

(19)



(10) **LT 3375 B**

(12)

PATENTO APRAŠYMAS

(11) Patento numeris: **3375**

(51) Int.Cl.⁵: **C07K 7/06,
A61K 37/02**

(21) Paraiškos numeris: **IP717**

(22) Paraiškos padavimo data: **1993 06 25**

(41) Paraiškos paskelbimo data: **1995 01 31**

(45) Patento paskelbimo data: **1995 08 25**

(60) SU duomenys: **SU 4742009, 1989 09 14**

(31,32,33) Prioritetas: **38 39 581.9, 1988 11 24, DE
39 16 291.5, 1989 05 19, DE
39 18 225.8, 1989 06 03, DE**

(72) Išradėjas:

**Stephan Henke, DE
Hiristo Anagnostopulos, DE
Gerhard Breipohl, DE
Jochen Knolle, DE
Jens Stechl, DE
Bernward Schoelkens, DE
Hans-Wolfram Fehlhaber, DE**

(73) Patento savininkas:

HOECHST AKTIENGESELLSCHAFT, D-65926 Frankfurt am Main, DE

(74) Patentinis patikėtinis:

Reda Žablienė, 7, UAB "Metida", Pilies g. 8/1-2, 2600 MTP Vilnius, LT

(54) Pavadinimas:

Peptidai ir farmacinė kompozicija jų pagrindu

(57) Referatas:

Nauji veikiantys bradikinin-antagonistiniai peptidai pagal I formulę
A-B-C-E-F-K-(D)-Tic-G-M-F'-I

(I)

LT 3375 B

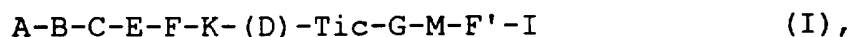
kurioje radikalai turi tekste aprašytas reikšmes, o taip pat fiziologiškai priimtinos druskos bei farmacinės kompozicijos jų pagrindu. Jų terapinis panaudojimas esant visoms pataloginėms būsenoms, kurias iššaukia bradikininas ir giminingi bradikininui peptidai.

Išradimas priskiriamas naujiems bradikinin-antagonistinio veikimo peptidams, o taip pat farmakologinei kompozicijai, sudarytai jų pagrindu.

- 5 PCT paraiškoje Nr. 86/07263 aprašomi bradikinin-antagonistiniai peptidai, kuriuose, be kitko, peptidinio hormono bradikinino arba jo analogo L-Pro 7 pozicijoje pakeistas D-aminorūgštimi, kaip, pvz. D-Phe, D-Thi, D-Pal, CDP, MDY, D-Phg, D-His, D-Tp, D-Tyr, 10 D-hPhe, D-Val, D-Ala, D-His, D-Ile, D-Leu ir DOMT.

Šio išradimo esmė buvo - surasti naujus bradikinin-antagonistėmis savybėmis pasižyminčius peptidus.

- 15 Šis uždavinys išsprendžiamas pagalba peptidų, kurių formulė:



kurioje

20

A reiškia vandenilį, (C_1-C_6) - alkanoilą arba (C_1-C_6) - alkanoilą, pakeistą karboksilo grupe, arba radikala, kurio formulė II



25

kurioje

R^1 reiškia vandenilį, C_1-C_6 - alkanoilą arba C_1-C_6 - alkanoilą, pakeistą hidroksifenilpropionilu;

30

R^2 reiškia vandenilio atomą; ir

R^3 reiškia C_1-C_6 - alkilą, pakeistą amino, guanido grupe, fenilu, pakeistu hidroksilo grupe.

B reiškia tiesioginę jungtį arba pagrindinę aminorūgštį, esančią L- arba D- konfigūracijoje, minėta aminorūgštis priklauso Arg, Lys ir Orn eilei, ir gali būti pakeistos šoninėje grandinėje benziloksikarbonilu, nitrogrupe, tozilu, nikotinoilu, $-\text{CO}-\text{NH}-\text{C}_6\text{H}_6$ arba 2, 3, 5-trimetil-4-metoksifenilsulfonilu;

C reiškia junginį pagal formulę IIIa



kurioje G' yra nepriklausomas radikalas, kurio formulė IV



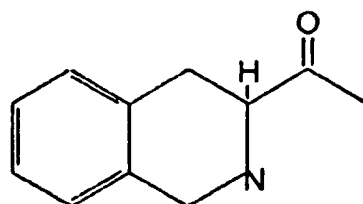
kurioje R^4 ir R^5 kartu su kitais atomais sudaro heterociklinę, monociklinę sistemą, turinčią 1 azoto atomą ir keturius anglies atomus, sistemą, kuri gali būti pakeista hidroksigrupe arba grupe, turinčią 1 azoto atomą, 3 anglies atomus ir 1 deguonies atomą arba sudarančią heterociklinę, biciklinę žiedinę sistemą, turinčią 1 azoto atomą ir 7 anglies atomus;

E reiškia L- arba D- konfigūracijos Phe, Trn arba Thia aromatinės aminorūgšties liekaną;

F reiškia L- arba D- konfigūracijos Ash, Cys, Gln, Orn, Ser, Trp, Phe, Thia aminorūgšties radikalą arba tiesioginę jungtį.

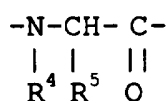
K reiškia radikalą $-\text{NH}-(\text{CH}_2)_x-\text{CO}$, kur $x=1-2$, arba reiškia tiesioginę jungtį.

(D) - Tie reiškia grupę, kurios formulė V



(V)

G reiškia tiesioginę jungtį arba radikala, kurio formulė IV



5 kurioje R^4 ir R^5 kartu su kitais atomais sudaro heterociklinę, monociklinę sistemą, turinčią 1 azoto atomą ir keturius anglies atomus, arba sistemą, turinčią 1 azoto atomą, 3 anglies atomus ir 1 deguonies atomą arba sudarančią heterociklinę, biciklinę žiedinę
10 sistemą, turinčią 1 azoto atomą ir 7-9 anglies atomus;

F' reiškia liekaną $\text{-NH-(CH}_2\text{)}_4\text{-}$, arba L- arba D- konfigūracijos Arg arba Ser aminorūgšties radikala, kuris gali būti pakeistas ramnozilu arba 2, 3, 5-trimetil-4-
15 metoksifenilsulfonilu arba reiškia tiesioginę jungtį;

I reiškia amino arba hidroksigrupę, arba fiziologiškai priimtinas jų druskas.

20 Jeigu nieko kito nenurodyta, tai aminorūgšties radikalo pažymėjimas, be stereodeskriptoriaus reiškia, kad radikalas yra L-formoje (Šrioderis, Liubke, "Peptidai", 1 tomas, Niujorkas, 1965, psl. XXII-XXIII; Houben-Veil, "Organinės chemijos metodai", tomai XV/1 ir 2,
25 Štutgartas 1974) kaip pavyzdžiui:

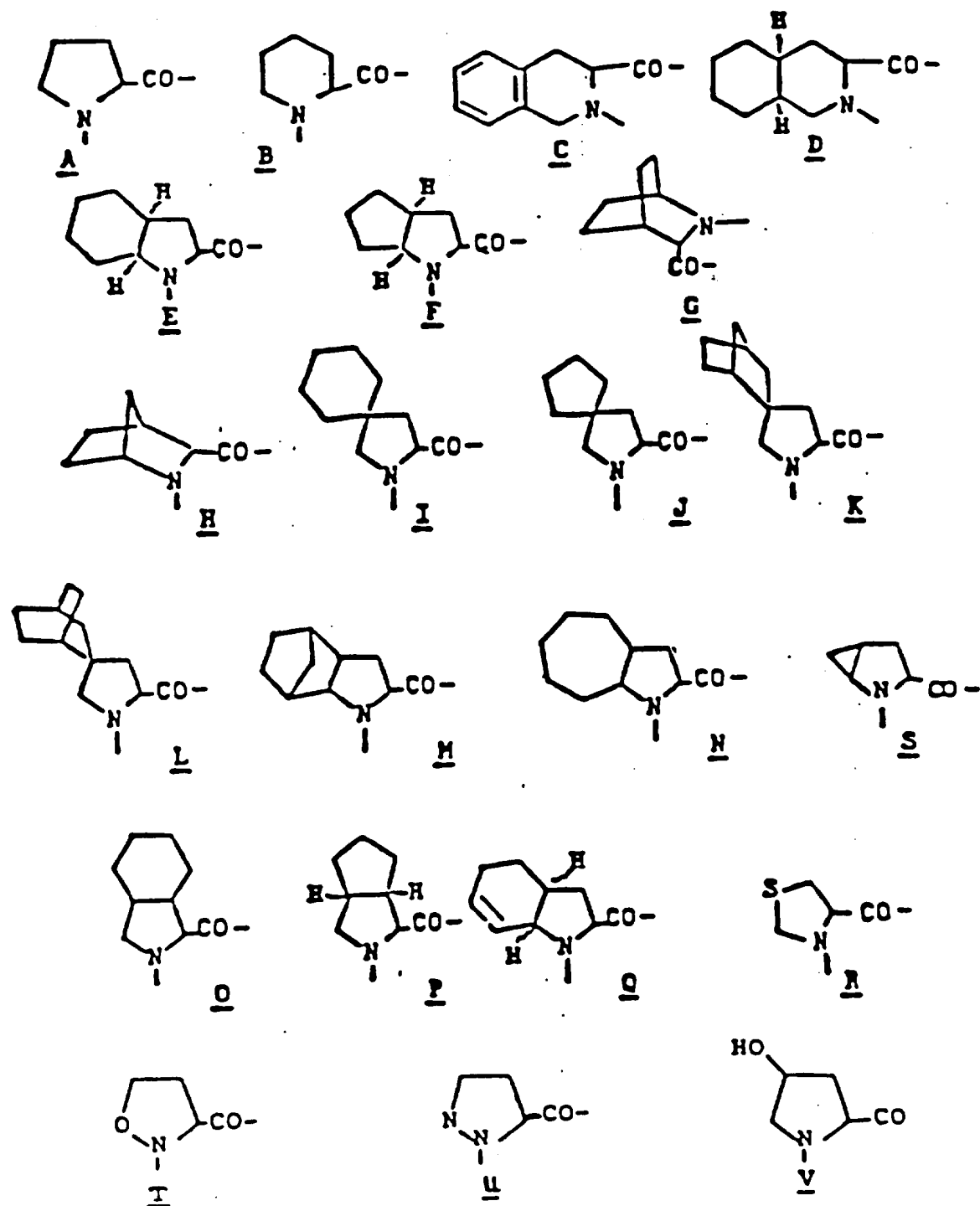
Aad, Abu, γ Abu, ABz, ξ ABz, ξ Aca, Ach, Acp, Adpd, Ahb, Aib, β Aib, Ala, β Ala, Ala, Alg, All, Ama, Apl, Apm,

Apr, Arg, Asn, Asp, Asu, Aze, Azi, Bai, Bhp, Can, Cit,
Cys, Cyta, Daad, Dab, Daad, Dap, Dapm, Dasu, Djen, Dpa,
Dtc, Fel, Gln, Glu, Gly, Guv, hAla, hArg, hCys, hGln,
hClu, His, hIle, hLeu, hLus, hMet, hPhe, hPro, hSer,
5 hThr, hTrp, hTyr, Hyl, Hyp, εHyp, Ile, Ise, Iva, Kyn,
Lant, Len, Leu, Lsg, Lys, βLys, Lys, met, Mim, Min,
nArg, Nle, Nva, Oly, Orn, Pan, Pec, Pen, Phe, Phg, Pic,
Pro, Pro, Pse, Pyc, Pyr, Pza, Qin, Ros, Sar, Sec, Sem,
Ser, Thi, βThi, Thr, Thy, Thx, Tia, Tle, Tly, Trp,
10 Trta, Tyr, Val.

IV formulėje heterociklinės žiedinės sistemos radikalas
gali būti sekančių grupių heterociklų radikalai:

15 pirolidinas (A); piperidinas (B); tetrahydroizochi-
nolinas (C); dekahidroizochinolinas (D); oktahidroin-
dolas (E); oktahidrociklopenta (b)-pirolas (F); 2-azi-
biciklo(2.2.3)-oktanas (G); 3-azibiciklo (2.3.1)-
heptanas (H); 2-azispiro(4.4)-nonanas(J); spiro (bi-
20 ciklo(2.2.1)-heptan)-2,3-pirolidinas) (K); spiro ((bi-
ciklo(2.2.2)oktan)-2,3-pirolidinas) (L); 2-azitriciklo
(4.3.0.1^{6,9})-dekanas (M); dekahidrociklohepta(b)pirolas
(N); oktahidroizoindolas (O); oktahidrociklopenta
(c)pirolas (P); 2,3,3a,4,5,7a-heksahidroindolas (Q);
25 tetrahidrotiazolas (R); 2-azibiciklo(3.1.0)heksanas
(S); izoksoazolinas (T); pirozolidinas (U); hidroksi-
prolinas (V); kurie esant reikalui gali būti
pakeičiami.

30 Aukščiau minėtuose radikaluose esantys heterociklai
psl.2a žinomi pagal JAV paraiškas Nr. 4344349, 4374847,
4350704, EP paraiškas Nr. 50800, 51741, 51080, 49658,
49605, 29488, 46958, 52870, 271865, VFR paraiškas Nr.
3226768, 3151690, 3210496, 3211397, 3211676, 3227555,
35 3242151, 2346503 ir 3246757.



Be to, kai kurie iš šių heterociklų pateikiami VFR paraiškoje Nr. 3818850.3.

5 Jeigu specialiai nepažymėta, alkilas gali turėti tiesią ar besišakančią atomų grandinę. Tai taip pat galioja ir tokiems radikalams, kaip, pvz. alkokcilas, arilalkilas arba alkanoilas. (C_6 - C_{12})-arilas dažniausiai reiškia fenilą, naftilą arba bifenilą. Atitinkamai galima sudaryti ir sudėtingesnius radikalus, kaip, pvz.
10 ariloksilas, arilalkilas arba aroilas.

Halogenas reiškia fluora, chlorą, bromą arba jodą, pirmenybę teikiant chlorui.

15 Iš druskų pageidautinos šarminių metalų druskos, arba žemės šarminių metalų druskos, druskos su fiziologiškai priimtinais aminais ir druskos, į kurių sudėtį įeina liekanos organinių ir neorganinių rūgščių, kaip druskos rūgštis, bromo vandenilio rūgštis, sieros rūgštis,
20 fumaro rūgštis, citrinos rūgštis, malono rūgštis, acto rūgštis ir kt.

Labiau pageidaujami I formulės peptidai, kur

25 B reiškia arginina, lizina, ornitina, 2,4-diaminobutiroilą, arba L-homoarginino liekaną, kai atitinkamai aminogrupė arba guanidinogrupė, esanti šoninėje grandinėje gali būti pakeista A, kaip aprašyta punktuose a_1) arba a_2);

30 E reiškia L- arba D- konfigūracijos aromatinės amino-rūgšties liekanos radikala, kuris arilinėje dalyje gali būti pakeistas halogenu 2-oje, 3-oje arba 4-oje pozicijoje, tirozinas, O-metiltirozinas, 2-piridil-alaninas arba naftilalaninas;

35

F reiškia L- arba D- konfigūracijos pagrindinės aminorūgšties radikala, pvz. arginina arba lizina, vienok guanidino grupė arba aminogrupė, esanti šoninėje grandinėje, gali būti pakeista A, kas aprašyta punkte 5 a₁) arba a₂), arba reiškia radikala -NH-(CH₂)_n- kur n=2-8;

K- reiškia radikala -NH-(CH₂)_x-CO, kur X=2-4, arba reiškia tiesioginę jungtį. Labiau pageidaujami yra 10 junginiai, kurie atitinka formulę I, kurioje:

B reiškia arginina, ornitina arba lizina, kai guanidino grupė arba aminogrupė, esanti šoninėje grandinėje yra nepakeista arba pakeista (C₁-C₈)-alkanoilu, (C₇-C₁₀)- 15 ariloilu, (C₃-C₈)-heteroariloilu, (C₁-C₈)-alkisulfonilu arba (C₆-C₁₂)-arilsulfonilu, kai arilo, heteroarilo, ariloilo, arilsulfonilo ir heteroariloilo radikalai, kaip aprašyta punkte a₂) gali būti pakeisti 1, 2, 3 arba 4 vienodais ar skirtingais radikalais;

20 E reiškia fenilalanina, 2-chlorfenilalanina, 3-chlorfenilalanina, 4-chlorfenilalanina, 2-fluorfenilalanina, 3-fluorfenilalanina, 4-fluorfenilalanina, tirozina, O-metiltirozina arba β-(3-tinil)alanina;

25 F reiškia paprastą jungtį; ir

M reiškia paprastą jungtį.

30 Labiausiai tinka peptidai pagal I formulę, kurioje:

A reiškia vandenilį, (D)- arba (L)-H-arginina, (D)- arba (L)-H-lizina, arba (D)- arba (L)-H-ornitina;

35 B reiškia argininas, ornitinas arba lizinas, kai guanidino grupė arba aminogrupė, esanti šoninėje grandinėje gali būti pakeista vandeniliu, (C₁-C₈)-

alkanoilu, (C₇-C₁₃)-ariloilu, (C₈-C₉)-heteroaloilu, (C₁-C₈)-alkilsulfonilu arba (C₆-C₁₂)-arilsulfonilu, kur arilo, heteroarilo, ariloilo, arilsulfonilo ir heteroariloilo radikalai, reikalui esant gali būti pakeisti 1, 2, 3 arba 4 vienodais ar skirtingais radikalais, pasirinktais iš metoksilo arba halogeno.

C reiškia Pro-Pro-Gly, Hyp-Pro-Gly arba Pro-Hyp-Gly;

10 E reiškia Phe arba Thi;

F reiškia Ser, Hser, Leu, Lys, Val, Nle, Ile arba Thr;

15 K reiškia paprastą jungtį; M reiškia paprastą jungtį;

G reiškia IV formulės heterociklinės žiedinės sistemos radikalą, kur geriau tinka heterociklų radikalai, kuriems priklauso pirolodinas (A); piperidinas (B); tetrahydroizochinolinas (C); cis- ir trans-dekahidroizochinolinas (D); cis-endo oktahidroindolas (E); cis-eksi-oktahidroindolas (E); trans-oktahidroindolas (E); cis-endo, cis-eski-, trans-oktahidrociklopentano(b)pirolas (F) arba hidroksiprolinas (V).

25 F' reiškia arginina, ir

I reiškia OH.

Labiausiai tinkamai I formulės peptidai yra:

30

H-(D)-Arg-Arg-Pro-Hyp-Gly-Thia-Ser-(D)-Tic-Oic-Arg-OH

H-(D)-Arg-Arg-Pro-Pro-Gly-Thia-Ser(D)-Tic-Oic-Arg-OH

35

H-(D)-Arg-Arg-Pro-Hyp-Gly-PPhe-Ser(D)-Tic-Oic-Arg-OH

H-(D)-Arg-Arg-Hyp-Pro-Gly-Phe-Ser(D)-Tic-Oic-Arg-OH

H-(D)-Arg-Arg-Pro-Pro-Gly-Phe-Ser(D)-Tic-Oic-Arg-OH

5 Išradime kalbama apie I formulės peptidų gavybos būdą,
kuris apibūdinamas tuo, kad

a) fragmentas su C-galine laisva karboksiline grupe
arba jo aktyvuotas darinys sujungiamas su atitinkamu
laisvu N-galiniu aminogrupės fragmentu, arba

10

b) laipsniškai sukurama peptido struktūra, gautame
atitinkamai pagal (a) arba (b) junginyje, reikalui
esant, atskeliama, viena ar kelios apsauginės grupės,
kurios buvo prijungtos kitų funkcijų apsaugai, ir tokiu
15 būdu gauti I formulės junginiai, reikalui esant,
paverčiami į fiziologiškai įsisavinamas druskas.

Šiame išradime pateikti peptidai buvo gauti, naudojant
žinomus peptidų cheminius būdus, pvz. pagal Houbenweyl,
20 Methoden der organischen Chemie, Band 15/3,
B. Merrifield, J. Am. Chem. Soc. 86, 2149 (1963) arba
R. C. Shepard, Int. J. Peptide protein Res. 21, 118
(1983). Kaip α -amino apsauganti grupė yra naudojama
uretaninė apsauginė grupė, kaip, pvz. tretinė
25 butiloksikarbonilinė (Boc) apsauginė grupė arba
fluoretilmetoksikarbonilinė (Fmac). Reikalui esant,
pvz. norint išvengti šalutinių reakcijų ar siekiant
susintetinti specialius peptidus, funkcinės grupės,
esančios aminorūgščių šoninėse grandinėse gali būti
30 apsaugotos atitinkamomis apsauginėmis grupėmis
(T.W.Greene, "Protective Groups in organic Synthesis"),
ir pirmiausia tam naudojama Arg(Tos), Arg(Mts),
Arg(mir), Arg(PMC), Asp(OBzl), Asp(Obut), Cys(4-MeBlz),
Cys(SBut), Glu(OBzl), Glu(Obut), His(Tos), His(fmoc),
35 His(Dnp), His(Trt), Lys(Cl-z), Lys(Boc), Met(o),
Ser(But), Ser(Bzl), Thi(Bzl), Thr(But), Trp(Mts),
Trp(CHO), Tyr(Bzl) arba Tyr(But).

Kietos fazės sintezė prasideda peptido C-gale, susirišant apsaugotą aminorūgštį su atitinkama derva. Tokios pradinės medžiagos gali būti gautos surišant
5 apsaugomą aminorūgštį su modifikuota chlormetilo, hidroksimetilo, benzhidrilamino (BHA) arba metilbenz-
hidlamino (MBHA) grupės pagalba polistirolinė arba poliakrilamidinė derva esterine arba amidine jungtimi. Naudojamos kaip pagrindas dervos gali būti išsigytos
10 komerciniais kanalais.

BHA- ir MBHA- dervos paprastai naudojamos tada, kai susintetintas peptidas C-gale turi turėti laisvą amido grupę. Jeigu peptidas C-gale turi turėti antrinę amido
15 grupę, naudojamos chlormetilinė arba hidroksimetilinė derva ir atskėlimas vykdomas atitinkamų aminių pagalba. Jeigu, pavyzdžiui, norima gauti etilamidą, peptidas gali būti atskirtas nuo dervos etilamino pagalba, ir šoninės grandinės apsauginė grupė pašalinama vėliau
20 atitinkamų reagentų pagalba. Jeigu peptido aminorūgšties tretinio butilo apsauginės grupės turi apsaugoti šoninę grandinę, tai sintezė vykdoma Fmoc-apsauginės grupės pagalba, siekiant laikinai užblokuoti aminorūgšties α -aminogrupę, naudojant aprašytą pavz.
25 R.C. Sheppard. J. Chem. Soc., Chem. Comm. 1983, 587 metodiką, kai arginino guanidino grupę apsaugoma piridin-perchlorato pagalba, o kitos funkcinės grupės aminorūgščių šoninėje grandinėje apsaugomos apsauginių benzilo grupių pagalba, kurios atskeliamos katalitiškai
30 hidrinant (A. Felix et al. J. Org. Chem. 13, 4194 (1978)) arba natriu skystame amoniake (W. Robetrts. J. Am. Chem. Soc. 76, 6303 (1954)).

Atskėlus sujungtos su derva aminorūgšties apsauginę
35 aminogrupę, atitinkamo reagento, pvz. trifluoracto rūgšties metileno chloride šesant Boc apsauginei grupei) arba 20 % piperidino dimetilformamide tirpalu

(esant Fmoc apsauginei grupei), aminorūgštys nuosekliai sujungiamos norima seka. Tarpiniame etape susidariusios peptidinės dervos prieš susirišimą su sekančiu aminorūgšties dariniu deblokuojamos aukščiau aprašytų reagentų pagalba.

Kaip reagentai gali būti naudojami visi aktyvuojantys reagentai, naudojami peptidų sintezėje, pvz. Houben-Weil "Organinės chemijos metodai", t.15/2, tokie kaip karbodiimidai, kaip N, N'-dicikloheksilkarbodimidas arba N-etil-N'-(3-dimetilaminopropil)karbodiimidas. Sujungimas su derva gali būti vykdomas aktyvuojančio reagento pagalba tiesiogiai prijungiant aminorūgšties darinį, bei, reikalui esant, su racemizacija slopinančiu priedu, kaip 1-hidroksibenzotriazolu (HOBt) (W. König, R. Geiger, Chem. Ber. 103, 708 (1970) arba 3-hidroksi-4-okso 3,4-dihidrobenzotriazinu (HOOBt) (W. König, R. Geiger, Chem. Ber. 103, 2054 (1970)) vienok pradinis aktyvavimas aminorūgšties kaip simetrinio anhidrido arba HOBt- arba HOOBt-esterio gali būti vykdomas atskirai ir toks aktyvuotas tirpalas gali būti pridedamas prie peptinės dervos.

Aminorūgšties sujungimas arba aktyvavimas vienu iš aukščiau paminėtų aktyvuojančių reagentų gali būti vykdomas dimetilformamide, N'-metilpirolidone, metileno chloride arba šių tirpiklių mišinyje. Aktyvus aminorūgšties darinys paprastai naudojamas 1,5-4 didesniame, negu reikalinga, kiekyje. Jeigu įvyksta nepilna sujungimo reakcija, ji yra kartojama, nevykdant peptidinės dervos aminogrupės deblokavimo.

Sėkminga reakcijos eiga gali būti kontroliuojama ninhidrino reakcijos pagalba, kaip aprašyta E. Kaiser et al. Anal. Biochem. 34, 595 (1970). Sintezė taip pat gali būti automatizuota, pvz. panaudojant firmos "Applied Biosystems" peptidų sintezės programas, tiek

sudaryti naujas. Pastarosios reikalingos naudojant aminorūgštis, apsaugotas Fmoc- grupėmis.

Po to, kai aukščiau aprašytu būdu susintetinamas
5 peptidas, jis gali būti atskeltas nuo dervos skysto fluoro vandenilio (peptidams, gautiems pagal Boc metoda) arba trifluoracto rūgštis (peptidams, gautiems pagal Fmoc metoda) pagalba. Šie reagentai atskelia ne tik peptidą nuo dervos, bet ir kitas apsaugines šonines
10 grandinės grupes. Tokiu būdu, naudojant BHA- ir MBHA- dervas peptidas gaunamas rūgštis formoje. Naudojant BHA- ir MBHA- dervas, atskeliant fluoro vandeniliu ar trifluoracto rūgštimi, peptidas gaunamas rūgštis amido pavidale. Kiti peptido amido gavimo būdai aprašyti
15 patentinėse VFR paraiškose nr. P37 11 866.8 ir P37 43 620.1. Čia peptido amidų atskyrimas nuo dervos vykdomas naudojant paprastai peptidų sintezėje naudojamas vidutinio stiprumo rūgštis (pvz. trifluoracto rūgštį), o katijonams neutralizuoti naudojami tokie junginiai,
20 kaip pvz., fenolas, krezolas, triokrezolas, anizolas, etanditiolas, dimetilsulfidas, etilmetilsulfidas ir kt. naudojami tokiais atvejais, atskirai arba mišinyje. Trifluoracto rūgštis gali būti naudojama ir praskiesta atitinkamais tirpikliais, kai pvz. metilo chloridu.

25 Jeigu turi būti išsaugotos peptidinių šoninių grandinių tretinio butilo arba benzilo apsauginės grupės, susintetinto peptido atskyrimas vykdomas 1-procentinės praskiestos metilo chloride trifluoracto rūgštis pagalba (R. C. Shepard. J. Chem. Soc. Chem. Comm. 1983, 587). Jeigu turi būti išsaugotos tretinio butilo arba benzilo apsauginės grupės, naudojami atitinkami sintezės atskyrimo būdai.

35 Sintetinant peptidus C-galinės amidinės grupės, ω -amino- arba ω -guanidinalkilinės grupės pagalba taip pat naudojama Šepardo aprašyta derva.

Po sintezės apsaugotos šoninėje grandinėje peptidas atskiriamas nuo dervos ir toliau atitinkamo amino, ω -aminoalkilamino arba ω -guanidinalkilamino pagalba yra
5 perdaromas, ir reikalui esant kitos grupės gali būti laikinai apsaugotos žinomais metodais.

Kitas peptidų gavimo ω -aminoalkilinės grupės pagalba būdas aprašytas VFR patentinėje paraiškoje Nr. 36 35 670.0.
10

Išradime pateikiami peptidai buvo sintetinami daugiausiai kietoje fazėje reakcijų pagalba, naudojant dvi apsauginių grupių taktikas.

15 Sintezė buvo vykdoma firmos "Applied Biosystems" peptidų sintezės automatinio modeliu 430A, panaudojant Boc- ir Fmoc- apsauginių grupių metodą laikinam α -aminogrupės blokavimui.

20 Naudojant Boc-apsauginę grupę, panaudotos gamintojo sudarytos sintezės programos.

Peptidų su laisva karboksiline grupe C-gale sintezė buvo vykdoma apdorotoje su atitinkama Boc-aminorūgštimi
25 4-(hidroksimetil) fenilacetamidometilpolistirolo dervoje (R. B. Merrifield. J. Org. Chem. 43, 2845 (1978)), pateiktoje "Applied Biosystems" firmos. Peptidamidams gauti buvo panaudota tos pačios firmos MBHA-derva.

30 Kai aktyvuojantys reagentai naudojami N, N'-dicikloheksilkarbodiimidais arba N, N'-diizopropilkarbodiimidais. Aktyvavimas buvo vykdomas simetriniame anhidride, HOBt-eteryje arba NMP. Sujungimui buvo naudojama
35 2-4 aktyvuoto aminorūgšties darinio ekvivalentai. Jeigu susijungimo reakcija įvykdavo nepilnai, ji buvo kartojama.

Naudojant Fmoc- apsauginę grupę laikinam α -amino grupės apsaugojimui sintezės firmos "Applied Biosystems" modeliu 430A buvo sudarytos naujos sintezės programos.

5 Sintezė vyko ant firmos "Bachem" p-benzil-oksibenzilalkoholio dervos (S. Wang. J. Am. Chem. Soc. 95, 1328 (1973)), kuri buvo esterinama pagal žinomą metodiką (E. Atherton et al. J. C. S. Chem. Comm. 1981, 336) atitinkamos aminorūgšties pagalba. Aminorūgšties

10 darinių HOBt- ir HOObt- esterių pavidale aktyvavimas buvo vykdomas gamintojo pateiktose kapsulėse su aminorūgštimi pridedant diizopropilkarbodiimido tirpalą dimetilformamide į anksčiau gautą HOBt arba HOObt ir aminorūgšties darinio mišinį. Lygiai taip pat

15 substancijoje gali būti naudojami gauti Fmoc-aminorūgšties-OObt-esteriai, kaip aprašyta EP paraiškoje Nr. 87107634.5. Fmoc- apsauginės grupės atskėlimas buvo vykdomas 20 % piperidino dimetilforamide tirpalo pagalba reakcijos inde.

20 Aminorūgšties darinio naudotas perteklius sudarė 1,5-2,5 ekvivalento. Jeigu susijungimas buvo nepilnas, jis, kaip ir Boc- metode, buvo kartojamas.

Išradime pateikti peptidai kiekvienas atskirai ar kartu

25 pasižymi bradikinin-antagonistiniu poveikiu, kuri galima patikrinti įvairiais modeliais (Handbook of Exp. Pharmacol., Vol 25, Springer Verlag, 1970, S. 53-55), kaip pvz. izoliuotoje žiurkės gimdoje, jūros kiaulytės žarnoje arba jūros kiaulytės izoliuotoje plaučių arterijoje.

30

Išbandant išradime pateiktus peptidus jūros kiaulytės izoliuotoje plaučių arterijoje (Dunkin. Hartley) 400-450 g svorio jūros kiaulytės numarinamos smūgiu į

35 pakaušį.

Atidaroma krūtinės ląsta ir atsargiai išimama plaučių arterija. Supantys audiniai pašalinami ir arterija 45 ° kampu spirališkai supjaustoma.

- 5 Gautą 2,5 ilgio ir 3-4 cm pločio arterijos juosta fiksuoja 10 ml organinėje vonioje, užpildytoje tirpalu.

Tirpalo sudėtis mmol/l

NaCl	154
KCl	5,6
CaCl ₂	1,9
NaHCO ₃	2,4
gliukozė	5,0

10

Per tirpalą praleidžiama 95 % O₂ ir 5 % CO₂ mišinį ir pakaitina jį iki 37 °C. Vandenilio rodiklis yra 7,4, pradinė arterijos juostos apkrova - 1,0 g.

- 15 Izotoniniai susitraukimo pasikeitimai yra registruojami Hugo Zakso aukštadažnio modemo pagalba ir užrašomi kompensografu (BEC, Coerc Metrawatt SE460).

- 20 Po valandos nusistovėjus pusiausvyrai, pradedamas bandymas. Po to, kai juostos pasiekė didžiausią jautrumo laipsnį 2×10^{-7} mol/l bradikinino dozei (bradikininas iššaukia arterijų juostų susitraukimą), 10 minučių veikia 5×10^{-8} - 5×10^{-5} mol/l peptidų dozė ir po naujos bradikinino dozės nustatomas jo veikimo efektyvumo sumažėjimas, lyginant su kontroliniu mėginiu.
- 25

Dalinio antagonistinio efekto nustatymui peptidai naudojami dozėse 1×10^{-5} - 1×10^{-3} mol/l.

- 30 Apskaičiuotos pagal dozių poveikio grafikus IC₅₀ - reikšmės išradime pateiktiems peptidams parodytos 1 lentelėje.

Junginys	IC ₅₀
H- (D) -Arg-Arg-Hyp-Pro-Gly'-Phe-Ser- (D) -Tic-Phe-Arg-OH	4,6x10 ⁻⁶
H- (D) -Arg-Arg-Hyp-Pro-Gly-Thia-Ser- (D) -Tic-Thia-Arg-OH	2,1x10 ⁻⁶
H- (D) -Arg-Arg-Pro-Hyp-Gly-Phe-Ser- (D) -Tic-Phe-Arg-OH	1,2x10 ⁻⁵
H- (D) -Arg-Arg-Hyp-Pro-Gly-Phe-Glo- (D) -Tic-Phe-Arg-OH	2,4x10 ⁻⁵
H- (D) -Arg-Arg-Pro-Hyp-Gly-Phe-Ser- (D) -Tic-Phe-Arg (Mts) -OH	2,5x10 ⁻⁵
H- (D) -Arg-Arg-Hyp-Pro-Gly-Phe-Ser- (D) -Tic-Pro-Arg-OH	2,5x10 ⁻⁷
H- (D) -Arg-Arg-Hyp-Pro-Gly-Thia-Ser- (D) -Tic-Pro-Arg-OH	1,9x10 ⁻⁷
H- (D) -Arg-Arg-Hyp-Pro-Gly-Thia-Ser- (D) -Tic-Aoc-Arg-OH	5,6x10 ⁻⁸
H- (D) -Arg-Arg-Hyp-Pro-Gly-Thia-Ser-β-Ala- (D) -Tic-Aoc-Arg-OH	1,7x10 ⁻⁶
H- (D) -Arg-Arg-Hyp-Pro-Gly-Thia-Ser-Gly- (D) -Tic-Aoc-Arg-OH	3,9x10 ⁻⁷
H- (D) -Arg-Arg-Hyp-Pro-Gly-Thia-Gly- (D) -Oic-Arg-OH	3,2x10 ⁻⁷
H- (D) -Arg- (D) -Arg-Hyp-Pro-Gly-Thia-Ser- (D) -Tic-Aoc-Arg-OH	4,810 ⁻⁷
H- (D) -Arg-Arg-Hyp-Pro-Gly-Thia-Ser- (D) -Tic-Tic-Arg-OH	1,7x10 ⁻⁷
H- (D) -Arg-Arg-Pro-Hyp-Gly-Thia-Ser- (D) -Tic-Aoc-Arg-OH	1,1x10 ⁻⁸
H- (D) -Arg-Arg-Pro-Hyp-Gly-Phe-Ser- (D) -Tic-Aoc-Arg-OH	4,6x10 ⁻⁸
H- (D) -Tyr-Arg-Pro-Hyp-Gly-Thia-Ser- (D) -Tic-Aoc-Arg-OH	6,2x10 ⁻⁸
H- (D) -Arg-Arg-Pro-Hyp-Gly-Thia-Ser- (D) -Tic- (D) -Oic-Arg-OH	2,6x10 ⁻⁹
H- (D) -Arg-Arg-Pro-Hyp-Gly-Thia-Ser- (D) -Tic-Oic-Arg-OH	5,4x10 ⁻⁹
H- (D) -Arg-Lys-Pro-Hyp-Gly-Phe-Ser- (D) -Tic-Aoc-Arg-OH	3,2x10 ⁻⁷
H- (D) -Arg-Arg-Pro-Hyp-Gly-Phe-Ser- (D) -Tic-Oic-Arg-OH	6,8x10 ⁻⁹
H- (D) -Arg-Arg- (NO ₂) -Pro-Hyp-Gly-Phe-Ser- (D) -Tic-Aoc-Arg-OH	6,4x10 ⁻⁸

H-(D)-Arg-Arg-Pro-Pro-Gly-Thia-Ser-(D)-Tic-Oic-Arg-OH	$4,2 \times 10^{-9}$
H-(D)-Arg-Pro-Hyp-Gly-Phe-Ser-(D)-Tic-Oic-Arg-OH	$3,4 \times 10^{-7}$
H-(D)-Arg-(Tos)-Pro-Hyp-Gly-Phe-Ser-(D)-Tic-Dic-Arg-OH	$3,0 \times 10^{-8}$
H-(D)-Arg-(Tos)-Pro-Hyp-Gly-Thia-Ser-(D)-Tic-Dic-Arg-OH	$1,8 \times 10^{-8}$

5 Terapinis išradimo peptidų panaudojimas galimas pataloginėse situacijose, kurias iššaukia bradikininas arba jam giminingi peptidai. Tai apima traumas, kaip, pvz. žaizdos, nudegimai, išbėrimai, nuogulos, angina, artritus, astmą, alergines būsenas, rinitus, šoką, uždegimus, žemą kraujospūdį, skausmą ir kt.

10 Todėl išradimas priskiriamas ir I formulės petidų panaudojimui kaip farmacines gydymo priemonės, įjungiančias šiuos peptidus.

15 Farmaciniai preparatai turi efektyvų I formulės biologiškai aktyvios medžiagos kiekį - atskiras medžiagas ar jų mišinį - kartu su neorganiniu ar organiniu farmaciškai priimtinu vaistinių preparatų pagrindu.

20 Preparatai gali būti įvedami enteraliai, parenteraliai, pvz. įvedami po oda, į raumenis ar į veną po liežuvio, per nosį, per tiesiąją žarną, makštį, inhaliacijos būdu. Biologiškai aktyvaus preparato dozavimas priklauso nuo šiltakraujų gyvūnų rūšies, kūno svorio, amžiaus ir įvedimo būdo.

25 Farmakologiniai preparatai, aprašyti išradime, paruošiami pagal žinomas metodikas kaip tirpalai, mišiniai, granulės arba dražė.

30 Įvedant aktyvius junginius per burną arba gleivinius dangalus, junginiai yra sumaišomi su tradicinėmis tam skirtomis medžiagomis, kaip medžiagomis-nešikliais,

stabilizatoriais arba inertiniais tirpikliais ir žinomų būdų pagalba realizuojami standartinėmis formomis kaip tabletės, kapsulės, dražė, vandeniniai, spiritiniai arba riebaliniai tirpalai, arba suspencijos nešikliai
 5 gali būti naudojami gumiarabikas, magnezija, magnio karbonatas, kalio fosfatas, sacharozė, gliukozė arba krakmolas, pvz. kukurūzų krakmolas. Produktas gali būti tiek sausas tiek šlapias granuliatas. Kaip riebaliniai nešikliai arba tirpikliai gali būti naudojami
 10 augaliniai aliejai arba gyvuliniai riebalai, pvz. saulėgrąžų aliejus ir žuvies taukai.

Vietiniam naudojimui preparatas gali būti realizuotas kaip vandeninis arba riebalinis tirpalas, kremas,
 15 emulsija, žele, tepalas, ir, jeigu galima, vandens - oro mišinio pavidalu, kada reikalui esant surišimas gali būti pagerintas pridedant polimerinių medžiagų.

Išvedimui per nosį junginiai sumaišomi su tam tikslui naudojamomis medžiagomis, kaip stabilizatoriais ir inertiniais tirpikliais, ir standartinių metodų pagalba paverčiami į atitinkamą pavidalą, kaip vandeninės, spiritinės, riebalinės suspensijos arba vandeniniai, spiritiniai, riebaliniai tirpalai. Į vandeninius pre-
 20 paratus, išvedamus per nosį, gali būti pridėta etillendiamin-N, N, N', N'-tetracto rūgšties, citrinos rūgšties ar jų druskų. Išvedimui per nosį gali būti naudojami dozatoriai-purkštuvai arba galimas realizavimas nosies laiš, nosies kremų pavidalu.
 25

30 Inhaliacijai gali būti naudojami purkštuvai arba suspaustų inertinių dujų balionėliai. Įvedant biologiškai aktyvius preparatus ar jų fiziologiškai įsisavinamas druskas į veną, per odą, po oda ar į odą
 35 jie gali būti maišomi su pagalbinėmis medžiagomis.

Dėl to, kad kai kurių aprašytų vaistinių preparatų skilimo pusperiodis organizame yra trumpas, yra tikslinga naudoti lėtinančias skilimo medžiagas.

- 5 Vaistinės preparatų formos gali būti pvz. riebalinės kristalinės suspensijos, mikrokapsulės, lazdelės arba impantantai, kurie gali būti padaryti iš jų biologiškai skaidomų polimerų, kaip polipieno ir poliglikolino rūgšties kopolimerų arba žmogaus albumino.

10

Tinkama lokalinio ir inhaliacinio preparatų įvedimo tirpalo koncentracija yra 0,01 - 5 mg/ml diapozone, sistemiškai naudojant preparatus tinkamos koncentracijos yra 0,01 - 10 mg/kg.

15

Sutrumpinimų sąrašas

- 20 Sutrumpinimuose naudojami aminorūgščių pažymėjimai atitinka chemijoje naudojamų trijų simbolių kodavimą, aprašytą Europ. J. Biochem. 138, 9, (1984). Kiti naudojami sutrumpinimai pateikiami žemiau.

Acm	acetamidometilas
ε-Ahx	ε-aminoheksanoilas
Aoc	cis, endo-3-azabiciklo(3.3.0)oktan-3-S-karbonilas
Hoc	tretinis butiloksikarbonilas
But	tretinis butilas
Bzl	benzilas
Cl-z	4-chlor-benziloksikarbonilas
DMF	dimetilforamidas
Dnp	2,4-dinitrofenilas

Fmoc	9-fluorenilmetiloksikarbonilas
Me	metilas
4-Mebzl	4-metilbenzilas
Mtr	4-metoksi-2,3,6-trimetilfenilsulfonilas
Mts	mezitilen-2-sulfonilas
NMP	N-metilpirolidinas
Oic	cis-endo-oktahidroindol-2-karbonilas
Opr	izoksazolidin-3-ilkarbonilas
Pmc	2,2,5,7,8-pentametilchroman-6-sulfonilas
TFA	trifluoracto rūgštis
Tcs	4-metilfenilsulfonilas
Thia	2-tienilalanilas
Tic	1,2,3,4-tetrahidroizochinolin-3-ilkarbonilas
Trt	tritilas

Žemiau pateikti pavyzdžiai paaiškina galimus peptidų sintezės kietoje fazėje metodus pagal išradimą, nesusiaurinant šio išradimo rėmų.

5

Buvo naudojami sekantys aminorūgščių dariniai:

10 Fmoc-Arg(Mtr)-OH, Boc(D)-Arg-OH, Fmoc-Arg(Pmc)-OH, Fmoc-Hyp-OH, Fmoc-Pro-OObt, Fmoc-Gly-OObt, Fmoc-Phe-OObt, Fmoc-Ser(tBu)-OObt, Fmoc-(D)-Tic-OH, Fmoc-Gln-OH, Fmoc-Aoc-OH, Fmoc-Thia-OH, Fmoc-Opr-OH, Fmoc-(D)-Asn-OH, Fmoc-β-Ala-OH, Fmoc-Oic-OH.

Pavyzdys 1

Junginys H-(D)-Arg-Arg-Hyp-Pro-Gly-Phe-Ser-(D)-Tic-Phe-Arg-OH buvo susintetintas firmos "Applied Biosystems" modelio 430A pagalba, naudojant Fmoc- metoda esterinio Fmoc-Arg(Mtr)-OH pagalba p-benziloksibenzilalkoholio dervoje iš firmos "Novabiochem" (įkrova 0,5 mmol/g dervos). Buvo naudota 1 g dervos ir sintezė vyko pagal modifikuotą Fmoc- metodui sintezės programą.

10

Į sintetatoriaus patroną patalpino 1 mmol aminorūgšties darinio su laisva karboksiline grupe. Kartu buvo patalpinta 0,95 mmol HOCbt. Pradinis šių aminorūgščių aktyvavimas buvo atliekamas patrone, ištirpinant 4 ml dimetilforamido ir pridėdant 2 ml 0,55 molinio diizopropilkarbodiimido tirpalo dimetilforamide.

15

Kitų aminorūgščių HOCbt-esteriai buvo ištirpinti 6 ml N-metilpirolidino ir po to, kaip altyvuotos amino-rūgštys, buvo sujungti reikiamoje vietoje su deblokuota 20 % piperidino tirpalu dimetilformamidine derva. Pasibaigus sintezei, peptidas, pašalinus šoninių grandinių apsaugines grupes trifluoracto rūgštimi, naudojant tionizolą ir etanditiolą, atskeltas nuo dervos. Gautas nupylus trifluoracto rūgštį produktas daug kartų apdorotas acto rūgšties esterio pagalba ir centrifuguojamas. Likęs produktas buvo chromatografuojamas Sefadex ZH₂O kolonėlėje, eliuojant 10 % acto rūgštimi. Turinčios švarų peptidą frakcijos sujungtos ir išdžiovintos

20

25

30

MS(FAB): 1984 (M+H)

Sekančių 2-24 pavyzdžių peptidai buvo pagaminti analogiškai kaip pavyzdyje 1.

35

Pavyzdys 2

H-(D)-Arg-Arg-Hyp-Pro-Gly-Pro-(D)-Ser-(D)-Tic-Phe-Arg-OH

5 MS (FAB): 1294 (M+H).

Pavyzdys 3

H-(D)-Arg-Arg-Hyp-Pro-Gly-Thia-Ser-(D)-Tic-Thia-Arg-OH.

10

MS (FAB): 1306 (M+H).

Pavyzdys 4

H-(D)-Arg-Arg-Pro-Hyp-Gly-Phe-Ser-(D)-Tic-Phe-Arg-OH.

15

MS (FAB): 1294 (M+H).

Pavyzdys 5

H-(D)-Arg-Arg-Hyp-Pro-Gly-Phe-Gly-(D)-Tic-Phe-Arg-OH.

20

MS (FAB): 1335 (M+H).

Pavyzdys 6

H-(D)-Arg-Arg-Hyp-Pro-Gly-Phe-Ser-(D)-Tic-Pro-Arg-OH.

25

MS (FAB): 1244 (M+H).

30

Pavyzdys 7

H-(D)-Arg-Arg-Hyp-Pro-Gly-Phe-Trp-(D)-Tic-Phe-Arg-OH.

35

MS (FAB): 1393 (M+H).

Pavyzdys 8

H- (D) -Arg-Arg-Hyp-Pro-Gly-Thia-Ser- (D) -Tic-Pro-Arg-OH.

5 MS (FAB): 1250 (M+H) .

Pavyzdys 9

H- (D) -Arg-Arg-Hyp-Pro-Gly-Thia- (D) -Arg- (D) -Tic-Thia-Arg-OH.

10

MS (FAB): 1333 (M+H) .

Pavyzdys 10

15 H- (D) -Arg-Arg-Hyp-Pro-Gly-Thia-Opr- (D) -Tic-Thia-Arg-OH.

MS (FAB): 1301 (M+H) .

Pavyzdys 11

20

H- (D) -Arg-Arg-Hyp-Pro-Gly-Thia- (D) -Gln- (D) -Tic-Thia-Arg-OH.

MS (FAB): 1347 (M+H) .

25 **Pavyzdys 12**

H- (D) -Arg-Arg-Hyp-Pro-Gly-Thia-Ser-Gly- (D) -Tic-Pro-Arg-OH.

30 MS (FAB): 1307 (M+H) .

Pavyzdys 13

H- (D) -Arg-Arg-Hyp-Pro-Gly-Thia-Ser- (D) -Tic-Pro-Phe-OH.

35

MS (FAB): 1241 (M+H) .

Pavyzdys 14

H-(D)-Arg-Arg-Hyp-Pro-Gly-Thia-Ser-(D)-Tic-Pro-Phe-Arg-OH.

5 MS (FAB): 1397 (M+H).

Pavyzdys 15

H-(D)-Arg-Arg-Hyp-Pro-Gly-Thia-Ser- β -Ala-(D)-Tic-Pro-Arg-OH.

10

MS (FAB): 1321 (M+H).

Pavyzdys 16

H-(D)-Arg-Arg-Hyp-Pro-Gly-Thia-Gly-(D)-Tic-Pro-Arg-OH.

15

MS (FAB): 1230 (M+H).

Pavyzdys 17

H-(D)-Aoc-Pro-Gly-Thia-Ser-(D)-Tic-Thia-Arg-OH.

20

MS (FAB): 1330 (M+H).

Pavyzdys 18

H-(D)-Arg-Arg-Pro-Aoc-Gly-Thia-Ser-(D)-Tic-Thia-Arg-OH.

25

MS (FAB): 1330 (M+H).

30

Pavyzdys 19

H-(D)-Arg-Arg-Hyp-Pro-Gly-Thia-Ser-(D)-Tic-Aoc-Arg-OH.

35

MS (FAB): 1290 (M+H).

Pavyzdys 20

H-(D)-Arg-Arg-Opr-Gly-Thia-Ser-(D)-Tic-Pro-Arg-OH.

5 MS (FAB): 1236 (M+H).

Pavyzdys 21

H-(D)-Arg-Arg-Pro-Opr-Gly-Thia-Ser-(D)-Tic-Pro-Arg-OH.

10

MS (FAB): 1236 (M+H).

Pavyzdys 22

15 H-(D)-Arg-Arg-Hyp-Pro-Gly-Thia-Ser-(D)-Tic-Opr-Arg-OH.

MS (FAB): 125 (M+H).

Pavyzdys 23

20

H-(D)-Arg-(D)-Arg-Hyp-Pro-Gly-Thia-Ser-(D)-Tic-Aoc-Arg-OH.

MS (FAB): 1290 (M+H).

25 **Pavyzdys 24**

H-(D)-Arg-Arg-Pro-Hyp-Gly-Thia-Ser-(D)-Tic-Aoc-Arg-OH.

MS (FAB): 1290 (M+H).

30

Pavyzdžiai 25-27

H-(D)-Arg-Arg-(Mtr)-Pro-Hyp-Gly-Phe-Ser-(D)-Tic-Phe-Arg-OH

35 ir

H-(D)-Arg-Arg-Pro-Hyp-Gly-Phe-Ser-(D)-Tic-Phe-Arg(Mtr)-OH

ir

H- (D) -Arg-Arg (Mtr) -Pro-Hyp-Gly-Phe-Ser- (D) -Tic-Phe-Arg (Mtr) -OH

5

buvo gaminami analogiškai kaip ir 1, bet apsauginių grupių atskėlimas nuo peptido šoninių grandinių ir peptido atskėlimas nuo dervos trifluoracto rūgšties pagalba buvo apribotas 30 minučių, esant kambario temperatūrai. Esant tokioms sąlygoms, vyksta Mtr-apsauginės grupės arginine atskėlimas, į kuri galima nekreipti dėmesio. Dalinai deblokuoti peptidai išskiriami chromatografijos pagalba išvalomi.

15 25: H- (D) -Arg-Arg (Mtr) -Pro-Hyp-Gly-Phe-Ser- (D) -Tic-Phe-Arg-OH.

MS (FAB): 1506 (M+H).

26: H- (D) -Arg-Arg (Mtr) -Pro-Hyp-Gly-Phe-Ser- (D) -Tic-Phe-Arg (Mtr) -OH.

20

MS (FAB): 1718 (M+H).

27: H- (D) -Arg-Arg-Pro-Hyp-Gly-Phe-Ser- (D) -Tic-Phe-Arg (Mtr) -OH.

25 MS (FAB): 1506 (M+H).

Sekančių pavyzdžių 28 - 31 peptidai buvo pagaminti ir išvalyti, kaip pavyzdžiuose 25 - 27.

30 **Pavyzdys 28**

H- (D) -Arg-Arg (Mtr) -Hyp-Pro-Gly-Thia-Ser- (D) -Tic-Pro-Arg-OH.

MS (FAB): 1462 (M+H).

Pavyzdys 29

H-(D)-Arg-Arg-Hyp-Pro-Gly-Thia-Ser-(D)-Tic-Pro-Arg(Mtr)-OH.

5 MS (FAB): 1462 (M+H).

Pavyzdys 30

H-(D)-Arg-Arg(Mtr)-Hyp-Pro-Gly-Thia-Ser-(D)-Tic-Pro-Phe-OH.

10

MS (FAB): 1453 (M+H).

Pavyzdys 31

15 H-(D)-Arg-Arg(Mtr)-Hyp-Pro-Gly-Thia-Ser-(D)-Tic-Aoc-Arg-OH.

MS (FAB): 1502 (M+H).

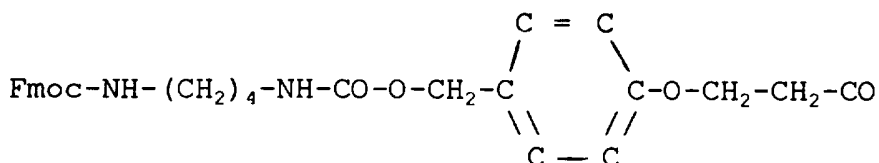
Pavyzdys 32

20

H-Arg-Hyp-Pro-Gly-Phe-Ser-(D)-Tic-Phe-NH-(CH₂)₄-NH₂.

Peptido sintezė buvo vykdoma 1 g aminometilinės dervos, kuri buvo modifikuota pagal EP paraiškoje Nr. 264802
25 aprašytą metodiką, grupę

30



35

ir naudojant Fmoc-aminorūgšties-OObt esterius automatinio peptidų sintezatoriaus (firmos "Applied Biosystems" modelis 430A) pagalba bei panaudojant nuosavas modifikuotas sintezės programas. Tam tikslui į sintezatoriaus patroną patalpinta 1 mmol atitinkamo aminorūgšties darinio kartu su 0,95 mmol Fmoc-Arg(Mtr)-OH, Fmoc-Hyp-OH ir Fmoc-(D)-Tic-OH. Pradinis reika-

lingos vietos aktyvavimas buvo patrone ištirpinant aminorūgštį 4 ml dimetilforamido ir pridedant 2 ml 0,55-moliarinio diizopropilkarbodiimido tirpo dimetilformamide. Kitų aminorūgščių HOCbt-esteriai ištirpinti
 5 6 ml N-metilpirolidino ir po to, kaip ir aktyvuotos reikiamoje vietoje aminorūgšties molekulės, buvo dukart sujungti. Po sintezės nuo dervos atskirtas peptid-4-amino-butilamidas, kartu pašalinant trifluoracto rūgšties pagalba šonines apsaugines grupes. Katijonams
 10 surišti naudojamas tioanizolas ir m-krezolas. Gautas nupylus trifluoracto rūgštį produktas apdorotas acto rūgšties esterio pagalba ir centrifuguojamas. Likęs produktas buvo chromatografuojamas Sefadex S25 kolonėleje, eliuojant viennormaline acto rūgštim.
 15 Turinčios švarų peptidą frakcijos buvo sujungtos ir išdžiovintos.

Analogiška 32 pavyzdžio procedūra buvo panaudota ir pavyzdžiuose 33-35.

20

Pavyzdys 33

H-(D)-Arg-Arg-Hyp-Pro-Gly-Phe-Ser-(D)-Tic-Phe-NH-(CH₂)₄-NH₂.

25

Pavyzdys 34

HOOC-(CH₂)₂-CO-Arg-Hyp-Pro-Gly-Phe-Ser-(D)-Tic-Phe-NH-(CH₂)₄-NH₂.

Pavyzdys 35

30

HOOC-(CH₂)₂-CO-(D)-Arg-Hyp-Pro-Gly-Phe-Ser-(D)-Tic-Phe-NH-(CH₂)₄-NH₂.

Pavyzdžiai 36-161 buvo sintetinami pagal pavyzdyje 1 aprašytą metodiką.

Pavyzdys 36

H-(D)-Arg-Arg-Hyp-Pro-Gly-Thia-Ser-Gly-(D)-Tic-Pro-Arg-OH.

5 MS (FAB): 1307 (M+H).

Pavyzdys 37

H-(D)-Arg-Arg-Pro-Hyp-Gly-Thia-Ser-Gly-(D)-Tic-Pro-Arg-OH.

10

MS (FAB): 1307 (M+H).

Pavyzdys 38

15 H-(D)-Arg-Arg-Hyp-Pro-Gly-Thia-Ser-(D)-Tic-Pro-Phe-OH.

MS (FAB): 1241 (M+H).

Pavyzdys 39

20

H-(D)-Arg-Arg-Hyp-Pro-Gly-Thia-Ser- β -Ala-(D)-Tic-Aoc-Arg-OH.

MS (FAB): 1361 (M+H).

25 **Pavyzdys 40**

H-(D)-Arg-Arg-Pro-Hyp-Gly-Thia-Ser- β -Ala-(D)-Tic-Aoc-Arg-OH.

MS (FAB): 1361 (M+H).

30

Pavyzdys 41

H-(D)-Arg-Arg-Hyp-Pro-Gly-Thia-Ser-(D)-Tic-Pro-Phe-Arg-OH.

35 MS (FAB): 1397 (M+H).

Pavyzdys 42

H-(D)-Arg-Arg-Pro-Hyp-Gly-Thia-Ser-(D)-Tic-Pro-Phe-Arg-OH.

5 MS (FAB): 1397 (M+H).

Pavyzdys 43

H-(D)-Arg-Arg-Pro-Hyp-Gly-Thia-Gly-(D)-Tic-Aoc-Arg-OH.

10

MS (FAB): 1260 (M+H).

Pavyzdys 44

H-(D)-Arg-Arg-Hyp-Pro-Gly-Thia-Gly-(D)-Tic-Aoc-Arg-OH.

15

MS (FAB): 1260 (M+H).

Pavyzdys 45

H-(D)-Arg-(D)-Arg-Hyp-Pro-Gly-Thia-Ser-(D)-Tic-Aoc-Arg-OH.

20

MS (FAB): 1390 (M+H).

Pavyzdys 46

H-(D)-Arg-(D)-Arg-Phe-Hyp-Gly-Thia-Ser-(D)-Tic-Aoc-Arg-OH.

25

MS (FAB): 1290 (M+H).

30

Pavyzdys 47

H-(D)-Arg-Arg-Hyp-Pro-Gly-Thia-Ser-(D)-Tic-Tic-Arg-OH.

35

MS (FAB): 1312 (M+H).

Pavyzdys 48

H-(D)-Arg-Arg-Pro-Hyp-Gly-Thia-Ser-(D)-Tic-Tic-Arg-OH.

5 MS (FAB): 1312 (M+H).

Pavyzdys 49

H-(D)-Arg-Arg-Pro-Pro-Gly-Thia-Ser-(D)-Tic-Aoc-Arg-OH.

10

MS (FAB): 1274 (M+H).

Pavyzdys 50

15 H-(D)-Arg-Arg-Hyp-Pro-Gly-Thia-Aoc-Arg-OH.

MS (FAB): 1203 (M+H).

Pavyzdys 51

20

H-(D)-Arg-Arg-Hyp-Pro-Gly-Aoc-Ser-(D)-Tic-Aoc-Arg-OH.

MS (FAB): 1274 (M+H).

25 **Pavyzdys 52**

H-(D)-Arg-Arg-Hyp-Pro-Gly-Thia-β-Ala-(D)-Tic-Aoc-Arg-OH.

MS (FAB): 1274 (M+H).

30

Pavyzdys 53

H-(D)-Arg-Arg-Pro-Hyp-Gly-Thia-β-Ala-(D)-Tic-Aoc-Arg-OH.

35 MS (FAB): 1274 (M+H).

Pavyzdys 54

H-(D)-Arg-Arg-Hyp-Pro-Gly-Asp-Ser-(D)-Tic-Aoc-Arg-OH.

5 MS (FAB): 1252 (M+H).

Pavyzdys 55

H-(D)-Arg-Arg-Pro-Hyp-Gly-Asp-Ser-(D)-Tic-Aoc-Arg-OH.

10

MS (FAB): 1252 (M+H).

Pavyzdys 56

15 H-(D)-Arg-Arg-Hyp-Pro-Gly-Trp-Ser-(D)-Tic-Aoc-Arg-OH.

MS FAB): 1323.7 (M+H).

Pavyzdys 57

20

H-(D)-Tyr-Arg-Pro-Hyp-Gly-Thia-Ser-(D)-Tic-Aoc-Arg-OH.

MS (FAB): 1297.7 (M+H).

25 **Pavyzdys 58**

H-(D)-Arg-Arg-Pro-Hyp-Gly-Thia-Ser-(D)-Tia-(D)-Oic-Arg-OH.

MS (FAB): 1304.6 (M+H).

30

Pavyzdys 59

H-(D)-Arg-Arg-Pro-Hyp-Gly-Thia-Ser-(D)-Tic-Oic-Arg-OH.

35 MS (FAB): 1304.6 (M+H).

Pavyzdys 60

H-(D)-Arg-Arg-Pro-Pro-Gly-Thia-Ser-(D)-Tic-Oic-Arg-OH.

5 MS (FAB): 1289 (M+H).

Pavyzdys 61

H-(D)-Arg-Lys-Pro-Hyp-Gly-Thia-Ser-(D)-Tic-Aoc-Arg-Oh.

10

MS (FAB): 1262 (M+H).

Pavyzdys 62

15 H-(D)-Arg-Lys-Pro-Hyp-Gly-Thia-Ser-(D)-Tic-Oic-Arg-OH.

MS (FAB): 1276 (M+H).

Pavyzdys 63

20

H-(D)-Arg-Lys-Pro-Pro-Gly-Thia-Ser-(D)-Tic-Oic-Arg-OH.

MS (FAB): 1260 (M+H).

25 **Pavyzdys 64**

H-(D)-Arg-Arg-Pro-Hyp-Gly-Phe-Ser-(D)-Tic-Oic-Arg-OH.

MS (FAB): 1298 (M+H).

30

Pavyzdys 65

H-(D)-Arg-Arg-Hyp-Pro-Gly-Phe-Ser-(D)-Tic-Oic-Arg-OH>

35 MS (FAB): 1298 (M+H).

Pavyzdys 66

H-(D)-Arg-Arg-Pro-Pro-Gly-Phe-Ser-(D)-Tic-Oic-Arg-OH.

5 MS (FAB): 1282 (M+H).

Pavyzdys 67

H-(D)-Arg-Arg-(NO₂)-Pro-Hyp-Gly-Phe-Ser-(D)-Tic-Aoc-Arg-OH.

10

MS (FAB): 1329.7 (M+H).

Pavyzdys 68

H-(D)-Arg-Arg-(NO₂)-Pro-Hyp-Gly-Phe-Ser-(D)-Tic-Oic-Arg-OH.

15

MS (FAB): 1343 (M+H).

Pavyzdys 69

H-(FAB): 1327 (M+H).

20

Pavyzdys 70

H-(D)-Arg-Arg-(NO₂)-Pro-Pro-Gly-Thia-Ser-(D)-Tic-Oic-Arg-OH.

25

MS (FAB): 1333 (M+H).

Pavyzdys 71

H-(D)-Arg-Arg(NO₂)-Pro-Hyp-Gly-Thia-Ser-(D)-Tic-Oic-Arg-OH.

30

MS (FAB): 13449 (M+H).

Pavyzdys 72

H-Arg(Tos)-Pro-Hyp-Gly-Thia-Ser-(D)-Tic-Oic-Arg-OH.

35

MS (FAB): 1302 (M+H).

Pavyzdys 73

5

H-Arg-Pro-Hyp-Gly-Phe-Ser-(D)-Tic-Oic-Arg-OH.

MS (FAB): 1147 (M+H).

10 **Pavyzdys 74**

H-Lys(-CO-NH-C₆H₅)-Pro-Hyp-Gly-D-Tic-Oic-Arg-OH.

MS (FAB): 1233 (M+H).

15

Pavyzdys 75

H-Arg(Tos)-Pro-Hyp-Gly-Phe-Ser-D-Tic-Oic-Arg-OH.

20 MS (FAB): 1296 (M+H).

Pavyzdys 76

H-Lys(nikotinoilas)-Pro-Hyp-Gly-Phe-Ser-D-Tic-Oic-Arg-OH.

25

MS (FAB): 1219 (M+H).

Pavyzdys 77

30 H-Arg(Tos)-Pro-Hyp-Gly-Phe-Ser-D-Tic-Aoc-Arg-OH.

MS (FAB): 1282 (M+H).

Pavyzdys 78

35

Ac-Arg-(Tos)-Pro-Hyp-Gly-Phe-Ser-D-Tic-Aoc--Arg-OH.

MS (FAB): 1324 (M+H).

Pavyzdys 79

5 H-D-Arg-Arg(Tos)-Phe-Hyp-Gly-Phe-Ser-D-Tic-Aoc-Arg-OH.

MS (FAB): 1438 (M+H).

Pavyzdys 80

10

H-Arg(Tos)-Hyp-Pro-Gly-Thia-Ser-D-Tic-Oic-Arg-OH.

MS (FAB): 1303 (M+H).

15 **Pavyzdys 81**

H-Arg-Hyp-Pro-Gly-Phe-Ser-D-Tic-Oic-Arg-OH.

MS (FAB): 1142 (M+H).

20

Pavyzdys 82

H-Lys(-CO-NH-C₆H₅)-Hyp-Pro-Gly-Phe-Ser-D-Tic-Oic-Arg-OH.

25 MS (FAB): 1233 (M+H).

Pavyzdys 83

H-Arg(Tos)-Hyp-Pro-Gly-Phe-Ser-D-Tic-Oic-Arg-OH.

30

MS (FAB): 1296 (M+H).

Pavyzdys 84

35 H-Lys(nikotinoilas)-Hyp-Pro-Gly-Phe-Ser-D-Tic-Oic-Arg-OH.

MS (FAB): 1219 (M+H).

Pavyzdys 85

H-Arg (Tos) -Hyp-Pro-Gly-Phe-Ser-D-Tic-Aoc-Arg-OH.

5

MS (FAB): 1282 (M+H).

Pavyzdys 86

10 Ac-Arg (Tos) -Hyp-Pr) -Gly-Phe-Ser-D-Tic-Aoc-Arg-OH.

MS (FAB): (M+H).

Pavyzdys 87

15

H-D-Arg-Arg (Tos) -Hyp-Pro-Gly-Phe-Ser-D-Tic-Aoc-Arg-OH.

MS (FAB): (M+H).

20 **Pavyzdys 88**

H-Arg (Tos) -Pro-Pro-Gly-Thia-Ser-D-Tic-Oic-Arg-OH.

MS (FAB): (M+H).

25

Pavyzdys 89

H-Arg-Pro-Pro-Gly-Phe-Ser-D-Tic-Oic-Arg-OH.

30 MS (FAB): 1126 (M+H).

Pavyzdys 90

H-Lys (-CO-NH-C₆H₅) -Pro-Pro-Gly-Phe-Ser-D-Tic-Oic-Arg-OH.

35

MS (FAB): 1217 (M+H).

Pavyzdys 91

H-Arg(Tos)-Pro-Pro-Gly-Phe-Ser-D-Tic-Oic-Arg-OH.

5 MS (FAB): 1280 (M+H).

Pavyzdys 92

H-Lys(nikotinoilas)-Pro-Pro-Gly-Phe-Ser-D-Tic-Oic-Arg-OH.

10

MS (FAB): 1203 (M+H).

Pavyzdys 93

15 H-Arg(Tos)-Pro-Pro-Gly-Phe-Ser-D-Tic-Aoc-Arg-OH.

MS (FAB): 1266 (M+H).

Pavyzdys 94

20

Ac-Arg(Tos)-Pro-Pro-Gly-Phe-Ser-D-Tic-Aoc-Arg-OH.

MS (FAB): 1308 (M+H).

25 **Pavyzdys 95**

H-Arg-Arg(Tos)-Pro-Pro-Gly-Phe-Ser-D-Tic-Aoc-Arg-OH.

MS (FAB): 1422 (M+H).

30

Pavyzdys 96

H-Arg-Hyp-Gly-Thia-Ser-D-Tic-Oic-Arg-OH.

35 MS (FAB): 1148 (M+H).

Pavyzdys 97

H-Lys(-CO-NH-C₆H₅)-Pro-Hyp-Gly-Thia)Ser-D-Tic-Oic-Arg-OH.

5 MS (FAB): 1239 (M+H).

Pavyzdys 98

H-Lys(nikotinoilas)-Pro-Hyp-Gly-Thia-Ser-D-Tic-Oic-Arg-OH.

10

MS (FAB): (M+H).

Pavyzdys 99

15 H-Arg(Tos)-Pro-Hyp-Gly-Thia-Ser-D-Tic-Aoc-Arg-OH.

MS (FAB): 1288 (M+H).

Pavyzdys 100

20

Ac-Arg(Tos)-Pro-Hyp-Gly-Thia-Ser-D-Tic-Aoc-Arg-OH.

MS (FAB): 1330 (M+H).

25 **Pavyzdys 101**

H-D-Arg-Arg(Tos)-Pro-Hyp-Gly-Thia-Ser-D-Tic-Aoc-Arg-OH.

MS (FAB): 1444 (M+H).

30

Pavyzdys 102

H-Arg-Hyp-Pro-Thia-Ser-Tic-Oic-Arg-OH.

35 MS (FAB): 1148 (M+H).

Pavyzdys 103

H-Lys (-CO-NH-C₆H₅) -Hyp-Pro-Gly-Thia-Ser-D-Tic-Oic-Arg-OH.

5 MS (FAB): 1239 (M+H).

Pavyzdys 104

H-Lys (nikotinoilas) -Hyp-Pro-Gly-Thia-Ser-D-Tic-Oic-Arg-OH.

10

MS (FAB): 1225 (M+H).

Pavyzdys 105

15 H-Arg (Tos) -Hyp-Pro-Gly-Thia-Ser-D-Tic-Aoc-Arg-OH.

MS (FAB): 1289 (M+H).

Pavyzdys 106

20

Ac-Arg (Tos) -Hyp-Pro-Gly-Thia-Ser-D-Tic-Aoc-Arg-OH.

MS (FAB): 1330 (M+H).

25 **Pavyzdys 107**

H-D-Arg-Arg (Tos) -Hyp-Pro-Gly-Thia-Ser-D-Tic-Aoc-Arg-OH.

MS (FAB): 1440 (M+H).

30

Pavyzdys 108

H-Lys (-CO-NH-C₆H₅) -Pro-Pro-Gly-Thia-Ser-D-Tic-Oic-Arg-OH.

35 MS (FAB): 1225 (M+H).

Pavyzdys 109

H-Lys(nikotinoilas)-Pro-Pro-Gly-Thia-Ser-D-Oic-Arg-OH.

5 MS (FAB): 1209 (M+H).

Pavyzdys 110

H-Arg(Tos)-Pro-Pro-Gly-Thia-Ser-D-Tip-Aoc-Arg-OH.

10

MS (FAB): 1272 (M+H).

Pavyzdys 111

15 Ac-Arg(Tos)-Pro-Pro-Gly-Thia-Ser-D-Tic-Aoc-Arg)OH.

MS (FAB): 1314 (M+H).

Pavyzdys 112

20

H-D-Arg-Arg(Tos)-Pro-Pro-Gly-Thia-Ser-D-Tic-Aoc-Arg-OH.

MS (FAB): 1428 (M+H).

25 **Pavyzdys 113**

H-D-Arg-Lys(nikotinoilas)-Pro-Pro-Gly-Thia-Ser-D-Tic-Oic-Arg-OH.

MS (FAB): 1365 (M+H).

30

Pavyzdys 114

H-D-Arg-Lys(-CO-NH-C₆H₅)-Pro-Pro-Gly-Thia-Ser-D-Tic-Oic-Arg-OH.

35 MS (FAB): 1379 (M+H).

Pavyzdys 115

H-D-Arg-Arg(Tos)-Pro-Pro-Gly-Thia-Ser-D-Tic-Oic-Arg-OH.

5 MS (FAB): 1442 (M+H).

Pavyzdys 116

H-Lys-Lys-(nokotinoilas)-Pro-Pro-Gly-Thia-Ser-D-Tic-Oic-Arg-OH.

10

MS (FAB): 1337 (M+H).

Pavyzdys 117

15 H-Lys-Lys(-CO-NH-C₆H₅)-Pro-Pro-Gly-Thia-Ser-D-Tic-Oic-Arg-OH.

MS (FAB): 1351 (M+H).

Pavyzdys 118

20

H-Lys-Arg(Tos)-Pro-Pro-Gly-Thia-Ser-D-Tic-Oic-Arg-OH.

MS (FAB): 1414 (M+H).

25 **Pavyzdys 119**

H-D-Arg-Lys(nikotinoilas)-Pro-Hyp-Gly-Thia-Ser-D-Oic-Arg-OH.

MS (FAB): 1381 (M+H).

30

Pavyzdys 120

H-D-Arg-Lys(-CO-NH-C₆H₅)-Pro-Hyp-Gly-Thia-Ser-D-Tic-Oic-Arg-OH.

35 MS (FAB): 1395 (M+H).

Pavyzdys 121

H-D-Arg-Arg (Tos) -Pro-Hyp-Gly-Thia-Ser-D-Tic-Oic-Arg-OH.

5 MS (FAB): 1458 (M+H) .

Pavyzdys 122

H-Lys-Lys (-CO-NH-C₆H₅) -Pro-Hyp-Gly-Thia-Ser-D-Tic-Oic-Arg-OH.

10

MS (FAB): 1367 (M+H) .

Pavyzdys 123

15 H-Lys-Lys (nikotinoilas) -Pro-Hyp-Gly-Thia-Ser-D-Tic-Oic-Arg-OH.

MS (FAB): 1353 (M+H) .

Pavyzdys 124

20

H-Lys-Arg (Tos) -Pro-Hyp-Gly-Thia-Ser-D-Tic-Oic-Arg-OH.

MS (FAB): 1420 (M+H) .

25 **Pavyzdys 125**

H-D-Arg-Lys (nikotinoilas) -Pro-Pro-Gly-Phe-Ser-D-Tic-Oic-Arg-OH.

MS (FAB): 1359 (M+H) .

30

Pavyzdys 126

H-D-Arg-Lys (-CO-NH-C₆H₅) -Pro-Pro-Gly-Phe-Ser-D-Tic-Oic-Arg-OH.

35 MS (FAB): 1373 (M+H) .

Pavyzdys 127

H-D-Arg-Arg(Tos)-Pro-Pro-Gly-Phe-Ser-D-Tic-Oic-Arg-OH.

5 MS (FAB): 1436 (M+H).

Pavyzdys 128

H-Lys-Lys(nikotinoilas)-Pro-Pro-Gly-Phe-Ser-D-Tic-Oic-Arg-OH.

10

MS (FAB): 1331 (M+H).

Pavyzdys 129

15 H-Lys-Lys(-CO-NH-C₆H₅)-Pro-Pro-Gly-Phe-Ser-D-Tic-Oic-Arg-OH.

MS (FAB): 1345 (M+H).

Pavyzdys 130

20

H-Lys-Arg(Tos)-Pro-Pro-Gly-Phe-Ser-D-Tic-Oic-Arg-OH.

MS (FAB): 1408 (M+H).

25 **Pavyzdys 131**

H-D-Arg-Lys(nikotinoilas)-Pro-Hyp-Gly-Phe-Ser-D-Tic-Oic-Arg-OH.

MS (FAB): 1375 (M+H).

30

Pavyzdys 132

H-D-Arg-Lys(-CO-NH-C₆H₅)-Pro-Hyp-Gly-Phe-Ser-D-Tic-Oic-Arg-OH.

35 MS (FAB): 1389 (M+H).

Pavyzdys 133

H-D-Arg-Arg(Tos)-Pro-Hyp-Gly-Phe-Ser-D-Tic-Oic-Arg-OH.

5 MS (FAB): 1452 (M+H).

Pavyzdys 134

H-Lys-Lys(nikotinoilas)-Pro-Hyp-Gly-Phe-Ser-D-Tic-Oic-Arg-OH.

10

MS (FAB): 1347 (M+H).

Pavyzdys 135

15 H-Lys-Lys(-CO-NH-C₆H₅)-Pro-Hyp-Gly-Phe-Ser-S-Tic-Oic-Arg-OH.

MS (FAB): 1361 (M+H).

Pavyzdys 136

20

H-Lys-Arg(Tos)-Pro-Hyp-Gly-Phe-Ser-D-Tic-Oic-Arg-OH.

MS (FAB): 1424 (M+H).

25 **Pavyzdys 137**

H-D-Arg-Orn(nikotinoilas)-Pro-Pro-Gly-Thia-Ser-D-Tic-Oic-Arg)OH.

MS (FAB): 1351 (M+H).

30

Pavyzdys 138

H-D-Arg-Orn(Tos)-CO-NH-C₆H₅)-Pro-Pro-Gly-Thia-Ser-D-Tic-Oic-Arg-OH.

35 MS (FAB): 1428 (M+H).

Pavyzdys 139

H-Lys-Orn(nikotinoilas)-Pro-Pro-Gly-Thia-Ser-D-Tic-Oic-Arg-OH.

5 MS (FAB): 1328 (M+H).

Pavyzdys 140

H-Lys-Orn(-CO-NH-C₆H₅)-Pro-Pro-Gly-Thia-Ser-D-Tic-Oic-Arg-OH.

10

MS (FAB): 1337 (M+H).

Pavyzdys 141

15 H-D-Arg-Orn(nikotinoilas)-Pro-Hyp-Gly-Thia-Ser-D-Tic-Oic-Arg-OH.

MS (FAB): 1367 (M+H).

Pavyzdys 142

20

H-D-Arg-Orn-Pro-Hyp-Gly-Thia-Ser-D-Tic-Oic-Arg-OH.

MS (FAB): 1381 (M+H).

25 **Pavyzdys 143**

H-Lys-Orn(nikotinoilas)-Pro-Hyp-Gly-Thia-Ser-D-Tic-Oic-Arg-OH.

MS (FAB): 1339 (M+H).

30

Pavyzdys 144

H-Lys-Orn(CO-NH-C₆H₅)-Pro-Hyp-Gly-Thia-Ser-D-Tic-Arg-OH.

35 MS (FAB): 1353 (M+H).

Pavyzdys 145

H-D-Arg-Orn(nikotinoilas)-Pro-Pro-Gly-Phe-Ser-D-Tic-Oic-Arg-OH.

5 MS (FAB): 1345 (M+H).

Pavyzdys 146

H-D-Arg-Orn(CO-NH-C₆H₅)-Pro-Pro-Gly-Phe-Ser-D-Tic-Oic-Arg-OH.

10

MS (FAB): 1359 (M+H).

Pavyzdys 147

15 H-Lys-Orn(nikotinoilas)-Pro-Pro-Gly-Phe-Ser-D-Tic-Oic-Arg-OH.

MS (FAB): 1317 (M+H).

Pavyzdys 148

20

H-Lys-Orn(CO-NH-C₆H₅)-Pro-Pro-Gly-Phe-Ser-D-Tic-Oic-Arg-OH.

MS (FAB): 1331 (M+H).

25 **Pavyzdys 149**

H-D-Arg-Orn(nikotinoilas)-Pro-Hyp-Gly-Phe-Ser-D-Tic-Oic-Arg-OH.

MS (FAB): 1361 (M+H).

30

Pavyzdys 150

H-D-Arg-Orn(CO-NH-C₆H₅)-Pro-Hyp-Gly-Phe-Ser-Tic-Oic-Arg-OH.

35 MS (FAB): 1375 (M+H).

Pavyzdys 151

H-Lys-Orn(nikotinoilas)-Pro-Hyp-Gly-Phe-Ser-D-Tic-Oic-Arg-OH.

5 MS (FAB): 1333 (M+H).

Pavyzdys 152

H-Lys-Orn(CO-NH-C₆H₅)-Pro-Hyp-Gly-Phe-Ser-D-Tic-Oic-Arg-OH.

10 MS (FAB): 1347 (M+H).

Pavyzdys 153

15 H-Lys-Lys-Pro-Pro-Gly-Thia-Ser-(D)-Tic-Aoc-Arg-OH.

MS (FAB): 1218 (M+H).

Pavyzdys 154

20 H-Lys-Lys-Pro-Hyp-Gly-Thia-Ser-(D)-Tic-Aoc-Arg-OH.

MS (FAB): 1234 (M+H).

25 **Pavyzdys 155**

H-Lys-Lys-Hyp-Pro-Gly-Thia-Ser-(D)-Tic-Aoc-Arg-OH.

MS (FAB): 1234 (M+H).

30

Pavyzdys 156

H-Lys-Lys-Pro-Pro-Gly-Phe-Ser-(D)-Tic-Aoc-Arg-OH.

35 MS (FAB): 1212 (M+H).

Pavyzdys 157

H-Lys-Lys-Pro-Hyp-Gly-Phe-Ser-(D)-Tic-Aoc-Arg-OH.

5 MS (FAB): 1228 (M+H).

Pavyzdys 158

H-Lys-Lys-Pro-Pro-Gly-Thia-Ser-(D)-Tic-Oic-Arg-OH.

10

MS (FAB): 1232 (M+H).

Pavyzdys 159

15 H-Lys-Lys-Pro-Hyp-Gly-Thia-Ser-(D)-Tic-Oic-Arg-OH.

MS (FAB): 1248 (M+H).

Pavyzdys 160

20

H-Lys-Lys-Hyp-Pro-Gly-Thia-Ser-(D)-Tic-Oic-Arg-OH.

MS (FAB): 1226 (M+H).

25 **Pavyzdys 161**

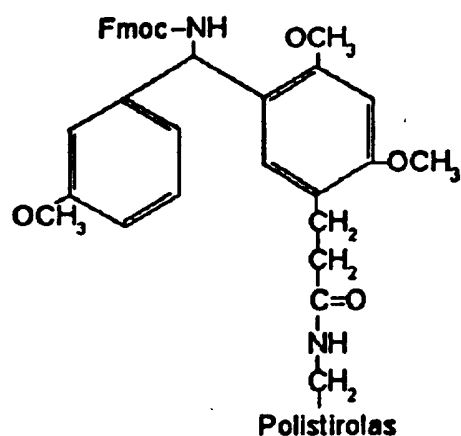
H-Lys-Lys-Pro-Hyp-Gly-Phe-Ser-(D)-Tic-Oic-Arg-OH.

MS (FAB): 1243 (M+H).

30

162 - 164 pavyzdžiai gauti pagal analogiją su 31 pavyzdžiu, naudojant aprašytą EP paraiškoje Nr. 322348 dervą, kurios struktūra

35



Pavyzdys 162

H-D-Arg-Arg-Pro-Hyp-Gly-Phe-Ser-D-Tic-Aoc-Arg-NH₂.

5 MS (FAB): 1283 (M+H).

Pavyzdys 163

H-D-Arg-Arg-Hyp-Pro-Gly-Phe-Ser-D-Tic-Aoc-Arg-NH₂.

10

MS (FAB): 1283 (M+H).

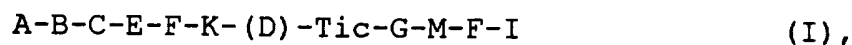
Pavyzdys 164

15 H-D-Arg-Arg-Pro-Pro-Gly-Phe-Ser-D-Tic-Aoc-Arg-NH₂.

MS (FAB): 1267 (M+H).

IŠRADIMO APIBRĖŽTIS

1. Peptidai pagal I formulę



5

kurioje

A reiškia vandenilį, (1-6)C-alkanoilą arba (1-6)C-alkanoilą, pakeistą karboksilo grupe, arba II formulės
10 radikala



kurioje R^1 reiškia vandenilį, (1-6)C-alkanoilą arba (1-6)C-alkanoilą, pakeistą hidroksifenilpropionilu;
15

R^2 reiškia vandenilio atomą; ir

R^3 reiškia (1-6)C-alkilą, pakeistą amino guanidino grupe, fenilu, pakeistu hidroksilo grupe;
20

B reiškia tiesioginę jungtį arba bazinę aminorūgštį, esančią L- arba D-konfigūracijoje, minėta aminorūgštis priklauso Arg, Lys ir Orn eilei, ir gali būti pakeista šoninėje grandinėje benziloksikarbanilu, nitrogrupe, tozilu, nikotinoilu, CO-NH-C₆H₅ arba 2,3,5-trimetil-4-metoksifenilsulfonilu;
25

C reiškia junginį pagal IIIa formulę



30

kurioje G' nepriklausomai vienas nuo kito yra radikalas, kurio formulė IV



kurioje R^4 ir R^5 kartu su kitais atomais sudaro heterociklinę, monociklinę sistemą, turinčią 1 azoto atomą ir 4 anglies atomus, sistemą, kuri gali būti pakeista hidroksigrupe arba grupe, turinčia 1 azoto atomą, 3 anglies atomus ir 1 deguonies atomą arba sudarančią heterociklinę biciklinę žiedinę sistemą, turinčią 1 azoto atomą ir 7 anglies atomus;

10

E reiškia α -arba D-konfigūracijos Phe, Trn arba Thia aromatinės aminorūgšties liekaną;

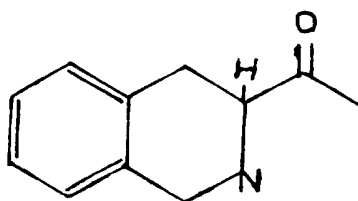
F reiškia L-arba D-konfigūracijos Asn, Cys, Gln, Orn, Ser, Trp, Phe, Thia aminorūgšties radikala arba tiesioginę jungtį;

15

K reiškia radikala $\text{-NH-(CH}_2\text{)}_x\text{-CO}$, kur $x=1-2$, arba tiesioginę jungtį;

20

(D)-Tic reiškia radikala pagal V formulę



(V),

G reiškia tiesioginę jungtį arba radikala, kurio formulė IV



25

kurioje R^4 ir R^5 kartu su kitais atomais sudaro heterociklinę monociklinę sistemą, turinčią 1 azoto

tomą ir 4 anglies atomus, arba sistemą, turinčią 1 azoto atomą, 3 anglies atomus ir 1 deguonies atomą arba sudarančią heterociklinę biciklinę žiedinę sistemą, turinčią 1 azoto atomą ir 7-9 anglies atomus;

5

F' reiškia $-\text{NH}-(\text{CH}_2)_4-$, arba L- ar D-konfigūracijos Arg arba Ser aminorūgšties radikala, kuris gali būti pakeistas ramnozilu arba 2,3,5-trimetil-4-metoksifenilsulfonilu arba reiškia tiesioginę jungtį;

10

I reiškia amino arba hidroksigrupę,

ir fiziologiškai priimtinos jų druskos.

15

2. I formulės peptidai pagal 1 punktą, b e s i s k i - r i a n t y s tuo, kad juose

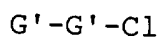
20

A reiškia vandenilį, acetilą, 3-karboksipropionilą, arba L- ar D-konfigūracijos aminorūgštį, kuri gali būti Arg, Lys, Tyr ir gali būti pakeista hidroksifenilpropionilu;

25

B reiškia Arg, Arg(Mtr), Arg(NO_2), Arg(Tos), Lys, Lys($-\text{CO}-\text{NH}-\text{C}_6\text{H}_5$), Lys(z), Lys(Nic), Orn(Nic) arba Orn($-\text{CO}-\text{NH}-\text{C}_6\text{H}_5$), kai Arg, Lys ir Orn gali būti L- arba D-konfigūracijoje;

C reiškia junginį pagal IIIa formulę



(IIIa),

30

kurioje G' reiškia L-arba D-konfigūracijos imino rūgštį, kuri gali būti Hyp, Pro, Aoc, Opr ir dihidro-Pro;

35

E reiškia L- arba D-konfigūracijos aromatinę aminorūgštį, kuri gali būti Phe, Thia ir Trp;

F reiškia L-arba D-konfigūracijos aminorūgštį, kuri gali būti Asn, Cys, Gln, Opr, Ser, Trp, Phe ir Thia, arba reiškia tiesioginę jungtį;

5 K reiškia radikala $-NH-(CH_2)_x-CO$, kur $x=1-2$, arba reiškia tiesioginę jungtį;

G reiškia tiesioginę jungtį arba L- ar D-konfigūracijos imino rūgštį, kuri gali būti Pro, Aoc, Opr, Tic ir Oic;

10

F' reiškia $-NH-(CH_2)_4-$ arba L- arba D-konfigūracijos amino rūgštį, kuri gali būti Arg, Arg(Mtr) ir Ser, arba reiškia tiesioginę jungtį;

15 I reiškia amino arba hidroksigrupę,

ir fiziologiškai priimtinos jų druskos.

20 3. I formulės peptidai pagal apibrėžties 1 ir 2 punktus, b e s i s k i r i a n t y s tuo, kad juose

A reiškia vandenilį, acetilą, 3-karboksipropionilą, Arg, (D)-Arg, (D)-Tyr, Lys, acetyl-(D)-Arg arba 4-hidroksifenilpropionil-(D)-Arg;

25

B reiškia Arg, D-Arg, Arg(Mtr), Arg(NO₂), Arg(Tos), Lys, Lys(z), Lys(Nic), Lys(PAC), Orn(Nic) arba Orn(PAC), arba reiškia tiesioginę jungtį;

30 C reiškia Hyp-Pro-Gly, Pro-Hyp-Gly, Pro-Aoc-Gly, Opr-Pro-Gly, Pro-Opr-Gly, Pro-Pro-Gly, dehidro-Pro-Hyp-Gly arba D-Pro-Hyp-Gly;

E reiškia Phe, Thia, (D)-Thia arba Trp;

35

F reiškia (D)Asn, Cys, Gln, (D)-Gln, Opr, Ser, (D)-Ser, Trp, Phe arba Thia, arba reiškia tiesioginę jungtį;

K reiškia Gly arba b-Ala arba reiškia tiesioginę jungtį;

- 5 G reiškia Pro, Aoc, (D)-Aoc, Opr, Tic, Oic, (D)-Oic, (D,L)-Oic, (L)-(3aR, 7aS)Oic arba (L)-(3aS, 7aR)Oic arba reiškia tiesioginę jungtį;

- 10 I reiškia amino arba hidroksigrupę, ir fiziologiškai priimtinos jų druskos.

4. I formulės peptidas pagal apibrėžties 1-3 punktus, b e s i s k i r i a n t i s tuo, kad jis gali būti:

- 15 H-(D)-Arg-Arg-Pro-Hyp-Gly-Thia-Ser-(D)-Tic-Oic-Arg-OH

H-(D)-Arg-Arg-Pro-Pro-Gly-Thia-Ser-(D)-Tic-Oic-Arg-OH

- 20 H-(D)-Arg-Arg-Pro-Hyp-Gly-Thia-Ser-(D)-Tic-Oic-Arg-OH

H-(D)-Arg-Arg-Hyp-Pro-Gly-Phe-Ser-(D)-Tic-Oic-Arg-OH

H-(D)-Arg-Arg-Pro-Pro-Gly-Phe-Ser-(D)-Tic-Oic-Arg-OH

- 25 ir jo fiziologiškai priimtina druska.

5. I formulės peptidas pagal apibrėžties 1-4 punktus, b e s i s k i r i a n t i s tuo, kad jis yra H-(D)-Arg-Arg-Pro-Hyp-Gly-Thia-Ser-(D)-Tic-Oic-Arg-OH ir jo fiziologiškai priimtina druska.

6. Peptidas pagal apibrėžties 1-5 punktus, b e s i s k i r i a n t i s tuo, kad jis gali būti

- 35 H-(D)-Arg-Arg-Hyp-Pro-Gly-Aoc-Ser-(D)-Tic-Aoc-Arg-OH

H-(D)-Arg-Arg-Hyp-Pro-Gly-Asp-Ser-(D)-Tic-Aoc-Arg-OH

H- (D) -Arg-Arg-Pro-Hyp-Gly-Asp-Ser- (D) -Tic-Aoc-Arg-OH

H- (D) -Arg-Ser- (Rha) -Pro-Hyp-Gly-Phe-Ser- (D) -Tic-Aoc-Arg-OH

5

(4-benzoilfenoksiacetyl) - (D) -Arg-Arg-Pro-Hyp-Gly-Thia-Ser- (D) -Tic-Aoc-Arg-OH

10 Lys (benzoil-benzoil) - (D) -Arg-Arg-Pro-Hyp-Gly-Thia-Ser- (D) -Tic-Aoc-Arg-OH.

15 7. I formulės peptidas pagal apibrėžties 1-6 punktus, skirtas pataloginėms būsenoms, kurias iššaukia bradikininas ir giminingi bradikininui peptidai, gydyti.

20 8. Farmacinė kompozicija, skirta pataloginėms būsenoms, kurias iššaukia bradikininas ir giminingi bradikininui peptidai, gydyti, b e s i s k i r i a n t i tuo, kad turi efektyvų I formulės peptidų pagal apibrėžties 1-7 punktus kiekį atskirai arba kartu su neorganiniais ir organiniais farmacijoje naudojamais nešikliais.