СОЮЗ СОВЕТСКИХ СОЦИАЛИСТИЧЕСКИХ РЕСПУБЛИК

(19) SU (11) 1477248 A3

(51) 4 C 07 K 7/10//A 61 K 37/02

ГОСУДАРСТВЕННЫЙ КОМИТЕТ ПО ИЗОБРЕТЕНИЯМ И ОТКРЫТИЯМ ПРИ ГКНТ СССР

ОПИСАНИЕ ИЗОБРЕТЕНИЯ

К ПАТЕНТУ

(21) 3692330/23-04
(22) 12.01.84
(31) 488748
(32) 26.04.83
(33) US
(46) 30.04.89. Бюл. № 16
(71) Дзе Салк Институт фор Биолоджикал стадиз (US)
(72) Жан Эдуард Фредерик Ривьер (CH), Вили Васкер Вэйл - младший (US) и Иоахим Шписс (DE)
(53) 547.964.4.07(088.8)
(56) Шредер Э., Любке К., Пептиды. Ч. 1, М.: Мир, 1967, с. 116, 398.

(54) СПОСОБ ПОЛУЧЕНИЯ ПЕПТИДОВ

(57) Изобретение касается пептидов, в частности соединений общей ф-лы H-R_1-Ala-Asp-Ala-Ile-Phe-Thr-R_8-Ser-R_{10}-Arg-R_{12}-R_{13}-Leu-R_{15}-Gln-Leu-R_{18}-Ala-Arg-Lys-Leu-Leu-R_{24}-R_{25}Ile-R_{27}-WY, где W = а) - Asn-Arg, б) - Asn-Arg-Gln-Gln-Glu-,в) -Asn-Arg-Gln-Gln-Gly-Glu-Arg-Asn-Gln-Glu-Gln-Arg-Ser-Arg-Phe-Asn-Val, г) Asn-Arg-Gln-Glu-Gly-Glu-Arg-Asn-Gln-Glu-Gln-Arg-Ser-Arg-Phe-Asn-, Y = OH, NH_2, R_1 = Tyr, D-Tyr, His; R_8 = Ser, R_{10}= Tyr;D-Tyr, R_{12}= = Arg; R_{13} = Ile; R_{15} = Gly; R_{18} = Tyr; R_{24}= His, R_{25}= Glu; R_{27}= Nle, Ile, D-Met, Met, Val, которые обладают способностью вызывать секрецию природного гормона роста, что может быть использовано в медицине. Цель - создание новых малотоксичных и активных пептидов. Их синтез ведут связыванием С-конечной аминокислоты с полимером-носителем МБГА или хлорметилированной смолой с последующим отщеплением аминозащитной группы и постепенным наращиванием пептидной цепи в соответствии с последовательностью, указанной в ф-ле, до образования пептидил-полимера общей формулы $X_1R_1(X_2)$-Ala-Asp(X_3)-Ile-Phe-Thr(X_4)-R_8(X_4)-Ser(X_4)-R_{10}(X_2)-Arg(X_5)-R_{12}(X_6)-R_{13}-Leu-R_{15}-Gln(X_5)-Leu-R_{18}(X_2)-Ala-Arg(X_6)-Lys(X_7)-Leu-Leu-R_{24}(X_5)-R_{25}(X_3)-Ile-R_{27}-W(X_8), где X_1 - Boc; X_2 - дихлорбензил; X_3 - OBz_1; X_4 - Bz_1; X_5 - ксантил; X_6 - тозил; X_7 - 2-хлорбензилоксикарбонил; X_8 - смоланоситель; W = а) -Asn-Arg(X_6), б) - Asn-Arg(X_6)-Gln(X_5)-Gln(X_5)-Gly- , в) - Asn-Arg(X_6)-Gln(X_5)-Gln(X_5)-Gly-Glu(X_3)-Arg(X_6)-Asn-Gln(X_5)-Glu(X_3)-Gln(X_5)-Arg(X_6)-Ser(X_4)-Arg(X_6)-Phe-Asn-Val- , г) - Asn-Arg(X_6)-Gln(X_5)-Gln(X_5)-Gly-Glu(X_3)-Arg(X_6)-Asn-Gln(X_5)-Glu(X_3)-Gln(X_5)-Arg(X_6)-Ser(X_4)-Arg(X_6)-Phe-Asn-. Далее полученный пептидил-полимер деблокируют и отщепляют полимер-носитель. Новые вещества оказывают влияние на секрецию гипофизных желез, что можно использовать в сельском хозяйстве и для диагностических целей. 2 табл.

(19) SU (11) 1477248 A3

Изобретение относится к способу получения пептидов - новых биологически активных соединений, которые могут найти применение в медицине и ветеринарии.

Цель изобретения - получение химическим путем новых пептидов, способствующих выделению гормона роста гипофизом, - более активных и малотоксичных соединений.

Пример 1. Синтез rh GRF (1-43) имеющего формулу H-His-Ala-Asp-Ala--Ile-Phe-Thr-Ser-Ser-Tyr-Arg-Arg--Ile-Leu-Gly-Glu-Leu-Tyr-Ala-Arg--Lys-Leu-Leu-His-Glu-Ile-D-Met-Asn--Arg-Glu-Gln-Gly-Glu-Arg-Asn-Gln-Glu--Glu-Gln-Arg-Ser-Arg-Phe-Asn-OH, проводят ступенчато с применением пептидо-синтезатора модели "Бекман-990" на хлорметилированной смоле, имеющей интервал замещения 0,1-0,5 ммоль/г смолы. Связывание BOC-Asn (Xan) со смолой осуществляют по общей методике, используя KF в ДМФА при 60°С в течение 24 ч при перемешивании. Это ведет к замещению 0,35 ммоль Asn на 1 г смолы.

После деблокировки и нейтрализации пептидную цепь ступенчато наращивают на смоле. Деблокирование, нейтрализацию и добавление каждой аминокислоты осуществляют в общем соответствии с методикой. Все используемые растворители тщательно дегазируют пробулькиванием инертного газа, например гелия или азота, чтобы обеспечить отсутствие кислорода, который мог бы нежелательным образом окислить серу остатка Met.

Деблокирование предпочтительно проводят в соответствии в соответствии со схемой А:

Реагент	Время смешивания, мин
1.60% TFA/2% тандитиол	10
2.60% TFA/2% этандитиол	15
3.IPA/1% этандитиол	0,5
4.Et_3N(10%) в CH_2Cl_2	0,5
5.MeOH	0,5
6.Et_3N(10%) в CH_2Cl_2	0,5
7.MeOH (дважды)	0,5
8.CH_2Cl_2 (дважды)	0,5

Связывание предпочтительно проводят по схеме В:

Реагент	Время смешивания, мин
9.DCCl	-
10.Boc-аминокислоты	50-90
11.MeOH (дважды)	0,5
12.CH_2Cl_2 (дважды)	0,5
13.AC_2O (3H) в CH_2Cl_2	15,0
14.CH_2Cl_2	0,5
15.MeOH	0,5
16.CH_2Cl_2 (дважды)	0,5

1-2 ммоль BOC-защищенной аминокислоты в метиленхлориде используют на 1 г смолы плюс один эквивалент 1,0-молярного DCCl в метиленхлориде в течение 2 ч. При связывании BOC--Arg(TOS) используют смесь 50% ДМФА в метиленхлориде. Bzl-эфир используют в качестве защитной группы для гидроксильной боковой цепочки в случае Ser и Thr. Амидогруппу остатка Asn или Gln защищают с помощью Xan при использовании ДСС-связывания в предпочтительном варианте, п-Нитрофениловый эфир (ONp) также может использоваться для активации карбоксильного конца остатка Asn или Gln, например, BOC-Asn(ONp) может подвергаться связыванию в течение ночи с использованием одного эквивалента HOBt в 50% смеси ДМФА и метиленхлорида, в этом случае DCC не добавляют. 2-Хлорбензилоксикарбонил (2Cl-z) используют в качестве защитной группы для боковой цепочки Lys, Tos, а также для защиты гуанидиновой группы остатка Arg, а имидозольный азот остатка His, Glu или Asp-карбоксильную группу защищают в виде Bzl-эфира (OBzl). Фенильную гидроксильную группу остатка Tyr защищают 2,6-дихлорбензолом DCB. В конце синтеза получают следующий состав: X_4-His(X)--Ala-Asp(X_3)-Ala-Ile-Phe-Thr-(X_4)--Ser(X_4)-Ser(X_4)-Tyr(X_2)-Arg(X_6)--Arg(X_3)-Ile-Lue-Gly-Gln-(X_5)-Leu--Tyr-(X_2)-Ala-Arg-(X_6)-Lys(X_7)-Leu--Leu-His(X)-Glu-(X_3)-*Asn(X_5)-Gln(X_5)--Glu(X_3)-Gln(X_5)-Arg(X_6)-Ser(X_4)--Arg(X_6)-Phe-Asn(X_5)-X_9,

где X - TOS;
X_1 - BOC;
X_2 - DCB;
X_3 - OBzl;
X_4 - Bzl;
X_5 - Xan;
X_6 - TOS;
X_7 -2Clz,

X_9 - подложка на основе -O-CH_2- смолы.

Xan может быть частично или полностью удален обработкой с помощью TFA, используемой для деблокирования α-аминозащитной группы.

После связывания со смолой конечного остатка His BOC удаляют с помощью 60% TFA в CH_2Cl_2. Для отщепления и удаления защиты с оставшегося защищенного пептида-смолы, его обрабатывают 1,5 мл анизола, 0,5 мл метилэтилсульфида и 15 мл фтористого водорода (HF) на 1 г пептида-смолы при -20°C в течение получаса и при 0°C в течение получаса. После удаления HF в условиях вакуума оставшийся пептид-смолу промывают по очереди сухим диэтиловым эфиром и хлороформом, а затем пептид экстрагируют дегазированной 2н. водной уксусной кислотой и отделяют от смолы фильтрованием.

*Ile-Met-Asn(X_5)-Arg(X_6)-Glu(X_5)-Gln(X_5)-Gly-Glu(X_3)-Arg(X_6)-

Расщепленный и лишенный защиты пептид растворяют в 0-5%-ной уксусной кислоте и подвергают очистке, которая может включать тонкую гельфильтрацию на Сефадексе G-50.

Затем пептид очищают препаративной или полупрепаративный высокопроизводительной жидкостной хроматографией. Гильзы для LC-500 фирмы Waters Associates заполняют C_{18} кремнеземом 15-20 мкм, поставляемым фирмой Vydas (300A). Градиент ацетонитрила (CH_3CN) в TEAP создают с помощью аппарата для получения градиента низкого давления фирмы Eldex. Хроматографические фракции тщательно контролируют с помощью высокоэффективной жидкостной хроматографии и объединяют только фракции, проявляющие достаточную чистоту. Обессоливание очищенных фракций, независимо проверенных на чистоту, осуществляют, используя градиент CH_3CN в 0,1%-ной трифторуксусной кислоте. Затем диофилизируют центральный срез, чтобы получить нужный пептид, чистота которого составляет выше 98%.

С помощью тонкослойной хроматографии и высокоэффективной жидкостной хроматографии определяют, что пептид свободной кислоты является по существу чистым. Для всех очисток с помощью высокоэффективной жидкостной хроматографии используют 5-микронную аналитическую колонку Vydac C_{18}. Пептид удаляют из колонки, используя смесь буфера A (0,1%-ная водная трифторуксусная кислота) и буфера B (60% ацетонитрил в 0,1%-ной водной трифторуксусной кислоте). При 51 об.% буфера B пептид элюируется при 8,9 мл. Оптическое вращение измеряют на фотоэлектрическом поляриметре. Оно составляет $[\alpha]_D^{22} = -52,4° +1$ (C = 1, 1%-ная уксусная кислота, не скорректировано).

Синтез повторяют, используя смолу MBHA, чтобы получить rh GRF (1-43)-NH_2, применяя методику, обычно используемую в данной области для связывания Asn к смоле MBHA. Определяют, что пептид является по существу чистым с помощью тонкослойной хроматографии и высокоэффективность жидкостной хроматографии. Оптическое вращение измеряют на фотоэлектрическом поляриметре. Оно составляет $[\alpha]_D^{22} = -52,2° +1$ (C= 1, 1%-ная уксусная кислота, не скорректировано).

Пример 2. Синтез [Nle^{27}]rh GRF (1-32)-NH_2, имеющего формулу H-His-Ala-Asp-Ala-Ile-Phe-Thr-Ser-Ser-Tyr-Arg-Arg-Ile-Leu-Gly-Gln-Leu-Tyr-Ala-Arg-Lys-Leu-Leu-His-Glu-Ile-Nle-Asn-Arg-Gln-Gln-Gly-NH_2, проводят ступенчатым образом, используя пептидный синтезатор "Бекман-990" на смоле MBHA (как в примере 1). Определяют, что этот аналог является по существу чистым с помощью тонкослойной хроматографии и высокоэффективной жидкостной хроматографии при элюировании из колонки высокоэффективного жидкостного хроматографа при 8,4 мл с 55%-ным буфером B. Оптическое вращение составляет -55,8°+1 (C = 1, 1%-ная уксусная кислота).

Пример 3. Синтез [D-$Tyr^{1,10}$]-rh GRF (1-29)-NH_2, имеющего формулу

H-D-Tyr-Ala-Asn-Ala-Ile-Phe-Thr-Ser-Ser-D-Tyr-Arg-Arg-Ile-Leu-Gly-Gln-Leu-Tyr-Ala-Arg-Lys-Leu-Leu-His-Glu-Ile-Met-Asn-Arg-NH_2,

проводят ступенчатым образом, используя пептидный синтезатор "Бекман-990" на смоле MBHA (как в примере 1). Определяют, что с помощью тонкослой-

ной хроматографии и высокопроизводительной жидкостной хроматографии при элюировании из колонки высокоэффективного жидкостного хроматографа при 9,0 мл с 61%-ным буфером В показывают, что пептид практически чистый. Оптическое вращение составляет $-63,6^{\circ}+1$ (С = 1, 1%-ная уксусная кислота).

Пример 4. Синтез [Tyr^{1}] -rh GRF (1-29)-NH_2, имеющего формулу H-Tyr-Ala--Asp-Ala-Ile-Phe-The-Ser-Ser-Tyr-Arg--Arg-Ile-Leu-Gly-Gly-Leu-Tyr-Ala-Arg--Lys-Leu-Leu-Gln-Glu-Ile-Met-Asn-Arg--NH_2, проводят ступенчатым образом, используя пептидный синтезатор "Бекман-990" (как в примере 1). Определяют, что пептид является по существу чистым с помощью тонкослойной хроматографии и высокопроизводительной жидкостной хроматографии при элюировании из колонки высокопроизводительного жидкостного хроматографа при 7,8 мл с 58%-ным буфером В. Оптическое вращение составляет $-49,6^{\circ}+1$ (С = 1, 1%-ная уксусная кислота).

Пример 5. Синтез rh (1-43)-OH формулы H-His-Ala-Asp-Ala-Ile-Phe--Thr-Ser-Ser-Tyr-Arg - Arg-Ile-Leu--Gly-Gln-Leu-Tyr-Ala-Arg-Lys-Leu--Leu-His-Glu-Ile-Met-Asn-Arg-Gln-Gln-Gly-Glu-Arg-Asn-Glu-Glu-Gln-Arg--Ser-Arg-Phe-Asn-OH проводят ступенчатым методом с использованием пептидного синтезатора "Бекман-990" на хлорметилированной смоле, имеющей интервал замещения 0,1-0,5 ммол/г смолы, по методике, описанной в примере 1.

При использовании ТСХ и ЖХВД пептид признан существенно чистым. Оптическое вращение измеряют на фотоэлектрическом поляриметре. Оно составляет $[\alpha]_D^{22} = -50,8+1$ (С = 1, 1%-ная уксусная кислота, не скорректировано).

Синтез повторяют с использованием смолы МБГА для получения rh GRF (1-43) - NH_2. При этом в качестве исходной аминокислоты используют Asn. При использовании ТСХ и ЖХВД пептид признан существенно чистым. Оптическое вращение измеряли на фотоэлектрическом поляриметре, оно составляет $[\alpha]_D^{22} = -51,7^{\circ} + 1$ (С = 1, 1%-ная уксусная кислота, не скорректировано).

Пример 6. Синтез hp GRF - аналога, т.е. [Nle^{27}]- rh GRF (1-32)--NH_2, имеющего формулу H-His-Ala-Asp--Ala-Ile-Phe-Thr-Ser-Ser-Tyr-Arg--Arg-Ile-Leu-Gly-Gln-Leu-Tyr-Ala--Arg-Lys-Leu-Leu-His-Glu-Ile-Nle--Asn-Arg-Gln-Gln-Gly-NH_2, проводят ступенчатым методом с использованием пептидного синтезатора "Бекман-990" на МБГА-смоле, как в примере 1. При использовании ТСХ и ЖХВД аналог признан существенно чистым.

Пример 7. Синтез фрагмента аналога hp GRF, т.е. [$D\text{-}Tyr^{10}$] -rh GRF (1-29)-NH_2. имеющего формулу H-His-Ala-Asp-Ala-Ile-Phe-Thr-Ser--Ser-D-Tyr-Arg-Arg-Ile-Leu-Gly-Gln--Leu-Tyr-Ala-Arg-Lys-Leu-Leu-His--Glu-Ile-Met-Asn-Arg-NH_2, проводят ступенчатым методом с использованием пептидного синтезатора "Бекман-990" на МБГА-смоле (как в примере 1). При использовании ТСХ и ЖХВД пептид признан существенно чистым.

Синтез повторяют с замещением D-Tyr вместо His на N-конце с получением [$D\text{-}Tyr^{1,10}$] -rh GRF (1-29)-NH_2.

Пример 8. Синтез [Nle^{27}] -rh GRF (1-32)-NH_2, имеющего формулу H-His-Ala-Asp-Ala-Ile-Phe-Thr-Ser--Ser-Tyr-Arg-Arg-Ile-Leu-Gly-Gln-Leu-Tyr-Ala-Arg-Lys-Leu-Leu-His-Glu--Ile-Nle-Asn-Arg-Gln-Gln-Gly-NH_2, проводят ступенчато с использованием пептидного синтезатора "Бекман-990" на МБГА-смоле (как в примере 1)

При использовании ТСХ и ЖХВД пептид признан существенно чистым. Оптическое вращение измерялось на фотоэлектрическом поляриметре. Оно составляет $[\alpha]_D^{22} = -52,6^{\circ}+1$ (С = 1, 1%-ная уксусная кислота, не скорректировано)

Пример 9. Синтез rh GRF--[Val^{44} -NH_2], имеющего формулу H--His-Ala-Asp-Ala-Ile-Phe-Thr-Ser--Ser-Tyr-Arg-Ile-Leu-Gly-Gln-Leu--Tyr-Ala-Arg-Lys-Leu-Leu-His-Glu-Ile--Met-Asn-Arg-Gln-Gln-Gly-Glu-Arg--Asn-Gln-Glu-Gln-Arg-Ser-Arg-Phe-Asn-Val-NH_2, проводят ступенчатым методом с использованием пептидного синтезатора "Бекман-990" на МБГА-смоле (как в примере 1). При использовании ТСХ и ЖХВД пептид, признан существенно чистым. Вращение плоскости поляризации света составляет $-50,8^{\circ}$ (С = 1, 1%-ная уксусная кислота), разделения с использованием жидкостной хроматографии высокого разрешения проведено при аналогич-

ных условиях, изложенных ранее, и с использованием 56%-ного буфера В, объем удержания 7,2 мл.

Проведены биологические испытания.

Полученные в различных примерах сравнивают с очищенным синтетическим hp GRF (1-40)-OH или очищенным синтетическим hp GRF (1-40) Phe-Gln-NH_2 в ходе анализов in vitro для определения их эффективности стимулирования выделения гормона роста (ГР).

При непосредственном сравнении используют эквимолярные концентрации различных синтезированных аналогов. Используют культуры, которые включают клетки гипофиза крыс, удаленных предварительно на 4-5 сут. Культуры, которые считаются оптимальными для выделения гормонов роста, используют для сопоставительного испытания. Инкубирование с подлежащим испытанию веществом проводят в течение 3-4 ч, и аликвотные количества культуральной среды удаляют и обрабатывают для измерения их состава по иммунореактивному ГР (ир-ГР) с помощью радиоиммуноанализа хорошего разрешения.

Результаты сопоставительных испытаний с использованием эквимолярных концентраций приведены в табл. 1.

Испытание этих синтетических пептитов in vitro показывает, что EC_{50} колеблется в диапазоне 20-100 пмоль, а низшая действующая концентрация составляет 3-8 пмоль. Максимальная действующая концентрация для phGRF (1-40) NH_2 составляет 1 нмоль.

Результаты сопоставительного испытания для эквимолярных концентраций различных hp GRF-аналогов, основанных на rh GRF, приведены в табл.2.

В дополнение к испытаниям in vitro секреции гормона роста проводят также эксперименты in vivo: вводят синтетический пептид через постоянный катетер свободно движущимся нормальным крысам-самцам. Животных предварительно обрабатывают с помощью FLA-63, ингибитором допамин-гидроксилазы, который подавляет самопроизвольную секрецию гормона роста, не влияя на реакцию на экзогенный GRF. Пробы крови отбирают через тот же катетер непосредственно перед инъекциями и спустя 5 и 20 мин после них, методом радиоиммунного анализа измеряют уровни содержания гормона роста в крови. Результаты показывают, что синтетические hp GRF-аналоги являются мощными стимуляторами секреции гормона роста гипофиза. Дозировка 20-25 мкг на кг массы тела сочтена эффективной. Соединения относятся к категории малотоксичных.

Формула изобретения

Способ получения пептидов общей формулы

H-R_1-Ala-Asp-Ala-Ile-Phe-Thr-R_8-Ser-R_{10}-Arg-R_{12}-R_{13}-Leu-R_{15}-Gln-Leu-R_{18}-Ala-Arg-Lys-Leu-Leu-R_{24}-R_{25}-Ile-R_{27}-WY,

где W: -Asn-Arg;
-Asn-Arg-Gln-Gln-Gly;
-Asn-Arg-Gln-Gln-Gly-Glu-Arg-Asn-Gln-Glu-Gln-Arg-Ser-Arg-Phe-Asn-Val;
-Asn-Arg-Gln-Gln-Gly-Glu-Arg-Asn-Gln-Glu-Gln-Arg-Ser-Arg-Phe-Asn-,

Y = OH, NH_2;

R_1 = Tyr, D-Tyr, His;

R_8 = Ser;

R_{10} = Tyr, D-Tyr;

R_{12} = Arg;

R_{13} = Ile;

R_{15} = Gly;

R_{18} = Tyr;

R_{24} = His;

R_{25} = Glu;

R_{27} = Nle, Ile, D-Met, Met, Val,

отличающийся тем, что соответствующую С-конечную аминокислоту связывают с полимером - носителем МБГА или хлорметилированной смолой, аминозащитную группу отщепляют и проводят постепенное наращивание пептидной цепи в соответствии с целевым пептидом до образования пептидил-полимера общей формулы

X_1-R_1(X_2)-Ala-Asp(X_3)-Ile-Phe-Thr(X_4)-R_8(X_4)-Ser(X_4)-R_{10}(X_2)-Arg(X_6)-R_{12}(X_6)-R_{13}-Leu-R_{15}-Gln(X_5)-Leu-R_{18}(X_7)-Ala-Arg(X_6)-Lys(X_7)-Leu-Leu-R_{24}(X_5)-R_{25}(X_7)-Ile-R_{27}W(X_8),

где X_1 - Boc;

X_2 - дихлорбензил;

X_3 - OBz_1;

X_4 - Bz_1;

X_5 - ксантил;

X_6 - тозил;

X_7 - 2-хлорбензилоксикарбонил,
X_8 - смола-носитель;

W: -Asn-Arg(X_6)-,
-Asn-Arg(X_6)-Gln(X_5)-Gln(X_5)-Gly;
-Asn-Arg(X_6)-Gln(X_5)-Gln(X_5)-Gly-Glu(X_3)-Arg(X_6)-Asn-Gln(X_5)-Glu(X_3)-Gln(X_5)-Arg(X_6)-Ser(X_4)-Arg(X_6)-Phe-Asn-Val;
-Asn-Arg(X_6)-Gln(X_5)-Gln(X_5)-Gly-Glu(X_3)-Arg(X_6)-Asn-Gln(X_5)-Glu(X_3)-Gln(X_5)-Arg(X_6)-Ser(X_4)-Arg(X_6)-Phe-Asn

и полученный пептид-полимер деблокируют и отщепляют полимер-носитель.

Таблица 1

Относительная активность предлагаемых соединений

Пептид	Относительная активность
1. [Nle^{27}] -rh GRF (1-32)-NH_2	3.21(2.02-5.43)
2. [His^1]-rh GRF (1-32)-NH_2	2.15(1.12-4,41)
3. [His^1, Nle^{27}] -rhGRF (1-32)-NH_2	3.22(2.12-5.33)

Таблица 2

Сравнительная активность соединений, полученных в условиях предлагаемого способа, с активностью hp GRF (1-40)-OH принятой за 100%

Пептид	Сравнение, %
hp GRF (1-40)-OH (стандарт)	100%
[Nle^{27}] -rh GRF (1-29)-NH_2	1100%
[D-$Tyr^{1,10}$] -rh GRF (1-29)-NH_2	600%
[Tyr^1] -rh GRF (1-29)-NH_2	920%
[Nle^{27}] -rh GRF (1-32)-NH_2	1390%
[Leu^1, Nle^{27}] -rh GRF (1-29)-NH_2	480%
[Nle^{27}]- rh GRF (1-32)-NH_2	321%
[His^1]- hp GRF (1-32)-NH_2	215%
[His^1, Nle^{27}]- hp GRF (1-32)-NH_2	322%
rh GRF (1-43)-OH	300%
rh GRF [Val^{44} -NH_2	670%

Составитель В. Волкова
Редактор М. Петрова Техред М.Дидык Корректор М. Пожо

Заказ 2169/58 Тираж 339 Подписное
ВНИИПИ Государственного комитета по изобретениям и открытиям при ГКНТ СССР
113035, Москва, Ж-35, Раушская наб., д. 4/5

Производственно-издательский комбинат "Патент", г.Ужгород, ул. Гагарина,101