3)^3 - Ser^4 - Tyr^5 - D-Cit^6 - Leu^7 - Arg^8 - Ala^9 - D-Ala^{10}

tai sen farmaseuttisesti hyväksyttävien suolojen, kuten esimerkiksi hydrokloridin, trifluoriasetaatin, asetaatin, sulfaatin, fosfaatin, mesylaatin tai tosylaatin, valmistamiseksi, lukuun ottamatta seuraavia peptidejä

Ac-D-Nal(2)^1 - D-Phe(4-Cl)^2 - (D-Pal(3) tai D-Trp)^3 - Ser^4 - Tyr^5 - (D-Cit tai D-Hci)^6 - Leu^7 - Arg^8 - Pro^9 - D-Ala^{10} - NH_2,

t u n n e t t u siitä, että valmistus toteutetaan sinänsä tunnetulla menetelmällä, kuten kiinteäfaasisynteesillä.

2. Patenttivaatimuksen 1 mukainen menetelmä, t u n n e t t u siitä, että valmistetaan peptidi, jonka aminohapposekvenssi on kaavan II mukainen:

Ac-DNal(2)^1 - D-Phe(4Cl)^2 - D-Pal(3)^3 - Ser^4 - Tyr^5 - D-Cit^6 - Nle^7 - Arg^8 - Pro^9 - D-Ala^{10}

(II)

tai sen farmaseuttisesti hyväksyttävä suola.

3. Patenttivaatimuksen 1 mukainen menetelmä, t u n n e t t u siitä, että valmistetaan peptidi, jonka aminohapposekvenssi on kaavan III mukainen:

Ac-DNal(2)^1 - D-Phe(4Cl)^2 - D-Pal(3)^3 - Ser^4 - Tyr^5 - D-Cit^6 - Nva^7 - Arg^8 - Pro^9 - D-Ala^{10}

(III)

tai sen farmaseuttisesti hyväksyttävä suola.

4. Patenttivaatimuksen 1 mukainen menetelmä, t u n n e t t u siitä, että valmistetaan peptidi, jonka aminohapposekvenssi on kaavan VII mukainen:

Ac-DNal(2)^1 - D-Phe(4Cl)^2 - D-Pal(3)^3 - Ser^4 - Tyr^5 - D-Cit^6 - t-Leu^7 - Arg^8 - Pro^9 - D-Ala^{10}

(VII)

tai sen farmaseuttisesti hyväksyttävä suola.

5. Patenttivaatimuksen 1 mukainen menetelmä, t u n n e t t u siitä, että valmistetaan peptidi, jonka aminohapposekvenssi on kaavan VIII mukainen:

Ac-DNal(2)^1 - D-Phe(4Cl)^2 - D-Pal(3)^3 - Ser^4 - Tyr^5 - D-Cit^6 - Leu^7 - Arg^8 - Ala^9 - D-Ala^{10}

(VIII)

tai sen farmaseuttisesti hyväksyttävä suola.

Patentkrav

1. Förfarande för framställning av en terapeutiskt användbar peptid med en aminosyrasekvens enligt den allmänna formeln I:

Ac-D-Nal(2) - D-Phe(4Cl) - xxx - A - B - yyy - zzz - Arg - C - D-Ala-NH_2 (I)

vari:

xxx = D-Pal(3), D-Phe(4Cl) eller D-Trp;

yyy = D-Cit, D-Lys (R), A-Arg eller D-Hci; varvid R är C_{1-4}-acyl eller C_{1-10}-alkyl;

zzz = L-Leu, Nle, Nva eller t-Leu;

A = Ser, Ser(socker), varvid sockerresten är glukos, galaktos, allos, altros, mannos, gulos, idos eller talos;

B = Tyr, Lys(Nic) eller Mop;

C är Pro eller Ala, förutsatt att när C är Ala, har peptiden aminosyrasekvensen

Ac-D-Nal(2)^1 - D-Phe(4-Cl)^2 - D-Pal(3)^3 - Ser^4 - Tyr^5 - D-Cit^6 - Leu^7 - Arg^8 - Ala^9 - D-Ala^{10}

eller för framställning av farmaceutiskt godtagbara salter därav, såsom till exempel hydroklorid, trifluoracetat, acetat, sulfat, fosfat, mesylat eller tosylat, med undantag av följande peptider

Ac-D-Nal(2)^1 - D-Phe(4-Cl)^2 - (D-Pal(3) eller D-Trp)^3 - Ser^4 - Tyr^5 - (D-Cit eller D-Hci)^6 - Leu^7 - Arg^8 - Pro^9 - D-Ala^{10} - NH_2,

k ä n n e t e c k n a t av att framställningen genomförs med ett i och för sig känt förfarande såsom fastfassyntesen.

2. Förfarande enligt patentkrav 1, k ä n n e t e c k n a t av att man framställer en peptid, med aminosyrasekvensen enligt formeln II:

Ac-DNal(2)^1 - D-Phe(4Cl)^2 - D-Pal(3)^3 - Ser^4 - Tyr^5 - D-Cit^6 - Nle^7 - Arg^8 - Pro^9 - D-Ala^{10}

(II)

eller ett farmaceutiskt godtagbart salt därav.

3. Förfarande enligt patentkrav 1, k ä n n e t e c k n a t av att man framställer en peptid med aminosyrasekvensen enligt formeln III:

Ac-DNal(2)^1 - D-Phe(4Cl)^2 - D-Pal(3)^3 - Ser^4 - Tyr^5 - D-Cit^6 - Nva^7 - Arg^8 - Pro^9 - D-Ala^{10}

(III)

eller ett farmaceutiskt godtagbart salt därav.

4. Förfarande enligt patentkrav 1, k ä n n e t e c k n a t av att man framställer en peptid med aminosyrasekvensen enligt formeln VII:

Ac-DNal(2)^1 - D-Phe(4Cl)^2 - D-Pal(3)^3 - Ser^4 - Tyr^5 - D-Cit^6 - t-Leu^7 - Arg^8 - Pro^9 - D-Ala^{10}

(VII)

eller ett farmaceutiskt godtagbart salt därav.

5. Förfarande enligt patentkrav 1, k ä n n e t e c k n a t av att man framställer en peptid, med aminosyrasekvensen enligt formeln VIII:

Ac-DNal(2)^1 - D-Phe(4Cl)^2 - D-Pal(3)^3 - Ser^4 - Tyr^5 - D-Cit^6 - Leu^7 - Arg^8 - Ala^9 - D-Ala^{10}

(VIII)

eller ett farmaceutiskt godtagbart salt därav.