



(19) **HU**

MAGYAR KÖZTÁRSASÁG
Magyar Szabadalmi Hivatal

(11) Lajstromszám: **224 614**

(13) **B1**

SZABADALMI LEÍRÁS

(21) A bejelentés ügyszáma: **P 96 02507**

(22) A bejelentés napja: **1996. 09. 13.**

(40) A közzététel napja: **1997. 08. 28.**

(45) A megadás meghirdetésének dátuma a Szabadalmi Közlöny és Védjegyértesítőben: **2005. 11. 28.**

(51) Int. Cl.⁷: **C 07 K 7/64**

A 61 K 38/12

A 61 P 7/02

(30) Elsőbbségi adatok:

195 34 177.5 1995. 09. 15. DE

(72) Feltalálók:

**dr. Hölzemann, Günter, Darmstadt (DE);
dr. Jonczyk, Alfred, Darmstadt (DE);
dr. Goodman, Simon, Darmstadt (DE);
dr. Diefenbach, Beate, Darmstadt (DE);
dr. Sutter, Arne, Darmstadt (DE);
Kessler, Horst, Darmstadt (DE);
Dechantsreiter, Michael, Darmstadt (DE)**

(73) Jogosult:

MERCK PATENT GmbH, Darmstadt (DE)

(74) Képviselő:

Kerény Judit, DANUBIA Szabadalmi és Védjegy Iroda Kft., Budapest

(54) **Ciklusos peptidek, a vegyületeket tartalmazó adhéziógátló gyógyszerkészítmények, eljárás a vegyületek és a gyógyszerkészítmények előállítására és a vegyületek alkalmazása**

(57) Kivonat

A találmány tárgya új ciklo-(nArg-nGly-nAsp-nD-nE) általános képletű ciklopeptidek, ahol

D és E jelentése egymástól függetlenül a következő jelentésű: Gly, Ala, β -Ala, Asn, Asp, Asp(OR), Arg, Cha, Cys, Gln, Glu, His, Ile, Leu, Lys, Lys(Ac), Lys(AcNH₂), Lys(AcSH), Met, Nal, Nle, Orn, Phe, 4-Hal-Phe, homo-Phe, Phg, Pro, Pya, Ser, Thr, Tia, Tic, Trp, Tyr vagy Val, ahol a megadott aminosavcsoportok származékai is szerepelhetnek,

R jelentése 1–18 szénatomos alkilcsoport,

Hal jelentése fluor-, klór-, bróm- vagy jódatom,

Ac jelentése 1–10 szénatomos alkanoil-, 7–11 szénatomos aroil- vagy 8–12 szénatomos aralkanoilcsoport,

n jelentése hidrogénatom vagy R alkilcsoport, benzil-

vagy 7–18 szénatomos aralkilcsoport a megfelelő aminosavcsoport α -aminocsoportján, kivéve a ciklo-(Arg-Gly-Asp-NMe-Phe-Gly)-vegyületet, és

azzal a megkötéssel, hogy legalább egy aminosavcsoport rendelkezik egy n szubsztituenssel – ahol n jelentése R alkilcsoport –, és ahol, amennyiben optikailag aktív aminosavakról vagy aminosavszármazékokról van szó, akkor a D- és az L-formák is idetartoznak, valamint ezek fiziológiailag elfogadható sói.

A vegyületek integrininhibitorok, és különösen a vérkeringés, angiogén megbetegedések, mikrobiális fertőzések kezelésére vagy megelőzésére, vagy a tumorterápiában alkalmazhatók.

Ciklo-(nArg-nGly-nAsp-nD-nE) (I)

H-Z-OH (II)

HU 224 614 B1

Az aktában kiegészítő műszaki információ található.

A leírás terjedelme 12 oldal

A találmány tárgya új (I) általános képletű ciklopeptid, ahol

D és E jelentése egymástól függetlenül Gly, Ala, β -Ala, Asn, Asp, Asp(OR), Arg, Cha, Cys, Gln, Glu, His, Ile, Leu, Lys, Lys(Ac), Lys(AcNH₂), Lys(AcSH), Met, Nal, Nle, Orn, Phe, 4-Hal-Phe, homo-Phe, Phg, Pro, Pya, Ser, Thr, Tia, Tic, Trp, Tyr vagy Val, ahol a megnevezett aminosavmaradékok származékok formájában is előfordulhatnak,

R jelentése 1–18 szénatomos alkilcsoport,

Hal jelentése fluor-, klór-, bróm- vagy jódatom,

Ac jelentése 1–10 szénatomos alkanoil-, 7–11 szénatomos aroil- vagy 8–12 szénatomos aralkanoilcsoport,

n jelentése hidrogénatom vagy R alkilcsoport, benzil- vagy 7–18 szénatomos, a megfelelő aminosavcsoport α -aminocsoportján lévő aralkilcsoport,

azzal a megkötéssel, hogy legalább egy aminosavcsoport rendelkezik egy n szubsztituenssel – ahol n jelentése R alkilcsoport, kivéve a ciklo-(Arg-Gly-Asp-NMe-Phe-Gly)-vegyületet, és ahol, amennyiben optikailag aktív aminosav és aminosavszármazékok csoportjairól vagy maradékairól van szó, úgy a D- és az L-formák is idetartoznak, valamint ezek fiziológiailag elfogadható sói.

Hasonló vegyületek, amelyek azonban nem mutatnak N-alkilezést, ismertek az EP 0 406 428 számú szabadalmi leírásból és az FEBS Lett. 291, 50–54 (1991) irodalmi helyről.

A Thrombosis Research 72, 231–245, (1993) szakirodalmi helyen, M. R. Foster és társai leírják az Arg-Gly-Asp (RGD)-t tartalmazó peptidok jobb hatását és specifikusságát fibrinogénreceptor-blokkoló gyógyszerként. Az EP 632053 az Arg-B-Asp-X-Y képletű vegyületek ciklusos adhézió inhibitor hatását írja le. A vegyületeket mint integrinhibitorokat említik.

A találmánynak az volt a célja, hogy olyan értékes tulajdonságú új vegyületeket találjunk, amelyeket gyógyszerek előállításához tudunk felhasználni.

Meglepő módon azt találtuk, hogy az (I) általános képletű vegyületek és sóik igen értékes tulajdonságokkal rendelkeznek. Mindenekelőtt integrinhibitorokként hatnak, és különösen a β_3 - vagy β_5 -integrin-receptorok ligandumokkal való kölcsönhatását gátolják. Különösen hatékonyak a vegyületek az $\alpha_v\beta_3$, $\alpha_v\beta_5$ és $\alpha_{II}\beta_3$ integrinek esetében, de az $\alpha_v\beta_1$ -, $\alpha_v\beta_6$ - és az $\alpha_v\beta_8$ -receptorokkal szemben is. Ezeket a hatásokat például azzal a módszerrel lehet kimutatni, amelyet J. W. Smith és munkatársai írtak le a J. Biol Chem. 265, 12 267–12 271 (1990) irodalmi helyen. Ezenkívül gyulladásgátló hatás is fellép.

Azt, hogy az angiogenezis keletkezése függ a vaszkuláris integrinek és az extracelluláris mátrixproteinek kölcsönhatásától, leírta P. C. Brooks, R. A. Clark és D. A. Cheresh a Science, 264, 569–571 (1994) folyóiratban.

Ezen kölcsönhatás gátlásának lehetősége és ezáltal az angiogén vaszkuláris sejtek programozott sejthalálának megkezdésének lehetősége egy ciklusos peptid révén, szerepel P. C. Brooks, A. M. Montgomery, M.

Rosenfeld, R. A. Reisfeld, T-Hu, G. Klier és D. A. Cheresh munkájában a Cell. 79, 1157–1164 (1994) szakirodalmi helyen.

Az (I) általános képletű vegyületek, amelyek gátolják az integrinreceptorok és a ligandumok kölcsönhatását, mint például a fibrinogén kötődését fibrinogénreceptorra (Glycoprotein IIb/IIIa) mint GpIIb/IIIa antagonisták gátolják a tumorsejtek elterjedését áttétellel. Ezt a következő megfigyelésekkel igazoljuk.

10 A vegyületek képesek gátolni a fémproteínázok kötődését integrinekre, és ezáltal megakadályozzák, hogy a sejtek hasznosíthassák a proteínáz enzimaktivitását. Például szolgál az MMP-2-(mátrix fémproteínáz II) vitronektin-receptor $\alpha_v\beta_3$ -ra történő kötődésének gátlása egy ciklo-RGP-peptid által, mint ahogy az szerepel P. C. Brooks és munkatársai, Cell. 85, 683–693 (1996) cikkében.

20 A tumorsejtek elterjedése egy helyi tumorból az érrendszerbe mikroaggregátumok képződése révén következik be (mikrotrombuszok), a tumorsejtek és a trombociták kölcsönhatása következtében. A tumorsejtek le vannak árnyékolva a mikroaggregátumban lévő védelem révén, és az immunrendszer sejtjei nem ismerik fel ezeket.

25 A mikroaggregátumok az érfalakon rögződnek, és ezáltal a tumorsejtek behatolása a szövetekbe könnyebbé válik. Minthogy a mikrotrombuszok képződése fibrinogén receptorokra történő kötődéssel megy végbe aktivált trombocitákon, a GPIIa/IIIb antagonisták hatásos metasztatizógátlóként veendő figyelembe.

30 Az (I) általános képletű vegyületeket továbbá antimikrobiális hatású anyagokként lehet alkalmazni műtétknél, ahol a bioanyagok, implantátumok, katéterek vagy pacemakerok felhasználása történik. Antiszeptikus hatásuk is van. Az antimikrobiális hatás hatékonyságát a P. Valentin-Weigund és munkatársai, Infection and Immunity, 2851–2855 (1988) irodalmi helyen leírt eljárásával lehet kimutatni.

35 Minthogy az (I) általános képletű vegyületek fibrinogénképződés-gátlók, és ezáltal a trombociták fibrinogén receptorainak ligandumai, felhasználhatók diagnosztikumként az érrendszerben trombuszok kimutatására és lokalizálására in vivo, hogyha izotópjelzett vagy UV-kimutatható csoporttal helyettesítjük ezeket. A képet szolgáló eljárással ezáltal kimutatható tumorok is lokalizálhatók (tumorlekepezés, PET).

45 Az (I) általános képletű vegyületeket felhasználhatjuk a fibrinogénképződés inhibitoraiként, és a különböző aktiválási állapotokban lévő trombociták metabolismusának tanulmányozásához, valamint a fibrinogénreceptor intracelluláris jelzésmechanizmusának tanulmányozásához. A beépítendő „label” kimutatható egysege például biotinyllé, lehetővé teszi, hogy a megnevezett mechanizmusokat a receptorhoz való kötődés szerint vizsgáljuk.

50 A vegyületek tehát rendelkeznek azzal a tulajdonsággal, hogy gátolják a természetes vagy mesterséges ligandumok kötődését integrinekhez, különösen integrin $\alpha_v\beta_3$, $\alpha_v\beta_5$ és $\alpha_{II}\beta_3$, valamint $\alpha_v\beta_1$, $\alpha_v\beta_6$ és $\alpha_v\beta_8$ integrinekhez.

A technika állásához képest továbbá rendelkeznek azon előnnyel, hogy egy vagy több peptidkötés N-alkilezésével elérhető egy metabolikus stabilizáció és fokozott zsiroidékonyság. A lehetséges hidrogénhidak redukálásával (mert az N-alkil nem lehet C=O H-donorja), javul a membránokon keresztül az áthatolási képesség, úgyhogy elérhető egy fokozott orális felszívódás, és egy fokozott plazmaprotein-képződés is felléphet.

A peptidkötés N-alkilezésével nő a vegyületek gátlóhatása, fokozódik bizonyos integrinek vonatkozásában a gátlóhatás szelektivitása. Különösen befolyásolható a szelektivitás az N-alkil-csoportok helyzetével és számával.

A vegyületek alkalmazhatók gyógyszerhatóanyagként a humán- és állatgyógyászatban, különösen az alábbi betegségek kezelésére és megelőzésére: vérkeringési betegségek, trombózis, szívinfarktus, arterioszklerózis, gyulladások, apoplexia, angina pectoris, tumormegbetegedések, oszteolitikus megbetegedések, különösen oszteoporózis, angiogenezis és az angiogenezistől függő betegségek, például a szem diabétikus retinopátiája, makuláris degeneráció, myopia, okuláris hisztoplazmózis, reumatikus artritisz, oszteoartritisz, rubeotikus glaukóma, valamint ulceratív colitis, morbus Crohn, multiplex sclerosis, pszoriázis, valamint érplasztika utáni resztenózis. A vegyületeket használhatjuk továbbá sebgyógyulás-eljárások javítására és alátámasztására mikrobiális fertőzések esetén, és akut veseelégtelenség esetén.

A vegyületeket kimutathatjuk irodalmi módszerekkel, például P. C. Brooks és munkatársai, Cell. 79, 1157–1164 (1994) vagy Science 264, 569–571 (1994), módszere szerint.

A fenti és alábbi aminosavcsoportok rövidítései a következő aminosavcsoportokat jelentik:

Abu	4-amino-vajsav
Aha	6-amino-hexánsav
Ala	alanin
Asn	aszparaginsav
Asp(OR)	aszparaginsav (β-észter)
Arg	arginin
Cha	3-ciklohexil-alanin
Cit	citriullin
Cys	cisztein
Dab	2,4-diamino-vajsav
Dap	2,3-diamino-propionsav
Gln	glutamin
Glu	glutaminsav
Gly	glicin
His	hisztidin
Ile	izoleucin
Leu	leucin
Lys(Ac)	N ^ε -alkanoil-lizin
Lys(AcNH ₂)	N ^ε -amino-alkanoil-lizin
Lys(AcSH)	N ^ε -merkaptó-alkanoil-lizin
Met	metionin
Nal	3-(2-naftil)-alanin
Nle	norleucin
Orn	ornitin
Phe	fenil-alanin

4-Hal-Phe	4-halogén-fenil-alanin
Phg	fenil-glicin
Pro	prolin
Pya	3-(2-piridil)-alanin
5 Sar	szarkozin-(N-metil-glicin)
Ser	szerin
Tia	3-(2-tienil)-alanin
Tic	tetrahidroizokinolin-3-karbonsav
Thr	treonin
10 Trp	triptofán
Tyr	tirozin
Val	valin

További jelentések az alábbiak:

BOC	terc-butoxi-karbonil
15 Bzl	benzilcsoport
DCCI	diciklohexil-karbodiimid
DMF	dimetil-formamid
EDCI	N-etil-N'(3-dimetil-amino-propil)-karbodiimid-hidroklorid
20 Et	etil
Fmoc	9-fluorenil-metoxi-karbonil
HOBt	1-hidroxi-benzotriazol
Me	metil
Mtr	4-metoxi-2,3,6-trimetil-fenil-szulfonil
25 NMe	N-metilezett α-aminocsoport
OBu	terc-butyl-észter
OMe	metil-észter
OEt	etil-észter
POA	fenoxi-acetil
30 i-Pr	izopropil
n-Pr	n-propil
TBTU	2-(1H-benzotriazol-1-il)-1,1,3,3-tetrametil-uronium-tetrafluor-borát
TFA	trifluor-ecetsav

35 Amennyiben a fent megnevezett aminosavak több enantiomer formában fordulhatnak elő, úgy például az (l) általános képletű vegyületek valamennyi formája és elegyei, például a DL-formák is a találmányhoz tartoznak. Ezenkívül az aminosavak, például az (l) általános képletű vegyületek komponenseként, megfelelően védőcsoportokkal lehetnek ellátva.

Továbbá a találmány kiterjed olyan peptidekre is, melyeknek aminosavcsoportjai részben vagy teljesen származékokká vannak átalakítva. Származékon értjük az úgynevezett prodrugokat is, mint például az Arg η-guanidino-acil-származékai, Asp β-észtere, a lizin N^ε-alkanoil-, -amino-alkanoil-, -merkaptó-alkanoil-származékai stb. Ezenkívül az aminosavcsoportok részben C-alfa-alkilezve lehetnek, vagy például diagnosztikai célokra izotópjelzettek is lehetnek. Idetartoznak továbbá azok az (l) általános képletű vegyületek is, amelyek D- és E-építőkövek oldalláncaiban ezenkívül még amino-, karboxil- vagy merkaptocsoportokat is tartalmaznak, minthogy az ilyen származékok fontos kiindulási vegyületek a magas molekulaszámú konjugátumok előállításánál, például immunizálási célokra és antitest-előállításra. Ezenkívül lehetséges bizonyos aminosavcsoportok vagy aminosavcsoport-származékok oldalláncában csoportokat alkalmazni az affinitáskromatográfia-oszlop előállítására szolgáló peptidok immobilizálására polimer

anyagokon, vagy felhasználhatók a csoportok származékképzésre diagnosztikai segédreagensekkel, például fluoresszkáló szubsztituensekkel.

A találmány tárgya továbbá eljárás (I) általános képletű vegyületek vagy sói előállítására oly módon, hogy reakcióképes származékaik egyikéből szolvilizáló- vagy hidrogenolizálószerrel kezelve felszabadítjuk, vagy

egy (II) általános képletű peptidet, ahol

Z jelentése -NArg, -nGly-nAsp-nD-nE,

-nGly-nAsp-nD-nE-nArg-

nAsp-nD-nE-nArg-nGly-

-nD-nE-nArg-nGly-nAsp- vagy

nE-nArg-nGly-nAsp-nD-

vagy reakcióképes származékát ciklizálószerrel kezeljük,

vagy egy (I) általános képletnek megfelelő ciklopeptidet, amely azonban egy vagy több szabad aminosocsoporttal, savcsoporttal és/vagy aktivált alfa-szénatommal rendelkezik, alkilezzük, acilezzük vagy észterezzük,

és/vagy egy (I) általános képletű bázikus vagy savas vegyületet savval vagy bázissal kezelve sójává alakítunk.

D, E és n jelentése az (I) és (II) általános képletű vegyületekben a fent megadott, amennyiben kifejezetten másképp nem említjük. A csoportokra használatos betűk nincsenek összhangban az aminosavak egybeírt kódjával.

A fenti képletekben alkil előnyösen metil-, etil-, izopropil-, n-butil-, szek-butil- vagy terc-butil-csoport lehet.

A D csoport előnyösen Phe, de lehet előnyösen D-Phe is, továbbá 4-Hal-Phe, különösen 4-I-Phe, valamint Trp, Tyr, homo-Phe, Nal vagy Phg, és ugyanilyen előnyösek a D-formák is.

E előnyösen hidrofób aminosavcsoport, különösen Gly, Ala, Val, Leu, Ile vagy Ile, az n előnyösen N-metil-, N-etil-, N-propil-, N-benzil- vagy N-izopropil-szubsztituált alfa-aminocsoportokat jelöl a peptidben, miközben több aminosavcsoport azonos vagy különböző alkilcsoporttal N-szubsztituált lehet.

A találmány tárgya különösen azon (I) általános képletű vegyületek, amelyekben a fent megjelölt csoportok közül legalább egy a fenti előnyös jelentésű.

A vegyületek egy előnyös csoportját képezik az (Ia) részképlettel kifejezhető vegyületek, melyek az (I) általános képletnek felelnek meg különben, ahol azonban D jelentése D-Phe, Phe, D-Trp, Trp, D-Tyr, Tyr, D-homo-Phe, homo-Phe, D-Nal, Nal, D-Phg, Phg vagy 4-HalPhe(D vagy L alak) és

E jelentése Val, Gly, Ala, Leu, Ile vagy Ile.

További előnyös vegyületek az (Ib) részképletnek megfelelő (I) általános képletű vegyületek, ahol azonban

D jelentése D-Phe és

E jelentése Gly, Ala, Val, Leu, Ile vagy Ile,

és az Arg, Gly vagy Asp aminosavcsoportok egyike az α -aminocsoporton alkilszubsztituenset hordoz.

Előnyösek továbbá az (Ic) részképletű (I) általános képletű vegyületek, amelyek megfelelnek egyébként az (Ia) és (Ib) részképletnek, ahol azonban D vagy E

aminosavcsoportok egyike az α -aminocsoporton alkilezve van.

Továbbá különösen előnyösek az (Ia), (Ib) és (Ic) részképletű vegyületek fiziológiailag elfogadható sói.

5 Az (I) általános képletű vegyületeket és a kiindulási anyagokat is ismert módon állíthatjuk elő, ahogy az szerepel az irodalomban, például olyan művekben, mit Houben–Weyl, Methoden der organischen Chemie, Georg–Thieme–Verlag, Stuttgart, mégpedig olyan reakciókörülményeket alkalmazunk, amelyek ismeretesek a megadott reakciónál, és különösen az ismert, itt közelebről nem említett eljárások hasznosíthatók.

10 A kiindulási anyagokat kívánt esetben in situ is képezhetjük úgy, hogy a reakcióelegyből nem izoláljuk, hanem azonnal tovább reagáltatjuk őket az (I) általános képletű vegyületekké.

15 Az (I) általános képletű vegyületek úgy állíthatók elő, ha reakcióképes származékaikból felszabadítjuk a vegyületeket szolvilizissal, különösen hidrolízissal vagy hidrogenolízissal.

20 A szolvilizishez és a hidrogenolízishez különösen előnyös kiindulási anyagok olyan vegyületek, amelyek egy vagy szabad amino- és/vagy hidroxilcsoport helyett megfelelő védett amino- és/vagy hidroxilcsoportot tartalmaznak, előnyösen olyanok, amelyek a hidrogénatom helyett, amely egy N-atommal kapcsolódik, aminovédő csoportot hordoznak, például olyanok, amelyek az (I) általános képletnek felelnek meg, de egy NH₂-csoport helyett NHR¹-csoportot tartalmaznak, ahol R¹ aminovédő csoport, például BOC vagy CBZ.

30 Előnyösek továbbá azok a kiindulási anyagok, amelyek egy hidroxilcsoport hidrogénatomja helyén hidroxilvédő csoportot hordoznak, például (I) általános képletű vegyületnek felelnek meg, de egy hidroxifenil-csoport helyett R''O-fenil-csoportot tartalmaznak, ahol R'' hidroxilvédő csoportot jelent.

35 A kiindulási anyag molekulájában több azonos vagy különböző védett amino- és/vagy hidroxilcsoport is lehet. Amennyiben ezek a védőcsoportok eltérnek egymástól, sok esetben szelektív lehasíthatók.

40 Az aminovédő csoport kifejezés általánosan ismert, és olyan csoportokra vonatkozik, amelyek alkalmasak az aminosocsoport kémiai reakcióktól való megvédésére, azaz blokkolására, és ugyanakkor könnyen eltávolíthatók, miután a kívánt kémiai reakció a molekula más helyén végbement. Tipikus ilyen csoportok a különösen szubsztituálatlan vagy szubsztituált acil-, aril-, aralkoxi-metil- vagy aralkilcsoportok. Minthogy az aminovédő csoportokat a kívánt reakció vagy reakciósor után eltávolítjuk, általában nem döntő a csoportok nagysága és fajtája, azonban előnyösen 1–20, különösen 1–8 szénatomosak. Az acilcsoport kifejezés a találmány szerinti eljárással összefüggésben a legtagabb értelemben értendő. Magában foglalja az alifás, aralifás, aromás

55 vagy heterociklusos karbonsavakból vagy szulfonsavakból levezetett acilcsoportokat, és különösen az alkoxi-karbonil-, aril-oxi-karbonil- és mindeneke előtt aralkoxi-karbonil-csoportokat. Példaképpen az ilyen acilcsoportokra említhetők az alkanoil-, például acetyl-, propionil-, butirilcsoport, az aralkanoil-, például fe-

nil-acetil-csoport, az aroil-, például benzoil- vagy toluoils csoport, az aril-oxi-alkanoil-, például POA; az alkoxi-karbonil-, például metoxi-karbonil-, etoxi-karbonil-, 2,2,2-triklór-etoxi-karbonil-, BOC, 2-jód-etoxi-karbonil-, aralkoxi-karbonil-, például CBZ, azaz karbobenzoxi-csoport, 4-metoxi-benzil-oxi-karbonil-, Fmoc, aril-szulfonil-, például Mtr csoport. Előnyös aminvédő csoportok a BOC- és az Mtr-, továbbá a CBZ-, Fmoc-, benzil- és acetilcsoport.

A hidroxivédő csoport szintén általánosan ismert, és olyan csoportokra vonatkozik, amelyek képesek megvédeni kémiai reakcióktól a hidroxilcsoportot, és egyidejűleg könnyen eltávolíthatók, miután a kívánt kémiai reakció a molekula más helyén végbement. Tipikus ilyen csoportok a fent említett szubsztituálatlan vagy szubsztituált aril-, aralkil- vagy acilcsoportok, továbbá az alkilcsoportok. A hidroxilvédő csoportok nagysága és típusa nem döntő, minthogy a kívánt kémiai reakció vagy reakciósor után ezeket a csoportokat eltávolítjuk, előnyösek mégis az 1–20, különösen az 1–10 szénatomos csoportok. A hidroxilvédő csoportokra példaképpen említhetők többek között a benzil-, para-nitro-benzoil-, para-toluolszulfonil-, terc-butil- és acetilcsoport. Különösen előnyösek a benzil- és a terc-butil-csoport. Az aszparaginsavban és glutaminsavban a COOH-csoportokat előnyösen terc-butil-észter formájában védjük, például Asp(OBut).

Az (I) általános képletű vegyületek származékaként használt kiindulási vegyületek az aminosav és peptidszintézis ismert módszereivel állíthatók elő, például megtalálhatók a megnevezett standardkönyvekben és szabadalmi bejelentésekben, például a Merrifield-féle szilárd fázisú módszerrel [lásd B. F. Gysin és R. B. Merrifield, J. Am. Chem. Soc. 94, 3102 ff. (1972)].

Az (I) általános képletű vegyületeket reakcióképes származékaikból az alkalmazott védőcsoport természetére szerint, például erős savval, célszerűen TFA-val vagy perklorosavval, vagy más erős szerves savakkal, például sósavval vagy kénsavval, erős szerves karbon-savakkal, például triklór-ecetsavval vagy szulfonsavval, például benzol- vagy para-toluolszulfonsavval szabadíthatjuk fel. További inert oldószert is adhatunk hozzá, ez azonban nem mindig szükséges. Inert oldószerként használhatunk előnyösen szerves, például karbonsavakat, például ecetsavat, étert, így például tetrahidrofuránt vagy dioxánt, amidokat, például dimetil-formamidot, halogénezett szénhidrogéneket például diklór-metánt vagy alkoholokat, például metanolt, etanolt vagy izopropanolt, valamint vizet. A fenti oldószerek elegyeit is használhatjuk. A trifluor-ecetsavat előnyösen feleslegben, további oldószert hozzáadása nélkül használjuk, a perklorosavat pedig ecetsav és 70%-os perklorosav elegye formájában használjuk, ahol az elegy tömegaránya 9:1. A hasítási reakció hőmérséklete célszerűen 0 és 50 °C, előnyösen 15 és 30 °C (szobahőmérséklet) között van.

A BOC, OBut és Mtr csoportokat például tetrahidrofuránnal, diklór-metánban vagy 3–5 n sósavval dioxánban hasíthatjuk le 15–30 °C-on, és az Fmoc-csoport lehasítása történhet 5–50%-os dimetil-amin-, dietil-amin-

vagy piperidinoldattal dimetil-formamidban 15–30 °C hőmérsékleten.

A hidrogenolitikusan eltávolítható védőcsoportokat, például CBZ-t vagy benzilt, például lehasíthatjuk hidrogén kezeléssel katalizátor jelenlétében, például nemesfém-katalizátor, például palládium, célszerűen hordozón, például csontszén alkalmazásával. Oldószerként a fent megadott oldószereket használhatjuk, különösen alkoholokat, például metanolt vagy etanolt, vagy amidokat, például dimetil-formamidot. A hidrogenolízis rendszerint 0–100 °C-on és 1–200 bar nyomáson, előnyösen 20–30 °C-on és 1–10 bar nyomáson hajtjuk végre. A CBZ-csoport hidrogenolízisét például jól elvégezhetjük 5–10%-os palládium-csontszén katalizátoron metanolban vagy ammónium-formiáttal, hidrogén helyett palládium-csontszéne metanol/dimetil-formamid elegyében 20–30 °C-on.

Az (I) általános képletű vegyületeket előállíthatjuk a (II) általános képletű vegyületek ciklizálásával is egy peptidszintézis körülményei között. Célszerűen a peptidszintézis szokásos módszerével, például a Houben-Weyl, 1.c. 15/II. kötet 1–806. oldalán (1974) leírt eljárással dolgozunk.

A reakciót előnyösen dehidratálószer, például karbodiimid vagy DCCI vagy EDCI, továbbá propán-foszforsavanhidrid [Angew. Chem. 92, 129 (1980)], difenil-foszforil-azid vagy 2-etoxi-N-etoxi-karbonil-1,2-dihidrokinolin jelenlétében inert oldószerekben, például halogénezett szénhidrogénben, például diklór-metánban, éterben, például tetrahidrofuránban vagy dioxánban, amidban, például dimetil-formamidban vagy dimetil-acetamidban, nitrilben, például acetónitrilben vagy ezen oldószerek elegyében hajtjuk végre –10 és 40 °C, előnyösen 0 és 30 °C közötti hőmérsékleten. A molekulák közötti peptidképződés előtti molekulán belüli ciklizálódás elősegítésére célszerű hígított oldatban dolgozni (hígítási elv).

A (II) képletű vegyület helyett megfelelő reakcióképes származékok is használhatók, például olyanok, amelyekben a reakcióképes csoportok átmenetileg védőcsoportokkal vannak blokkolva. A (II) képletű aminosavszármazékokat például aktivált észterek formájában használhatjuk, melyeket célszerűen in situ képzünk, például úgy, hogy HOBt-t vagy N-hidroxi-szukcinimidet adunk hozzá.

A (II) általános képletű kiindulási anyagok rendszerint újak, ismert módon állíthatók elő például a fent megadott peptidszintézis módszereivel és a védőcsoportok lehasításával.

Rendszerint először az R'–Z–OR'' képletű védett pentapeptid-észtereket állítjuk elő, például BOC-Z-Me-t vagy BOC-Z-OEt-t, amelyeket először R'–Z–OH, például BOC-Z–OH általános képletű savakká szappanosítunk el, ezekből az R' védőcsoportot lehasítjuk, ezáltal megkapjuk a (II) képletű H–Z–OH szabad peptideket.

Egy önmagában (I) általános képletű vegyületnek megfelelő ciklopeptidszármazékká alakítását szintén ismert módon hajtjuk végre, mégpedig úgy, ahogy az aminok alkilezésénél, karbonsavak észterezésénél vagy alifás szénatomok nukleofil szubsztitúciójánál

szerepel, és minden szerves kémiai tankönyvben le van írva, lásd például J. March. Adv. Org. Chem., John Wiley & Sons N. Y. (1985) tankönyvet.

Egy (I) általános képletű bázist megfelelő savaddíciós sóvá alakíthatunk sav segítségével. Ehhez a reakcióhoz különösen olyan savakat használhatunk, amelyekből fiziológiailag elfogadható sók keletkeznek. Így használhatunk szervetlen savként például kénsavat, salétromsavat, halogén-hidrogenidet, például sósavat vagy hidrogén-bromidot, foszforsavat, például ortofoszforsavat, szulfaminsavat, továbbá szerves savakat, különösen alifás, aliciklusos, aralifás, aromás vagy heterociklusos egy- vagy többértékű karbon-, szulfon- vagy kénsavakat, például hangyasavat, ecetsavat, propionsavat, pivalinsavat, dietil-ecetsavat, malonsavat, borostyánkősavat, pimelinsavat, fumársavat, maleinsavat, tejsavat, borkősavat, almasavat, benzoesavat, szalicilsavat, 2- vagy 3-fenil-propionsavat, citromsavat, glükonsavat, aszkorbinsavat, nikotinsavat, izonikotinsavat, metán- vagy etánszulfonsavat, etándiszulfonsavat, 2-hidroxi-etánszulfonsavat, benzolszulfonsavat, p-toluolszulfonsavat, naftalin-mono- és -diszulfonsavat vagy lauril-kénsavat. Fiziológiailag nem elfogadható savakkal képezett sókat, például a pikrátokat felhasználhatjuk az (I) általános képletű vegyületek izolálásánál és/vagy tisztításánál.

Egy (I) általános képletű sav ugyanakkor bázissal reagáltatva átalakítható fiziológiailag elfogadható fém- vagy ammóniumsóvá is. Ilyen sóként különösen a nátrium-, kálium-, magnézium-, kalcium- és ammóniumsók jöhetnek szóba, továbbá szubsztituált ammóniumsók, például dimetil-, dietil- vagy diizopropil-ammóniumsók, monoetanol-, dietanol- vagy trietanol-ammóniumsók, ciklohexil-, dicitlohexil-ammóniumsók, dibenzil-etilén-diammóniumsók, továbbá N-metil-D-glukaminnal, argininnel vagy lizinnel képezett sók.

Az új (I) általános képletű vegyületeket és fiziológiailag nem elfogadható sókat felhasználhatjuk gyógyászati készítmények előállításához oly módon, hogy legalább egy hordozóval vagy segédanyaggal, vagy kívánt esetben egy vagy több további hatóanyaggal együtt megfelelő dózisformát alakítunk ki. Az így kapott készítményeket a humán- és állatgyógyászatban gyógyszerként használhatjuk. Hordozóként használhatunk szerves vagy szervetlen anyagokat, melyek alkalmasak enterális, például orális vagy rektális, parenterális (például intravénás injekció) vagy lokális (például topikális, dermális, szemészeti vagy nazális) alkalmazásra, vagy inhalálóspray formájában történő alkalmazásra, és nem reagálnak az új vegyületekkel, ilyen például a víz vagy vizes izotóniás konyhasóoldat, rövid szénláncú alkoholok, növényi olajok, benzil-alkoholok, poli-etilén-glikolok, glicerin-triacetát és más zsírsav-gliceridek, zselatin, szójalecitin, szénhidrátok, például laktóz vagy keményítő, magnézium-sztearát, talkum, cellulóz, vazelin. Orális alkalmazásra különösen a tabletták, drázsék, kapszulák, szirupok és levek vagy cseppek felelnek meg. Érdekesekek különösen a lakktabletták és a gyomorsavrezisztens bevonattal, illetve kapszulabevonattal ellátott kapszulák. A rektális adagolásra szol-

gálnak a kúpok, a parenterálisra az oldatok, előnyösen olajos vagy vizes oldatok, továbbá szuszpenziók, emulziók vagy implantátumok. A helyi alkalmazásra megfelelőek például az oldatok, melyek szemcseppek formájában alkalmazhatók, továbbá szuszpenziók, emulziók, krémek, kenőcsök vagy komprimátumok. Az inhalálóspray formájában történő alkalmazásnál használhatunk spray-eket, amelyek a hatóanyagot felhajtógázban vagy felhajtógázelegyenben, például szén-dioxidban vagy fluorozott-klórozott szénhidrogénpótló anyagokban oldva vagy szuszpendálva tartalmazzák. Célszerűen a hatóanyagot mikronizált formában használjuk, miközben jelen lehet egy vagy több fiziológiailag elfogadható oldószer, például etanol. Az inhalálóoldatokat a szokásos inhalátorok segítségével adagolhatjuk. Az új vegyületek liofilizálva is lehetnek, és a kapott liofilizátumokat például injekciós készítmények előállításához használhatjuk fel. Az injekciókat adagolhatjuk bolusként vagy folyamatos infúzió formájában, például intravénásan, intramuszkulárisan, szubkután vagy intratekálisan. A megadott készítmények lehetnek sterilizálva és/vagy tartalmazhatnak segédanyagokat, például konzerváló, stabilizáló- és/vagy nedvesítőszereket, emulgeátorokat, és az ozmotikus nyomás befolyásolását szolgáló sókat, pufferanyagokat, színezékeket és/vagy aromaanyagokat. Kívánt esetben egy vagy több további hatóanyagot is tartalmazhatnak, például egy vagy több vitamint.

A találmány szerinti anyagokat más ismert kereskedelemben forgalomban lévő peptidek analógiájára adagolhatjuk, különösen az US-A-4 72 305 dokumentumban leírt vegyületek analógiájára. Előnyösen 0,05–500, különösen 0,5–100 mg/dózisegység dózisban. A napi dózis előnyösen 0,01–2 mg/testsúly-kg között van. A speciális dózis minden páciens esetében különböző tényezők függvénye. Függ például az alkalmazott vegyület hatékonyságától, a beteg korától, test-súlyától, általános egészségi állapotától, nemétől, az étkezési rendtől, az adagolás időpontjától és újtától, a kiválasztás sebességétől, a gyógyszer-kombinációtól és a betegség súlyosságától. A parenterális adagolás az előnyös.

Egy olyan találmány szerinti vegyületet, ahol Arg vagy DArg helyettesítve lehet Orn-nel vagy Dorn-nel, a találmány szerinti peptidek szintézisének előfutáraként használhatunk, minthogy Orn guanidálással Arg-gá alakítható. Különösen megfelelő ez a módszer a ¹¹C- vagy ¹⁴C-jelzett Arg-tartalmú peptidek előállítására.

Az (I) általános képletű új vegyületeket ezenkívül alkalmazhatjuk integrinligandumként az integrinek tisztítására szolgáló affinitáskromatográfias oszlopok előállításához. A ligandumot, azaz egy (I) általános képletű peptidszármazékot horgonycsoportként egy polimer hordozóra kapcsolunk kovalens kötéssel.

Polimer hordozóként a peptidkémiaiában önmagában ismert polimer szilárd fázisok alkalmasak, melyek előnyösen hidrofil tulajdonságúak, például térhálós policukrok, például cellulóz, sepharose vagy sephadex[®], akrilamidok, poli-etilén-glikol-bázisú polimerek vagy ten-takelpolimerek[®].

„Horgony”-csoportként, melyek a polimer hordozókkal kapcsolódnak, előnyösen a 2–12 szénatomos lineáris alkilénláncok alkalmasak, amelyek egyik végükkel közvetlenül kapcsolódnak a polimerre, és a másik végükön egy csoportot mutatnak, például hidroxil-, amino-, merkaptó-, maleinimido- vagy –COOH-csoportot, és alkalmasak arra, hogy a peptid C- vagy N-terminális szakaszával kapcsolódjanak. Emellett lehetséges, hogy a peptid közvetlenül vagy szintén egy második horgonycsoporton keresztül kapcsolódjon a polimer horgonyával.

Továbbá lehetséges, hogy a funkcionizált oldalláncokat tartalmazó aminosavcsoportok a polimer horgonycsoportjával kapcsolódjanak ezeken keresztül.

Ezenkívül bizonyos aminosavcsoportok, amelyek az (I) általános képletű peptidek komponensei, oldalláncikaiban oly módon módosulnak, hogy például SH-, OH-, NH₂- vagy COOH-csoporton keresztül rendelkezésre álljanak a lehorgonyzódáshoz a polimer horgonyával.

Szokatlan aminosavak is lehetségesek, például fenil-alanin-származékok, amelyek a fenilgyűrű 4-helyzetében egy merkaptó-, hidroxil-, amino- vagy karboxilalkil-csoportot tartalmaznak, miközben a funkcionális csoport a lánc végén található.

Aminosavcsoportokra, melyek oldallánca közvetlenül horgonycsoportként szolgálhat, példaképpen említhetők a következők: Lys, Orn, Arg, Dab, Dap, Asp, Asn, Glu, Gln, Ser, Thr, Cys, Cit vagy Tyr.

N-terminális horgonyra példaként a következő csoportokat említjük meg: –CO–C_nH_{2n}–NH₂, –CO–C_nH_{2n}–OH, –CO–C_nH_{2n}–SH vagy –CO–C_nH_{2n}–COOH (n értéke 2–12), ahol az alkilénlánc hosszúsága nem döntő, és ezek adott esetben helyettesítve lehetnek például megfelelő aril- vagy alkil-aryl-csoportokkal is.

A C-terminális horgonyok lehetnek például –O–C_nH_{2n}–SH-, –O–C_nH_{2n}–OH, –O–C_nH_{2n}–NH₂, –O–C_nH_{2n}–COOH, –NH–C_nH_{2n}–SH, –NH–C_nH_{2n}–OH, –NH–C_nH_{2n}–NH₂ vagy –NH–C_nH_{2n}–COO, ahol n-re és az alkilénláncra az előző bekezdésben elmondottak érvényesek.

Az N- és C-terminális horgonyok szolgálhatnak egy aminosavcsoport már funkcionizált oldalláncánál horgonyalkotórészként is, különösen előnyösek például az aminosavcsoportok, mint amilyenek a Lys(CO–C₅H₁₀–NH₂), Asp(NH–C₃H₆–COOH) vagy Cys(C₃H₆–NH₂), ahol a horgony mindig kapcsolódik az oldallánc funkcionális csoportjához.

Az affinitáskromatográfiához az integritástisztításhoz szolgáló anyagok előállítása olyan körülmények között történik, mint amilyenek az aminosav kondenzációjánál szokásosak és önmagában ismertek, és már az (I) általános képletű vegyületek előállításánál tárgyaltuk.

A ciklopeptidek azon alkalmazásán túl, hogy polimer anyagok rögzítésénél használjuk affinitáskromatográfias oszlopok előállításánál, lehetséges a funkcionizált oldalláncokat tartalmazó vegyületek felhasználása diagnosztikus segédreagensekkel, például fluoreszkáló szubsztituensekkel további származékok képzésére.

Lehetséges továbbá a D és E oldalláncokba további funkcionális csoportokat bevinni, mint amilyenek az

amino-, merkaptó- vagy karboxilcsoportok, melyeken keresztül azután előállíthatók proteinekkal vagy más, nagy molekulású anyagokkal konjugátumok, például immunizálási célokra és/vagy antitest előállítására.

5 A hőmérsékletet mindig °C-ban adjuk meg. Az alábbi példákban a szokásos feldolgozás jelentése a következő: szükség esetén vizet adunk hozzá, semlegesítjük, éterrel vagy diklór-etánnal extraháljuk, elválasztjuk, a szerves fázist nátrium-szulfát felett szárítjuk, leszűrjük, bepároljuk, kovasavgélen kromatografálva és/vagy kristályosítással tisztítjuk. RZ=retenciósi idő percben. Az analitikai vizsgálatot HPLC-vel végezzük Lichrosorb® RP select B-n (7 µm), 250×4 mm oszlop, eluálószer A: 0,3% TFA vízben; eluálószer B: 0,3% TFA 2-propanol/víz 8:2 arányú gradiensében 1–99% B 10 50 perc alatt, 1 ml/perc mellett. Áramlás és kimutatás 215 nm-nél. M+=molekula csúcsa tömegspektrumban „Fast Atom Bombardment” módszerrel (FAB) kapjuk.

20 1. példa

0,6 g H-NMe-Arg(Mtr)-Gly-Asp(OBut)-D-Phe-Val-ONa-t, melyet Fmoc-NMe-Arg(Mtr)-Gly-Asp(OBut)-D-Phe-Val-O-Wang-ból állítunk elő, ahol az -O-Wang jelentése a módosított Merrifield-technológiában használt 4-oxi-metil-fenoxi-metil-polisztirol-gyanta-csoport, Fmoc-csoportját piperidin és dimetil-formamid elegyével lehasítjuk, és a gyantát trifluor-ecetsav és diklór-metán 1:1 arányú elegyével hasítjuk, 15 ml dimetil-formamiddal készített oldatát 85 ml diklór-metánnal hígítjuk, és 50 mg nátrium-hidrogén-karbonáttal elegyítjük. Szárászjég és acetonelegyével hűtve 40 µl difenil-foszforsav-azidot adunk hozzá. 16 óra állás után szobahőmérsékleten az oldatot bepároljuk. A koncentrátumot Sephadex G10-oszlopon izopropanol/víz 8:2 arányú elegyével szűrjük, majd szokásos módon HPLC-vel tisztítjuk. TFA és H₂O 98:2 arányú elegyével kezelve kapjuk a ciklo-(NMe-Arg-Gly-Asp-D-Phe-Val) vegyületet; RZ=18,1; FAB-MS (M+H): 589.

A megfelelő lineáris peptidek ciklizálásával és a védőcsoportok lehasításával analóg módon kapjuk: ciklo-(Arg-NMeGly-Asp-DPhe-Val); RZ=17,9; FAB-MS (M+H): 589; ciklo-(Arg-Gly-NMeAsp-DPhe-Val); RZ=18,3; FAB-MS (M+H): 589; ciklo-(Arg-Gly-NMeAsp-DPhe-Val)×TFA; RZ=15,4; FAB-MS (M+H): 589; ciklo-(Arg-Gly-Asp-NMeDPhe-Val); RZ=18,9; FAB-MS (M+H): 589; ciklo-(Arg-Gly-Asp-DPhe-NMeVal); RZ=19,5; FAB-MS (M+H): 589; ciklo-(Arg-Gly-Asp-DPhe-NMeLys); RZ=11,1; FAB-MS (M+H): 618; ciklo-(Arg-Gly-Asp-DPhe-NMeLys(benzil-oxi-karbonil)×TFA; RZ=23,4; FAB-MS (M+H): 752; ciklo-(NEtArg-Gly-Asp-DPhe-Val); FAB-MS (M+H): 603; ciklo-(Arg-NEtGly-Asp-DPhe-Val); FAB-MS (M+H): 603; ciklo-(Arg-Gly-NEtAsp-DPhe-Val); FAB-MS (M+H): 603;

ciklo-(Arg-Gly-Asp-NEtDPhe-Val); FAB-MS (M+H): 603;	ciklo-(Arg-NBzIGly-Asp-DPhe-Leu); FAB-MS (M+H): 679;
ciklo-(Arg-Gly-Asp-DPhe-NEtVal); FAB-MS (M+H): 603;	ciklo-(Arg-Gly-NBzIAsp-DPhe-Leu); FAB-MS (M+H): 679;
ciklo-(Arg-Gly-Asp-DPhe(4-I)-NMeVal); RZ=23,5; FAB-MS (M+H): 715;	5 ciklo-(Arg-Gly-Asp-NBzIDPhe-Leu); FAB-MS (M+H): 679;
ciklo-(NPrArg-Gly-Asp-DPhe-Val); FAB-MS (M+H): 617;	ciklo-(Arg-Gly-Asp-DPhe-NBzILeu); FAB-MS (M+H): 679;
ciklo-(Arg-NPrGly-Asp-DPhe-Val); FAB-MS (M+H): 617;	ciklo-(NMeArg-Gly-Asp-DPhe-Ala);
ciklo-(Arg-Gly-NPrAsp-DPhe-Val); FAB-MS (M+H): 617;	10 ciklo-(Arg-NMeGly-Asp-DPhe-Ala);
ciklo-(Arg-Gly-Asp-NPrDPhe-Val); FAB-MS (M+H): 617;	ciklo-(Arg-Gly-NMeAsp-DPhe-Ala);
ciklo-(Arg-Gly-Asp-DPhe-NPrVal); FAB-MS (M+H): 617;	ciklo-(Arg-Gly-Asp-NMeDPhe-Ala);
ciklo-(NBzIArg-Gly-Asp-DPhe-Val); FAB-MS (M+H): 665;	ciklo-(Arg-Gly-Asp-DPhe-NMeAla); RZ=16,2; FAB-MS (M+H): 561;
ciklo-(Arg-NBzIGly-Asp-DPhe-Val); FAB-MS (M+H): 665;	15 ciklo-(NEtArg-Gly-Asp-DPhe-Ala);
ciklo-(Arg-Gly-NBzIAsp-DPhe-Val); FAB-MS (M+H): 665;	ciklo-(Arg-NEtGly-Asp-DPhe-Ala);
ciklo-(Arg-Gly-Asp-NBzIDPhe-Val); FAB-MS (M+H): 665;	ciklo-(Arg-Gly-NEtAsp-DPhe-Ala);
ciklo-(Arg-Gly-Asp-DPhe-NBzIVal); FAB-MS (M+H): 665;	ciklo-(Arg-Gly-Asp-NEtDPhe-Ala);
ciklo-(Arg-Gly-Asp-Phe-DNMeVal)×TFA; RZ=18,2; FAB-MS (M+H): 589;	ciklo-(Arg-Gly-Asp-DPhe-NEtAla);
ciklo-(NMeArg-Gly-Asp-DPhe-Leu); FAB-MS (M+H): 603;	20 ciklo-(NPrArg-Gly-Asp-DPhe-Ala);
ciklo-(Arg-NMeGly-Asp-DPhe-Leu); FAB-MS (M+H): 603;	ciklo-(Arg-NPrGly-Asp-DPhe-Ala);
ciklo-(Arg-Gly-NMeAsp-DPhe-Leu); FAB-MS (M+H): 603;	ciklo-(Arg-Gly-NPrAsp-DPhe-Ala);
ciklo-(Arg-Gly-Asp-NMeDPhe-Leu); FAB-MS (M+H): 603;	ciklo-(Arg-Gly-Asp-NPrDPhe-Ala);
ciklo-(Arg-Gly-Asp-DPhe-NMeLeu); FAB-MS (M+H): 603;	ciklo-(Arg-Gly-Asp-DPhe-NPrAla);
ciklo-(NEtArg-Gly-Asp-DPhe-Leu); FAB-MS (M+H): 617;	25 ciklo-(NBzIArg-Gly-Asp-DPhe-Ala);
ciklo-(Arg-NEtGly-Asp-DPhe-Leu); FAB-MS (M+H): 617;	ciklo-(Arg-NBzIGly-Asp-DPhe-Ala);
ciklo-(Arg-Gly-NEtAsp-DPhe-Leu); FAB-MS (M+H): 617;	ciklo-(Arg-Gly-NBzIAsp-DPhe-Ala);
ciklo-(Arg-Gly-Asp-NEtDPhe-Leu); FAB-MS (M+H): 617;	ciklo-(Arg-Gly-Asp-NBzIDPhe-Ala);
ciklo-(Arg-Gly-Asp-DPhe-NEtLeu); FAB-MS (M+H): 617;	ciklo-(Arg-Gly-Asp-DPhe-NBzIAla);
ciklo-(NPrArg-Gly-Asp-DPhe-Leu); FAB-MS (M+H): 631;	30 ciklo-(NMeArg-Gly-Asp-DPhe-Gly);
ciklo-(Arg-NPrGly-Asp-DPhe-Leu); FAB-MS (M+H): 631;	ciklo-(Arg-NMeGly-Asp-DPhe-Gly);
ciklo-(Arg-Gly-NPrAsp-DPhe-Leu); FAB-MS (M+H): 631;	ciklo-(Arg-Gly-NMeAsp-DPhe-Gly);
ciklo-(Arg-Gly-Asp-NPrDPhe-Leu); FAB-MS (M+H): 631;	ciklo-(Arg-Gly-Asp-NMeDPhe-Gly);
ciklo-(Arg-Gly-Asp-DPhe-NPrLeu); FAB-MS (M+H): 631;	ciklo-(Arg-Gly-Asp-DPhe-NMeGly); RZ=14,3; FAB-MS (M+H): 547;
ciklo-(NBzIArg-Gly-Asp-DPhe-Leu); FAB-MS (M+H): 679;	35 ciklo-(DArg-Gly-Asp-DPhe-NMeVal)×TFA; RZ=18,7; FAB-MS (M+H): 589;
	ciklo-(NEtArg-Gly-Asp-DPhe-Gly);
	ciklo-(Arg-NEtGly-Asp-DPhe-Gly);
	40 ciklo-(Arg-Gly-NEtAsp-DPhe-Gly);
	ciklo-(Arg-Gly-Asp-NEtDPhe-Gly);
	ciklo-(Arg-Gly-Asp-DPhe-NEtGly);
	ciklo-(NPrArg-Gly-Asp-DPhe-Gly);
	ciklo-(Arg-NPrGly-Asp-DPhe-Gly);
	45 ciklo-(Arg-Gly-NPrAsp-DPhe-Gly);
	ciklo-(Arg-Gly-Asp-NPrDPhe-Gly);
	ciklo-(Arg-Gly-Asp-DPhe-NPrGly);
	ciklo-(NBzIArg-Gly-Asp-DPhe-Gly);
	ciklo-(Arg-NBzIGly-Asp-DPhe-Gly);
	50 ciklo-(Arg-Gly-NBzIAsp-DPhe-Gly);
	ciklo-(Arg-Gly-Asp-NBzIDPhe-Gly);
	ciklo-(Arg-Gly-Asp-DPhe-NBzIGly);
	ciklo-(NMeArg-Gly-Asp-Phg-Val);
	ciklo-(Arg-NMeGly-Asp-Phg-Val);
	55 ciklo-(Arg-Gly-NMeAsp-Phg-Val);
	ciklo-(Arg-Gly-Asp-NMePhg-Val);
	ciklo-(Arg-Gly-Asp-Phg-NMeVal);
	ciklo-(NEtArg-Gly-Asp-Phg-Val);
	ciklo-(Arg-NEtGly-Asp-Phg-Val);
	60 ciklo-(Arg-Gly-NEtAsp-Phg-Val);

ciklo-(Arg-Gly-Asp-NEtPhg-Val);
 ciklo-(Arg-Gly-Asp-Phg-NEtVal);
 ciklo-(NPrArg-Gly-Asp-Phg-Val);
 ciklo-(Arg-NPrGly-Asp-Phg-Val);
 ciklo-(Arg-Gly-NPrAsp-Phg-Val);
 ciklo-(Arg-Gly-Asp-NPrPhg-Val);
 ciklo-(Arg-Gly-Asp-Phg-NPrVal);
 ciklo-(NBzlArg-Gly-Asp-Phg-Val);
 ciklo-(Arg-NBzlGly-Asp-Phg-Val);
 ciklo-(Arg-Gly-NBzlAsp-Phg-Val);
 ciklo-(Arg-Gly-Asp-NBzlPhg-Val);
 ciklo-(Arg-Gly-Asp-Phg-NBzlVal);
 ciklo-(NMeArg-Gly-Asp-Trp-Val);
 ciklo-(Arg-NMeGly-Asp-Trp-Val);
 ciklo-(Arg-Gly-NMeAsp-Trp-Val);
 ciklo-(Arg-Gly-Asp-NMeTrp-Val);
 ciklo-(Arg-Gly-Asp-Trp-NMeVal);
 ciklo-(NEtArg-Gly-Asp-Trp-Val);
 ciklo-(Arg-NEtGly-Asp-Trp-Val);
 ciklo-(Arg-Gly-NEtAsp-Trp-Val);
 ciklo-(Arg-Gly-Asp-NEtTrp-Val);
 ciklo-(Arg-Gly-Asp-Trp-NEtVal);
 ciklo-(NPrArg-Gly-Asp-Trp-Val);
 ciklo-(Arg-NPrGly-Asp-Trp-Val);
 ciklo-(Arg-Gly-NPrAsp-Trp-Val);
 ciklo-(Arg-Gly-Asp-NPrTrp-Val);
 ciklo-(Arg-Gly-Asp-Trp-NPrVal);
 ciklo-(NBzlArg-Gly-Asp-Trp-Val);
 ciklo-(Arg-NBzlGly-Asp-Trp-Val);
 ciklo-(Arg-Gly-NBzlAsp-Trp-Val);
 ciklo-(Arg-Gly-Asp-NBzlTrp-Val);
 ciklo-(Arg-Gly-Asp-Trp-NBzlVal).

2. példa

0,28 g 1. példa szerinti ciklizálással kapott ciklo-(Arg(Mtr)-Gly-Asp-NMePhe-DVal)-t 8,4 ml tetrahidrofuránnal, 1,7 ml diklór-metánnal és 0,9 ml tiofenollal készített oldatát 4 óra hosszat szobahőmérsékleten állni hagyjuk, majd bepároljuk, és vízzel hígítva fagyaszttva szárítjuk. Sephadex G 10-en gélszűrjük (ecetsav és víz 1:1 arányú elegyével), majd preparatív HPLC-vel a megadott körülmények között tisztítva kapjuk a ciklo-(Arg-Gly-Asp-NMePhe-DVal) vegyületet; FAB-MS (M+H): 589.

Analóg kapjuk:

a ciklo-(Arg(Mtr)-Gly-NMeAsp-DPhe-Ile)-ból:
 a ciklo-(Arg-Gly-NMeAsp-DPhe-Ile)-végterméket;
 FAB-MS (M+H): 603;
 a ciklo-(D-Arg(Mtr)-NMeGly-Asp(OBut)-DPhe-Nle)-ból:
 a ciklo-(D-Arg-NMeGly-Asp-DPhe-Nle)-végterméket;
 a ciklo-(NMeArg(Mtr)-Gly-D-Asp(OEt)-DPhe-Ile)-ból:
 a ciklo-(NMeArg-Gly-D-Asp-DPhe-Ile)-végterméket;
 a ciklo-(NMeArg(Mtr)-Gly-Asp-Phe-DIle)-ból:
 a ciklo-NMeArg-Gly-Asp-Phe-DIle)-végterméket;
 a ciklo-(Arg(Mtr)-Gly-NMeAsp-Phe-DLeu)-ból:
 a ciklo-(Arg-Gly-NMeAsp-Phe-DLeu)-végterméket;
 a ciklo-(Arg(Mtr)-NMeGly-Asp-Phe-DSer)-ból:
 a ciklo-(Arg-NMeGly-Asp-Phe-DSer)-végterméket;
 a ciklo-(Arg(Mtr)-NMeGly-Asp-DNal-Leu)-ból:
 a ciklo-(Arg-NMeGly-Asp-DNal-Leu)-végterméket;

a ciklo-(NMeArg(Mtr)-Gly-Asp-Nal-DIle)-ból:
 a ciklo-(NMeArg-Gly-ASsp-Nal-DIle)-végterméket;
 a ciklo-(Arg(Mtr)-Gly-Asp-NMePhg-DVal)-ból:
 a ciklo-(Arg-Gly-Asp-NMePhg-DVal)-végterméket;
 5 a ciklo-(Arg(Mtr)-Gly-NMeAsp-Trp-DVal)-ból:
 a ciklo-(Arg-Gly-NMeAsp-Trp-DVal)-végterméket.

3. példa

80 mg ciklo-(Arg-Gly-Asp-DPhe-NMeVal)-t 5-6-szor feloldunk 0,01 m sósavban, majd minden oldási menet után fagyaszttva szárítjuk. Ezt követően HPLC-vel tisztítjuk, és így ciklo-(Arg-Gly-Asp-DPhe-NMeVal)×HCl-ot kapunk; FAB-MS (M+H): 589.

Analóg kapjuk:

15 a ciklo-(NMeArg-Gly-Asp-DPhe-Val)-ból:
 a ciklo-(NMe-Arg-Gly-Asp-DPhe-Val)×HCl végterméket;
 a ciklo-(Arg-NMeGly-Asp-DPhe-Val)-ból:
 a ciklo-(Arg-NMeGly-Asp-DPhe-Val)×HCl végterméket; FAB-MS (M+H): 589;
 20 a ciklo-(Arg-Gly-NMeAsp-DPhe-Val)-ból:
 a ciklo-(Arg-Gly-NMeAsp-DPhe-Val)×HCl végterméket;
 a ciklo-(Arg-Gly-Asp-NMe-DPhe-Val)-ból:
 25 a ciklo-(Arg-Gly-Asp-NMe-DPhe-Val)×HCl végterméket;
 a ciklo-(Arg-Gly-Asp-Phe-DNMe-Val)-ból:
 a ciklo-(Arg-Gly-Asp-Phe-DNMe-Val)×HCl végterméket; RZ=18,2; FAB-MS (M+H): 589.
 30 Analóg kapjuk ecetsavas kezeléssel (AcOH):
 a ciklo-(Arg-Gly-NMeAsp-DPhe-Val)-ból:
 a ciklo-(Arg-Gly-NMeAsp-DPhe-Val)×AcOH-végterméket; RZ=15,4; FAB-MS (M+H): 589.

Analóg kapjuk metánszulfonsavas kezeléssel (MeSO₃H):
 35 ciklo-(Arg-Gly-Asp-DPhe-NMeVal)-ból:
 a ciklo-(Arg-Gly-Asp-DPhe-NMeVal)×MeSO₃H végterméket; RZ=17,8; FAB-MS (M+H): 589.

4. példa

Az affinitásfázisok előállításához 0,9 g N-maleinimido-(CH₂)₅-CO-NH-(CH₂)₃-polimert szuszpendálunk [előállítás: N-maleinimido-(CH₂)₅-COOH és H₂N-(CH₂)₃-polimer kondenzálásával] 10 ml 0,1 mol nátrium-foszfát-pufferben pH=7-nél, és 4 °C-on hozzáadunk 1 ekvivalens ciklo-(Arg-Gly-Asp-DPhe-NMeLys(CO(CH₂)₂SH)-t. 4 óra hosszat keverjük egyidejűleg, a reakcióelegyet szobahőmérsékletre melegítjük, a szilárd maradékot leszűrjük, 2×10 ml pH=értékű pufferoldattal mossuk, majd háromszor egyenként 10 ml vízzel mossuk. Végtermék: ciklo-(Arg-Gly-Asp-DPhe-NMeLys(CO(CH₂)₂S₃-(N-maleinimido-(CH₂)₅-CONH-(CH₂)₃-polimer)).

5. példa

A 4. példa analógiájára polimer-O-(CH₂)₃-NH₂-t (kereskedelemben kapható) és ciklo-(Arg-Gly-Asp-NMe-DPhe-Lys(CO(CH₂)₄COOH kondenzációjával [utóbbi előállíthatjuk adipinsav ciklo-(Arg-Gly-Asp-NMe-DPhe-Lys) kondenzálásával], a meg-

adott körülmények között kapjuk a következő polimer-fázist: ciklo-(Arg-Gly-Asp-NMe-DPhe-Lys-(CO-(CH₂)₄-CO-NH-(CH₂)₃-O-polimer).

Analóg kapjuk ciklo-(NMe-Arg-Gly-Asp-DPhe-Lys-(CO-(CH₂)₅-NH₂)) és HOOC-CH₂-O-polimer kondenzálásával a következő vegyületet:

ciklo-(NMe-Arg-Gly-Asp-DPhe-Lys-(CO-(CH₂)₅-NH-CO-CH₂-O-polimer)).

A következő példák a gyógyászati készítmények előállítását mutatják be.

A) példa

Injekciós üvegek

100 g (I) képletű ciklopeptid és 5 g dinátrium-hidrogén-foszfát 3 liter kétszer desztillált vízzel desztillált oldatát 2 n sósavval pH 6,5-re állítjuk, sterilén szűrjük, injekciós üvegekbe töltjük és steril körülmények között liofilizáljuk, majd sterilén lezárjuk. Minden egyes üveg 5 mg hatóanyagot tartalmaz.

B) példa

Kúp

20 mg (I) képletű hatóanyag és 100 g szójalecitin, valamint 1400 g kakaóvaj elegyét megolvasztjuk, formákba öntjük és hagyjuk lehűlni. Minden kúp 20 mg hatóanyagot tartalmaz.

C) példa

Oldat

1 g (I) képletű hatóanyagból, 9,38 g NaH₂PO₄×2H₂O-ból, 28,48 g Na₂HPO₄×12 H₂O-ból és 0,1 g benzalkónium-kloridból 940 ml kétszer desztillált vizet kapunk. A pH-t 6,8-re állítjuk, a térfogatot 1 literre feltöltjük és besugárzással sterilizáljuk. Az oldatot szemcseppek formájában alkalmazhatjuk.

D) példa

Kenőcs

500 mg (I) képletű hatóanyagot 99,5 g vazelinnel aszeptikus körülmények között elkeverünk.

E) példa

Tabletta

100 g (I) képletű ciklopeptid, 1 kg laktóz, 600 g mikrokristályos cellulóz, 600 g kukoricakeményítő, 100 g poli(vinil-pirrolidon), 80 g talkum és 10 g magnézium-sztearát elegyét a szokásos módon tablettákká préseljük úgy, hogy minden tablettá 10 mg hatóanyagot tartalmaz.

F) példa

Drazsé

A tablettákat az E) példában leírt módon préseljük, és ezt követően a szokásos módon szacharózból, kukoricakeményítőből, talkumból, tragantmézgából és színezékből álló bevonattal látjuk el.

G) példa

Kapszula

A szokott módon keményszelatin-kapszulákat állítunk elő az (I) képletű hatóanyagból úgy, hogy minden kapszula 5 mg hatóanyagot tartalmaz.

H) példa

Inhalációspray

14 g (I) képletű hatóanyagot 10 l izotóniás nátrium-klorid-oldatban oldunk, és az oldatot kereskedelmi forgalomban lévő permetezőedényekbe töltjük egy szivattyúmechanizmus révén. Az oldatot szájba vagy orrba lehet permetezni. Egy löket (körülbelül 0,1 ml) mintegy 0,14 mg dózisnak felel meg.

SZABADALMI IGÉNYPONTOK

1. (I) általános képletű ciklopeptidek, ahol D és E jelentése egymástól függetlenül a következő jelentésű: Gly, Ala, β-Ala, Asn, Asp, Asp(OR), Arg, Cha, Cys, Gln, Glu, His, Ile, Leu, Lys, Lys(Ac), Lys(AcNH₂), Lys(AcSH), Met, Nal, Nle, Orn, Phe, 4-Hal-Phe, homo-Phe, Phg, Pro, Pya, Ser, Thr, Tia, Tic, Trp, Tyr vagy Val, ahol a megadott aminosav-csoportok származékai is szerepelhetnek, R jelentése 1–18 szénatomos alkilcsoport, Hal jelentése fluor-, klór-, bróm- vagy jódatom, Ac jelentése 1–10 szénatomos alkanoil-, 7–11 szénatomos aroil- vagy 8–12 szénatomos aralkanoilcsoport, n hidrogénatom vagy R alkilcsoport, benzil- vagy 7–18 szénatomos aralkilcsoport a megfelelő aminosavcsoport α-aminocsoportján, azzal a megkötéssel, hogy az (I) képletű ciklopeptid nem ciklo-(Arg-Gly-Asp-NMe-Phe-Gly),

és azzal a megkötéssel, hogy legalább egy aminosav-csoport rendelkezik egy n szubsztituenssel – ahol n jelentése R alkilcsoport, és ahol, amennyiben optikailag aktív aminosav vagy aminosavszármazékok csoportjairól van szó, úgy a D- és az L-formák is idetartoznak, valamint ezek fiziológiailag elfogadható sói.

2. Az 1. igénypont szerinti (I) általános képletű vegyület enantiomerje vagy diasztereomerje.

3. (a) ciklo-(NMeArg-Gly-Asp-D-Phe-Val);

(b) ciklo-(Arg-Gly-Asp-DPhe-NMeVal);

(c) ciklo-(Arg-NMeGly-Asp-DPhe-Val);

(d) ciklo-(Arg-Gly-NMeAsp-DPhe-Val);

(e) ciklo-(Arg-Gly-Asp-NMe-DPhe-Val);

(f) ciklo-(Arg-Gly-Asp-DPhe-NMeGly),

55 az 1. igénypont szerint, valamint ezen vegyületek fiziológiailag elfogadható sói.

4. Eljárás az 1. igénypont szerinti (I) általános képletű vegyületek vagy sói előállítására, azzal jellemezve, hogy reakcióképes származékaik egyikéből szolvilizá-

ló- vagy hidrogenolizálószerrel felszabadítjuk, vagy egy (II) általános képletű peptidet, ahol Z jelentése

-nArg-nGly-nAsp-nD-nE-

-nGly-nAsp-nD-nE-nArg-

-nAsp-nD-nE-nArg-nGly-

-nD-nE-nArg-nGly-nAsp- vagy

-nE-nArg-nGly-nAsp-nD-

vagy reakcióképes származékát ciklizálószerrel kezeljük, vagy

egy (I) általános képletű vegyületnek megfelelő ciklopeptidet, amely egy vagy több szabad amino- vagy savcsoportot és/vagy aktivált alfa-szénatomot tartalmaz, alkilezzük, acilezzük vagy észterezzük,

és/vagy egy (I) általános képletű bázikus vagy savas vegyületet savval vagy bázissal kezelve sójává alakítunk.

5. Eljárás gyógyszerkészítmények előállítására, *azzal jellemezve*, hogy egy 1. igénypont szerinti (I) általános

képletű vegyületet és/vagy fiziológiailag elfogadható sóját legalább egy szilárd, folyékony vagy félig szilárd hordozóval vagy segédanyaggal megfelelő dózisformává alakítunk.

5 6. Gyógyszerkészítmény, *azzal jellemezve*, hogy legalább egy, 1. igénypont szerinti (I) általános képletű vegyületet és/vagy fiziológiailag elfogadható sóját tartalmazza.

10 7. Az 1. igénypont szerinti (I) általános képletű vegyületek vagy fiziológiailag elfogadható sói alkalmazása gyógyszerkészítmény előállítására betegségek ellen.

15 8. Az 1. igénypont szerinti (I) általános képletű vegyületek alkalmazása affinitás-oszlop-kromatográfiához rögzített ligandumok előállítására.

9. Az 1. igénypont szerinti (I) általános képletű vegyületek alkalmazása integrinek tisztítására affinitás-kromatográfián.