

(19)



(10) **LT 4829 B**

(12) **PATENTO APRAŠYMAS**

- (11) Patent numeris: **4829**
- (21) Paraiškos numeris: **2000 093**
- (22) Paraiškos padavimo data: **2000 10 04**
- (41) Paraiškos paskelbimo data: **2001 03 26**
- (45) Patent paskelbimo data: **2001 08 27**
- (62) Paraiškos, iš kurios dokumentas išskirtas, numeris: —
- (86) Tarptautinės paraiškos numeris: **PCT/US99/04457**
- (86) Tarptautinės paraiškos padavimo data: **1999 03 01**
- (85) Nacionalinio PCT lygio procedūros pradžios data: **2000 10 04**
- (30) Prioritetas: **076983, 1998 03 05, US**
- (72) Išradėjas:
Mark ANDERSON, US
Alexander POLINSKY, US
Yufeng HONG, US
Vlad GREGOR, US
- (73) Patent savininkas:
AGOURON PHARMACEUTICALS, INC., 10350 North Torrey Pines Road, La Jolla, California 92037, US
- (74) Patentinis patikėtinis:
Rita LAURINAVIČIŪTĖ, UAB "Metida", Pilies g. 8/1-2, 2600 MTP Vilnius, LT
- (51) Int. Cl. ⁷: **C07C279/12**
A61K 31/155
C07D307/77
C07D405/12
C07D409/12
C07D213/82
C07D319/18
C07D333/70
C07D317/68
C07D261/18
C07D237/24
C07D209/42

- (54) Pavadinimas:
Nepeptidiniai GnRH agentai
- (57) Referatas:

Aprašyti nepeptidiniai GnRH agentai, galintys inhibuoti gonadotropiną išlaisvinančio hormono poveikį, kurių bendroji formulė yra (I), kurioje X₁, X₂, Y ir Z yra apibūdinti kintamieji. Tokie junginiai ir jų farmaciškai priimtinos druskos, multimerai, provaistai ir aktyvieji metabolitai yra tinkami žinduolių reprodukcinių sutrikimų ir nuo steroidų priklausančių auglių gydymui, bei vaisingumo reguliavimui, kur yra reikalinga slopinti gonadotropino išsiskyrimą. Taip pat aprašyti šių junginių sintezės būdai ir jiems pagaminti tinkantys tarpiniai junginiai.

Techninė sritis ir pramoninis išradimo pritaikomumas

Šis išradimas pagrindinai yra susijęs su junginiais, kurie turi poveikį žmogaus gonadotropiną išlaisvinančio hormono (GnRH) veikimą. Konkrečiau, jis yra susijęs su nepeptidiniais GnRH antagonistais arba agonistais ir su jų pagaminimu. Šie nepeptidiniai GnRH agentai turi palankias fizines, chemines ir biologines savybes ir yra tinkami vaistai ligoms arba būklėms, kuriose tarpininkauja hipofizės-gonados ašies moduliavimas. Šio išradimo junginiai leidžia išvengti peptidiniams agentams būdingų degradacijos ir biopasiskirstymo problemų.

Išradimo kilmė

Hormono (biocheminė medžiaga, kurią gamina specifinė ląstelė arba audinys ir kuri sukelia ląstelės arba audinio, esančių kitoje organizmo vietoje, aktyvumo pokyčius) išsiskyrimas iš hipofizės liaukos (kuri yra prie smegenų apatinės dalies ir išskiria hormonus, susijusius su augimu ir lytiniu brendimu) priešakinės skilties paprastai reikalauja, kad prieš tai būtų išskiriami kitos klasės hormonai, kuriuos gamina pogumburis (struktūra, esanti apatinėje smegenų dalyje, kuri yra sujungta su hipofize ir ją kontroliuoja). Vienas iš pogumburio hormonų veikia kaip faktorius, kuris sukelia gonadotropinių hormonų, ypač LH (luteinizuojantis hormonas, kuris yra hipofizės hormonas, priverčiantis vyrų sėklides ir moterų kiaušides gaminti lytinius hormonus) ir FSH (folikulas stimuliuojantis hormonas, kuris yra hipofizės hormonas, stimuliuojantis kiaušidės pūslelių augimą moterims ir spermos

susidarymą vyrams), išlaisvinimą. Šis hormonas čia yra vadinamas "GnRH" (gonadotropiną išlaisvinantis hormonas) ir/arba "LH-RH" (luteinizuojantį hormoną išlaisvinantis hormonas). GnRH yra dekaeptidinis hormonas, gaminamas pogumburio lanko pavidalo branduolių (lanko pavidalo branduoliai yra bet kuri iš gumburo, pogumburio arba pailgųjų smegenų ląstelinių masių), kuris kontroliuoja hipofizės liaukos produkciją ir išlaisvina gonadotropinus (hormonai, įskaitant FSH ir LH, kuriuos gamina hipofizės liauka, kontroliuojanti reprodukcijos funkciją). GnRH (LH-RH) gali būti pavaizduotas pyro-Glu-His-Trp-Ser-Tyr-Gly-Leu-Arg-Pro-Gly-NH₂ seka arba - vienos raidės kodu – pyro-EHWSYGLRPG-NH₂. GnRH veikia didelio afiniškumo hipofizės receptorius stimuliuodami LH ir FSH gaminimąsi ir išsiskyrimą.

Hipofizės atsakas į GnRH gyvenimo bėgyje labai kinta. GnRH ir gonadotropinai pirmiausia pasirodo vaisiuje praėjus dešimčiai savaičių nuo pastojimo. Jautrumas GnRH mažėja po trumpo pakilimo per pirmuosius tris mėnesius po gimimo iki brendimo pradžios. Prieš brendimą FSH atsakas į GnRH yra didesnis nei LH. Kai prasideda brendimas, jautrumas GnRH padidėja ir po to seka pulsuojanči LH sekrecija. Vėlyvojo brendimo laikotarpiu ir reprodukcijos metais pulsacijos vyksta per visą dieną, esant didesniems LH atsakams nei FSH. Po menopauzės FSH ir LH koncentracijos padidėja, ir pomenopauziniai FSH kiekiai yra didesni nei LH kiekiai.

Pulsacinis GnRH išlaisvinimas sukelia pulsacinį LH ir FSH išlaisvinimą. Vienok nepertraukiama GnRH ir jo analogų infuzija sukelia LH ir FSH išlaisvinimo inhibavimą. Šis reiškinys buvo panaudotas sėkmingam gonadotropino tarpininkaujamo per daug ankstyvo brendimo gydymui, skiriant nepertraukiamą LH-RH arba jo analogų vartojimą. Atvirkščiai, žmonėms, turintiems GnRH trūkumą, LH-RH vartojimas su pertraukomis gali atstatyti normalų menstruacinį ciklą arba normalų spermos ir testosterono gaminimąsi.

GnRH agonistai, kurie yra junginiai, stimuliuojantys hipofizės liauką, kad ji išskirtų arba moduluotų FSH ir LH, buvo viena iš priemonių, kurias galima parinkti nuo lytinių steroidų priklausančių patofiziologijų gydymą, dėl

riboto skaičiaus tinkamų antagonistų, prieinamų klinikiniam įvertinimui. Tačiau dabar yra aptarinėjami GnRH antagonistai, kurie yra junginiai, slopinantys hipofizės liauką, kad ji neišskirtų FSH ir LH.

GnRH antagonistai gali būti naudingi slopinant gonadotropino sekrecijas ir apsaugant nuo ovuliacijos moteriškos lyties žinduolius. GnRH antagonistai buvo tyrinėti kontracepcijos ir koncepcijos laikotarpių požiūriu, o taip pat nevaisingumo gydymui, ovuliacijos sukėlimo kontroliavimui moterims su chronišku ovuliacijos nebuvimu ir apvaisinimu *in vitro*. GnRH antagonistai taip pat gali būti tinkami gydant per daug ankstyvą brendimą, endometriozę (įskaitant skausmingą endometriozę), aknę, amenorėją (pvz. antrinę amenorėją), gimdos miomą, kiaušidžių ir krūties cistines ligas (įskaitant policistinę kiaušidžių ligą) bei krūties ir ginekologinius vėžinius susirgimus. GnRH antagonistai taip pat gali būti naudingi priešmenstruacinio sindromo (PMS) simptomų palengvinimui. Jie taip pat gali būti naudojami kiaušidinio hiperandrogenizmo ir hirsutizmo gydymui. Taip pat buvo rasta, kad antagonistai tinka gonadotropinų sekrecijai reguliuoti vyriškos lyties žinduoliams ir gali būti naudojami spermatogenezei sulaikyti, pvz. kaip vyriški kontraceptikai vyrų seksualinių nusikaltėlių gydymui ir prostatos hipertrofijos gydymui. Konkrečiau, GnRH antagonistai taip pat gali būti naudojami nuo steroidų priklausantiems augliams, tokiems kaip prostatos ir krūties augliai, gydyti ir ovuliacijos laiko kontroliavimui dėl apvaisinimo *in vitro*. GnRH antagonistai taip pat gali būti naudojami gydyti pacientams, sergantiems ligomis, tokiomis kaip AIDS, kuriose turėtų būti naudinga stimuliuoti užkrūčio liauką, produkuojančią T-ląsteles. Visi šie panaudojimai yra susiję su GnRH antagonisto geba blokuoti GnRH aktyvumą.

Iki šiol prieinamais GnRH antagonistais pirmiausia buvo peptidiniai GnRH analogai. Žr., pvz., International Publication No. WO 93/03058. Peptidinių hormonų peptidiniai antagonistai dažniausiai yra gana veiksmingi, tačiau peptidinių antagonistų panaudojimas paprastai yra susijęs su problemomis, kadangi peptidus skaldo fiziologiniai fermentai ir jie dažnai sunkiai pasiskirsto gydomame organizme. Taigi, kaip vaistai, jie turi ribotą

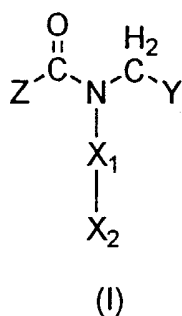
efektyvumą. Iš to seka išvada, kad dabartiniu metu egzistuoja peptidinio hormono GnRH nepeptidinių antagonistų poreikis.

Išradimo santrauka

Todėl šio išradimo tikslas yra pateikti nepeptidinius junginius, kurie yra GnRH agentai (agonistai arba antagonistai), susirišančius su GnRH receptoriais ir tokiu būdu moduluojančius aktyvumą, ypač tokius, kurie yra veiksmingi GnRH antagonistai. Kitas išradimo tikslas yra pateikti efektyvias terapijas individams, kuriems yra reikalingas terapinis GnRH reguliavimas, ir pateikti gydymo būdus ligoms ir būklėms, kuriose tarpininkauja GnRH reguliavimas.

Tokie tikslai buvo pasiekti panaudojant šio išradimo nepeptidinius GnRH junginius, kurie yra naudingi kaip vaistai indikacijoms, kuriose tarpininkauja GnRH reguliavimas. Išradimo junginiai yra farmaciškai tinkamesni už peptidinius junginius, kadangi jie duoda geresnį biopasiskirstymą ir nepasiduoda fiziologinių fermentų skatinamai degradacijai. Šiame išradime taip pat yra pateikiami šių junginių sintezės būdai bei tarpiniai junginiai, tinkami šiems junginiams gauti.

Šio išradimo GnRH agentai turi bendrąją formulę I:



kurioje:

Z yra grupė, pasirinkta iš turinčio pakaitų ir neturinčio pakaitų alkilo, alkenilo, alkinilo, cikloalkilo, heterociklo, arilo, heteroarilo, CH₂OR ir C(O)OR, kuriose R yra turintis pakaitų arba neturintis pakaitų alkilas, alkenilas, alkinilas, cikloalkilas, arilas arba heteroarilas ir kur bendras Z grupėje esančių anglies atomų skaičius, neįskaitant galimų pakaitų, yra nuo 1 iki 12;

Y yra lipofilinė grupė, pasirinkta iš turinčio pakaitų ir neturinčio pakaitų alkilo, alkenilo, alkinilo, cikloalkilo, arilo ir heteroarilo, kur bendras Y grupėje esančių anglies atomų skaičius, neįskaitant galimų pakaitų, yra nuo 6 iki 20;

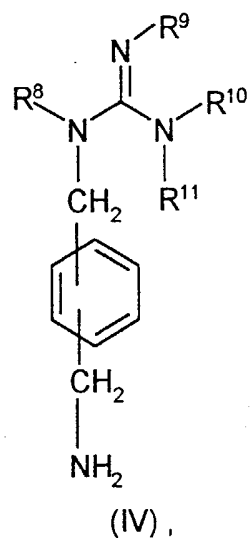
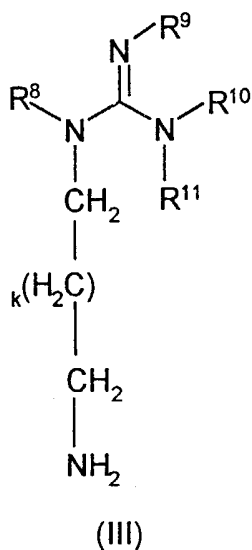
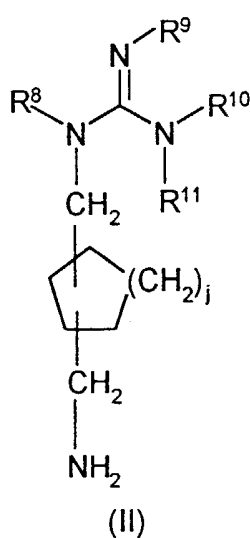
X_1 yra struktūrinis vienetas arba tarpiklis, naudojamas $CH_2NC(O)$, X_2 , Y ir Z funkciniams vienetais sujungti 3-matėje erdvėje, kuris yra pasirinktas iš turinčio pakaitų ir neturinčio pakaitų alkilo, alkenilo, alkinilo, cikloalkilo, arilo ir heteroarilo taip, kad atomų skaičius vieneto, jungiančio centrinį azotą (N atomas I formulėje yra vadinamas "centrinis azotu", norint išvengti painiavos su bet kokiais azotą turinčiais pakaitais) su X_2 , grandinės dalyje yra nuo 3 iki 8, geriau nuo 4 iki 6; ir

X_2 yra bazinė grupė, turinti pK_a didesnė nei maždaug 8, kurią geriausia pasirinkti iš turinčio pakaitų ir neturinčio pakaitų guadinilo, amidinilo, acilamidinilo, azetidinio ir aminogrupės.

Apart I formulės junginių, šio išradimo GnRH agentai apima I formulės junginių farmaciškai priimtinas druskas, multimerines formas, provaistus ir aktyvius metabolitus. Tokie nepeptidiniai agentai yra farmaciškai tinkamesni už peptidinius junginius, kadangi jie duoda geresnę biopasiskirstymą ir yra atsparūs fiziologinių fermentų skatinamai degradacijai.

Šis išradimas taip pat yra susijęs su farmacinėmis kompozicijomis, į kurias įeina terapiškai efektyvus kiekis šio išradimo GnRH agento derinyje su farmaciškai priimtinu nešikliu arba skiedikliu. Be to, šis išradimas yra susijęs su gonadotropinų sekrecijos reguliavimu žinduoliuose, kuris apima šio išradimo GnRH agentų terapiškai efektyvių kiekių skyrimą.

Išradimas taip pat yra susijęs su šių junginių sintezės būdais bei su tarpiniais junginiais, tinkančiais jiems pagaminti. Tarpiniai junginiai, tinkantys I formulės junginiams gauti, yra junginiai, kurie aprašomi II, III ir IV formulėmis:



kuriuose:

j yra 1 arba 2;

k yra 1, 2, 3, 4 arba 5;

R^8 yra H arba turintis pakaitų arba neturintis pakaitų žemesnysis alkilas;

R^9 yra H arba turintis pakaitų arba neturintis pakaitų žemesnysis alkilas, CN, NO₂ arba CO₂R¹;

R^{10} yra H arba turintis pakaitų arba neturintis pakaitų žemesnysis alkilas, CH₂OR¹, (CH₂)_pOR¹, CO₂R¹ arba (CH₂)_pC(O)R², kur p yra sveikas skaičius nuo 1 iki 6, o R² yra H, OR¹, SR¹, N(R¹)₂ arba C(R¹)₃;

R^{11} yra H arba turintis pakaitų arba neturintis pakaitų žemesnysis alkilas, CH₂O-fenilas, CH₂O-benzilas, fenilas arba benzilas;

arba bet kurie du radikalai iš R^8 , R^9 , R^{10} ir R^{11} (R^8 ir R^9 arba R^8 ir R^{11} , arba R^8 ir R^{10} , arba R^9 ir R^{10} , arba R^9 ir R^{11} , arba R^{10} ir R^{11}) paimti kartu sudaro 5- arba 6-narį heterociklą;

ir kur kiekvienas R¹ yra nepriklausomai parinktas iš turinčio pakaitų arba neturinčio pakaitų žemesniojo alkilo, O-žemesniojo alkilo ir S-žemesniojo alkilo.

Kitos šio išradimo ypatybės, tikslai ir privalumai paaiškės iš toliau duodamo smulkaus šio išradimo aprašymo ir tinkamiausių jo įgyvendinimo variantų.

Trumpas brėžinių aprašymas

Fig.1 yra poslinkio kreivės, gautos išmatavus radioizotopais žymėto GnRH, prijungto prie membranų su GnRH receptoriais, kiekio priklausomybę nuo nežymėto GnRH koncentracijos, grafikas.

Fig.2 yra procentinio parūgštėjimo ląstelėse, ekspresuojančiose žmogaus GnRH receptorių, kaip atsako į didėjančią GnRH koncentraciją, nesant ir esant GnRH antagonistui, grafikas.

Smulkus išradimo aprašymas ir tinkamiausi jo įgyvendinimo variantai

GnRH agentai

Kai kurie iš šio išradimo junginių turi vieną arba daugiau asimetrijos centrų ir todėl gali duoti enantiomerus, diastereoizomerus arba kitas stereoizomerines formas. Turima omenyje, kad išradimas apima visus tokius galimus stereoizomerus bei jų racemines ir optiškai grynas formas. Kai čia aprašyti junginiai turi olefinines dvigubas jungtis, laikoma, kad jie apima ir E, ir Z geometrinius izomerus.

Čia parodytose cheminėse formulėse gali pasireikšti tautomerijos reiškiny. Kai šiame aprašyme parodyta struktūrinė formulė vaizduoja vieną iš galimų tautomerinių formų, turėtų būti suprantama, kad išradimas vis dėlto apima visas tautomerines formas.

Terminas "alkilas" reiškia tiesiosios arba šakotosios grandinės alkilo grupes, turinčias nuo vieno iki dvylikos anglies atomų. Tokių grupių pavyzdžiais yra metilas (Me), etilas, n-propilas, izopropilas, butilas, izobutilas, antr.-butilas, tret.-butilas (tBu), pentilas, izopentilas, tret-pentilas, heksilas, izohexilas ir pan. Terminas "žemesnysis alkilas" reiškia alkilą, turintį nuo 1 iki 8 anglies atomų (C_{1-8} -alkilas). Tinkamai pakeisti alkilai apima fluormetilą, difluormetilą, trifluormetilą, 2-fluoretilą, 3-fluorpropilą, hidroksimetilą, 2-hidroksietilą, 3-hidroksipropilą ir pan.

Terminas "alkenilas" reiškia tiesiosios arba šakotosios grandinės alkenilo grupes, turinčias nuo 2 iki 12 anglies atomų. Tokių grupių pavyzdžiais yra prop-2-enilas, but-2-enilas, but-3-enilas, 2-metilprop-2-enilas, heks-2-enilas ir pan.

Terminas "alkinilas" reiškia tiesiosios arba šakotosios grandinės alkinilo grupes, turinčias nuo 2 iki 12 anglies atomų. Tokių grupių pavyzdžiais yra metilprop-2-inilas, 3-metilpent-4-inilas, heks-2-inilas ir pan.

Terminas "karbociklas" reiškia monociklinę arba policiklinę anglies atomų žiedinę struktūrą (heteroatomų nėra), turinčią nuo 3 iki 7 anglies atomų kiekviename žiede, kuris gali būti sotus, dalinai sotus arba nesotus. Karbociklų pavyzdžiais yra cikloalkilai ir arilai.

Terminas "heterociklas" reiškia monociklinę arba policiklinę žiedinę struktūrą su vienu arba daugiau heteroatomų, pasirinktų iš N, O ir S, ir turinčią nuo 3 iki 7 atomų (anglies atomai plius koks nors heteroatomas(ai)) kiekviename žiede, kuris gali būti sotus, dalinai sotus arba nesotus. Heterociklų pavyzdžiais yra tetrahidrofuranilas, tetrahidropiranilas, azetidinas, pirolidinilas, piperidinilas, piperazinilas ir panašūs.

Čia panaudotas terminas "cikloalkilai" reiškia sočius karbociklus, turinčius 3-12 anglies atomų, įskaitant biciklines ir triciklines cikloalkilines struktūras. Tinkamais cikloalkilais yra ciklopropilas, ciklobutilas, ciklopentilas, cikloheksilas, cikloheptilas ir panašūs.

Terminai "arilai" ir "heteroarilai" reiškia monociklines ir policiklines nesočias arba aromatines žiedines struktūras, kur "arilas" reiškia tokias, kurios yra karbociklai, o "heteroarilas" reiškia tokias, kurios yra heterociklai. Aromatinių žiedinių struktūrų pavyzdžiais yra fenilas, naftilas, 1,2,3,4-tetrahidronaftilas, furilas, tienilas, pirolilas, piridilas, piridinilas, pirazolilas, imidazolilas, pirazinilas, piridazinilas, 1,2,3-triazinilas, 1,2,4-oksadiazolilas, 1,3,4-oksadiazolilas, 1-H-tetrazol-5-ilas, indolilas, chinolinilas, benzofuranilas, benzotiofenilas (tianaftenilas) ir pan. Tokiose liekanose gali būti vienas arba daugiau tinkamų pakaitų, pavyzdžiui, pakaitas pasirinktas iš halogeno (F, Cl, Br ir I); žemesniojo alkilo; OH; NO₂; CN; CO₂H; O-žemesnysis alkilas; arilas; aril-žemesnysis alkilas; CO₂CH₃; CONH₂; OCH₂CONH₂; NH₂; SO₂NH₂;

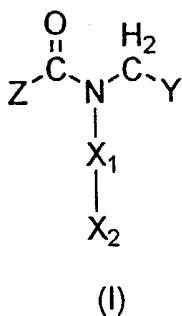
OCHF_2 ; CF_3 ; OCF_3 ; ir pan. Tokiose liekanose kaip pakaitas gali būti ir kondensuota žiedinė struktūra arba tiltelis, pavyzdžiui $\text{OCH}_2\text{-O}$.

Terminas "aril-žemesnysis alkilas" reiškia žemesnįjį alkilą, kuriame yra arilas. Jų pavyzdžiais yra benzilas, fenetilas, piridilmetilas, naftilmetilas ir pan. Aril-žemesniajame alkile taip pat gali būti pakaitų.

Bendrai paėmus, įvairiose X_1 , X_2 , Y ir Z atitinkančiose liekanose gali būti vienas arba daugiau tinkamų pakaitų. Tokių pakaitų pavyzdžiais yra halogenas (F, Cl, Br ir I); žemesnysis alkilas; $-\text{OH}$, $-\text{NO}_2$, $-\text{CN}$, $-\text{CO}_2\text{H}$, $-\text{O}$ -žemesnysis alkilas, $-\text{arilas}$, $-\text{aril-žemesnysis alkilas}$, $-\text{CO}_2\text{CH}_3$, $-\text{CONH}_2$, $-\text{OCH}_2\text{CONH}_2$, $-\text{NH}_2$, $-\text{SO}_2\text{NH}_2$, halogenalkilas (pvz., $-\text{CF}_3$; $-\text{CH}_2\text{CF}_3$), $-\text{O}$ -halogenalkilas (pvz., $-\text{OCF}_3$, $-\text{OCHF}_2$) ir pan.

"Blokuojančios grupės" reiškia grupes, kurios apsaugo vieną arba daugiau būdingų funkcinių grupių nuo priešlaikinės reakcijos. Tinkamas blokuojančias grupes paprastai gali parinkti specialistas priklausomai nuo funkcinės grupės ir konkrečios cheminės reakcijos, reikalingos junginiui sukomponuoti. Tinkamų blokuojančių grupių pavyzdžiai yra aprašyti, pavyzdžiui, Greene and Wutz, *Protecting Groups in Organic Synthesis*, 2nd edition, John Wiley & Sons, New York, (1991). Blokuojančių grupių, panaudotų šio išradimo praktikoje, pavyzdžiais yra tret-butoksikarbonilas (Boc) ir pan.

Šio išradimo junginiai, tinkami kaip GnRH agentai, turi tokią formulę I:



kurioje:

Z yra grupė, pasirinkta iš turinčio pakaitų ir neturinčio pakaitų alkilo, alkenilo, alkinilo, cikloalkilo, heterociklo, arilo, heteroarilo, CH_2OR ir C(O)OR , kuriose R yra turintis pakaitų arba neturintis pakaitų alkilas, alkenilas,

alkinilas, cikloalkilas, arilas arba heteroarilas ir kur bendras Z grupėje esančių anglies atomų skaičius, neįskaitant galimų pakaitų, yra nuo 1 iki 12;

Y yra lipofilinė grupė, pasirinkta iš turinčio pakaitų ir neturinčio pakaitų alkilo, alkenilo, alkinilo, cikloalkilo, arilo ir heteroarilo, kur bendras Y grupėje esančių anglies atomų skaičius, neįskaitant galimų pakaitų, yra nuo 6 iki 20;

X₁ yra struktūrinis vienetas arba tarpiklis, naudojamas CH₂NC(O), X₂, Y ir Z funkciniais vienetais sujungti 3-matėje erdvėje, kuris yra pasirinktas iš turinčio pakaitų ir neturinčio pakaitų alkilo, alkenilo, alkinilo, cikloalkilo, arilo ir heteroarilo taip, kad atomų skaičius vieneto, jungiančio centrinių azotą (N atomas I formulėje yra vadinamas "centrinio azotu", norint išvengti painiavos su bet kokiais azotą turinčiais pakaitais) su X₂, grandinės dalyje yra nuo 3 iki 8, geriau nuo 4 iki 6; ir

X₂ yra bazinė grupė, turinti pK_a didesnę nei maždaug 8, kurią geriausia pasirinkti iš turinčio pakaitų ir neturinčio pakaitų guadinilo, amidinilo, acilamidinilo, azetidino ir aminogrupės; ir tokių junginių farmaciškai priimtinos druskos, provaistai, farmaciškai aktyvūs metabolitai ir imituojančios formos.

Be to, laikoma, kad I formulės junginiai apima, kur tinka, solvatuotas bei nesolvatuotas šių junginių formas. Taigi, I formulės junginiai apima junginius, turinčius nurodytą struktūrą, įskaitant hidratuotas ir nehidratuotas formas.

Tinkamiausios Z grupės yra: pakeisti ir nepakeisti furilai, pavyzdžiui, 2-furilas, 3-furilas, 5-metil-2-furilas ir 5-nitro-2-furilas; pakeistas ir nepakeistas pirolilas; pakeisti ir nepakeisti naftilai, pavyzdžiui, 1-naftilas ir 2-naftilas; pakeisti ir nepakeisti tienilai, pvz., 2-tienilas; pakeisti ir nepakeisti piridilai, pavyzdžiui, 2-chlorpirid-5-ilas ir 2-metiltiopirid-3-ilas; pakeisti ir nepakeisti cikloalkilai, pavyzdžiui, ciklopropilas, ciklobutilas, ciklopentilas ir cikloheksilas; ir pakeisti ir nepakeisti žemesnieji alkilai, tokie kaip metilas, etilas, propilas, butilas ir panašūs, o taip pat ir pakaitu turintys fluora, pvz., CF₃, kuris yra ypatingai tinkamas. Ypatingai tinkamos Z grupės yra furilai, pirolilai, tienilai ir CF₃.

•

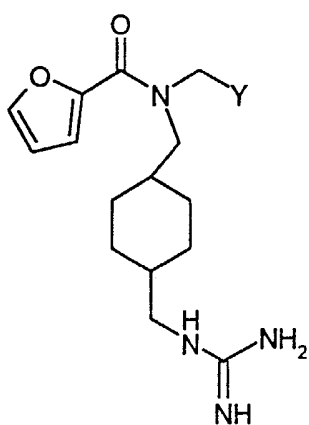


Tinkamiausios X_1 grupės yra alkileno, alkilen-cikloalkil-alkileno ir alkilen-aril-alkileno grandinės, kur terminas "alkilenas" reiškia $(CH_2)_n$, kurioje n yra sveikas skaičius nuo 1 iki 6. Ypatingai tinkamos X_1 grupės yra šios:

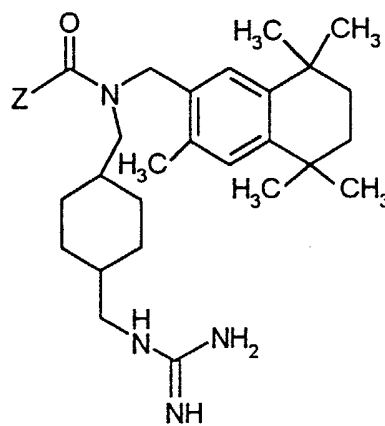


Tinkamiausios X_2 grupės yra labai bazinės, pvz. turinčios pK_a didesnę nei maždaug 9, dar geriau – didesnę nei maždaug 10. X_2 grupių pavyzdžiais yra guanidinilas, amidinilas ir aminogrupė, kurioje, kaip pakaitas, gali būti vienas arba daugiau žemesniųjų alkilų. Ypatingai tinkama X_2 grupė yra guanidinilas.

Tinkamiausiai junginiai yra tokie junginiai, kuriuos apima tokios pusiau bendros formulės I' ir I'' (kuriuose Y ir Z yra tokie, kaip apibūdinta aukščiau):

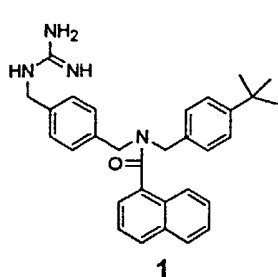


(I')

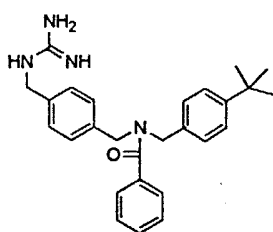


(I'')

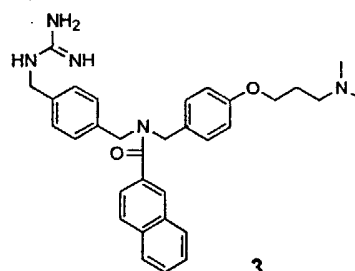
Tinkamiausi konkretūs I formulės junginių įgyvendinimo variantai apima tokius junginius Nr. 1-120 (tolimesniame aprašyme alkilo ir alkileno pakaitai parodyti naudojant įprastą sutrumpinimą, pvz. " | " metilo grupę):



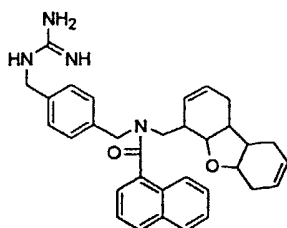
1



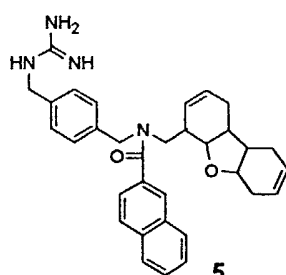
2



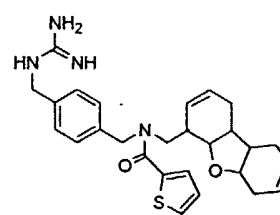
3



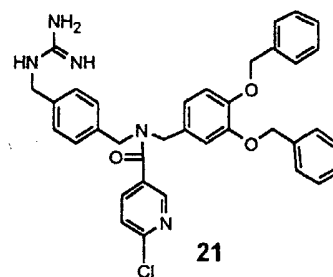
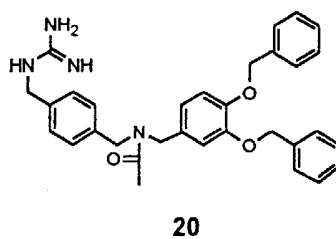
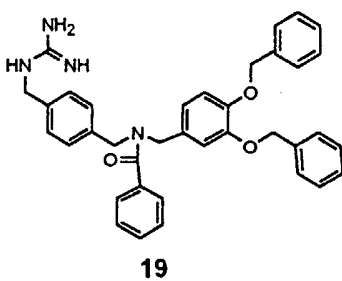
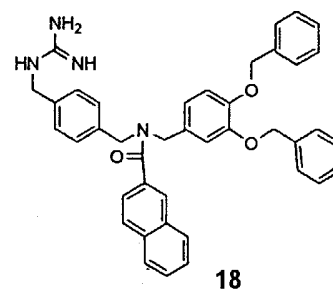
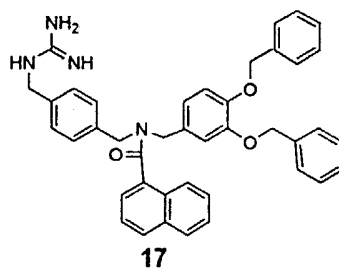
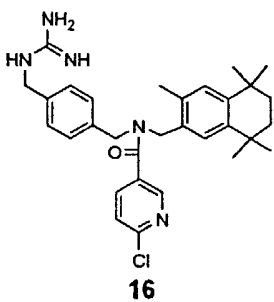
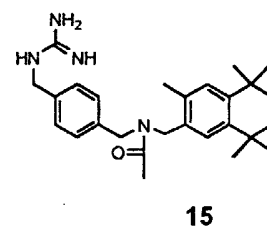
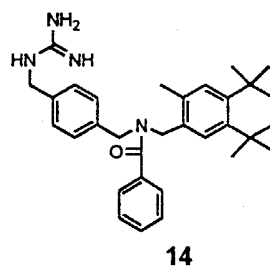
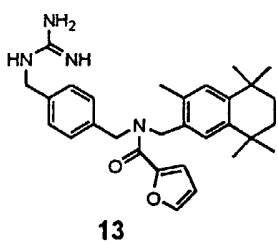
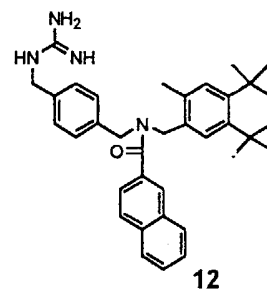
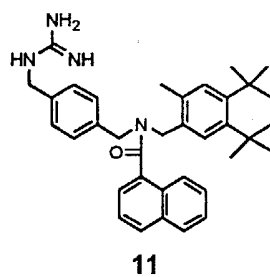
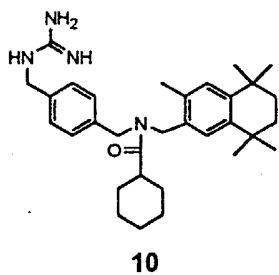
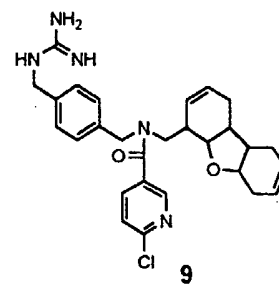
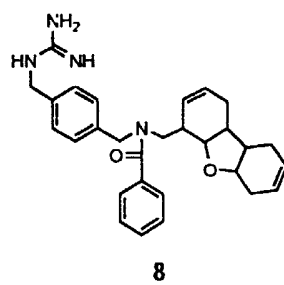
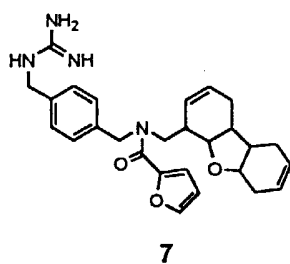
4

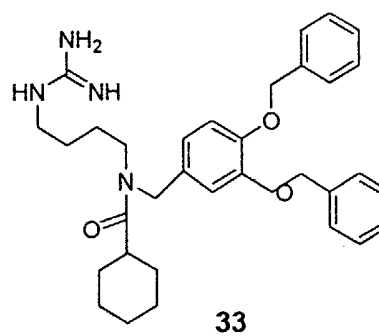
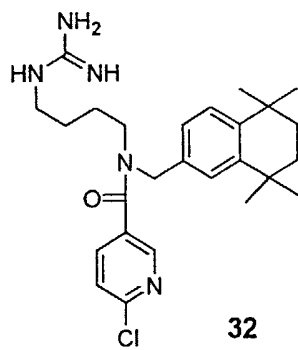
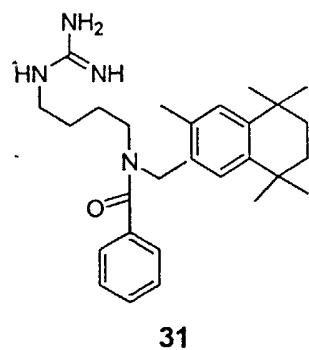
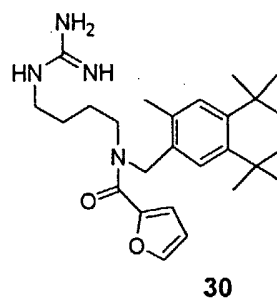
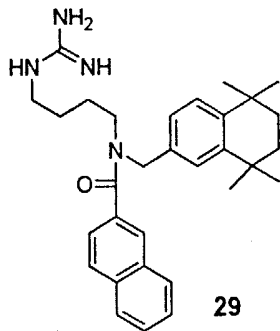
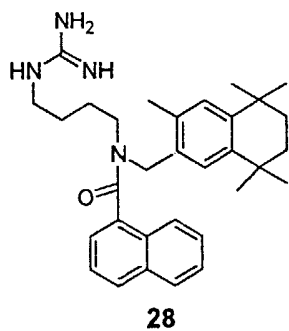
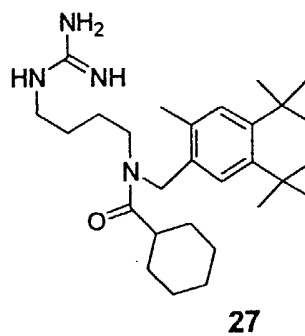
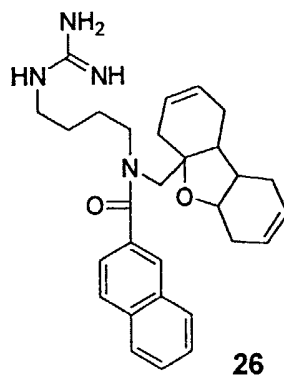
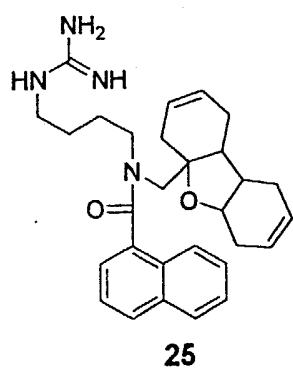
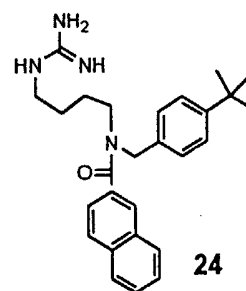
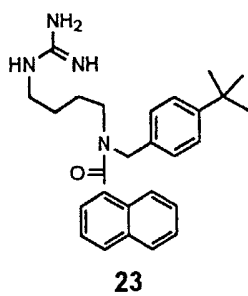
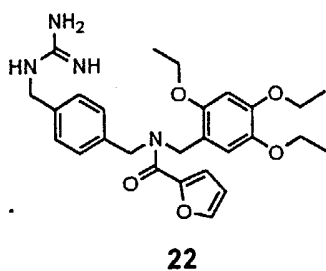


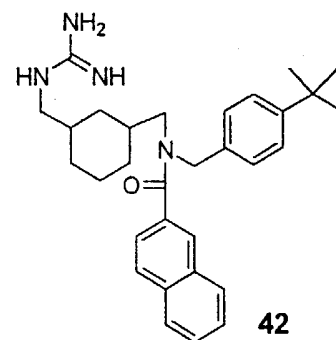
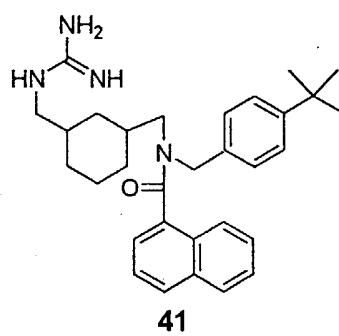
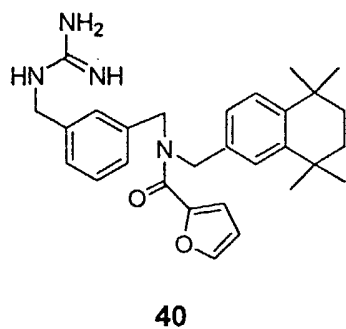
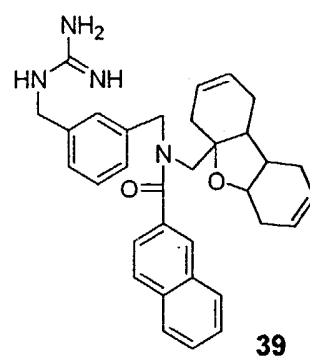
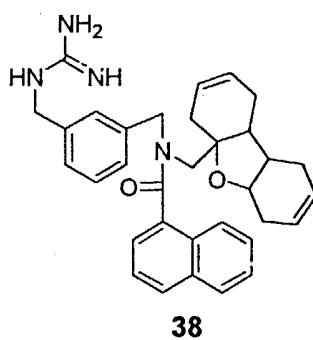
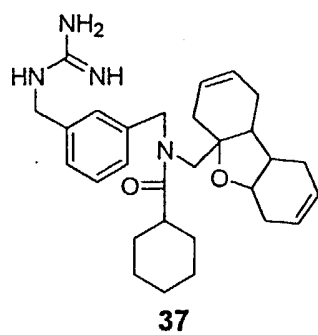
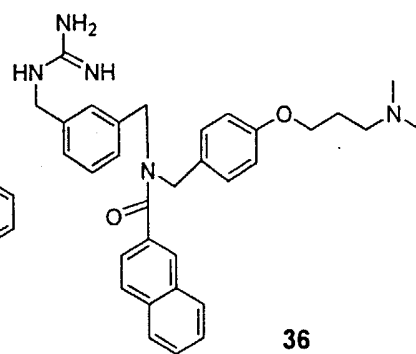
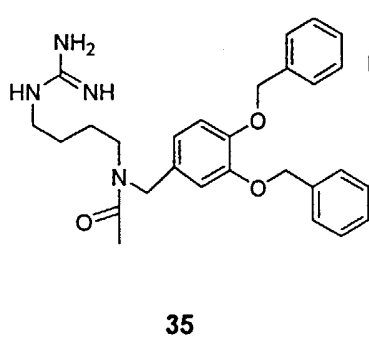
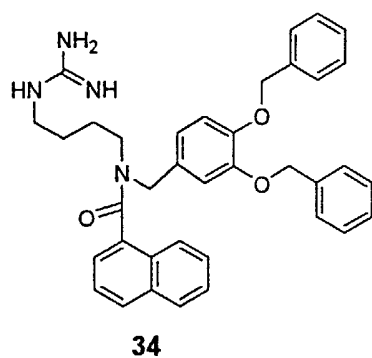
5

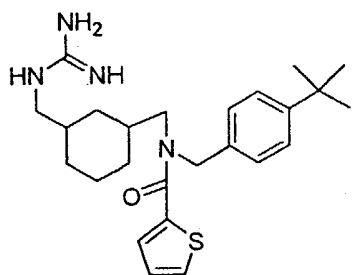


6

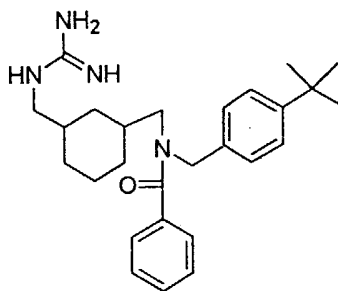




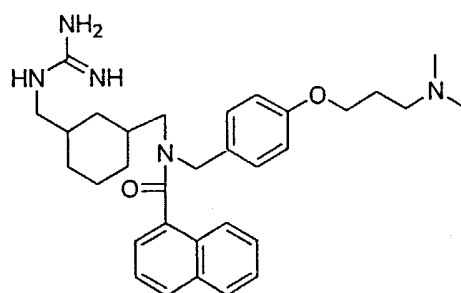




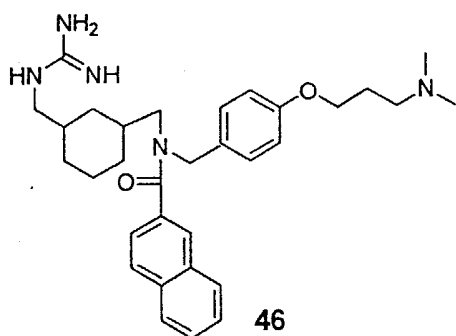
43



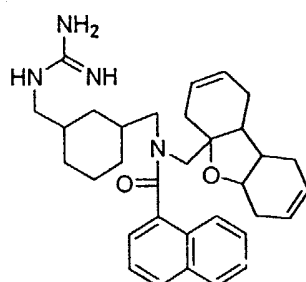
44



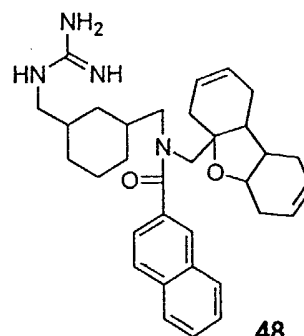
45



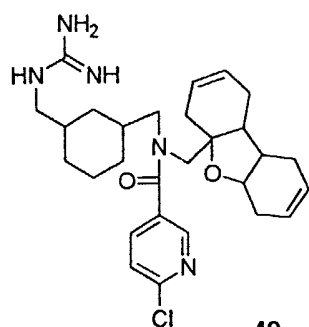
46



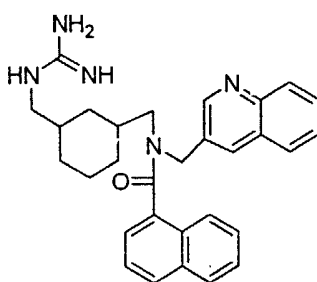
47



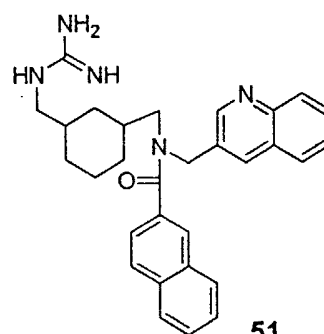
48



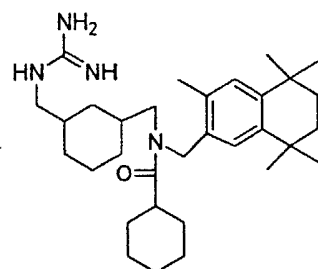
49



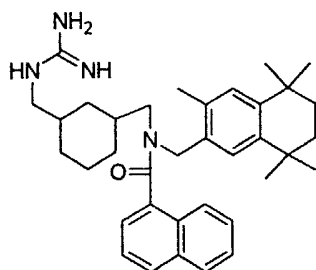
50



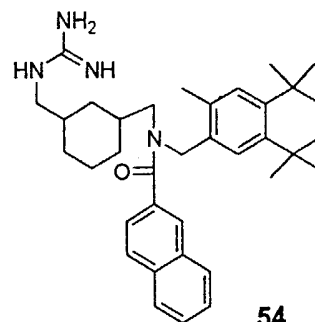
51



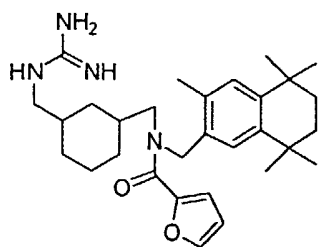
52



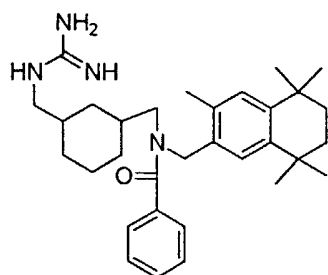
53



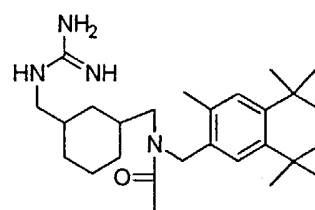
54



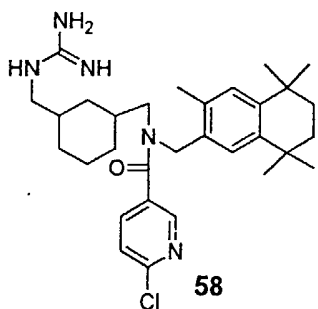
55



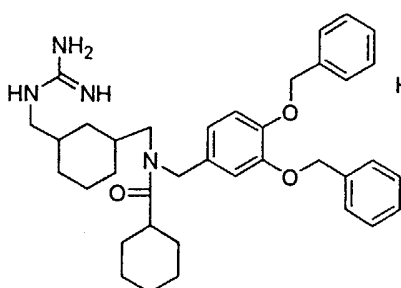
56



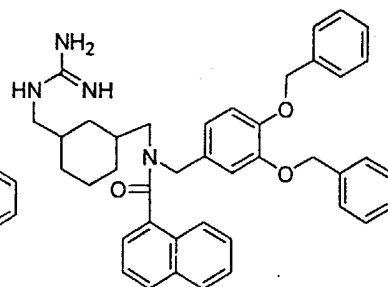
57



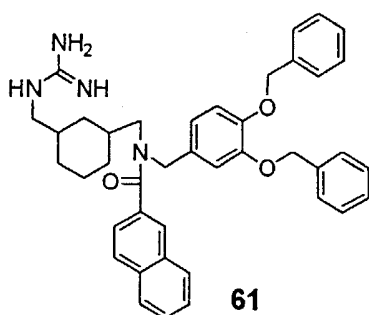
58



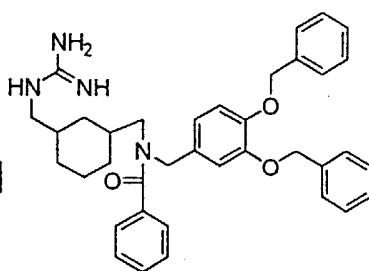
59



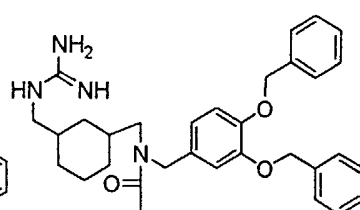
60



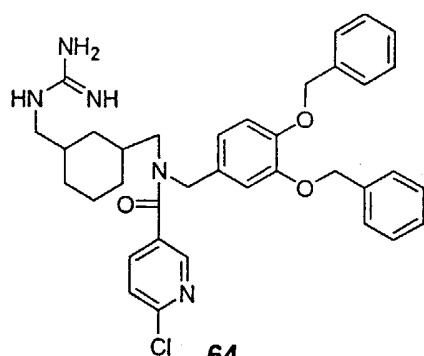
61



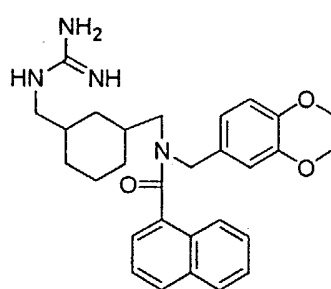
62



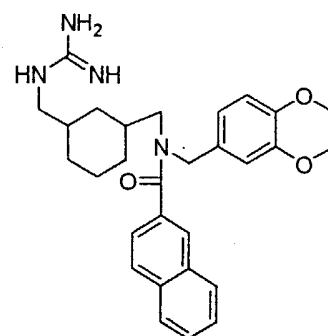
63



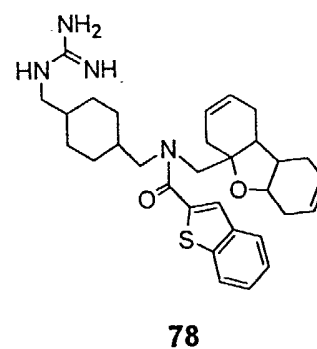
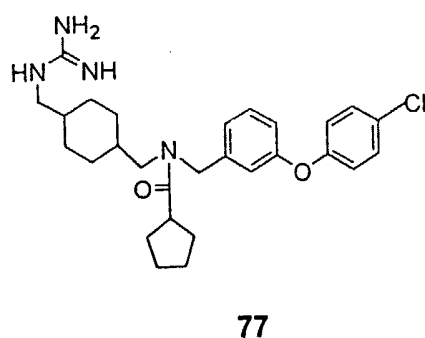
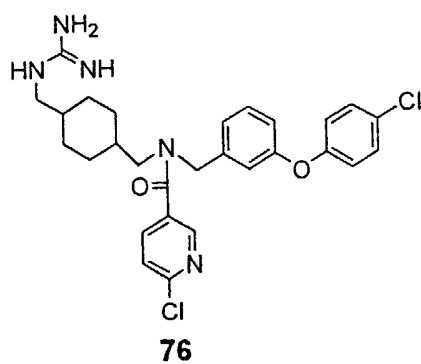
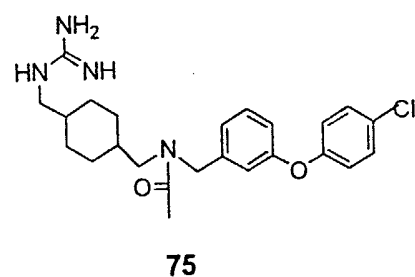
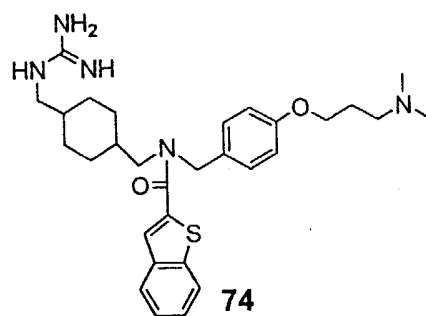
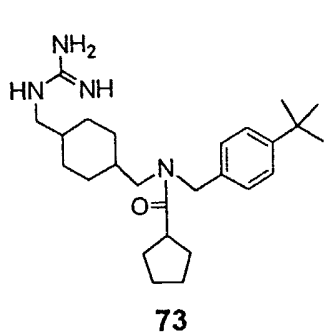
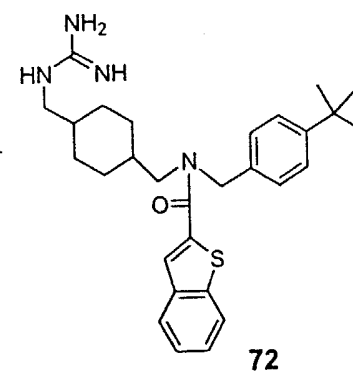
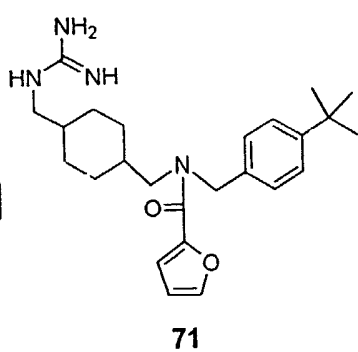
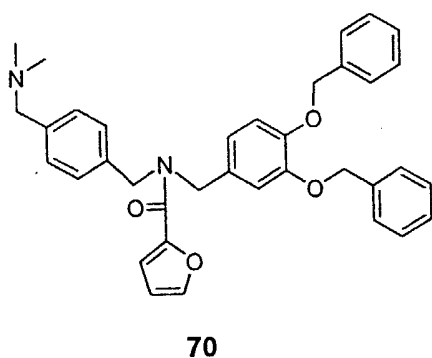
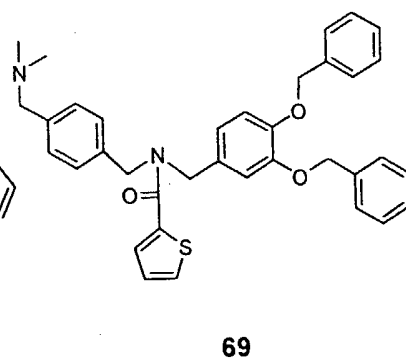
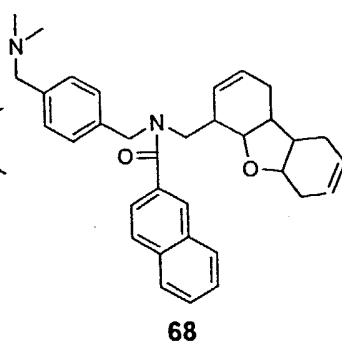
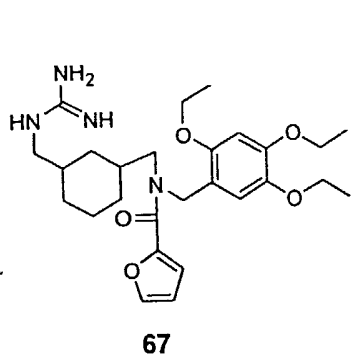
64

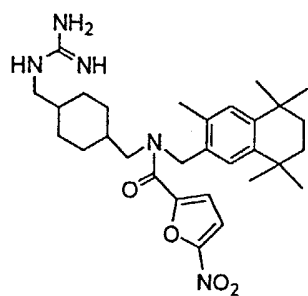


65

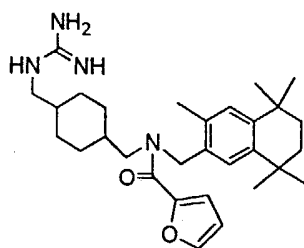


66

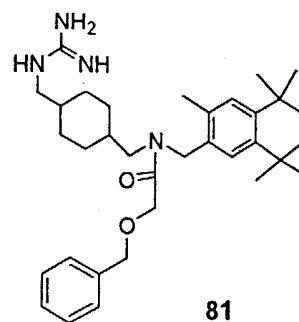




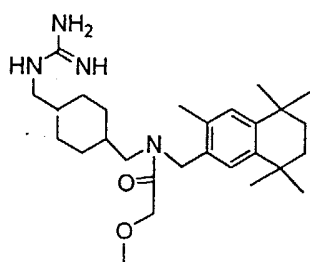
79



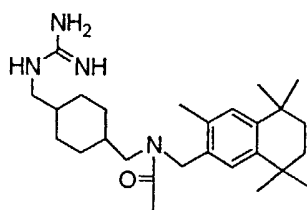
80



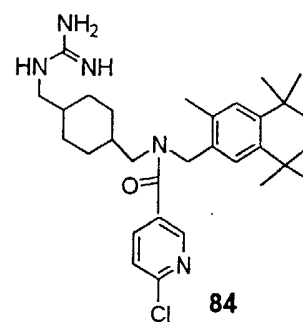
81



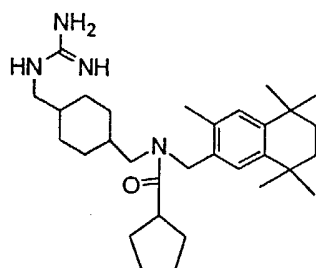
82



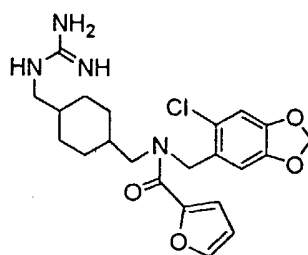
83



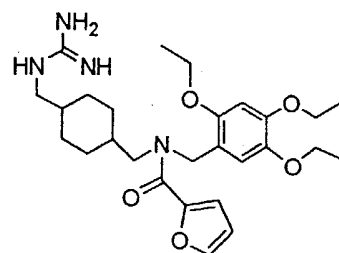
84



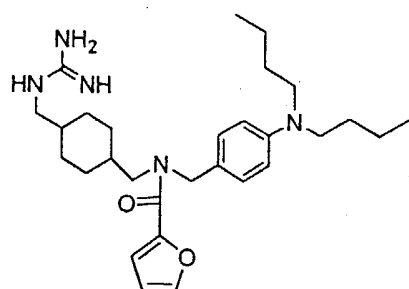
85



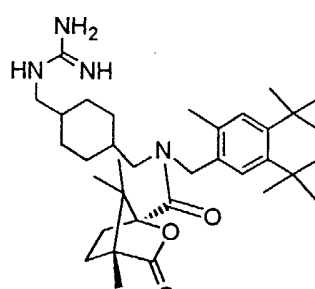
86



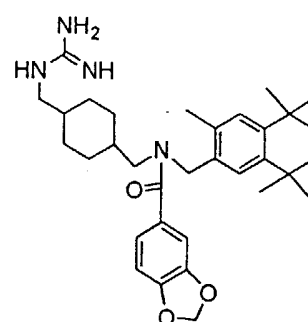
87



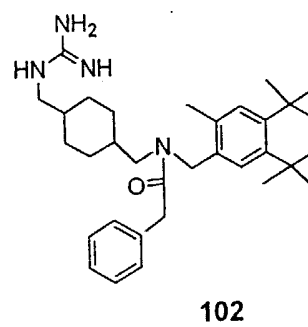
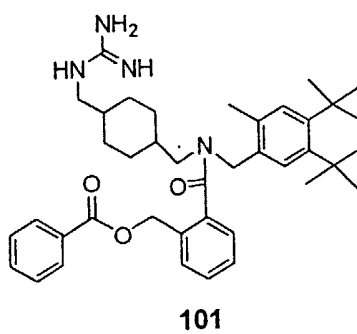
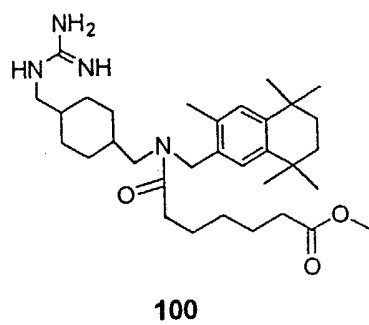
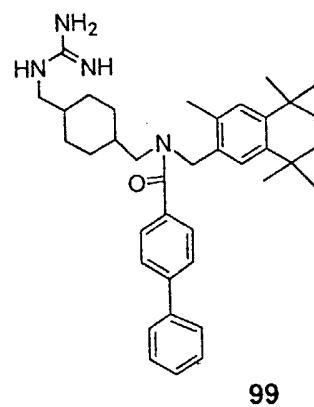
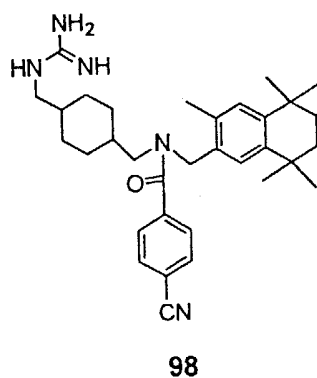
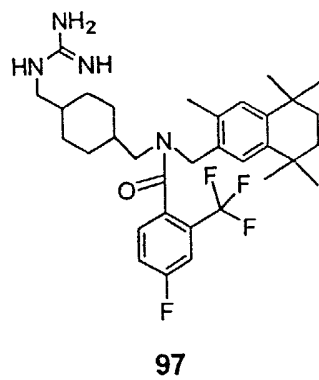
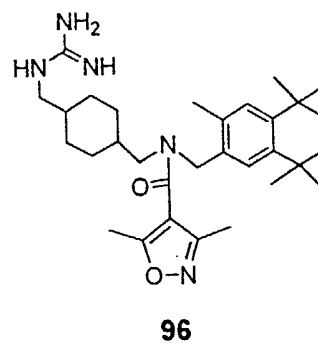
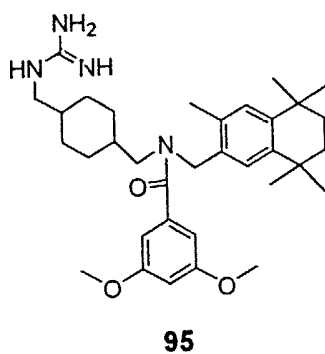
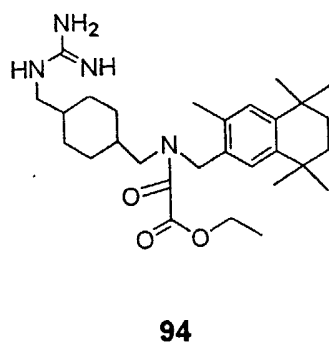
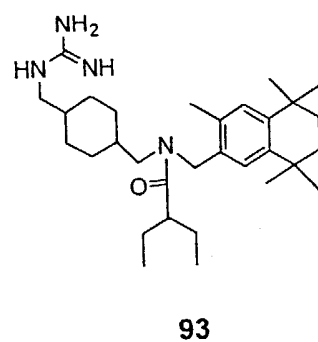
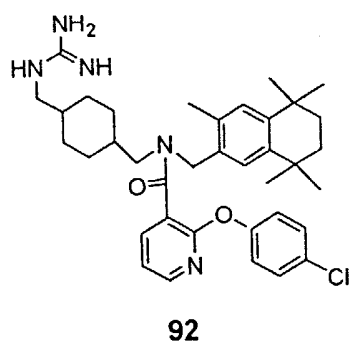
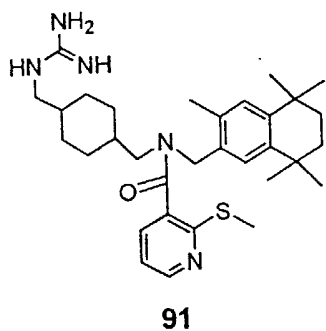
88

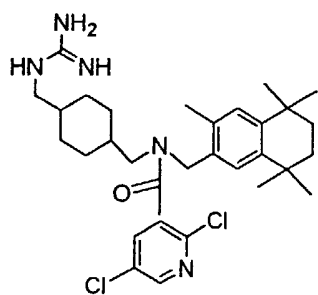


89

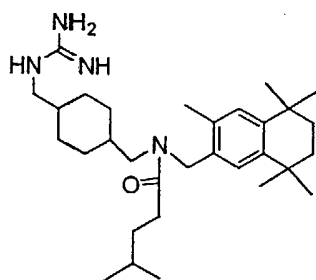


90

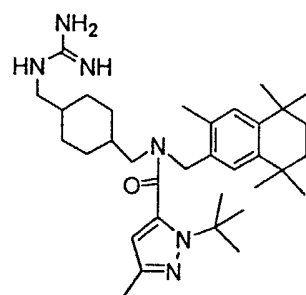




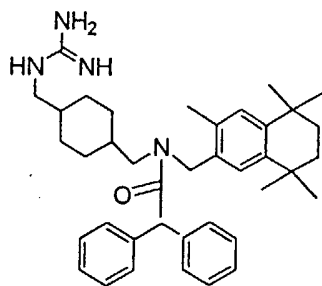
103



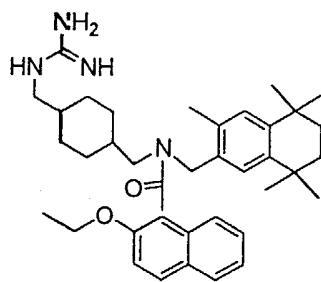
104



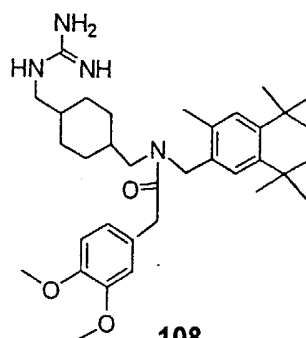
105



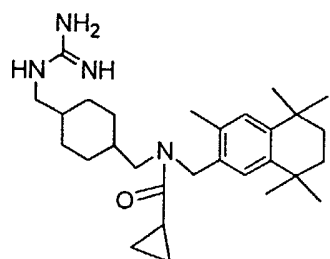
106



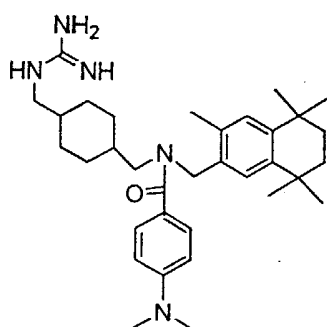
107



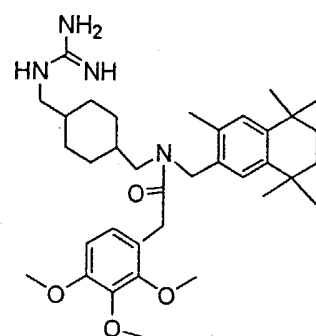
108



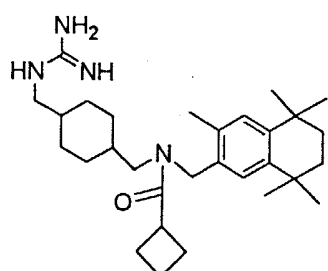
109



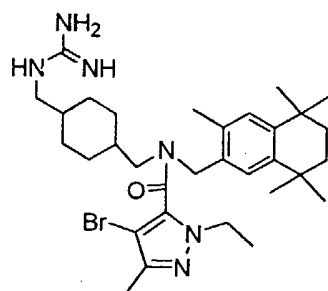
110



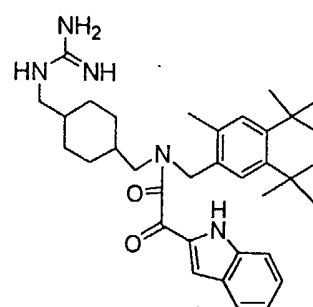
111



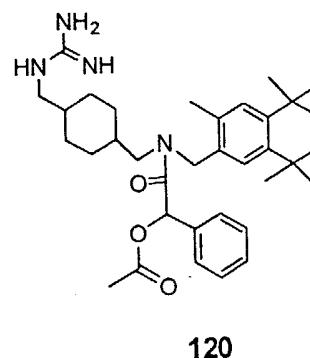
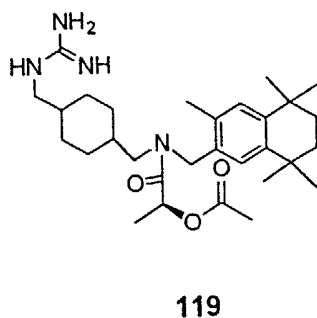
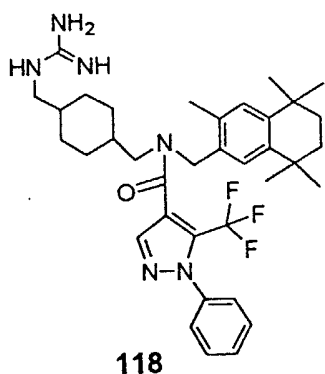
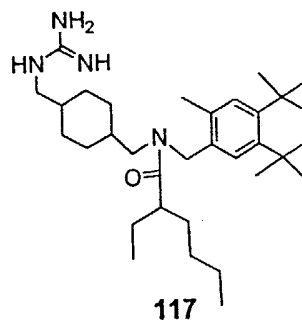
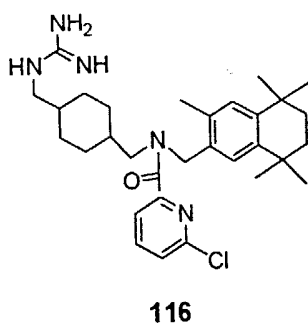
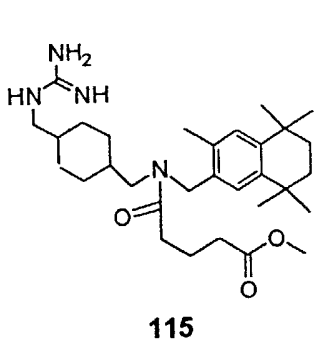
112



113

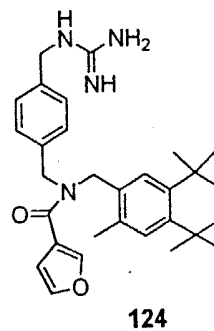
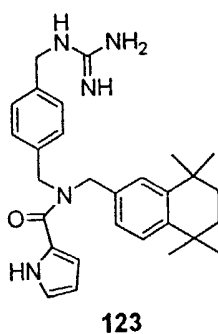
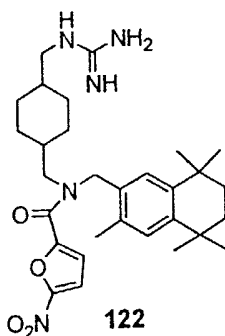
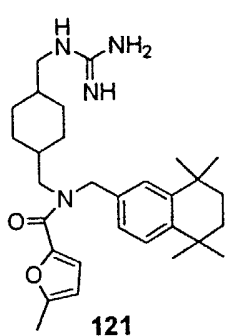


114



Iš aukščiau nurodytų konkrečių junginių ypatingai tinkami yra junginiai Nr. 4, 5, 13, 25, 26, 30, 40, 47, 48, 55 ir 80.

Kiti ypatingai tinkami I formulės GnRH agentai apima šiuos junginius Nr. 121-124:



Kaip nurodyta aukščiau, šio išradimo GnRH agentai taip pat apima I formulės junginių veiklias tautomerines ir stereiozomerines formas, kurios gali būti nesunkiai gaunamos naudojant šioje srityje žinomas metodikas. Pavyzdžiui, optiškai aktyvūs (R) ir (S) izomerai gali būti pagaminami panaudojant stereospecifinę sintezę, pvz. naudojant chiralinius sintonus ir chiralinius reagentus, arba raceminiai mišiniai gali būti išskirstyti naudojant įprastas metodikas.

GnRH agentai taip pat apima I formulės junginių veikliųjų formų multivalentines arba multimerines formas. Tokie "multimerai" gali būti pagaminami prijungiant arba sudedant daugybę veikliojo junginio molekulių vieną prie kitos, pvz. naudojant tiltelius, kurie yra nešiklio liekanoje. Įvairių dimensių multimerai (t.y. turintys įvairių skaičių veikliojo junginio molekulių) gali būti ištirti, nustatant optimalaus dydžio multimerą susirišimo su receptoriumi atžvilgiu. Tokių multivalentinių veikliųjų receptorius surišančių junginių formų, turinčių optimalų atstumą tarp receptorius rišančių liekanų, pateikimas gali sustiprinti receptoriaus surišimą (žr. pvz. Lee et al., *Biochem.*, 1984, 23:4255). Specialistas gali kontroliuoti multivalentiškumą ir atstumus, pasirinkdamas tinkamą nešiklio liekaną arba jungių vienetus. Tinkamos liekanos yra molekuliniai nešikliai, turintys daug funkcinių grupių, kurios gali būti veikiamos funkcinėmis grupėmis, esančiomis šio išradimo veikliuosiuose junginiuose. Labai aktyviems multimerams pagaminti gali būti naudojama daugybė nešiklio liekanų, įskaitant baltymus, tokius kaip BSA (jaučio serumo albuminas) arba HSA, peptidus, tokius kaip pentapeptidai, decapeptidai, pentadecapeptidai ir pan., bei nebiologinius junginius, pasirinktus dėl jų palankių efektų arba sugėrimo gebos, transporto ir pastovumo tiksliniame organizme. Nešiklio liekanoje galima pasirinkti funkcines grupes, tokias kaip amino-, sulfhidrilo, hidroksilo ir alkilamino-grupės, gaunant stabilius šio išradimo junginių ryšius, optimalų atstumą tarp imobilizuotų junginių ir optimalias biologines savybes.

Be to, šio išradimo GnRH agentai apima farmaciškai priimtinas I formulės junginių druskas. Terminas "farmaciškai priimtina" reiškia tokias druskos formas, kurios yra farmakologiškai priimtinos ir iš esmės netoksiškos subjektui, vartojančiam šį GnRH agentą. Farmaciškai priimtinos druskos apima įprastas adityvines druskas su rūgštimis ir adityvines druskas su bazėmis, sudarytas iš tinkamų netoksiškų organinių arba neorganinių rūgščių arba neorganinių bazių. Adityvinių druskų su rūgštimis pavyzdžiais yra druskos, sudarytos su neorganinėmis rūgštimis, tokiomis kaip hidrochlorido rūgštis, hidrobromido rūgštis, hidrojodido rūgštis, sulfato rūgštis, sulfamo rūgštis, fosfato rūgštis ir nitrato rūgštis, arba druskos, sudarytos su

organinėmis rūgštimis, tokiomis kaip p-toluensulfonrūgštis, metansulfonrūgštis, etandisulfonrūgštis, izetiono rūgštis, oksalo rūgštis, p-bromfenilsulfonrūgštis, karbonato rūgštis, gintaro rūgštis, citrinų rūgštis, benzenkarboksirūgštis, 2-acetoksibenzenkarboksirūgštis, acto rūgštis, fenilacto rūgštis, propiono rūgštis, glikolio rūgštis, stearino rūgštis, pieno rūgštis, obuolių rūgštis, vyno rūgštis, askorbo rūgštis, maleino rūgštis, hidroksimaleino rūgštis, glutamo rūgštis, salicilo rūgštis, sulfanilo rūgštis ir fumaro rūgštis. Adityvinių druskų su bazėmis pavyzdžiais yra druskos, sudarytos su amonio hidroksidais (pvz. ketvirtinis amonio hidroksidas, toks kaip tetrametilamonio hidroksidas), druskos, sudarytos su neorganinėmis bazėmis, tokiomis kaip šarminių arba žemės šarminių metalų (pvz. natrio, kalio, ličio, kalcio arba magnio) hidroksidai, ir druskos, sudarytos su organinėmis bazėmis, tokiomis kaip aminai, benzilaminai, piperidiniai ir pirolidinai.

Terminas "provaistas" reiškia I formulės junginio (arba jo druskos) metabolinį pirmtaką, kuris yra farmaciškai priimtinas. Provaistas gali būti neaktyvus, kai jis yra skiriamas subjektui, bet *in vivo* jis pavirsta aktyviu I formulės junginiu. Terminas "aktyvus metabolitas" reiškia I formulės junginio metabolinį produktą, kuris yra farmaciškai priimtinas ir efektyvus. I formulės junginių provaistai ir aktyvūs metabolitai gali būti nustatyti, naudojant specialistams žinomas metodikas.

Įvairių junginių aktyvumo laipsniui nustatyti GnRH sistemose gali būti naudojama daugybė žinomų testų ir metodikų. Sąveikai su dominančiu receptoriumi nustatyti yra naudojami ligando surišimo testai. Jeigu domina surišimas, gali būti naudojamas žymėtasis receptorių, kuriame žymė yra fluorescuojanti grupė, fermentas, radioizotopas arba pan., kuri leidžia registruoti kiekybinį pokytį priklausomai nuo receptoriaus susirišimo. Kitu atveju, specialistas gali pateikti antikūną šiam receptoriui, kur antikūnas yra žymėtas, ir jis gali duoti signalo amplifikaciją. Surišimą taip pat galima nustatyti panaudojant konkurencinį su receptoriumi surišto ligando išstūmimą, kai ligandas yra žymėtas detektuojama žyme. Kai domina agonistinis ir/arba antagonistinis aktyvumas, gali būti tiriamas nepaveiktas

organizmas arba ląstelė ir gali būti matuojamas organizmo arba ląstelės funkcijos atsakas į dominančio junginio susirišimą. Ląstelių atsako detektavimui galima gauti įvairius įtaisus, tokius kaip mikrofiziometras, gaunamas iš Molecular-Devices, Redwood City, Kalifornija. Specialistams yra žinomi *in vitro* ir *in vivo* testai, tinkami matuoti GnRH antagonistiniam aktyvumui. Dr., pvz., Bowers et al., "LH suppression in cultured rat pituitary cells treated with 1 ng of LHRH", *Endocrinology*, 1980, 106:675-683 (*in vitro*) ir Corbin et al., "Antioviulatory activity (AOA) in rats", *Endocr. Res. Commun.* 1975, 2:1-23 (*in vivo*). Konkrečios testo, kuris gali būti naudojamas, metodikos yra aprašytos toliau.

Pavyzdžiui, GnRH receptoriaus antagonistų funkcija gali būti įvertinta matuojant ekstraląstelinio parūgštėjimo greičio pokytį tokiu būdu. Junginių geba blokuoti ekstraląstelinio parūgštėjimo greitį, tarpininkaujamą GnRH HEK 293 ląstelėse, ekspresuojančiose žmogaus GnRH receptoriaus, yra nustatyta kaip junginio antagonistinio aktyvumo matas *in vitro*. Mažiausiai 100000 ląstelių/kamerai yra imobilizuojama agarozės suspensijos terpėje (Molecular Devices) ir atliekama perfuzija su nebuferinta MEM terpe, naudojant Cytosensor® mikrofiziometrą (Molecular Devices). Ląstelės paliekamos susidaryti pusiausvyrai, kol foninis parūgštėjimo greitis tampa stabilus (maždaug 1 valandą). Išmatuojamos kontrolinės dozės-atsako į GnRH (nuo 10^{-11} M iki 10^{-7} M) kreivės. Prieš stimuliavimą GnRH junginiai inkubuojami 15 min. ir įvertinamas jų antagonistinis aktyvumas. Po inkubavimo su tiriamaisiais junginiais gaunamos pakartotos dozės-atsako į GnRH kreivės, esant įvairioms tiriamojo junginio koncentracijoms ir nesant junginio. Atliekama junginių Schild regresinė analizė, norint nustatyti, ar junginiai antagonizuoja GnRH tarpininkaujamą ekstraląstelinio parūgštėjimo greičio padidėjimą dėl konkurencinės sąveikos su GnRH receptoriais. Žr., pvz., parūgštėjimo atsaką naudojant antagonistinį peptidą antidą (CAS No. 11258-12-4), parodytą fig.2, (antidas buvo gautas iš Sigma, produkto Nr. A8802 (acetil-B-(2-naftil)-D-Ala-D-p-chlor-Phe-B-(3-piridil)-D-Ala-Ser-Ne-(nikotinil)-Lys-Ne-(nikotinil)-D-Lys-Leu-Ne-(izopropil)-Lys-Pro-D-Ala-NH₂)). Ląstelių parūgštėjimo atskasas į GnRH yra parodytas fig.2 kreivėse, kur kreivė A yra

pirmojo išlaikymo, kreivė B – antrojo išlaikymo ir kreivė C – trečiojo išlaikymo. Ląstelių atsakas į GnRH esant 30 nM antido yra parodytas fig.2 D kreivėje.

Kitame teste gali būti matuojama visų inozitolio fosfatų akumuliacija panaudojant ekstrakciją skruzdžių rūgštimi iš ląstelių, o po to išskirstant fosfatus Dowex kolonėlėmis. Ląstelės suskaldomos, naudojant tripsiną, dviejuose 12 duobučių plokštelėse ir pažymimos ^3H -mioinozitolium (0,5 Ci – 2 mCi mililitrui) laikant 16-18 val. terpėje be inozitolio. Po to ši terpė nusiurbama ir ląstelės perplaunamos arba 1X HBSS, 20 mM HEPES (pH 7,5), arba serumo neturinčia DMEM, 1X HBSS, 20 mM HEPES (pH 7,5), turinčia agonisto, po to pridedama 20 mM LiCl ir ląstelės inkubuojamos norimą laiko tarpą. Terpė nusiurbama ir reakcija stabdoma pridedant ledų atšaldytos 10 mM skruzdžių rūgšties, kuri taip pat tarnauja lipidų ekstrahavimui. Inozitolio fosfatai atskiriami jonų mainų chromatografija per Dowex kolonėles, kurios po to plaunamos 5 ml 10 mM mioinozitolio ir 10 mM skruzdžių rūgšties. Po to kolonėlės plaunamos 10 ml 60 mM natrio formiato ir 5 mM borakso ir visi inozitolio fosfatai eliuuojami 4,5 ml 1M amonio formiato, 0,1 M skruzdžių rūgštimi.

Tinkamiausi šio išradimo GnRH agentai yra tie, kurie turi maždaug 10 μM arba mažesnę K_i reikšmę. Ypatingai tinkami GnRH agentai yra tie, kurie turi nanomolių eilės K_i reikšmę.

Farmacinės kompozicijos

Į šio išradimo farmacines kompozicijas įeina bent vieno šio išradimo GnRH agento efektyviai slopinantis GnRH kiekis ir inertinis arba farmaciškai priimtinas nešiklis arba skiediklis. Šios kompozicijos gali būti pagamintos vienetinėmis dozuotomis formomis, tinkančiomis norimam vartojimo būdai, pvz. parenteriniam arba peroraliniam vartojimui.

Ligų arba būklių, tarpininkaujamų GnRH agonizmo arba antagonizmo, gydymui šio išradimo farmacinės kompozicijos yra skiriamos tinkamų vaistinių formų, pagamintų sumaišant terapiškai efektyvų kiekį (t.y. GnRH moduliuojantį kiekį, efektyvų terapiniam poveikiui gauti) bent vieno šio

išradimo GnRH agento (veiklusis ingredientas) su vienu arba daugiau farmaciškai priimtinių nešiklių arba skiediklių, pavidalu. Tokios vaistinės formos gali būti pagaminamos pagal įprastas metodikas, pvz., atitinkamai sumaišant, granuliuojant ir presuojant arba ištirpinant ingredientus žinomais būdais. Esant reikalui, farmacinėje kompozicijoje gali būti naudojamas vienas arba daugiau kitų veikliųjų ingredientų, tokių kaip kiti GnRH antagonistai.

Farmacinis nešiklis gali būti arba kieta medžiaga, arba skystis. Kietų nešiklių pavyzdžiais yra laktozė, sacharozė, talkas, želatina, agaras, pektinas, gumiarabikas, magnio stearatas, stearino rūgštis ir pan. Skystų nešiklių pavyzdžiais yra sirupas, žemės riešutų aliejus, alyvų aliejus, vanduo ir pan. Panašiu būdu į nešiklį arba skiediklį gali įeiti uždelsimo arba išskyrimo po tam tikro laiko specialistams žinomos medžiagos, kaip antai glicerilmonostearatas arba glicerildistearatas; vienos arba mišinyje su vašku, etilceliulioze, hidroksipropilmetilceliulioze, metilmetakrilatu, arba pan.

Gali būti naudojamos įvairiausios farmacinės formos. Pavyzdžiui, jeigu yra naudojamas kietas nešiklis, preparatas gali būti įvairių tipų tabletės, kietos želatininės kapsulės, miltelio formos. Kieto nešiklio kiekis gali kisti labai plačiose ribose, pavyzdžiui nuo maždaug 25 mg iki maždaug 1 g. Jeigu yra naudojamas skystas nešiklis, preparatas gali būti sirupo, emulsijos, minkštos želatininės kapsulės, steriliaus tirpalo injekcijoms, suspensijos ampulėje arba buteliuke arba nevandeninės skystos suspensijos formos.

Norint gauti stabilią vandenyje tirpią dozuotą formą, I formulės junginio farmaciškai priimtina druska gali būti ištirpinama organinės arba neorganinės rūgšties tirpale, kaip antai 0,3 M gintaro rūgšties arba, geriau, citrinų rūgšties tirpale. Jeigu tirpi druskos forma yra neprieinama, agentas gali būti ištirpintas viename arba keliuose tinkamuose kotirpikliuose. Tinkamų kotirpiklių pavyzdžiais yra alkoholis, propilenglikolis, polietilenglikolis 300, polisorbato 80, glicerolis ir panašūs, kurių koncentracijos yra nuo 0 % iki 60 % bendro tūrio. Išradimo įgyvendinimo pavyzdyje I formulės junginys yra ištirpintas DMSO ir praskiestas vandeniu. Kompozicijos taip pat gali būti I formulės junginio druskos formos tirpalo atitinkamame vandeniniame tirpiklyje,

tokiame kaip vanduo arba izotoniniai valgomosios druskos arba dekstrozės tirpalai, formoje.

Šio išradimo farmacinės kompozicijos gali būti pagaminamos naudojant įprastas metodikas, pvz. sumaišymo, ištirpinimo, granuliavimo, žirnelių pagaminimo, nusodinimo, emulgavimo, įkapsuliavimo, įterpimo arba liofilizavimo būdus. Farmacinės kompozicijos gali būti sukomponuotos įprastu būdu, naudojant vieną arba daugiau fiziologiškai priimtinių nešiklių, kuriais yra pagalbinės medžiagos, parinktos taip, kad būtų palengvinamas veikliųjų junginių pavertimas farmaciniais preparatais. Atitinkama vaisto forma yra parenkama atsižvelgiant į pasirinktą vartojimo būdą.

Gaminant injekcijoms skirtus preparatus, šio išradimo agentai gali būti įdedami į vandeninius tirpalus, greičiausia į fiziologiškai tinkamus buferius, kaip antai Hanks'o tirpalą, Ringer'io tirpalą arba fiziologinį buferinį druskos tirpalą. Vaisto formai, skirtai vartoti per gleivinę, yra naudojamos skvarbiosios medžiagos, padedančios pereiti per atitinkamą barjerą, ir jos gali būti parinktos iš šiam tikslui skirtų žinomų medžiagų.

Peroraliniam vartojimui skirtose vaisto formose agentai gali būti nesunkiai sukomponuoti sumaišant veiklųjį ingredientą(us) su žinomais farmaciškai priimtinais nešikliais. Tokie nešikliai duoda galimybę šio išradimo junginius įterpti į tabletes, piliules, žirnelius, kapsules, skysčius, gelius, sirupus, suspensijas ir pan, kurias gydomas pacientas vartotų peroraliniu būdu. Peroralinio vartojimo farmaciniai preparatai gali būti gaunami sumaišant vieną arba daugiau agentų su kieta pagalbine medžiaga, esant reikalui, gautą mišinį sumalant į granules ir šį granulių mišinį, jeigu reikia, pridėjus tinkamų pagalbinių medžiagų, paverčiant tablečių arba žirnelių pagrindu. Tinkamomis pagalbiniomis medžiagomis yra užpildai, tokie kaip cukrūs (pvz. laktozė, sacharozė, manitolis arba sorbitolis) ir celiuliozės preparatai (pvz. kukurūzų krakmolas, kviečių krakmolas, ryžių krakmolas, bulvių krakmolas, želatina, gumiarabikas, metilceliuliozė, hidroksipropilmetilceliuliozė, natrio karboksietilceliuliozė ir/arba polivinilpirolidonas (PVP). Jeigu reikia, gali būti pridinama ardančių agentų,

tokių kaip susiūtas PVP, agaras, alginio rūgštis arba jos druskos, kaip antai natrio alginatas.

Žirnelių šerdys yra atitinkamai padengiamos. Šiam tikslui gali būti naudojami cukraus tirpalai, kuriuose gali būti gumiarabiko, PVP, Carbopol™ gelio, polietilenglikolio, titano dioksido, lakavimo tirpalų ir/arba vienas arba daugiau tinkamų organinių tirpiklių. Į tablečių arba žirnelių dangas gali būti pridėta dažų arba pigmentų įvairiems veikliojo junginio dozių deriniams identifikuoti arba charakterizuoti.

Farmacinės formos, kurios yra tinkamos peroraliniam vartojimui, apima iš želatinos padarytas sumaunamas kapsules bei minkštas užlydytas kapsules, padarytas iš želatinos ir minkštiklio, tokio kaip glicerolis arba sorbitolis. Sumaunamose kapsulėse gali būti veiklusis ingredientas(ai) mišinyje su vienu arba daugiau užpildų, tokių kaip laktozė, rišiklių, tokių kaip krakmolai, ir/arba tepalų, tokių kaip talkas arba magnio stearatas, ir, esant reikalui, stabilizatorių. Minkštose kapsulėse veiklusis junginys gali būti ištirpintas arba suspenduotas tinkamame skystyje, tokiame kaip riebalinis aliejus, skystas parafinas arba skystas polietilenglikolis. Be to, gali būti pridedama stabilizatorių. Žandiniam vartojimui kompozicijos gali turėti įvairių tablečių formą ir jos pagaminamos įprastu būdu.

Varojimui inhaliacijų būdu šio išradimo junginiai gali būti patogiai pateikiami aerozolinio purškiklio forma iš vienodą slėgį palaikančių rezervuarų arba pulverizatorių, naudojant tinkamą stumiančią medžiagą, pvz. dichlordifluormetaną, trichlorfluormetaną, dichlortetrafluoretaną, anglies dioksidą arba kitas tinkamas dujas. Vienodą slėgį palaikančio aerozolio atveju dozuotas vienetas gali būti gaunamas įdedant vožtuvą, išleidžiantį atmatuotą kiekį. Gali būti pagaminamos kapsulės arba patronai, pvz. želatininiai, skirti naudojimui inhaliatoriuose arba insufliatoriuose, kuriuose yra agento miltelių ir tinkamo miltelių pavidalo pagrindo, kaip antai laktozės arba krakmolo, mišinys.

Šie agentai gali būti pagaminami pavidalu vaistinių formų, skirtų parenteriniam vartojimui injekcijų būdu, pvz. injekcijoms porcijomis arba nepertraukiama infuzija. Injekcijoms skirtos vaisto formos gali būti

pagamintos vienetinių dozių forma, pvz. ampulėmis, arba daugiadoziais konteineriais su pridėtomis apsauginėmis medžiagomis. Kompozicijos gali turėti formas, tokias kaip suspensijos, tirpalai arba emulsijos aliejiniuose arba vandeniniuose tirpikliuose, ir jose gali būti pagalbinių agentų, tokių kaip suspendavimo, stabilizavimo ir/arba dispergavimo agentai.

Vaistinės formos parenteriniam vartojimui apima veikliojo ingrediento vandenyje tirpios formos vandeninius tirpalus. Be to, gali būti pagaminamos veikliojo junginio suspensijos kaip injekcijoms tinkamos suspensijos aliejuose. Tinkamais lipofiliniais tirpikliais ar skiedikliais yra riebaliniai aliejai, tokie kaip sezamo aliejus, arba sintetiniai riebalų rūgščių esteriai, tokie kaip etilo oleatas arba trigliceridai, arba liposomos. Vandeninėse injekcijoms tinkamose suspensijose gali būti medžiagų, padidinančių suspensijos klampumą, tokių kaip natrio karboksimetilceliuliozė, sorbitolis arba dekstranas. Esant reikalui, suspensijose gali taip pat būti tinkamų stabilizatorių arba junginių tirpumą pagerinančių agentų, kurie duoda galimybę pagaminti labai koncentruotus tirpalus.

Kitu atveju, veiklusis ingredientas gali būti miltelių pavidalo, kuriuos prieš vartojimą galima praskiesti tinkamu tirpikliu, pvz. steriliu neturinčiu pirogenų vandeniu. Junginiai taip pat gali būti įvedami į rektalines kompozicijas, tokias kaip žvakutės, arba ilgalaikes klizmas, pvz. turinčias įprastus žvakučių pagrindus, kaip antai kakavos sviestą arba kitus gliceridus.

Apart aukščiau aprašytų vaistinių formų, junginiai gali būti taip pat paruošiami depo preparato pavidalu. Tokios ilgai veikiančios vaistinės formos gali būti vartojamos implantavimo būdu (pavyzdžiui, po oda arba į raumenis) arba leidžiant į raumenis. Tokiu būdu, pavyzdžiui, junginiai gali būti sukomponuojami su tinkamomis polimerinėmis arba hidrofobinėmis medžiagomis (pavyzdžiui, kaip emulsija tinkamame aliejuje) arba jonitinėmis dervomis, arba vartojami sunkiai tirpių darinių pavidalu, pavyzdžiui, sunkiai tirpstančios druskos pavidalu.

Farmacinio nešiklio hidrofobiniams šio išradimo junginiams pavyzdžiu yra kotirpiklių sistema, susidedanti iš benzilo alkoholio, nepolinės paviršinio aktyvumo medžiagos, besimaišančio su vandeniu organinio polimero ir

vandeninės fazės. Kotirpiklių sistema gali būti VPD kotirpiklių sistema (VPD yra 3 tūris/masė % benzilo alkoholio, 8 tūris/masė % nepolinės paviršinio aktyvumo medžiagos polisorbato 80 ir 65 tūris/masė % polietilenglikolio 300 tirpalas, praskiestas iki reikiamo tūrio absliučiam etanolyje). VPD kotirpiklių sistema (VPD:5W) susideda iš VPD, praskiestos 1:1 5% dekstrozės tirpalu vandenyje. Ši kotirpiklių sistema gerai tirpina hidrofobinius junginius, ir gauta vaisto forma turi mažą toksiškumą vartojant sistemiškai. Turėtų būti aišku, kad tinkamos kotirpiklių sistemos proporcijos gali keistis priklausomai nuo tirpumo ir toksiškumo. Be to, gali būti keičiama kotirpiklių komponentų prigimtis: pavyzdžiui, vietoj polisorbato 80 gali būti naudojamos kitos mažai toksiškos nepolinės paviršinio aktyvumo medžiagos; gali būti keičiamas polietilenglikolio frakcijos dydis; gali būti pridedama arba pakeičiamas polietilenglikolis vienu arba daugiau biosuderinamų polimerų (pvz. PVP); o dekstrozė gali būti pakeičiama kitais cukrais arba polisacharidais.

Kitu atveju, hidrofobiniams farmaciniais junginiams gali būti naudojamos kitos įvedimo sistemos. Žinomais hidrofobinių vaistų įvedimo tirpiklių arba nešiklių pavyzdžiais yra liposomos ir emulsijos, ir jos gali būti naudojamos tinkamiems preparatams pagaminti. Taip pat gali būti naudojami kai kurie organiniai tirpikliai, tokie kaip dimetilsulfoksidas, nors jis gali sukelti toksiškumo padidėjimą. Be to, įvesti galima naudojant prailginto vaisto išskyrimo sistemą, tokią kaip kietų hidrofobinių polimerų pusiau laidžias matricas, turinčias terapinio agento. Specialistams yra žinomos ir prieinamos įvairios prailginto vaisto išskyrimo medžiagos. Prailginto išskyrimo kapsulės, priklausomai nuo jų cheminės prigimties, gali išskirti junginius per laiko tarpą, trunkantį nuo kelių savaičių iki daugiau nei 100 dienų. Priklausomai nuo terapinio agento cheminės prigimties ir biologinio stabilumo, nesunkiai gali būti naudojamos kitos baltymo stabilizavimo metodikos.

Farmacinėse kompozicijose taip pat gali būti tinkamų kietos arba gelio fazės nešiklių ir pagalbinių medžiagų. Tokių nešiklių arba pagalbinių medžiagų pavyzdžiais yra kalcio karbonatas, kalcio fosfatas, cukrūs,

krakmolai, celiuliozės dariniai, želatina ir polimerai, tokie kaip polietilenglikoliai.

Kai kurie šio išradimo junginiai gali būti pateikiami kaip druskos su farmaciškai suderinamais priešjoniais. Farmaciškai priimtinos druskos gali būti pagamintos su daugeliu rūgščių, įskaitant vandenilio chlorido, sulfato, acto, pieno, vyno, obuolių, gintaro ir panašias rūgštis. Druskos yra linkę geriau tirpti vandeniniuose ir kituose protoniniuose tirpikliuose nei atitinkamos laisvos bazės.

Reikia suprasti, kad konkrečios šio išradimo kompozicijose naudojamos dozės keisis priklausomai nuo konkretaus naudojamo komplekso, konkrečios vaisto formos kompozicijos, vartojimo būdo ir konkrečios vietos, šeimininko ir gydomos ligos. Optimalias dozes duotam sąlygų kompleksui gali parinkti specialistas, naudodamas įprastus dozės nustatymo testus, atsižvelgdamas į eksperimentinius duomenis duotam junginiui. Peroralinio vartojimo atveju pavyzdinė paprastai naudojama dienos dozė bus nuo maždaug 0,001 iki maždaug 1000 mg/kg kūno masės, tam tikrais intervalais kartojant gydymo kursus. Provaistai gali būti dozuojami pagal masę, kuri yra chemiškai ekvivalentiška pilnai veiklių junginių masėms.

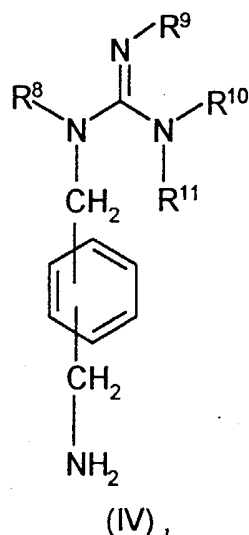
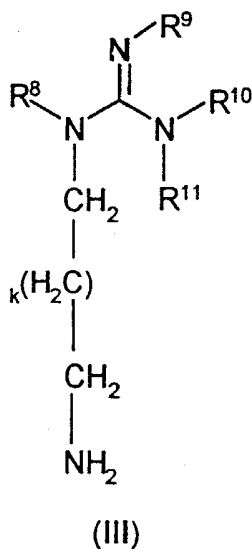
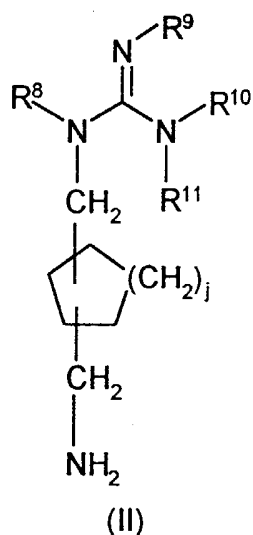
Toliau yra duoti konkrečių šio išradimo farmacinių preparatų pavyzdžiai.

Parenterinė kompozicija: Šio išradimo farmacinei kompozicijai, tinkančiai injekcijoms, pagaminti 100 mg I formulės junginio vandenyje tirpios farmaciškai priimtinos druskos ištirpinama DMSO ir sumaišoma su 10 ml 0,9 % sterilaus fiziologinio tirpalo. Gautas mišinys įterpiamas į vienetinę dozuotą formą, tinkamą vartoti injekcijomis.

Peroralinė kompozicija: Peroraliniu būdu vartojamai farmacinei kompozicijai pagaminti 100 mg I formulės junginio sumaišoma su 750 mg laktozės. Gautas mišinys įterpiamas į vienetinę dozuotą formą, tinkamą peroraliniam vartojimui, tokią kaip kieta želatininė kapsulė.

Tarpiniai junginiai

I formulės junginiai nesunkiai gali būti pagaminti, naudojant šio išradimo tarpinius junginius. Konkrečiau, šio išradimo tarpiniai junginiai yra junginiai, kurių formulės yra II, III ir IV:



kuriose:

j yra 1 arba 2;

k yra 1, 2, 3, 4 arba 5;

R^8 yra H arba turintis pakaitų arba neturintis pakaitų žemesnysis alkilas;

R^9 yra H arba turintis pakaitų arba neturintis pakaitų žemesnysis alkilas, CN, NO₂ arba CO₂R¹;

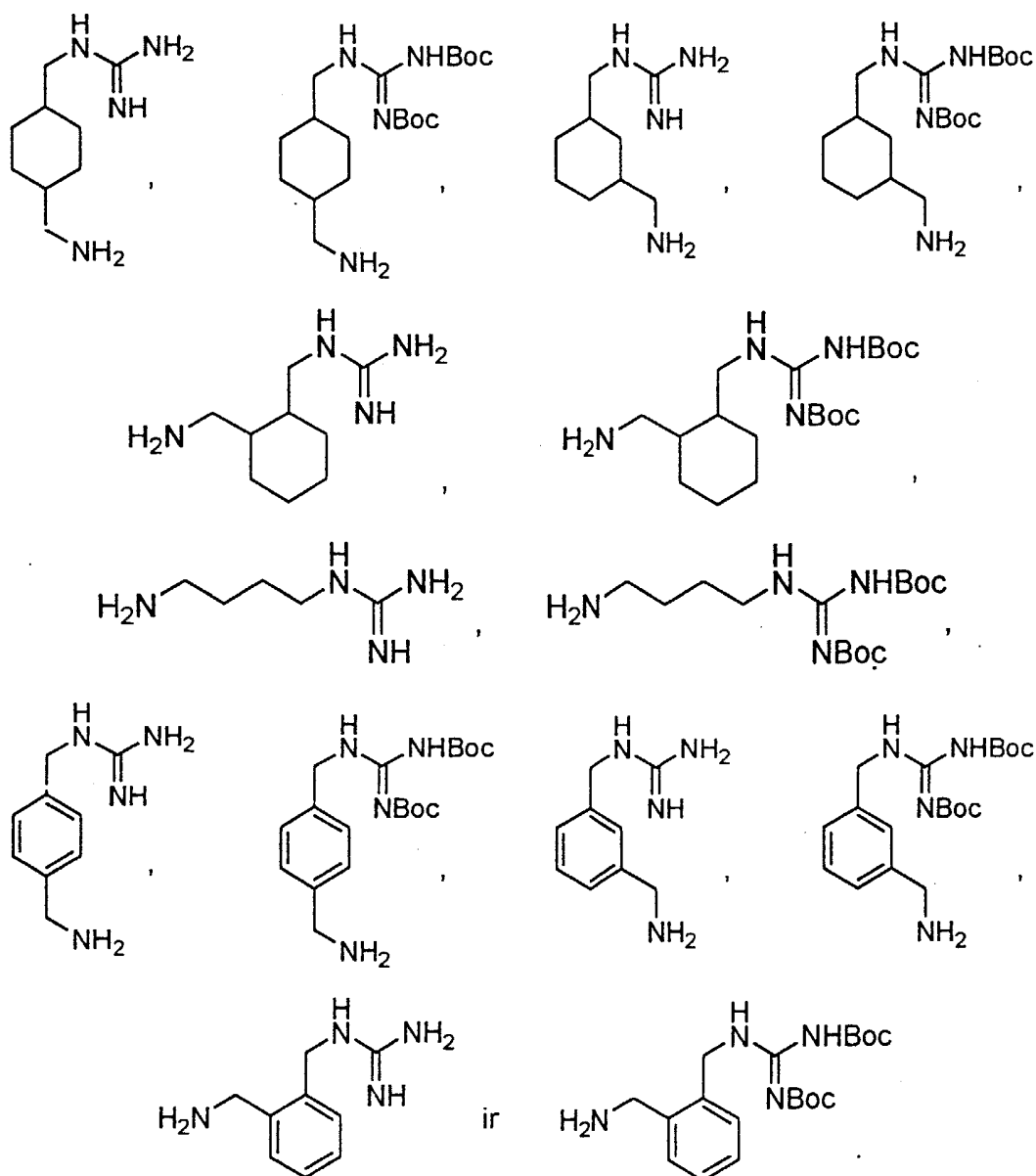
R^{10} yra H arba turintis pakaitų arba neturintis pakaitų žemesnysis alkilas, CH₂OR¹, (CH₂)_pOR¹, CO₂R¹ arba (CH₂)_pC(O)R², kur p yra sveikas skaičius nuo 1 iki 6, o R² yra H, OR¹, SR¹, N(R¹)₂ arba C(R¹)₃;

R^{11} yra H arba turintis pakaitų arba neturintis pakaitų žemesnysis alkilas, CH₂O-fenilas, CH₂O-benzilas, fenilas arba benzilas;

arba bet kurie du radikalai iš R^8 , R^9 , R^{10} ir R^{11} paimti kartu sudaro 5- arba 6-narį heterociklą;

ir kur kiekvienas R¹ yra nepriklausomai parinktas iš H ir turinčio pakaitų arba neturinčio pakaitų žemesniojo alkilo, O-žemesniojo alkilo ir S-žemesniojo alkilo, ir tinkamiausia R¹ grupė yra tBu.

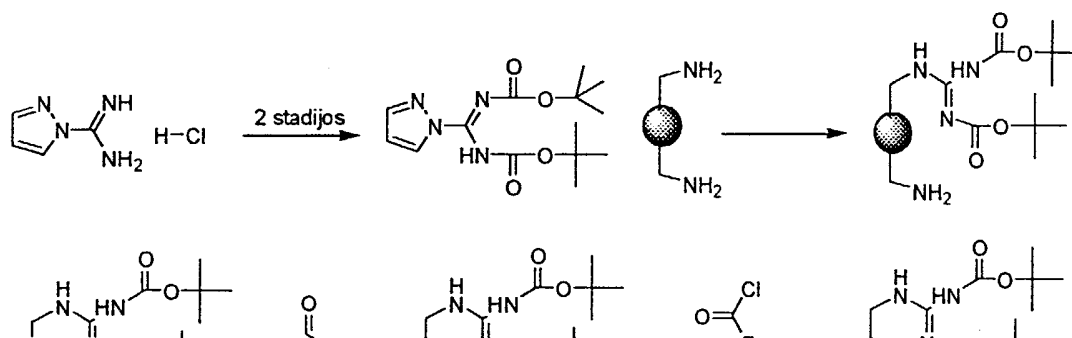
Tinkamiausi tarpiniai junginiai yra:

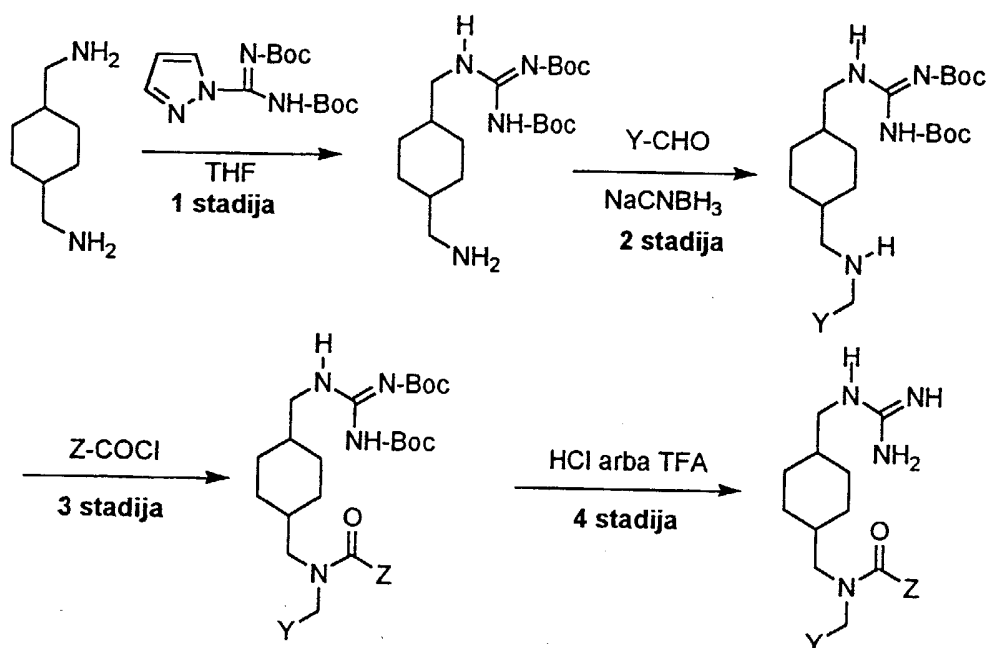


Tokie tarpiniai junginiai naudojami sudarant šio išradimo junginio X₁-X₂ dalį, veikiant aminogrupę aldehydu ir gaunant antrinį aminą, kurį po to galima acilinti, gaunant I bendrosios formulės junginius.

Reakcijos schema

I formulės junginiai gali būti pagaminami pagal toliau duodamą bendrąją reakcijos schemą, kurioje rutuliukas reiškia II, III arba IV formulės (CH₂)_i, ciklopentilo, cikloheksilo arba benzilo liekaną:





1 stadija – Blokuoto junginio gavimas panaudojant 1-(N,N'-diBoc)-guanidinometilininimą: Toliau duodamose alternatyviose stadijose 1(A) ir 1(B) pateikiamos dvi bendrosios 1-(N,N'-diBoc)-guanidinometilininimo metodikos.

1(A) stadija: Į diamino (2,00 mmol. ekv.) tirpalą THF (0,7 M) supilamas 1-H-pirazol-1-(N,N-bis(tret-butoksikarbonil)karboksamidino) (1,00 mmol. ekv.) tirpalas THF (0,7 M). Tirpalas maišomas kambario temperatūroje 3 val. arba tol, kol pagal TLC (plonasluoksnę chromatografiją) nebevyksta kitimas. Tirpiklis nugarinamas sumažintame slėgyje ir gaunama sirupo pavidalo liekana, kuri tirpinama etilacetate (~1,5 THF, naudoto reakcijoje, tūrio arba kiekyje, kurio reikia gautai liekanai ištirpinti) ir plaunama vandeniu iki neutralaus pH. Organinis sluoksnis plaunamas sočiu NaCl tirpalu, džiovinamas MgSO₄ ir sukonzentruojamas. Produktas gryninamas panaudojant kolonėlių chromatografiją per silikagelį, o eliuuojama atitinkamu eliuavimo tirpikliu (kuris gali būti lengvai surandamas, pvz., pradžioje naudojant 5 % MeOH dichlormetane). Tirpikliai nugarinami vakuume ir gaunamas 1-(N,N'-diBoc)-guanidinmetilo grupę turintis aminas. Be to, blokuotam N,N'-diBoc-guanidino vienetui įvesti į diaminus gali būti naudojami kiti reagentai, tokie kaip 1,3-bis(tret-butoksikarbonil)-2-metil-2-tiopseudokarbamidas (CAS No. 107819-90-

0). Kitu atveju, 1-H-pirazol-1-(N,N-bis(tretbutoksikarbonil) karboksamidinas) gali būti dedamas kietas, o ne jo tirpalas, kaip aprašyta aukščiau.

1(B) stadija: Į diamino (1,00 mmol. ekv.) tirpalą THF (0,07 M) dalimis (per 10 min.) sudedamas kietas 1-H-pirazol-1-(N,N-bis(tretbutoksikarbonil)karboksamidinas) (1,00 mmol. ekv.). Tirpalas maišomas kambario temperatūroje 0,5 val. Tirpiklis nugarinamas sumažintame slėgyje ir gaunama sirupo pavidalo liekana, kuri tirpinama etilacetate (0,5 tūrio pagal naudotą reakcijoje THF, arba kiekyje, kurio reikia gautai liekanai ištirpinti) ir plaunama du kartus vandeniu. Atskiriami sluoksniai, ir produktas gryninamas panaudojant kolonėlių chromatografiją per silikagelį, eliuuojant 100 % etilacetatu bet kokioms nepolinėms priemaišoms pašalinti, o po to 100 % izopropilo alkoholiu, išskiriant gryną produktą. Tirpikliai nugarinami vakuume ir gaunamas norimas produktas. Būdingos TLC sąlygos yra 15:85:0,1 metanolis/chloroformas/acto rūgštis. Norimo blokuoto produkto būdingos išeigos yra nuo 40 % iki 44 %.

2 stadija – Redukcinis amininimas: Redukcinis amininimas gali būti vykdomas tinkamu būdu. Apie aldehydų ir ketonų redukcinių amininimą su natrio triacetoksiborhidridu žr. pagrindinai: Abdel-Magid et al., *J. Org. Chem.*, 1996, 61:3849. Žemiau aprašytos dvi alternatyvios redukcinio amininimo metodikos.

2(A) stadija: 3,5,5,8,8-Pentametil-5,6,7,8-tetrahidro-2-naftaldehidas (1,00 mmol ekv.) ir 1-(N,N'-diBoc)-guanidinmetilo grupę turintis aminas (1,00 mmol ekv.) ištirpinami metanolyje (0,09 M). Pridedama 1 % ledinės acto rūgšties metanolyje tirpalo (10 % nuo panaudoto metanolio tūrio), o po to NaCNBH₃ (1,00 mmol ekv.), ir reakcijos mišinys maišomas per naktį. Reakcija stebima TLC metodu išryškinant tris komponentus (aldehidą, norimą produktą ir pradinį guanidino darinį). Reakcija sustabdoma pridedant vandens (10 tūrių pagal naudotą metanolį), ekstrahuojama dichlormetanu (10 tūrių pagal naudotą metanolį) ir plaunama sočiu natrio rūgščiuoju karbonatu.

Organinis sluoksnis džiovinamas magnio sulfatu, nufiltruojama ir sukonzentruojama. Produktas gryninamas panaudojant kolonėlių chromatografiją per silikagelį, eliuuojant atitinkamu eliuavimo tirpikliu (pvz. 3:1 etilacetatu heksanuose nesureagavusiam aldehydai pašalinti, o po to eliuuojant 1:1 etilacetatu heksanuose) ir gaunamas norimas redukcinių aminorinimo produktas. Kai kuriais atvejais imino susidarymo reakciją palengvina šildymas virinant su grįžtamu šaldytuvu 2 valandas. Žr. taip pat Abdel-Magid et al., *J. Org. Chem.*, 1996, 61:3849, kur aprašoma aldehydų ir ketonų redukcinių aminorinimo reakcija su natrio triacetoksiborhidridu.

2(B) stadija: 3,5,5,8,8-Pentametil-5,6,7,8-tetrahydro-2-naftaldehidas (1,00 mmol ekv.) ir 1-(N,N'-diBoc)-guanidinometilo grupę turintis aminoras (1,00 mmol ekv.) ištirpinami metanolyje (0,09 M). Po to pridedama NaBH₄ (1,0 mmol ekv.) (etanolyje panaudojant žemiau aprašytas papildomas mažos apimties metodikas arba atsargiai kietu pavidalu), ir reakcijos mišinys maišomas per naktį. Reakcija stebima TLC metodu išryškinant tris komponentus (aldehidą, norimą produktą ir pradinį guanidino darinį). Reakcija sustabdoma pridedant vandens (50 % nuo naudoto metanolio), ekstrahuojama dichlormetanu (10 tūrių pagal naudotą metanolį) ir plaunama sočiu natrio rūgščiuoju karbonatu. Organinis sluoksnis džiovinamas magnio sulfatu, nufiltruojama ir sukonzentruojama. Produktas gryninamas panaudojant kolonėlių chromatografiją per silikagelį, eliuuojant atitinkamu eliuavimo tirpikliu (jį nesunkiai gali nustatyti specialistas, arba, pavyzdžiui, 3:1 etilacetatu heksanuose nesureagavusiam aldehydai pašalinti, o po to eliuuojant 1:1 etilacetatu heksanuose) ir gaunamas norimas redukcinių aminorinimo produktas. Kai kuriais atvejais imino susidarymo reakciją turėtų palengvinti šildymas virinant su grįžtamu šaldytuvu 2 valandas.

3 stadija – Acilinimas: Reducinių aminorinimo produktai (1,00 mmol ekv.) ištirpinami dichlormetane (nuo ~0,2 iki 0,05 M priklausomai nuo substratų tirpumo), po to pridedama trietilamino (2,00 mmol ekv.) ir 2-

furoilchlorido (1,00 mmol ekv.). Reakcijos mišinys maišomas per naktį kambario temperatūroje (RT). Reakcijos mišinys praskiedžiamas dichlormetanu (5 kartus pagal naudotą dichlormetaną) ir plaunamas sočiu natrio rūgščiuoju karbonatu. Organinis sluoksnis džiovinamas magnio sulfatu ir nufiltruojama. Produktas gryninamas panaudojant chromatografiją per silikagelį, eliuuojant atitinkamu eliuavimo tirpikliu (pvz. 3:1 heksanai:etilacetatas). Vakuume nugarinus tirpiklius, gaunamas acilintas produktas.

4 stadija – Bazinės grupės deblokavimas: Acilinimo stadijos produktas (1,00 mmol ekv.) ištirpinamas 25-50 % TFA tirpale dichlormetane (0,02 M), ir reakcijos mišinys maišomas kambario temperatūroje (15-20 minučių; tirpalas pasidaro šiek tiek rausvai oranžinis). Reakcijos mišinys maišomas dar 1 val. ir 20 minučių arba tol, kol BOC deblokavimas pilnai įvyksta. Reakcija sustabdoma sukonzentruojant vakuume, po to pridedama vandens/acetonitrilo (0,006 M) ir liofilizuojama per naktį. Galutinis junginys gryninamas didelio efektyvumo skysčių chromatografijos (HPLC) metodu. Vakuume nugarinus tirpiklius, gaunamas produktas (išeigos yra nuo 30 % iki 50 %).

Kita N,N'-bis-BOC atskėlimo nuo guanidinių metodika, naudojant alavo tetrachloridą, kuri gali duoti atitinkamus guanidinio chloridus, yra aprašyta Miel et al., *Tetrahedron Letters*, 1997, 38:7865-7866.

Reagentų paruošimas: Junginių sintezei tinkami reagentai gali būti gaunami arba pagaminami pagal šioje srityje žinomas metodikas. Pavyzdžiui, laisvų aminių pagaminimas iš įprastų jų druskų ir reagentų pagrindinių tirpalų pagaminimas gali būti naudingas mažos apimties reakcijoms. Žr. taip pat Abdel-Magid et al., "Reductive amination of aldehydes and ketones with sodium triacetoborohydride", *J. Org. Chem.*, 1996, 61:3849.

Laisvų bazių metanoliniai tirpalai gali būti pagaminami iš hidrochlorido, dihidrochlorido, hidrobromido arba kitų druskų, kai laisva bazė yra tirpi metanolyje. Šioje procedūroje, jeigu dedamas natrio metoksidas, reikia stengtis apsaugoti nuo oro, kadangi laisvos aminių bazės, ypatingai pirminiai aminai, sugeria iš oro anglies dioksidą ir sudaro druskas. 10 ml 0,1 M laisvos

bazės tirpalo metanolyje gali būti pagaminta tokiu būdu. Į taruotą Erlenmejerio kolbą su maišikliu atsveriami 1,0 mmol monohidrochlorido ir pridedama 7 ml metanolio. Į maišomą suspensiją pridedama 229 μ l (1,0 mmol ekv.) natrio metoksido metanolyje (25 masės %, 4,37 M), kolba užkemšama ir mišinys intensyviai maišomas 2 val. Suspensija kartais pakeičia išvaizdą, kai susidaro smulkios pieno pavidalo natrio chlorido nuosėdos. Suspensija nufiltruojama per vidutinio tankumo 15 ml sukepinto stiklo filtrą, medžiaga ant filtro perplaunama 1-2 ml metanolio, filtratas perpilamas į 20 ml talpos indą ir praskiedžiama metanoliu iki 10 ml. Teorinė natrio chlorido išeiga yra apie 59 mg, bet paprastai išgavimas yra nekiekybinis dėl jo šiekio tokio tirpumo metanolyje. Dihidrochlorido atveju reikalingas antras natrio metoksido ekvivalentas (458 μ l).

Natrio borhidrido 0,5 M tirpalas etanolyje gali būti pagamintas tokiu būdu. Natrio borhidridas (520 mg, 13,8 mmol) maišomas gryname (nedenatūruotame) bevandeniame etanolyje (25 ml) ~2-3 minutes. Suspensija nufiltruojama per vidutinio tankumo sukepinto stiklo filtrą nedideliame neištirpusios kietos medžiagos kiekiui pašalinti (paprastai apie 5 % nuo visos borhidrido masės arba 25 mg). Filtratas turi būti bespalvis tirpalas, iš kurio mažai skiriasi vandenilis. Šis tirpalas turi būti naudojamas tuoj pat, nes jis per kelias valandas labai smarkiai suskyla ir susidaro želatinos tipo nuosėdos. Natrio borhidridas yra higroskopinis, todėl reikia vengti sąlyčio su oru gaminant tirpalą tuoj pat po kietos medžiagos atsėrimo. Natrio borhidrido tirpumas etanolyje yra apie 4 % kambario temperatūroje. Tai atitinka šiek tiek daugiau nei 0,8 M. Tačiau kartais nedidelis kiekis lieka neištirpęs nepriklausomai nuo to, kokia koncentracija yra gaminama, netgi ir pamaišius ≥ 5 minutes.

Norint atlikti mažos apimties I formulės junginių sintezę, gali būti vykdomos žemiau aprašytos reakcijos įvairiems reagentams, reikalingiems aukščiau aprašytoje reakcijos schemoje, pagaminti. Ir likusioje aprašymo dalyje visos temperatūros toliau yra duotos Celsijaus laipsniais, o visos dalys ir procentai yra pagal masę, jeigu nenurodyta kitaip.

Pradinės medžiagos ir kiti tolimesniuose pavyzdžiuose naudojami reagentai gali būti gauti ir tiekėjų-prekybininkų, kaip antai Aldrich Chemical Company arba Lancaster Synthesis Ltd., ir naudojami daugiau nebegryninti, jeigu nenurodyta kitaip. Tetrahidrofuranas (THF) ir N,N-dimetilformamidas (DMF) yra gauti iš Aldrich SureSeal® buteliuose ir naudojami tokie, kokie gauti. Visi tirpikliai išgryninti naudojant standartines žinomas metodikas, jeigu nenurodyta kitaip.

Žemiau pateiktos reakcijos buvo atliekamos teigiamame azoto slėgyje arba naudojant džiovinimo vamzdelį kambario temperatūroje (jeigu nenurodyta kitaip), bevandeniuose tirpikliuose, o reakcijos kolbos turėjo guminius įvadus, kad būtų galima švirkštu suleisti substratus ir reagentus. Stikliniai indai buvo išdžiovinti krosnyje arba iškaitinti. Analitinė plonasluoksnė chromatografija (TLC) atliekama ant pritvirtinto prie stiklo silikagelio 60°F 254 plokštelių (Analtech (0,25 mm)) ir eliuuojama atitinkamu tirpiklių mišiniu (tūris/tūris). Reakcijos stebimos TLC metodu ir nutraukiamos tada, kai nusprendžiama, kad susinaudojo pradinė medžiaga.

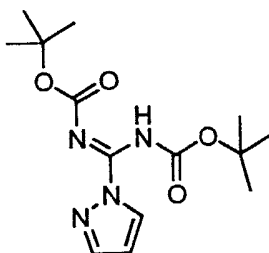
Tipinės plokštelės vizualizuojamos apipurškiant p-anizaldehido reagentu arba fosforo-molibdeno rūgšties reagentu (Aldrich Chemical, 20 masės % etanolyje) ir aktyvuojant šiluma. Apdorojimai paprastai atliekami padvigubinant reakcijos tūrį reakcijos tirpikliu arba ekstrakcijos tirpikliu, po to plaunant nurodytais vandeniniais tirpalais imant jų 25 % nuo ekstrakcijos tūrio (jeigu nenurodyta kitaip). Produktų tirpalai džiovinami Na_2SO_4 , po to nufiltruojami ir nugarinamas tirpiklis sumažintame slėgyje rotoriniu garintuvu, pažymint, kad tirpikliai nugarinti vakuumė. Sparčioji kolonėlių chromatografija (Still et al., *A.J. Org. Chem.*, 1978, 43:2923) vykdoma naudojant Baker markės sparčiosios chromatografijos silikagelį (41-61 mm), o silikagelio:negrynos medžiagos santykis yra nuo maždaug 20:1 iki 50:1, jeigu nenurodyta kitaip. Hidrinimas vykdomas nurodytame slėgyje arba atmosferos slėgyje.

^1H -BMR spektrai užrašyti Bruker prietaisu, dirbančiu esant 300 MHz, o ^{13}C -BMR spektrai – 75 MHz. BMR spektrai gauti naudojant CDCl_3 tirpalus (duodama m.d.), etaloniniu standartu naudojant chloroformą (7,25 m.d. ir

77,00 m.d.) arba CD_3OD (3,4 ir 4,8 m.d., ir 49,3 m.d.), arba vidinį tetrametilsilano standartą (0,00 m.d.), jeigu tai tinka. Jeigu reikia, naudojami kiti BMR tirpikliai. Kai duodami smailių multiplietiškumai, naudojami tokie sutrumpinimai: s = singletas, d = dubletas, t = tripletas, m = multipletas, pl = išplitęs, dd = dvigubas dubletas, dt = dvigubas tripletas. Sukinio-sukinio sąveikos konstantos, jeigu jos nurodytos, yra duodamos hercais.

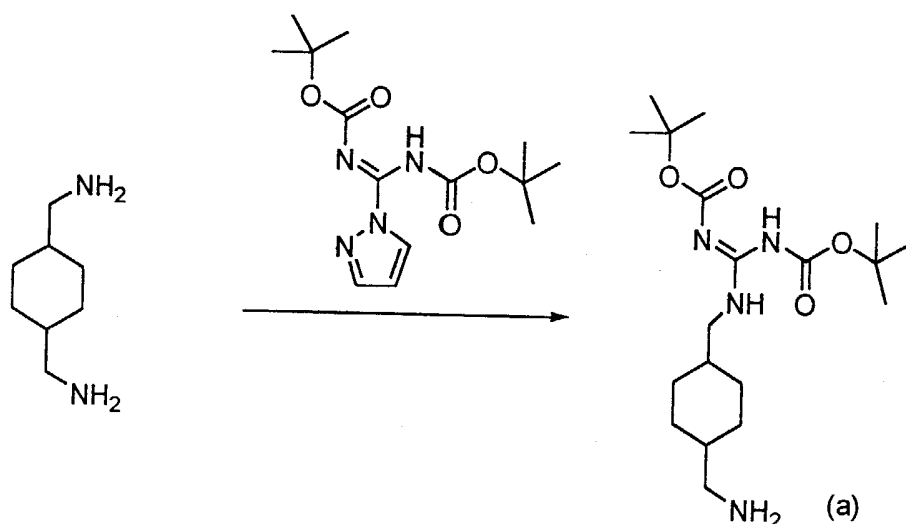
Infraraudonieji spektrai užrašyti Perkin-Elmer FT-IR spektrometru naudojant grynas alyvos tipo medžiagas, KBr tabletes arba CDCl_3 tirpalus, ir jeigu nurodyti, yra duoti bangų skaičiais (cm^{-1}). Masių spektrai gauti naudojant LSIMS arba apspinduliavimą elektronais. Visos lydymosi temperatūros yra nekoreguotos.

1-H-pirazol-1-karboksamidino sintetinio bloko pagaminimas



1-H-pirazol-1-karboksamidinas yra pagaminamas pagal Bernatowicz et al., *J. Org. Chem.*, 1992, 57:2497-2502 (ir nuorodos jame), blokuojamas di-tert-butildikarbonatu ir gaunamas 1-H-pirazol-1-(N,N-bis(tert-butoksikarbonil)-karboksamidinas) pagal Drake et al., *Synth.*, 1994, 579-582.

1-(N,N'-diBoc)-guanidinometil-4-aminometilcikloheksano gavimas

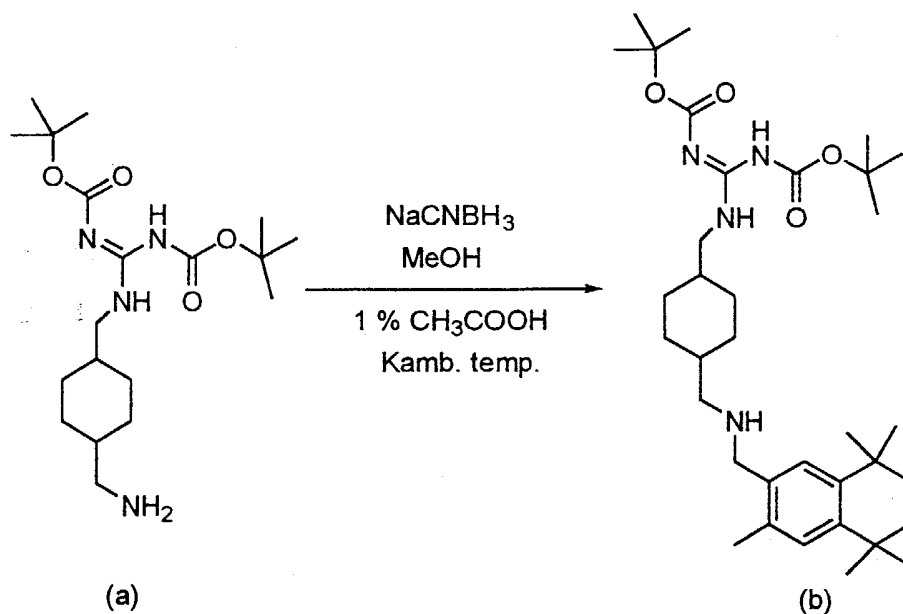


Į 1,4-bis-aminometilcikloheksano (20 g, 0,14 mol) tirpalą THF (200 ml) supilamas 1-H-pirazol-1-(N,N-bis(tret-butoksikarbonil)karboksamidino) (22,0 g, 0,07 mol) tirpalas THF (100 ml). (Atkreipkite dėmesį, kad 1-H-pirazol-1-(N,N-bis(tret-butoksikarbonil)karboksamidino) nebūtina ištirpinti THF; priešingai, jis gali būti pridedamas kaip gryna kieta medžiaga į reakciją). Tirpalas maišomas kambario temperatūroje 3 val. Nugarinus tirpiklį sumažintame slėgyje, gaunama sirupo pavidalo liekana, kuri ištirpinama etilacetate (500 ml) ir plaunama vandeniu iki neutralaus pH. Organinis sluoksnis plaunamas sočiu NaCl tirpalu, džiovinamas MgSO₄ ir sukonzentruojamas. Produktas gryninamas chromatografuojant per silikagelį, eliuuojant 5 % MeOH dichlormetane. Nugarinus tirpiklius vakuume, gaunama 11,6 g (43 % išeiga) 1-(N,N'-diBoc)-guanidinometil-4-aminometilcikloheksano (a) junginys. ¹H BMR (CDCl₃) δ 11,5 (pl.s, 1H), 8,35 (pl. s, 1H), 3,26 (dt, 2H), 2,52 (dd, 2H), 1,82-0,97 (m, 28 H, singletas ties 1,5).

Kitas 1-(N,N'-diBoc)-guanidinometil-3-aminometilcikloheksano gavimo būdas yra toks. Į *cis/trans* 1,4-bis-aminometilcikloheksano (9,0 g, 63,3 mmol) tirpalą THF (903 ml, 0,07 M) dalimis pridedamas (per 10 min.) kietas 1-H-pirazol-1-(N,N-bis(tret-butoksikarbonil)karboksamidinas) (19,6 g, 63,3 mmol). Tirpalas maišomas kambario temperatūroje 0,5 val. Tirpiklis nugarinamas sumažintame slėgyje ir gaunama sirupo pavidalo liekana, kuri tirpinama etilacetate (500 ml) ir plaunama du kartus vandeniu. Atskiriami sluoksniai ir produktas gryninamas kolonėlių chromatografijos per silikagelį metodu,

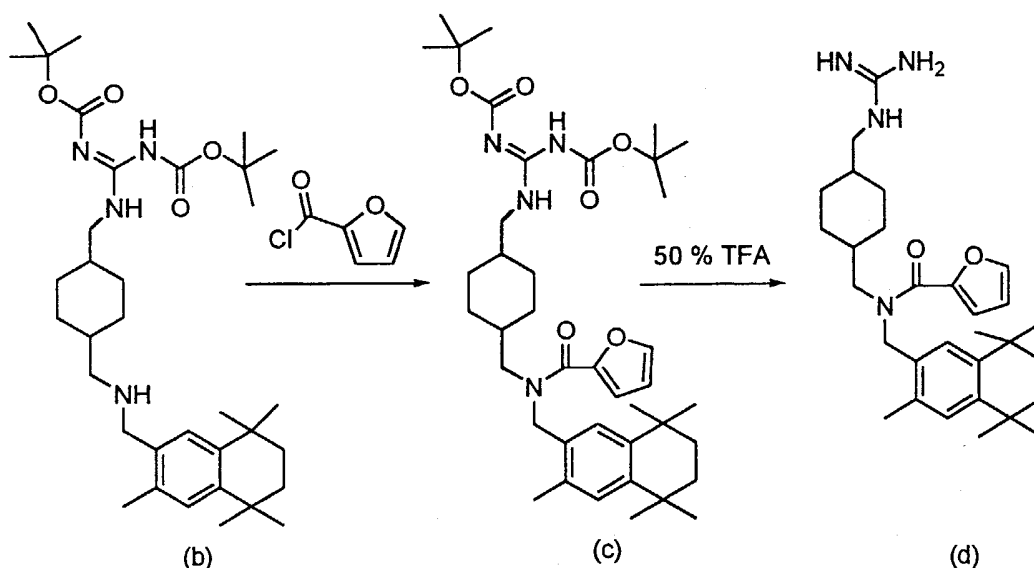
eliuuoiant 100 % etilacetatu nepolinėms priemaišoms pašalinti, o po to eliuuojama 100 % izopropilo alkoholiu, gaunant produktą. Nugarinus tirpiklius vakuumu, gaunama 10,2 g (42 % išeiga) 1-(N,N'-diBoc)-guanidinometil-4-aminometilcikloheksano. ^1H BMR (CDCl_3) δ 11,5 (pl.s, 1H), 8,35 (pl. s, 1H), 3,26 (dt, 2H), 2,52 (dd, 2H), 1,82-0,97 (m, 28 H, singletas ties 1,5).

Redukcinis amininimas



3,5,5,8,8-Pentametil-5,6,7,8-tetrahidro-2-naftaldehidas (0,2021 g, 0,88 mmol) ir 1-(N,N'-diBoc)-guanidinometil-4-aminometilcikloheksanas (junginys (a), 0,337 g, 0,88 mmol) ištirpinami metanolyje (10 ml). Po to supilamas 1 % ledinės acto rūgšties tirpalas metanolyje (100 μl), o po to pridedama NaCNBH_3 (55,4 mg, 0,88 mmol, 1,0 ekv.), ir reakcijos mišinys maišomas per naktį. Reakcija stebima TLC metodu nustatant tris komponentus (aldehidą, norimą produktą ir pradinį guanidino darinį). Reakcija nutraukiama pridedant vandens (~5 ml), ekstrahuojama dichlormetanu (~100 ml) ir plaunama sočiu natrio rūgščiuoju karbonatu. Organinis sluoksnis džiovinamas magnio sulfatu, nufiltruojama, sukonzentruojama ir chromatografuojama per kolonėlę, eliuuojant 3:1 etilacetatu heksanuose nesureagavusiam aldehidui pašalinti, o po to eliuojama 1:1 etilacetatu heksanuose, gaunant norimą produktą (junginys (b), cikloheksilas, cis/trans mišinys). Tirpikliai nugarinami vakuumu (paprastai bendrosios išeigos yra nuo 50 iki 80 %).

Acilinto darinio gavimas ir jo guanidino grupės deblokavimas

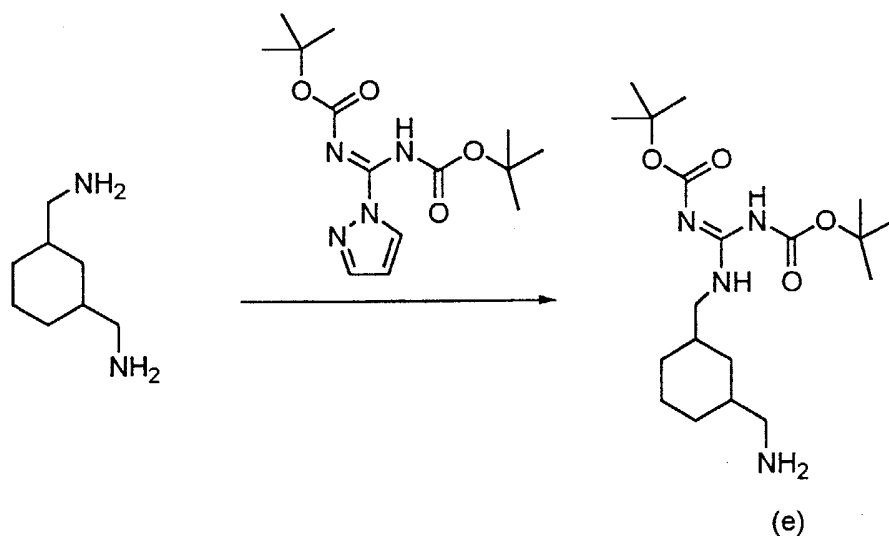


Redukcinio amininimo produktas (320 mg, 0,54 mmol, 1,0 ekv.) ištirpinamas dichlormetane (10-15 ml), po to pridedama trietilamino (129 mg, 1,08 mmol, 2 ekv.) ir 2-furoilchlorido (0,53 mmol, 52 μ l, 1,0 ekv.). Reakcijos turinys maišomas per naktį kambario temperatūroje. Reakcijos mišinys praskiedžiamas dichlormetanu (50 ml) ir plaunamas sočiu natrio rūgščiuoju karbonatu. Organinis sluoksnis džiovinamas magnio sulfatu, nufiltruojamas ir gryninamas kolonelių chromatografijos metodu, eliuavimui naudojant 3:1 heksanus etilacetate. Tirpikliai nugarinami vakuume ir gaunamas junginys (c) (tipiškos bendros reakcijos išeigos yra nuo 50 iki 80 %).

Šis acilinimo reakcijos produktas (junginys (c), 220 mg, 0,318 mmol, 1,0 ekv.) ištirpinamas 50 % TFA tirpale dichlormetane (20-25 ml) ir reakcijos mišinys maišomas kambario temperatūroje (15-20 minučių; tirpalas pasidaro šiek tiek rausvai oranžinis). Reakcijos mšinys maišomas dar 1 val. ir 20 minučių, kol deblokavimas pilnai įvyksta. Reakcija sustabdoma sukonzentruojant vakuume, po to pridedama vandens/acetonitrilo (~50 ml) ir liofilizuojama per naktį. Galutinis junginys gryninamas HPLC metodais. Vakuume nugarinus tirpiklius, gaunamas junginys (d) (išeigos yra nuo 30 % iki 50 %).

Aukščiau duotas aptarimas yra susijęs su junginių (a)-(d) gavimu. Tolimesnis aptarimas susijęs su pavyzdinių junginių (e)-(k) gavimu. Junginiai (e)-(k) gali būti naudojami, kaip aprašyta aukščiau, gauti atitinkamiems deblokuotiems (laisvas guanidinilas) junginiams panaudojant hidrolizę rūgštinėse sąlygose.

1-(N,N'-diBoc)-guanidinometil-3-aminometilcikloheksano gavimas

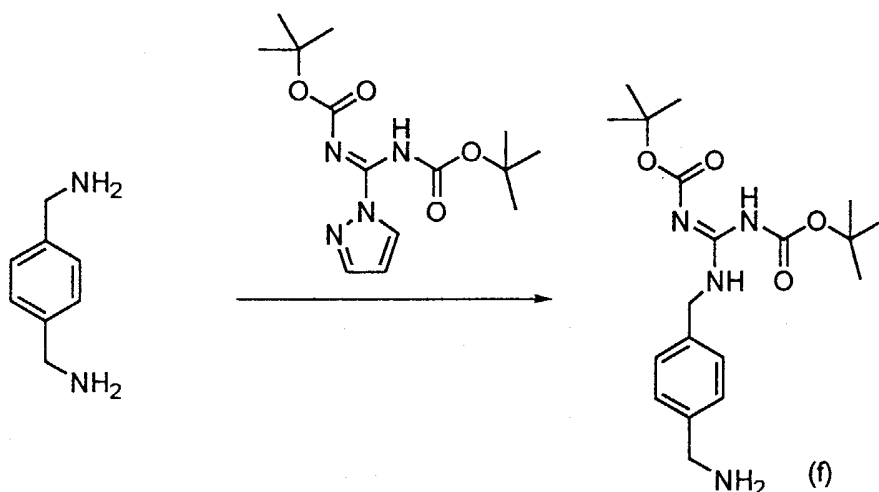


Į *cis/trans*-1,3-bis-aminometilcikloheksano (7,5 g, 52,8 mmol) tirpalą THF (30 ml) per 0,5 valandos supilamas 1,3-bis(tret-butoksikarbonil)-2-metil-2-tiopseudokarbamido (7,65 g, 26,3 mmol) tirpalas THF (40 ml). Tirpalas maišomas kambario temperatūroje 5 valandas. Tirpiklis nugarinamas sumažintame slėgyje ir produktas gryninamas kolonėlių chromatografijos per silikagelį metodu, eliuentu naudojant metileno chlorido/metanolio mišinį; gaunama 2,2 g (22 % išeiga) 1-(N,N'-diBoc)-guanidinometil-3-aminometilcikloheksano (junginys (e)). ^1H BMR (CDCl_3) δ 11,53 (pl.s, 1H), 8,40 (pl.s, 1H), 3,28-3,30 (m, 2H), 2,54-2,61 (m, 2H), 1,81 (pl.s, 2H), 1,27-1,58 (m, 26H), 0,89 (m, 1H), 0,65 (m, 1H).

Kitu atveju junginį (e) galima pagaminti tokiu būdu. Į *cis/trans*-1,3-bis-aminometilcikloheksano (10,0 g, 70,3 mmol) tirpalą THF (1000 ml, 0,07 M) dalimis (per 10 min) sudedamas kietas 1-H-pirazol-1-(N,N-bis(tret-butoksikarbonil)karboksamidinas) (21,8 g, 70,3 mmol). Tirpalas maišomas

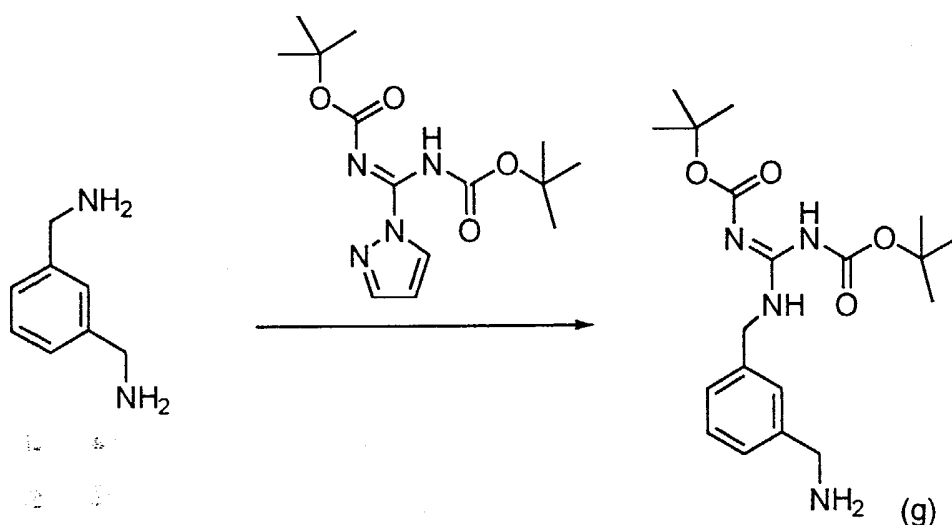
kambario temperatūroje 0,5 valandos. Tirpiklis nugarinamas sumažintame slėgyje ir gaunama sirupo pavidalo liekana, kuri ištirpinama etilacetate (500 ml) ir plaunama du kartus vandeniu. Atskiriami sluoksniai ir produktas gryninamas kolonėlių chromatografijos per silikagelį metodu, eliuentu naudojant 100 % etilacetatą nepolinėms priemaišoms pašalinti, o po to eliuuojama 100 % izopropilo alkoholiu, gaunant gryną produktą. Vakuume nugarius tirpiklius, gaunama 11,4 g (41 % išeiga) 1-(N,N'-diBoc)-guanidinometil-3-aminometilcikloheksano. ^1H BMR (CDCl_3) δ 11,53 (pl.s, 1H), 8,40 (pl.s, 1H), 3,28-3,30 (m, 2H), 2,54-2,61 (m, 2H), 1,81 (pl.s, 2H), 1,27-1,58 (m, 26H), 0,89 (m, 1H), 0,65 (m, 1H).

1-(N,N'-diBoc)-guanidinometil-4-aminometilbenzeno gavimas



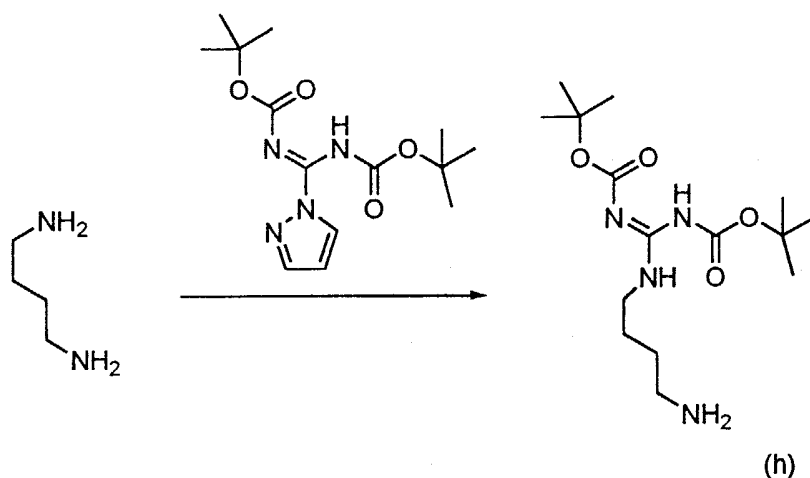
Į p-ksililendiamino (6,44 g, 47,4 mmol) tirpalą THF (30 ml) per 0,5 valandos supilamas 1,3-bis(tret-butoksikarbonil)-2-metil-2-tiopseudo-karbamido (6,63 g, 22,9 mmol) tirpalas THF (40 ml). Tirpalas maišomas kambario temperatūroje 5 valandas. Tirpiklis nugarinamas sumažintame slėgyje ir produktas gryninamas kolonėlių chromatografijos per silikagelį metodu, eliuentu naudojant metileno chlorido/metanolio mišinį; gaunama 8,0 g (92 % išeiga) 1-(N,N'-diBoc)-guanidinometil-4-aminometilbenzeno (junginys (f)). ^1H BMR (CDCl_3) δ 11,54 (pl.s, 1H), 8,56 (pl.s, 1H), 7,29 (s, 4H), 4,60 (d, 2H), 3,86 (s, 2H), 1,64 (pl.s, 2H), 1,52 (s, 9H), 1,48 (s, 9H).

1-(N,N'-diBoc)-guanidinometil-3-aminometilbenzeno gavimas



Į m-ksililendiamino (7,14 g, 52,2 mmol) tirpalą THF (30 ml) per 0,5 valandos supilamas 1,3-bis(tret-butoksikarbonil)-2-metil-2-tiopseudo-karbamido (7,57 g, 26,1 mmol) tirpalas THF (40 ml). Tirpalas maišomas kambario temperatūroje 5 valandas. Tirpiklis nugarinamas sumažintame slėgyje ir produktas gryninamas kolonėlių chromatografijos per silikagelį metodu, eliuentu naudojant metileno chlorido/metanolio mišinį; gaunama 7,9 g (80 % išeiga) 1-(N,N'-diBoc)-guanidinometil-3-aminometilbenzeno (junginys (g)). ^1H BMR (CDCl_3) δ 11,54 (pl.s, 1H), 8,58 (pl.s, 1H), 7,19-7,34 (m, 4H), 4,62 (d, 2H), 3,86 (s, 2H), 1,83 (pl.s, 2H), 1,52 (s, 9H), 1,48 (s, 9H).

1-(N,N'-diBoc)-guanidino-4-aminobutano gavimas

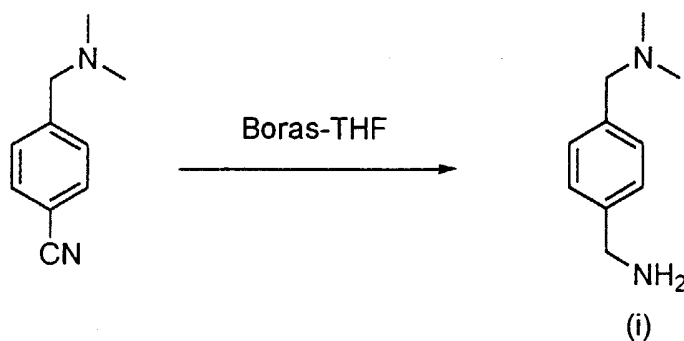


Į 1,4-diaminobutano (4,15 g, 47,1 mmol) tirpalą THF (30 ml) per 0,5 valandos supilamas 1,3-bis(tret-butoksikarbonil)-2-metil-2-tiopseudo-

karbamido (6,83 g, 23,6 mmol) tirpalas THF (40 ml). Tirpalas maišomas kambario temperatūroje 5 valandas. Tirpiklis nugarinamas sumažintame slėgyje ir produktas gryninamas kolonėlių chromatografijos per silikagelį metodu, eliuentu naudojant metileno chlorido/metanolio mišinį; gaunama 3,0 g (40 % išeiga) 1-(N,N'-diBoc)-guanidino-4-aminobutano (junginys (h)). ^1H BMR (CDCl_3) δ 11,49 (pl.s, 1H), 8,35 (pl.s, 1H), 3,42-3,47 (m, 2H), 2,72-2,76 (t, 2H), 0,86-1,65 (m, 24H).

Kita junginio (h) gavimo metodika yra tokia. Į 1,4-diaminobutano (6,0 g, 68,1 mmol) tirpalą THF (972 ml, 0,07 M) dalimis (per 10 min) sudedamas kietas 1-H-pirazol-1-(N,N-bis(tret-butoksikarbonil)karboksamidinas) (21,5 g, 68,1 mmol). Tirpalas maišomas kambario temperatūroje 0,5 valandos. Tirpiklis nugarinamas sumažintame slėgyje ir gaunama sirupo pavidalo liekana, kuri ištirpinama etilacetate (500 ml) ir plaunama du kartus vandeniu. Atskiriami sluoksniai ir produktas gryninamas kolonėlių chromatografijos per silikagelį metodu, eliuentu naudojant 100 % etilacetatą nepolinėms priemaišoms pašalinti, o po to eliuuojama 100 % izopropilo alkoholiu, gaunant gryną produktą. Vakuume nugarinus tirpiklius, gaunama 10,0 g (44 % išeiga) 1-(N,N'-diBoc)-guanidino-4-aminobutano. ^1H BMR (CDCl_3) δ 11,49 (pl.s, 1H), 8,35 (pl.s, 1H), 3,42-3,47 (m, 2H), 2,72-2,76 (t, 2H), 0,86-1,65 (m, 24H).

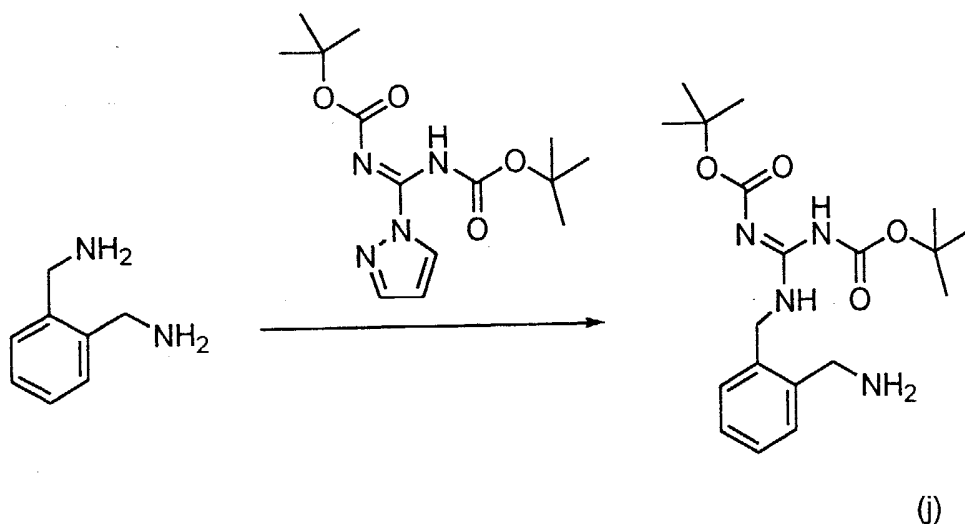
1-N,N-Dimetilaminometil-4-aminometilbenzeno gavimas



Į 1-N,N-dimetilaminometil-4-karbonitrilbenzeno (4,8 g, 30 mmol) tirpalą THF supilamas 1M boro-tetrahidrofurano kompleksas (90 ml). Mišinys

virinamas su grįžtamu šaldytuvu 16 val. azoto atmosferoje. Atšaldžius iki kambario temperatūros, supilamas 1M HCl tirpalas metanolyje (100 ml). Reakcijos mišinys virinamas su grįžtamu šaldytuvu 3 val. Produktas, kuris iškrenta į nuosėdas, nufiltruojamas, perplaunamas dietilo eteriu ir išdžiovinus vakuume gaunama 5,9 g (83 % išeiga) produkto hidrochlorido druskos pavidalu (junginys (i)): ^1H BMR (DMSO- d_6) δ 8,65 (pl.s, 3H), 7,55 (dd, 4H), 4,25 (s, 2H), 3,98 (s, 2H), 2,62 (s, 6H).

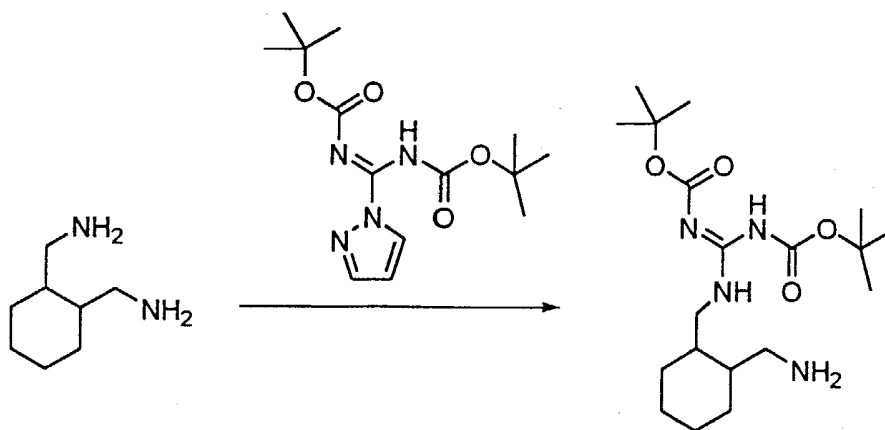
1-(N,N'-diBoc)-guanidinometil-2-aminometilbenzeno gavimas



Į o-ksililendiamino (7,14 g, 52,2 mmol) tirpalą THF (30 ml) per 0,5 valandos supilamas 1,3-bis(tret-butoksikarbonil)-2-metil-2-tiopseudo-karbamido (7,57 g, 26,1 mmol) tirpalas THF (40 ml). Tirpalas maišomas kambario temperatūroje 5 valandas. Tirpiklis nugarinamas sumažintame slėgyje ir produktas gryninamas kolonėlių chromatografijos per silikagelį metodu, eliuentu naudojant metileno chlorido/metanolio mišinį; gaunamas 1-(N,N'-diBoc)-guanidinometil-2-aminometilbenzenas (junginys (i)).

Kitu atveju, junginys (i) gali būti pagaminamas panašiu būdu, kaip ir aukščiau aprašytas junginys (e) pagal antrąjį sintezės variantą.

1-(N,N'-diBoc)-guanidinometil-2-aminometilcikloheksano gavimas



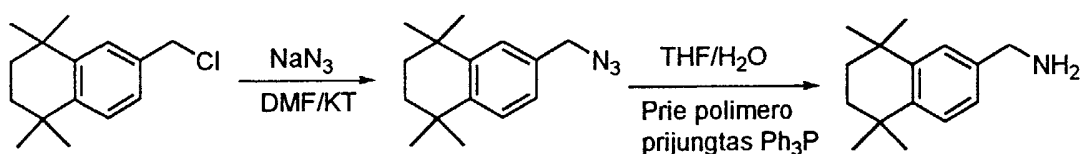
(k)

Į *cis/trans*-1,2-bis-aminometilcikloheksano (7,5 g, 52,8 mmol) tirpalą THF (30 ml) per 0,5 valandos supilamas 1,3-bis(tret-butoksikarbonil)-2-metil-2-tiopseudo-karbamido (7,65 g, 26,3 mmol) tirpalas THF (40 ml). Tirpalas maišomas kambario temperatūroje 5 valandas. Tirpiklis nugarinamas sumažintame slėgyje ir produktas gryninamas kolonėlių chromatografijos per silikagelį metodu, eliuentu naudojant metileno chlorido/metanolio mišinį; gaunamas 1-(N,N'-diBoc)-guanidinometil-2-aminometilcikloheksanas (junginys (k)).

Kitu atveju, junginys (k) gali būti pagaminamas panašiu būdu, kaip ir aukščiau aprašytas junginys (e) pagal antrąjį sintezės variantą.

Benzilaminų gavimas

Toliau duodamoje bendrojoje reakcijos metodikoje pateikiamas benzilaminų, skirtų reakcijai su aldehidais, turinčiais blokuotas guanidino grupes, kurie yra kaip alternatyva diaminams, gavimo būdas. Redukcinis amininimas vyksta tomis pačiomis reakcijos sąlygomis kaip ir aukščiau aprašytų aminų su blokuota guanidino grupe.



Į 6-chlormetil-1,2,3,4-tetrahidro-1,1,4,4-tetrametilnaftaleno (10 g, 42,2 mmol, 1,00 mmol ekv.) tirpalą DMF (84 ml) kambario temperatūroje pridedama natrio azido (13,7 g, 211,2 mmol, 5,00 mmol. ekv.) ir reakcijos mišinys maišomas per naktį. Reakcija stebima TLC (5 % etilacetatas heksanuose). Reakcija nutraukiama supilant reakcijos mišinį į vandenį ir ekstrahuojama etilacetatu. Organiniai tirpikliai nugarinami vakuume, negrynas produktas nufiltruojamas per silikagelio sluoksnėlį (10:1 santykis) ir eliuuojama heksanais. Tirpiklis nugarinamas vakuume ir palaikius vakuume gaunama 10 gramų norimo produkto – 6-azidometil-1,2,3,4-tetrahidro-1,1,4,4-tetrametilnaftaleno (97 % išeiga).

Į 6-azidometil-1,2,3,4-tetrahidro-1,1,4,4-tetrametilnaftaleno (9,0 g, 37 mmol, 1,00 mmol ekv.) tirpalą vandenyje/THF (1:5 santykis, 0,16 M, 231 ml) kambario temperatūroje pridedama prie polimero prijungto trifenilfosfino (14,8 g, 44,38 mmol, 1,20 mmol ekv., ~3 mmol/g dervos), ir reakcijos mišinys maišomas 18-24 valandas. Reakcijos eiga tikrinama TLC (5 % etilacetatas heksanuose). Reakcija sustabdoma nufiltruojant per filtro popierių, derva perplaunama metanolio, o produktas patikrinamas ^1H BMR. Organiniai tirpikliai nugarinami vakuume, produktas nufiltruojamas per silikagelio sluoksnėlį (10:1 santykis) ir eliuuojama 25 % izopropilo alkoholiu chloroforme nedideliems kiekiams vėliau išsiskiriančių priemaišų pašalinti. Organinius tirpiklius nugarinus vakuume, gaunama tiršta alyva, kuri stovėdama sukietėja (7,5 g, 93 % išeiga).

Aukščiau aprašytos cheminės reakcijos turi bendrą taikomumą šio išradimo GnRH agentams gauti. Tėkiu būdu, kiti GnRH agentai gali būti panašiai pagaminti panaudojant tinkamas modifikacijas, ką nesunkiai supras šios srities specialistai, pvz. blokuojant trukdančias grupes, pritaikant naudoti

kitus įprastus reagentus ir/arba panaudojant reakcijų sąlygų įprastus pakeitimus.

Biologiniai tyrimai

Junginių aktyvumas buvo tiriamas pagal tokias metodikas.

Žmogaus GnRH receptorių stabili transfekcija

kDNR žmogaus GnRH receptoriui buvo įklonuota į plazmidinį ekspresijos vektorių pcDNA 3 (In Vitrogen) ir stabiliai transfektuota HEK 293 ląstelėse (ląstelių liniją išvedė Dr. Stuart Sealfon, Mount Sinai Medical School, New York).

Žmogaus GnRH receptorių (hGnRH) buvo klonuojamas į pcDNA 3 (In Vitrogen), kuri duoda didelę ekspresiją ir atsparumo neomicinui žymę. HEK 293 ląstelėms transfekuoti DNR plazmide naudojamas lipofektaminas (GIBCO BLR). Šis metodas apima plazmidės ir reagento sumaišymą serumo neturinčioje terpėje, leidžiančioje susidaryti DNR-liposomos kompleksui, ir ląstelių uždengimą šiuo tirpalu. Dieną prieš transfekavimą HEK 293 ląstelės išpilstomos (išsėjamos) ant 10 cm skersmens audinių kultūrų lėkštelių 3×10^6 ląstelių/lėkštei tankiu. Kiekvienai plokštei 8 μ g DNR plius 0,8 ml serumo neturinčios terpės sumaišoma su 48 μ l lipofektamino plius 0,8 ml serumo neturinčios terpės, po to inkubuojama 30 minučių kambario temperatūroje, kad susidarytų DNR-liposomos kompleksas. Įpilama serumo neturinčios terpės, kad galutinis tūris būtų 6 ml/plokštei. Ląstelės perplaunamos du kartus serumo neturinčia terpe ir uždengiamos DNR-liposomos mišiniu. Praėjus 5 valandoms po transfekavimo, pridedamas toks pat tūris (6 ml) terpės, turinčios 20 % FBS (fetalinio veršiuko serumo). Ląstelės maitinamos šviežia pilna terpe 18-24 val. po transfekavimo. Praėjus 72 val. po transfekavimo, ląstelės suskaldomos 1:10 ir 1:20 tankiais. Išrenkami stabilūs transformantai panaudojant ląstelių auginimą antibiotiko turinčioje terpėje (G418, Sigma Chemical Company (žinoma ir kaip Geneticin)). Išskiriamos

kolonijos ir tiriama receptoriaus ekspresija panaudojant radioligando surišimą ir matuojant fosfoinozitolio virsmų skaičių.

Ląstelių kultūros ir ląstelių membranų paruošimas

HEK 293 ląstelės, stabiliai transfekuotos žmogaus GnRH receptoriais pagal aukščiau aprašytą metodiką, auginamos MEM (minimali pagrindinė terpė, gaunama iš Sigma Chemical Company), į kurią pridėta 0,1 % G418 (Sigma Chemical Company). Ląstelės homogenizuojamos buferyje A, turinčiame 50 mM Tris (pH 7,4), 0,32 M sacharozės, 2 mM etilenglikol-bis(β-aminoetil)-N,N,N',N'-tetraacto rūgšties (EGTA), 1 mM fenilmetilsulfonilo fluorido (PMSF), 5 μg/ml aprotinino, 5 μg/ml pepstatino A ir 1 μg/ml leupeptino. Homogenizuotos ląstelės centrifuguojamos 4 °C temperatūroje, esant 20000 x g, 25 minutes, vėl suspenduojamos buferyje A ir vėl centrifuguojamos 4 °C temperatūroje, esant 20000 x g, dar 25 minutes. Visas membraninis baltymas nustatomas BCA rinkiniu (Pierce, Rockford, Illinois). Membranos laikomos -70 °C temperatūroje esant galutinei membraninio baltymo koncentracijai 5 mg/ml.

¹²⁵I-GnRH-A pagaminimas

Radioaktyviu jodu žymėtas agonistinis GnRH analogas [des-Gly¹⁰,D-Ala⁸]GnRH etilamidas (GnRH-A) yra naudojamas kaip žymėtas ligandas. Vienas miligramas GnRH-A praskiestas 0,1 M acto rūgštimi įleidžiamas į Iodogen® padengtą borsilikatinio stiklo mėgintuvėlį (Pierce), turintį 35 μl 0,05 M fosfatinio buferio (pH 7,4-7,6) ir 1 mCi Na[¹²⁵I]. Reakcijos mišinys sumaišomas ir inkubuojamas 1 minutę kambario temperatūroje. Po 1 minutės mišinys vėl sumaišomas ir leidžiama inkubuotis dar 1 minutę. Į mėgintuvėlį įpilama 2 ml 0,5 M acto rūgšties/1 % BSA, ir mišinys supilamas į C-18 Sep-Pak patroną. Patronas plaunamas vienas po kitos einančiomis 5 ml H₂O ir 5 ml 0,5 M acto rūgšties porcijomis, po to eliuuojamas 5 x 1 ml 60 % CH₃CN/40 % 0,5 M acto rūgšties mišiniu. Eliuentas praskiedžiamas 3 x didesniu tūriu HPLC buferio A (0,1 % TFA vandenyje) ir supilamas į C18 kolonėlę. Jodintas produktas išplaunamas per 20-25 minutes 25-100 % CH₃CN, turinčio 0,1 %

TFA, gradientu. Radioaktyvios frakcijos (750 μ l/frakcijoje) surenkamos į švarius polipropileningus mėgintuvėlius, turinčius 10 μ l 10 % BSA. Nustatomas frakcijų biologinis aktyvumas pagal radioligando surišimą. Aktyvios frakcijos yra naudojamos junginių atrinkimui pagal konkurencinio surišimo testą.

Konkurencinio radioligando surišimo testai

HEK 293 ląstelių membranos stabiliai ekspresuojančios hGnRH (žmogaus GnRH receptorius) praskiedžiamos iki 0,5-1,0 mg/ml testavimo buferiu, turinčiu 50 mM HEPES (pH 7,4), 1 mM etilendiamintetraacto rūgšties (EDTA), 2,5 mM $MgCl_2$ ir 0,1 % BSA. Membranos inkubuojamos su 50000 imp./min (apie 0,05-0,1 nM) ^{125}I -GnRH-A galutiniame 200 μ l tūryje, esant arba nesant konkurencinio agento, 1 val. kambario temperatūroje. Testai nutraukiami greitai nufiltruojant per 96 duobučių GF/C filtrus, įmirkytus 0,1 % polietileniminu. Filtrai plaunami tris kartus ledu atšaldytu PBS (50 mM $NaPO_4$, 0,9 % NaCl, 2 mM $MgCl_2$ ir 0,02 % NaN_3 , pH 7,4), naudojant Packard'o 96 duobučių ląstelių auginimo plokštelę. Po to į kiekvieną filtro duobutę pridedama 35 μ l scinciliacinio mišinio ir Packard Top skaičiuokliu matuojamas radioaktyvumas. Nespecifinis surišimas nustatomas esant 100 nM GnRH. Kiekviename eksperimente nustatomos kontrolinės dozės-atsako į GnRH (0,1 nM-100 nM) kreivės. Dozės atsako kreivė parodyta Fig.1, kurioje pavaizduota radiožymėto GnRH, prijungto prie ląstelių membranų (imp./min), kiekio priklausomybė nuo nežymėto GnRH kiekio.

PAVYZDŽIAI

Specialistai supras, kad pagal šį išradimą gali būti pagaminta daugybė junginių. Pavyzdžiui, gali būti pagaminti I formulės junginiai, turintys toliau duodamoje A lentelėje X_1 - X_2 , Y ir Z liekanų derinį, kur X_1 - X_2 , Y ir Z liekanos yra parodytos 1, 2 ir 3 lentelėse.

A lentelė

Junginių pavyzdžiai

X_1X_2	Y	Z
X_1X_2-7	Y-1	Z-1
X_1X_2-7	Y-10	Z-1
X_1X_2-7	Y-1	Z-2
X_1X_2-7	Y-6	Z-2
X_1X_2-7	Y-8	Z-2
X_1X_2-7	Y-1	Z-3
X_1X_2-7	Y-8	Z-3
X_1X_2-7	Y-10	Z-3
X_1X_2-7	Y-4	Z-7
X_1X_2-7	Y-5	Z-7
X_1X_2-7	Y-11	Z-7
X_1X_2-7	Y-1	Z-8
X_1X_2-7	Y-3	Z-8
X_1X_2-5	Y-10	Z-3
X_1X_2-5	Y-1	Z-4
X_1X_2-5	Y-9	Z-4
X_1X_2-5	Y-10	Z-4
X_1X_2-5	Y-11	Z-4
X_1X_2-5	Y-1	Z-5
X_1X_2-5	Y-9	Z-5
X_1X_2-5	Y-11	Z-5
X_1X_2-5	Y-1	Z-6
X_1X_2-5	Y-10	Z-6
X_1X_2-5	Y-1	Z-7
X_1X_2-5	Y-1	Z-8
X_1X_2-5	Y-10	Z-8
X_1X_2-9	Y-1	Z-1
X_1X_2-9	Y-10	Z-1
X_1X_2-9	Y-1	Z-2
X_1X_2-9	Y-1	Z-3
X_1X_2-9	Y-10	Z-3
X_1X_2-9	Y-1	Z-4
X_1X_2-9	Y-5	Z-4
X_1X_2-9	Y-1	Z-5
X_1X_2-9	Y-9	Z-5
X_1X_2-9	Y-1	Z-6
X_1X_2-9	Y-10	Z-6
X_1X_2-9	Y-8	Z-8
X_1X_2-3	Y-1	Z-1
X_1X_2-3	Y-3	Z-1

X_1X_2	Y	Z
X_1X_2-7	Y-1	Z-4
X_1X_2-7	Y-9	Z-4
X_1X_2-7	Y-1	Z-5
X_1X_2-7	Y-1	Z-6
X_1X_2-7	Y-7	Z-6
X_1X_2-7	Y-9	Z-6
X_1X_2-7	Y-10	Z-6
X_1X_2-7	Y-1	Z-7
X_1X_2-3	Y-11	Z-4
X_1X_2-3	Y-1	Z-5
X_1X_2-3	Y-8	Z-5
X_1X_2-3	Y-9	Z-5
X_1X_2-3	Y-11	Z-5
X_1X_2-3	Y-1	Z-6
X_1X_2-3	Y-10	Z-6
X_1X_2-3	Y-1	Z-7
X_1X_2-3	Y-9	Z-7
X_1X_2-3	Y-10	Z-7
X_1X_2-3	Y-11	Z-7
X_1X_2-3	Y-1	Z-8
X_1X_2-3	Y-6	Z-8
X_1X_2-3	Y-10	Z-8
X_1X_2-11	Y-1	Z-1
X_1X_2-11	Y-1	Z-2
X_1X_2-11	Y-1	Z-3
X_1X_2-11	Y-1	Z-4
X_1X_2-11	Y-1	Z-5
X_1X_2-11	Y-1	Z-6
X_1X_2-11	Y-1	Z-7
X_1X_2-11	Y-1	Z-8
X_1X_2-1	Y-3	Z-9
X_1X_2-1	Y-15	Z-9
X_1X_2-1	Y-9	Z-9
X_1X_2-1	Y-16	Z-9
X_1X_2-1	Y-10	Z-9
X_1X_2-1	Y-9	Z-5
X_1X_2-1	Y-15	Z-10
X_1X_2-1	Y-10	Z-10
X_1X_2-1	Y-13	Z-11
X_1X_2-1	Y-9	Z-11

A lentelė

Junginių pavyzdžiai (tęsinys)

X_1X_2	Y	Z
X_1X_2-3	Y-4	Z-1
X_1X_2-3	Y-10	Z-1
X_1X_2-3	Y-3	Z-2
X_1X_2-3	Y-4	Z-2
X_1X_2-3	Y-8	Z-2
X_1X_2-3	Y-1	Z-3
X_1X_2-3	Y-8	Z-3
X_1X_2-3	Y-10	Z-3
X_1X_2-3	Y-1	Z-4
X_1X_2-3	Y-8	Z-4
X_1X_2-3	Y-9	Z-4
X_1X_2-3	Y-10	Z-4
X_1X_2-1	Y-7	Z-17
X_1X_2-1	Y-7	Z-20
X_1X_2-1	Y-7	Z-22
X_1X_2-1	Y-7	Z-23
X_1X_2-1	Y-7	Z-24
X_1X_2-1	Y-7	Z-25
X_1X_2-1	Y-7	Z-26
X_1X_2-1	Y-7	Z-27
X_1X_2-1	Y-7	Z-28
X_1X_2-1	Y-7	Z-30
X_1X_2-1	Y-7	Z-31
X_1X_2-1	Y-7	Z-32
X_1X_2-1	Y-7	Z-33
X_1X_2-1	Y-7	Z-34
X_1X_2-1	Y-7	Z-36
X_1X_2-1	Y-7	Z-37
X_1X_2-1	Y-7	Z-39
X_1X_2-1	Y-7	Z-40
X_1X_2-1	Y-7	Z-41
X_1X_2-1	Y-7	Z-42
X_1X_2-1	Y-7	Z-43
X_1X_2-1	Y-7	Z-44
X_1X_2-1	Y-7	Z-47
X_1X_2-1	Y-7	Z-52
X_1X_2-1	Y-7	Z-53
X_1X_2-1	Y-7	Z-54
X_1X_2-1	Y-7	Z-55
X_1X_2-1	Y-7	Z-56
X_1X_2-1	Y-7	Z-58
X_1X_2-1	Y-7	Z-60

X_1X_2	Y	Z
X_1X_2-1	Y-10	Z-11
X_1X_2-1	Y-3	Z-12
X_1X_2-1	Y-7	Z-12
X_1X_2-1	Y-9	Z-12
X_1X_2-1	Y-16	Z-12
X_1X_2-1	Y-10	Z-12
X_1X_2-1	Y-13	Z-7
X_1X_2-1	Y-10	Z-7
X_1X_2-1	Y-10	Z-8
X_1X_2-1	Y-10	Z-13
X_1X_2-1	Y-7	Z-14
X_1X_2-1	Y-7	Z-15
X_1X_2-1	Y-7	Z-76
X_1X_2-1	Y-7	Z-77
X_1X_2-1	Y-7	Z-78
X_1X_2-1	Y-7	Z-80
X_1X_2-1	Y-7	Z-81
X_1X_2-1	Y-7	Z-83
X_1X_2-1	Y-7	Z-84
X_1X_2-1	Y-7	Z-85
X_1X_2-1	Y-7	Z-86
X_1X_2-1	Y-7	Z-87
X_1X_2-1	Y-7	Z-88
X_1X_2-1	Y-7	Z-89
X_1X_2-1	Y-7	Z-91
X_1X_2-1	Y-7	Z-92
X_1X_2-1	Y-7	Z-93
X_1X_2-1	Y-7	Z-94
X_1X_2-1	Y-7	Z-95
X_1X_2-1	Y-7	Z-98
X_1X_2-1	Y-7	Z-99
X_1X_2-1	Y-17	Z-5
X_1X_2-1	Y-20	Z-5
X_1X_2-1	Y-23	Z-5
X_1X_2-1	Y-24	Z-5
X_1X_2-1	Y-25	Z-5
X_1X_2-1	Y-26	Z-5
X_1X_2-1	Y-27	Z-5
X_1X_2-1	Y-29	Z-5
X_1X_2-1	Y-30	Z-5
X_1X_2-1	Y-31	Z-5
X_1X_2-1	Y-32	Z-5

A lentelė

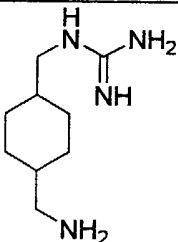
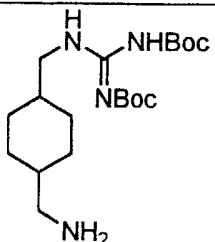
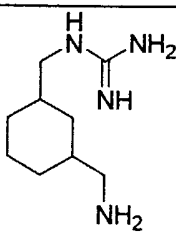
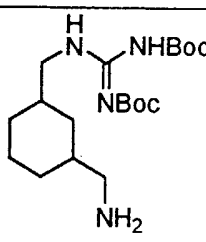
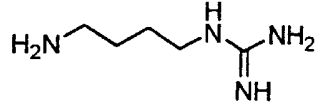
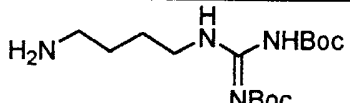
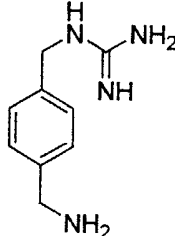
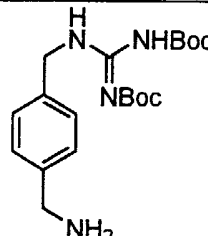
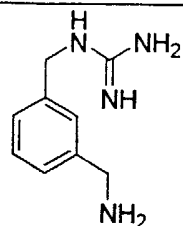
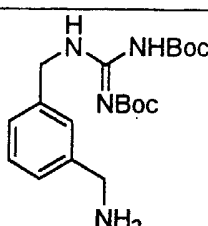
Junginių pavyzdžiai (tęsinys)

X_1X_2	Y	Z
X_1X_2-1	Y-7	Z-61
X_1X_2-1	Y-7	Z-62
X_1X_2-1	Y-7	Z-63
X_1X_2-1	Y-7	Z-64
X_1X_2-1	Y-7	Z-65
X_1X_2-1	Y-7	Z-66
X_1X_2-1	Y-7	Z-67
X_1X_2-1	Y-7	Z-68
X_1X_2-1	Y-7	Z-70
X_1X_2-1	Y-7	Z-71
X_1X_2-1	Y-7	Z-73
X_1X_2-1	Y-7	Z-74
X_1X_2-1	Y-7	Z-75
X_1X_2-1	Y-51	Z-5
X_1X_2-1	Y-54	Z-5
X_1X_2-1	Y-56	Z-5
X_1X_2-1	Y-58	Z-5
X_1X_2-1	Y-59	Z-5
X_1X_2-1	Y-61	Z-5
X_1X_2-1	Y-63	Z-5
X_1X_2-1	Y-65	Z-5
X_1X_2-1	Y-66	Z-5
X_1X_2-1	Y-67	Z-5
X_1X_2-1	Y-69	Z-5
X_1X_2-1	Y-70	Z-5
X_1X_2-1	Y-71	Z-5
X_1X_2-1	Y-72	Z-5
X_1X_2-1	Y-78	Z-5
X_1X_2-1	Y-85	Z-5

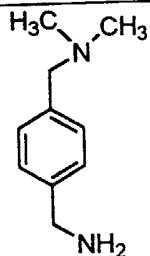
X_1X_2	Y	Z
X_1X_2-1	Y-33	Z-5
X_1X_2-1	Y-34	Z-5
X_1X_2-1	Y-35	Z-5
X_1X_2-1	Y-38	Z-5
X_1X_2-1	Y-39	Z-5
X_1X_2-1	Y-41	Z-5
X_1X_2-1	Y-42	Z-5
X_1X_2-1	Y-44	Z-5
X_1X_2-1	Y-46	Z-5
X_1X_2-1	Y-47	Z-5
X_1X_2-1	Y-48	Z-5
X_1X_2-1	Y-49	Z-5
X_1X_2-1	Y-50	Z-5
X_1X_2-1	Y-86	Z-5
X_1X_2-1	Y-87	Z-5
X_1X_2-1	Y-88	Z-5
X_1X_2-1	Y-90	Z-5
X_1X_2-1	Y-91	Z-5
X_1X_2-1	Y-92	Z-5
X_1X_2-1	Y-94	Z-5
X_1X_2-1	Y-95	Z-5
X_1X_2-1	Y-96	Z-5
X_1X_2-1	Y-97	Z-5
X_1X_2-1	Y-99	Z-5
X_1X_2-1	Y-100	Z-5
X_1X_2-1	Y-101	Z-5
X_1X_2-1	Y-102	Z-5
X_1X_2-1	Y-103	Z-5
X_1X_2-1	Y-104	Z-5

Kiti I formulės junginių pavyzdžiai, parodyti toliau duodamose 4 ir 5 lentelėse, buvo susintetinti pagal aukščiau aprašytą bendrąją reakcijos schemą. Negryninti junginiai buvo tirti naudojant aukščiau aprašytą konkurencinį radioligando surišimo testą. Konkurencinio GnRH surišimo testo rezultatai yra parodyti 4 ir 5 lentelėse. 4 lentelėje nurodytų junginių X_1-X_2 , Y ir Z liekanos parodytos atitinkamai 1, 2 ir 3 lentelėse. 4 lentelėje parodytų junginių rezultatai buvo gauti imant tik vieną 10 μ M koncentraciją. Specifinis kontrolinis skiediklio (tirpiklio) surišimas buvo nustatytas kaip bendras

sujungto radioligando kiekis minus kiekis, sujungtas esant 100 nM GnRH. Likusio specifinio surišimo procentai (% 4 lentelėje) esant kiekvienam junginiui buvo apskaičiuoti pagal tokią lygtį: {specifinis surišimas esant junginiui/specifinis surišimas esant skiedikliui (tirpikliui)} x 100 %. 4 lentelėje junginys, duodantis 50 % likusio surišimo, turės K_i apytikriai 10 μ M. Atkreipkite dėmesį, kad kuo mažesnė % surišimo reikšmė, tuo didesnė procentinė inhibicija.

1 lentelė X_1X_2 liekanos			
 X_1X_2-1	 X_1X_2-2	 X_1X_2-3	 X_1X_2-4
 X_1X_2-5		 X_1X_2-6	
 X_1X_2-7		 X_1X_2-8	
 X_1X_2-9		 X_1X_2-10	

1 lentelė
X₁X₂ liekanos (tęsinys)

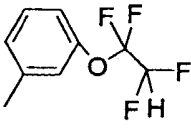
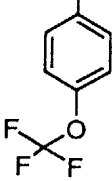
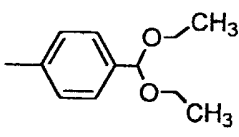
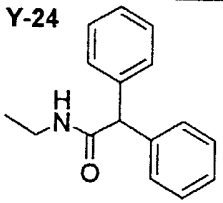
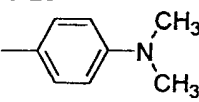
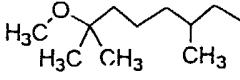
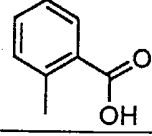
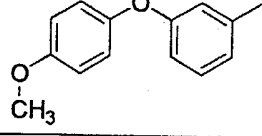
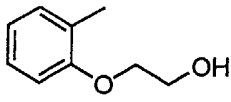
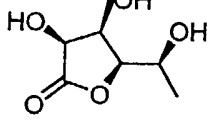
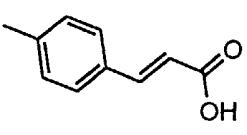
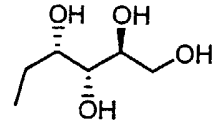
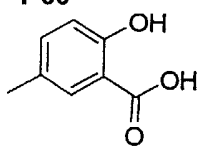
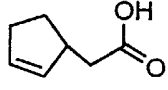
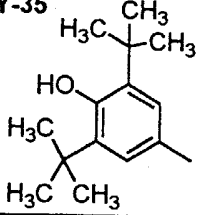
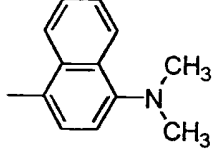
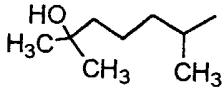
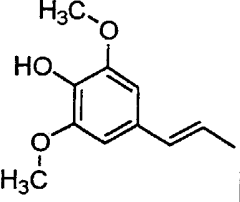
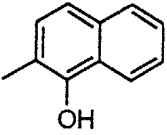
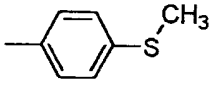
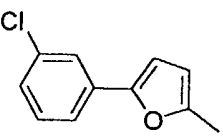
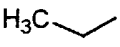
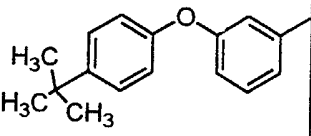
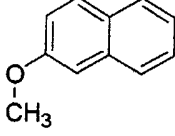
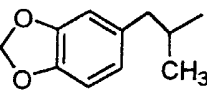
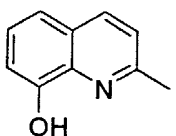
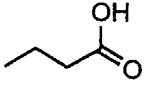


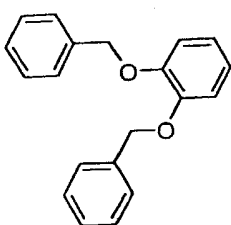
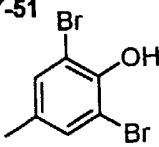
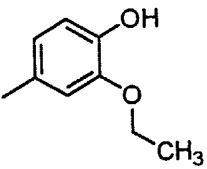
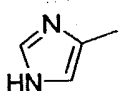
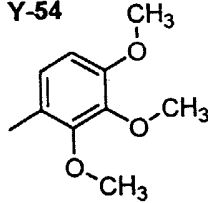
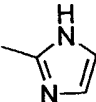
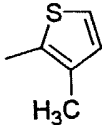
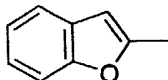
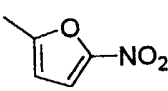
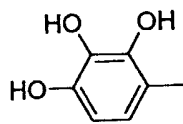
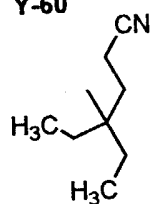
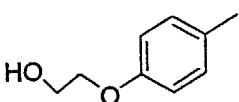
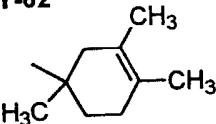
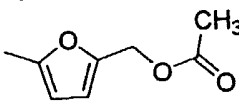
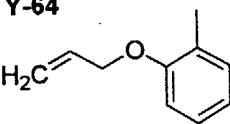
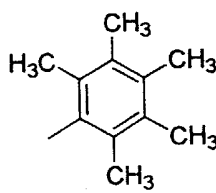
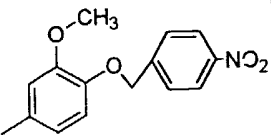
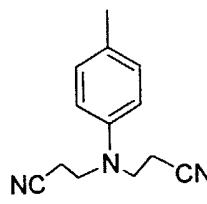
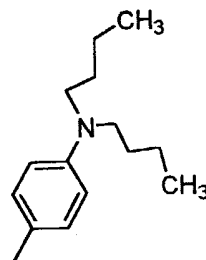
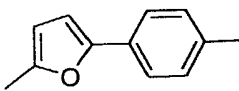
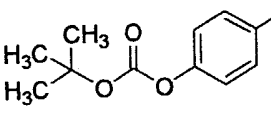
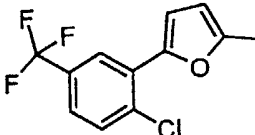
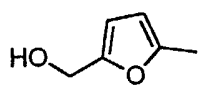
X₁X₂-11

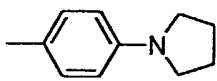
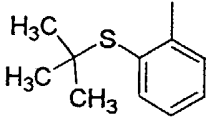
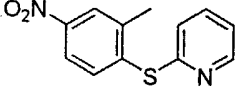
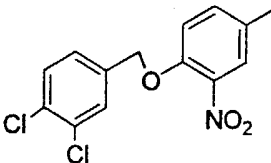
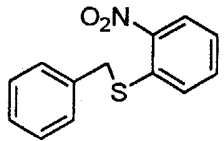
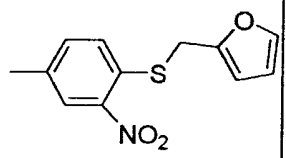
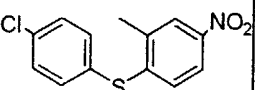
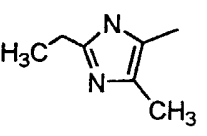
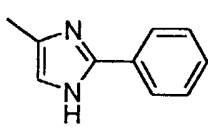
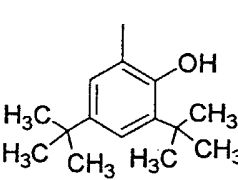
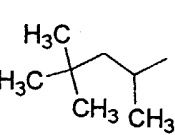
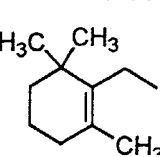
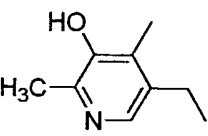
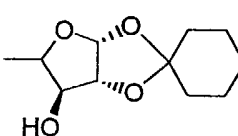
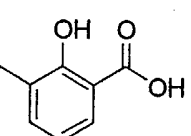
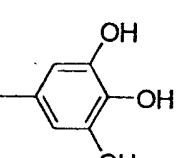
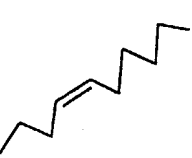
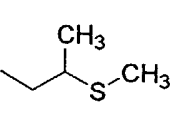
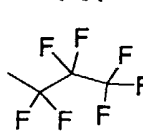
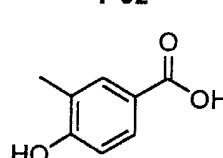
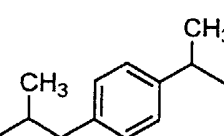
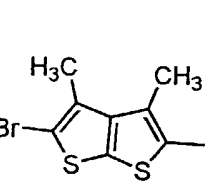
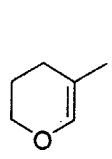
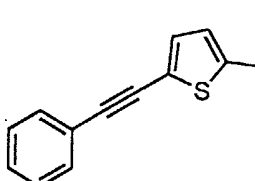
2 lentelė
Y liekanos

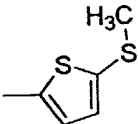
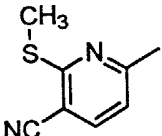
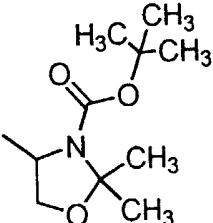
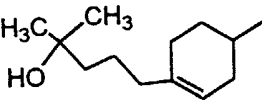
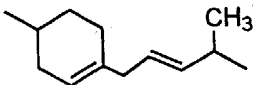
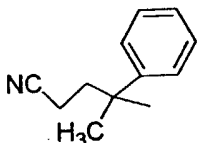
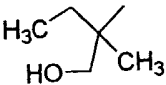
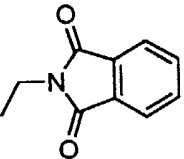
Y-1 	Y-2 	Y-3 	Y-4
Y-5 	Y-6 	Y-7 	Y-8
Y-9 	Y-10 	Y-11 	Y-12
Y-13 	Y-14 	Y-15 	Y-16
Y-17 	Y-18 	Y-19 	Y-20

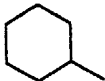
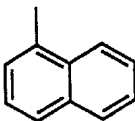
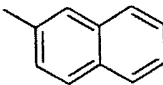
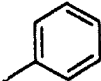
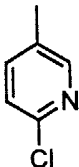
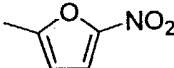
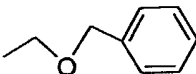
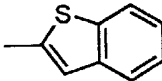
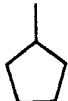
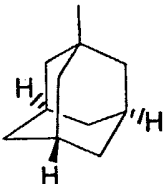
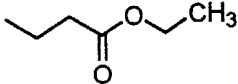
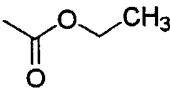
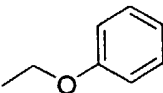
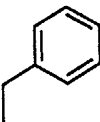
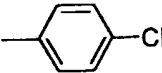
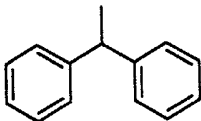
2 lentelė
Y liekanos

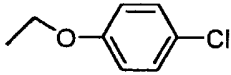
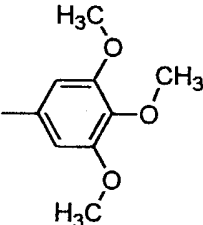
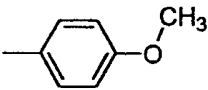
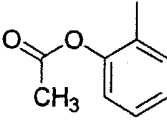
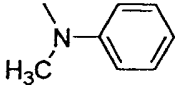
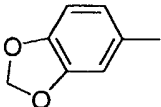
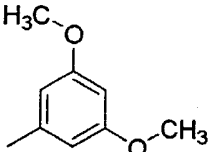
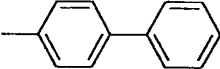
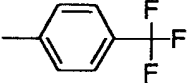
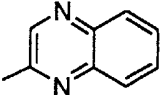
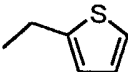
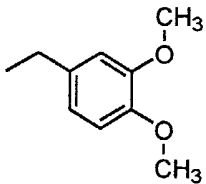
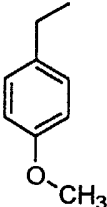
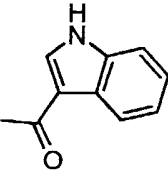
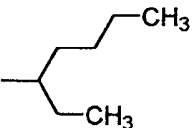
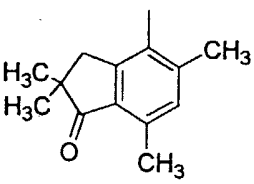
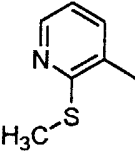
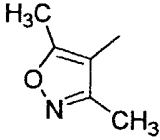
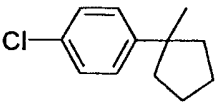
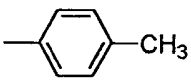
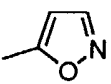
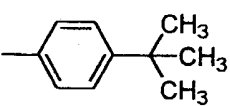
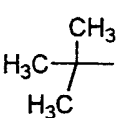
Y-21 	Y-22 	Y-23 	Y-24 
Y-25 	Y-26 	Y-27 	Y-28 
Y-29 	Y-30 	Y-31 	Y-32 
Y-33 	Y-34 	Y-35 	Y-36 
Y-37 	Y-38 	Y-39 	Y-40 
Y-41 	Y-42 	Y-43 	Y-44 
Y-45 	Y-46 	Y-47 	Y-48 

2 lentelė Y liekanos			
Y-49 	Y-50 $\text{H}_3\text{C}-\text{S}-\text{CH}_2\text{CH}_2\text{CH}_3$	Y-51 	Y-52 
Y-53 	Y-54 	Y-55 	Y-56 
Y-57 	Y-58 	Y-59 	Y-60 
Y-61 	Y-62 	Y-63 	Y-64 
Y-65 	Y-66 	Y-67 	Y-68 
Y-69 	Y-70 	Y-71 	Y-72 

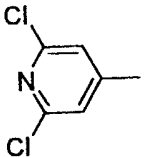
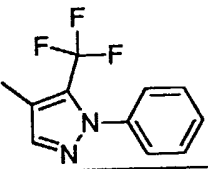
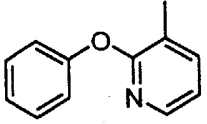
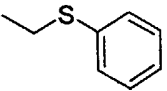
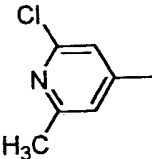
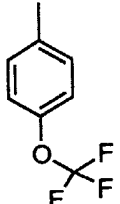
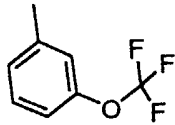
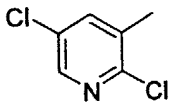
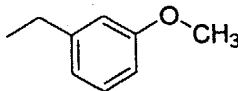
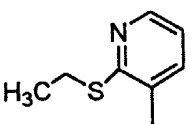
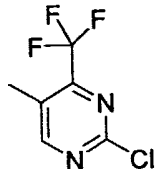
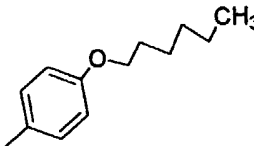
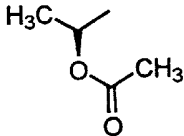
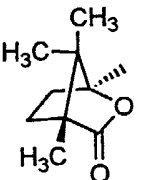
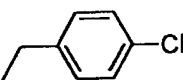
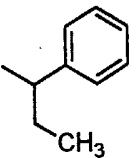
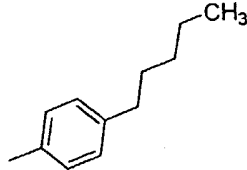
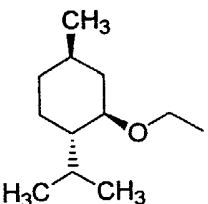
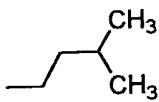
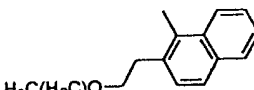
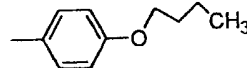
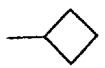
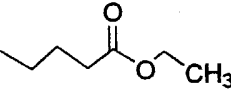
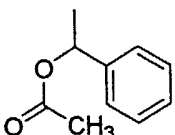
2 lentelė Y liekanos			
Y-73 	Y-74 	Y-75 	Y-76 
Y-77 	Y-78 	Y-79 	Y-80 
Y-81 	Y-82 	Y-83 	Y-84 
Y-85 	Y-86 	Y-87 	Y-88 
Y-89 	Y-90 	Y-91 	Y-92 
Y-93 	Y-94 	Y-95 	Y-96 

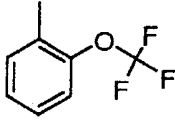
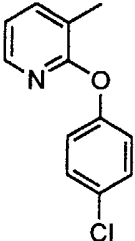
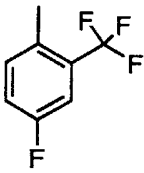
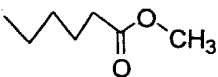
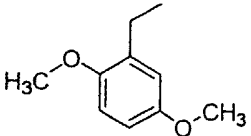
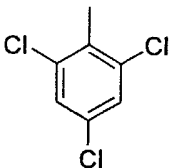
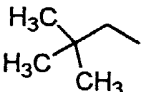
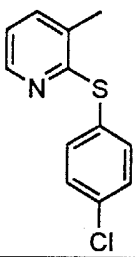
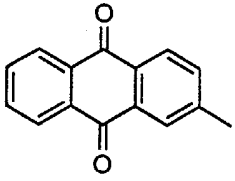
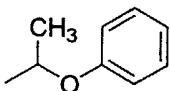
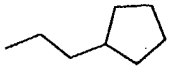
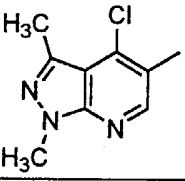
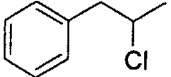
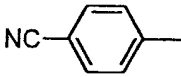
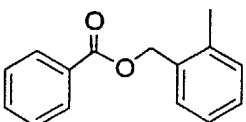
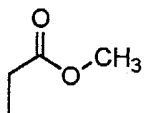
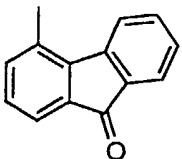
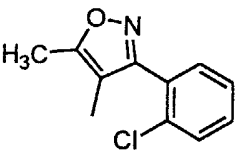
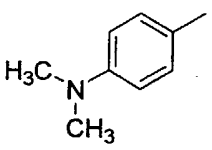
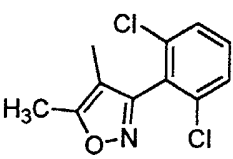
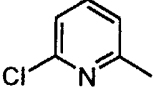
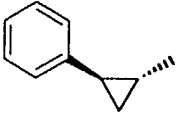
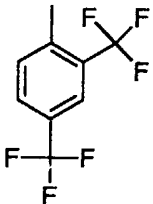
2 lentelė Y liekanos			
Y-97 	Y-98 	Y-99 	Y-100 
Y-101 	Y-102 	Y-103 	Y-104 

3 lentelė Z liekanos			
Z-1 	Z-2 	Z-3 	Z-4 
Z-5 	Z-6 	Z-7 -CH ₂ CH ₃	Z-8 
Z-9 	Z-10 	Z-11 -CH ₂ OCH ₃	Z-12 
Z-13 	Z-14 	Z-15 	Z-16 
Z-17 	Z-18 	Z-19 	Z-20 

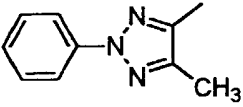
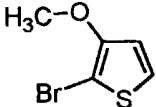
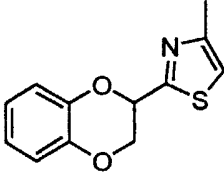
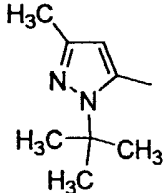
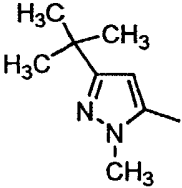
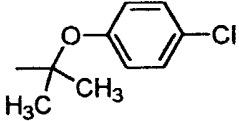
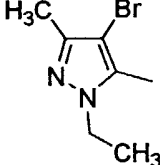
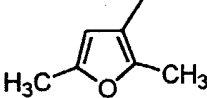
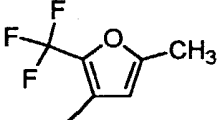
3 lentelė Z liekanos (tęsinys)			
Z-21 	Z-22 	Z-23 	Z-24 
Z-25 	Z-26 	Z-27 	Z-28 
Z-29 	Z-30 	Z-31 	Z-32 
Z-33 	Z-34 	Z-35 	Z-36 
Z-37 	Z-38 	Z-39 	Z-40 
Z-41 	Z-42 	Z-43 	Z-44 

3 lentelė
Z liekanos (tęsinys)

Z-45 	Z-46 	Z-47 	Z-48 
Z-49 	Z-50 	Z-51 	Z-52 
Z-53 	Z-54 	Z-55 	Z-56 
Z-57 	Z-58 	Z-59 	Z-60 
Z-61 	Z-62 	Z-63 	Z-64 
Z-65 	Z-66 	Z-67 	Z-68 

3 lentelė Z liekanos (tęsinys)			
Z-69 	Z-70 	Z-71 	Z-72 
Z-73 	Z-74 	Z-75 	Z-76 
Z-77 	Z-78 	Z-79 	Z-80 
Z-81 	Z-82 	Z-83 	Z-84 
Z-85 	Z-86 	Z-87 	Z-88 
Z-89 	Z-90 	Z-91 	Z-92 $-\text{CH}(\text{CH}_2\text{CH}_3)_2$

3 lentelė
Z liekanos (tęsinys)

Z-93 	Z-94 	Z-95 	Z-96 
Z-97 	Z-98 	Z-99 	Z-100 
Z-101 			

4 lentelė

**I formulės junginių GnRH receptoriaus konkurencinio surišimo testo
rezultatai**

X₁X₂	Y	Z	%
X ₁ X ₂ -7	Y-2	Z-1	66
X ₁ X ₂ -7	Y-3	Z-1	75
X ₁ X ₂ -7	Y-4	Z-1	79
X ₁ X ₂ -7	Y-5	Z-1	55
X ₁ X ₂ -7	Y-6	Z-1	73
X ₁ X ₂ -7	Y-7	Z-1	51
X ₁ X ₂ -7	Y-8	Z-1	65
X ₁ X ₂ -7	Y-9	Z-1	75
X ₁ X ₂ -7	Y-11	Z-1	80
X ₁ X ₂ -7	Y-2	Z-2	57
X ₁ X ₂ -7	Y-3	Z-2	60
X ₁ X ₂ -7	Y-4	Z-2	64
X ₁ X ₂ -7	Y-5	Z-2	40
X ₁ X ₂ -7	Y-7	Z-2	55
X ₁ X ₂ -7	Y-9	Z-2	60
X ₁ X ₂ -7	Y-10	Z-2	78

X₁X₂	Y	Z	%
X ₁ X ₂ -7	Y-4	Z-5	78
X ₁ X ₂ -7	Y-5	Z-5	51
X ₁ X ₂ -7	Y-6	Z-5	87
X ₁ X ₂ -7	Y-7	Z-5	14
X ₁ X ₂ -7	Y-8	Z-5	59
X ₁ X ₂ -7	Y-9	Z-5	91
X ₁ X ₂ -7	Y-10	Z-5	52
X ₁ X ₂ -7	Y-11	Z-5	91
X ₁ X ₂ -7	Y-2	Z-6	59
X ₁ X ₂ -7	Y-3	Z-6	65
X ₁ X ₂ -7	Y-4	Z-6	71
X ₁ X ₂ -7	Y-5	Z-6	42
X ₁ X ₂ -7	Y-6	Z-6	81
X ₁ X ₂ -7	Y-8	Z-6	47
X ₁ X ₂ -7	Y-11	Z-6	78
X ₁ X ₂ -7	Y-2	Z-7	71

4 lentelė

I formulės junginių GnRH receptoriaus konkurencinio surišimo testo
rezultatai (tęsinys)

X_1X_2	Y	Z	%
X_1X_2-7	Y-11	Z-2	69
X_1X_2-7	Y-2	Z-3	55
X_1X_2-7	Y-3	Z-3	53
X_1X_2-7	Y-4	Z-3	65
X_1X_2-7	Y-5	Z-3	41
X_1X_2-7	Y-6	Z-3	65
X_1X_2-7	Y-7	Z-3	57
X_1X_2-7	Y-9	Z-3	66
X_1X_2-7	Y-11	Z-3	74
X_1X_2-7	Y-2	Z-4	61
X_1X_2-7	Y-3	Z-4	75
X_1X_2-7	Y-4	Z-4	73
X_1X_2-7	Y-5	Z-4	47
X_1X_2-7	Y-6	Z-4	82
X_1X_2-7	Y-7	Z-4	74
X_1X_2-7	Y-8	Z-4	73
X_1X_2-7	Y-10	Z-4	88
X_1X_2-7	Y-11	Z-4	89
X_1X_2-7	Y-2	Z-5	56
X_1X_2-7	Y-3	Z-5	77
X_1X_2-5	Y-6	Z-1	71
X_1X_2-5	Y-7	Z-1	56
X_1X_2-5	Y-8	Z-1	52
X_1X_2-5	Y-9	Z-1	74
X_1X_2-5	Y-10	Z-1	70
X_1X_2-5	Y-11	Z-1	72
X_1X_2-5	Y-1	Z-2	73
X_1X_2-5	Y-2	Z-2	48
X_1X_2-5	Y-3	Z-2	63
X_1X_2-5	Y-4	Z-2	61
X_1X_2-5	Y-5	Z-2	41
X_1X_2-5	Y-6	Z-2	59
X_1X_2-5	Y-7	Z-2	46
X_1X_2-5	Y-8	Z-2	45
X_1X_2-5	Y-9	Z-2	69
X_1X_2-5	Y-10	Z-2	64
X_1X_2-5	Y-11	Z-2	74
X_1X_2-5	Y-1	Z-3	74
X_1X_2-5	Y-2	Z-3	53

X_1X_2	Y	Z	%
X_1X_2-7	Y-3	Z-7	84
X_1X_2-7	Y-6	Z-7	81
X_1X_2-7	Y-7	Z-7	58
X_1X_2-7	Y-8	Z-7	60
X_1X_2-7	Y-9	Z-7	91
X_1X_2-7	Y-10	Z-7	94
X_1X_2-7	Y-2	Z-8	58
X_1X_2-7	Y-4	Z-8	71
X_1X_2-7	Y-5	Z-8	51
X_1X_2-7	Y-6	Z-8	79
X_1X_2-7	Y-7	Z-8	50
X_1X_2-7	Y-8	Z-8	46
X_1X_2-7	Y-9	Z-8	85
X_1X_2-7	Y-10	Z-8	81
X_1X_2-7	Y-11	Z-8	80
X_1X_2-5	Y-1	Z-1	78
X_1X_2-5	Y-2	Z-1	53
X_1X_2-5	Y-3	Z-1	73
X_1X_2-5	Y-4	Z-1	67
X_1X_2-5	Y-5	Z-1	64
X_1X_2-5	Y-5	Z-5	66
X_1X_2-5	Y-6	Z-5	78
X_1X_2-5	Y-7	Z-5	29
X_1X_2-5	Y-8	Z-5	71
X_1X_2-5	Y-10	Z-5	74
X_1X_2-5	Y-2	Z-6	63
X_1X_2-5	Y-3	Z-6	72
X_1X_2-5	Y-4	Z-6	70
X_1X_2-5	Y-5	Z-6	66
X_1X_2-5	Y-6	Z-6	72
X_1X_2-5	Y-7	Z-6	44
X_1X_2-5	Y-8	Z-6	50
X_1X_2-5	Y-9	Z-6	78
X_1X_2-5	Y-11	Z-6	79
X_1X_2-5	Y-2	Z-7	80
X_1X_2-5	Y-3	Z-7	82
X_1X_2-5	Y-4	Z-7	70
X_1X_2-5	Y-5	Z-7	75
X_1X_2-5	Y-6	Z-7	78

4 lentelė

I formulės junginių GnRH receptoriaus konkurencinio surišimo testo
rezultatai (tęsinys)

X_1X_2	Y	Z	%
X_1X_2-5	Y-3	Z-3	59
X_1X_2-5	Y-4	Z-3	66
X_1X_2-5	Y-5	Z-3	35
X_1X_2-5	Y-6	Z-3	63
X_1X_2-5	Y-7	Z-3	53
X_1X_2-5	Y-8	Z-3	59
X_1X_2-5	Y-9	Z-3	65
X_1X_2-5	Y-11	Z-3	76
X_1X_2-5	Y-2	Z-4	56
X_1X_2-5	Y-3	Z-4	75
X_1X_2-5	Y-4	Z-4	74
X_1X_2-5	Y-5	Z-4	63
X_1X_2-5	Y-6	Z-4	74
X_1X_2-5	Y-7	Z-4	70
X_1X_2-5	Y-8	Z-4	68
X_1X_2-5	Y-2	Z-5	61
X_1X_2-5	Y-3	Z-5	67
X_1X_2-5	Y-4	Z-5	68
X_1X_2-9	Y-6	Z-1	71
X_1X_2-9	Y-7	Z-1	57
X_1X_2-9	Y-8	Z-1	64
X_1X_2-9	Y-9	Z-1	77
X_1X_2-9	Y-11	Z-1	82
X_1X_2-9	Y-2	Z-2	74
X_1X_2-9	Y-3	Z-2	71
X_1X_2-9	Y-4	Z-2	81
X_1X_2-9	Y-5	Z-2	59
X_1X_2-9	Y-6	Z-2	70
X_1X_2-9	Y-7	Z-2	65
X_1X_2-9	Y-8	Z-2	71
X_1X_2-9	Y-9	Z-2	67
X_1X_2-9	Y-10	Z-2	91
X_1X_2-9	Y-11	Z-2	77
X_1X_2-9	Y-2	Z-3	68
X_1X_2-9	Y-3	Z-3	56
X_1X_2-9	Y-4	Z-3	68
X_1X_2-9	Y-5	Z-3	46
X_1X_2-9	Y-6	Z-3	63
X_1X_2-9	Y-7	Z-3	60

X_1X_2	Y	Z	%
X_1X_2-5	Y-7	Z-7	59
X_1X_2-5	Y-8	Z-7	50
X_1X_2-5	Y-9	Z-7	84
X_1X_2-5	Y-10	Z-7	78
X_1X_2-5	Y-11	Z-7	80
X_1X_2-5	Y-2	Z-8	61
X_1X_2-5	y-3	Z-8	83
X_1X_2-5	Y-4	Z-8	74
X_1X_2-5	Y-5	Z-8	62
X_1X_2-5	Y-6	Z-8	88
X_1X_2-5	y-7	Z-8	52
X_1X_2-5	y-8	Z-8	64
X_1X_2-5	Y-9	Z-8	79
X_1X_2-5	Y-11	Z-8	85
X_1X_2-9	Y-2	Z-1	69
X_1X_2-9	Y-3	Z-1	91
X_1X_2-9	Y-4	Z-1	95
X_1X_2-9	Y-5	Z-1	59
X_1X_2-9	Y-6	Z-5	94
X_1X_2-9	Y-7	Z-5	12
X_1X_2-9	Y-8	Z-5	76
X_1X_2-9	Y-10	Z-5	82
X_1X_2-9	Y-11	Z-5	94
X_1X_2-9	Y-2	Z-6	76
X_1X_2-9	Y-3	Z-6	89
X_1X_2-9	Y-4	Z-6	83
X_1X_2-9	Y-5	Z-6	67
X_1X_2-9	Y-6	Z-6	81
X_1X_2-9	Y-7	Z-6	69
X_1X_2-9	Y-8	Z-6	74
X_1X_2-9	Y-9	Z-6	87
X_1X_2-9	Y-11	Z-6	93
X_1X_2-9	Y-1	Z-7	84
X_1X_2-9	Y-2	Z-7	84
X_1X_2-9	Y-3	Z-7	83
X_1X_2-9	Y-4	Z-7	88
X_1X_2-9	Y-5	Z-7	81
X_1X_2-9	Y-6	Z-7	86
X_1X_2-9	Y-7	Z-7	69

4 lentelė

I formulės junginių GnRH receptoriaus konkurencinio surišimo testo

rezultatai (tęsinys)

X_1X_2	Y	Z	%
X_1X_2-9	Y-8	Z-3	69
X_1X_2-9	Y-9	Z-3	75
X_1X_2-9	Y-11	Z-3	74
X_1X_2-9	Y-2	Z-4	67
X_1X_2-9	Y-3	Z-4	86
X_1X_2-9	Y-4	Z-4	85
X_1X_2-9	Y-6	Z-4	92
X_1X_2-9	Y-7	Z-4	81
X_1X_2-9	Y-8	Z-4	78
X_1X_2-9	Y-9	Z-4	98
X_1X_2-9	Y-10	Z-4	82
X_1X_2-9	Y-11	Z-4	98
X_1X_2-9	Y-2	Z-5	63
X_1X_2-9	Y-3	Z-5	83
X_1X_2-9	Y-4	Z-5	88
X_1X_2-9	Y-5	Z-5	75
X_1X_2-3	Y-6	Z-1	66
X_1X_2-3	Y-7	Z-1	57
X_1X_2-3	Y-8	Z-1	57
X_1X_2-3	Y-9	Z-1	72
X_1X_2-3	Y-11	Z-1	67
X_1X_2-3	Y-1	Z-2	73
X_1X_2-3	Y-2	Z-2	46
X_1X_2-3	Y-5	Z-2	39
X_1X_2-3	Y-6	Z-2	47
X_1X_2-3	Y-7	Z-2	46
X_1X_2-3	Y-9	Z-2	50
X_1X_2-3	Y-10	Z-2	61
X_1X_2-3	Y-11	Z-2	59
X_1X_2-3	Y-2	Z-3	54
X_1X_2-3	Y-3	Z-3	45
X_1X_2-3	Y-4	Z-3	51
X_1X_2-3	Y-5	Z-3	48
X_1X_2-3	Y-6	Z-3	48
X_1X_2-3	Y-7	Z-3	49
X_1X_2-3	Y-9	Z-3	50
X_1X_2-3	Y-11	Z-3	65
X_1X_2-3	Y-2	Z-4	47
X_1X_2-3	Y-3	Z-4	64
X_1X_2-3	Y-4	Z-4	76

X_1X_2	Y	Z	%
X_1X_2-9	Y-8	Z-7	67
X_1X_2-9	Y-9	Z-7	96
X_1X_2-9	Y-10	Z-7	88
X_1X_2-9	Y-11	Z-7	96
X_1X_2-9	Y-1	Z-8	94
X_1X_2-9	Y-2	Z-8	78
X_1X_2-9	Y-3	Z-8	89
X_1X_2-9	Y-4	Z-8	82
X_1X_2-9	Y-5	Z-8	69
X_1X_2-9	Y-6	Z-8	89
X_1X_2-9	Y-7	Z-8	66
X_1X_2-9	Y-9	Z-8	87
X_1X_2-9	Y-10	Z-8	90
X_1X_2-9	Y-11	Z-8	84
X_1X_2-3	Y-2	Z-1	60
X_1X_2-3	Y-5	Z-1	54
X_1X_2-3	Y-4	Z-5	77
X_1X_2-3	Y-5	Z-5	64
X_1X_2-3	Y-6	Z-5	81
X_1X_2-3	Y-7	Z-5	-2
X_1X_2-3	Y-10	Z-5	50
X_1X_2-3	Y-2	Z-6	58
X_1X_2-3	Y-3	Z-6	70
X_1X_2-3	Y-4	Z-6	68
X_1X_2-3	Y-5	Z-6	61
X_1X_2-3	Y-6	Z-6	70
X_1X_2-3	Y-7	Z-6	56
X_1X_2-3	Y-8	Z-6	49
X_1X_2-3	Y-9	Z-6	72
X_1X_2-3	Y-11	Z-6	76
X_1X_2-3	Y-2	Z-7	65
X_1X_2-3	Y-3	Z-7	81
X_1X_2-3	Y-4	Z-7	70
X_1X_2-3	Y-5	Z-7	77
X_1X_2-3	Y-6	Z-7	68
X_1X_2-3	Y-7	Z-7	47
X_1X_2-3	Y-8	Z-7	49
X_1X_2-3	Y-2	Z-8	63
X_1X_2-3	Y-3	Z-8	74
X_1X_2-3	Y-4	Z-8	64

4 lentelė

I formulės junginių GnRH receptoriaus konkurencinio surišimo testo
rezultatai (tęsinys)

X_1X_2	Y	Z	%	X_1X_2	Y	Z	%
X_1X_2-3	Y-5	Z-4	62	X_1X_2-3	Y-5	Z-8	53
X_1X_2-3	Y-6	Z-4	68	X_1X_2-3	Y-7	Z-8	57
X_1X_2-3	Y-7	Z-4	70	X_1X_2-3	Y-8	Z-8	46
X_1X_2-3	Y-2	Z-5	65	X_1X_2-3	Y-9	Z-8	70
X_1X_2-3	Y-3	Z-5	77	X_1X_2-3	Y-11	Z-8	80

4 lentelė

I formulės junginių GnRH receptoriaus konkurencinio surišimo testo
rezultatai (tęsinys)

X_1X_2	Y	Z	%	%	Vid.%
X_1X_2-11	Y-2	Z-1	88	82	85
X_1X_2-11	Y-3	Z-1	107	101	104
X_1X_2-11	Y-4	Z-1	88	88	88
X_1X_2-11	Y-5	Z-1	86	78	82
X_1X_2-11	Y-6	Z-1	97	90	93,5
X_1X_2-11	Y-7	Z-1	75	79	77
X_1X_2-11	Y-8	Z-1	84	69	76,5
X_1X_2-11	Y-9	Z-1	106	93	99,5
X_1X_2-11	Y-10	Z-1	94	81	87,5
X_1X_2-11	Y-11	Z-1	96	95	95,5
X_1X_2-11	Y-2	Z-2	80	76	78
X_1X_2-11	Y-3	Z-2	99	94	96,5
X_1X_2-11	Y-4	Z-2	93	83	88
X_1X_2-11	Y-5	Z-2	69	58	63,5
X_1X_2-11	Y-6	Z-2	88	80	84
X_1X_2-11	Y-7	Z-2	73	63	68
X_1X_2-11	Y-8	Z-2	74	69	71,5
X_1X_2-11	Y-9	Z-2	95	88	91,5
X_1X_2-11	Y-10	Z-2	92	78	85
X_1X_2-11	Y-11	Z-2	98	87	92,5
X_1X_2-11	Y-2	Z-3	79	77	78
X_1X_2-11	Y-3	Z-3	98	81	89,5
X_1X_2-11	Y-4	Z-3	93	85	89
X_1X_2-11	Y-5	Z-3	51	44	47,5
X_1X_2-11	Y-6	Z-3	81	81	81
X_1X_2-11	Y-7	Z-3	74	68	71
X_1X_2-11	Y-8	Z-3	70	64	67
X_1X_2-11	Y-9	Z-3	83	78	80,5

4 lentelė

I formulės junginių GnRH receptoriaus konkurencinio surišimo testo
rezultatai (tęsinys)

X_1X_2	Y	Z	%	%	Vid.%
X_1X_2-11	Y-10	Z-3	80	72	76
X_1X_2-11	Y-11	Z-3	90	81	85,5
X_1X_2-11	Y-2	Z-4	85	70	77,5
X_1X_2-11	Y-3	Z-4	103	98	100,5
X_1X_2-11	Y-4	Z-4	92	83	87,5
X_1X_2-11	Y-5	Z-4	90	79	84,5
X_1X_2-11	Y-6	Z-4	102	94	98
X_1X_2-11	Y-7	Z-4	73	61	67
X_1X_2-11	Y-8	Z-4	59	54	56,5
X_1X_2-11	Y-9	Z-4	107	97	102
X_1X_2-11	Y-10	Z-4	98	97	97,5
X_1X_2-11	Y-11	Z-4	105	100	102,5
X_1X_2-11	Y-2	Z-5	92	75	83,5
X_1X_2-11	Y-3	Z-5	102	98	100
X_1X_2-11	Y-4	Z-5	90	87	88,5
X_1X_2-11	Y-5	Z-5	101	82	91,5
X_1X_2-11	Y-6	Z-5	111	92	101,5
X_1X_2-11	Y-7	Z-5	80	74	77
X_1X_2-11	Y-8	Z-5	47	43	45
X_1X_2-11	Y-9	Z-5	101	90	95,5
X_1X_2-11	Y-10	Z-5	95	94	94,5
X_1X_2-11	Y-11	Z-5	108	94	101
X_1X_2-11	Y-2	Z-6	86	80	83
X_1X_2-11	Y-3	Z-6	114	97	105,5
X_1X_2-11	Y-4	Z-6	85	102	93,5
X_1X_2-11	Y-5	Z-6	88	82	85
X_1X_2-11	Y-6	Z-6	100	97	98,5
X_1X_2-11	Y-7	Z-6	74	72	73
X_1X_2-11	Y-8	Z-6	73	68	70,5
X_1X_2-11	Y-9	Z-6	103	95	99
X_1X_2-11	Y-10	Z-6	101	90	95,5
X_1X_2-11	Y-11	Z-6	103	95	99
X_1X_2-11	Y-2	Z-7	105	90	97,5
X_1X_2-11	Y-3	Z-7	107	104	105,5
X_1X_2-11	Y-4	Z-7	104	96	100
X_1X_2-11	Y-5	Z-7	108	94	101
X_1X_2-11	Y-6	Z-7	104	92	98
X_1X_2-11	Y-7	Z-7	87	75	81
X_1X_2-11	Y-8	Z-7	76	73	74,5
X_1X_2-11	Y-9	Z-7	108	100	104

4 lentelė

I formulės junginių GnRH receptoriaus konkurencinio surišimo testo
rezultatai (tęsinys)

X_1X_2	Y	Z	%	%	Vid.%
X_1X_2-11	Y-10	Z-7	106	97	101,5
X_1X_2-11	Y-11	Z-7	106	98	102
X_1X_2-11	Y-2	Z-8	90	84	87
X_1X_2-11	Y-3	Z-8	112	97	104,5
X_1X_2-11	Y-4	Z-8	96	89	92,5
X_1X_2-11	Y-5	Z-8	85	76	80,5
X_1X_2-11	Y-6	Z-8	98	101	99,5
X_1X_2-11	Y-7	Z-8	79	79	79
X_1X_2-11	Y-8	Z-8	78	71	74,5
X_1X_2-11	Y-9	Z-8	110	95	102,5
X_1X_2-11	Y-10	Z-8	97	96	96,5
X_1X_2-11	Y-11	Z-8	101	101	101
X_1X_2-1	Y-2	Z-9	76	79	77,5
X_1X_2-1	Y-12	Z-9	65	62	63,5
X_1X_2-1	Y-13	Z-9	91	95	93
X_1X_2-1	Y-5	Z-9	95	88	91,5
X_1X_2-1	Y-7	Z-9	50	48	49
X_1X_2-1	Y-14	Z-9	92	92	92
X_1X_2-1	Y-2	Z-5	54	65	59,5
X_1X_2-1	Y-3	Z-5	89	88	88,5
X_1X_2-1	Y-12	Z-5	70	66	68
X_1X_2-1	Y-13	Z-5	79	79	79
X_1X_2-1	Y-5	Z-5	73	66	69,5
X_1X_2-1	Y-7	Z-5	-4	-4	-4
X_1X_2-1	Y-14	Z-5	56	45	50,5
X_1X_2-1	Y-15	Z-5	64	66	65
X_1X_2-1	Y-16	Z-5	91	82	86,5
X_1X_2-1	Y-10	Z-5	57	47	52
X_1X_2-1	Y-2	Z-10	64	72	68
X_1X_2-1	Y-3	Z-10	97	98	97,5
X_1X_2-1	Y-12	Z-10	68	59	63,5
X_1X_2-1	Y-13	Z-10	82	77	79,5
X_1X_2-1	Y-5	Z-10	71	54	62,5
X_1X_2-1	Y-7	Z-10	28	25	26,5
X_1X_2-1	Y-14	Z-10	81	71	76
X_1X_2-1	Y-9	Z-10	85	79	82
X_1X_2-1	Y-16	Z-10	93	76	84,5
X_1X_2-1	Y-2	Z-11	71	81	76
X_1X_2-1	Y-3	Z-11	96	92	94

4 lentelė

I formulės junginių GnRH receptoriaus konkurencinio surišimo testo
rezultatai (tęsinys)

X_1X_2	Y	Z	%	%	Vid.%
X_1X_2-1	Y-12	Z-11	64	60	62
X_1X_2-1	Y-5	Z-11	79	82	80,5
X_1X_2-1	Y-7	Z-11	46	35	40,5
X_1X_2-1	Y-14	Z-11	73	79	76
X_1X_2-1	Y-15	Z-11	88	76	82
X_1X_2-1	Y-16	Z-11	93	84	88,5
X_1X_2-1	Y-2	Z-12	49	54	51,5
X_1X_2-1	Y-12	Z-12	66	57	61,5
X_1X_2-1	Y-13	Z-12	73	79	76
X_1X_2-1	Y-5	Z-12	59	58	58,5
X_1X_2-1	Y-14	Z-12	73	79	76
X_1X_2-1	Y-15	Z-12	66	69	67,5
X_1X_2-1	Y-2	Z-7	71	81	76
X_1X_2-1	Y-3	Z-7	101	98	99,5
X_1X_2-1	Y-12	Z-7	59	58	58,5
X_1X_2-1	Y-5	Z-7	86	82	84
X_1X_2-1	Y-7	Z-7	53	57	55
X_1X_2-1	Y-14	Z-7	85	85	85
X_1X_2-1	Y-15	Z-7	77	76	76,5
X_1X_2-1	Y-9	Z-7	96	86	91
X_1X_2-1	Y-16	Z-7	89	77	83
X_1X_2-1	Y-2	Z-8	67	67	67
X_1X_2-1	Y-3	Z-8	95	89	92
X_1X_2-1	Y-12	Z-8	60	60	60
X_1X_2-1	Y-13	Z-8	80	82	81
X_1X_2-1	Y-5	Z-8	66	62	64
X_1X_2-1	Y-7	Z-8	52	44	48
X_1X_2-1	Y-14	Z-8	82	73	77,5
X_1X_2-1	Y-15	Z-8	69	64	66,5
X_1X_2-1	Y-9	Z-8	80	87	83,5
X_1X_2-1	Y-16	Z-8	70	69	69,5
X_1X_2-1	Y-2	Z-13	59	57	58
X_1X_2-1	Y-3	Z-13	83	92	87,5
X_1X_2-1	Y-12	Z-13	48	56	52
X_1X_2-1	Y-13	Z-13	81	85	83
X_1X_2-1	Y-5	Z-13	76	63	69,5
X_1X_2-1	Y-7	Z-13	52	50	51
X_1X_2-1	Y-14	Z-13	81	72	76,5
X_1X_2-1	Y-15	Z-13	64	62	63

4 lentelė

I formulės junginių GnRH receptoriaus konkurencinio surišimo testo
rezultatai (tęsinys)

X_1X_2	Y	Z	%	%	Vid.%
X_1X_2-1	Y-9	Z-13	87	80	83,5
X_1X_2-1	Y-16	Z-13	77	63	70

4 lentelė

I formulės junginių GnRH receptoriaus konkurencinio surišimo testo
rezultatai (tęsinys)

X_1X_2	Y	Z	%
X_1X_2-1	Y-7	Z-16	82
X_1X_2-1	Y-7	Z-18	58
X_1X_2-1	Y-7	Z-19	66
X_1X_2-1	Y-7	Z-21	66
X_1X_2-1	Y-7	Z-29	75
X_1X_2-1	Y-7	Z-35	64
X_1X_2-1	Y-7	Z-38	60
X_1X_2-1	Y-7	Z-45	64
X_1X_2-1	Y-7	Z-46	55
X_1X_2-1	Y-7	Z-48	63
X_1X_2-1	Y-7	Z-49	62
X_1X_2-1	Y-7	Z-50	69
X_1X_2-1	Y-7	Z-51	71
X_1X_2-1	Y-7	Z-57	57
X_1X_2-1	Y-7	Z-59	62
X_1X_2-1	Y-7	Z-69	62
X_1X_2-1	Y-7	Z-72	53
X_1X_2-1	Y-7	Z-79	62
X_1X_2-1	Y-7	Z-82	53
X_1X_2-1	Y-7	Z-90	65
X_1X_2-1	Y-7	Z-96	56
X_1X_2-1	Y-7	Z-97	70
X_1X_2-1	Y-7	Z-100	68
X_1X_2-1	Y-7	Z-101	77
X_1X_2-1	Y-18	Z-5	91
X_1X_2-1	Y-19	Z-5	130
X_1X_2-1	Y-21	Z-5	94
X_1X_2-1	Y-22	Z-5	78

X_1X_2	Y	Z	%
X_1X_2-1	Y-57	Z-5	83
X_1X_2-1	Y-60	Z-5	83
X_1X_2-1	Y-62	Z-5	83
X_1X_2-1	Y-64	Z-5	79
X_1X_2-1	Y-68	Z-5	56
X_1X_2-1	Y-73	Z-5	95
X_1X_2-1	Y-74	Z-5	74
X_1X_2-1	Y-75	Z-5	86
X_1X_2-1	Y-76	Z-5	82
X_1X_2-1	Y-77	Z-5	83
X_1X_2-1	Y-79	Z-5	62
X_1X_2-1	Y-80	Z-5	100
X_1X_2-1	Y-81	Z-5	86
X_1X_2-1	Y-82	Z-5	95
X_1X_2-1	Y-83	Z-5	99
X_1X_2-1	Y-84	Z-5	63
X_1X_2-1	Y-89	Z-5	68
X_1X_2-1	Y-93	Z-5	67
X_1X_2-1	Y-98	Z-5	89

X ₁ X ₂ -1	Y-28	Z-5	76
X ₁ X ₂ -1	Y-36	Z-5	88
X ₁ X ₂ -1	Y-37	Z-5	83
X ₁ X ₂ -1	Y-40	Z-5	91
X ₁ X ₂ -1	Y-43	Z-5	61
X ₁ X ₂ -1	Y-45	Z-5	80
X ₁ X ₂ -1	Y-52	Z-5	87
X ₁ X ₂ -1	Y-53	Z-5	97
X ₁ X ₂ -1	Y-55	Z-5	95

5 lentelė

Junginių GnRH receptoriaus konkurencinio surišimo testo rezultatai
(kiekvienas junginys tirtas imant 10 µM)

Junginys	Liko % 1-as testas	Liko % 2-as testas	Liko % (vidurkis)
1	57	57	57
2	59	54	57
3	58	57	55
4	40	40	40
5	31	33	37
6	47	45	46
7	51	55	53
8	42	48	45
9	51	53	52
10	51	54	53
11	55	50	53
12	57	58	58
13	14	11	13
14	56	54	55
15	58	60	59
16	50	47	49
19	47	42	45
20	60	54	57
21	46	51	49
22	52	57	55
23	48	50	49
24	58	58	56
25	41	51	46
26	35	37	36

5 lentelė

Junginių GnRH receptoriaus konkurencinio surišimo testo rezultatai

(kiekvienas junginys tirtas imant 10 μ M) (tęsinys)

Junginys	Liko % 1-as testas	Liko % 2-as testas	Liko % (vidurkis)
27	56	62	59
28	46	57	52
29	53	61	57
30	29	37	33
31	44	45	45
32	52	61	57
33	52	65	59
34	45	57	51
35	50	54	52
36	56	59	58
37	59	61	60
38	59	55	57
39	46	45	46
40	12	11	12
41	46	43	45
42	54	62	58
43	47	53	50
44	58	62	60
46	45	52	49
47	39	44	42
48	48	40	44
49	53	62	58
50	47	62	55
51	48	63	56
52	57	59	58
53	46	55	51
54	49	59	54
55	-2	-1	-2
56	56	60	58
57	47	63	55
58	57	60	59
59	57	60	59
62	49	55	52
63	49	47	48
64	46	51	49
65	50	59	55
66	50	57	54
68	61	44	48

5 lentelė

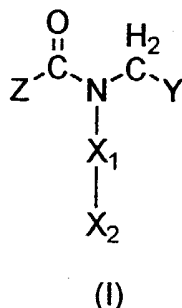
Junginių GnRH receptoriaus konkurencinio surišimo testo rezultatai
(kiekvienas junginys tirtas imant 10 μ M) (tęsinys)

Junginys	Liko % 1-as testas	Liko % 2-as testas	Liko % (vidurkis)
69	59	54	57
70	47	48	45
71	54	65	60
72	49	54	52
73	59	57	58
74	51	48	50
75	59	58	59
76	60	60	60
77	48	56	52
78	59	58	59
79	50	48	49
80	-4	-4	-4
81	28	25	27
82	46	35	41
83	53	57	55
84	52	44	48
85	52	50	51
86	56	45	51
87	57	47	52
88	58	56	57
94	61	52	57
96	44	60	52
98	58	58	58
100	52	58	55
102	66	54	60
105	56	56	56
117	59	54	57
118	62	58	60
119	57	57	57

Šis išradimas buvo pailiustruotas remiantis tinkamiausiais šio išradimo įgyvendinimo variantais ir pavyzdiniais aspektais. Specialistams bus aiškios įvairios jo modifikacijos ir adaptacijos pagal įprastą išradimo praktiką šios srities žinių ir pasiekimų šviesoje. Taigi, turėtų būti suprantama, kad šis išradimas nėra apribotas prieš tai duotu smulkiu aprašymu; jis yra apibrėžiamas toliau duodamais apibrėžties punktais ir jų ekvivalentais.

IŠRADIMO APIBRĖŽTIS

1. Junginys, kurio formulė I:



kurioje:

Z yra grupė, pasirinkta iš turinčio pakaitų ir neturinčio pakaitų alkilo, alkenilo, alkinilo, cikloalkilo, heterociklo, arilo, heteroarilo, CH_2OR ir C(O)OR , kuriose R yra turintis pakaitų arba neturintis pakaitų alkilas, alkenilas, alkinilas, cikloalkilas, arilas arba heteroarilas ir kur Z grupėje esančių anglies atomų skaičius yra nuo 1 iki 12;

Y yra lipofilinė grupė, pasirinkta iš turinčio pakaitų ir neturinčio pakaitų alkilo, alkenilo, alkinilo, cikloalkilo, arilo ir heteroarilo, kur Y grupėje esančių anglies atomų skaičius yra nuo 6 iki 20;

X_1 yra struktūrinis vienetas, jungiantis $\text{CH}_2\text{NC(O)}$, X_2 , Y ir Z 3-matėje erdvėje, kuris yra pasirinktas iš turinčio pakaitų ir neturinčio pakaitų alkilo, alkenilo, alkinilo, cikloalkilo, arilo ir heteroarilo taip, kad atomų skaičius vieneto, jungiančio centrinį azotą su X_2 , grandinės dalyje yra nuo 3 iki 8, ir

X_2 yra bazinė grupė, turinti pK_a didesnę nei maždaug 8;

ir jo farmaciškai priimtina druska, multimeras, provaistas arba aktyvusis metabolitas.

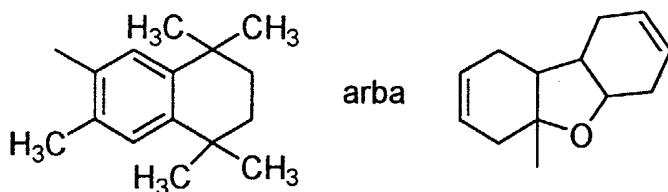
2. Junginys, druska, multimeras, provaistas arba aktyvusis metabolitas pagal 1 punktą, b e s i s k i r i a n t i s tuo, kad Z yra turintis pakaitų arba neturintis pakaitų furilas, pirolilas, naftilas, tienilas, piridilas, $\text{C}_3\text{-C}_8$ -cikloalkilas, $\text{C}_1\text{-C}_8$ -alkilas, CH_2CF_3 arba CF_3 .

3. Junginys, druska, multimeras, provaistas arba aktyvusis metabolitas pagal 1 punktą, b e s i s k i r i a n t i s tuo, kad Z yra furilas, pirolilas, tienilas arba CF_3 .

4. Junginys, druska, multimeras, provaistas arba aktyvusis metabolitas pagal 1 punktą, b e s i s k i r i a n t i s tuo, kad Y yra turintis pakaitų arba neturintis pakaitų fenilas, naftilas, sotus arba dalinai sotus naftilo darinys, dibenzilfurilas, sotus arba dalinai sotus dibenzilfurilo darinys, chinolinilas, izochinolinilas, chinoksalinilas, sotus arba dalinai sotus cikloalkilas arba kondensuotas policiklinis alkilas.

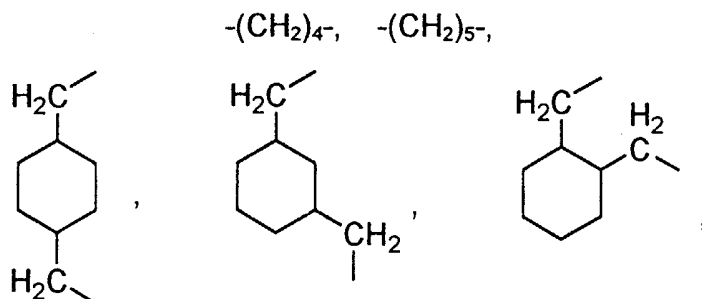
5. Junginys, druska, multimeras, provaistas arba aktyvusis metabolitas pagal 1 punktą, b e s i s k i r i a n t i s tuo, kad Y yra 4-izopropilfenilas, 4-N,N-dimetilaminopropiloksifenilas, 2,4,5-trietoksifenilas, 2,3-dibenziloksifenilas, 2-(4'-chlorfeniloksi)fenilas arba dalinai arba pilnai sotus šis darinys, arba 1,2,3,4-tetrahydro-1,1,4,4,6-pentametilnaftalen-7-ilas.

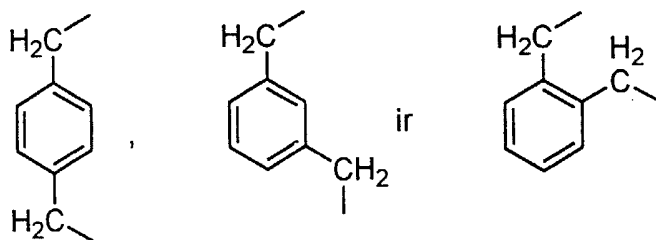
6. Junginys, druska, multimeras, provaistas arba aktyvusis metabolitas pagal 1 punktą, b e s i s k i r i a n t i s tuo, kad Y yra



7. Junginys, druska, multimeras, provaistas arba aktyvusis metabolitas pagal 1 punktą, b e s i s k i r i a n t i s tuo, kad X_1 yra alkilenas, alkilen-(C_{5-6} -cikloalkil)-alkilenas arba alkilen-(C_{5-6} -aril)-alkilenas.

8. Junginys, druska, multimeras, provaistas arba aktyvusis metabolitas pagal 7 punktą, b e s i s k i r i a n t i s tuo, kad X_1 yra pasirinktas iš grupės, susidedančios iš:



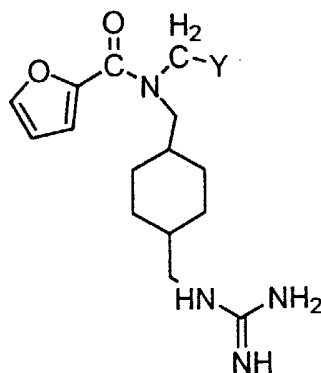


9. Junginys, druska, multimeras, provaistas arba aktyvusis metabolitas pagal 1 punktą, b e s i s k i r i a n t i s tuo, kad X_2 grupė turi pK_a didesnę nei maždaug 9.

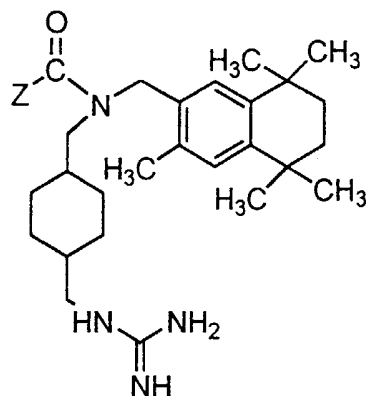
10. Junginys, druska, multimeras, provaistas arba aktyvusis metabolitas pagal 1 punktą, b e s i s k i r i a n t i s tuo, kad X_2 yra guanidinilas, amidinilas arba aminogrupė, kaip pakaitą turinti vieną arba daugiau žemesniųjų alkilų.

11. Junginys, druska, multimeras, provaistas arba aktyvusis metabolitas pagal 10 punktą, b e s i s k i r i a n t i s tuo, kad X_2 yra guanidinilas.

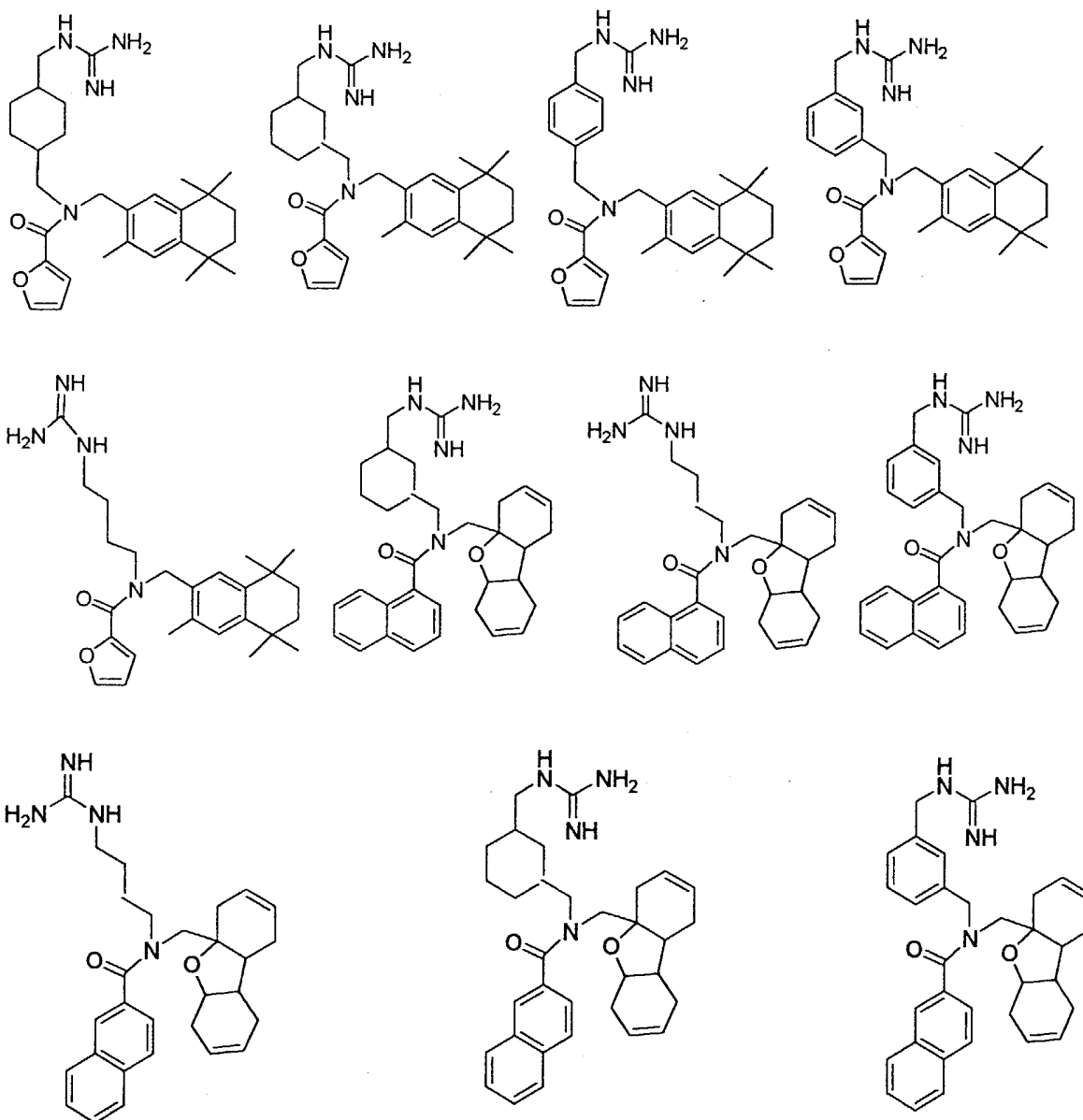
12. Junginys, druska, multimeras, provaistas arba aktyvusis metabolitas pagal 1 punktą, b e s i s k i r i a n t i s tuo, kad šis junginys turi tokią formulę:



13. Junginys, druska, multimeras, provaistas arba aktyvusis metabolitas pagal 1 punktą, b e s i s k i r i a n t i s tuo, kad šis junginys turi tokią formulę:



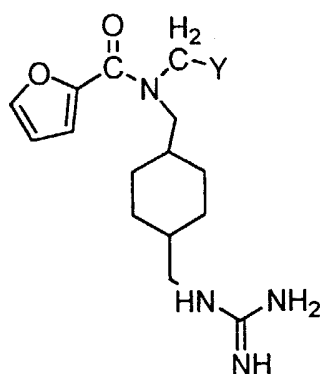
14. Junginys pagal 1 punktą, b e s i s k i r i a n t i s tuo, kad jis yra pasirinktas iš grupės, susidedančios iš:



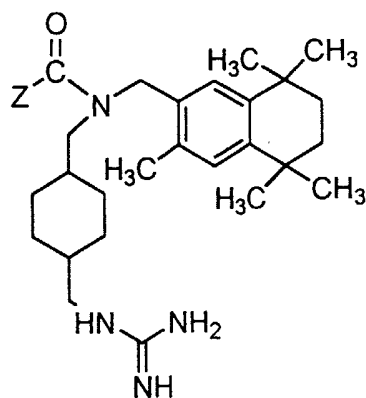
arba jo farmaciškai priimtina druska, multimeras, provaistas arba aktyvusis melabolitas.

15. Farmacinė kompozicija, b e s i s k i r i a n t i tuo, kad ji susideda iš terapiškai efektyvaus kiekio GnRH agento, pasirinkto iš grupės, susidedančios iš I formulės junginių ir jų farmaciškai priimtinių druskų, multimerų, provaistų ir aktyviųjų metabolitų pagal 1 punktą, ir farmaciškai priimtino nešiklio arba skiediklio.

16. Farmacinė kompozicija pagal 15 punktą, b e s i s k i r i a n t i tuo, kad I formulės junginys yra pasirinktas iš junginių, kurių formulė:

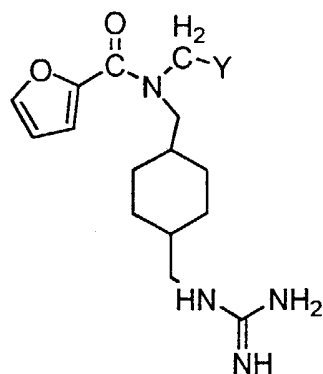


17. Farmacinė kompozicija pagal 15 punktą, b e s i s k i r i a n t i tuo, kad I formulės junginys yra pasirinktas iš junginių, kurių formulė:

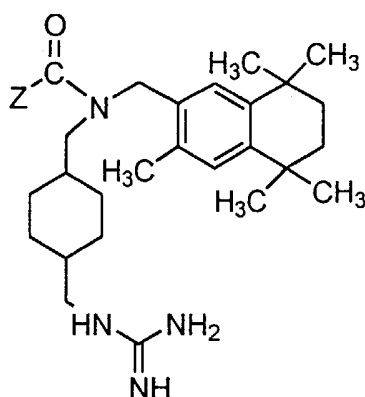


18. GnRH agento, pasirinkto iš grupės, susidedančios iš I formulės junginių ir jų farmaciškai priimtinių druskų, multimerų, provaistų bei aktyviųjų metabolitų pagal 1 punktą, terapiškai efektyvaus kiekio panaudojimas vaisto, skirto žinduolių gonadotropinų sekrecijai reguliuoti, gamyboje.

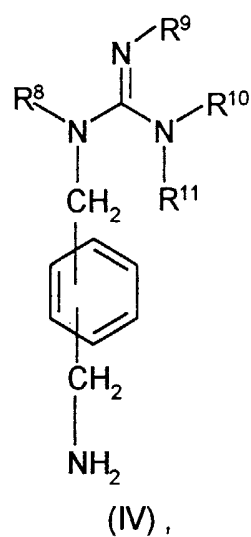
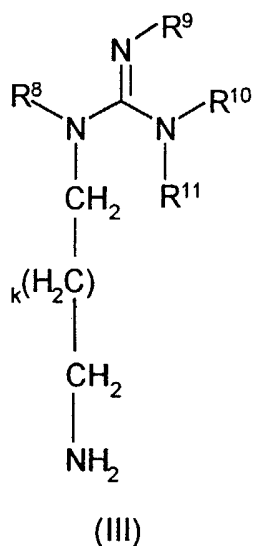
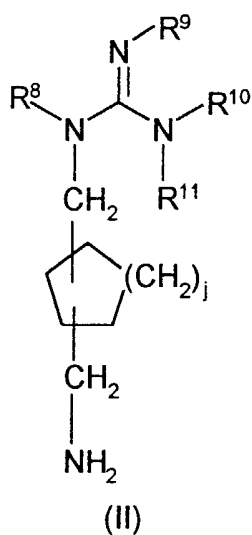
19. Panaudojimas pagal 18 punktą, b e s i s k i r i a n t i s tuo, kad I formulės junginys yra pasirinktas iš junginių, kurių formulė:



20. Panaudojimas pagal 18 punktą, b e s i s k i r i a n t i s tuo, kad I formulės junginys yra pasirinktas iš junginių, kurių formulė:



21. Junginys, kurio formulė yra viena iš toliau parodytų II, III ir IV formulių:



kuriose:

j yra 1 arba 2;

k yra 1, 2, 3, 4 arba 5;

R^8 yra H arba turintis pakaitų arba neturintis pakaitų žemesnysis alkilas;

R^9 yra H arba turintis pakaitų arba neturintis pakaitų žemesnysis alkilas, CN, NO₂ arba CO₂R¹;

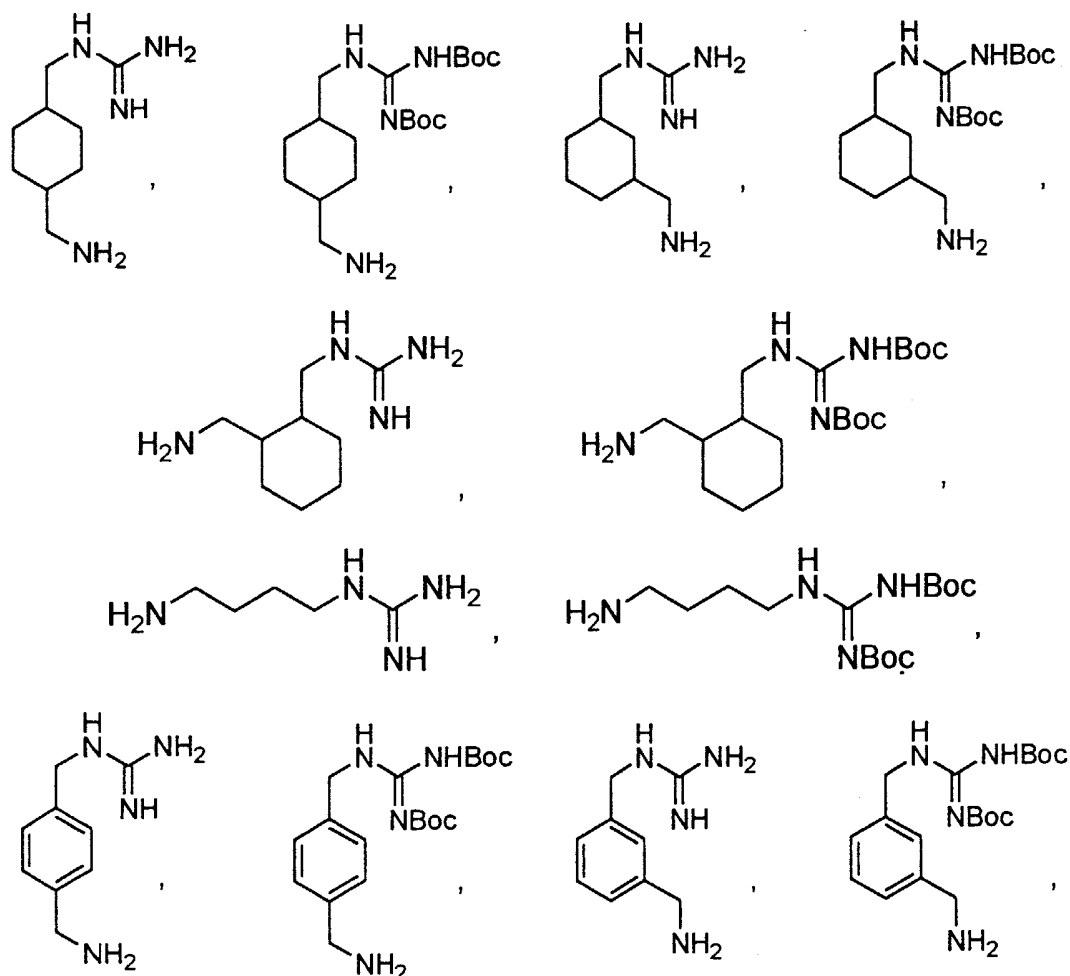
R^{10} yra H arba turintis pakaitų arba neturintis pakaitų žemesnysis alkilas, CH₂OR¹, (CH₂)_pOR¹, CO₂R¹ arba (CH₂)_pC(O)R², kur p yra sveikas skaičius nuo 1 iki 6, o R² yra H, OR¹, SR¹, N(R¹)₂ arba C(R¹)₃;

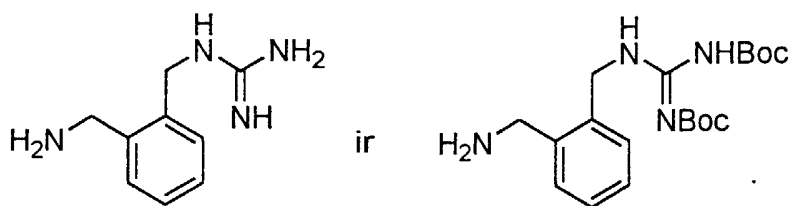
R^{11} yra H arba turintis pakaitų arba neturintis pakaitų žemesnysis alkilas, CH₂O-fenilas, CH₂O-benzilas, fenilas arba benzilas;

arba bet kurie du radikalai iš R^8 , R^9 , R^{10} ir R^{11} paimti kartu sudaro 5- arba 6-narį heterociklą;

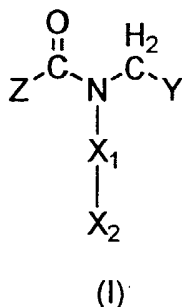
ir kur kiekvienas R¹ yra nepriklausomai parinktas iš turinčio pakaitų arba neturinčio pakaitų žemesniojo alkilo, O-žemesniojo alkilo ir S-žemesniojo alkilo.

22. Junginys pagal 21 punktą, pasirinktas iš grupės, susidedančios iš:





23. Junginio, kurio formulė I:



kurioje:

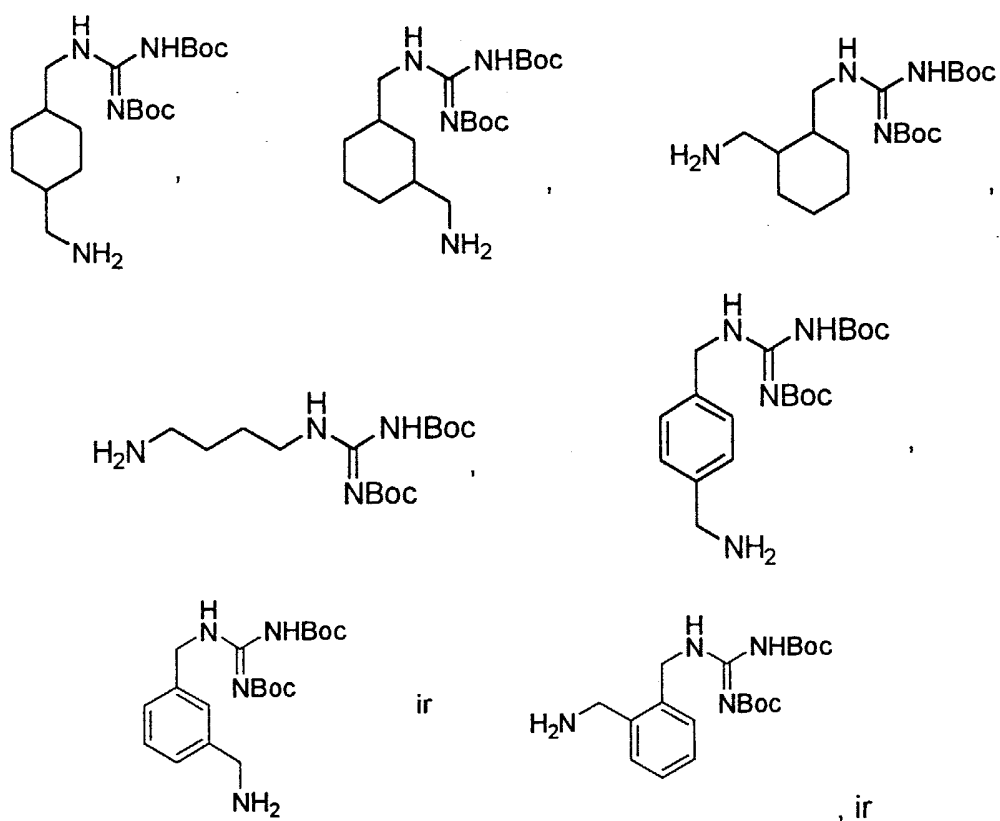
Z yra grupė, pasirinkta iš turinčio pakaitų ir neturinčio pakaitų alkilo, alkenilo, alkinilo, cikloalkilo, heterociklo, arilo, heteroarilo, CH_2OR ir C(O)OR , kuriose R yra turintis pakaitų arba neturintis pakaitų alkilas, alkenilas, alkinilas, cikloalkilas, arilas arba heteroarilas ir kur Z grupėje esančių anglies atomų skaičius yra nuo 1 iki 12;

Y yra lipofilinė grupė, pasirinkta iš turinčio pakaitų ir neturinčio pakaitų alkilo, alkenilo, alkinilo, cikloalkilo, arilo ir heteroarilo, kur Y grupėje esančių anglies atomų skaičius yra nuo 6 iki 20;

X_1 yra struktūrinis vienetas, jungiantis $\text{CH}_2\text{NC(O)}$, X_2 , Y ir Z 3-matėje erdvėje, kuris yra pasirinktas iš turinčio pakaitų ir neturinčio pakaitų alkilo, alkenilo, alkinilo, cikloalkilo, arilo ir heteroarilo taip, kad atomų skaičius vieneto, jungiančio centrinį azotą su X_2 , grandinės dalyje yra nuo 3 iki 8, ir

X_2 yra bazinė grupė, turinti pK_a didesnę nei maždaug 8, gavimo būdas, b e s i s k i r i a n t i s tuo, kad jis apima tokias stadijas:

(i) aldehido, kurio formulė Y-CHO , kurioje Y yra toks kaip apibūdinta aukščiau, redukcinį amininimą junginiu, pasirinktu iš:



(ii) (i) stadijoje gauto produkto acilinimą, veikiant acilhalogenidu, kurio formulė $Z\text{-COCl}$, kurioje Z yra toks kaip apibūdinta aukščiau.

24. Būdas pagal 23 punktą, b e s i s k i r i a n t i s tuo, kad jis apima dar ir (ii) stadijos produkto hidrolizės rūgštinėse sąlygose stadiją.

Fig.1

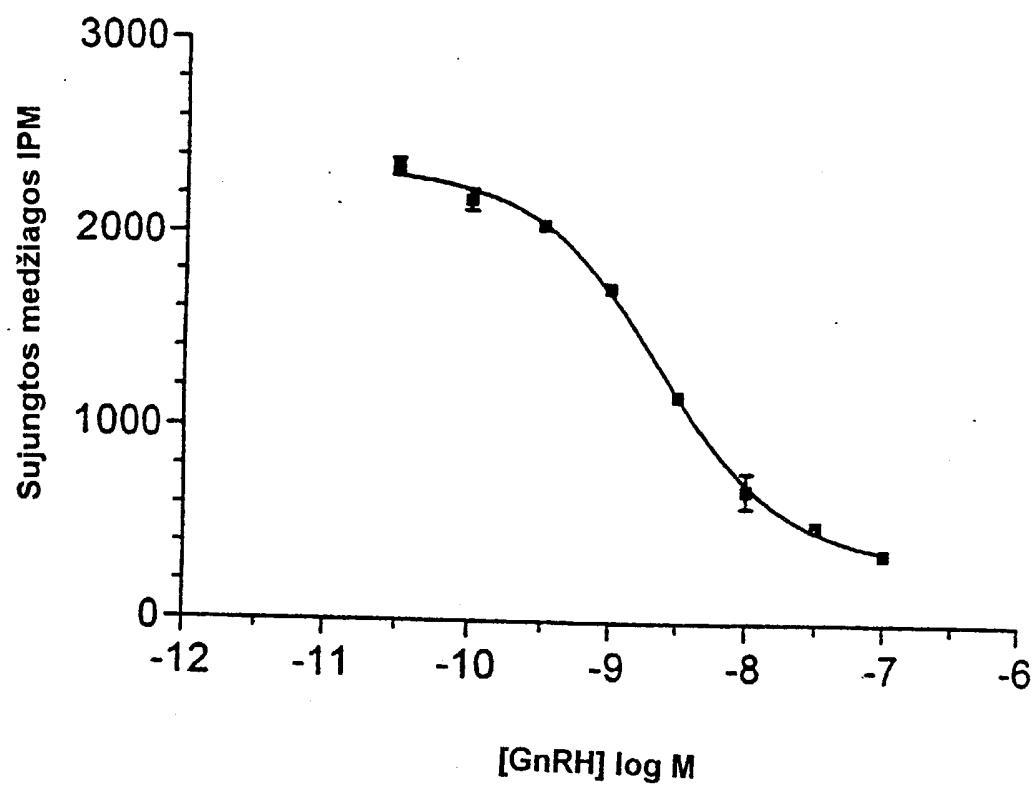


Fig.2

