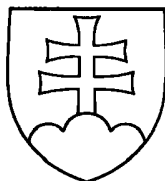


SLOVENSKÁ REPUBLIKA

(19) SK



ÚRAD
PRIEMYSELNÉHO
VLASTNÍCTVA
SLOVENSKEJ REPUBLIKY

ZVEREJNENÁ PRIHLÁŠKA VYNÁLEZU

- (22) Dátum podania: 03.07.96
(31) Číslo prioritnej prihlášky: 60/001 105, 08/626 186,
60/003 305
(32) Dátum priority: 13.07.95, 29.03.96, 06.09.95
(33) Krajina priority: US, US, US
(40) Dátum zverejnenia: 08.07.98
(86) Číslo PCT: PCT/US96/11292, 03.07.96

(21) Číslo dokumentu:

31-98

(13) Druh dokumentu: A3

(51) Int. Cl.⁶ :

A 61K 38/29,
C 07K 1/06,
C 07K 14/635

(71) Prihlasovateľ: BIOMEASURE INCORPORATED, Milford, MA, US;

(72) Pôvodca vynálezu: Zheng Xin DONG, Framingham, MA, US;

(54) Názov prihlášky vynálezu: **Analógy hormónu prištítnnej žľazy**

(57) Anotácia:

Peptidové varianty fragmentu (1-34) hormónu prištítnnej žľazy (parathormónu), v ktorých aspoň jeden z aminokyselinových zvyškov v polohách 7, 11, 23, 24, 27, 28 a 31 je cyklohexylalanín alebo aspoň jeden z aminokyselinových zvyškov v polohách 3, 16, 17, 18, 19 a 34 je kyselina α -aminoizomaslová; alebo, ako iná možnosť, aspoň aminokyselinový zvyšok v polohe 1 je kyselina α,β -diaminopropiónová, aminokyselinový zvyšok v polohe 27 je homoarginín alebo aminokyselinový zvyšok v polohe 31 je norleucín.

Analógy hormónu prištítnnej žľazy

Oblasť techniky

Predložený vynález sa týka analógov, peptidových variantov hormónu prištítnnej žľazy (parathormónu).

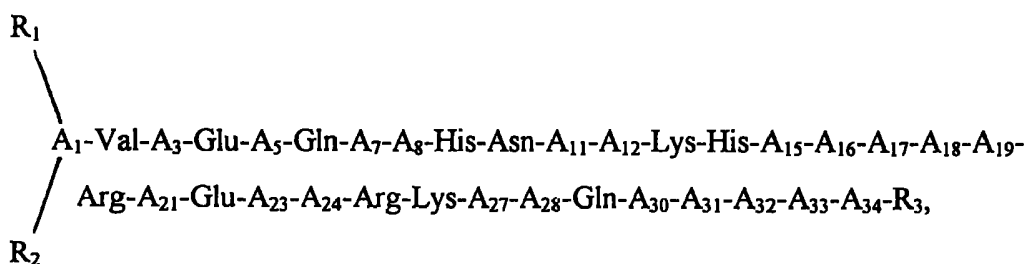
Doterajší stav techniky

Hormón prištítnnej žľazy ("PTH") je polypeptid, ktorý sa tvorí v prištítnnych žľazách. Vyzretá obehová forma hormónu sa skladá z 84 aminokyselinových zvyškov. Biologický účinok PTH sa môže reprodukovat' peptidovým fragmentom jeho N-konca (napr. aminokyselinových zvyškov 1 až 34). Proteín hormónu prištítnnej žľazy ("PTHrP") je proteín so 139 až 173 aminokyselinami, ktorý má N-koncovú homológiu s PTH. PTHrP má veľa biologických účinkov spoločných s PTH, ku ktorým patrí aj väzba na spoločný PTH/PTHrP receptor. (Tregear a kol., Endocrinol., 93:1349 (1983)). Charakterizovali sa peptidy PTH z veľkého množstva rozličných zdrojov, napr. ľudský, hovädzí, potkaní, slepačí. (Nissenson a kol., Receptor, 3:193 (1993)).

Ukázalo sa, že PTH zvyšuje množstvo kostnej hmoty aj jej kvalitu. (Dempster a kol., Endocrine Rev., 14:690 (1993); a Riggs, Amer. J. Med., 91 (Dodatok 5B):37S (1991)). Pozoroval sa anabolický účinok pri prerušovane podávanom PTH u osteoporotických mužov a žien so súčasnou antiresorpčnou liečbou alebo bez nej. (Slovik a kol., J. Bone Miner. Res, 1: 377 (1986); Reeve a kol., Br. Med. J., 301:314 (1990); a R.-D. Hesch a kol., Calcif. Tissue Int'l, 44:176 (1989)).

Podstata vynálezu

Jeden aspekt vynálezu sa týka peptidových variantov PTH(1-34) s nasledujúcim generickým vzorcom:



kde

A_1 je Ser, Ala alebo Dap;

A_3 je Ser, Thr alebo Aib;

A_5 je Leu, Nle, Ile, Cha, β -Nal, Trp, Pal, Phe alebo p-X-Phe, v ktorom X je OH, halogén alebo CH_3 ;

A_7 je Leu, Nle, Ile, Cha, β -Nal, Trp, Pal, Phe alebo p-X-Phe, v ktorom X je OH, halogén alebo CH_3 ;

A_8 je Met, Nva, Leu, Val, Ile, Cha alebo Nle;

A_{11} je Leu, Nle, Ile, Cha, β -Nal, Trp, Pal, Phe alebo p-X-Phe, v ktorom X je OH, halogén alebo CH_3 ;

A_{12} je Gly alebo Aib;

A_{15} je Leu, Nle, Ile, Cha, β -Nal, Trp, Pal, Phe alebo p-X-Phe, v ktorom X je OH, halogén alebo CH_3 ;

A_{16} je Ser, Asn, Ala alebo Aib;

A_{17} je Ser, Thr alebo Aib;

A_{18} je Met, Nva, Leu, Val, Ile, Nle, Cha alebo Aib;

A_{19} je Glu alebo Aib;

A_{21} je Val, Cha alebo Met;

A_{23} je Trp alebo Cha;

A_{24} je Leu alebo Cha;

A_{27} je Lys, Aib, Leu, hArg, Gln alebo Cha;

A_{28} je Leu alebo Cha;

A_{30} je Asp alebo Lys;

A_{31} je Val, Nle, Cha alebo je vynechané;

A_{32} je His alebo je vynechané;

A_{33} je Asn alebo je vynechané;

A_{34} je Phe, Tyr, Amp, Aib alebo je vynechané;

každé z R_1 a R_2 je nezávisle H, alkyl C_{1-12} , alkenyl C_{2-12} , fenyalkyl C_{7-20} , naftylalkyl C_{11-20} , hydroxyalkyl C_{1-12} , hydroxyalkenyl C_{2-12} , hydroxyfenylalkyl C_{7-20} alebo hydroxynaftylalkyl C_{11-20} ; alebo jedno a len jedno z R_1 a R_2 je COE_1 , kde E_1 je alkyl C_{1-12} , alkenyl C_{2-12} , fenyalkyl C_{7-20} , naftylalkyl C_{11-20} , hydroxyalkyl C_{1-12} , hydroxyalkenyl C_{2-12} , hydroxyfenylalkyl C_{7-20} alebo hydroxynaftylalkyl C_{11-20} ; a

R_3 je OH, NH_2 , alkoxy skupina C_{1-12} alebo $NH-Y-CH_2-Z$, kde Y je uhlíkovodíková časť C_{1-12} a Z je H, OH, CO_2H alebo $CONH_2$;

za predpokladu, že (i) aspoň jedno z $A_5, A_7, A_8, A_{11}, A_{15}, A_{18}, A_{21}, A_{23}, A_{24}, A_{27}, A_{28}$ a A_{31} je Cha alebo aspoň jedno z $A_3, A_{12}, A_{16}, A_{17}, A_{18}, A_{19}$ a A_{34} je Aib; alebo že (ii) aspoň A_1 je Dap, A_7 je β -Nal, Trp, Pal, Phe alebo p-X-Phe, A_{15} je β -Nal, Trp, Pal, Phe alebo p-X-Phe, A_{27} je hArg alebo A_{31} je Nle; alebo ich farmaceuticky prijateľná soľ.

Podskupinou zlúčenín, ktoré odpovedajú vyššie uvedenému vzorcu, sú tie, v ktorých aspoň jedno z $A_5, A_7, A_{11}, A_{15}, A_{18}, A_{21}, A_{23}, A_{24}, A_{27}, A_{28}$ and A_{31} je Cha. Napríklad A_3 je Ser; A_5 je Ile; A_7 je Leu alebo Cha; A_8 je Met, Nva, Leu, Val, Ile alebo Nle; A_{11} je Leu alebo Cha; A_{12} je Gly; A_{15} je Leu alebo Cha; A_{16} je Asn alebo Aib; A_{17} je Ser; A_{18} je Met alebo Nle; A_{21} je Val; A_{27} je Lys, hArg alebo Cha; A_{32} je His; A_{31} je Val, Nle alebo Cha; A_{33} je Asn; A_{34} je Phe, Tyr, Amp alebo Aib; R_1 je H; R_2 je H; a R_3 je NH_2 ; za predpokladu, že aspoň jedno z $A_5, A_7, A_8, A_{11}, A_{15}, A_{18}, A_{21}, A_{23}, A_{24}, A_{27}, A_{28}$ and A_{31} je Cha, alebo aspoň jedno z $A_3, A_{12}, A_{16}, A_{17}, A_{18}, A_{19}$ and A_{34} je Aib. Ak sa to požaduje, aspoň jedno z A_7 a A_{11} môže byť Cha; alebo aspoň jedno z $A_{15}, A_{23}, A_{24}, A_{27}, A_{28}$ and A_{31} je Cha.

V ďalšej podskupine aspoň jedno z $A_3, A_{12}, A_{16}, A_{17}, A_{18}, A_{19}$ and A_{34} je Aib. Napríklad A_3 je Ser alebo Aib; A_5 je Ile; A_7 je Leu alebo Cha; A_8 je Met, Nva, Leu, Val, Ile alebo Nle; A_{11} je Leu alebo Cha; A_{15} je Leu alebo Cha; A_{16} je Asn alebo Aib; A_{18} je Met, Aib alebo Nle; A_{21} je Val; A_{27} je Lys, Aib, Leu, hArg alebo Cha; A_{31} je Val, Nle alebo Cha; A_{32} je His; A_{33} je Asn; A_{34} je Phe, Tyr, Amp alebo Aib; R_1 je H; R_2 je H; a R_3 je NH_2 ; za predpokladu, že aspoň jedno z $A_5, A_7, A_8, A_{11}, A_{15}, A_{18}, A_{21}, A_{23}, A_{24}, A_{27}, A_{28}$ and A_{31} je Cha, alebo aspoň jedno z $A_3, A_{12}, A_{16}, A_{17}, A_{18}, A_{19}$ and A_{34} je Aib. Ak sa to požaduje, aspoň jedno z A_7 and A_{11} môže byť Cha; alebo aspoň jedno z $A_{15}, A_{23}, A_{24}, A_{27}, A_{28}$ a A_{31} je Cha.

V ešte ďalšej podskupine aspoň jedno z $A_5, A_7, A_8, A_{11}, A_{15}, A_{18}, A_{21}, A_{23}, A_{24}, A_{27}, A_{28}$ a A_{31} je Cha, alebo aspoň jedno z $A_3, A_{12}, A_{16}, A_{17}, A_{18}, A_{19}$ a A_{34} je Aib. Napríklad A_3 je Ser

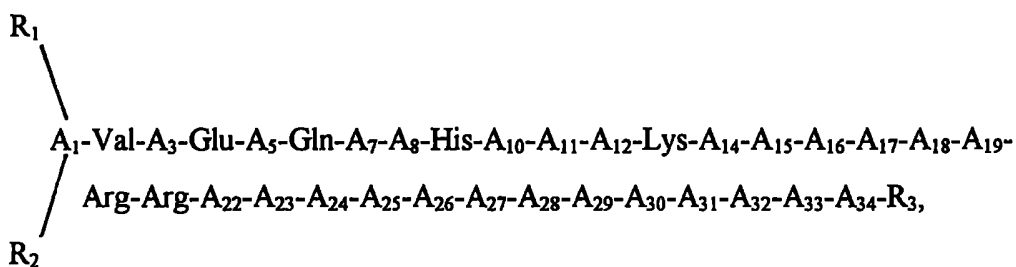
alebo Aib; A₅ je Ile; A₇ je Leu alebo Cha; A₈ je Met, Nva, Leu, Val, Ile alebo Nle; A₁₁ je Leu alebo Cha; A₁₅ je Leu alebo Cha; A₁₆ je Asn alebo Aib; A₁₈ je Met, Aib alebo Nle; A₂₁ je Val; A₂₇ je Lys, Aib, Leu, hArg alebo Cha; A₃₁ je Val, Nle alebo Cha; A₃₂ je His; A₃₃ je Asn; A₃₄ je Phe, Tye, Amp alebo Aib; R₁ je H; R₂ je H; and R₃ je NH₂. Ak sa to požaduje, aspoň jedno z A₇ and A₁₁ je Cha a aspoň jedno z A₁₆, A₁₉ a A₃₄ je Aib; alebo aspoň jedno z A₂₄, A₂₈ and A₃₁ je Cha a aspoň jedno z A₁₆ and A₁₇ je Aib.

V ešte ďalšej podskupine aspoň jedno z A₁ je Dap, A₇ je β-Nal, Trp, Pal, Phe alebo p-X-Phe, A₁₃ je β-Nal, Trp, Pal, Phe alebo p-X-Phe. Napríklad A₁ je Ser, Gly alebo Dap; A₃ je Ser alebo Aib; A₈ je Met, Nva, Leu, Val, Ile alebo Nle; A₁₆ je Asn alebo Aib; A₁₈ je Met, Aib alebo Nle; A₂₁ je Val; A₂₇ je Lys, Aib, Leu, hArg alebo Cha; A₃₁ je Val, Nle alebo Cha; A₃₂ je His; A₃₃ je Asn; A₃₄ je Phe, Tyr, Amp alebo Aib; R₁ je H; R₂ je H; and R₃ je NH₂.

Nasledujú príklady peptidov podľa tohto vynálezu, ktoré zodpovedajú vyššie uvedenému vzorcu: [Cha⁷]hPTH(1-34)NH₂; [Cha¹¹]hPTH(1-34)NH₂; [Cha¹⁵]hPTH(1-34)NH₂; [Cha^{7, 11}]hPTH(1-34)NH₂; [Cha^{7, 11}, Nle^{8, 18}, Tyr³⁴]hPTH(1-34)NH₂; [Cha²³]hPTH(1-34)NH₂; [Cha²⁴]hPTH(1-34)NH₂; [Nle^{8, 18}, Cha²⁷]hPTH(1-34)NH₂; [Cha²⁸]hPTH(1-34)NH₂; [Cha³¹]hPTH(1-34)NH₂; [Cha²⁷]hPTH(1-34)NH₂; [Cha^{27, 29}]hPTH(1-34)NH₂; [Cha²⁸]bPTH(1-34)NH₂; [Cha²⁸]rPTH(1-34)NH₂; [Cha^{24, 28, 31}]hPTH(1-34)NH₂; [Aib¹⁶]hPTH(1-34)NH₂; [Aib¹⁹]hPTH(1-34)NH₂; [Aib³⁴]hPTH(1-34)NH₂; [Aib^{16, 19}]hPTH(1-34)NH₂; [Aib^{16, 19, 34}]bPTH(1-34)NH₂; [Aib^{16, 34}]hPTH(1-34)NH₂; [Aib^{19, 34}]hPTH(1-34)NH₂; [Cha^{7, 11}, Nle^{8, 18}, Aib^{16, 19}, Tyr³⁴]hPTH(1-34)NH₂; [Cha^{7, 11}, Nle^{8, 18, 31}, Aib^{16, 19}, Tyr³⁴]hPTH(1-34)NH₂; [Cha⁷, Aib¹⁶]hPTH(1-34)NH₂; [Cha¹¹, Aib¹⁶]hPTH(1-34)NH₂; [Cha⁷, Aib³⁴]hPTH(1-34)NH₂; [Cha¹¹, Aib³⁴]hPTH(1-34)NH₂; [Cha²⁷, Aib¹⁶]hPTH(1-34)NH₂; [Cha²⁷, Aib³⁴]hPTH(1-34)NH₂; [Cha²⁸, Aib¹⁶]hPTH(1-34)NH₂; [Cha²⁸, Aib³⁴]hPTH(1-34)NH₂; [Nle³¹]hPTH(1-34)NH₂; [hArg²⁷]hPTH(1-34)NH₂; [Dap¹, Nle^{8, 18}, Tyr³⁴]hPTH(1-34)NH₂; [Nle³¹]bPTH(1-34)NH₂; [Nle³¹]rPTH(1-34)NH₂; [hArg²⁷]bPTH(1-34)NH₂; [hArg²⁷]rPTH(1-34)NH₂; [Cha^{7, 11}, Aib¹⁹, Lys³⁰]hPTH(1-34)NH₂; [Aib¹²]hPTH(1-34)NH₂; [Cha^{24, 28, 31}, Lys³⁰]hPTH(1-34)NH₂; [Cha^{28, 31}]hPTH(1-34)NH₂; [Cha^{7, 11}, Nle^{8, 18}, Aib³⁴]hPTH(1-34)NH₂; [Aib³]hPTH(1-34)NH₂; [Cha⁸]hPTH(1-34)NH₂; [Cha¹⁵]hPTH(1-34)NH₂; [Cha^{7, 11}, Aib¹⁹]hPTH(1-34)NH₂; [Cha^{7, 11}, Aib¹⁶]hPTH(1-34)NH₂; [Aib¹⁷]hPTH(1-34)NH₂; [Cha⁵]hPTH(1-34)NH₂; [Cha^{7, 11, 15}]hPTH(1-34)NH₂; [Cha^{7, 11}, Nle^{8, 18}, Aib¹⁹, Tyr³⁴]hPTH(1-34)NH₂; [Cha^{7, 11}, Nle^{8, 18}, Aib¹⁹, Lys³⁰, Tyr³⁴]hPTH(1-34)NH₂; [Cha^{7, 11, 15}]hPTH(1-34)NH₂; [Aib¹⁷]hPTH(1-34)NH₂; [Cha^{7, 11},

Leu²⁷]hPTH(1-34)NH₂; [Cha^{7, 11, 15}, Leu²⁷]hPTH(1-34)NH₂; [Cha^{7, 11, 27}]hPTH(1-34)NH₂; [Cha^{7, 11, 15, 27}]hPTH(1-34)NH₂; [Trp¹⁵]hPTH(1-34)NH₂; [Nal¹⁵]hPTH(1-34)NH₂; [Trp¹⁵, Cha²³]hPTH(1-34)NH₂; [Cha^{15, 23}]hPTH(1-34)NH₂; [Phe^{7, 11}]hPTH(1-34)NH₂; [Nal^{7, 11}]hPTH(1-34)NH₂; [Trp^{7, 11}]hPTH(1-34)NH₂; [Phe^{7, 11, 15}]hPTH(1-34)NH₂; [Nal^{7, 11, 15}]hPTH(1-34)NH₂; [Trp^{7, 11, 15}]hPTH(1-34)NH₂; a [Tyr^{7, 11, 15}]hPTH(1-34)NH₂.

Ďalší aspekt tohto vynálezu sa týka peptidov odpovedajúcich nasledujúcemu vzorcu:



kde

A₁ je Ala, Ser alebo Dap;

A₃ je Ser alebo Aib;

A₅ je His, Ile alebo Cha;

A₇ je Leu, Cha, Nle, β-Nal, Trp, Pal, Phe alebo p-X-Phe, v ktorom X je OH, halogén alebo CH₃;

A₈ je Leu, Met alebo Cha;

A₁₀ je Asp alebo Asn;

A₁₁ je Lys, Leu, Cha, Phe alebo β-Nal;

A₁₂ je Gly alebo Aib;

A₁₄ je Ser alebo His;

A₁₅ je Ile alebo Cha;

A₁₆ je Gln alebo Aib;

A₁₇ je Asp alebo Aib;

A₁₈ je Leu, Aib alebo Cha;

A₁₉ je Arg alebo Aib;

A₂₂ je Phe, Glu, Aib alebo Cha;

A₂₃ je Phe, Leu, Lys alebo Cha;

A₂₄ je Leu, Lys alebo Cha;

A₂₅ je His, Aib alebo Glu;

A₂₆ je His, Aib alebo Lys;

A₂₇ je Leu, Lys alebo Cha;

A₂₈ je Ile, Leu, Lys alebo Cha;

A₂₉ je Ala, Glu alebo Aib;

A₃₀ je Glu, Cha, Aib alebo Lys;

A₃₁ je Ile, Leu, Cha, Lys alebo je vynechané;

A₃₂ je His alebo je vynechané;

A₃₃ je Thr alebo je vynechané;

A₃₄ je Ala alebo je vynechané;

každé z R₁ a R₂ je nezávisle H, alkanyl C₁₋₁₂, fenyalkyl C₇₋₂₀, naftylalkyl C₁₁₋₂₀, hydroxyalkyl C₁₋₁₂, hydroxyalkenyl C₂₋₁₂, hydroxyfenylalkyl C₇₋₂₀ alebo hydroxynaftylalkyl C₁₁₋₂₀; alebo jedno a len jedno z R₁ a R₂ je COE₁, kde E₁ je alkyl C₁₋₁₂, alkenyl C₂₋₁₂, fenyalkyl C₇₋₂₀, naftylalkyl C₁₁₋₂₀, hydroxyalkyl C₁₋₁₂, hydroxyalkenyl C₂₋₁₂, hydroxyfenylalkyl C₇₋₂₀ alebo hydroxynaftylalkyl C₁₁₋₂₀; a

R₃ je OH, NH₂, alkoxy skupina C₁₋₁₂ alebo NH-Y-CH₂-Z, kde Y je uhl'ovodíková časť C₁₋₁₂ a Z je H, OH, CO₂H alebo CONH₂;

za predpokladu, že (i) aspoň jedno z A₅, A₇, A₈, A₁₁, A₁₅, A₁₈, A₂₂, A₂₃, A₂₄, A₂₇, A₂₈, A₃₀ alebo A₃₁ je Cha, alebo aspoň jedno z A₃, A₁₂, A₁₆, A₁₇, A₁₈, A₁₉, A₂₂, A₂₅, A₂₆, A₂₉, A₃₀ alebo A₃₄ je Aib; alebo že (ii) aspoň jedno z A₂₃, A₂₄, A₂₇, A₂₈ alebo A₃₁ je Lys; alebo ich farmaceuticky prijateľná soľ. V jednom praktickom uskutočnení aspoň jedno z A₇ a A₁₁ je Cha. V inom praktickom uskutočnení aspoň jedno z A₁₆ alebo A₁₉ is Aib. Ku konkrétnym príkladom peptidov, ktoré majú práve popísaný vzorec, patria, ale neobmedzujú sa iba na tieto, [Cha⁷]hPTHrP(1-34)NH₂; [Cha¹¹]hPTHrP(1-34)NH₂; [Cha^{7, 11}]hPTHrP(1-34)NH₂; [Aib¹⁶, Tyr³⁴]hPTHrP(1-34)NH₂; [Aib¹⁹]hPTHrP(1-34)NH₂; [Aib^{16, 19}]hPTHrP(1-34)NH₂; [Cha^{7, 11}, Aib¹⁶]hPTHrP(1-34)NH₂; [Cha^{7, 11}, Aib¹⁹]hPTHrP(1-34)NH₂; [Cha²², Leu^{23, 28, 31}, Glu^{25, 29}, Lys^{26, 30}]hPTHrP(1-34)NH₂; [Glu^{22, 25, 29}, Leu^{23, 28, 31}, Lys^{26, 27, 30}]hPTHrP(1-34)NH₂; [Cha^{22, 23}, Glu^{25, 29}, Leu^{28, 31}, Lys^{26, 30}]hPTHrP(1-34)NH₂; [Glu^{22, 25}, Leu^{23, 28, 31}, Aib²⁹, Lys^{26, 30}]hPTHrP(1-34)NH₂; [Glu^{22, 25, 29}, Lys^{23, 26, 30}, Leu^{28, 31}] hPTHrP(1-34)NH₂; [Glu^{22, 25, 29}, Leu^{23, 28, 31}, Lys²⁶, Cha³⁰] hPTHrP(1-34)NH₂; [Glu^{22, 25, 29}, Leu^{23, 28, 31}, Lys²⁶, Aib³⁰]hPTHrP(1-34)NH₂; [Glu^{22, 25, 29}, Leu^{23, 31}, Lys^{26, 28, 30}]hPTHrP(1-34)NH₂; [Cha^{22, 23, 24, 27, 28, 31}, Glu^{25, 29}, Lys^{26, 30}]hPTHrP(1-34)NH₂; [Glu^{22, 25, 29}, Cha^{23, 24, 28, 31}, Lys^{26, 27, 30}]hPTHrP(1-34)NH₂; [Glu^{22, 25, 29}, Cha^{23, 24, 27, 31}, Lys^{26, 28, 30}]hPTHrP(1-34)NH₂; [Glu^{22, 25, 29}, Lys^{23, 26, 30}, Cha^{24, 27, 28, 31}]hPTHrP(1-34)NH₂; [Cha²², Leu²³,

^{28, 31}, Glu^{25, 29}, Lys^{26, 27, 30}]hPTHrP(1-34)NH₂; [Cha²², Leu^{23, 31}, Glu^{25, 29}, Lys^{26, 28, 30}]hPTHrP(1-34)NH₂; [Cha²², Lys^{23, 26, 30}, Glu^{25, 29}, Leu^{28, 31}]hPTHrP(1-34)NH₂; [Cha²², Leu^{23, 28, 31}, Glu²⁵, Lys^{26, 30}, Aib²⁹]hPTHrP(1-34)NH₂; [Cha²², Leu^{23, 28, 31}, Glu^{25, 29}, Lys²⁶, Aib³⁰]hPTHrP(1-34)NH₂; [Glu^{22, 25}, Leu^{23, 28, 31}, Lys^{26, 27, 30}, Aib²⁹]hPTHrP(1-34)NH₂; [Glu^{22, 25}, Lys^{23, 26, 30}, Leu^{28, 31}, Aib²⁹]hPTHrP(1-34)NH₂; [Glu^{22, 25}, Leu^{23, 31}, Lys^{26, 28, 30}, Aib²⁹]hPTHrP(1-34)NH₂; (Cha^{7, 11}, Glu^{22, 25, 29}, Leu^{23, 28, 31}, Lys^{26, 30}]hPTHrP(1-34)NH₂; [Cha^{7, 11, 22}, Leu^{23, 28, 31}, Glu^{25, 29}, Lys^{26, 30}]hPTHrP(1-34)NH₂; [Cha^{7, 11}, Glu^{22, 25, 29}, Leu^{23, 28, 31}, Lys^{26, 27, 30}]hPTHrP(1-34)NH₂; [Cha^{7, 11, 22, 23}, Glu^{25, 29}, Leu^{28, 31}, Lys^{26, 30}]hPTHrP(1-34)NH₂; [Cha^{7, 11}, Glu^{22, 25, 29}, Lys^{23, 26, 30}, Leu^{28, 31}]hPTHrP(1-34)NH₂; [Cha^{7, 11}, Glu^{22, 25, 29}, Leu^{23, 31}, Lys^{26, 28, 30}]hPTHrP(1-34)NH₂; [Cha^{7, 11}, Glu^{22, 25}, Leu^{23, 28, 31}, Aib²⁹, Lys^{26, 30}]hPTHrP(1-34)NH₂; [Cha^{7, 11}, Glu^{22, 25, 29}, Leu^{23, 28, 31}, Lys²⁶, Aib³⁰]hPTHrP(1-34)NH₂; [Cha¹⁵, Glu^{22, 25, 29}, Leu^{23, 28, 31}, Lys^{26, 30}]hPTHrP(1-34)NH₂; [Cha^{15, 22}, Leu^{23, 28, 31}, Glu^{25, 29}, Lys^{26, 30}]hPTHrP(1-34)NH₂; [Cha¹⁵, Glu^{22, 25, 29}, Leu^{23, 28, 31}, Lys^{26, 27, 30}]hPTHrP(1-34)NH₂; [Cha^{15, 22, 23}, Glu^{25, 29}, Leu^{28, 31}, Lys^{26, 30}]hPTHrP(1-34)NH₂; [Cha¹⁵, Glu^{22, 25}, Leu^{23, 28, 31}, Aib²⁹, Lys^{26, 30}]hPTHrP(1-34)NH₂; [Cha¹⁵, Glu^{22, 25, 29}, Lys^{23, 26, 30}, Leu^{28, 31}]hPTHrP(1-34)NH₂; [Cha¹⁵, Glu^{22, 25, 29}, Leu^{23, 28, 31}, Lys²⁶, Aib³⁰]hPTHrP(1-34)NH₂; [Cha¹⁵, Glu^{22, 28, 29}, Leu^{23, 31}, Lys^{26, 28, 30}]hPTHrP(1-34)NH₂; [Cha^{15, 30}, Glu^{22, 25, 29}, Leu^{23, 28, 31}, Lys²⁶]hPTHrP(1-34)NH₂; [Cha^{7, 8, 22}, Leu^{23, 28, 31}, Glu^{25, 29}, Lys^{26, 30}]hPTHrP(1-34)NH₂; [Cha^{7, 8}, Glu^{22, 25, 29}, Leu^{23, 28, 31}, Lys^{26, 27, 30}]hPTHrP(1-34)NH₂; [Cha^{7, 8, 22, 23}, Glu^{25, 29}, Leu^{28, 31}, Lys^{26, 30}]hPTHrP(1-34)NH₂; [Cha^{7, 8}, Glu^{22, 25, 29}, Leu^{23, 28, 31}, Lys^{26, 30}]hPTHrP(1-34)NH₂; [Cha^{7, 8}, Glu^{22, 25, 29}, Lys^{23, 26, 30}, Leu^{28, 31}]hPTHrP(1-34)NH₂; [Cha^{7, 8}, Glu^{22, 25, 29}, Leu^{23, 28, 31}, Lys²⁶, Aib³⁰]hPTHrP(1-34)NH₂; [Cha^{7, 8}, Glu^{22, 25, 29}, Leu^{23, 31}, Lys^{26, 28, 30}]hPTHrP(1-34)NH₂; [Cha^{7, 8, 30}, Glu^{22, 25, 29}, Leu^{23, 28, 31}, Lys²⁶]hPTHrP(1-34)NH₂; [Ser¹, Ile⁵, Cha^{7, 11, 22}, Met⁸, Asn¹⁰, His¹⁴, Leu^{23, 28, 31}, Glu^{25, 29}, Lys^{26, 30}]hPTHrP(1-34)NH₂; [Ser¹, Ile⁵, Cha^{7, 11}, Met⁸, Asn¹⁰, His¹⁴, Glu^{22, 25, 29}, Leu^{23, 28, 31}, Lys^{26, 27, 30}]hPTHrP(1-34)NH₂; [Ser¹, Ile⁵, Cha^{7, 11}, Met⁸, Asn¹⁰, His¹⁴, Glu^{22, 25, 29}, Leu^{23, 31}, Lys^{26, 28, 30}]hPTHrP(1-34)NH₂; [Ser¹, Ile⁵, Cha^{7, 11}, Met⁸, Asn¹⁰, His¹⁴, Glu^{22, 25, 29}, Lys^{23, 26, 30}, Leu^{28, 31}]hPTHrP(1-34)NH₂; [Ser¹, Ile⁵, Cha^{7, 11}, Met⁸, Asn¹⁰, His¹⁴, Glu^{22, 25}, Leu^{23, 28, 31}, Aib²⁹, Lys^{26, 30}]hPTHrP(1-34)NH₂; [Ser¹, Ile⁵, Cha^{7, 11}, Met⁸, Asn¹⁰, His¹⁴, Glu^{22, 25, 29}, Leu^{23, 28, 31}, Lys²⁶, Aib³⁰]hPTHrP(1-34)NH₂; [Ser¹, Ile⁵, Cha^{7, 11, 22, 23}, Met⁸, Asn¹⁰, His¹⁴, Glu^{25, 29}, Leu^{28, 31}, Lys^{26, 30}]hPTHrP(1-34)NH₂; [Ser¹, Ile⁵, Cha^{7, 11, 15}, Met⁸, Asn¹⁰, His¹⁴]hPTHrP(1-34)NH₂; [Ser¹, Ile⁵, Met⁸, Asn¹⁰, Leu¹¹, His¹⁴, Aib¹⁶]hPTHrP(1-34)NH₂; [Ser¹, Ile⁵, Met⁸, Asn¹⁰, Leu^{11, 28, 31}, His¹⁴, Cha^{22, 23}, Glu^{25, 29}, Lys^{26, 30}]hPTHrP(1-34)NH₂; [Ser¹, Ile⁵, Cha^{7, 11}, Met⁸, Asn¹⁰, His¹⁴, Glu^{22, 25},

²⁹, Leu^{23, 28, 31}, Lys^{26, 30}]hPTHrP(1-34)NH₂; [Ser¹, Ile⁵, Met⁸, Asn¹⁰, His¹⁴, Cha¹⁵, Glu^{22, 25, 29}, Leu^{23, 28, 31}, Lys^{26, 30}]hPTHrP (1-34)NH₂; [Ser¹, Ile⁵, Cha^{7, 8}, Asn¹⁰, His¹⁴, Glu^{22, 25, 29}, Leu^{23, 28, 31}, Lys^{26, 30}]hPTHrP(1-34)NH₂; [Glu^{22, 25, 29}, Leu^{23, 28, 31}, Lys^{24, 26, 30}]hPTHrP(1-34)NH₂; [Aib²², Leu^{23, 28, 31}, Glu^{25, 29}, Lys^{26, 30}]hPTHrP(1-34)NH₂; [Glu^{22, 29}, Leu^{23, 28, 31}, Aib²⁵, Lys^{26, 30}]hPTHrP(1-34)NH₂; [Glu^{22, 25, 29}, Leu^{23, 28, 31}, Aib²⁶, Lys³⁰]hPTHrP (1-34)NH₂; [Glu^{22, 25, 29}, Leu^{23, 28}, Lys^{26, 30, 31}] hPTHrP(1-34)NH₂; [Ser¹, Ile⁵, Met⁸, Asn¹⁰, Leu^{11, 23, 28, 31}, His¹⁴, Cha²², Glu^{25, 29}, Lys^{26, 30}]hPTHrP(1-34)NH₂; [Ser¹, Ile⁵, Met⁸, Asn¹⁰, Leu^{11, 28, 31}, His¹⁴, Glu^{22, 25, 29}, Lys^{23, 26, 30}]PTHrP(1-34)NH₂; [Ser¹, Ile⁵, Met⁸, Asn¹⁰, Leu^{11, 23, 28, 31}, His¹⁴, Glu^{22, 25, 29}, Lys^{26, 27, 30}] hPTHrP(1-34)NH₂; [Ser¹, Ile⁵, Met⁸, Asn¹⁰, Leu^{11, 23, 31}, His¹⁴, Glu^{22, 25, 29}, Lys^{26, 28, 30}] hPTHrP(1-34)NH₂; [Ser¹, Ile⁵, Met⁸, Asn¹⁰, Leu^{11, 23, 28, 31}, His¹⁴, Glu^{22, 25}, Aib²⁹, Lys^{26, 30}] hPTHrP(1-34)NH₂; [Ser¹, Ile⁵, Met⁸, Asn¹⁰, Leu^{11, 23, 28, 31}, His¹⁴, Glu^{22, 25, 29}, Lys²⁶, Aib³⁰] hPTHrP(1-34)NH₂; alebo [Ser¹, Ile⁵, Met⁸]hPTHrP(1-34)NH₂.

S výnimkou N-koncovej aminokyseliny všetky skratky (napr. Ala alebo A₁) aminokyselín v tomto opise označujú štruktúru -NH-CH(R)-CO-, v ktorej R je bočný reťazec aminokyseliny (napr. CH₃ pre Ala). Pre N-koncovú aminokyselinu skratka označuje štruktúru =N-CH(R)-CO-, v ktorej R je bočný reťazec aminokyseliny. β-Nal, Nle, Dap, Cha, Nva, Amp, Pal a Aib sú skratkami nasledujúcich α-aminokyselín: β-(2-naftyl)alanín, norleucín, kyselina α,β-diaminopropiónová, cyklohexylalanín, norvalín, 4-aminofenylalanín, 3-pyridinylalanín, a kyselina α-aminoizomaslová. Vo vyššie uvedenom vzorci môže hydroxyalkyl, hydroxyfenylalkyl a hydroxynaftylalkyl obsahovať 1-4 hydroxy substituenty. Podobne COE₁ označuje -C=CO·E₁. K príkladom -C=O·E₁ patria, ale neobmedzujú sa iba na tieto, acetyl a fenylpropionyl.

Peptid podľa tohto vynálezu sa tu tiež označuje iným formalizmom, napr. [Cha^{7, 11}]hPTH(1-34)NH₂, so substituovanými aminokyselinami z prirodzenej sekvencie umiestnenými do druhého druhu zátvoriek (napr. Cha⁷ za Leu⁷ a Cha¹¹ za Leu¹¹ v hPTH). Skratka hPTH označuje ľudský PTH, hPTHrP ľudský PTHrP, rPTH potkaní PTH a bPTH hovädzí PTH. Číslo v okrúhlych zátvorkách znamená počet aminokyselín prítomných v peptide (napr. hPTH(1-34) je peptidová sekvencia aminokyselín 1 až 34 ľudského PTH). Sekvencie pre hPTH(1-34), hPTHrP(1-34), bPTH(1-34) a rPTH(1-34) sú uvedené v publikácii Nissenson a kol., Receptor, 3:193 (1993). Označenie "NH₂" v PTH(1-34)NH₂ znamená, že C-koniec peptidu je amidovaný. Na druhej strane PTH(1-34) má voľný kyselinový C-koniec.

Každý z peptidov tohto vynálezu je schopný stimulovať rast kostí subjektu (napr. cicavca, ako je ľudský pacient). Je teda užitočný pri liečení osteoporózy a kostných zlomenín, keď sa podáva samotný alebo súčasne s antiresorpčnou liečbou, napr. bifosfonátmi a kalcitonínom.

Peptidy tohto vynálezu sa môžu poskytovať vo forme farmaceuticky prijateľných solí. Príkladmi takých solí sú, ale neobmedzujú sa iba na tieto, soli s organickými kyselinami (napr. kyselinou octovou, mliečnou, maleínovou, citrónovou, jablčnou, askorbovou, jantárovou, benzoovou, metánsulfónovou, toluénsulfónovou alebo pamovou), anorganickými kyselinami (napr. kyselinou chlorovodíkovou, sírovou alebo fosforečnou) a polymérnymi kyselinami (napr. kyselinou trieslovou, karboxymetylcelulózou, kyselinou polymliečnou, polyglykolovou alebo kopolymermi kyselín polymliečnych-glykolových).

Terapeuticky účinné množstvo peptidu podľa tohto vynálezu a farmaceuticky prijateľná nosičová látka (napr. uhličitan horečnatý, laktóza alebo fosfolipid, s ktorým terapeutická zlúčenina môže tvoriť micelu) spolu vytvárajú terapeutický preparát (napr. pilulku, tabletku, kapsulu alebo tekutinu) na podávanie subjektu (napr. orálne, intravenózne, transdermálne, pulmonárne, vaginálne, subkutánne, nazálne, iónoforeticky alebo intratracheálne). Pilulka, tabletka alebo kapsula, ktorá sa má podávať orálne, môže byť pokrytá látkou na ochranu aktívnej zložky pred žalúdočnou kyselinou alebo pred tráviacimi enzýmami v žalúdku po dostatočne dlhý čas, aby sa jej umožnilo prejsť v nestrávenej forme do tenkého čreva. Terapeutický preparát môže byť tiež vo forme biologicky odbúrateľnej alebo biologicky neodbúrateľnej sústavy postupne uvoľňujúcej liečivo na subkutánne alebo intramuskulárne podanie. Pozri napr. patenty USA 3,773,919 a 4,767,628 a prihlášku PCT č. WO 94/15587. Nepretržité podávanie sa môže tiež dosiahnuť s použitím implantovateľnej alebo externej pumpy (napr. pumpa INFUSAID™). Podávanie môže byť tiež prerušované, napr. jedna injekcia denne, alebo nepretržité s pomalým dávkovaním, napr. preparát postupne uvoľňujúci liečivo.

Dávkovanie peptidu podľa tohto vynálezu na liečbu vyššie uvedených chorôb alebo porúch sa mení v závislosti od spôsobu podávania, veku a telesnej hmotnosti subjektu a stavu liečeného subjektu a konečné rozhodnutie o ňom urobí ošetrojúci lekár alebo veterinár.

Očakáva sa tiež, že do tohto vynálezu patrí aj peptid popísaný vyššie uvedeným generickým vzorcom na použitie pri liečení chorôb a porúch spojených s nedostatočným rastom kostí a podobne, napr. osteoporózy alebo zlomenín.

Ďalšie stránky a výhody tohto vynálezu budú zrejmé z podrobného opisu uskutočnenia vynálezu a z patentových nárokov.

Príklady uskutočnenia vynálezu

Na základe tu uvedeného opisu sa tento vynález môže využiť v jeho najširšom rozsahu. Nasledujúce konkrétne príklady sa chápu len ako ilustrácia a neobmedzujú nijakým spôsobom rozsah vynálezu. Ďalej, všetky tu citované publikácie sú tu zaradené ako odkazy.

Štruktúra

Publikovalo sa, že PTH(1-34) má dve amfofilické alfa špirálové domény. Pozri napr. Barden a kol., Biochem, 32:7126 (1992). Prvá α -špirála je vytvorená medzi aminokyselinovými zvyškami 4 až 13, kým druhá α -špirála je vytvorená medzi aminokyselinovými zvyškami 21 až 29. Niektoré peptidy tohto vynálezu obsahujú substitúciu Cha za jeden alebo viac zvyškov vo vnútri alebo v blízkosti týchto dvoch oblastí PTH(1-34), napr. Cha⁷ a Cha¹¹ vnútri prvej α -špirály alebo Cha²⁷ a Cha²⁸ vnútri druhej α -špirály.

Týmto vynálezom sú tiež pokryté varianty PTH(1-34) so substitúciou Aib za niektorý zvyšok priľahlý k α -špirálam, napr. Aib¹⁶, Aib¹⁹ a Aib³⁴; hArg²⁷ a Nle³¹ alebo so substitúciou Dpa za N-koncový zvyšok.

Syntéza

Peptidy tohto vynálezu sa môžu pripraviť štandardnou syntézou v tuhej fáze. Pozri napr. Stewart, J.M., a kol., Solid Phase Synthesis (Pierce Chemical Co., druhé vyd. 1984). Nasleduje popis, ako sa pripraví [Aib³⁴]hPTH(1-34)NH₂. Ďalšie peptidy tohto vynálezu môže pripraviť analogickým spôsobom osoba s bežnou praxou v uvedenej problematike.

Peptid sa syntetizoval na syntetizéri peptidov Applied Biosystems (Foster City, CA) model 430A, ktorý bol zmodifikovaný, aby sa urýchlila syntéza peptidov v tuhej fáze založených na chémii Boc. Pozri Schnoize a kol., Int. J. Peptide Protein Res., 90:180 (1992). Použila sa živica 4-metylbenzhydrylamínu (MBHA) (Peninsula, Belmont, CA) so substitúciou 0,93 mmól/g. Použili sa aminokyseliny Boc (Bachem, CA, Torrance, CA; Nova Biochem., La Jolla, CA) s nasle-

dujúcou ochranou bočných reťazcov: Boc-Arg(Tos)-OH, Boc-Asp(OcHxl)-OH, Boc-Asn(Xan)-OH, Boc-Glu(OcHxl)-OH, Boc-His(DNP)-OH, Boc-Asn-GH, Boc-Val-OH, Boc-Leu-OH, Boc-Ser-OH, Boc-Gly-OH, Boc-Met-OH, Boc-Gln-OH, Boc-Ile-OH, Boc-Lys(2ClZ)-OH, Boc-Ser(Bzl)-OH a Boc-Trp(Fm)-OH. Syntéza sa uskutočnila v 0,14 mmól mierke. Skupiny Boc sa odstránili 2 x 1 min. pôsobením 100% TFA. Boc aminokyseliny (2,5 mmól) sa predaktivovali HBTU (2,0 mmól) a DIEA (1,0 ml) v 4 ml DMF a pospájali sa bez predchádzajúcej neutralizácie TFA soli peptidovej živice. Časy spájania boli 5 min s výnimkou Boc-Aib-OH a nasledujúceho zvyšku, Boc-Asn(Xan)-OH, pri ktorých časy spájania boli 20 min.

Na konci budovania peptidového reťazca sa na živicu pôsobilo 2 x 30 min. 20% merkaptoetanolom/10% DIEA v DMF, aby sa odstránila DNP skupina na bočnom reťazci His. N-koncová Boc skupina sa potom odstránila pôsobením 100% TFA po dobu 2 x 2 min. Po neutralizácii peptidovej živice 10% DIEA v DMF (1 x 1 min.) sa formylová skupina na bočnom reťazci Trp odstránila 2 x 30 min. pôsobením roztoku 15% etanolamínu/15% vody/70% DMF. Peptidová živica čiastočne zbavená chránenia sa premyla DMF a CDM a vysušila sa pri zníženom tlaku. Závěrečné štiepenie sa uskutočnilo miešaním peptidovej živice 75 minút v 10 ml HF obsahujúcom 1 ml anizolu pri 0 °C. HF sa odstránil prúdom dusíka. Zvyšok sa premyl éterom (6 x 10 ml) a extrahoval sa 4N HoAc (6 x 10 ml).

Zmes peptidov vo vodnom extrakte sa prečistila preparatívnou vysokotlakovou kvapalinovou chromatografiou s obrátenou fázou (HPLC) s použitím kolóny Vydac™ C₁₈ na obrátenú fázu (Nest Group, Southborough, MA). Kolóna sa eluovala s lineárnym gradientom (10% až 45% roztoku B v čase 130 min.) pri rýchlosti toku 10 ml/min (Roztok A = 0,1% vodný roztok TFA; Roztok B = acetonitril obsahujúci 0,1% TFA). Zachytili sa frakcie a skontrolovali sa analytickou HPLC. Tie frakcie, ktoré obsahovali čistý produkt, sa spojili a lyofilizovali do sucha. Získalo sa 62,3 mg bielej tuhej látky. Na základe analýzy analytickou HPLC bola čistota >99%. Analýza na hmotnostnom spektrometri s elektrosprejom poskytla molekulovú hmotnosť 4054,7 (v súhlase s vypočítanou molekulovou hmotnosťou 4054,7).

Syntéza a čistenie [Cha^{7, 11}]hPTH(1-34)NH₂ sa vykonala rovnakým spôsobom ako vyššie uvedená syntéza [Aib³⁴]hPTH(1-34)NH₂. Chránená aminokyselina Boc-Cha-OH sa zakúpila od Bachemu, Ca. Čistota konečného produktu bola >98% a hmotnostný spektrometer s elektrosprejom poskytol molekulovú hmotnosť 4197,0 (vypočítaná molekulová hmotnosť je 4196,9).

Plné názvy pre skratky použité vyššie sú nasledujúce: Boc pre t-butyloxykarbonyl, HF pre flourovodík, Fm pre formyl, Xan pre xantyl, Blz pre benzyl, Tos pre tozyl, DNP pre 2,4-dinitrofenyl, DMF pre dimetylformamid, DCM pre dichlórmétan, HBTU pre 2-(1H-benzotriazol-1-yl)-1,1,3,3-tetrametyluróniumhexafluórfosfát, DIEA pre diizopropyletylamín, HOAc pre kyselinu octovú, TFA pre kyselinu trifluóroctovú, 2ClZ pre 2-chlórbenzyloxykarbonyl a OcHxl pre O-cyklohexyl.

Substituenty R_1 a R_2 vyššie uvedeného generického vzorca sa môžu pripojiť k voľnému amínu N-koncovej aminokyseliny štandardnými metódami známymi v tomto odbore. Napríklad alkylové skupiny, napr. alkyl C_{1-12} , sa môže pripojiť redukčnou alkyláciou. Hydroxyalkylové skupiny, napr. hydroxyalkyl C_{1-12} , sa môže tiež pripojiť s použitím redukčnej alkylácie, pri ktorej sa voľná hydroxy skupina chráni t-butylesterom. Acylové skupiny, napr. COE₁, sa môžu pripojiť reakciou voľnej kyseliny, napr. E₁COOH, s voľným amínom N-koncovej aminokyseliny 1 hodínovým miešaním pripravenej živice s 3 molárnymi ekvivalentami voľnej kyseliny a diizopropylkarbodiimidu v metylénchloride a spracovaním výslednej živice v krokoch (a) až (f) vyššie uvedeného premývacieho programu. Ak voľná kyselina obsahuje voľnú hydroxy skupinu, napr. kyselina p-hydroxyfenylpropiónová, potom sa spájanie má vykonať s ďalšími 3 molárnymi ekvivalentami HOBt.

Iné peptidy tohto vynálezu môže pripraviť analogickým spôsobom osoba s bežnou praxou v uvedenej problematike.

Funkčné skúšky

A. Väzba na receptory PTH

Peptidy tohto vynálezu boli skúšané na ich schopnosť viazať sa na receptor PTH prítomný na SaOS-2 (bunky ľudského osteosarkómu). Bunky SaOS-2 (American Type Culture Collection, Rockville, MD; ATCC #HTB 85) sa udržiavali v médiu RPMI 1640 (Sigma, St. Louis, MO) doplnenom 10% fetálnym hovädzím sérom (FBS) a 2 mM glutamínom pri 37 °C vo zvlhčenej atmosfére 5% CO₂ vo vzduchu. Médium sa menilo každé tri až štyri dni a bunky boli subkultivované trypsinizáciou každý týždeň.

Bunky SaOS-2 sa pestovali 4 dni, kým vytvorili zhhluk. Médium sa nahradilo 5% FBS v RPMI 1640 médiu a 2 hodiny sa inkubovalo pri izbovej teplote s 10×10^4 cpm mono-¹²⁵I-[Nle⁸.

¹⁸, Tyr³⁴(3-¹²⁵I)] bPTH(1-34)NH₂ v prítomnosti konkurenčných peptidov tohto vynálezu pri rozličných koncentráciách medzi 10⁻¹¹ M až 10⁻⁴ M. Bunky sa premyli štyrikrát ľadovo chladným PBS a rozložili sa 0,1 M NaOH a rádioaktivita súvisiaca s bunkami sa vyhodnotila v scintilačnom čítači. Syntéza ¹²⁵I-[Nle⁸, ¹⁸, Tyr³⁴(3-¹²⁵I)] bPTH(1-34)NH₂ sa uskutočnila podľa popisu v práci Goldman, M.E. a kol., Endocrinol., 123:1468 (1988).

Väzbová skúška sa vykonala s rozličnými peptidmi tohto vynálezu a pre každý peptid sa vypočítala hodnota IC₅₀ (polovica maximálnej inhibície viazania mono-¹²⁵I-[Nle⁸, ¹⁸, Tyr³⁴(3-¹²⁵I)] bPTH(1-34)NH₂).

Ako vidieť z tabuľky I, všetky skúšané peptidy mali vysokú väzbovú afinitu na receptory PTH buniek SaOS-2.

B. Stimulácia aktivity adenylátcyklázy

Merala sa schopnosť peptidov tohto vynálezu vyvolať biologickú odozvu v bunkách SaOS-2. Konkrétnejšie, stanovovala sa stimulácia adenylátcyklázy meraním úrovne syntézy cAMP (adenozín-3'5'-monofosfátu), ako už bolo popísané v práci Rodan a kol., J. Clin. Invest. 72:1511 (1983) a Goldman a kol., Endocrinol., 123:1468 (1988). Zhluknuté bunky SaOS-2 na 24-jamkových platniach sa inkubovali s 0,5 µCi [³H]adenínu (26,9 Ci/mmol, New England Nuclear, Boston, MA) 2 hodiny v čerstvom médiu pri 37 °C a premyli sa dvakrát Hankovým vyváženým soľným roztokom (Gibco, Gaithersburg, MD). Na bunky sa účinkovalo 1 mM IBMX [izobutylmetyl xantín, Sigma, St. Louis, MO) 15 minút v čerstvom médiu a k médiu sa pridali peptidy tohto vynálezu, aby sa 5 minút inkubovali. Reakcia sa zastavila prídavkom 1,2 M kyseliny trichlóroctovej (TCA) (Sigma, St. Louis, MO), po čom sa vzorka zneutralizovala 4 N KOH. cAMP sa oddelil dvojkolónovou chromatografickou metódou (Salmon a kol., Anal Biochem., 58:541 (1974)). Rádioaktivita sa merala scintilačným čítačom (Kvapalinový scintilačný čítač 2200CA, PACKARD, Downers Grove, IL).

Pre skúšané peptidy sa vypočítali jednotlivé hodnoty EC₅₀ (polovica maximálnej stimulácie adenylátcyklázy), ktoré sú uvedené v tabuľke I. Zistilo sa, že všetky skúšané peptidy sú potenciálnymi stimulátormi aktivity adenylátcyklázy, čo predstavuje biochemickú cestu, ktorá sa považuje za proximálny signál proliferácie osteoblastov (napr. rastu kosti).

TABULKA I

PEPTID	Kd(μ M)	EC ₅₀ (nM)
[Cha ^{7, 11}]hPTH(1-34)NH ₂	0,01	0,6
[Cha ²³]hPTH(1-34)NH ₂	0,2	20
[Cha ²⁴]hPTH(1-34)NH ₂	0,1	10
[Nle ^{8, 18} , Cha ²⁷]hPTH(1-34)NH ₂	0,05	2
[Cha ²⁸]hPTH(1-34)NH ₂	0,05	2,5
[Cha ³¹]hPTH(1-34)NH ₂	0,03	4
[Aib ¹⁶]hPTH(1-34)NH ₂	0,004	0,7
[Aib ¹⁹]hPTH(1-34)NH ₂	0,005	0,6
[Aib ³⁴]hPTH(1-34)NH ₂	0,007	3
[Nle ³¹]hPTH(1-34)NH ₂	0,004	0,7
[hArg ²⁷]hPTH(1-34)NH ₂	0,007	1
[Dap, Nle ^{8, 18} , Tyr ³⁴]hPTH(1-34)NH ₂	0,150	10
[Cha ^{24, 28, 31} , Lys ³⁰]hPTH(1-34)NH ₂	0,5	7
[Cha ^{7, 11} , Nle ^{8, 18} , Tyr ³⁴]hPTH(1-34)NH ₂	0,006	0,6
[Cha ^{7, 11} , Nle ^{8, 18} , Aib ^{16, 19} , Tyr ³⁴]hPTH(1-34)NH ₂	0,005	1,5
[Cha ^{7, 11} , Nle ^{8, 18, 31} , Aib ^{16, 19} , Tyr ³⁴]hPTH(1-34)NH ₂	0,04	4
[Cha ¹¹]hPTH(1-34)NH ₂	0,005	2
[Cha ^{28, 31}]hPTH(1-34)NH ₂	0,06	7
[Cha ^{7, 11} , Nle ^{8, 18} , Aib ³⁴]hPTH(1-34)NH ₂	0,03	1,5
[Cha ¹⁵]hPTH(1-34)NH ₂	0,005	1,3
[Cha ^{7, 11} , Aib ¹⁹]hPTH(1-34)NH ₂	0,007	0,5
[Cha ^{7, 11} , Aib ¹⁶]hPTH(1-34)NH ₂	0,004	1,1
[Aib ^{16, 19}]hPTH(1-34)NH ₂	0,004	0,6
[Aib ¹²]hPTH(1-34)NH ₂	0,005	2
[Aib ³]hPTH(1-34)NH ₂	0,004	1,1
[Cha ^{7, 11} , Aib ¹⁹ , Lys ³⁰]hPTH(1-34)NH ₂	0,004	2
[Cha ⁷]hPTH(1-34)NH ₂	0,02	2,3
[Cha ^{24, 28, 31}]hPTH(1-34)NH ₂	1,0	30
[Aib ¹⁷]hPTH(1-34)	0,05	3
[Cha ^{7, 11, 15}]hPTH(1-34)	0,01	1,4

Iné praktické uskutočnenia vynálezu

Treba to chápať tak, že aj keď vynález bol opísaný v spojitosti s jeho podrobným opisom uskutočnenia, zámerom tohto predchádzajúceho opisu je len ilustrovať a nie obmedziť rozsah pôsobnosti vynálezu, ktorý je určený rozsahom vymedzeným pripojenými patentovými nárokmi. Iné stránky, výhody a modifikácie sú v patentových nárokoch.

.

.

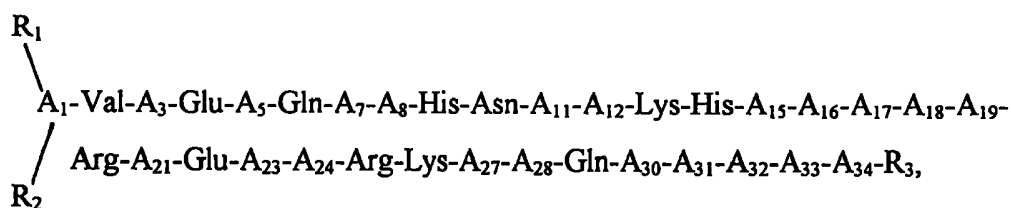
.

.

.

PATENTOVÉ NÁROKY

1. Peptid so vzorcom



kde

 A_1 je Ser, Ala alebo Dap; A_3 je Ser, Thr alebo Aib; A_5 je Leu, Nle, Ile, Cha, β -Nal, Trp, Pal, Phe alebo p-X-Phe, v ktorom X je OH, halogén alebo CH_3 ; A_7 je Leu, Nle, Ile, Cha, β -Nal, Trp, Pal, Phe alebo p-X-Phe, v ktorom X je OH, halogén alebo CH_3 ; A_8 je Met, Nva, Leu, Val, Ile, Cha alebo Nle; A_{11} je Leu, Nle, Ile, Cha, β -Nal, Trp, Pal, Phe alebo p-X-Phe, v ktorom X je OH, halogén alebo CH_3 ; A_{12} je Gly alebo Aib; A_{15} je Leu, Nle, Ile, Cha, β -Nal, Trp, Pal, Phe alebo p-X-Phe, v ktorom X je OH, halogén alebo CH_3 ; A_{16} je Ser, Asn, Ala alebo Aib; A_{17} je Ser, Thr alebo Aib; A_{18} je Met, Nva, Leu, Val, Ile, Nle, Cha alebo Aib; A_{19} je Glu alebo Aib; A_{21} je Val, Cha alebo Met; A_{23} je Trp alebo Cha; A_{24} je Leu alebo Cha; A_{27} je Lys, Aib, Leu, hArg, Gln alebo Cha; A_{28} je Leu alebo Cha;

A₃₀ je Asp alebo Lys;

A₃₁ je Val, Nle, Cha alebo je vynechané;

A₃₂ je His alebo je vynechané;

A₃₃ je Asn alebo je vynechané;

A₃₄ je Phe, Tyr, Amp, Aib alebo je vynechané;

každé z R₁ a R₂ je nezávisle H, alkyl C₁₋₁₂, alkenyl C₂₋₁₂, fenylalkyl C₇₋₂₀, naftylalkyl C₁₁₋₂₀, hydroxyalkyl C₁₋₁₂, hydroxyalkenyl C₂₋₁₂, hydroxyfenylalkyl C₇₋₂₀ alebo hydroxynaftylalkyl C₁₁₋₂₀; alebo jedno a len jedno z R₁ a R₂ je COE₁, kde E₁ je alkyl C₁₋₁₂, alkenyl C₂₋₁₂, fenylalkyl C₇₋₂₀, naftylalkyl C₁₁₋₂₀, hydroxyalkyl C₁₋₁₂, hydroxyalkenyl C₂₋₁₂, hydroxyfenylalkyl C₇₋₂₀ alebo hydroxynaftylalkyl C₁₁₋₂₀; a

R₃ je OH, NH₂, alkoxy skupina C₁₋₁₂ alebo NH-Y-CH₂-Z, kde Y je uhl'ovodíková časť C₁₋₁₂ a Z je H, OH, CO₂H alebo CONH₂;

za predpokladu, že aspoň jedno z A₅, A₇, A₈, A₁₁, A₁₅, A₁₈, A₂₁, A₂₃, A₂₄, A₂₇, A₂₈ a A₃₁ je Cha alebo aspoň jedno z A₃, A₁₂, A₁₆, A₁₇, A₁₈, A₁₉ a A₃₄ je Aib; a ďalej za predpokladu, že A₁₂ nie je Aib, keď A₃₄ je Tyr; alebo jeho farmaceuticky prijateľná soľ.

2. Peptid podľa nároku 1, kde aspoň jedno z A₇, A₁₁, A₁₅, A₂₃, A₂₄, A₂₇, A₂₈ and A₃₁ je Cha; alebo jeho farmaceuticky prijateľná soľ.

3. Peptid podľa nároku 2, kde

A₃ je Ser;

A₅ je Ile;

A₇ je Leu alebo Cha;

A₈ je Met, Nva, Leu, Val, Ile alebo Nle;

A₁₁ je Leu alebo Cha;

A₁₂ je Gly;

A₁₅ je Leu alebo Cha;

A₁₆ je Asn alebo Aib;

A₁₇ je Ser;

A₁₈ je Met alebo Nle;

A_{21} je Val;

A_{27} je Lys, hArg alebo Cha;

A_{32} je His;

A_{31} je Val, Nle alebo Cha;

A_{33} je Asn;

A_{34} je Phe, Tyr, Amp alebo Aib;

R_1 je H;

R_2 je H; a

R_3 je NH_2 ;

alebo jeho farmaceuticky prijateľná soľ.

4. Peptid podľa nároku 3, kde aspoň jedno z A_7 a A_{11} je Cha; alebo jeho farmaceuticky prijateľná soľ.
5. Peptid podľa nároku 4, kde uvedený peptid je $[\text{Cha}^{7, 11}]\text{hPTH}(1-34)\text{NH}_2$, $[\text{Cha}^{7, 11}, \text{Nle}^{8, 18}, \text{Tyr}^{34}]\text{hPTH}(1-34)\text{NH}_2$, $[\text{Cha}^{11}]\text{hPTH}(1-34)\text{NH}_2$, $[\text{Cha}^{7, 11, 15}]\text{hPTH}(1-34)\text{NH}_2$ alebo $[\text{Cha}^7]\text{hPTH}(1-34)\text{NH}_2$; alebo jeho farmaceuticky prijateľná soľ.
6. Peptid podľa nároku 3, kde aspoň jedno z A_{15} , A_{23} , A_{24} , A_{27} , A_{28} and A_{31} je Cha; alebo jeho farmaceuticky prijateľná soľ.
7. Peptid podľa nároku 6, kde uvedený peptid je $[\text{Cha}^{23}]\text{hPTH}(1-34)\text{NH}_2$, $[\text{Cha}^{24}]\text{hPTH}(1-34)\text{NH}_2$, $[\text{Nle}^{8, 18}, \text{Cha}^{27}]\text{hPTH}(1-34)\text{NH}_2$, $[\text{Cha}^{28}]\text{hPTH}(1-34)\text{NH}_2$, $[\text{Cha}^{31}]\text{hPTH}(1-34)\text{NH}_2$, $[\text{Cha}^{24, 28, 31}]\text{hPTH}(1-34)\text{NH}_2$, $[\text{Cha}^{24, 28, 31}, \text{Lys}^{30}]\text{hPTH}(1-34)\text{NH}_2$, $[\text{Cha}^{28, 31}]\text{hPTH}(1-34)\text{NH}_2$ alebo $[\text{Cha}^{15}]\text{hPTH}(1-34)\text{NH}_2$; alebo jeho farmaceuticky prijateľná soľ.

8. Peptid podľa nároku 1, kde aspoň jedno z A_3 , A_{12} , A_{16} , A_{17} , A_{18} , A_{19} a A_{34} je Aib; alebo jeho farmaceuticky prijateľná soľ.

9. Peptid podľa nároku 8, kde

A_3 je Ser alebo Aib;

A_5 je Ile;

A_7 je Leu alebo Cha;

A_8 je Met, Nva, Leu, Val, Ile alebo Nle;

A_{11} je Leu alebo Cha;

A_{15} je Leu alebo Cha;

A_{16} je Asn alebo Aib;

A_{18} je Met, Aib alebo Nle;

A_{21} je Val;

A_{27} je Lys, Aib, Leu, hArg alebo Cha;

A_{31} je Val, Nle alebo Cha;

A_{32} je His;

A_{33} je Asn;

A_{34} je Phe, Tyr, Amp alebo Aib;

R_1 je H;

R_2 je H; a

R_3 je NH_2 ;

alebo jeho farmaceuticky prijateľná soľ.

10. Peptid podľa nároku 9, kde aspoň jedno z A_3 , A_{12} , A_{16} , A_{17} , A_{19} a A_{34} je Aib; alebo jeho farmaceuticky prijateľná soľ.

11. Peptid podľa nároku 10, kde uvedený peptid je $[Aib^{16}]hPTH(1-34)NH_2$, $[Aib^{19}]hPTH(1-34)NH_2$, $[Aib^{34}]hPTH(1-34)NH_2$, $[Aib^{16, 19}]hPTH(1-34)NH_2$, $[Aib^3]hPTH(1-34)NH_2$,

[Aib¹⁷]hPTH(1-34)NH₂ alebo [Aib¹²]hPTH(1-34)NH₂; alebo jeho farmaceuticky prijateľná soľ.

12. Peptid podľa nároku 1, kde aspoň jedno z A₇, A₁₁, A₁₅, A₂₃, A₂₄, A₂₇, A₂₈ a A₃₁ je Cha a aspoň jedno z A₃, A₁₂, A₁₆, A₁₇, A₁₈, A₁₉ a A₃₄ je Aib; alebo jeho farmaceuticky prijateľná soľ.

13. Peptid podľa nároku 13, kde

A₃ je Ser alebo Aib;

A₅ je Ile;

A₇ je Leu alebo Cha;

A₈ je Met, Nva, Leu, Val, Ile alebo Nle;

A₁₁ je Leu alebo Cha;

A₁₅ je Leu alebo Cha;

A₁₆ je Asn alebo Aib;

A₁₈ je Met, Aib alebo Nle;

A₂₁ je Val;

A₂₇ je Lys, Aib, Leu, hArg alebo Cha;

A₃₁ je Val, Nle alebo Cha;

A₃₂ je His;

A₃₃ je Asn;

A₃₄ je Phe, Tyr, Amp alebo Aib;

R₁ je H;

R₂ je H; a

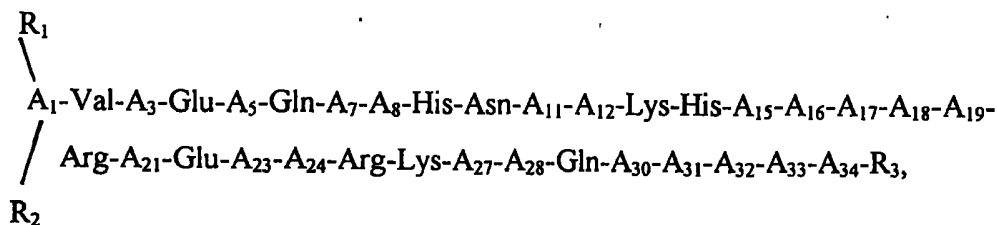
R₃ je NH₂;

alebo jeho farmaceuticky prijateľná soľ.

14. Peptid podľa nároku 13, kde aspoň jedno z A₇ a A₁₁ je Cha a aspoň jedno z A₁₆, A₁₉ a A₃₄ je Aib; alebo jeho farmaceuticky prijateľná soľ.

15. Peptid podľa nároku 14, kde uvedený peptid je [Cha^{7, 11}, Nle^{8, 18}, Aib^{16, 19}, Tyr³⁴]hPTH(1-34)NH₂, [Cha^{7, 11}, Nle^{8, 18, 31}, Aib^{16, 19}, Tyr³⁴]hPTH(1-34)NH₂, [Cha^{7, 11}, Aib¹⁹]hPTH(1-34)NH₂, [Cha^{7, 11}, Aib¹⁶]hPTH(1-34)NH₂, [Cha^{7, 11}, Nle^{8, 18}, Aib³⁴] hPTH(1-34)NH₂ alebo [Cha^{7, 11}, Aib¹⁹, Lys³⁰]hPTH(1-34)NH₂; alebo jeho farmaceuticky prijateľná soľ.
16. Peptid podľa nároku 13, kde aspoň jedno z A₂₄, A₂₈ a A₃₁ ja Cha a aspoň jedno z A₁₆ a A₁₇ je Aib; alebo jeho farmaceuticky prijateľná soľ.
17. Peptid podľa nároku 16, kde uvedený peptid je [Cha²⁸, Nle^{8, 18}, Aib^{16, 19}, Tyr³⁴]hPTH(1-34)NH₂ alebo [Cha²⁸, Aib^{16, 19}] PTH(1-34)NH₂ alebo jeho farmaceuticky prijateľná soľ.

18. Peptid so vzorcom:



kde

A₁ je Dap

A₃ je Ser, Thr alebo Aib;

A₅ je Leu, Nle, Ile, Cha, β-Nal, Trp, Pal, Phe alebo p-X-Phe, v ktorom X je OH, halogén alebo CH₃;

A₇ je Leu, Ile, Nle, Cha, β-Nal, Trp, Pal, Phe alebo p-X-Phe, v ktorom X je H, OH, halogén alebo CH₃;

A₈ je Met, Nva, Leu, Val, Ile, Cha alebo Nle;

A₁₁ je Leu, Nle, Ile, Cha, β-Nal, Trp, Pal, Phe alebo p-X-Phe, v ktorom X je OH, halogén alebo CH₃;

A₁₂ je Gly alebo Aib;

A_{15} je Leu, Nle, Ile, Cha, β -Nal, Trp, Pal, Phe alebo p-X-Phe, v ktorom X je OH, halogén alebo CH_3 ;

A_{16} je Ser, Asn, Ala alebo Aib;

A_{17} je Ser, Thr alebo Aib;

A_{18} je Met, Nva, Leu, Val, Ile, Nle, Cha alebo Aib;

A_{19} je Glu alebo Aib;

A_{21} je Val, Cha alebo Met;

A_{23} je Trp alebo Cha;

A_{24} je Leu alebo Cha;

A_{27} je Lys, Aib, Leu, hArg, Gln alebo Cha;

A_{28} je Leu alebo Cha;

A_{30} je Asp alebo Lys;

A_{31} je Val, Nle, Cha alebo je vynechané;

A_{32} je His alebo je vynechané;

A_{33} je Asn alebo je vynechané;

A_{34} je Phe, Tyr, Amp, Aib alebo je vynechané;

každé z R_1 a R_2 je nezávisle H, alkyl C_{1-12} , alkenyl C_{2-12} , fenyalkyl C_{7-20} , naftylalkyl C_{11-20} , hydroxyalkyl C_{1-12} , hydroxyalkenyl C_{2-12} , hydroxyfenylalkyl C_{7-20} alebo hydroxynaftylalkyl C_{11-20} ; alebo jedno a len jedno z R_1 a R_2 je COE_1 , kde E_1 je alkyl C_{1-12} , alkenyl C_{2-12} , fenyalkyl C_{7-20} , naftylalkyl C_{11-20} , hydroxyalkyl C_{1-12} , hydroxyalkenyl C_{2-12} , hydroxyfenylalkyl C_{7-20} alebo hydroxynaftylalkyl C_{11-20} ; a

R_3 je OH, NH_2 , alkoxy skupina C_{1-12} alebo $\text{NH-Y-CH}_2\text{-Z}$, kde Y je uhl'ovodíková časť C_{1-12} a Z je H, OH, CO_2H alebo CONH_2 ;

za predpokladu, že aspoň A_1 je Dap, A_7 je β -Nal, Trp, Pal, Phe alebo p-X-Phe; A_{15} je β -Nal, Trp, Pal, Phe alebo p-X-Phe, A_{27} je hArg alebo A_{31} je Nle; alebo jeho farmaceuticky prijateľná soľ.

19. Peptid podľa nároku 18, kde

A_1 je Ser, Gly alebo Dap;

A_3 je Ser alebo Aib;

A_8 je Met, Nva, Leu, Val, Ile alebo Nle;

A_{16} je Asn alebo Aib;

A_{18} je Met, Aib alebo Nle;

A_{21} je Val;

A_{27} je Lys, Aib, Leu, hArg alebo Cha;

A_{31} je Val, Nle alebo Cha;

A_{32} je His;

A_{33} je Asn;

A_{34} je Phe, Tyr, Amp alebo Aib;

R_1 je H;

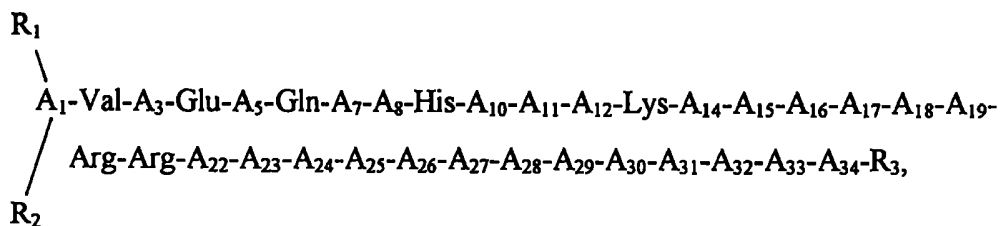
R_2 je H; a

R_3 je NH_2 ;

alebo jeho farmaceuticky prijateľná soľ.

20. Peptid podľa nároku 19, kde uvedený peptid je $[\text{Nle}^{31}]\text{hPTH}(1-34)\text{NH}_2$, $[\text{hArg}^{27}]\text{hPTH}(1-34)\text{NH}_2$ alebo $[\text{Dap}^1, \text{Nle}^{8, 18}, \text{Tyr}^{34}]\text{hPTH}(1-34)\text{NH}_2$; alebo jeho farmaceuticky prijateľná soľ.

21. Peptid so vzorcom



kde

A_1 je Ala, Ser alebo Dap;

A_3 je Ser alebo Aib;

A_5 je His, Ile alebo Cha;

A_7 je Leu, Cha, Nle, β -Nal, Trp, Pal, Phe alebo p-X-Phe, v ktorom X je OH, halogén alebo CH_3 ;

A_8 je Leu, Met alebo Cha;

A₁₀ je Asp alebo Asn;

A₁₁ je Lys, Leu, Cha, Phe alebo β-Nal;

A₁₂ je Gly alebo Aib;

A₁₄ je Ser alebo His;

A₁₅ je Ile alebo Cha;

A₁₆ je Gln alebo Aib;

A₁₇ je Asp alebo Aib;

A₁₈ je Leu, Aib alebo Cha;

A₁₉ je Arg alebo Aib;

A₂₂ je Phe, Glu, Aib alebo Cha;

A₂₃ je Phe, Leu, Lys alebo Cha;

A₂₄ je Leu, Lys alebo Cha;

A₂₅ je His, Aib alebo Glu;

A₂₆ je His, Aib alebo Lys;

A₂₇ je Leu, Lys alebo Cha;

A₂₈ je Ile, Leu, Lys alebo Cha;

A₂₉ je Ala, Glu alebo Aib;

A₃₀ je Glu, Cha, Aib alebo Lys;

A₃₁ je Ile, Leu, Cha, Lys alebo je vynechané;

A₃₂ je His alebo je vynechané;

A₃₃ je Thr alebo je vynechané;

A₃₄ je Ala, Aib alebo je vynechané;

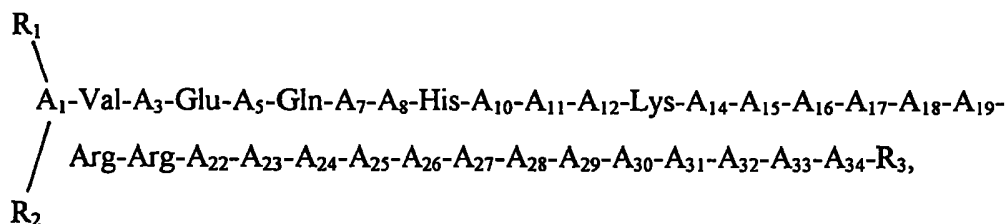
každé z R₁ a R₂ je nezávisle H, alkanyl C₁₋₁₂, fenylalkyl C₇₋₂₀, naftylalkyl C₁₁₋₂₀, hydroxyalkyl C₁₋₁₂, hydroxyalkenyl C₂₋₁₂, hydroxyfenylalkyl C₇₋₂₀ alebo hydroxynaftylalkyl C₁₁₋₂₀; alebo jedno a len jedno z R₁ a R₂ je COE₁, kde E₁ je alkyl C₁₋₁₂, alkenyl C₂₋₁₂, fenylalkyl C₇₋₂₀, naftylalkyl C₁₁₋₂₀, hydroxyalkyl C₁₋₁₂, hydroxyalkenyl C₂₋₁₂, hydroxyfenylalkyl C₇₋₂₀ alebo hydroxynaftylalkyl C₁₁₋₂₀; a

R₃ je OH, NH₂, alkoxy skupina C₁₋₁₂ alebo NH-Y-CH₂-Z, kde Y je uhl'ovodíková časť C₁₋₁₂ a Z je H, OH, CO₂H alebo CONH₂;

za predpokladu, že aspoň jedno z A₅, A₇, A₈, A₁₁, A₁₅, A₁₈, A₂₂, A₂₃, A₂₄, A₂₇, A₂₈, A₃₀ alebo A₃₁ je Cha, alebo aspoň jedno z A₃, A₁₂, A₁₆, A₁₇, A₁₈, A₁₉, A₂₂, A₂₅, A₂₆, A₂₉, A₃₀ alebo A₃₄ je Aib; alebo jeho farmaceuticky prijateľná soľ.

22. Peptid podľa nároku 21, kde namiesto A_{22} je Phe alebo Cha; A_{23} je Phe alebo Cha; A_{25} je His; A_{26} je His; A_{27} je Leu alebo Cha; A_{28} je Ile alebo Cha; A_{29} je Ala; A_{30} je Glu alebo Lys; A_{31} je Ile alebo Cha; A_{32} je His; A_{33} je Thr; a A_{34} je Ala; alebo jeho farmaceuticky prijateľná soľ.
23. Peptid podľa nároku 22, kde aspoň jedno z A_7 a A_{11} je Cha; alebo jeho farmaceuticky prijateľná soľ.
24. Peptid podľa nároku 22, kde aspoň jedno z A_{16} alebo A_{19} je Aib; alebo jeho farmaceuticky prijateľná soľ.
25. Peptid podľa nároku 21, kde A_{22} je Glu, Aib alebo Cha; A_{23} je Leu, Lys alebo Cha; A_{25} je Aib alebo Glu; A_{26} je Aib alebo Lys; A_{28} je Leu, Lys alebo Cha; A_{29} je Glu alebo Aib; A_{30} je Cha, Aib alebo Lys; A_{31} je Leu, Cha alebo Lys; A_{32} je His; A_{33} je Thr; a A_{34} je Ala; alebo jeho farmaceuticky prijateľná soľ.
26. Peptid podľa nároku 25, kde aspoň jedno z A_7 a A_{11} je Cha; alebo jeho farmaceuticky prijateľná soľ.
27. Peptid podľa nároku 25, kde aspoň jedno z A_{16} alebo A_{19} je Aib; alebo jeho farmaceuticky prijateľná soľ.

28. Peptid so vzorcom:



kde

A_1 je Ala, Ser alebo Dap;

A_3 je Ser alebo Aib;

A_5 je His, Ile alebo Cha;

A_7 je Leu, Cha, Nle, β -Nal, Trp, Pal, Phe alebo p-X-Phe, v ktorom X je OH, halogén alebo CH_3 ;

A_8 je Leu, Met alebo Cha;

A_{10} je Asp alebo Asn;

A_{11} je Lys, Leu, Cha, Phe alebo β -Nal;

A_{12} je Gly alebo Aib;

A_{14} je Ser alebo His;

A_{15} je Ile alebo Cha;

A_{16} je Gln alebo Aib;

A_{17} je Asp alebo Aib;

A_{18} je Leu, Aib alebo Cha;

A_{19} je Arg alebo Aib;

A_{22} je Phe, Glu, Aib alebo Cha;

A_{23} je Phe, Leu, Lys alebo Cha;

A_{24} je Leu, Lys alebo Cha;

A_{25} je His, Aib alebo Glu;

A_{26} je His, Aib alebo Lys;

A_{27} je Leu, Lys alebo Cha;

A_{28} je Ile, Leu, Lys alebo Cha;

A_{29} je Ala, Glu alebo Aib;

A_{30} je Glu, Cha, Aib alebo Lys;

A_{31} je Ile, Leu, Cha, Lys alebo je vynechané;

A_{32} je His alebo je vynechané;

A_{33} je Thr alebo je vynechané;

A_{34} je Ala alebo je vynechané;

každé z R_1 a R_2 je nezávisle H, alkanyl C_{1-12} , fenylalkyl C_{7-20} , naftylalkyl C_{11-20} , hydroxyalkyl C_{1-12} , hydroxyalkenyl C_{2-12} , hydroxyfenylalkyl C_{7-20} alebo hydroxynaftylalkyl C_{11-20} ; alebo jedno a len jedno z R_1 a R_2 je COE_1 , kde E_1 je alkyl C_{1-12} , alkenyl C_{2-12} , fenylalkyl C_{7-20} , naftylalkyl C_{11-20} , hydroxyalkyl C_{1-12} , hydroxyalkenyl C_{2-12} , hydroxyfenylalkyl C_{7-20} alebo hydroxynaftylalkyl C_{11-20} ; a

R_3 je OH, NH_2 , alkoxy skupina C_{1-12} alebo $NH-Y-CH_2-Z$, kde Y je uhl'ovodíková časť C_{1-12} a Z je H, OH, CO_2H alebo $CONH_2$;

za predpokladu, že aspoň jedno z A_{23} , A_{24} , A_{27} , A_{28} alebo A_{31} je Lys; alebo jeho farmaceuticky prijateľná soľ.

29. Peptid podľa nároku 28, kde A_{22} je Glu, Aib alebo Cha; A_{23} je Leu, Lys alebo Cha; A_{25} je Aib alebo Glu; A_{26} je Aib alebo Lys; A_{28} je Leu, Lys alebo Cha; A_{29} je Glu alebo Aib; A_{30} je Cha, Aib alebo Lys; A_{31} je Leu, Cha alebo Lys; A_{32} je His; A_{33} je Thr a A_{34} je Ala; alebo jeho farmaceuticky prijateľná soľ.

30. Peptid podľa nároku 29, kde aspoň jedno z A_7 a A_{11} je Cha; alebo jeho farmaceuticky prijateľná soľ.

31. Peptid podľa nároku 29, kde aspoň jedno z A_{16} alebo A_{19} je Aib; alebo jeho farmaceuticky prijateľná soľ.