

2569/92



# KÖZZÉTÉTELI PÉLDÁNY

# 62015

56.398/SZE

## K I V O N A T

*Eljárás*

Gyűrűs gonadotropin releasing hormon antagonisták *és állati forrás*

THE SALK INSTITUTE FOR BIOLOGICAL STUDIES, LA JOLLA,

AMERIKAI EGYESÜLT ÁLLAMOK

A bejelentés napja: 1991. 02. 05.

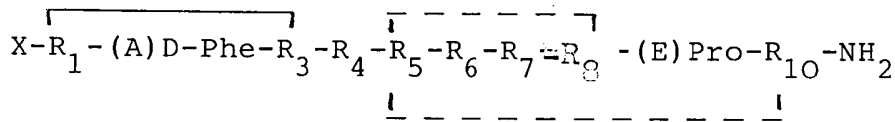
Elsőbbsége: 1990. 02. 06. (475,767),

AMERIKAI EGYESÜLT ÁLLAMOK

A nemzetközi bejelentés száma: PCT/US91/00774

A nemzetközi közzététel száma: WO 91/12013

*A találmány tárgya Gyűrűs*



általános képletű peptidek és ezek sói mint a gonadotropin releasing hormon <sup>*analógjai*</sup> ahol a fenti általános képletben

X jelentése hidrogénatom, vagy ~~7~~ vagy ennél kevesebb szénatomot tartalmazó acilcsoport;

R<sub>1</sub> jelentése béta-D-(2-naftil)-alanin, dehidro-prolin, D-cisztein, D-2-amino-vajsav, L- vagy D-aszparaginsav, L- vagy D-glutaminsav, L- vagy D-homoglutaminsav, L- vagy D-homohomoglutaminsav, L- vagy

D-lizin, L- vagy D-homolizin, L- vagy D-homohomolizin, L- vagy D-ornitin, L- vagy D-2,4-diamino-vajsav vagy L- vagy D-2,3-diamino-propionsav;

A jelentése hidrogénatom, klóratom, fluoratom, nitrocsoport, metilcsoport, metoxicsoport, az alfa-szénatomhoz kapcsolódó metilcsoport, és ezzel egyidejűleg a fenilgyűrű 4-es helyzetéhez <sup>kapcsolódó halogénatom (Cl)</sup> ~~kapcsolódó~~ klóratom, két klóratom, vagy pedig brómatom;

R<sub>3</sub> jelentése béta-D-(2-naftil)-alanin, D-(3-piridil)-alanin, D-cisztein, L- vagy D-2-amino-vajsav, L- vagy D-aszparaginsav, L- vagy D-glutaminsav, L- vagy D-homoglutaminsav, L- vagy D-homohomoglutaminsav, L- vagy D-lizin, L- vagy D-homolizin, L- vagy D-homohomolizin, L- vagy D-ornitin, L- vagy D-2,4-diamino-vajsav vagy L- vagy D-2,3-diamino-propionsav;

R<sub>4</sub> jelentése szerin~~g~~, cisztein, aszparaginsav, glutaminsav, ornitin, 2,4-diamino-vajsav, 2,3-diamino-propionsav vagy 2-amino-vajsav;

R<sub>5</sub> jelentése tirozin, glutaminsav, homoglutaminsav vagy homohomoglutaminsav;

R<sub>6</sub>

jelentése béta-D-naftil-alanin,  
 (B)D-triptofán, (A')D-fenil-alanin, (D)D-ho-  
 moarginin, D-tirozin, (C)D-hisztidin, D-piri-  
 dil-alanin, (D)D-arginin, D-leucin, D-izoleu-  
 cin, D-valin, D-norleucin, D-alanin, D-prolin,  
 O-(tercier-butyl)-D-szerin vagy D-norvalin;

~~A~~ jelentése azonos A fenti jelentésé-  
 vel, vagy aminocsoport, metil-amino-  
 csoport vagy guanidincsoport;

B jelentése hidrogénatom, nitrocsoport,  
 aminocsoport, metoxicssoport, fluor-  
 atom, klóratom, brómatom, metilcso-  
 port, az indolgyűrű nitrogénatomjához  
 kapcsolódó formilcsoport vagy az in-  
 dolgyűrű nitrogénatomjához kapcsolódó  
 acetylcssoport;

C jelentése hidrogénatom, az imidazol-  
 gyűrű nitrogénatomjához kapcsolódó  
 benzilcsoport vagy dinitro-fenil-  
 csoport;

D jelentése hidrogénatom vagy két rö-  
 vidszénláncu alkilcsoport;

R<sub>7</sub>

jelentése norleucin, leucin, az alfa-amino-  
 csoporton metilezett leucin, fenil-alanin,  
 metionin, norvalin, tirozin, triptofán vagy  
 piridil-alanin;

- R<sub>8</sub> jelentése (D)-arginin, (D)-homoarginin, homolizin, homohomolizin vagy lizin;
- E jelentése hidrogénatom, hidroxilcsoport vagy "dehydro"; és
- R<sub>10</sub> jelentése glicin, D-alanin, cisztein, aszparaginsav, glutaminsav, ornitin, 2,4-diamino-vajsav, 2,3-diamino-propionsav vagy 2-amino-vajsav;

különben

~~azzal a megkötéssel, hogy ha~~

~~R<sub>4</sub> jelentése cisztein vagy 2-amino-vajsav, akkor~~

R<sub>10</sub> jelentése cisztein vagy 2-amino-vajsav; továbbá, ha

R<sub>4</sub> jelentése aszparaginsav vagy glutaminsav, akkor

R<sub>10</sub> jelentése ornitin, 2,4-diamino-vajsav vagy 2,3-diamino-propionsav; továbbá, ha

R<sub>4</sub> jelentése ornitin, 2,4-diamino-vajsav vagy 2,3-diamino-propionsav, akkor

R<sub>10</sub> jelentése aszparaginsav vagy glutaminsav; továbbá, ha

R<sub>5</sub> jelentése glutaminsav, akkor

R<sub>8</sub> jelentése lizin; továbbá, ha

R<sub>1</sub> jelentése D-cisztein vagy D-2-amino-vajsav, akkor

R<sub>3</sub> jelentése D-cisztein vagy D-2-amino-vajsav; továbbá, ha

R <sub>1</sub>	jelentése D-aszparaginsav vagy D-glutaminsav, akkor
R <sub>3</sub>	jelentése D-lizin, D-ornitin, D-2,4-diaminovájsav vagy D-2,3-diaminopropionsav; továbbá, ha
R <sub>1</sub>	jelentése D-lizin, D-ornitin, D-2,4-diaminovájsav vagy D-2,3-diaminopropionsav, akkor
R <sub>3</sub>	jelentése D-aszparaginsav vagy D-glutaminsav.

E peptidek adott esetben az 1-es és 3-as helyen, a 4-es és 10-es helyen, és/vagy az 5-ös és 8-as helyen álló aminosavak között létrehozott amidkötés(ek), diszulfidkötések, metilénsoportokból álló dikarba-kötések vagy egy metilénsoport és egy kénatom részvételével létrejövő karba-kötések révén monociklusos, biciklusos vagy triciklusos formában lehetnek.

A találmány tárgyát képező ~~továbbá a fenti~~ peptidek előállítására szolgáló eljárás, amely lehet ~~az~~ ~~ismert,~~ szilárd fázisú szintézis, vagy a rekombinációs dezoxi-ribonukleinsavas módszer.

5-7

2569/92

KÖZZÉTÉTELI PÉLDÁNY



56.398/SZE

S.B.G. & K.  
Budapesti Nemzetközi  
Szabadalmi Iroda  
H-1061 Budapest, Daiszínház u. 10.  
Telefon: 153-3733, Fax: 153-3664

62015 <sup>A</sup>

NSOJ CO7K 7/06  
CO7K 7/20  
A61K 37/06  
A61K 37/38

*Egyéb*

Gyűrűs gonadotropin releasing hormon antagonisták *elállításon*

THE SALK INSTITUTE FOR BIOLOGICAL STUDIES, LA JOLLA,  
California, AMERIKAI EGYESÜLT ÁLLAMOK

Feltalálók:

RIVIER, Jean Edouard Frederic, LA JOLLA,

RIVIER, Catherine Laure, LA JOLLA,

VALE, Jr. Wylie Walker, LA JOLLA,

<sup>B</sup>KOEBER, Steven C., ENCINITAS,

HAGLER, Arnold T. LA JOLLA,

California, AMERIKAI EGYESÜLT ÁLLAMOK

A bejelentés napja: 1991. 02. 05.

Elsőbbsége: 1990. 02. 06. (475,767),

AMERIKAI EGYESÜLT ÁLLAMOK

A nemzetközi bejelentés száma: PCT/US91/00774

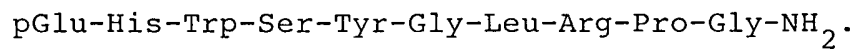
A nemzetközi közzététel száma: WO 91/12013

A jelen találmány tárgyát olyan vegyületek képezik, amelyek emlősök, beleértve az embert is, agyalapi mirigyében meggátolják, hogy a gonadotropinok (az ivarmirigyekre ható hormonok) felszabaduljanak. A találmány tárgya továbbá eljárás az ovuláció (peteérés) meggátlására és/vagy a szteroidok felszabadulásának gátlására. Részletesebben, a találmány tárgyát olyan peptidok képezik, amelyek gátolják az ivarmirigyek működését és a progeszteron és tesztoszteron, e szteroid hormonok felszabadulását.

Az agyalapi mirigy egy nyélen át kapcsolódik az agyalap hypothalamus néven ismert részéhez. Az agyalapi mirigyben szabadul fel különösen a follikulusz stimuláló (tüsző-) hormon (FSH) és a luteinizáló (sárgatest) hormon (LH), amelyeket esetenként gonadotropinoknak vagy gonadotróp hormonoknak nevezünk. E hormonok együttesen szabályozzák az ivarmirigyek azon működését, amelynek során a herék tesztoszteront, a petefészkek pedig progeszteront és ösztrogént termelnek, továbbá e hormonok szabályozzák az ivarsejtek termelését és érési folyamatát.

Ahhoz, hogy az agyalapi mirigy elülső lebenyében felszabaduljon egy hormon, általában az szükséges, hogy előzőleg felszabaduljon egy, a hypothalamusban képződő hormon. A hypothalamus egyik hormonja indítja be a gonadotróp hormonok, és különösen a luteinizáló hormon felszabadulását, a jelen leírásban e hormont gonadotropin releasing

hormonnak (GnRH) nevezzük, bár említik luteinizáló hormon releasing hormonnaként (LH-RH) és luteinizáló hormon releasing faktorként (LRF) is. A gonadotropin releasing hormont elkülönítették és megállapították, hogy e vegyület egy deka-peptid, amelynek szerkezete az alábbi:



A peptidek olyan vegyületek, amelyek két vagy több aminosavból állnak, és amelyekben az egyik aminosav karboxilcsoportja a másik aminosav aminocsoportjához kapcsolódik. A gonadotropin releasing hormon fenti képlete megfelel a peptidek szokásos ábrázolásának, ahol az amino-terminálist (láncvéget) a baloldalra, a karboxi-terminálist pedig a jobboldalra írjuk. Egy aminosav helyét úgy határozzuk meg, hogy az aminosavakat balról jobbra haladva megszámozzuk. A gonadotropin releasing hormon esetében a C-terminálison levő glicin karboxilcsoportjának hidroxilcsoportja helyén aminocsoport áll. A jelen leírásban az aminosavakat a szokásos rövidítésükkel jelöljük, e rövidítések az aminosavak triviális (nem nevezéktan szerinti) nevén alapulnak. Az alábbiakban megadjuk a jelen leírásban használt rövidítéseket, mégpedig mind az aminosavakra, mind egyéb vegyületekre és csoportokra nézve.

Ac	acetil
Acr	akriloil
Aly	allil
BHA	benzhidril-amin típusu gyanta
Boc	tercier-butoxi-karbonil
BOP	benzotriazolil-N-oxi-trisz(dimetil-amino)- -foszfónium-hexafluorofoszfát
2BrZ	2-bróm-benziloxi-karbonil
Bz	benzoil
Bzl	benzil
ClZ	4-klór-benziloxi-karbonil
2Cl-Z	2-klór-benziloxi-karbonil
DCB	2,6-diklór-benzil
dehydro	a prolin telítetlenségét jelző előtag
DNP	2,4-dinitro-fenil
Fmoc	fluorenil-metoxi-karbonil
For	formil
GnRH	gonadotropin releasing hormon
gua	guanidino
LH-RH	luteinizáló hormon releasing hormon
LRF	luteinizáló hormon releasing faktor
MBHA	metil-benzhidril-amin típusu gyanta
MeOBzl	4-metoxi-benzil

N <sup>in</sup> Ac	az indolgyűrű nitrogénatomjához kapcsolódó acetilcsoport
N <sup>in</sup> For	az indolgyűrű nitrogénatomjához kapcsolódó formilcsoport
Nps	2-nitro-fenil-szulfenil
OFm	fluorenil-metoxi
Tos	tozil
Trytl	trifenil-metil
Vac	vinil-acetil
T	benziloxi-karbonil

## Aminosavak:

Abu	2-amino-vaajsav
Ala	alanin
Arg	arginin
Asn	aszparagin
Asp	aszparaginsav
Cys	cisztein
Dbu	2,4-diamino-vaajsav
Dpr	2,3-diamino-propionsav
Glu	glutaminsav
pGlu	piroglutaminsav
Gln	glutamin
Gly	glicin
Har	homoarginin

Hgl	homoglutaminsav
Hhg	homohomoglutaminsav
Hhl	homohomolizin
His	hisztidin
Hly	homolizin
Ile	izoleucin
(imBzl)His	az imidazolgyűrűn benzilcsoporttal védett hisztidin
Leu	leucin
Lys	lizin
béta-1NAL	béta-(1-naftil)-alanin
béta-2NAL	béta-(2-naftil)-alanin
Nle	norleucin
NML = N <sup>α</sup> CH <sub>3</sub> -Leu	az alfa-amino-csoporton metilezett leucin
Nva	norvalin
Orn	ornitin
3PAL	béta-(3-piridil)-alanin
Phe	fenil-alanin
4-NH <sub>2</sub> -Phe	4-amino-fenil-alanin
4-gua-Phe	4-guanidino-fenil-alanin
(C <sup>α</sup> Me(4Cl)Phe	alfa-metil-4-klór-fenil-alanin
Pglu	piroglutaminsav
Pro	prolin
dehydroPro	dehidro-prolin
Sar	szarkozin

Ser	szerin
Ser(OtBu)	O-tercier-butil-szerin
Thr	treonin
Trp	triptofán
Tyr	tirozin
Val	valin

Ha az aminosavak szokásos hárombetűs rövidítése nagybetűvel kezdődik, és nem adjuk meg külön, hogy melyik izomerről van szó, akkor ez (a glicin kivételével) az L-izomert jelenti. A D-izomert mindig a D-jelzéssel látjuk el. Ha viszont az aminosav hárombetűs rövidítése kisbetűvel kezdődik, akkor ez jelentheti akár az L-, akár a D-izomert. Megjegyezzük továbbá, hogy ha a szövegben egy aminosavat teljes nevén említünk, akkor ez - ha külön másképp nem adjuk meg - az L-izomert jelenti.

Bizonyos esetekben kívánatos, hogy nőstény emlősökben meggátoljuk az ovulációt (peteérést); és a gonadotropin releasing hormon olyan analógjait, amelyek a gonadotropin releasing hormon normál működését antagonizálják (ellenes hatnak), már eddig is használták az ovuláció visszaszorítására vagy késleltetésére. Ezért vizsgálatok folynak arra nézve, lehet-e a gonadotropin releasing hormonnak azon analógjait, amelyek a gonadotropin releasing hormonra nézve antagonisták hatásúak, fogamzásgátlásra vagy

a fogamzóképes időszakok szabályozására használni. A gonadotropin releasing hormon antagonistáit a korai pubertás és az endometriózis (a méhnyálkahártya szabálytalan elhelyezkedése) kezelésére is lehet használni. Azt is kimutatták, hogy az ilyen antagonistákat him emlősökben a gonadotropinok kiválasztásának szabályozására is lehet használni, és így le lehet állítani a spermiumok képződését, tehát például himeknél fogamzásgátlóként, továbbá prosztatata hipertrófia (magnagyobbodás) kezelésére lehet azokat használni. Még különösebben, a gonadotropin releasing hormon antagonistákkal a szteroidfüggő daganatokat, így a prosztatata, agy- és emlődaganatokat is lehet kezelni.

Szükség van olyan, jobb hatású peptidekre, amelyek erősen antagonizálják az endogén (a szervezetben keletkező) gonadotropin releasing hormont, és amelyek emlősökön gátolják a luteinizáló hormon kiválasztását és a nemi mirigyekben a szteroid hormonok felszabadulását. Kivánatos továbbá, hogy olyan hatóanyagokat találjunk, amelyek in vivo (az élő szervezetben) orális (szájon át való) adagolás esetében is kifejtik hatásukat.

A jelen találmány tárgyát olyan peptidek képezik, amelyek emlősökön, beleértve az embert is, gátolják a gonadotropinok felszabadulását, továbbá a találmány tárgya eljárás him és nőstény emlősökben a szteroidoknak az ivarmirigyekben való felszabadulásának gátlására.

A gonadotropin releasing hormon javított analógjai erősen antagonizálják a gonadotropin releasing hormont, és gátló hatást fejtenek ki emlősök reprodukciós (szaporodási) folyamataira; ezért e vegyületeket gonadotropin releasing hormon antagonistákként említjük. Ezen analógok segítségével gátolhatjuk a gonadotropinok és a nemi hormonok termelését különféle körülmények között, ilyen körülmények például a korai pubertás, a hormonfüggő neoplázia (daganat), menstruációs zavarok, endometriózis és a szteroidfüggő daganatok.

A jelen találmány értelmében általában olyan peptideket állítunk elő, amelyek emlősökben, beleértve az embert is, erősen gátolják az agyalapi mirigyben a gonadotropinok kiválasztását és/vagy gátolják az ivarmirigyekben a szteroidok felszabadulását. E peptidek a gonadotropin releasing hormon gyűrűs, és előnyösen biciklusos (két gyűrűt tartalmazó) vagy triciklusos (három gyűrűt tartalmazó) analógjai, ahol legalább két kovalens kötés van, mégpedig a következő aminosav-párok között: a 4-es helyen és a 10-es helyen levő aminosav között, az 5-ös helyen levő és a 8-as helyen levő aminosav között, valamint az 1-es helyen levő és a 3-as helyen levő aminosav között. Bizonyos olyan, biciklusos peptidekben, amelyek az 1-es és 3-as helyen levő aminosav között nem tartalmaznak kovalens kötést, meghatározott aminosavakat kell tartalmazniuk egyrészt az 1-es helyen, mégpedig

előnyösen dehidro-prolint vagy béta-(1- vagy 2-naftil)-D-alanint, másrészt a 3-as helyen előnyösen helyettesítetlen vagy helyettesített D-triptofánt, D-(3-piridil)-alanint, béta-D-(2-naftil)-alanint vagy béta-D-(1-naftil)-alanint. A 2-es helyen valamennyi peptid előnyösen valamilyen módosított D-fenil-alanint tartalmaz. A 4-es helyen lehet például cisztein, valamely, legfeljebb 5 szénatomot és két aminocsoportot viselő aminosav, <sup>vagy</sup> valamely, két karboxilcsoportot viselő aminosav, mint például aszparaginsav, glutaminsav vagy 2-amino-vajsav. Az 5-ös helyen előnyösen glutaminsav, míg a 8-as helyen lizin szerepel, abban az esetben, ha e két csoport között kovalens kötés van; kivánt esetben ezeken a helyeken szerepelhetnek azonban az alábbi aminosavak is: homoglutaminsav; homohomoglutaminsav, vagyis 1,7-dikarboxi-2-amino-heptánsav; homolizin vagy homohomolizin, vagyis 1-karboxi-2,8-diamino-oktánsav. A peptid 6-os helyén is más aminosav szerepel, mint az eredeti deka-peptidben, adott esetben a 7-es helyen is más aminosav állhat, ilyenek például a norleucin, alfa-N-metil-leucin, fenil-alanin, norvalin, metionin, tirozin, triptofán vagy béta-piridil-alanin; továbbá adott esetben a 9-es helyen levő prolin is módosított formában lehet jelen. A 10-es helyen levő aminosav komplementer viszonyban van a 4-es helyen levő aminosavval (kiegészíti azt). A triciklusos vegyületekben és bizonyos biciklusos vegyületekben is az 1-es és 3-as helyen álló aminosavak

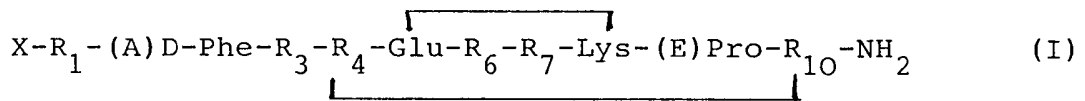
komplementer viszonyban állnak, amint ezt általánosságban a 4-es és 10-es helyen levő aminosavakkal kapcsolatban megadtuk; előnyös lehet azonban, hogy e két aminosav között hosszabb dikarba-kötést hozzunk létre, mint amelyet két 2-amino-vajsav között létesíthetünk.

A 2-es helyen levő, módosított D-fenil-alanin révén megnövekedett antagonistá hatású peptidekhez jutunk, ez a benzolgyűrűn levő különös módosításoknak tulajdonítható. Ha a gyűrűnek csak egy hidrogénatomját helyettesítjük, akkor ezt előnyösen a para- vagy 4-helyzetben tesszük, de alkalmazhatunk ehelyett 2-es vagy 3-as helyettesítést is; a helyettesítő csoport lehet például klóratom, fluoratom, brómatom, metilcsoport, metoxics csoport vagy nitrocsoport, amelyek közül előnyös a klóratom, fluoratom és a nitrocsoport. A diklór-helyettesítést a gyűrű 2,4- vagy 3,4-helyzetében valósítjuk meg. Az aminosav alfa-szénatomja is viselhet metilcsoportot, mint például az alfa-metil- $\downarrow$ 4-klór-fenil-alaninban. Az 1-es helyen álló aminosavat előnyösen úgy módosítjuk, hogy alfa-amino-csoportjához valamely acilcsoport kapcsolódjon, ilyen acilcsoport például a formilcsoport, acetilcsoport, akrililcsoport, vinil-acetil-csoport és a benzoilcsoport, ezek közül előnyös az acetilcsoport és az akrililcsoport. A piridil-alanin L- és D-izomerjében az alanin béta-szénatomja a piridingyűrű 2-es, 3-as vagy 4-es helyzetéhez, és előnyösen a 3-as helyzetéhez kapcsolódik.

Ha az 1-es helyen béta-D-naftil-alanin van, akkor a 6-os helyen előnyösen valamely hidrofil D-aminosav, például 4-amino-D-fenil-alanin, 4-guanidino-D-fenil-alanin, D-hisztidin, D-arginin, D-homoarginin vagy D-piridil-alanin szerepel. Ha az 1-es helyen dehidro-prolin van, akkor a 6-os helyen előnyösen egy lipofil aminosav, például D-triptofán, D-fenil-alanin, formil-D-triptofán, nitro-D-triptofán, D-leucin, D-izoleucin, D-norleucin, D-tirozin, D-valin, D-alanin, O-(tercier-butyl)-D-szerin, béta-D-naftil-alanin vagy az imidazolgyűrűn benzilcsoporttal helyettesített D-hisztidin szerepel, de használhatunk D-piridil-alanint is.

A gonadotropin releasing hormon ezen antagonistái orális adagolásban is kifejtik hatásukat, szemben a korábban ismert gonadotropin releasing hormon antagonistákkal. E peptidek meggátolják nőstény emlősökben az ovulációt, ha az ovulációt megelőző napon kis mennyiségeiket adagoljuk, továbbá hatékonyan elősegítik a megtermékenyített petesejtek felszívódását, ha röviddel a fogamzás után adjuk be azokat. E peptidek ugyancsak hatásosak him emlősök fogamzásgátló célú kezelésében, továbbá a szteroidfüggő és más daganatok kezelésében.

Részletesebben, a jelen találmány szerinti bizonyos előnyös bicikusos peptideket az



általános képlettel jellemezhetünk, ahol a fenti (I) általános képletben

- X                    jelentése hidrogénatom, vagy 7 vagy ennél kevesebb szénatomot tartalmazó acilcsoport;
- R<sub>1</sub>                    jelentése dehidro-prolin, D-piroglutaminsav, (A)D-fenil-alanin, (B)D-triptofán, prolin vagy béta-D-naftil-alanin, ahol
- A                    jelentése hidrogénatom, klóratom, fluoratom, nitrocsoport, metilcsoport, metoxicssoport, az aminosav alfa-szénatomjához kapcsolódó metilcsoport és ezzel egyidejűleg a benzolgyűrű 4-es helyzetéhez kapcsolódó klóratom, két klóratom vagy pedig brómatom,
- B                    jelentése hidrogénatom, nitrocsoport, aminocsoport, metoxicssoport, fluoratom, klóratom, brómatom, metilcsoport, az indolgyűrű nitrogénatomjához kapcsolódó formilcsoport, vagy az indolgyűrű nitrogénatomjához kapcsolódó acetylcssoport;
- R<sub>3</sub>                    jelentése D-piridil-alanin, béta-D-naftil-alanin vagy (B)D-triptofán;
- R<sub>4</sub>                    jelentése cisztein, aszparaginsav, glutaminsav,

- ornitin, 2,4-diamino-vaajsav, 2,3-diamino-propionsav vagy 2-amino-vaajsav;
- R<sub>6</sub> jelentése béta-D-naftil-alanin, (B)D-triptofán, (A')D-fenil-alanin, (D)D-homoarginin, D-tirozin, (C)D-hisztidin, D-piridil-alanin, (D)D-arginin, D-leucin, D-izoleucin, D-valin, D-norleucin, D-alanin, D-prolin, O-(tercier-butyl)-D-szerin vagy D-norvalin, ahol
- A' jelentése az A jelentésére fent megadott, aminocsoport, metil-amino-csoport vagy guanidinocsoport,
- C jelentése hidrogénatom, az imidazolgyűrűhöz kapcsolódó benzilcsoport vagy dinitro-fenil-csoport,
- D jelentése hidrogénatom vagy két rövidszénláncu alkilcsoport;
- R<sub>7</sub> jelentése norleucin, leucin, az alfa-amino-csoporton metilezett leucin, fenil-alanin, metionin, norvalin, tirozin, triptofán vagy béta-piridil-alanin;
- E jelentése hidrogénatom, hidroxilcsoport vagy "dehydro", és
- R<sub>10</sub> jelentése cisztein, aszparaginsav, glutaminsav, ornitin, 2,4-diamino-vaajsav, 2,3-diamino-propionsav vagy 2-amino-vaajsav;

azzal a megkötéssel, hogy ha

$R_4$  jelentése cisztein vagy 2-amino-vaajsav, akkor

$R_{10}$  jelentése cisztein vagy 2-amino-vaajsav; továbbá, ha

$R_4$  jelentése aszparaginsav vagy glutaminsav, akkor

$R_{10}$  jelentése ornitin, 2,4-diamino-vaajsav vagy 2,3-diamino-propionsav; továbbá, ha

$R_4$  jelentése ornitin, 2,3-diamino-vaajsav vagy 2,3-diamino-propionsav, akkor

$R_{10}$  jelentése aszparaginsav vagy glutaminsav.

Abban az esetben, ha

$R_1$  jelentése béta-D-naftil-alanin, akkor

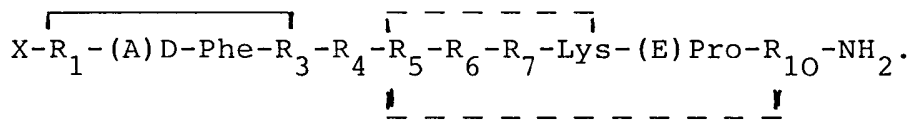
$R_6$  jelentése előnyösen 4-amino-D-fenil-alanin, D-homoarginin, D-hisztidin, 4-guanidino-D-fenil-alanin, D-piridil-alanin vagy D-arginin.

Amint ezt a fentiekben jeleztük, az 5-ös helyen levő glutaminsav helyén szerepelhet homoglutaminsav vagy homohomoglutaminsav, továbbá a 8-as helyen levő lizin helyén állhat homolizin vagy homohomolizin is.

Dehidro-prolinon a  $C_5H_7O_2N$  összegképletű 3,4-dehidro-prolint értjük. A béta-D-naftil-alanin egy olyan alanin D-izomerje, amelynek béta-szénatomjához naftilcsoport kapcsolódik, tehát jelölhetjük 3-D-naftil-alaninnak is. Előnyösen béta-D-(2-naftil)-alanint használunk, amelyben a

naftalingyűrű 2-es helyzetén keresztül kapcsolódik az alanin béta-szénatomjához; alkalmazhatjuk azonban a béta-D-(1-naftil)-alanint is. A piridil-alanin olyan alanin-származék, amelynek béta-szénatomjához piridilcsoport kapcsolódik; a kapcsolódás előnyös helye a piridingyűrű 3-as helyzete. Ha helyettesített D-triptofánt alkalmazunk, és csak egy hidrogénatomot helyettesítünk, akkor e helyettesítő kapcsolódhat az 5-ös vagy 6-os helyzethez, és e helyettesítő csoport lehet klóratom, fluoratom, brómatom, metilcsoport, aminocsoport, metoxics csoport vagy nitrocsoport, ezek közül előnyös a klóratom, fluoratom és a nitrocsoport. Másrészt, az indolgyűrű nitrogénatomja acilcsoportot is viselhet, például formilcsoportot vagy acetilcsoportot. Az előnyös ilyen, helyettesített triptofán-származékok az indolgyűrű nitrogénatomján formilcsoporttal helyettesített D-triptofán és a 6-nitro-D-triptofán. Ha a 6-os helyen D-arginin vagy D-homo-arginin áll, vagy a 8-as helyen arginin szerepel, akkor a guanidino-oldalláncon két, 1-4 szénatomot tartalmazó rövidszénláncu alkilcsoport lehet, mégpedig előnyösen két etilcsoport. Ha az 1-es helyen dehidro-prolin van, akkor a 6-os helyen előnyösen egy lipofil aminosav szerepel. Előállíthatunk további olyan, biológiailag aktív monociklusos és biciklusos peptideket, amelyek az 1-es és 3-as helyen levő aminosavak között kovalens kötést tartalmaznak, és ezenkívül kivánt esetben hasonló kötést hordozhatnak a 4-es és 10-es

helyen levő aminosavak között és/vagy az 5-ös és 8-as helyen levő aminosavak között. Az ilyen peptideket az alábbi képlettel jellemezhetjük, ahol az  $R_1$  és  $R_3$  között gyűrűt kialakító kovalens kötés van, és adott esetben hasonló kötés(ek) lehet(nek) az  $R_5$  és  $R_8$  és/vagy az  $R_4$  és  $R_{10}$  között:



A fenti általános képletben

- X jelentése hidrogénatom, vagy 7 vagy ennél kevesebb szénatomot tartalmazó acilcsoport;
- $R_1$  jelentése D-cisztein, D-2-amino-vaajsav, L- vagy D-aszparaginsav, L- vagy D-glutaminsav, L- vagy D-homoglutaminsav, L- vagy D-homohomoglutaminsav, L- vagy D-lizin, L- vagy D-homolizin, L- vagy D-homohomolizin, L- vagy D-ornitin, L- vagy D-2,4-diamino-vaajsav vagy L- vagy D-2,3-diaminopropionsav;
- A jelentése hidrogénatom, klóratom, fluoratom, nitrocsoport, metilcsoport, metoxicssoport, az alfa-szénatomhoz kapcsolódó metilcsoport és ezzel egyidejűleg a benzolgyűrű 4-es helyzetéhez kapcsolódó klóratom, két klóratom, vagy pedig brómatom;
- $R_3$  jelentése D-cisztein, L- vagy D-2-amino-vaajsav,

L- vagy D-aszparaginsav, L- vagy D-glutaminsav,  
 L- vagy D-homoglutaminsav, L- vagy D-homohomo-  
 glutaminsav, L- vagy D-lizin, L- vagy D-homo-  
 lizin, L- vagy D-homohomolizin, L- vagy D-or-  
 nitin, L- vagy D-2,4-diamino-vaajsav vagy L- vagy  
 D-2,3-diamino-propionsav;

R<sub>4</sub> jelentése szerin, cisztein, aszparaginsav, glu-  
 taminsav, ornitin, 2,4-diamino-vaajsav, 2,3-di-  
 amino-propionsav vagy 2-amino-vaajsav;

R<sub>5</sub> jelentése tirozin vagy glutaminsav;

R<sub>6</sub> jelentése béta-D-naftil-alanin, (B)D-triptofán,  
 (A')D-fenil-alanin, (D)D-homoarginin, D-tirozin,  
 (C)D-hisztidin, D-piridil-alanin, (D)D-arginin,  
 D-leucin, D-izoleucin, D-valin, D-norleucin,  
 D-alanin, D-prolin, O-(tercier-butyl)-D-szerin  
 vagy D-norvalin, ahol

A' jelentése azonos A fenti jelentésével,  
 vagy aminocsoport, metil-amino-csoport  
 vagy guanidinocsoport,

B jelentése hidrogénatom, nitrocsoport,  
 aminocsoport, metoxicssoport, fluoratom,  
 klóratom, brómatom, metilcsoport, az  
 indolgyűrű nitrogénatomjához kapcsolódó  
 formilcsoport, vagy az indolgyűrű nitro-  
 génatomjához kapcsolódó acetylcssoport,

- C jelentése hidrogénatom, az imidazolgyűrű nitrogénatomjához kapcsolódó benzilcsoport vagy dinitro-fenil-csoport;
- D jelentése hidrogénatom vagy két rövidszénláncu alkilcsoport;
- R<sub>7</sub> jelentése norleucin, leucin, az alfa-amino-csoporton metilezett leucin, fenil-alanin, metionin, norvalin, tirozin, triptofán vagy piridil-alanin;
- E jelentése hidrogénatom, hidroxilcsoport vagy "dehydro";
- R<sub>8</sub> jelentése (D)-arginin, (D)-homoarginin vagy lizin, és
- R<sub>10</sub> jelentése glicin, D-alanin, cisztein, aszparaginsav, glutaminsav, ornitin, 2,4-diamino-vaajsav, 2,3-diamino-propionsav vagy 2-amino-vaajsav;
- azzal a megkötéssel, hogy ha
- R<sub>4</sub> jelentése cisztein vagy 2-amino-vaajsav, akkor
- R<sub>10</sub> jelentése cisztein vagy 2-amino-vaajsav; továbbá, ha
- R<sub>4</sub> jelentése aszparaginsav vagy glutaminsav, akkor
- R<sub>10</sub> jelentése ornitin, 2,4-diamino-vaajsav vagy 2,3-diamino-propionsav; továbbá, ha
- R<sub>4</sub> jelentése ornitin, 2,4-diamino-vaajsav vagy 2,3-diamino-propionsav, akkor

- $R_{10}$  jelentése aszparaginsav vagy glutaminsav; továbbá, ha
- $R_5$  jelentése glutaminsav, akkor
- $R_8$  jelentése lizin; továbbá, ha
- $R_1$  jelentése D-cisztein vagy D-2-amino-vaajsav, akkor
- $R_3$  jelentése D-cisztein vagy D-2-amino-vaajsav; továbbá, ha
- $R_1$  jelentése L- vagy D-aszparaginsav, L- vagy D-glutaminsav, L- vagy D-homoglutaminsav vagy L- vagy D-homohomoglutaminsav, akkor
- $R_3$  jelentése L- vagy D-lizin, L- vagy D-homolizin, L- vagy D-homohomolizin, L- vagy D-ornitin, L- vagy D-2,4-diamino-vaajsav vagy L- vagy D-2,3-diamino-propionsav; továbbá, ha
- $R_1$  jelentése L- vagy D-lizin, L- vagy D-homolizin, L- vagy D-homohomolizin, L- vagy D-ornitin, L- vagy D-2,4-diamino-vaajsav vagy L- vagy D-2,3-diamino-propionsav, akkor
- $R_3$  jelentése L- vagy D-aszparaginsav, L- vagy D-glutaminsav, L- vagy D-homoglutaminsav, vagy L- vagy D-homohomoglutaminsav.

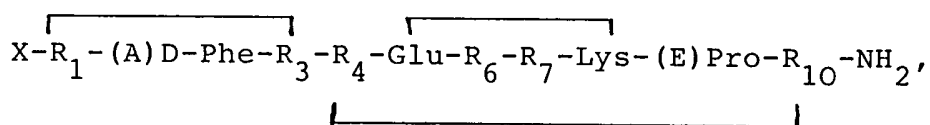
A fentiekben több esetben egy aminosav L- vagy D-izomerje szerepelhet, mind az 1-es, mind a 3-as helyen előnyösek azonban a D-izomerek.

Bizonyos előnyös triciklusos peptidek képlete általában az előző bekezdésben megadott, azzal az eltéréssel, hogy

$R_1$  jelentése D-cisztein, D-2-amino-vaajsav, D-aszparaginsav, D-glutaminsav, D-homoglutaminsav, D-homohomoglutaminsav, D-lizin, D-homolizin, D-homohomolizin, D-ornitin, D-2,4-diamino-vaajsav vagy D-2,3-diamino-propionsav, és

$R_3$  jelentése valamely, ugyanezen csoportból kiválasztott, és a fentivel komplementer viszonyban álló aminosav;

a triciklusos peptidekben azonban a három, gyűrűt kialakító kötés közül legalább kettőnek amidkötésnek és/vagy dikarba-kötésnek kell lennie. Egyes különösen előnyös triciklusos peptideket az alábbi képlettel jellemezhetjük:



ahol

X jelentése hidrogénatom, vagy 7 vagy ennél kevesebb szénatomot tartalmazó acilcsoport,

$R_1$  jelentése D-cisztein, D-2-amino-vaajsav, D-aszparaginsav, <sup>D-</sup>glutaminsav, D-homoglutaminsav, D-homohomoglutaminsav, D-lizin, D-homolizin, D-homohomolizin, D-ornitin, D-2,4-diamino-vaajsav vagy D-2,3-diamino-propionsav;

- A jelentése hidrogénatom, klóratom, fluoratom, nitrocsoport, metilcsoport, metoxicsoport, az alfa-szénatomhoz kapcsolódó metilcsoport és ezzel egyidejűleg a gyűrű 4-es helyzetéhez kapcsolódó klóratom, két klóratom, vagy pedig bróm-atom;
- R<sub>3</sub> jelentése D-cisztein, D-2-amino-vaajsav, D-aszparaginsav, <sup>D-</sup>glutaminsav, D-homoglutaminsav, D-homohomoglutaminsav, D-lizin, D-homolizin, D-homohomolizin, D-ornitin, D-2,4-diamino-vaajsav vagy D-2,3-diamino-propionsav;
- R<sub>4</sub> jelentése cisztein, aszparaginsav, glutaminsav, ornitin, 2,4-diamino-vaajsav, 2,3-diamino-propionsav vagy 2-amino-vaajsav;
- R<sub>6</sub> jelentése béta-D-naftil-alanin, (B)D-triptofán, (A')D-fenil-alanin, (D)D-homoarginin, D-tirozin, (C)D-hisztidin, D-piridil-alanin, (D)D-arginin, D-leucin, D-izoleucin, D-valin, D-norleucin, D-alanin, D-prolin, O-(tercier-butyl)-D-szerin vagy D-norvalin;
- A' jelentése azonos A fenti jelentésével, vagy aminocsoport, metil-amino-csoport vagy guanidinocsoport;
- B jelentése hidrogénatom, nitrocsoport, aminocsoport, metoxicsoport, fluoratom, klóratom, brómatom, metilcsoport,

az indolgyűrű nitrogénatomjához kapcsolódó formilcsoport vagy az indolgyűrű nitrogénatomjához kapcsolódó acetyl-csoport;

C jelentése hidrogénatom, az imidazolgyűrű nitrogénatomjához kapcsolódó benzilcsoport vagy dinitro-fenil-csoport;

D jelentése hidrogénatom vagy két rövidszénláncu alkilcsoport;

R<sub>7</sub> jelentése norleucin, leucin, az alfa-amino-csoporton metilezett leucin, fenil-alanin, metionin, norvalin, tirozin, triptofán vagy piridil-alanin;

E jelentése hidrogénatom, hidroxilcsoport vagy "dehydro", és

R<sub>10</sub> jelentése cisztein, aszparaginsav, glutaminsav, ornitin, 2,4-diamino-vaajsav, 2,3-diamino-propionsav vagy 2-amino-vaajsav;

azzal a megkötéssel, hogy ha

R<sub>4</sub> jelentése cisztein vagy 2-amino-vaajsav, akkor

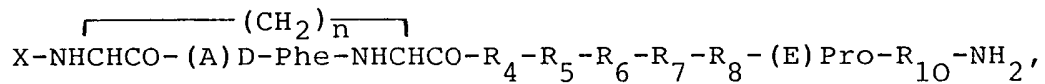
R<sub>10</sub> jelentése cisztein vagy 2-amino-vaajsav; továbbá, ha

R<sub>4</sub> jelentése aszparaginsav vagy glutaminsav, akkor

R<sub>10</sub> jelentése ornitin, 2,4-diamino-vaajsav vagy 2,3-diamino-propionsav;

- továbbá, ha
- $R_4$  jelentése ornitin, 2,4-diamino-vaajsav vagy 2,3-diamino-propionsav, akkor
- $R_{10}$  jelentése aszparaginsav vagy glutaminsav, továbbá azzal a megkötéssel, hogy ha
- $R_1$  jelentése D-cisztein vagy D-2-amino-vaajsav, akkor
- $R_3$  jelentése D-cisztein vagy D-2-amino-vaajsav; továbbá, ha
- $R_1$  jelentése D-aszparaginsav, D-glutaminsav, D-homoglutaminsav vagy D-homohomoglutaminsav, akkor
- $R_3$  jelentése D-lizin, D-homolizin, D-homohomolizin, D-ornitin, D-2,4-diamino-vaajsav vagy D-2,3-diamino-propionsav; továbbá, ha
- $R_1$  jelentése D-lizin, D-homolizin, D-homohomolizin, D-ornitin, D-2,4-diamino-vaajsav vagy D-2,3-diamino-propionsav, akkor
- $R_3$  jelentése D-aszparaginsav, D-glutaminsav, D-homoglutaminsav vagy D-homohomoglutaminsav.

Kivánatos lehet, hogy az 1-es és 3-as helyen levő aminosavak közötti, gyűrűt kialakító kötés hosszabb legyen, mint a két D-2-amino-vaajsav között létrehozott dikarba-kötés, ilyen esetekben előállíthatunk olyan peptideket, amelyeket az alábbi képlettel jellemezhetünk:



ahol

- X jelentése hidrogénatom, vagy 7 vagy ennél kevesebb szénatomot tartalmazó acilcsoport;
- A jelentése hidrogénatom, klóratom, fluoratom, nitrocsoport, metilcsoport, metoxicsoport, az alfa-szénatomhoz kapcsolódó metilcsoport és ezzel egyidejűleg a gyűrű 4-es helyzetéhez kapcsolódó klóratom, két klóratom, vagy pedig brómatom;
- n jelentése 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10 vagy 11;
- R<sub>4</sub> jelentése szerin, cisztein, aszparaginsav, glutaminsav, ornitin, 2,4-diamino-vaajsav, 2,3-diamino-propionsav vagy 2-amino-vaajsav;
- R<sub>5</sub> jelentése tirozin, glutaminsav, homoglutaminsav vagy homohomoglutaminsav;
- R<sub>6</sub> jelentése béta-D-naftil-alanin, (B)D-triptofán, (A')D-fenil-alanin, (D)D-homoarginin, D-tirozin, (C)D-hisztidin, D-piridil-alanin, (D)D-arginin, D-leucin, D-izoleucin, D-valin, D-norleucin, D-alanin, D-prolin, O-(tercier-butyl)-D-szerin vagy D-norvalin;
- A' jelentése azonos A fenti jelentésével, vagy aminocsoport, metil-amino-csoport vagy guanidinocsoport;

- B jelentése hidrogénatom, nitrocsoport, aminocsoport, metoxicsoport, fluoratom, klóratom, brómatom, metilcsoport, az indolgyűrű nitrogénatomjához kapcsolódó formilcsoport vagy az indolgyűrű nitrogénatomjához kapcsolódó acetylcsoport;
- C jelentése hidrogénatom, az imidazolgyűrű nitrogénatomjához kapcsolódó benzilcsoport vagy dinitro-fenil-csoport;
- D jelentése hidrogénatom vagy két rövidszénláncu alkilcsoport;
- R<sub>7</sub> jelentése norleucin, leucin, az alfa-amino-csoporton metilezett leucin, fenil-alanin, metionin, norvalin, tirozin, triptofán vagy piridilalanin;
- E jelentése hidrogénatom, hidroxilcsoport vagy "dehydro";
- R<sub>8</sub> jelentése (D)arginin, (D)homoarginin, lizin, homolizin vagy homohomolizin, és
- R<sub>10</sub> jelentése glicin, D-alanin, cisztein, aszparaginsav, glutaminsav, ornitin, 2,4-diamino-vajsav, 2,3-diamino-propionsav vagy 2-amino-vajsav;
- azzal a megkötéssel, hogy ha
- R<sub>4</sub> jelentése cisztein vagy 2-amino-vajsav, akkor ez az R<sub>10</sub> helyén álló aminosavhoz, mégpedig ciszteinhez vagy 2-amino-vajsavhoz kapcsolódik;

továbbá, ha

$R_4$  jelentése aszparaginsav vagy glutaminsav,  
akkor ez az  $R_{10}$  helyén álló aminosavhoz, mégpedig ornitin-  
hez, 2,4-diamino-vaajsavhoz vagy 2,3-diamino-propionsavhoz  
kapcsolódik; továbbá, ha

$R_4$  jelentése ornitin, 2,4-diamino-vaajsav vagy  
2,3-diamino-propionsav,

akkor ez az  $R_{10}$  helyén álló aminosavhoz, mégpedig aszpara-  
ginsavhoz vagy glutaminsavhoz kapcsolódik; továbbá, ha

$R_5$  jelentése glutaminsav, homoglutaminsav vagy  
homohomoglutaminsav,

akkor ez az  $R_8$  helyén álló aminosavhoz, mégpedig lizinhez,  
homolizinhez vagy homohomolizinhez kapcsolódik.

Ha az 1-es és 3-as helyen levő aminosav egyaránt 2-amino-  
-vaajsav, akkor

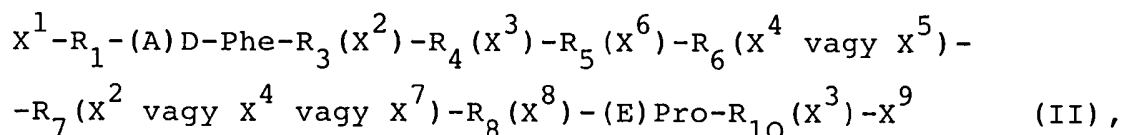
$n$  jelentése 4; de előnyösen 7, 8 vagy 9.

Az ilyen peptidek monociklusosak, biciklusosak  
vagy triciklusosak lehetnek.

A jelen találmány szerinti peptideket előál-  
lithatjuk a klasszikus, oldatban végrehajtott szintézissel  
vagy szilárd fázisu módszerrel, amely utóbbihoz egy klór-  
-metilezett gyantát, egy hidroximetilezett gyantát, egy  
metil-benzhidril-amin (MBHA) gyantát, egy benzhidril-amin  
(BHA) gyantát vagy bármely más, a peptidkémiaiában szokásosan

alkalmazott, alkalmas gyantát használhatunk. A szilárd fázisú szintézist úgy hajtjuk végre, hogy a láncban szereplő aminosavakat egyenként kapcsoljuk a már meglévő részhez, amint ezt a 4.211.693 számú amerikai szabadalmi leírás részletesen ismerteti. A szintézisben alkalmazott, különösen labilis oldallánccokat tartalmazó aminosavakhoz előnyösen az oldallánc védésére alkalmas, a peptidkémiaiban jólismert védőcsoportokat kapcsolhatunk, és adott esetben védőcsoportokat kapcsolhatunk más aminosavakhoz, például triptofánhoz is, mielőtt ezeket az aminosavakat hozzákapcsoljuk a gyantához kötött, már felépített láncrészlethez. Az ilyen szintézis során köztiterméként a gyantához kötött, és teljesen védett peptidhez jutunk.

Az előnyös biciklusos peptidek előállításához használható, és általában a jelen találmány szerint előállított kémiai köztitermékeket az alábbi (II) általános képlettel jellemezhetjük:



ahol

$X^1$  jelentése az alfa-amino-csoport valamely olyan típusú védőcsoportja, amelyről ismeretes, hogy a polipeptidek stepwise (az aminosavak egymás után való kapcsolásából álló) szintézise során használható, és abban az esetben, ha a kívánt

peptidben X jelentése egy adott acilcsoport, akkor ezt az acilcsoportot is használhatjuk védőcsoportként.

Az alfa-amino-csoport  $X^1$  védőcsoportjaként szerepelhetnek például

- 1) acil-típusú védőcsoportok, mint például a formil-csoport, trifluor-acetil-csoport, ftalilcsoport, p-toluol-szulfonil-csoport, benzoilcsoport, benzol-szulfonil-csoport, o-nitro-fenil-szulfenil-csoport, tritil-szulfenil-csoport, o-nitro-fenoxi-acetil-csoport, akrililcsoport, klór-acetil-csoport, acetilcsoport és gamma-klór-butiril-csoport;
- 2) aromás uretán-típusú védőcsoportok, például benziloxi-karbonil-csoport, fluorenil-metoxi-karbonil-csoport és helyettesített benziloxi-karbonil-csoportok, mint például p-klór-benziloxi-karbonil-csoport, p-nitro-benziloxi-karbonil-csoport, p-bróm-benziloxi-karbonil-csoport és a p-metoxi-benziloxi-karbonil-csoport;
- 3) alifás uretán-típusú védőcsoportok, mint például a terciér-butoxi-karbonil-csoport, diizopropil-metoxi-karbonil-csoport, izopropoxi-karbonil-csoport, etoxi-karbonil-csoport és az alliloxi-karbonil-csoport;
- 4) cikloalkil uretán-típusú védőcsoportok, mint például a ciklopentiloxi-karbonil-csoport, adamantiloxi-karbonil-csoport és a ciklohexiloxi-karbonil-csoport;

5) tiouretán-típusú védőcsoportok, mint például a fenil-tiokarbonil-csoport;

6) alkil-típusú védőcsoportok, mint például az allilcsoport, trifenil-metil-csoport (tritolcsoport) és a benzilcsoport;

7) trialkil-szilil-csoportok, mint például a trimetil-szilil-csoport.

Az alfa-amino-csoport védelmére előnyösen használható védőcsoport a tercier-butoxi-karbonil-csoport, különösen abban az esetben, ha X jelentése hidrogénatom.

$X^2$  jelentése hidrogénatom, vagy a triptofán indolgyűrűjének nitrogénatomja védelmére alkalmas védőcsoport, mint például benzoilcsoport.

$X^3$  jelentése a cisztein merkaptocsoportjának védelmére alkalmas védőcsoport, és előnyösen p-metoxi-benzil-csoport, p-metil-benzil-csoport, acetamido-metil-csoport, tritolcsoport vagy benzilcsoport; vagy az oldalláncban levő aminocsoport védelmére alkalmas védőcsoport, például 2-klór-benziloxi-karbonil-csoport vagy tercier-amiloxi-karbonil-csoport; vagy az oldalláncban levő karboxilcsoport védelmére alkalmas, előnyösen hidrazinnal lehasítható védőcsoport, mint például a benzil-észter-csoport; vagy egy közvetlen

kötés, ahol a gyűrűs forma karba-kötést vagy dikarba-kötést eredményez.

$x^4$  jelentése hidrogénatom vagy a tirozin fenolos hidroxilcsoportjának védelmére alkalmas védőcsoport, például tetrahidro-piranyl-csoport, terciér-butyl-csoport, tritilcsoport, benzilcsoport, benziloxi-karbonil-csoport, 2-bróm-benziloxi-karbonil-csoport vagy 2,6-diklór-benzil-csoport. Ezek közül előnyös a 2-bróm-benziloxi-karbonil-csoport.

$x^5$  jelentése az oldalláncban, például az arginin oldalláncában jelenlevő guanidinocsoport védelmére alkalmas védőcsoport, vagy pedig a hisztidin imidazolgyűrűjének védelmére alkalmas védőcsoport, például nitrocsoport, tozilcsoport, tritilcsoport, adamantiloxi-karbonil-csoport, benziloxi-karbonil-csoport vagy 2,4-dinitro-fenil-csoport, vagy pedig

$x^5$  jelentése lehet hidrogénatom is, vagyis az oldalláncban nem alkalmazunk védelést. Általában előnyös a tozilcsoport.

$x^6$  jelentése hidrogénatom vagy valamely, bázissal lehasítható védőcsoport az oldalláncban jelenlevő karboxilcsoport védelmére, előnyösen

fluorenil-metil-észter-csoport, vagy kovalens kötés.

$X^7$  jelentése hidrogénatom, vagy a metionin védésére alkalmas csoport, például oxigénatom.

$X^8$  jelentése valamely, bázissal lehasítható védőcsoport az oldalláncban szereplő aminocsoport védésére, előnyösen 9-fluorenil-metoxi-karbonil-csoport, vagy kovalens kötés.

$X^9$  jelentése lehet  $O-CH_2$ -/gyanta/,  $-NH$ -/gyanta/ általános képletű csoport, hidroxilcsoport, észtercsoport vagy aminocsoport.

Az oldalláncban levő csoportok védésére szolgáló  $X^2 - X^8$  védőcsoportok megválasztásánál azt kell figyelembe vennünk, hogy e védőcsoportoknak stabilaknak kell lenniük a szintézis egyes lépéseiben az alfa-amino-csoport védőcsoportjának (előnyösen a tercier-butoxi-karbonil-csoportnak) a lehasításához választott körülmények között az alkalmazott reagenssel szemben. A védőcsoportnak nem szabad lehasadnia a kapcsolási reakció körülményei között, de lehasíthatónak kell lennie a kívánt aminosav-szekvencia szintézisének befejezése után, mégpedig olyan körülmények között, amelyek nem károsítják a peptidláncot. Bizonyos vegyületek szintézise során kívánatos, hogy az  $X^6$  és az  $X^8$  védőcsoportokat az  $X^3$  védőcsoport lehasítása nélkül lehessen eltávolítani.

Ha  $X^9$  jelentése az  $-O-CH_2-$ /gyanta/ általános képletű csoport, akkor ez a hordozóként használt polisztirol gyanta számos funkciós csoportja közül az egyiknek az észterét jelenti. Ha az  $X^9$  jelentése  $-NH-$ /gyanta/ általános képletű csoport, akkor az  $R_{10}$  csoportot amidkötés kapcsolja a benzhidril-amin gyantához vagy a metil-benzhidril-amin-gyantához.

Ha például a végtermék képletében  $X$  jelentése acetylcsoporthoz, akkor e csoportot alkalmazhatjuk az  $X^1$  védőcsoportként az 1-es helyen szereplő D-naftil-alanin vagy bármely más aminosav alfa-amino-csoportján, e célból e csoportot bevezethetjük, mielőtt még ezen utolsó aminosavat hozzákapcsolnánk a peptidlánchoz. Előnyösen azonban úgy járunk el, hogy a reakciót a gyantához kötött peptiddel végezzük el (az alfa-amino-csoport védőcsoportjának lehasítása után, miközben azonban az oldalláncokban szereplő védőcsoportok megmaradnak), például diciklohexil-karbodiimid jelenlétében ecetsavat használva, vagy ecetsav-anhidriddel, vagy pedig bármely más, önmagában ismert, alkalmas reakcióval.

Az előnyös biciklusos peptidek előállításánál az egyik gyűrűzárást célszerűen a hat aminosavból álló peptid köztitermékkel végezzük el, még a gyantához kötött állapotban. A gyűrűzárás végrehajtása után fejezzük be a deka-peptid szintézisét. Ha triciklusos peptidet állítunk elő,

vagy pedig az 1-es és 3-as helyen levő aminosavak között amidkötést kívánunk létesíteni, akkor az 1-es és 3-as helyen levő aminosavak közötti gyűrűzárást a gyantához kötött állapotban hajtjuk végre. Ezután a védett peptidet valamely alkalmas módon lehasítjuk a gyantáról, például egy hidroximetilezett gyantáról vagy egy klór-metilezett gyantáról önmagában ismert módon, ammonolizis útján, és így a teljesen védett amid köztiterméket kapjuk, vagy eljárhatunk úgy is, hogy egy benzhidril-amin gyantáról fluor-hidrogénsavval hasítjuk le a peptidláncot, és ezzel egyidejűleg a védőcsoportokat is eltávolítjuk.

A gonadotropin releasing hormon peptid analógjának végső gyűrűzárási lépése természetesen attól függ, hogy milyen típusu kötést kívánunk létrehozni a 4-es és a 10-es helyen levő aminosavak között; ugyanakkor figyelembe kell venni az 5-ös és 8-as helyen levő aminosavak közötti amidkötést, valamint az 1-es és a 3-as helyen levő aminosavak között adott esetben kialakított, bármely kötést. Általában előnyös, ha a végső gyűrűzárási lépést, amelyben kialakítjuk a 4-es és 10-es helyen levő aminosav közötti kötést, a gyantáról való lehasítás után hajtjuk végre. Ilyen, diszulfid formájú kötést úgy hozhatunk létre, hogy oxidációt végzünk egy ferricianid-oldattal, mégpedig előnyösen a Rivier és munkatársai által leírt módon /Biopolymers, 17, 1927 - 1938. (1978)/, vagy az oxidációt levegővel végezzük, vagy bármely más, ismert eljárással.

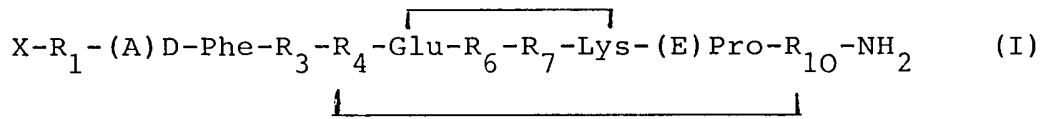
Ha a gyűrűzárást a 4-es helyen levő aminosav oldalláncában levő aminocsoport és a 10-es helyen levő aminosav oldalláncában levő karboxilcsoport között, amidkötés létesítése révén kívánjuk elvégezni (ez az előnyös változat), vagy fordítva, akkor előnyösen a védett peptidet egy metil-benzhidril-amin gyantán vagy benzhidril-amin gyantán állítjuk elő, majd az oldalláncban levő karbonsav benzil-észteréből hidrazidot készítünk, miközben a peptid még a gyantához kötött állapotban van. Ezt úgy valósíthatjuk meg, hogy az amidkötés formájú hidban résztvevő aminosav oldalláncának karboxilcsoportját benzil-észter formájában védjük. E szelektív hidrazidos aktiválást követően az oldalláncokban jelenlevő többi védőcsoportot lehasítjuk, majd a peptidet lehasítjuk a gyantáról is. Ezt követően a gyűrűzárást úgy hajtjuk végre, hogy a peptidet izoamil-nitrittel és egy erős savval, például sósavval kezeljük, így az azidot állítjuk elő, amely semlegesítés után reakcióba lép a 10-es helyen levő aminosav oldalláncában levő szabad aminocsoporttal, és így kialakul az amidkötés.

Azon gonadotropin releasing hormon analógokat, amelyekben a 4-es és 10-es helyen a ciszteinek helyett ezek olyan, módosított változatai szerepelnek, amelyek révén a diszulfid-kötés helyett metilén-csoportokon keresztül megvalósuló kötés szerepel, dikarba-származékoknak nevezzük.

Ha csak az egyik merkaptocsoport helyén szerepel metilén-csoport, akkor ez egy karba-származék, ilyen például a /karba<sup>4</sup>, Cys<sup>10</sup>/-(gonadotropin releasing hormon analóg). Általában, a peptidek ilyen általános gyűrűzárási módszereire nézve tartalmaz kitanítást és példákat a 4.115.554 számú (1978. szeptember 19.); a 4.133.805 számú (1979. január 9.); a 4.140.767 számú (1979. február 20.); a 4.161.521 számú (1979. július 17.); a 4.191.754 számú (1980. március 4.); a 4.238.481 számú (1980. december 9.); a 4.244.947 számú (1981. január 13.); és a 4.261.885 számú (1981. április 14.) amerikai szabadalmi leírások.

A végső peptidet tekintve, azon a helyen, amelyen egyébként cisztein szerepelne, a karba- és dikarba-peptidek esetében alfa-amino-vaajsav áll. Ha ilyen karba- vagy karba-kén-kötéseket vagy ennél hosszabb szénláncot tartalmazó dikarba-kötéseket tartalmazó peptideket állítunk elő, akkor a 4.161.521 számú és a 4.703.106 számú amerikai szabadalmi leírások bármelyikében ismertetett eljárásokat alkalmazhatjuk (e leírásokra itt utalunk); bármelyik esetben a (II) általános képletű köztitermékben  $X^3$  jelentése a másik aminosavhoz vezető közvetlen kötés.

Igy például a találmány tárgya továbbá eljárás bizonyos előnyös, biciklusos peptidek és ezek nem-toxikus sói előállítására, amely peptideket az



általános képlettel jellemezhetjük, ahol

- X jelentése hidrogénatom, vagy 7 vagy ennél kevesebb szénatomot tartalmazó acilcsoport;
- R<sub>1</sub> jelentése dehidro-prolin, D-piroglutaminsav, (A)D-fenil-alanin, (B)D-triptofán, prolin vagy béta-D-naftil-alanin;
- A jelentése hidrogénatom, klóratom, fluoratom, nitrocsoport, metilcsoport, metoxicsoport, az alfa-szénatomhoz kapcsolódó metilcsoport és ezzel egyidejűleg a fenilgyűrű 4-es helyzetéhez kapcsolódó klóratom, két klóratom, vagy pedig brómatom;
- B jelentése hidrogénatom, nitrocsoport, aminocsoport, metoxicsoport, fluoratom, klóratom, brómatom, metilcsoport, az indolgyűrű nitrogénatomjához kapcsolódó formilcsoport, vagy az indolgyűrű nitrogénatomjához kapcsolódó acetilcsoport;
- R<sub>3</sub> jelentése D-piridil-alanin, béta-D-naftil-alanin vagy (B)D-triptofán;
- R<sub>4</sub> jelentése cisztein, aszparaginsav, glutaminsav, ornitin, 2,4-diamino-vaajsav, 2,3-diamino-propionsav vagy 2-amino-vaajsav;

- R<sub>6</sub> jelentése béta-D-naftil-alanin, (B)D-triptofán, (A')D-fenil-alanin, (D)D-homoarginin, D-tirozin, (C)D-hisztidin, D-piridil-alanin, (D)D-arginin, D-leucin, D-izoleucin, D-valin, D-norleucin, D-alanin, D-prolin, O-(tercier-butyl)-D-szerin vagy D-norvalin;
- A' jelentése azonos A fenti jelentésével, vagy aminocsoport, metil-amino-csoport vagy guanidinocsoport;
- C jelentése hidrogénatom, az imidazolgyűrű nitrogénatomjához kapcsolódó benzilcsoport vagy dinitro-fenil-csoport;
- D jelentése hidrogénatom vagy két rövidszénláncu alkilcsoport;
- R<sub>7</sub> jelentése norleucin, leucin, az alfa-amino-csoporton metilezett leucin, fenil-alanin, metionin, norvalin, tirozin, triptofán vagy piridil-alanin;
- E jelentése hidrogénatom, hidroxilcsoport vagy "dehydro"; és
- R<sub>10</sub> jelentése cisztein, aszparaginsav, glutaminsav, ornitin, 2,4-diamino-vaajsav, 2,3-diamino-propionsav vagy 2-amino-vaajsav;
- azzal a megkötéssel, hogy ha
- R<sub>4</sub> jelentése cisztein vagy 2-amino-vaajsav, akkor
- R<sub>10</sub> jelentése cisztein vagy 2-amino-vaajsav; továbbá, ha

- $R_4$  jelentése aszparaginsav vagy glutaminsav, akkor
- $R_{10}$  jelentése ornitin, 2,4-diamino-vajsav vagy 2,3-diamino-propionsav; és ha
- $R_4$  jelentése ornitin, 2,4-diamino-vajsav vagy 2,3-diamino-propionsav, akkor
- $R_{10}$  jelentése aszparaginsav vagy glutaminsav; amely eljárás abban áll, hogy
- a) először előállítunk egy
- $X^1-R_1-(A)D-Phe-R_3(X^2)-R_4(X^3)-Glu(X^6)-R_6(X^4 \text{ vagy } X^5)-R_7(X^2 \text{ vagy } X^4 \text{ vagy } X^7)-Lys(X^8)-(E)Pro-R_{10}(X^3)-X^9$
- általános képletű vegyületet, ahol
- $X^1$  jelentése hidrogénatom vagy az alfa-amino-csoport védelésére alkalmas védőcsoport;
- $X^2$  jelentése hidrogénatom vagy az indol nitrogénatomjának védelésére alkalmas védőcsoport;
- $X^3$  jelentése egy közvetlen kötés, hidrogénatom vagy a cisztein védőcsoportja, vagy pedig az oldalláncban levő aminocsoport vagy karboxilcsoport védelésére alkalmas védőcsoport;
- $X^4$  jelentése hidrogénatom vagy a tirozin fenolos hidroxilcsoportjának védelésére alkalmas védőcsoport;
- $X^5$  jelentése vagy hidrogénatom vagy az oldalláncban

levő guanidinocsoport vagy imidazolgyűrű védésére alkalmas védőcsoport;

$x^6$  jelentése az oldalláncban levő karboxilcsoport védésére alkalmas és bázissal lehasítható védőcsoport vagy egy közvetlen kötés;

$x^7$  jelentése a metionin védésére alkalmas védőcsoport;

$x^8$  jelentése az oldalláncban levő aminocsoport védésére alkalmas és bázissal lehasítható védőcsoport, vagy egy közvetlen kötés; és

$x^9$  jelentése  $O-CH_2-$ (gyanta) vagy  $-NH-$ (gyanta) általános képletű csoport, vagy észtercsoport vagy amidcsoport;

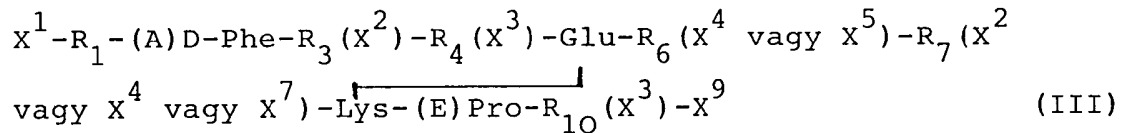
ezután

b) az  $x^1 - x^8$  csoportok közül egyet vagy többet eltávolítunk, és/vagy a peptidláncot az adott esetben az  $x^9$  csoportban jelenlevő gyantáról mint hordozóról lehasítjuk;

c) adott esetben gyűrűzárás útján kötést hozunk létre az  $R_4$  és az  $R_{10}$  helyén levő aminosavak között, ha ez már korábban nem jött létre, és kívánt esetben

d) a kapott peptidet annak nem-toxikus sójává alakítjuk.

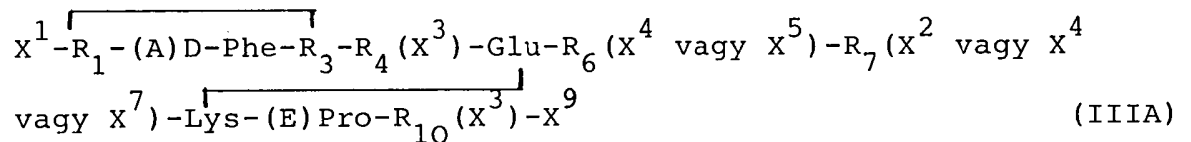
Bizonyos előnyös biciklusos peptidek előnyös köztitermékei az



általános képletű vegyületek, ahol

a (II) általános képletben szereplő  $X^6$  és  $X^8$  helyén közvetlen amidkötés van jelen.

Bizonyos előnyös triciklusos peptidek előnyös köztitermékei az



általános képletű vegyületek.

A peptidek tisztítását karboxi-metil-cellulóz oszlopon végzett ioncserélő kromatográfiával, majd ezt követően Sephadex G-25 oszlopon végzett, megoszlásos kromatográfiával (eluens: n-butanol és 0,1 normál ecetsav-oldat 1 : 1 térfogatarányu elegye), hajthatjuk végre; előnyösen azonban a tisztítást nagyfelbontású folyadék-kromatográfiás módszerrel végezzük, amint ez a peptidkémiaiban szokásos, és amint ezt különösen J. Rivier és munkatársai leírták /J. Chromatography, 288, 303 - 328. (1984)/.

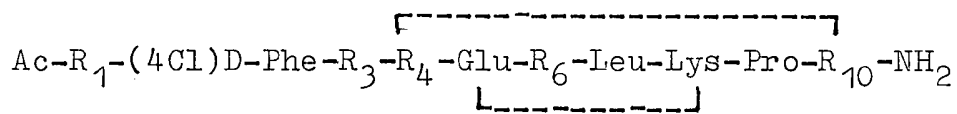
A jelen találmány szerinti peptidek már 100  $\mu$ g/testtömegkilogramm alatti dózisokban is kifejtik

hatásukat, és ha nőstény patkányoknak a proösztrusz napján (az ovulációt megelőző nap) déltájban beadjuk azokat, akkor meggátolják az ovulációt. Ha hosszabb időn át vissza akarjuk szorítani az ovulációt, akkor testtömegkilogrammonként körülbelül 0,1 mg és körülbelül 2,5 mg közötti dózisokat kell használnunk. A jelen találmány szerinti antagonisták olyan értelemben is hatásosak, hogy him emlősöknek rendszeresen adagolva leállítják a spermiumok képződését, és így fogamzásgátló szerekként használhatók. Miután e vegyületek csökkentik a tesztoszteron szintjét (ami egy nem-kivánatos mellékhatás a normális, szexuálisan aktív hímeknél), célszerű lehet a gonadotropin releasing hormon antagonistával együtt helyettesítő dózisban tesztoszteront is adagolni. A jelen találmány szerinti antagonistákat arra is használhatjuk, hogy más, például a fentiekben megadott célokból szabályozzuk a gonadotropinok és a nemi szteroid hormonok termelését.

A találmány szerinti peptidek előállítását a továbbiakban - a találmány oltalmi körének szűkítése nélkül - példákkal szemléltetjük.

1. példa

A fentiekben ismertetett szilárd fázisú szintézissel állítjuk elő az 1. táblázatban megadott,

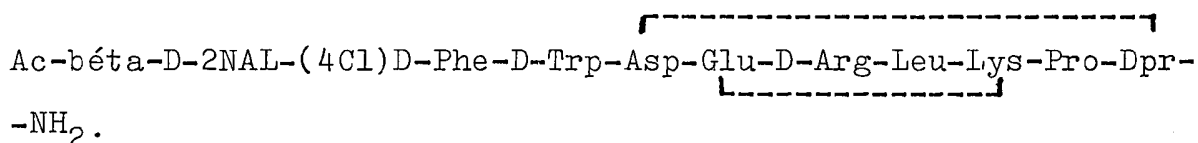


általános képletű peptideket.

1. T Á B L Á Z A T

Peptid száma	R <sub>1</sub>	R <sub>3</sub>	R <sub>4</sub>	R <sub>6</sub>	R <sub>10</sub>
1	β-D-2NAL	D-Trp	Asp	D-Arg	Dpr
2	"	"	Dpr	"	Asp
3	"	D-3PAL	Asp	β-D-2NAL	Dpr
4	dehydroPro	D-Trp	Cys	"	Cys
5	β-D-2NAL	"	"	"	"
6	"	D-3PAL	Dpr	D-3PAL	Asp
7	"	"	Orn	"	Asp
8	dehydroPro	β-D-2NAL	Asp	β-D-2NAL	Dpr
9	"	D-3PAL	"	D-Tyr	Dpr
10	B-D-2NAL	D-Trp	Glu	D-2PAL	Dpr
11	"	"	Dbu	(4gua)D-Phe	Asp
12	"	"	"	"	"
13	dehydroPro	"	"	D-Ala	Glu
14	D-Trp	D-4PAL	"	D-Phe	"
15	D-pGlu	D-Trp	Dpr	D-Ile	"
16	D-Phe	D-2PAL	"	D-Val	Asp

Szemléltetés céljából az alábbiakban leírunk egy jellemző szilárd fázisu szintézist, mégpedig a fenti táblázatban szereplő 1. számú peptid, vagyis a (ciklo 4-10, 5-8) /Ac-béta-D-2NAL<sup>1</sup>, (4Cl)D-Phe<sup>2</sup>, D-Trp<sup>3</sup>, Asp<sup>4</sup>, Glu<sup>5</sup>, D-Arg<sup>6</sup>, Lys<sup>8</sup>, Dpr<sup>10</sup>/-(gonadotropin releasing hormon analóg) szintézisét. E peptid képlete az alábbi:



Hasonló módon eljárva állítjuk elő és tisztítjuk meg a többi peptidet is.

A szintézishez 5 g benzhidril-amin gyantát használunk, és a tercier-butoxi-karbonil-csoporttal védett 2,3-diamino-propionsavat úgy kapcsoljuk a gyantához, hogy a reakciót diklór-metánban, 2 órán át a tercier-butoxi-karbonil-származék háromszoros feleslegével, aktiválószerként diciklohexil-karbodiimidet használva végezzük. A 2,3-diamino-propionsav amidkötéssel kapcsolódik a benzhidril-amin gyantához.

Körülbelül 5 g gyantából kiindulva, és egy automatikus berendezést használva, az egyes aminosavak kapcsolását követően az elegy kimosását, a védőcsoport lehasítását és a következő aminosav kapcsolását az alábbi műveleti rend szerint végezzük:

Művelet száma	Reagensek és műveletek	Keverési idő, perc
1.	mosás 80 ml diklór-metánnal (kétszer)	3
2.	mosás 30 ml metanollal (kétszer)	3
3.	mosás 80 ml diklór-metánnal (háromszor)	3
4.	50 % trifluor-ecetsav plusz 5 % 1,2- -etán-ditiol diklór-metánban, az elegy térfogata: 70 ml (kétszer)	10
5.	izopropanol + 1 % etán-ditiol, mosás 80 ml eleggyel (kétszer)	3
6.	12,5 % trietil-amin diklór-metánban, térfogata: 70 ml (kétszer)	5
7.	mosás 40 ml metanollal (kétszer)	2
8.	mosás 80 ml diklór-metánnal (háromszor)	3
9.	10 mmól, tercier-butoxi-karbonil-cso- <u>30 ml dimetil-formamidban</u> porttal védett aminosav/vagy 30 ml di- klór-metánban, az adott, védett amino- sav oldhatóságától függően (egyszer), plusz 10 mmól diciklohexil-karbodiimid diklór-metánban	30-300
10.	mosás 40 ml metanollal (kétszer)	3
11.	12,5 % trietil-amin diklór-metánban, az elegy térfogata: 70 ml (egyszer)	3
12.	mosás 30 ml metanollal (kétszer)	3
13.	mosás 80 ml diklór-metánnal (kétszer)	3

Ha a szintézist nem az automatikus berendezéssel, hanem kézzel végezzük, akkor a 13. művelet után mintát veszünk a ninhidrin teszt elvégzéséhez. Ha a teszt negatív, akkor az első művelettel folytatva kapcsoljuk a következő aminosavat; ha a teszt pozitív vagy enyhén pozitív, akkor visszatérünk a 9. művelethez, és a 9 - 13. műveletét megismételjük.

Az első aminosavnak a gyantához való hozzákötés után a fenti műveleti rend szerint kapcsoljuk a már meglevő részhez a jelen találmány szerinti peptidet alkotó összes aminosavat. A teljes szintézis során használt, valamennyi aminosavat az alfa-amino-csoporton tercier-butoxi-karbonil-csoporttal védjük. Az alfa-amino-csoportján tercier-butoxi-karbonil-csoporttal védett béta-D-(2-naftil)-alanint önmagában ismert módon, például az 1980. november 18-án megadott, 4,234,571 számú amerikai szabadalmi leírásban részletesen ismertetett módon állítjuk elő. A D-arginin oldalláncát tozilcsoporttal védjük. A lizin oldalláncában levő aminocsoportot fluorenil-metoxi-karbonil-csoporttal védjük, a 2,3-diamino-propionsav oldalláncának aminocsoportja védelmére benziloxi-karbonil-csoportot használunk. A glutaminsav oldalláncának karboxilcsoportját fluorenil-metil-észter formájában védjük, míg az aszparaginsav oldalláncában levő karboxilcsoport védelmére benzil-észter-csoportot használunk. Utolsó aminosavként az alfa-amino-csoportján tercier-butoxi-karbonil-

-csoporttal védett béta-D-(2-naftil)-alanint kapcsoljuk a már meglevő részhez. Az alfa-amino-csoportján tercier-butoxi-karbonil-csoporttal, és a guanidinocsoportján tozil-csoporttal védett D-arginint, amely diklór-metánban rosszul oldódik, dimetil-formamid és diklór-metán elegyében kapcsoljuk.

Miután a metil-benzhidril-amin gyantán kiépitjük a Boc-Glu(OFm)-D-Arg(Tos)-Leu-Lys(Fmoc)-Pro-Dpr(Z)-MBHA gyanta

képletű hexapeptid köztiterméket, lehasítjuk a glutaminsav és a lizin védőcsoportját, valamint elvégezzük az első gyűrűzárást. E célból a gyantához kötött peptidet 1 órán át, körülbelül 22°C hőmérsékleten 20 térfogat% piperidint tartalmazó dimetil-formamiddal (térfogata: 50 ml) kezeljük, majd kimossuk. Ezután a gyantához kötött peptidből, 2,2 g (körülbelül 5 milliegyenérték) benzotriazolil-N-oxi-trisz-(dimetil-amino)-foszfónium-hexafluorofoszfátból és 15 milliegyenérték diizopropil-etil-aminból szuszpenziót készítünk, és az elegyet 2 órán át szobahőmérsékleten keverjük. Így zárjuk be a glutaminsav és a lizin oldalláncai között a gyűrűt. Ezt követően a gyantához kötött peptidet kiszűrjük, és dimetil-formamiddal, metanollal, diklór-metánal és ismét metanollal mossuk. Utána lehasítjuk a védőcsoportként használt tercier-butoxi-karbonil-csoportot a gyűrűs hexapeptidről, és a decapeptid szintézisét befejezzük. Ily módon a

Boc-béta-D-2NAL-(4Cl)D-Phe-D-Trp-Asp(OBzl)-

┌-----┐  
-Glu-D-Arg(Tos)-Leu-Lys-Pro-Dpr(Z)-MBHA gyanta

képletű köztitermékhez jutunk.

Az N-terminálison levő alfa-amino-csoportról a védőcsoportot trifluor-ecetsav segítségével lehasítjuk, majd diklór-metánban, ecetsav-anhidrid nagy feleslegével acetilezést végzünk. Ezután a gyantához kötött, védett peptid körülbelül 4 g tömegű mennyiségét szobahőmérsékleten 40 ml dimetil-formamidban szuszpendáljuk, és folyamatos keverés közben hozzáadunk 1 ml (30 - 40-szeres felesleg) vizmentes hidrazint. A reakcióelegybe nitrogént vezetünk, majd az elegyet 48 órán át zárt edényben keverjük. Ezt követően a gyantát kiszűrjük, dimetil-formamiddal, metanollal, diklór-metánnal, és végül ismét metanollal moszuk, majd megszáritjuk.

A gyantához kötött védett peptid-hidrazid körülbelül 4 g tömegű részletét 0°C hőmérsékleten 60 percig, 1,5 ml anizol mint kationmegkötő szer jelenlétében 10 - 15 ml desztillált fluor-hidrogénsavval kezeljük, így eltávolítjuk a még meglevő védőcsoportokat, és lehasítjuk a peptidet a gyantáról. A fluor-hidrogénsavat nagymértékben csökkentett nyomáson ledesztilláljuk, és a peptidet vizmentes dietil-éter segítségével kicsapjuk. A szilárd anyagot kiszűrjük, majd feloldjuk acetonitril és víz 1 : 1 térfogatarányu, 50 ml térfogatu elegyében, és az oldatot

fagyasztva szárítjuk. Ezt a terméket fordított fázisu nagyfelbontású folyadék-kromatográfiával tisztítjuk, és a végső gyűrűzárást ezután végezzük el.

1000 mg peptid-hidrazidot feloldunk 15 ml dimetil-formamidban, az oldatot  $-25^{\circ}\text{C}$  hőmérsékletre hűtjük, és nitrogéngázt vezetünk át rajta. Hozzáadunk 0,56 ml (körülbelül 2,25 mmól) 4 normál dioxános sósav-oldatot, és végül 10 perc alatt hozzáadunk 105  $\mu\text{l}$  (körülbelül 0,78 mmól) izoamil-nitritet. Ezután a reakcióelegyet 3 órán át  $-25^{\circ}\text{C}$  hőmérsékleten keverjük. Az azid oldatát 1000 ml  $-25^{\circ}\text{C}$  hőmérsékletre előre lehűtött dimetil-formamiddal hígítjuk, majd alkalmas méretű részletekben mindaddig adagolunk hozzá N,N-diizopropil-etil-amint, míg az elegy pH-ja a 7,8-at el nem éri. A pH-t többször ellenőrizzük, és ismételten beállítjuk.

A kapott oldatot 3 napig  $4^{\circ}\text{C}$  hőmérsékleten tároljuk, majd az oldószert nagymértékben csökkentett nyomáson ledesztilláljuk. A maradékot dietil-éter jelenlétében eldörzsöljük. A kapott szilárd anyagot kiszűrjük, és csökkentett nyomáson megszáritjuk.

A peptid végső tisztítását két, fordított fázisu hordozón végezzük, nagyfelbontású folyadék-kromatográfiás szétválasztással végezzük el. Az első kromatografálás során előnyösen trietil-ammónium-foszfát puffer-rendszert használunk, míg a másodikhoz trifluor-ecetsavas puffer-rendszert alkalmazunk, amint ezt a J. Chromatography fentiekben idézett közleménye részletesen leírja.

A kapott peptid a különféle oldószer elegyekkel végzett vékonyréteg-kromatográfiás vizsgálat, valamint a vizes trietil-ammónium-foszfát-oldat és acetonitril elegyével végzett, fordított fázisu nagyfelbontású folyadék-kromatográfiás vizsgálat alapján egységesnek tekinthető.

A kapott, tisztított peptid aminosav-analízise összhangban van a felírt szerkezeti képlettel, és a láncban szereplő valamennyi aminosavra nézve lényegében egész számú értékeket ad. Az 1. számú peptid fotoelektromos polariméterrel mért optikai forgatóképessége:

$$[\alpha]_D^{22} = -49,5^\circ \pm 1 \quad (c = 1, 50\% \text{-os ecetsav}).$$

Ha egy peptidben, mint például a 4. számú peptidben is, egy második gyűrűt képező kötés, például a 4-es és 10-es helyen levő aminosavak oldallánca között kialakított diszulfid kötés <sup>van,</sup> akkor e kötést a levegővel végzett oxidáció segítségével azután végezzük el, hogy a gyűrűs dekapeptidet lehasítottuk a gyantáról. Erre alkalmas eljárás például a következő: elkészítjük a Boc-dehidro-  
Pro-(4Cl)D-Phe-D-Trp-Cys(MeOBzl) -Glu-béta-D-2NAL-Leu-Lys-Pro-  
-Cys(MeOBzl)-MBHA gyanta  
 általános képletű köztiterméket. E köztitermék alfa-amino-csoportjáról lehasítjuk a védőcsoportot, és a kapott terméket a fent leírt módon acetilezzük. Ezután a cisztein oldallancának védőcsoportját és a peptidnek a gyantáról való lehasítását nagyon egyszerűen elvégezhetjük, mégpedig

0°C hőmérsékleten, fluor-hidrogénsav segítségével, a savas kezelés előtt az elegyhez kationmegkötő szerként anizolt adunk. A fluor-hidrogénsavat csökkentett nyomáson ledesztilláljuk, a gyantát 50 %-os ecetsavval kivonatoljuk, és a kimosott peptidet körülbelül 24 órán át körülbelül 22°C hőmérsékleten a levegő segítségével oxidáljuk. Így módon minden molekulában kialakítjuk a cisztein-egységek között a diszulfidkötést. Végül egy fagyasztva-száritási művelettel jutunk a porszerű, nyers peptidhez.

E peptideket in vivo, valamint in vitro körülmények között is vizsgáljuk, mégpedig a vizsgálat előtt 4 napig tenyésztett, disszociált (szétválasztott) patkány agyalapi mirigy sejteken. A peptidek alkalmazásának válaszreakciójaként kiválasztott luteinizáló hormon szintjét a patkány luteinizáló hormonra nézve specifikus radioimmunoassay módszerrel (radioaktív anyagot alkalmazó, immunológiai meghatározással) mérjük. A kontrollsejteket tartalmazó edényekbe meghatározott mennyiségű, mégpedig 3 nanomól gonadotropin releasing hormont teszünk; a kísérleti edényekbe ugyancsak bemérünk 3 nanomól gonadotropin releasing hormont, valamint vagy a jelenleg összehasonlító vegyületként használt antagonistát, vagyis az /Ac-dehydroPro<sup>1</sup>, (4F)D-Phe<sup>2</sup>, D-Trp<sup>3,6</sup>/-(gonadotropin releasing hormon analóg) meghatározott mennyiségét, vagy a vizsgálandó peptidet, 0,01 nanomól és 10 nanomól közötti koncentrációban. Összehasonlítjuk a csak gonadotropin releasing hormonnal kezelt mintákban

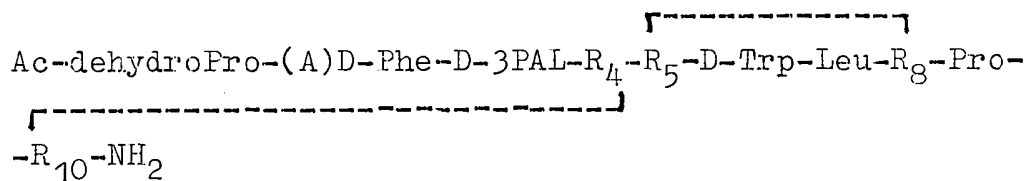
kiválasztott luteinizáló hormon mennyiségét a peptiddel és a gonadotropin releasing hormonnal kezelt mintákban kiválasztott mennyiségével. Továbbá meghatározzuk azt is, milyen mértékben képes a vizsgált peptid a 3 nanomól gonadotropin releasing hormon által felszabadított luteinizáló hormon mennyiségét csökkenteni, a jelenleg összehasonlító vegyületként használt, fenti peptidhez viszonyítva.

Az *in vivo* kísérletek során azt vizsgáljuk, mennyire hatékonyan gátolják e peptidek nőstény patkányok ovulációját. E vizsgálatban meghatározott számu (például 5 - 10), 225 - 250 g testtömegű felnőtt nőstény Sprague-Dawley patkánynak a proösztروز napján (az ovulációt megelőző napon), körülbelül délben injekció útján beadjuk a peptid mikrogrammokban meghatározott dózisát, mégpedig vagy fiziológiás só-oldatban, vagy bakteriosztatikus vízben. Egy másik, ugyancsak nőstény patkányokból álló csoportot kontrollként használunk, ezeknek nem adunk peptidet. Valamennyi kontrollként használt nőstény patkány ovulál a proösztروز estéjén; feljegyezzük a kezelt patkányok közül ovuláló állatok számát. Az 1. számu peptidet úgy tekinthetjük, hogy igen kis dózisban, szignifikáns módon gátolja a nőstény patkányok ovulációját; körülbelül 500  $\mu\text{g}/\text{testtömegkilogramm}$  dózisban hatása teljes, és már 100  $\mu\text{g}/\text{kg}$  szinten kifejtheti hatását.

Az 1. táblázatban felsorolt összes peptidet úgy tekinthetjük, hogy alacsony koncentrációkban hatékonyan gátolják a gonadotropin releasing hormon által kiváltott luteinizáló hormon-kiválasztást, és valamennyit hatékonynak tekinthetjük olyan értelemben, hogy alacsony dózisban gátolják a nőstény emlősök ovulációját.

2. példa  
-----

A fentiekben ismertetett szilárd fázisu szintézissel állítjuk elő a 2. táblázatban megadott,



általános képletű peptideket.

2. T Á B L Á Z A T

---

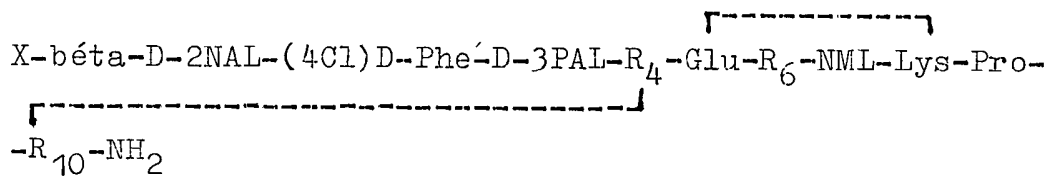
Peptid száma	A	R <sub>4</sub>	R <sub>5</sub>	R <sub>8</sub>	R <sub>10</sub>
17	4F	Cys	Glu	Lys	Cys
18	"	Dpr	"	Hly	Asp
19	4Cl	Orn	"	Hhl	"
20	"	Dbu	Hgl	Lys	Glu
21	"	"	"	Hly	Asp
22	"	Dpr	"	Hhl	"
23	4Br	"	Hhg	"	Glu
24	"	Dbu	"	Lys	"
25	H	"	"	Hly	Asp
26	4NO <sub>2</sub>	"	Glu	"	"
27	"	Asp	"	Hhl	Dpr
28	2,4Cl <sub>2</sub>	"	"	"	Dbu
29	"	Glu	Hgl	"	"
30	C <sup>a</sup> Me/4Cl	Abu	"	Lys	Cys
31	3,4Cl <sub>2</sub>	Cys	"	Hhl	Abu

A 2. táblázatban megadott peptidek in vitro és/vagy in vivo vizsgálata alapján úgy tekinthetjük, hogy e peptidek in vitro körülmények között alacsony koncentrációban gátolják a gonadotropin releasing hormon által kiváltott luteinizáló hormon-kiválasztást. Valamennyi peptid

kis dózisban hatékonyan gátolja a nőstény emlősök ovulációját.

3. példa

A fentiekben ismertetett szilárd fázisu szintézissel állitjuk elő a 3. táblázatban megadott,



általános képletü peptideket.

3. T Á B L Á Z A T

Peptid száma	X	R <sub>4</sub>	R <sub>6</sub>	R <sub>10</sub>
32	Ac	Cys	D-Arg	Abu
33	Acr	Abu	D-Tyr	Abu
34	For	Asp	"	Dpr
35	Bz	"	D-Arg	Dbu
36	Ac	Dpr	D-His	Asp
37	Vac	"	(Et <sub>2</sub> )D-Har	Glu
38	Acr	Orn	(4gua)D-Phe	"
39	Ac	Dbu	D-3PAL	Asp
40	Acr	Cys	D-His	Cys
41	Ac	Orn	(Et <sub>2</sub> )D-Arg	Asp
42	"	Dpr	D-2PAL	"
43	Vac	"	(4NH <sub>2</sub> )D-Phe	Glu
44	Bz	Glu	D-Har	Dpr

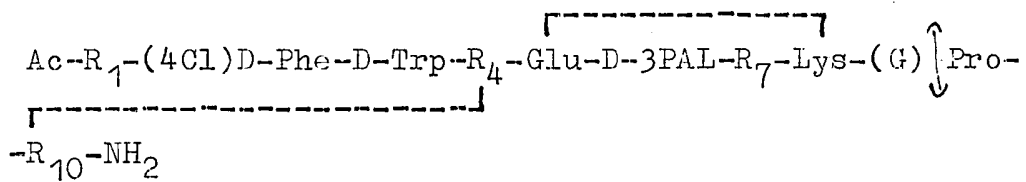
A 32. és 33. számú peptidet a 4,161,521 számú amerikai szabadalmi leírásban foglalt általános kitartás alkalmazásával állítjuk elő.

A 3. táblázatban megadott peptidek in vitro és/vagy in vivo vizsgálata alapján úgy tekinthetjük, hogy e peptidek in vitro körülmények között alacsony koncentrációban gátolják a gonadotropin releasing hormon által kiváltott luteinizáló hormon-kiválasztást. Valamennyi peptid kis dózisban hatékonyan gátolja a nőstény emlősök ovulációját.

4. példa

-----

A fentiekben ismertetett szilárd fázisu szintézissel állítjuk elő a 4. táblázatban megadott,



általános képletű peptideket.

4. T Á B L Á Z A T

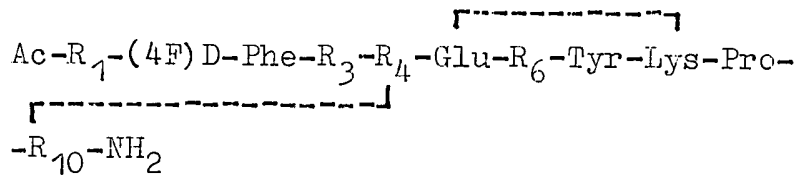
Peptid száma	R <sub>1</sub>	R <sub>4</sub>	R <sub>7</sub>	G	R <sub>10</sub>
45	$\beta$ -D-2NAL	Asp	Nle	H	Dpr
46	(1Ac)D-Trp	"	Met	OH	"
47	(6Br)D-Trp	"	Tyr	H	Dbu
48	(5F)D-Trp	"	Nle	dehydro	"
49	(6NO <sub>2</sub> )D-Trp	"	Met	"	Dbu
50	(5Cl)D-Trp	"	Tyr	H	Dpr
51	(4Cl)D-Phe	"	Phe	"	Orn
52	(4F)D-Phe	"	4F-D-Phe	"	"
53	(2,4Cl <sub>2</sub> )D-Phe	Glu	NML	OH	"
54	dehydroPro	"	Nle	"	Dbu
55	$\beta$ -D-2NAL	"	Trp	H	"
56	(6OCH <sub>3</sub> )D-Trp	"	Leu	"	Dpr
57	(5NH <sub>2</sub> )D-Trp	"	Nva	"	"
58	(4NO <sub>2</sub> )D-Phe	"	NML	"	"
59	dehydroPro	"	Tyr	OH	"

A 4. táblázatban felsorolt összes peptidet úgy tekinthetjük, hogy in vitro körülmények között alacsony koncentrációban hatékonyan gátolják a gonadotropin releasing hormon által kiváltott luteinizáló hormon-kiválasztást.

Valamennyi peptidet úgy tekinthetjük, hogy kis dózisban hatékonyan gátolja a nőstény emlősök ovulációját.

5. példa  
-----

A fentiekben ismertetett szilárd fázisu szintézissel állitjuk elő az 5. táblázatban megadott,



általános képletü peptideket.

## 5. T Á B L Á Z A T

Peptid száma	R <sub>1</sub>	R <sub>3</sub>	R <sub>4</sub>	R <sub>6</sub>	R <sub>10</sub>
60	$\beta$ -D-2NAL	(6NO <sub>2</sub> ) D-Trp	Cys	D-Arg	Cys
61	"	(5CH <sub>3</sub> ) D-Trp	"	(DNP) D-His	Abu
62	"	(5OCH <sub>3</sub> ) D-Trp	"	(4gua) D-Phe	Cys
63	dehydroPro	$\beta$ -D-2NAL	"	(6NO <sub>2</sub> ) D-Trp	"
64	"	$\beta$ -D-1NAL	"	D-Val	Abu
65	$\beta$ -D-2NAL	(1For) D-Trp	"	(Et <sub>2</sub> ) D-Arg	"
66	"	(5F) D-Trp	Abu	(5NH <sub>2</sub> ) D-Trp	Cys
67	dehydroPro	(5Cl) D-Trp	"	D-Tyr	Abu
68	"	D-2PAL	Glu	D-Nle	Dbu
69	"	(1Ac) D-Trp	"	(4F) D-Phe	Orn
70	Pro	D-3PAL	Asp	$\beta$ -D-1NAL	Dbu
71	(1For) D-Trp	"	"	(4NHCH <sub>3</sub> ) D-Phe	Dpr
72	$\beta$ -D-2NAL	"	Cys	(Ipr <sub>2</sub> ) D-Arg	Cys
73	"	(5NH <sub>2</sub> ) D-Trp	"	(4NH <sub>2</sub> ) D-Phe	Abu
74	$\beta$ -D-1NAL	(6Br) D-Trp	"	(1For) D-Trp	Cys
75	(6CH <sub>3</sub> ) D-Trp	D-4PAL	Asp	D-4PAL	Dbu

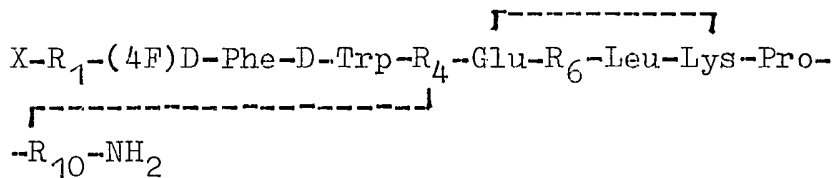
Az 5. táblázatban megadott peptidek in vitro és/vagy in vivo vizsgálata alapján úgy tekinthetjük, hogy e peptidek in vitro körülmények között alacsony koncentrációban gátolják a gonadotropin releasing hormon által kiváltott luteinizáló hormon-kiválasztást. Valamennyi

peptidet úgy tekinthetjük, hogy kis dózisban hatékonyan gátolja a nőstény emlősök ovulációját.

6. példa

-----

A fentiekben ismertetett szilárd fázisu szintézissel állítjuk elő a 6. táblázatban megadott,



általános képletű peptideket.

6. T Á B L Á Z A T

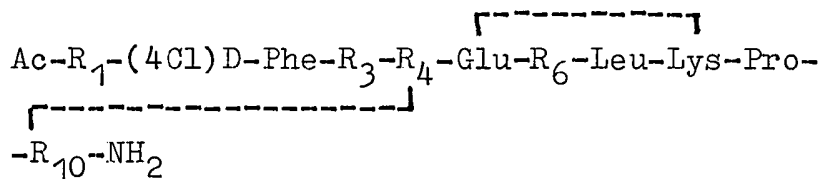
-----

Peptid száma	X	R <sub>1</sub>	R <sub>4</sub>	R <sub>6</sub>	R <sub>10</sub>
76	Acr	dehydroPro	Asp	D-Val	Dpr
77	Ac	"	Dpr	β-D-2NAL	Asp
78	Ac	β-D-2NAL	Cys	(MeEt)D-Arg	Cys
79	Acr	Pro	Glu	D-Ser(OtBu)	Orn
80	H	dehydroPro	Dpr	(imBzl)D-His	Asp
81	Bz	(4Br)D-Phe	"	(5Cl)D-Trp	Glu
82	"	D-pGlu	"	(6Br)D-Trp	"
83	For	β-D-1NAL	"	D-Nva	Asp
84	"	dehydroPro	Cys	(Ipr <sub>2</sub> )D-Har	Abu
85	Vac	β-D-2NAL	"	D-Pro	Cys
86	"	D-Phe	Dbu	D-Ile	Asp
87	H	dehydroPro	"	D-Ala	Glu

A 6. táblázatban megadott peptidek in vitro és/vagy in vivo vizsgálata alapján úgy tekinthetjük, hogy e peptidek in vitro körülmények között alacsony koncentrációban gátolják a gonadotropin releasing hormon által kiváltott luteinizáló hormon-kiválasztást. Valamennyi peptidet úgy tekinthetjük, hogy kis dózisban hatékonyan gátolja a nőstény emlősök ovulációját.

7. példa

A fentiekben ismertetett szilárd fázisu szintézissel állítjuk elő a 7. táblázatban megadott,



általános képletű peptideket.

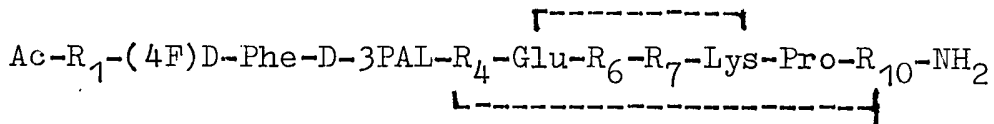
## 7. T Á B L Á Z A T

Peptid száma	R <sub>1</sub>	R <sub>3</sub>	R <sub>4</sub>	R <sub>6</sub>	R <sub>10</sub>
88	dehydroPro	(6NO <sub>2</sub> ) D-Trp	Asp	β-D-2NAL	Dpr
89	"	"	"	D-Val	"
90	"	(6F) D-Trp	"	(4gua) D-Phe	"
91	"	"	"	D-Nva	"
92	"	(5OCH <sub>3</sub> ) D-Trp	"	D-Pro	"
93	"	"	"	D-2PAL	"
94	β-D-2NAL	(1Ac) D-Trp	Glu	(Me <sub>2</sub> ) D-Har	"
95	"	(1For) D-Trp	"	(5CH <sub>3</sub> ) D-Trp	Dbu
96	dehydroPro	(6Br) D-Trp	Abu	D-Nle	Cys
97	"	"	"	D-Leu	Abu
98	"	(6CH <sub>3</sub> ) D-Trp	"	β-D-2NAL	Cys
99	"	(6NH <sub>2</sub> ) D-Trp	Asp	(4NH <sub>2</sub> ) D-Phe	Dpr
100	"	(5NH <sub>2</sub> ) D-Trp	"	D-Ala	"

A 7. táblázatban megadott peptidek in vitro és/vagy in vivo vizsgálata alapján úgy tekinthetjük, hogy e peptidek in vitro körülmények között alacsony koncentrációban gátolják a gonadotropin releasing hormon által kiváltott luteinizáló hormon-kiválasztást. Valamennyi peptidet úgy tekinthetjük, hogy kis dózisban hatékonyan gátolja a nőstény emlősök ovulációját.

8. példa

A fentiekben ismertetett szilárd fázisu szintázissal állítjuk elő a 8. táblázatban megadott,



általános képletű peptideket.

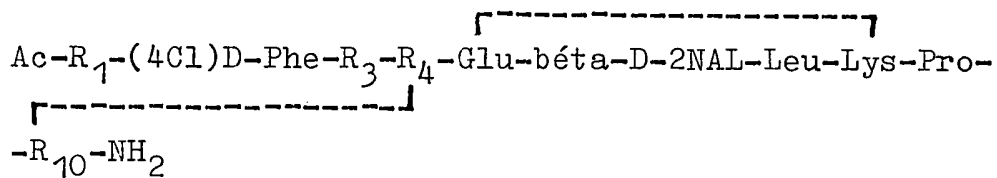
8. T Á B L Á Z A T

Peptid száma	R <sub>1</sub>	R <sub>4</sub>	R <sub>6</sub>	R <sub>7</sub>	R <sub>10</sub>
101	β-D-2NAL	Cys	(5NO <sub>2</sub> )D-Trp	Leu	Cys
102	"	"	D-3PAL	"	Abu
103	"	Abu	β-D-2NAL	"	Cys
104	"	"	(EtBu)D-Arg	"	Abu
105	dehydroPro	"	β-D-2NAL	3PAL	Cys
106	"	Dpr	(4NO <sub>2</sub> )D-Phe	Tyr	Glu
107	β-D-2NAL	Dbu	D-3PAL	NML	"
108	"	Dpr	β-D-1NAL	4PAL	Glu
109	"	Orn	(imBzl)D-His	Leu	"
110	"	Asp	(6NO <sub>2</sub> )D-Trp	"	Dpr
111	"	Glu	D-Tyr	"	"
112	"	"	(1For)D-Trp	Phe	Dbu
113	"	"	(6F)D-Trp	NML	"
114	(C <sup>α</sup> Me/ 4Cl)D-Phe	"	(4Cl)D-Phe	Nle	Orn
115	Pro	Asp	(imBzl)D-His	Met	"
116	dehydroPro	"	(6OCH <sub>3</sub> )D-Trp	Nva	Dbu
117	"	"	(5CH <sub>3</sub> )D-Trp	"	Dpr
118	"	"	(1Ac)D-Trp	(4F)Phe	"
119	"	"	D-Nle	NML	Dbu
120	"	Cys	D-Arg	Nle	Abu
121	"	"	β-D-2NAL	Trp	Cys
122	Pro	Dpr	(2,4Cl <sub>2</sub> )D-Phe	Nva	Asp
123	β-D-2NAL	"	β-D-1NAL	Tyr	"
124	"	Dbu	(5Cl)D-Trp	Met	"
125	(4Cl)D-Phe	"	(4Br)D-Phe	3PAL	"(acetát-só)

A 8. táblázatban megadott peptideket in vivo körülmények között vizsgáljuk, és meghatározzuk, milyen mértékben képesek nőstény patkányok ovulációját gátolni. Valamennyi peptidet úgy tekinthetjük, hogy kis dózisokban képes meggátolni a nőstény patkányok ovulációját, és körülbelül 500  $\mu$ g dózisszinten hatásuk teljes.

9. példa  
-----

A fentiekben ismertetett szilárd fázisu szintézissel állítjuk elő a 9. táblázatban megadott,



általános képletű peptideket.

9. T Á B L Á Z A T

Peptid száma	R <sub>1</sub>	R <sub>3</sub>	R <sub>4</sub>	R <sub>10</sub>
126	D-Glu	D-Lys	Glu	Dbu
127	D-Dbu	D-Hgl	"	Orn
128	D-Cys	D-Abu	Asp	Dbu
129	D-Asp	D-Orn	"	Dpr
130	"	D-Hly	Cys	Cys
131	D-Glu	D-Lys	"	Abu
132	D-Hhg	D-Hhl	Orn	Asp
133	D-Cys	D-Cys	Asp	Dbu
134	D-Dpr	D-Asp	Cys	Cys
135	D-Hly	D-Glu	"	Abu
136	D-Orn	D-Asp	Orn	Asp
137	D-Hhl	D-Hhg	"	"
138	D-Abu	D-Abu	Asp	Dpr
139	D-Abu	D-Cys	"	"
140	D-Hgl	D-Orn	Abu	Cys

A triciklusos peptideket úgy állítjuk elő, amint ezt a fentiekben általánosságban leírtuk, mégpedig először a gyantához kötött gyűrűs hexapeptid előállításához alkalmazott lépéseket végezzük el, amint ezt az 1. példában ismertettük. Ezután kapcsoljuk a lánchoz a további négy megfelelő aminosavat. Így például a 126. számú

peptid előállítására során a gyűrűs hexapeptidről lehasítjuk a védőcsoportként használt tercier-butoxi-karbonil-csoportot, majd befejezzük a decapeptid előállítását, és így a

Boc-D-Glu(OFm)-(4Cl)D-Phe-D-Lys(Fmoc)-Glu(OBzl)-Glu-  
-béta-D-2NAL-Leu-Lys-Pro-Dbu(Z)-MBHA gyanta

képletű köztitermékhez jutunk.

A metil-benzhidril-amin gyantához kötött teljes decapeptid köztitermék kialakítása után a D-glutaminsav és a D-lizin védőcsoportjainak lehasítását és a gyűrűzárást ugyanúgy végezhetjük el, mint amikor a láncban glutaminsav és lizin szerepelt, vagyis a gyantához kötött peptidet piperidinnel kezeljük, majd mossuk, és ezután a D-glutaminsav és a D-lizin oldalláncai között úgy hajtjuk végre a gyűrűzárást, hogy a gyantához kötött peptidet benzotriazolil-N-oxi-trisz(dimetil-amino)-foszfónium-hexafluoro-foszfáttal és diizopropil-etil-aminnal kezeljük. A gyantához kötött peptidet ezután kiszűrjük, dimetil-formamiddal, metanollal, diklór-metánnal és ismét metanollal mossuk.

Ezután az N-terminális alfa-amino-csoportjáról a védőcsoportot trifluor-ecetsavval lehasítjuk, majd diklór-metánban, nagy fölöslegben vett ecetsav-anhidriddel acetilezést végzünk. Ezután a gyantához kötött védett peptidet szobahőmérsékleten dimetil-formamidban szuszpendáljuk,

majd folyamatos keverés és nitrogén gáz bevezetése mellett vízmentes hidrazint adunk az elegyhez. 48 óra múlva a gyantát kiszűrjük, dimetil-formamiddal, metanollal, diklór-metánnal és ismét metanollal mossuk, majd megszáritjuk, és anizol mint kationmegkötő szer jelenlétében desztillált fluor-hidrogénsavval kezeljük, így eltávolítjuk a még meglevő védőcsoportokat, és lehasítjuk a peptidet a gyantáról. A fluor-hidrogénsav ledesztillálása után a peptidet vízmentes dietil-éterrel kicsapjuk, elkülönítjük, és fagyasztva száritjuk. Ezután a végső gyűrűzárás előtt, az 1. példában leirt módon fordított fázisu nagyfelbontásu folyadék-kromatográfiával tisztítjuk. A végső gyűrűzárást az 1. példában leirt módon hajtjuk végre, és így alakítjuk ki a harmadik amidkötést. Végül a triciklusos peptid végső tisztítását az 1. példában ismertetett módon végezzük el.

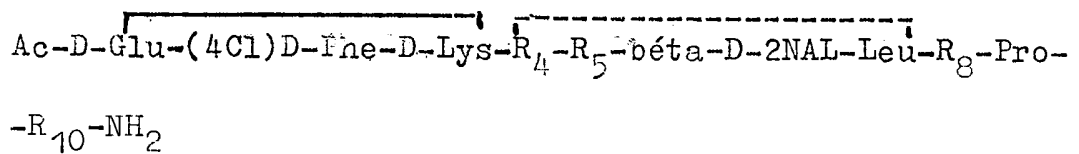
Valamely olyan peptid, mint például a 133. számú peptid előállítása során az 1-es és 3-as helyen levő D-cisztein-egységek között a diszulfidkötés oxidatív kialakítását előnyösen a nyíltláncu peptid aziddá való alakítása előtt végezzük el.

A 9. táblázatban megadott peptidek in vitro és/vagy in vivo vizsgálata alapján úgy tekinthetjük, hogy e peptidek in vitro körülmények között alacsony koncentrációban gátolják a gonadotropin releasing hormon által kiváltott luteinizáló hormon-kiválasztást. Valamennyi peptidet

ugy tekinthetjük, hogy kis dózisban hatékonyan gátolja a nőstény emlősök ovulációját.

10. példa

A fentiekben ismertetett szilárd fázisu szintézissel állítjuk elő a 10. táblázatban megadott,



általános képletü, az R<sub>5</sub> és R<sub>8</sub> között, vagy pedig az R<sub>4</sub> és R<sub>10</sub> között egy második gyűrűzáró kötést tartalmazó peptidket.

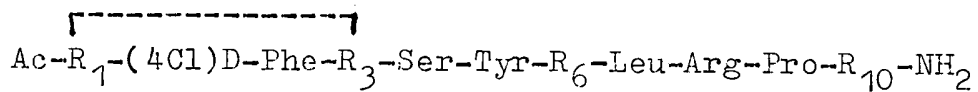
10. T Á B L Á Z A T

Peptid száma	R <sub>5</sub>	R <sub>8</sub>	R <sub>4</sub>	R <sub>10</sub>
141	Glu	Lys	Ser	D-Ala
142	"	Hly	"	Gly
143	Hgl	"	Orn	"
144	"	Hhl	Dbu	D-Ala
145	Hhg	"	Dpr	"
146	Tyr	Har	"	Dbu
147	"	(Et <sub>2</sub> )Har	Abu	Cys
148	"	Arg	Asp	Dbu
149	"	(Ipr <sub>2</sub> )Har	Glu	Dpr
150	"	(Et <sub>2</sub> )Arg	Cys	Cys
151	"	(Ipr <sub>2</sub> )"	Abu	Abu
152	"	Arg	Orn	Asp

A 10. táblázatban megadott peptidek in vitro és/vagy in vivo vizsgálata alapján úgy tekinthetjük, hogy e peptidek in vitro körülmények között alacsony koncentrációban gátolják a gonadotropin releasing hormon által kiváltott luteinizáló hormon-kiválasztást. Valamennyi peptidet úgy tekinthetjük, hogy kis dózisban hatékonyan gátolja a nőstény emlősök ovulációját.

#### 11. példa

A fentiekben ismertetett szilárd fázisu szintézissel állítjuk elő a 11. táblázatban megadott,



általános képletű, monociklusos peptideket.

## 11. T Á B L Á Z A T

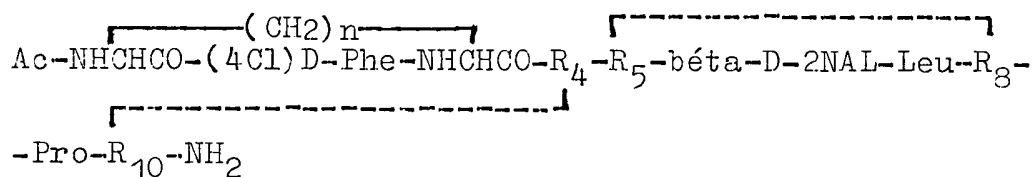
Peptid száma	R <sub>1</sub>	R <sub>3</sub>	R <sub>6</sub>	R <sub>10</sub>
153	D-Asp	D-Lys	$\beta$ -D-2NAL	D-Ala
154	D-Glu	"	"	"
155	D-Orn	D-Glu	"	Gly
156	D-Glu	D-Orn	"	D-Ala
157	Orn	Asp	D-3PAL	"
158	Asp	Dpr	D-Arg	"
159	"	Lys	$\beta$ -D-2NAL	"
160	Glu	D-Lys	"	"
161	D-Abu	D-Abu	D-3PAL	Gly
162	D-Lys	Glu	"	"
163	D-Asp	Dbu	D-Leu	D-Ala
164	D-Glu	D-Hly	D-3PAL	D-Ala
165	D-Lys	D-Hgl	"	Gly
166	D-Glu	D-Hhl	D-Arg	D-Ala
167	Lys	Hgl	D-3PAL	"
168	Hly	"	D-Arg	"
169	Hhg	Hly	$\beta$ -D-2NAL	"
170	"	Hhl	"	"

A 11. táblázatban megadott peptidek in vitro és/vagy in vivo vizsgálata alapján úgy tekinthetjük, hogy e peptidek in vitro körülmények között

alacsony koncentrációban gátolják a gonadotropin releasing hormon által kiváltott luteinizáló hormon-kiválasztást. Valamennyi peptidet úgy tekinthetjük, hogy kis dózisban hatékonyan gátolja a nőstény emlősök ovulációját.

12. példa  
-----

A fentiekben ismertetett szilárd fázisu szintézissel állítjuk elő a 12. táblázatban megadott,



monociklusos, biciklusos vagy triciklusos, általános képletű, olyan peptideket, amelyekben az 1-es és 3-as helyen levő aminosav D-izomer formáját használjuk, továbbá e peptidek közül a 168 - 172. számú peptidekben vagy az R<sub>5</sub> és R<sub>8</sub>, vagy pedig az R<sub>4</sub> és R<sub>10</sub> között egy második gyűrűzáró kötés van jelen, továbbá a 173 - 176. számú peptidekben egy második és harmadik gyűrűzáró kötés is jelen van.

12. T Á B L Á Z A T

Peptid száma	n	R <sub>4</sub>	R <sub>5</sub>	R <sub>8</sub>	R <sub>10</sub>
171	7	Ser	Tyr	Arg	D-Ala
172	5	"	"	(Ipr <sub>2</sub> )Har	Gly
173	8	Orn	"	(Et <sub>2</sub> )Arg	"
174	6	Dbu	"	Arg	D-Ala
175	10	Ser	Glu	Lys	"
176	9	"	Hgl	Hly	Gly
177	7	Abu	Tyr	(Et <sub>2</sub> )Har	Cys
178	11	Asp	"	Arg	Dbu
179	9	Glu	"	Har	Dpr
180	8	Cys	Glu	Lys	Cys
181	7	Abu	"	Hly	Abu
182	11	Orn	Hgl	"	Asp
183	10	Glu	Hhg	Hhl	Dbu

A 12. táblázatban megadott peptidek in vitro és/vagy in vivo vizsgálata alapján úgy tekinthetjük, hogy e peptidek in vitro körülmények között alacsony koncentrációban gátolják a gonadotropin releasing hormon által kiváltott luteinizáló hormon-kiválasztást. Valamennyi peptidet úgy tekinthetjük, hogy kis dózisban hatékonyan gátolja

a nőstény emlősök ovulációját.

A jelen találmány szerinti peptideket gyakran ezek gyógyászatilag elfogadható, nem-toxikus sói formájában, például savaddíciós sóik formájában, vagy fém-komplexeik, például cinkkel, báriummal, kalciummal, magnéziummal, alumíniummal és más, hasonlókkal képzett komplexeik formájában adagoljuk (e komplexeiket a jelen bejelentés szempontjából addíciós sóknak tekinthetjük), vagy alkalmazhatjuk e kétféle só kombinációit. Ilyen savaddíciós sók például a hidroklorid, hidrobromid, szulfát, foszfát, nitrát, oxalát, fumarát, glükonát, tannát, maleát, acetát, citrát, benzoát, szukcinát, alginát, malát, aszkorbát, tartarát és más, hasonlók. Így például a peptid vizes oldatát ismételten kezelhetjük 1 normál ecetsavval, majd az elegyet fagyasztva szárítva a peptid ecetsavas sójához jutunk. Ha a hatóanyagot tablettá formájában kívánjuk adagolni, akkor a tablettá tartalmazhat valamely, gyógyászatilag elfogadható higitószert, amely lehet például egy kötőanyag, mint például a tragakanta, kukorica-keményítő vagy zselatin; egy szétesést elősegítő anyagot, például alginsavat; és egy csusztatószert, mint például magnézium-sztearátot. Ha a hatóanyagot cseppfolyós készítmény formájában kívánjuk adagolni, akkor a gyógyászatilag elfogadható higitószer részeként használhatunk édesítőszeret és/vagy izesítőszeret, míg intravénás adagoláshoz izotóniás só-oldatot, foszfát-puffer-oldatokat

és más, hasonlókat használhatunk.

A gyógyászati készítményekben a peptidek általában valamely szokásos, önmagában ismert, gyógyászatilag elfogadható vivőanyag kíséretében vannak jelen. Intravénás adagolás esetében a dózisok a kezelt egyed testtömegének 1 kg-jára számítva általában körülbelül 10  $\mu$ g és körülbelül 2,5 mg között vannak; habár az orális dózisok ennél magasabbak, elfogadott az a vélemény, hogy e vegyületek gyűrűs jellege hatékonyabb orális adagolást eredményezhet. Végeredményben, az ezen peptidekkel való kezelést általában ugyanugy végezzük, amint a gonadotropin releasing hormon más antagonistáit a klinikai kezelés céljára használják, valamely olyan, alkalmas vivőanyagban, amelyben a peptid oldható.

Kivánatos lehet az is, hogy a gonadotropin releasing hormon analógot hosszabb időn át, például 1 hét és 1 év közötti ideig juttassuk a szervezetbe, e célra használhatunk lassu kioldódást biztosító, állandó hatóanyagforrást jelentő, ugynevezett depó vagy beültetett gyógyszerformákat. Így például egy gyógyszerforma tartalmazhatja a hatóanyag valamely gyógyászatilag elfogadható, nem-toxikus, olyan sóját, amely a testfolyadékokban csak kismértékben oldható, ilyen sók például a többértékű savakkal képzett addiciós sók; tartalmazhatja valamely többértékű fém kationnal képzett sóját; vagy e kétféle só kombinációját. Egy viszonylag oldhatatlan sóból gélt is

készíthetünk, például alumínium-sztearát gélt. Egy alkalmas, lassu kioldódást biztosító, injekciós depó-készítmény tartalmazhatja a gonadotropin releasing hormon analógot vagy ennek sóját valamely lassan lebomló, nem-toxikus és nem-antigén jellegű polimerben, például politejsav/poliglikolsav polimerben diszpergálva vagy kapszulázva, amint ezt például a 3,773,919 számú amerikai szabadalmi leírás ismerteti. Készíthetünk e vegyületekből szilasztikus, beültetett gyógyszerformákat is.

Adagolhatjuk e peptideket emlősöknek intravénásan (vénába), szubkután (bőr alá), intramuszkulárisan (izomba), orálisan (szájon át), perkután (bőrön át), például intranazálisan (orrba) vagy intravaginálisan (hüvelybe), és ilygátolhatjuk és/vagy szabályozhatjuk a fogamzóképeséget. Alkalmazhatjuk e vegyületeket továbbá olyan esetekben, amikor az ivarmirigyek működését reverzibilis (megfordítható) módon vissza kívánjuk szorítani, például a korai pubertás kezelésében vagy sugárkezelés vagy kemoterápiás kezelés során. Használhatjuk e vegyületeket a szteroidfüggő daganatok kezelésére is. A hatás kifejtéséhez szükséges dózisek az adagolás módjától és a kezelni kívánt emlős fajától függően változnak. Egy tipikus dózisforma lehet például a peptidet tartalmazó, bakteriosztatikus vizzel készült oldat, amelynek olyan mennyiségét adagoljuk, hogy a kezelt egyed testtömegének 1 kg-jára számítva a dózis körülbelül 0,1 mg és körülbelül 2,5 mg között legyen. E peptideket orálisan szilárd vagy cseppfolyós gyógyszerformákban alkalmazhatjuk.

A fentiekben leirt, válogatott antagonisták in vivo vizsgálati eredményeit mutatjuk be a 13. táblázatban.



13. T Á B L Á Z A T

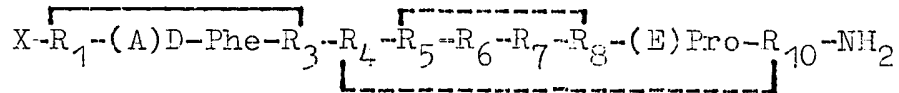
Peptid száma	Dózis, /ug	Ovuláló patkányok száma	Dózis, /ug	Ovuláló patkányok száma
1.	50 10 2,5	0/7 0/10 9/10	25 5	1/7 2/10
3.	100 500	1/8 0/7	50 100	2/8 0/5
153.	25	1/11	10	2/8
154.	500	0/7	100	0/7
156.	100 25	0/10 5/10	50	0/8
158.	500	3/5	100	4/5

Habár a jelen találmányt annak előnyös kivitelezési változataira írjuk le, úgy tekintjük, hogy egy átlagosan képzett szakember számára nyilvánvaló módosításokat és változtatásokat hajthatunk végre anélkül, hogy eltérnénk a találmány oltalmi körétől, amely oltalmi kört az alábbi igénypontok rögzítik. Így például, ha az 1-es és 3-as helyen levő aminosavak között egy gyűrűzáró kötést alkalmazunk, akkor biológiai-  
lag hatásos peptideket kaphatunk akkor is, ha ezt nem kíséri egy második gyűrűzáró kötés. A jelen találmány szerinti peptidekben egyes aminosavakat helyettesíthetünk más, olyan aminosavakkal, amelyekről ismeretes, hogy nem befolyásolják lényegesen a peptidek hatását. A D-(2-piridil)-alanint és a D-(4-piridil)-alanint egyenértékűnek tekintik a D-(3-piridil)-alaninnal. A 7-es helyen a fenil-alanin helyett használhatunk helyettesített fenil-alanint, például 4-fluor-fenil-alanint; az 5-ös helyen levő tirozin helyén alkalmazhatunk helyettesített fenil-alanint, például 2-klór-fenil-alanint. Az 1-es helyen alkalmazhatunk más hidrofób aminosavakat is, előnyösen ezek D-izomer formájában, és ezeket a fent megadottakkal egyenértékűnek tekintjük.

A találmány különös vonásait az alábbi igénypontok teszik nyomatékosabbá.

SZABADALMI IGÉNYPONTOK

1.



általános képletű, olyan peptidek és ezek nem-toxikus sói, amelyek az R<sub>1</sub> és R<sub>3</sub> helyén álló aminosav között kialakított kötés révén gyűrűt képeznek, továbbá, amelyek az R<sub>4</sub> és R<sub>10</sub> helyén, és/vagy az R<sub>5</sub> és R<sub>8</sub> helyén álló aminosavak között adott esetben kialakított egy vagy két további kötés révén további gyűrű(ke)t képeznek, ahol a fenti általános képletben

X                    jelentése hidrogénatom, vagy 7 vagy ennél kevesebb szénatomot tartalmazó acilcsoport;

R<sub>1</sub>                    jelentése D-cisztein, D-2-amino-vaajsav, L- vagy D-aszparaginsav, L- vagy D-glutaminsav, L- vagy D-homoglutaminsav, L- vagy D-homohomoglutaminsav, L- vagy D-lizin, L- vagy D-homolizin, L- vagy D-homohomolizin, L- vagy D-ornitin, L- vagy D-2,4-diamino-vaajsav vagy L- vagy D-2,3-diaminopropionsav;

A                    jelentése hidrogénatom, klóratom, fluoratom, nitrocsoport, metilcsoport, metoxicssoport, az alfa-szénatomhoz kapcsolódó metilcsoport, és ezzel egyidejűleg a benzolgyűrű 4-es helyzetéhez kapcsolódó klóratom, két klóratom, vagy pedig brómatom;

R<sub>3</sub>                    jelentése D-cisztein, L- vagy D-2-amino-vaajsav,

L- vagy D-aszparaginsav, L- vagy D-glutaminsav,  
L- vagy D-homoglutaminsav, L- vagy D-homohomo-  
glutaminsav, L- vagy D-lizin, L- vagy D-homo-  
lizin, L- vagy D-homohomolizin, L- vagy D-or-  
nitin, L- vagy D-2,4-diamino-vaajsav vagy L- vagy  
D-2,3-diamino-propionsav;

R<sub>4</sub> jelentése szerin, cisztein, aszparaginsav, glu-  
taminsav, ornitin, 2,4-diamino-vaajsav, 2,3-di-  
amino-propionsav vagy 2-amino-vaajsav;

R<sub>5</sub> glutaminsav, homoglutaminsav vagy homohomo-  
jelentése tirozin, ~~glutaminsav~~ glutaminsav;

R<sub>6</sub> jelentése béta-D-naftil-alanin, (B)D-triptofán,  
(A')D-fenil-alanin, (D)D-homoarginin, D-tirozin,  
(C)D-hisztidin, D-piridil-alanin, (D)D-arginin,  
D-leucin, D-izoleucin, D-valin, D-norleucin,  
D-alanin, D-prolin, O-(tercier-butyl)-D-szerin  
vagy D-norvalin, ahol

A' jelentése azonos A fenti jelentésével,  
vagy aminocsoport, metil-amino-csoport  
vagy guanidinocsoport,

B jelentése hidrogénatom, nitrocsoport,  
aminocsoport, metoxicsoport, fluoratom,  
klóratom, brómatom, metilcsoport, az  
indolgyűrű nitrogénatomjához kapcsolódó  
formilcsoport, vagy az indolgyűrű nitro-  
génatomjához kapcsolódó acetylcsoport,

- C jelentése hidrogénatom, az imidazolgyűrű nitrogénatomjához kapcsolódó benzilcsoport vagy dinitro-fenil-csoport;
- D jelentése hidrogénatom vagy két rövidszénláncu alkilcsoport;
- R<sub>7</sub> jelentése norleucin, leucin, az alfa-amino-csoporton metilezett leucin, fenil-alanin, metionin, norvalin, tirozin, triptofán vagy piridil-alanin;
- R<sub>8</sub> jelentése (D)-arginin, (D)-homoarginin, lizin, homolizin vagy homohomolizin;
- E jelentése hidrogénatom, hidroxilcsoport vagy "dehydro"; és
- R<sub>10</sub> jelentése glicin, D-alanin, cisztein, aszparaginsav, glutaminsav, ornitin, 2,4-diamino-vaajsav, 2,3-diamino-propionsav vagy 2-amino-vaajsav;
- azzal a megkötéssel, hogy ha
- R<sub>4</sub> jelentése cisztein vagy 2-amino-vaajsav, akkor ez az R<sub>10</sub> helyén álló aminosavhoz, mégpedig ciszteinhez vagy 2-amino-vaajsavhoz kapcsolódik; továbbá, ha
- R<sub>4</sub> jelentése aszparaginsav vagy glutaminsav,
- akkor ez az R<sub>10</sub> helyén álló aminosavhoz, mégpedig ornitinhez, 2,4-diamino-vaajsavhoz vagy 2,3-diamino-propionsavhoz kapcsolódik; továbbá, ha

$R_4$  jelentése ornitin, 2,4-diamino-vaajsav vagy 2,3-diamino-propionsav,

akkor ez az  $R_{10}$  helyén álló aminosavhoz, mégpedig aszparaginsavhoz vagy glutaminsavhoz kapcsolódik; továbbá, ha

$R_5$  jelentése glutaminsav, homoglutaminsav vagy homohomoglutaminsav,

akkor ez az  $R_8$  helyén álló aminosavhoz, mégpedig lizinhez, homolizinhez vagy homohomolizinhez kapcsolódik; továbbá, ha

$R_1$  jelentése D-cisztein vagy D-2-amino-vaajsav, akkor ez az  $R_3$  helyén álló aminosavhoz, mégpedig D-ciszteinhez vagy D-<sup>2-</sup>amino-vaajsavhoz kapcsolódik; továbbá, ha

$R_1$  jelentése L- vagy D-aszparaginsav, L- vagy D-glutaminsav, L- vagy D-homoglutaminsav vagy L- vagy D-homohomoglutaminsav,

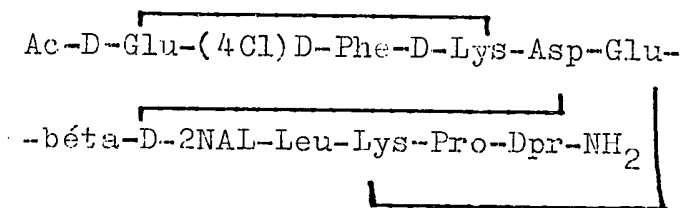
akkor ez az  $R_3$  helyén álló aminosavhoz, mégpedig L- vagy D-lizinhez, L- vagy D-homolizinhez, L- vagy D-homohomolizinhez, L- vagy D-ornitinhez, L- vagy D-2,4-diamino-vaajsavhoz vagy L- vagy D-2,3-diamino-propionsavhoz kapcsolódik; továbbá, ha

$R_1$  jelentése L- vagy D-lizin, L- vagy D-homolizin, L- vagy D-homohomolizin, L- vagy D-ornitin, L- vagy D-2,4-diamino-vaajsav vagy L- vagy D-2,3-diamino-propionsav,

akkor ez az  $R_3$  helyén álló aminosavhoz, mégpedig L- vagy D-aszparaginsavhoz, L- vagy D-glutaminsavhoz, L- vagy D-homoglutaminsavhoz vagy L- vagy D-homohomoglutaminsavhoz kapcsolódik.

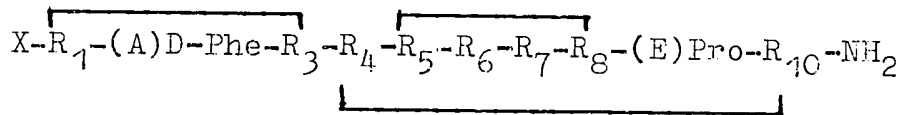
2. Az 1. igénypont szerinti peptid, ahol  
 $R_1$  jelentése D-glutaminsav vagy D-homoglutaminsav, és  
 $R_3$  jelentése D-lizin vagy D-homolizin.

3. A 2. igénypont szerinti,



képletű peptid.

4. Az 1. igénypont szerinti,



általános képletű peptid, azzal a megkötéssel, hogy ha

$R_4$  jelentése cisztein vagy 2-amino-vajsav,  
akkor

$R_{10}$  jelentése cisztein vagy 2-amino-vajsav;  
továbbá, ha

$R_4$  jelentése aszparaginsav vagy glutaminsav,  
akkor

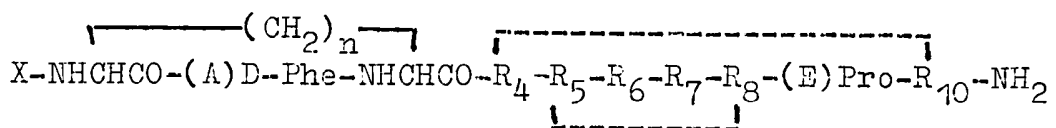
$R_{10}$  jelentése ornitin, 2,4-diamino-vajsav vagy  
2,3-diamino-propionsav; továbbá, ha

$R_4$  jelentése ornitin, 2,4-diamino-vajsav vagy  
2,3-diamino-propionsav, akkor

$R_{10}$  jelentése aszparaginsav vagy glutaminsav;  
továbbá, ha

- R<sub>1</sub> jelentése D-cisztein vagy D-2-amino-vaajsav,  
akkor
- R<sub>3</sub> jelentése D-cisztein vagy D-2-amino-vaajsav;  
továbbá, ha
- R<sub>1</sub> jelentése D-aszparaginsav, D-glutaminsav,  
D-homoglutaminsav vagy D-homohomoglutaminsav,  
akkor
- R<sub>3</sub> jelentése D-lizin, D-homolizin, homohomolizin,  
D-ornitin, D-2,4-diamino-vaajsav vagy D-2,3-  
-diamino-propionsav; továbbá, ha
- R<sub>1</sub> jelentése D-lizin, D-homolizin, homohomolizin,  
D-ornitin, D-2,4-diamino-vaajsav vagy D-2,3-  
-diamino-propionsav, akkor
- R<sub>3</sub> jelentése D-aszparaginsav, D-glutaminsav,  
D-homoglutaminsav vagy D-homohomoglutaminsav.
5. Az 1. vagy 4. igénypont szerinti peptid,  
ahol
- R<sub>1</sub> jelentése D-cisztein vagy D-2-amino-vaajsav,  
és
- R<sub>3</sub> jelentése D-cisztein vagy D-2-amino-vaajsav.

6.



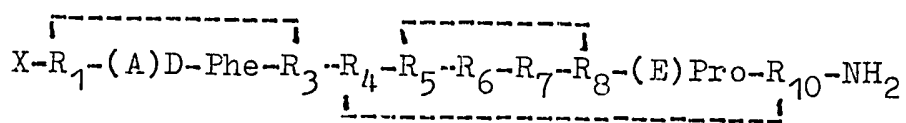
általános képletű peptidok és ezek nem-toxikus sói, amely peptidok az R<sub>4</sub> és R<sub>10</sub> helyén és/vagy az R<sub>5</sub> és R<sub>8</sub> helyén álló aminosavak között adott esetben kialakított egy vagy két kötés révén egy vagy két további gyűrűt képezhetnek, ahol a fenti általános képletben



- X jelentése hidrogénatom, vagy 7 vagy ennél kevesebb szénatomot tartalmazó acilcsoport;
- A jelentése hidrogénatom, klóratom, fluoratom, nitrocsoport, metilcsoport, metoxics csoport, az alfa-szénatomhoz kapcsolódó metilcsoport, és ezzel egyidejűleg a gyűrű 4-es helyzetéhez kapcsolódó klóratom, két klóratom, vagy pedig brómatom;
- n jelentése 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10 vagy 11;
- R<sub>4</sub> jelentése szerin, cisztein, aszparaginsav, glutaminsav, ornitin, 2,4-diamino-vaajsav, 2,3-diamino-propionsav vagy 2-amino-vaajsav;
- R<sub>5</sub> jelentése tirozin, glutaminsav, homoglutaminsav vagy homohomoglutaminsav;
- R<sub>6</sub> jelentése béta-D-naftil-alanin, (B)D-triptofán, (A')D-fenil-alanin, (D)D-homoarginin, D-tirozin, (C)D-hisztidin, D-piridil-alanin, (D)D-arginin, D-leucin, D-izoleucin, D-valin, D-norleucin, D-alanin, D-prolin, O-(tercier-butyl)-D-szerin vagy D-norvalin;
- A' jelentése azonos A fenti jelentésével, vagy aminocsoport, metil-amino-csoport vagy guanidinocsoport;

- B jelentése hidrogénatom, nitrocsoporth, aminocsoport, metoxicsoporth, fluoratom, klóratom, brómatom, metilcsoport, az indolgyűrű nitrogénatomjához kapcsolódó formilcsoport vagy az indolgyűrű nitrogénatomjához kapcsolódó acetylcsoporth;
- C jelentése hidrogénatom, az imidazolgyűrű nitrogénatomjához kapcsolódó benzilcsoport vagy dinitro-fenil-csoport;
- D jelentése hidrogénatom vagy két rövidszénláncu alkilcsoport;
- R<sub>7</sub> jelentése norleucin, leucin, az alfa-amino-csoporton metilezett leucin, fenil-alanin, metionin, norvalin, tirozin, triptofán vagy piridilalanin;
- E jelentése hidrogénatom, hidroxilcsoport vagy "dehydro";
- R<sub>8</sub> jelentése (D)arginin, (D)homoarginin, lizin, homolizin vagy homohomolizin

7.



általános képletű, olyan peptidek és ezek nem-toxikus sói, amelyek az R<sub>1</sub> és R<sub>3</sub> helyén, az R<sub>4</sub> és R<sub>10</sub> helyén, és az R<sub>5</sub> és R<sub>8</sub> helyén álló aminosav-párok közül két ilyen pár között

gyűrűt kialakító kötést tartalmazznak, ahol a fenti általános képletben

- X jelentése hidrogénatom, vagy 7 vagy ennél kevesebb szénatomot tartalmazó acilcsoport;
- R<sub>1</sub> jelentése béta-D-(2-naftil)-alanin, dehidroprolin, D-cisztein, D-2-amino-vajsav, D-aszparaginsav, D-glutaminsav, D-lizin, D-ornitin, D-2,4-diamino-vajsav vagy D-2,3-diaminopropionsav;
- A jelentése hidrogénatom, klóratom, fluoratom, nitrocsoport, metilcsoport, metoxicssoport, az alfa-szénatomhoz kapcsolódó metilcsoport és ezzel egyidejűleg a fenilgyűrű 4-es helyzetéhez kapcsolódó klóratom, két klóratom, vagy pedig brómatom;
- R<sub>3</sub> jelentése béta-D-(2-naftil)-alanin, D-(3-piridil)-alanin, D-triptofán, D-cisztein, D-2-amino-vajsav, D-aszparaginsav, D-glutaminsav, D-lizin, D-ornitin, D-2,4-diamino-vajsav vagy D-2,3-diaminopropionsav;
- R<sub>4</sub> jelentése szerin, cisztein, aszparaginsav, glutaminsav, ornitin, 2,4-diamino-vajsav, 2,3-diaminopropionsav vagy 2-amino-vajsav;
- R<sub>5</sub> jelentése tirozin, glutaminsav, homoglutaminsav vagy homohomoglutaminsav;

R<sub>6</sub>

jelentése béta-D-naftil-alanin,  
(B)D-triptofán, (A')D-fenil-alanin, (D)D-ho-  
moarginin, D-tirozin, (C)D-hisztidin, D-piri-  
dil-alanin, (D)D-arginin, D-leucin, D-izoleu-  
cin, D-valin, D-norleucin, D-alanin, D-prolin,  
O-(tercier-butyl)-D-szerin vagy D-norvalin;

A' jelentése azonos A fenti jelentésé-  
vel, vagy aminocsoport, metil-amino-  
-csoport vagy guanidincsoport;

B jelentése hidrogénatom, nitrocsoport,  
aminocsoport, metoxicssoport, fluor-  
atom, klóratom, brómatom, metilcso-  
port, az indolgyűrű nitrogénatomjához  
kapcsolódó formilcsoport vagy az in-  
dolgyűrű nitrogénatomjához kapcsolódó  
acetylcssoport;

C jelentése hidrogénatom, az imidazol-  
gyűrű nitrogénatomjához kapcsolódó  
benzilcsoport vagy dinitro-fenil-  
-csoport;

D jelentése hidrogénatom vagy két rö-  
vidszénláncu alkilcsoport;

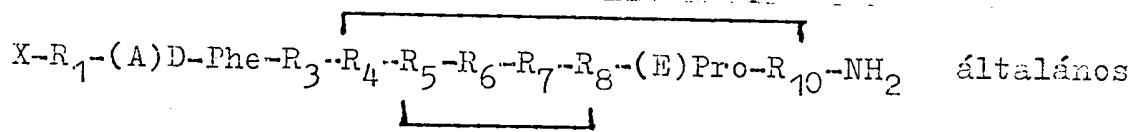
R<sub>7</sub>

jelentése norleucin, leucin, az alfa-amino-  
-csoporton metilezett leucin, fenil-alanin,  
metionin, norvalin, tirozin, triptofán vagy  
piridil-alanin;

- R<sub>8</sub> jelentése (D)-arginin, (D)-homoarginin, homolizin, homohomolizin vagy lizin;
- E jelentése hidrogénatom, hidroxilcsoport vagy "dehydro"; és
- R<sub>10</sub> jelentése glicin, D-alanin, cisztein, aszparaginsav, glutaminsav, ornitin, 2,4-diamino-vajsav, 2,3-diamino-propionsav vagy 2-amino-vajsav;
- azzal a megkötéssel, hogy ha
- R<sub>4</sub> jelentése cisztein vagy 2-amino-vajsav, akkor
- R<sub>10</sub> jelentése cisztein vagy 2-amino-vajsav; továbbá, ha
- R<sub>4</sub> jelentése aszparaginsav vagy glutaminsav, akkor
- R<sub>10</sub> jelentése ornitin, 2,4-diamino-vajsav vagy 2,3-diamino-propionsav; továbbá, ha
- R<sub>4</sub> jelentése ornitin, 2,4-diamino-vajsav vagy 2,3-diamino-propionsav, akkor
- R<sub>10</sub> jelentése aszparaginsav vagy glutaminsav; továbbá, ha
- R<sub>5</sub> jelentése glutaminsav, akkor
- R<sub>8</sub> jelentése lizin; továbbá, ha
- R<sub>1</sub> jelentése D-cisztein vagy D-2-amino-vajsav, akkor
- R<sub>3</sub> jelentése D-cisztein vagy D-2-amino-vajsav; továbbá, ha

- R<sub>1</sub> jelentése D-aszparaginsav vagy D-glutaminsav, akkor
- R<sub>3</sub> jelentése D-lizin, D-ornitin, D-2,4-diaminovájsav vagy D-2,3-diaminopropionsav; továbbá, ha
- R<sub>1</sub> jelentése D-lizin, D-ornitin, D-2,4-diaminovájsav vagy D-2,3-diaminopropionsav, akkor
- R<sub>3</sub> jelentése D-aszparaginsav vagy D-glutaminsav.

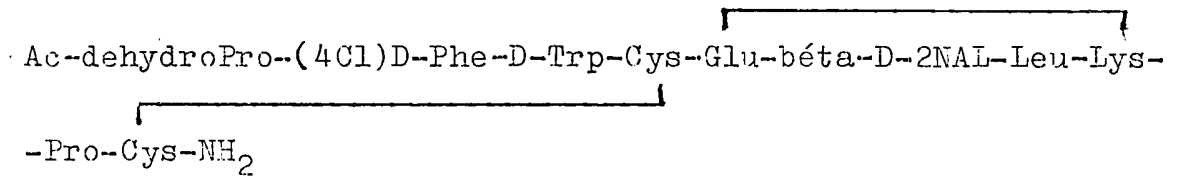
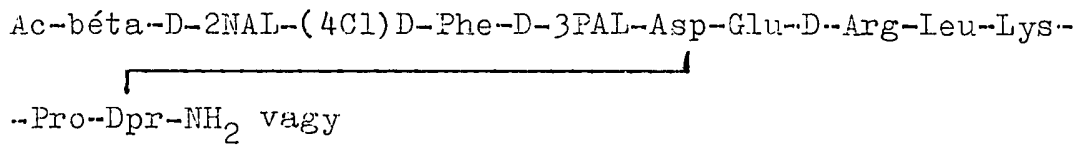
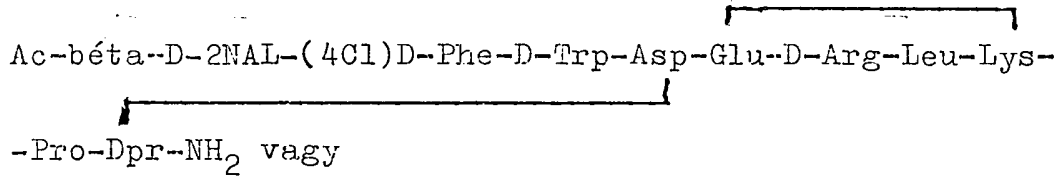
8. A 7. igénypont szerinti,



képletű peptid.

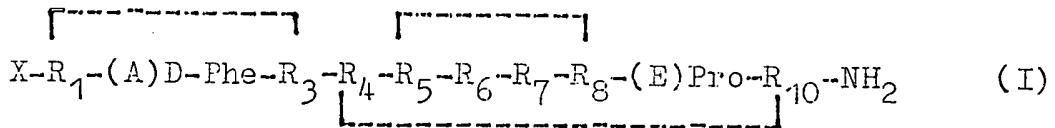
9. A 8. igénypont szerinti peptid, ahol
- A jelentése a fenilgyűrű 4-es helyzetéhez kapcsolódó klóratom vagy fluoratom,
- R<sub>1</sub> jelentése béta-D-(2-naftil)-alanin,
- R<sub>5</sub> jelentése glutaminsav,
- R<sub>7</sub> jelentése leucin, és
- R<sub>8</sub> jelentése lizin.

10. A 8. igénypont szerinti,



képletű peptidek.

11. Eljárás az



általános képletű, olyan peptidek és ezek nem-toxikus sói előállítására, amely peptidek az R<sub>1</sub> és R<sub>3</sub> helyén, az R<sub>4</sub> és R<sub>10</sub> helyén és az R<sub>5</sub> és R<sub>8</sub> helyén álló három aminosav-pár közül legalább két aminosav-pár között kialakított kötés révén gyűrűt képeznek, ahol a fenti általános képletben

- X jelentése hidrogénatom, vagy 7 vagy ennél kevesebb szénatomot tartalmazó acilcsoport;
- R<sub>1</sub> jelentése béta-D-(2-naftil)-alanin, dehidroprolin, D-cisztein, D-2-amino-vajsav, D-aszparaginsav, D-glutaminsav, D-lizin, D-ornitin, D-2,4-diamino-vajsav vagy D-2,3-diaminopropionsav;
- A jelentése hidrogénatom, klóratom, fluoratom, nitrocsoport, metilcsoport, metoxicsoport, az alfa-szénatomhoz kapcsolódó metilcsoport és ezzel egyidejűleg a fenilgyűrű 4-es helyzetéhez kapcsolódó klóratom, két klóratom, vagy pedig brómatom;
- R<sub>3</sub> jelentése béta-D-(2-naftil)-alanin, D-(3-piridil)-alanin, D-triptofán, D-cisztein, D-2-amino-vajsav, D-aszparaginsav, D-glutaminsav, D-lizin, D-ornitin, D-2,4-diamino-vajsav vagy D-2,3-diaminopropionsav;
- R<sub>4</sub> jelentése szerin, cisztein, aszparaginsav, glutaminsav, ornitin, 2,4-diamino-vajsav, 2,3-diaminopropionsav vagy 2-amino-vajsav;
- R<sub>5</sub> jelentése tirozin, glutaminsav, homoglutaminsav vagy homohomoglutaminsav;

R<sub>6</sub>

jelentése béta-D-naftil-alanin,  
 (B)D-triptofán, (A')D-fenil-alanin, (D)D-ho-  
 moarginin, D-tirozin, (C)D-hisztidin, D-piri-  
 dil-alanin, (D)D-arginin, D-leucin, D-izoleu-  
 cin, D-valin, D-norleucin, D-alanin, D-prolin,  
 O-(tercier-butyl)-D-szerin vagy D-norvalin;

A'            jelentése azonos A fenti jelentésé-  
 vel, vagy aminocsoport, metil-amino-  
 -csoport vagy guanidincsoport;

B            jelentése hidrogénatom, nitrocsoport,  
 aminocsoport, metoxicsoport, fluor-  
 atom, klóratom, brómatom, metilcso-  
 port, az indolgyűrű nitrogénatomjához  
 kapcsolódó formilcsoport vagy az in-  
 dolgyűrű nitrogénatomjához kapcsolódó  
 acetylcsoport;

C            jelentése hidrogénatom, az imidazol-  
 gyűrű nitrogénatomjához kapcsolódó  
 benzilcsoport vagy dinitro-fenil-  
 -csoport;

D            jelentése hidrogénatom vagy két rö-  
 vidszénláncu alkilcsoport;

R<sub>7</sub>

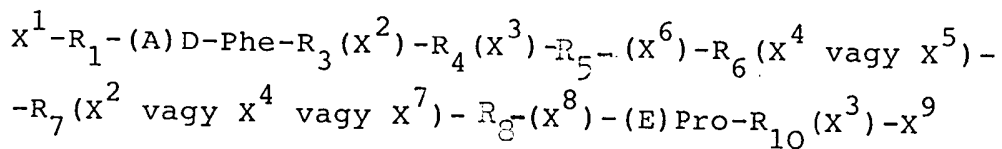
jelentése norleucin, leucin, az alfa-amino-  
 -csoporton metilezett leucin, fenil-alanin,  
 metionin, norvalin, tirozin, triptofán vagy  
 piridil-alanin;

- R<sub>8</sub> jelentése (D)-arginin, (D)-homoarginin, homolizin, homohomolizin vagy lizin;
- E jelentése hidrogénatom, hidroxilcsoport vagy "dehydro"; és
- R<sub>10</sub> jelentése glicin, D-alanin, cisztein, aszparaginsav, glutaminsav, ornitin, 2,4-diamino--vajsav, 2,3-diamino-propionsav vagy 2-amino--vajsav;
- azzal a megkötéssel, hogy ha
- R<sub>4</sub> jelentése cisztein vagy 2-amino-vajsav, akkor
- R<sub>10</sub> jelentése cisztein vagy 2-amino-vajsav; továbbá, ha
- R<sub>4</sub> jelentése aszparaginsav vagy glutaminsav, akkor
- R<sub>10</sub> jelentése ornitin, 2,4-diamino-vajsav vagy 2,3-diamino-propionsav; továbbá, ha
- R<sub>4</sub> jelentése ornitin, 2,4-diamino-vajsav vagy 2,3-diamino-propionsav, akkor
- R<sub>10</sub> jelentése aszparaginsav vagy glutaminsav; továbbá, ha
- R<sub>5</sub> jelentése glutaminsav, akkor
- R<sub>8</sub> jelentése lizin; továbbá, ha
- R<sub>1</sub> jelentése D-cisztein vagy D-2-amino-vajsav, akkor
- R<sub>3</sub> jelentése D-cisztein vagy D-2-amino-vajsav; továbbá, ha

- $R_1$  jelentése D-aszparaginsav vagy D-glutaminsav, akkor
- $R_3$  jelentése D-lizin, D-ornitin, D-2,4-diaminovájsav vagy D-2,3-diaminopropionsav; továbbá, ha
- $R_1$  jelentése D-lizin, D-ornitin, D-2,4-diaminovájsav vagy D-2,3-diaminopropionsav, akkor
- $R_3$  jelentése D-aszparaginsav vagy D-glutaminsav;

azzal jellemezve, hogy

a) először előállítunk egy



általános képletű, ahol

- $X^1$  jelentése hidrogénatom vagy az alfa-aminocsoport védésére alkalmas védőcsoport;
- $X^2$  jelentése hidrogénatom vagy az indolgyűrű nitrogénatomjának védésére alkalmas védőcsoport;
- $X^3$  jelentése egy közvetlen kötés, hidrogénatom vagy a cisztein védésére alkalmas védőcsoport, vagy pedig egy oldalláncban levő aminocsoport vagy karboxilcsoport védésére alkalmas védőcsoport;

- $X^4$  jelentése hidrogénatom vagy a tirozin fenolos hidroxilcsoportjának védésére alkalmas védőcsoport;
- $X^5$  jelentése hidrogénatom vagy az oldalláncban levő guanidincsoport vagy imidazolgyűrű védésére alkalmas védőcsoport;
- $X^6$  jelentése bázissal lehasítható, az oldalláncban levő karboxilcsoport védésére alkalmas védőcsoport vagy egy közvetlen kötés;
- $X^7$  jelentése a metionin védésére alkalmas védőcsoport;
- $X^8$  jelentése bázissal lehasítható, az oldalláncban levő aminocsoport védésére alkalmas védőcsoport vagy egy közvetlen kötés; és
- $X^9$  jelentése  $O-CH_2-(gyanta)$  vagy  $-NH-(gyanta)$  általános képletű csoport, továbbá észtercsoport vagy amidcsoport;

köztiterméket; ezután

b) az  $X^1 - X^8$  helyén szereplő egy vagy több védőcsoportot eltávolítunk és/vagy az  $X^9$  részét képező gyantáról lehasítjuk a peptidet; majd

c) adott esetben gyűrűt alakítunk ki a fentiekben említett három aminosav-pár egyikében, amennyiben még nincs jelen, és kívánt esetben



d) a kapott peptidet nem-toxikus sójává alakítjuk.

A meghatalmazott

2017.01.11  
HJ

HJ. Szerfpéteri Ádám  
Szabófalvi ügyvéd  
az S.B.C. É.H. Zrt. ügyvezetője  
Szabófalvi Irodai tagja  
H-1061 Budapest, Dunaújvárosi u. 10.  
Telefon: 153-3733 / Fax: 153-3664