

(19) C2 (11) 34456 (13) UA

(98) вул. Пушкінська, 9, кв. 11, м. Київ, 01034

(85) null

(74) Пахаренко Антоніна Павлівна, (UA)

(45) [2001-03-15]

(43) null

(24) 2001-03-15

(22) 1994-03-07

(12) null

(21) 94119008

(46) 2001-03-15

(86) 1994-03-07 PCT/US94/02511

(30) 08/031325 1993-03-15 US

(54) ПЕПТИД, ЯКИЙ МАЄ АКТИВНІСТЬ АНТАГОНІСТА БОМБЕЗИНУ, ФАРМАЦЕВТИЧНА КОМПОЗИЦІЯ НА ЙОГО ОСНОВІ І СПОСІБ ЛІКУВАННЯ РАКУ У ССАВЦІВ ПЕПТИД-АНТАГОНІСТ БОМБЕЗИНА, ФАРМАЦЕВТИЧЕСКАЯ КОМПОЗИЦИЯ НА ЕГО ОСНОВЕ И СПОСОБ ЛЕЧЕНИЯ РАКА PERTIDE BOMBESIN ANTAGONIST, PHARMACEUTICAL COMPOSITION BASED THEREON AND METHOD FOR CANCER TREATMENT

(56)

(71)

(72) US Скеллі Ендрю В. US Скелли Эндрю US Schally Andrew CN Кей Рен Жи CN Кей Рен Жи CN Cai Ren Zhi

(73) US ДЗЕ АДМІНІСТРЕЙТОРС ОФ ДЗЕ ТЬЮЛЕЙН ЕДЬЮКЕЙШІНЕЛ ФАНД US ДЗЕ АДМИНИСТРЕЙТОРЗ ОФ ДЗЕ ТЬЮЛЕЙН ЭДЬЮКЕЙШНЛ ФАНД US THE ADMINISTRATORS OF THE TULANE EDUCATIONAL FUND

Изобретение относится к антагонистам бомбезина, которые представляют собой ψ^{8-9} -псевдопептиды, содержащие Тас-, МТас- или ОМТас-остаток в С-концевом положении, к их солям и фармацевтическим композициям, а также к способам синтеза указанных пептидов и к способам их использования.

Винахід стосується антагоністів бомбезину, які являють собою ψ^{8-9} -псевдопептиди, що містять Тас-, МТас- або ОМТас-залишок на С-кінці, до їх солей та фармацевтичних композицій, а також до способів синтезу вказаних пептидів і до способів їх застосування.

The present invention relates to bombesin antagonists which are ψ^{8-9} -pseudopeptides containing a Tac, MTac, or DMTac residue at the C terminal position, the salts thereof¹ and pharmaceutical compositions, methods of synthesizing these peptides and methods of use pertaining to these peptides.

Изобретение относится к новым пептидам, которые влияют на рост раковых опухолей у человека. Более конкретно, изобретение относится к антагонистам бомбезина, которые представляют собой ψ^{8-9} -псевдопептиды, содержащие Тас-, МТас- или ОМТас- остаток в С-концевом положении; к их солям и фармацевтическим композициям, а также к способам синтеза указанных пептидов и к способам их использования. Эти пептиды являются антагонистами по отношению к бомбезину или бомбезинподобным пептидам.

Изобретение относится к полипептидным соединениям, которые обладают антагонистической активностью по отношению к бомбезину или бомбезинподобным пептидам, таким как гастрин –высвобождающий пептид (GRP), нейромедин С и т. п. (называемый далее бомбезин-антагонистической активностью) и которые могут быть использованы, например, для лечения злокачественных опухолей у теплокровных животных, включая человека. Изобретение относится к новым полипептидным соединениям и способам их получения, а также к новым фармацевтическим композициям, содержащим указанные полипептидные соединения, и к способам изготовления лекарственных препаратов, способных продуцировать бомбезин-антагонистический эффект при их введении теплокровным животным, включая человека.

Бомбезин представляет собой амид тетрадекапептида, который впервые был выделен из кожи лягушки *Bombina bombina* (краснобрюхая жерлянка) (Anastasi, Erspamer and Bucci, *Experientia*, 1971, 27, 166). Известно, что указанный бомбезин является сильным митогеном для фибробластных клеток мышей Swiss 3T3 (Rozengurt and Sinnett-Smith, *Proc. Nat. Acad. Sci. USA*, 1983, 80, 2936) и стимулирует секрецию амилазы из ацинуса поджелудочной железы морских свинок (Jensen, Jones, Folkers and Gardner, *Nature*, 1984, 309, 61). Кроме того, известно, что бомбезинподобные пептиды продуцируются и секретируются клетками мелкоклеточного рака легких (SCLC) человека (Moody, Pert, Gazdar, Garney and Minna, *Science*, 1981, 214, 1246). Известно также, что экзогенно добавленные бромезинподобные пептиды могут стимулировать *in vitro* рост клеток SCLC человека (Garney, Cuttita, Moody and Minna, *Cancer Research*, 1987, 47, 821) и что моноклональное антитело, которое является специфическим к С-концевой области бомбезина и GRP, может блокировать связывание GRP с его рецептором и предупреждать рост SCLC-клеток человека как *in vitro*, так и *in vivo* (Cuttita, Carney, Mulshine, Moody, Fedorko, Fischler and Minna, *Nature*, 1985, 316, 823).

GRP (гастрин-высвобождающий пептид), который обладает бомбезинподобными свойствами, является широко распространенным амидированным пептидом, содержащим 27 аминокислот, выделенных из кишки свиньи (McDonald, Jornvall, Nilsson, Vagne, Ghatei, Bloom and Mutt, *Biochem. Biophys. Res. Commun.*, 1979, 90, 227), где С-концевая аминокислотная последовательность является почти идентичной С-концевой последовательности бомбезина. Нейромидин С представляет собой амидированный декапептид, который имеет структуру, идентичную десяти последним аминокислотным в С-концевой области GRP, и который был выделен из тонкой кишки собаки (Reeve, Walsh, Chew, Clark, Hawke and Shively, *J. Biol. Chem.*, 1983, 258, 5582). GRP стимулирует ряд биологических реакций, включая высвобождение гастрина в большом круге кровообращения, а в фибробластных мышечных клетках 3T3 и в клетках мелкоклеточного рака легких (SCLC), он также играет роль фактора роста. Поэтому было высказано предположение, что GRP играет непосредственную патофизиологическую роль в развитии SCLC посредством аутокринного механизма роста.

Бомбезин, нейромедин С и С-концевой нонапептид GRP имеют следующую структуру:

Бомбезин: pGlu-Gln-Arg-Leu-Gly-Asn-Gln-Trp-Ala-Val-Gly-His-Leu-Met-NH₂.

Нейромедин С: H-Gly-Asn-His-Trp-Ala-Val-Gly-His-Leu-Met-NH₂.

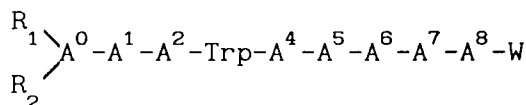
С-концевой нонапептид GRP: Asn-His-Trp-Ala-Val-Gly-His-Leu-Met-NH₂.

В результате исследования других бомбезинподобных пептидов, происходящих от земноводных, из кожи лягушки, обитающей в Папуа-Новой Гвинее, удалось выделить литорин, который представляет собой нонапептид (pGlu-Gln-Trp-Ala-Val-Gly-His-Leu-Met-NH₂) и который, как оказалось, является исключительно сильным аналогом бомбезина (Yasukara et al, *Chem. Pharm. Bull.*, 1979, 27, 492). Исследования аналогов бомбезина показали, что сегмент, состоящий по меньшей мере из 9 аминокислотных остатков в 6-14 положениях, обладают полным спектром бомбезиновой активности.

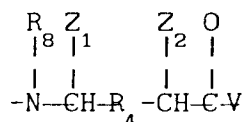
Было охарактеризовано несколько видов антагонистов бомбезина. Субстанция Р (Arg-Pro-Lys-Pro-Gln-Gen-Phe-Phe-Gly-Leu-Met-NH₂), которая имеет очень слабую гомологию с аминокислотной последовательностью бомбезина, не способна ингибировать связывание бомбезина и бомбезинподобных пептидов, однако, как было обнаружено, аналоги субстанции Р, модифицированные путем замены нескольких L-аминокислот D-аминокислотами, например, такие, как (D-Arg¹, D-Pro², D-Trp^{7,9}, Leu¹¹), субстанция Р и (D-Arg¹, D-Phe⁵, D-Trp^{7,9}, Leu¹¹), субстанция Р (Moody и др., *Fed. Proceedings*, 1987, 46, 2201), могут блокировать секрецию бомбезина в клетках ацинуса поджелудочной железы и подавлять ростстимулирующее действие бомбезина в клетках Swiss 3T3. Было также установлено, что два типа антагонистов бомбезина, происходящих от бомбезина, например (D-Phe⁶, D-Phe¹²), бомбезин и [Leu¹³- ψ -Leu¹⁴], бомбезин (Coy и др., *J. Biol. Chem.*, 1988, 263, 5056 и пептиды, 1989, 10, 587), являются сильными *in vitro* и *in vivo* ингибиторами бомбезинового ответа.

Другой тип антагонистов бомбезина, обнаруженный Heimbroke и др., (*Bio. Chem.*, 1989, 264, 11258), представляет собой N-ацетил-GRP (20-26) и его аналоги, которые образуются от GRP (20-27) -аналогов путем делеции С-концевого метионино-вого остатка. Coy [*J. Biol. Chem.*, 264, 1989, 25, 14691] показал, что некоторые короткоцепочечные антагонисты бомбезина, полученные на основе последовательности литорина, например, [D-Phe⁶, Leu¹³- ψ -Phe¹⁶] бомбезин (6-14) и [D-Phe⁶, Leu¹³- ψ -Leu¹⁴] бомбезин (6-14), обладают гораздо более высокой активностью, чем их соответствующие родственные пептиды [Leu¹³- ψ -Leu¹⁴] бомбезин.

Линейные (нециклические) бомбезиновые аналоги GRP и бомбезина земноводных, имеющие, но необязательно, в CH₂-NH непептидную связь, описаны в заявке на патент PCTWO 90/03980 (а родственные аналоги описаны в WO 91/02746). Как указывается в этой заявке, эти аналоги, которые действуют как ингибиторы натуральных бомбезиновых пептидов, имеют следующую формулу:



где R₁ R₂ = H; A⁰ может быть делетирован: из многих возможных аминокислот в каждом положении: A¹ может представлять собой D-Phe, D-Trp или D-Nal; A² может представлять собой Gln; A⁴ может представлять собой Ala; A⁵ может представлять собой Val; A⁶ может представлять собой Gly; A⁷ может представлять собой His, а W представляет собой:



где R₄=CH₂-NH: в некоторых случаях Z₁ может представлять собой идентифицирующую боковую цепь Leu, т. е. - CH₂OH(CH₃)₂; Z₂ может представлять собой идентифицирующую боковую цепь Cys или Met, т. е. - CH₂-SH или (CH₂)₂-S-CH₃; V = N(R₆)R₇, где R₆, R₇ и R₈ могут представлять собой H; а R₁ и R₂ могут представлять собой H или COE₁, где E₁ может быть C₁C₂₀-алкилом.

Линейные пептидные аналоги бомбезина описаны также в EP 0309297. Эти пептиды могут иметь C - концевой Met - остаток и [CH₂ - NH] псевдопептидную связь между C - концом и примыкающим к нему остатком.

Изобретение относится к новым полипептидам, которые являются сильными антагонистами бомбезина, к способам их синтеза и к новым лекарственным средствам, включая фармацевтические композиции, содержащие указанные полипептиды, и к использованию этих композиций в качестве фармацевтически активных агентов.

A. Синтетические пептиды.

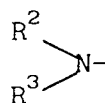
Более конкретно, один из вариантов осуществления изобретения относится к псевдопептидам, обладающим сильной бомбезин-антагонистической активностью, и имеющим формулу I:



где X представляет собой водород; простую связь, связывающую альфа-аминогруппу A¹ с гамма-карбоксильной частью на 3-пропионильной группе A², если A² является Glu, или группу формулы R¹CO-, где R¹ выбирают из группы, включающей в себя:

a) водород, C₁-C₁₀-алкил, фенил, фенил-C₁-C₁₀-алкил, p-H1-фенил, p-H1-фенил-C₁-C₁₀-алкил, нафталин-C₁-C₁₀-алкил, индолил, индолил-C₁-C₁₀-алкил, пиридил, пиридил-C₁-C₁₀-алкил, тиенил, тиенил-C₁-C₁₀-алкил, циклогексил, или циклогексил-C₁-C₁₀-алкил, где H1, например, является F, Cl, Br, OH, CH₃ или OCH₃;

b)



где R² представляет собой водород, C₁-C₁₀ алкил, фенил, или фенил-C₁-C₁₀-алкил;

R³ представляет собой водород, или C₁-C₁₀-алкил;

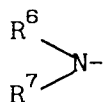
c) R⁴ - O, где R⁴ представляет собой C₁-C₁₀-алкил, фенил, или фенил-C₁-C₁₀-алкил;

A¹ представляет собой D-, L- или DL-аминокислотный остаток, выбранный из группы, включающей в себя Phe, p-HI-Phe, pGlu, Nal, Pal, Trp незамещенный Trp или Trp, замещенный в бензольном кольце одним или несколькими заместителями, выбранными из F, Cl, Br, NH₂ или C₁-C₃-алкила; либо пептидную связь, связывающую ацильную часть R¹CO с альфа-аминочастью A²;

A² представляет собой Gln, Glu[-], Glu (Y), или His, где [-] означает простую связь, если X является простой связью, а A² является Glu, причем эта связь связывает гамма-карбоксильную часть или 3-пропионильную часть A² с альфа-аминогруппой A¹, а Y представляет собой: (a) - OR⁵, где R⁵ является водородом, C₁-C₃-алкилом или фенилом;

или (b) , где R⁶ является водородом

или C₁-C₃ алкилом; а R⁷ является водородом, C₁-C₃-алкилом, или -NHCONH₂; Leu-psi представляет собой



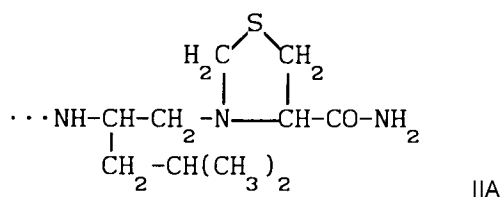
редуцированную форму Leu, где вместо -CH₂- присутствует часть C=O, так, что связь указанной -CH₂- части с альфа-аминогруппой соседнего A⁹ - остатка является псевдопептидной связью:

A⁹ представляет собой Tас, MTас, или DMTас;

Q представляет собой NH₂ или -OQ¹, где Q¹ является водородом, C₁-C₁₀ - алкилом, фенилом, или фенил - C₁-C₁₀ - алкилом, и, кроме того, изобретение относится к фармацевтически приемлемым кислотам или солям описанных псевдопептидов.

Если A⁹ = Tас, MTас или DMTас, то у A⁹ имеется 5-членное гетероциклическое кольцо. Это кольцо в основном образуется путем окисления боковой цепи остатка A⁹ на определенной стадии синтеза нонапептида формулы I (проводимого предпочтительно с использованием формальдегида или ацетальдегида), в результате чего происходит циклизация боковой цепи с альфа-аминогруппой остатка A⁹. Идентичность полученного циклизованного остатка A⁹ зависит от идентичности оригинала (т. е., неокисленного A⁹) и от оксиданта.

Так, например, если -CH₂-SH-группа Cys⁹ циклизуется с альфа-аминогруппой Cys⁹, связанной посредством Leu-psi-псевдопептидной связью, в реакции с формальдегидом, то образующееся кольцо имеет структуру формулы IIA (ниже показана как -Leu⁸-psi-Tас⁹-NH₂-фрагмент нонапептида формулы I):



Эти псевдопептиды обладают более высокой биологической активностью и большей стабильностью, чем их нециклические варианты, где A⁹ является Cys или Ren. Тем не менее в некоторых предпочтительных вариантах осуществления изобретения в том случае, если в пептидах формулы I A⁹ является нециклизированным, а X, A² и Q являются такими, как они определены выше, то указанный A⁹ - остаток представляет собой Cys или Ren, а A¹ представляет собой не встречающуюся в природе аминокислоту, выбранную из L- или D-Pal, L- или D - Trp или Hca.

В некоторых предпочтительных вариантах X представляет собой R¹CO, R¹ представляет собой водород или C₁-C₁₀-алкил (предпочтительно метил); A¹ = D - Cpa, D - Nal, D - Rhe, D- или D-Trp или D-Trp; A² = Gln; A⁹ = Tас или DMTас, а Q = NH₂.

Однако в другом предпочтительном варианте изобретения, если A¹ является пептидной связью, связывающей ацильную часть R¹ - CO-группы с альфа-аминогруппой остатка A², то A² является Gln или His; A⁹ является Tас, M-Tас, или DM-Tас, а Q является NH₂. В предпочтительной форме указанных пептидов X является Hca, Hna, Paa, Mpp, Hpp или Naa; A² является Cln; а A⁹ является Tас.

В. Способы синтеза.

Антагонисты бомбезина формулы I могут быть синтезированы путем твердофазного синтеза. В первой схеме синтеза все аминокислоты последовательно присоединяются друг к другу после того, как С-концевой остаток будет связан с твердофазным полимерным носителем. Затем после связывания аминокислотных остатков с полимером осуществляют реакцию боковой цепи С-концевого остатка с оксидантом, в результате которой образуется 5-членное гетероциклическое кольцо псевдопептида. Полученный псевдопептид подвергают HF-обработке для его отделения от твердофазного полимерного носителя. Эта реакция позволяет также удалить защитные группы боковой цепи.

Во второй схеме синтеза псевдопептиды формулы I могут быть получены в виде двух фрагментов, которые синтезируются путем твердофазного синтеза, либо путем синтеза в жидкой фазе. Трипептид, содержащий С-конец, связывают с олигопептидом, в результате чего получают полный антагонист бомбезина формулы I.

5-членное гетероциклическое кольцо образуют при помощи реакции боковой цепи A⁹ с оксидантом. Затем пептид подвергают HF-обработке, в результате которой удаляются все защитные группы боковой цепи аминокислотного остатка, а пептид отщепляется от полимерного носителя.

С. Лекарственные средства.

Псевдопептиды формулы I могут быть использованы в фармацевтических композициях, предназначенных для лечения раковых или других заболеваний у млекопитающих путем введения этим млекопитающим эффективной дозы псевдопептида или его терапевтически приемлемой кислоты или соли в сочетании с фармацевтически приемлемым носителем. Указанные псевдопептиды в сочетании с фармацевтически приемлемым носителем могут быть введены в дозе, составляющей от около 1 до 1000 мг на 1 кг веса тела в день. Эти композиции могут быть введены парентерально, внутривенно, подкожно, внутримышечно, интраназально, с помощью легочных аэрозолей и инъекций замедленного всасывания.

На фиг. 1 изображен график, иллюстрирующий величину объема опухоли рака молочной железы мыши MXT в зависимости от введения некоторых антагонистов бомбезина и полученный исходя из данных, представленных в табл. 7 примера 7; на фиг. 2 - график, иллюстрирующий величину объема опухоли SCLC у "голых" мышей в зависимости от введения некоторых антагонистов бомбезина и полученный на основе данных, представленных в табл. 9 примера 8; на фиг. 3 - график, иллюстрирующий величину объема опухоли поджелудочной железы (MIA PACA-2) у "голых" мышей в зависимости от введения некоторых антагонис-

тов бомбезина и полученный на основе данных, представленных в табл. 10 примера 9; на фиг. 4 - график, иллюстрирующий величину объема опухоли поджелудочной железы CAPAN-2 у "голых" мышей в зависимости от введения некоторых антагонистов бомбезина и полученный на основе данных, представленных в табл. 11 примера 10.

Описание предпочтительных вариантов осуществления настоящего изобретения.

А. Синтетические пептиды.

1. Номенклатура.

В данном описании для удобства используемые аминокислоты, пептиды и их производные обозначаются в соответствии со стандартными аббревиатурами, обычно принятыми в пептидной химии и рекомендованными Комиссией по биохимической номенклатуре Международного союза по теоретической и прикладной химии (IUPAC - IUB) [European J. Biochem., 1984, 138, 9-37].

Аббревиатуры для отдельных аминокислотных остатков образованы на основе тривиальных названий аминокислот, например, Ala означает аланин, Cys - цистеин, Gln - глутамин, Glu - глутаминовая кислота, pGlu - пироглутаминовая кислота, Gly - глицин, His - гистидин, Leu - лейцин, Phe - фенилаланин, Trp - триптофан и Val - валин. Clu может иметь функциональные группы, связанные с его гамма-карбоксильной боковой цепью.

[γ] или γ является такими, как они были определены выше, Dpa представляет собой 2,3-диаминопропионовую кислоту. В том случае, если аминокислотный остаток имеет изомерные формы, то, если нет каких-либо указаний, подразумевается L-форма, в противном же случае перед названием аминокислоты имеются D- или DL.

Используемые в данном описании редко встречающиеся аминокислоты имеют следующие обозначения:

Сра - п-хлорфенилаланин

Dpa - 2,3-диаминопропионовая кислота

pGlu - пироглутаминовая кислота

Nal - 3-(2-нафтил)-аланин

Pal - 3-(3-пиридил)-аланин

Pen - пеницилламин

Tri - 2,3,4,9-тетрагидро-1H-пиридо-[3,4-b] индол-3-карбоновая кислота

Tac - тиазолидин-4-карбоновая кислота

DMTac - 5,5-диметил-тиазолидин-4-карбоновая кислота

MTac - 2-метил-тиазолидин-4-карбоновая кислота

Аналоги аминокислот имеют следующие обозначения:

Hsa - гидрокоричная кислота или дес-амино-фенилаланин

Hpa - 3-гидрокси-2-нафтойная кислота

Hpp - 3-(4-гидроксифенил)пропионовая кислота

Mpp - 3-(4-метоксифенил)пропионовая кислота

Naa - нафтилуксусная кислота

Raa - фенилуксусная кислота

Кроме того, были использованы следующие обозначения:

Ac - ацил

Ac - ацетил

AcOH - уксусная кислота

BNA - бензидриламин

Boc - трет-бутоксикарбонил

(BOC)₂O - ди-трет-бутилдикарбонат

Bom - бензилоксиметил

But - бутил

Bzl - бензил

BSA - альбумин бычьей сыворотки

DIC - 1,3-диизопропилкарбодиимид

DMEM - модифицированная по способу Дульбекко, среда Игла

DMF(ДФ) - диметилформамид

Et - этил

EDTA - этилендиаминтетрауксусная кислота

FCBS - околплодная сыворотка теленка

Fmoc - флуоренилметилоксикарбонил

For - формил

НИТЕS - среда RPMI 1640 + 10^{-8} М гидрокортизона, 5 мкл/мл бычьего инсулина, 10 мкг/мл трансферрина человека, 10^{-8} М β -эстрадиола и $3 \cdot 10^{-8}$ М Na₂SeO₃

HOBT - 1-гидроксibenзотриазол

HPLC (ВРЖХ) - высокоэффективная жидкостная хроматография

Leu - psi редуцированная форма Leu, где вместо -CH₂- присутствует C=O - часть, так, что связь указанной -CH₂- части с аминокислотным остатком А⁹ является псевдопептидной связью

Me - метил

MeCN - ацетонитрил

MeOH - метиловый спирт
 PBS - фосфатно-буферный раствор
 TEA - триэтиламин
 TFA - трифтороуксусная кислота.

В данном описании запись пептидных последовательностей проводится в соответствии с общепринятой нормой, т. е., N-концевая аминокислота находится слева, а С-концевая аминокислота находится справа. Однако при этом следует отметить, что в описании, если это не оговорено особо, стандартная нумерация аминокислотных остатков во фрагментарном пептиде не соблюдается и не соответствует их истинным положениям в полном тетрадекапептидном антагонисте бомбезина. Если следовать стандартной нумерации, то остатки в нонапептиде формулы I должны быть пронумерованы от 6 до 14, а ядро Trp - Ala - Val - Gly - His - Leu - антагонистов бомбезина должно быть пронумеровано A⁸ - A⁹ - A¹⁰ - A¹¹ - A¹² - A¹³. Вместо этого во избежание путаницы пептидные антагонисты бомбезина, используемые в данном описании, были пронумерованы следующим образом:

N-концевой аминокислотный остаток (или остаток аналога) был обозначен A¹; С-концевой аминокислотный остаток (или остаток аналога) был обозначен A⁹; а промежуточные остатки были пронумерованы по порядку от A² (остаток, примыкающий к N-концевому остатку A¹) до A⁸ (остаток, примыкающий к С-концевому остатку A⁹).

2. Предпочтительные варианты осуществления изобретения.

В предпочтительных вариантах своего осуществления настоящее изобретение относится к пептидным антагонистам бомбезина, имеющим формулу I:

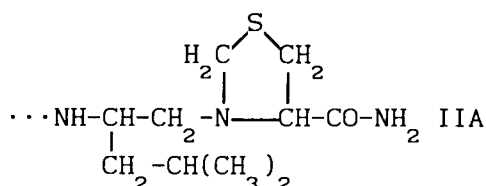
X - A¹ - A² - Trp - Ala - Val - Gly - His -

-Leu - psi - A⁹ - Q

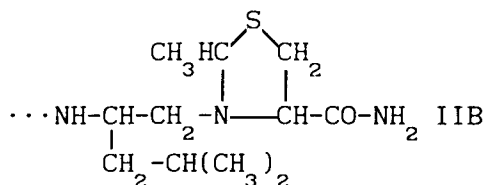
I

где X, A¹, A², Leu - psi, A⁹ и Q являются такими, как они были определены выше.

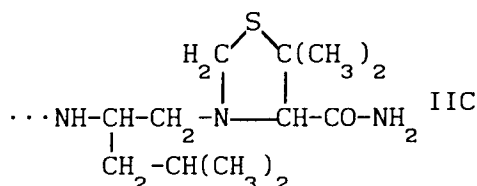
Указанные псевдопептиды, антагонисты бомбезина, отличаются своей аминокислотной последовательностью, особенно в остатках A¹, A² и A⁹, а также наличием псевдопептидной связи между A⁸ и A⁹ и необязательно наличием 5-членного гетероциклического кольца у A⁹. Кольцевая структура определяется идентичностью остатка A⁹ и соединением, используемым для его окисления. Так, например, если используется формальдегид, а A⁹ представляет собой Cys, то полученное кольцо имеет структуру Tас формулы IIA (показанную ниже в виде Leu⁸ - psi - Tас⁹ - Q - фрагмента пептида формулы I, где Q = NH₂):



Если используется ацетальдегид, а A⁹ является Cys, то полученное 5-членное гетероциклическое кольцо имеет структуру MTас формулы IIB (показанную ниже в виде Leu⁸ - psi - MTас⁹ - Q - фрагмента пептида формулы I, где Q = NH₂):



Если используется формальдегид, а A⁹ является Pen, то полученное кольцо имеет структуру DMTас формулы IIC (показанную ниже в виде - Leu⁸ - psi - DMTас⁹ - Q - фрагмента нонапептида формулы I, где Q = NH₂):



В описанных предпочтительных вариантах осуществления изобретения желательно, чтобы X = H или Ac, A¹ = D-Phe, A² = Gln и Q = NH₂.

Ниже представлены наиболее предпочтительные псевдопептидные антагонисты бомбезина данного изобретения:

Пептид - Структура

1. - D-pGlu-Gln-Trp-Ala-Val-Gly-His-Leu-psi-Tac-NH₂
2. - D-Phe-Gln-Trp-Ala-Val-Gly-His-Leu-psi-Tac-NH₂
3. - D-Phe-Gln-Trp-Ala-Val-Gly-His-Leu-psi-Tac-NH₂
4. - Ac-D-Phe-Gln-Trp-Ala-Val-Gly-His-Leu-psi-Tac-NH₂
5. - D-Cpa-Gln-Trp-Ala-Gly-His-Leu-psi-Tac-NH₂
6. - D-Cpa-Gln-Trp-Ala-Val-Gly-His-Leu-psi-Tac-NH₂
7. - D-Nal-Gln-Trp-Ala-Val-Gly-His-Leu-psi-Tac-NH₂
8. - Pal-Gln-Trp-Ala-Val-Gly-His-Leu-psi-Tac-NH₂
9. - D-Pal-Gln-Trp-Ala-Val-Gly-His-Leu-psi-Tac-NH₂
10. - D-Trp-Gln-Trp-Ala-Val-Gly-His-Leu-psi-Tac-NH₂
11. - Ac-D-Trp-Gln-Trp-Ala-Val-Gly-His-Leu-psi-Tac-NH₂
12. - Tpi-Gln-Trp-Ala-Val-Gly-His-Leu-psi-Tac-NH₂
13. - D-Tpi-Gln-Trp-Ala-Val-Gly-His-Leu-psi-Tac-NH₂
14. - Hca-Gln-Trp-Ala-Val-Gly-His-Leu-psi-Tac-NH₂
15. - D-Phe-His-Trp-Ala-Val-Gly-His-Leu-psi-Tac-NH₂
16. - D-Phe-Glu(OMe)-Trp-Ala-Val-Gly-His-Leu-psi-Tac-NH₂
17. - D-Phe-Glu[-] -Trp-Ala-Val-Gly-His-Leu-psi-Tac-NH₂
18. - D-Phe-Gln-Trp-Ala-Val-Gly-His-Leu-psi-DMTAc-NH₂
19. - Ac-D-Phe-Gln-Trp-Ala-Val-Gly-His-Leu-psi-DMTAc-NH₂
20. - D-Cpa-Gln-Trp-Ala-Val-Gly-His-Leu-psi-DMTAc-NH₂
21. - Tpi-Gln-Trp-Ala-Val-Gly-His-Leu-psi-DMTAc-NH₂
22. - D-Tpi-Gln-Trp-Ala-Val-Gly-His-Leu-psi-DMTAc-NH₂

Особенно предпочтительными вариантами являются следующие пептиды

2. - D-Phe-Gln-Trp-Ala-Gly-His-Leu-psi-Tac-NH₂
13. - D-Tpi-Gln-Trp-Ala-Val-Gly-His-Leu-psi-Tac-NH₂
18. - D-Phe-Gln-Trp-Ala-Val-Gly-His-Leu-psi-DMTAc-NH₂

В. Методы синтеза

1. Обзор

Псевдопептиды формулы I могут быть получены любым способом, обычно используемым в пептидной химии. Такие способы описаны, например, в книге M. Bodanszky, Principles of Peptide Synthesis, Springer-Verlag, Heidelberg, 1984.

Все псевдопептиды формулы I могут быть получены в соответствии с техникой твердофазного синтеза. Этот способ является наиболее предпочтительным для получения указанных псевдопептидов и их промежуточных пептидов. Техника твердофазного синтеза описана в руководстве J. M. Stewart and J. D. Young, Solid Phase Peptide Synthesis, Pierce Chem. Co., Rocrford, IL, 1984 (2-ое изд.), и в образе G. Barany и др., Int J. Peptide Protein Res., 30, 705 - 739, 1987. Дополнительная стадия окисления С-концевого остатка A⁹, проводимая для циклизации конкретной боковой цепи этого остатка с его альфа-аминогруппой, может быть осуществлена в одной из нескольких ступеней синтеза пептидов формулы I.

Для получения псевдопептидных антагонистов бомбезина формулы I могут быть использованы по крайней мере две схемы синтеза. В первой схеме все аминокислоты последовательно присоединяются друг к другу, начиная от С-концевого остатка A⁹, который предварительно присоединяют к твердофазному носителю. Во второй схеме сначала на полимерном носителе синтезируют трипептид. Затем этот трипептид присоединяют к олигопептиду, несущему все остальные аминокислоты, необходимые для образования нужного пептида. В обеих схемах синтез начинают с С-концевого остатка A⁹, к которому последовательно добавляют соответствующие аминокислоты вплоть до N-концевого остатка.

1 (а) Первая схема. В качестве полимерного твердофазного носителя для синтеза псевдопептидов может быть использована бензгидриламиновая (ВНА) смола или хлорометилированная полистироловая смола, смитая (на 1%) с дивинил-бензолом, причем указанные две смолы являются коммерчески доступными. С-концевой остаток A⁹ присоединяют к одной из указанных смол посредством его карбоксильной группы. Для предупреждения реакции между двумя указанными остатками, перед тем как присоединить этот остаток (A⁹) к смоле-носителю, альфа-аминогруппу каждого A⁹-остатка блокируют с помощью химической защитной группы. Защитной группой для альфа-аминогруппы A⁹-остатка, и каждого последовательно присоединяемого остатка, может быть либо 9 - флуоренилметилоксикарбонильная (Fmoc) или трет-бутоксикарбонильная (Boc) группа. Fmoc предпочтительно использовать при связывании С-концевого остатка A⁹ с остатками до A², поскольку реакция удаления Boc также способствует удалению защитной группы боковой цепи от С-концевого A⁹ остатка. В процессе указанных реакций присоединения функциональные группы боковых цепей некоторых аминокислотных остатков могут быть также защищены от нежелательных химических реакций путем их связывания с химической защитной группой (подходящей группой для A⁹ является But) до осуществления реакции присоединения.

После присоединения С-концевого Fmoc-A⁹(But)-остатка к твердому носителю альфа-аминогруппу этого остатка подвергают разблокированию, а затем к нему присоединяют Fmoc-Leu-CHO, образуя тем самым псевдопептидную связь.

Остальные остатки, A⁵, A⁴, A³ и A², защищенные предпочтительно ос-группой, и A¹, защищенный предпочтительно Вос-группой, постадийно добавляют в обратном порядке (A⁷, A⁸ и т. п.), в результате чего получают нужный псевдопептид.

Если в указанном псевдопептиде присутствует His или Clu то в процессе реакций их присоединения или реакций присоединения других остатков боковые цепи указанных остатков могут оказаться незащищенными от нежелательных химических воздействий. В соответствии с этим перед осуществлением реакции присоединения этих аминокислот их боковые цепи могут быть связаны с химической защитной группой.

После того как все аминокислотные остатки будут присоединены к ВНА-смоле, Вос-группа у N-конца псевдопептида может быть удалена. 5-членное гетероциклическое кольцо у Tас, MTас или DMTас может быть образовано с помощью реакции -CH₂ - SH-части Cys (или -C(CH₃)₂SH Pen) и вторичной аминогруппы редуцированной связи, соединяющей остатки A⁸ и A⁹ (т. е. альфа-аминогруппы A⁹), с оксидантом, таким, как формальдегид или ацетальдегид. Промежуточный псевдопептид, еще несущий защитные группы боковых цепей, подвергают HF-обработке в целях его отщепления от твердофазного носителя, а также в целях удаления защитных групп боковой цепи.

1. Вторая схема.

Во второй схеме в соответствии с процедурой твердофазного синтеза конструируют трипептид с использованием ВНА-смолы в качестве носителя, в результате чего получают следующий защищенный трипептид на носителе: Вос-His (Bom)⁷-Leu⁸-psi-Cys(But)⁹-ВНА-смола

Вос¹ - группу и But - группу удаляют, а -CH₂-SH-часть Cys подвергают циклизации с вторичным амином редуцированной связи, соединяющей остаток A⁸ с остатком A⁹, в результате чего получают His(Bom)⁷-Leu⁸-psi-Tас -ВНА-смола. После HF-обработки, получают свободный трипептид: His⁷-Leu⁸-psi-Tас⁹-NH₂. В соответствии со стандартным методом твердофазного синтеза, на Gly-OCH₂ -смоле постадийно конструируют пептид на носителе:

"Вос A¹ -A² -Trp-Ala-Val-Gly-OCH₂ -смола",

после чего эту конструкцию обрабатывают 95% метанолом, содержащим 1% KCN (в течение 12 ч), в результате чего Вос-олигопептид отщепляется. После конструирования этих двух фрагментов Вос-олигопептид присоединяют к свободному His⁷-Leu⁸-psi-Tас⁹-NH₂-трипептиду с использованием BOP-реагента. Затем Вос-группу удаляют и получают нужный пептид.

Ниже перед подробным описанием синтеза антагонистов бомбезина формулы I приводится несколько общих процедур осуществления синтеза, характерных для одной или обеих из указанных схем.

2. Общие процедуры полипептидного синтеза.

Процедура 1. Получение некоторых синтетических остатков для реагентов.

а) L и D-Trp: 2,04 г (10 мМ) L-Trp растворяли в 25 мл кипящей воды, содержащей 2,1 г лимонной кислоты. Затем добавляли 0,5 мл 40%-ного водного формальдегида, после чего сразу начали образовываться твердые вещества. Полученную смесь охлаждали в ледяной бане, а осадок собирали, промывали холодной водой, осушали воздухом, а затем осушали при комнатной температуре, в результате чего получали 2,14 г твердого вещества (99%), т. пл. (с разложением) около 310°C. D -изомер, который получали тем же способом из D-Trp, также имел т. пл. (разлож.) около 310°C.

б) L - и D-Вос-Trp. К размешанной суспензии из 10,8 г (50 мМ)-Trp в 250 мл 0,2 н. NaOH и 7,5 мл триэтиламина добавляли 10 г Di-трет-бутилдикарбоната, полученную смесь размешивали 4 ч, а затем, размешивая, добавляли еще 10 г дикарбоната и после повторного 3-часового размешивания добавляли еще 10 г дикарбоната. После этого смесь размешивали в течение ночи и экстрагировали (2 · 100 мл) эфиром, а эфирный слой отделяли и отбрасывали. К водному слою добавляли лимонную кислоту (в целях доведения pH до 3-5). Твердый остаток собирали, промывали водой и осушали воздухом в течение ночи.

Твердые вещества суспендировали в 100 мл тетрагидрофурана. При этом почти все твердые вещества растворялись. Нерастворимые вещества удаляли путем фильтрации, а ТГФ удаляли в вакууме. Остаток растирали с эфиром и получали 9,20 г (или 58%) нужного материала. Этот материал имел такую же т. пл., что и исходный материал, но отличался от исходного материала по своей растворимости. ТСХ на силикагеле проводили с использованием смеси CHCl₃ : MeOH : NOAC = 85: 15: 0,5.

Повторяя аналогичную процедуру с использованием 2,55 г - Trp, получали 2,22 г или 59% Вос-Trp.

с) Fmoc-Leu-CHO. Сложный метиловый эфир Fmoc-лейцина (35 г, 134 мМ) в безводном толуоле (250 мл) в атмосфере азота охлаждали с использованием смеси сухого льда и ацетона, после чего в течение 30 мин добавляли 150 мл 25% гидрида ди-изобутилалюминия в толуоле. После этого смесь размешивали 20 мин в бане из сухого льда/ацетона, а затем осторожно добавляли метанол (15 мл). Полученную смесь выливали в 1000 мл ледяной воды, размешивали и фильтровали. Затем толуол отделяли, а водную фазу снова экстрагировали эфиром (3x300 мл). Толуол и эфирные экстракты объединяли и осушали сульфатом натрия. Полученное масляное вещество быстро пропускали через колонку с силикагелем (3x50 см) в 1500 мл 15% EtOAc/ петрола. И наконец получали Fmoc-Leu-CHO в виде твердого вещества (27,6 г).

д) Синтетические аминокислоты или аналоги аминокислот, вводимые в псевдопептиды данного изобретения, являются в основном коммерчески доступными. Так, например, Hsa поставляется фирмой Aldrich Co., 1001 St. Paul Avenue, Milwaukee, WI 53233. Вос- или Fmoc-защищенные аминокислоты поставляются фирмой Advanced Chem. Tech., 5609 Fern Valley Road, Louisville, KY 40228; или Bachem California, 3132 Kashiwa Street, Torrance, CA 90505.

Процедура 2. Получение смолы и присоединение A⁹ -остатка.

ВНА-смолу получали путем обработки 10% ТЕА в CH_2Cl_2 (для нейтрализации) (два раза по 3 мин), а после обработки ее 6 раз промывали метиленхлоридом. Fmoc-A⁹ (But) - остаток связывали со смолой путем добавления 1,35 мМ Fmoc-A⁹ (But) и 1.50 мМ 1-гидрокси-бензотриазола (HOBT) в ДМФ с последующим перемешиванием полученной смеси в течение 3 мин. Затем смесь перемешивали путем встряхивания в течение 60 мин при комнатной температуре. Полученную Fmoc-A⁹ (But)-ВНА-смолу промывали метиленхлоридом, метанолом (каждый раз дважды) и три раза снова метиленхлоридом, после чего эту смолу анализировали с помощью теста Keiser (Anal. Biochem. 34, 595 (1970)). В случае, если обнаружилось неполное связывание, описанную процедуру повторяли.

Процедура 3. Образование псевдопептидной связи.

Отщепление (т. е. разблокирование) Fmoc -группы от А⁹ осуществляли путем добавления 50% пиридина в ДМФ с последующим 30-минутным размешиванием, промыванием ДМФ (6x1 мин), а затем (i) добавлением Fmoc-Leu-CHO (3 экв.) в ДМФ, содержащей 1% AcOH; (ii) добавлением NaBH_3CN (3,5 экв.) в ДМФ, и размешиванием (путем встряхивания) в течение 60 мин. Полученную смесь последовательно промывали 50% MeOH (3x1 мин); 100% MeOH (3x1 мин) и ДМФ (3x1 мин).

Процедура 4. Присоединение аминокислот и образование пептидной связи.

В качестве защитной группы для альфа-аминогруппы А⁹-остатка и каждого последовательно присоединяемого аминокислотного остатка могут быть использованы либо 9-флуоренилметилоксикарбонил (Fmoc)-группы, либо трет-бутилоксикарбонил (Boc)-группа. При связывании А⁹ с последующими аминокислотными остатками вплоть до N-концевого аминокислотного остатка предпочтительной является Fmoc-группа, поскольку реакция удаления Boc позволяет одновременно удалить защитную группу боковой цепи А⁹-остатка.

А) Использование Fmoc-аминокислоты.

Для введения Fmoc-аминокислоты в Fmoc-промежуточный пептид осуществляли следующие процедуры:

(1) Fmoc - промежуточный пептид подвергали разблокированию и нейтрализации, а затем промывали метиленхлоридом (3x1 мин) и ДМФ (3x1 мин).

(2) Fmoc - аминокислоту присоединяли к разблокированному промежуточному пептиду путем (i) добавления Fmoc-аминокислоты (3 экв.) и HOBT (3,3 экв.) в ДМФ (3 мин) к промежуточному пептиду; (ii) добавления 3 экв. DIC (в виде 20%-ного раствора в CH_2Cl_2); и 90-минутного встряхивания полученной смеси.

(3) Затем смесь промывали этанолом (3x1 мин) и диметилформамидом (3x1 мин).

Для присоединения других остатков только что присоединенную Fmoc-аминокислоту подвергали разблокированию 50% пиперидином в течение 30 мин, а затем промывали диметилформамидом (6x1 мин). Последующие процедуры присоединения осуществляли в соответствии с описанием в стадии (2).

Каждый раз после присоединения новой аминокислоты к смоле или пептиду проводили тест Kaiser и в случае обнаружения неполного связывания реакцию повторяли.

Для присоединения Fmoc-Gly и Fmoc-Gln стадию (2) описанной процедуры модифицировали следующим образом: к смеси ДМФ - раствора Fmoc - аминокислоты (3,0 экв.) и HOBT (3,3 экв.) добавляли (в течение 15 мин при 0°C и в течение 15 мин при комнатной температуре) 3 экв. IC (в виде 20%-ного раствора в CH_2Cl_2). Затем реакционную смесь добавляли к пептидной смоле и в случае Fmoc-Gly размешивали 1 ч, а в случае Fmoc-Gln размешивали 2 ч.

В) Использование Boc-аминокислоты.

Для введения Boc-аминокислоты в Fmoc-промежуточный пептид осуществляли следующие процедуры:

(1) Boc-группу удаляли путем добавления 50% TFA в CH_2Cl_2 ;

(2) а затем добавления 50% TFA в CH_2Cl_2 ;

содержащего 5% меркаптоэтанола и 5% анизол в течение 25 мин и

(3) промывания метиленхлоридом (2x1 мин), метанолом (2x1 мин) и диметилформамидом (3x1 мин);

(4) присоединение Boc-аминокислотного остатка осуществляли путем добавления 3 эквивалентов Boc-аминокислоты и 3,3 эквивалентов HOBT в ДМФ и последующего размешивания в течение 3 мин. Затем добавляли 3 эквивалента 20% диизопропилкарбодиимида в CH_2Cl_2 и размешивали путем встряхивания в течение 90 мин. После этого реакционную смесь промывали метанолом (3x1 мин), а затем метиленхлоридом (3x1 мин).

(5) Boc-группу удаляли (т. е. осуществляли разблокирование) путем промывания продукта, полученного в стадии (5), 50% TFA в CH_2Cl_2 , содержащего 5% меркаптоэтанола (5 мин) и 5% анизол (25 мин). Затем промывали в CH_2Cl_2 (2x1 мин), MeOH (2x1 мин) и ДМФ (3x1 мин).

При этом следует иметь в виду, что удаление Boc-группы влечет за собой также удаление защитной But-группы, соответствующим образом связанной с боковой цепью А⁹ - остатка. Поэтому удаление Boc-группы следует проводить лишь непосредственно перед циклизацией А⁹ - остатка.

Процедура 5. Образование 5-членного гетероциклического кольца.

Формирование кольцевой структуры формулы IIA осуществляли следующим образом: промежуточный пептид, имеющий разблокированный Cys⁹ - остаток, в смеси 50% AcOH, 3,7% HCHO, и ДМФ (1: 1: 8) размешивали 3 мин при комнатной температуре, а затем фильтровали. Полученный продукт промывали диметилформамидом, метанолом и метиленхлоридом (каждым по 3 раза).

Формирование кольцевой структуры формулы IIB осуществляли следующим образом: промежуточный пептид, имеющий разблокированный Cys⁹ - остаток, в смеси 50% AcOH, 10% CH_3CHO и ДМФ (1: 5: 0,58) размешивали 10 мин при комнатной температуре, а затем фильтровали. Полученный продукт промывали диметилформамидом, метанолом и метиленхлоридом (каждым по 3 раза).

Формирование кольцевой структуры формулы IIC осуществляли следующим образом: промежуточный пептид, имеющий разблокированный Pen^9 - остаток в смеси 50% AcOH , 3,7% HCHO и ДМФ (1: 1: 8) размешивали 10 мин при комнатной температуре, а затем фильтровали. Полученный продукт промывали диметилформамидом, метанолом и метиленхлоридом (каждым по 3 раза).

Процедура 6. Отделение пептида от смолы.

После присоединения всех нужных аминокислотных остатков промежуточный пептид на носителе обрабатывали жидким фтороводородом в присутствии анизола для того, чтобы полученный полипептид отделить от носителя. В результате этой реакции также удаляются защитные группы боковых цепей. В случае использования BHA-смолы полученный промежуточный пептид имеет $\text{Q} = \text{NH}_2$.

Если X не является H, то X - группу помещают в N-конец либо путем введения аминокислоты, уже несущей X - группу (например, Ac-D-Phe), либо путем реакции разблокированной альфа-аминогруппы у N-концевого A^1 -остатка промежуточного псевдопептида с соответствующим реагентом. Так, например, после отделения от смолы, используемой в качестве твердофазного носителя, полный пептид может быть подвергнут реакции с KOC с получением $\text{X} = \text{NH}_2\text{CO}-$.

Процедура 7. Очистка пептидов.

Псевдопептиды формулы I очищали главным образом с помощью обращенно-фазовой высокоэффективной жидкостной хроматографии (ВРЖХ) на колонке системы Rainin (Rainin Inc., Co., Woburn, Ma), состоящей из трех насосов Rainin Rabbit HP, HPLC, контролируемых компьютером (Apple Macintosh Plus), дозатором (Pheosune) и монитором переменного УФ-излучения (Knauer Model 87). Неочищенные пептиды (10-40 мг) загружали в колонку DynaMAx Marco (21,2x250 мм), упакованную сферическим C_{18} -силикагелем (размер пор - 300Å, размер частиц - 12 мкм) (Rainin Inc. Co.) и элюировали линейным градиентом, используя систему растворителей, состоящую из (A) 0,1% TFA, и (B) 0,1% TFA в 70%-ном водном ацетонитриле при скорости потока 2,0 мл/мин. Все фракции анализировали на чистоту и время удерживания с помощью аналитической ВРЖХ, описанной ниже.

Качество и характеристики элюирования неочищенного и очищенного пептида определяли с помощью аналитической ВРЖХ, используя установку для жидкостной хроматографии (модели Hewlett).

Packard 1090), снабженную диодным матричным детектором, установленным на 220 и 280 нм, и обращенно-фазовой W-Porex- C_{18} -колонкой (4,6x250 мм) (размер пор: 300Å, размер частиц 5 мкм). Скорость потока систем растворителей (A) и (B), описанных выше, поддерживали на уровне 1,2 мл/мин, а разделение осуществляли при комнатной температуре.

В большинстве случаев псевдопептидные антагонисты бомбезина очищали с помощью повторной хроматографии на той же самой колонке, но с небольшими изменениями в условиях градиентного элюирования. Как показала аналитическая ВРЖХ, полученные гомогенно очищенные пептиды имели чистоту более 97%. Если необходимо, то может быть осуществлен аминокислотный анализ псевдопептидов формулы I с использованием аминокислотного анализатора Beckman 630 и образцов, гидролизированных в течение 20 ч при 110°C, в герметично запаянных, обезгаженных пробирках с 4 М метансульфоновой кислотой, содержащей 0,2% 3-2(2-аминоэтил)-индол.

C. Синтетические промежуточные пептиды.

1. Защитные группы боковой цепи.

В твердофазном синтезе обычно блокируют функциональные группы реактивных боковых групп различных аминокислотных частей или пептидных фрагментов. Функциональные группы боковых цепей могут быть защищены во избежание нежелательных химических реакций, происходящих в этих цепях. Поэтому обычно продуцируют промежуточный пептид, который включает в себя каждый из аминокислотных остатков, локализованных в нужной последовательности в пептидной цепи, с боковыми защитными группами, связанными с соответствующими остатками.

При выборе конкретной защитной группы боковой цепи, которая может быть использована в синтезе пептидов, обычно руководствуются следующими правилами: (a) предпочтительно, чтобы защитная группа сохраняла свои защитные свойства в условиях реакции присоединения; (b) защитная группа должна быть стабильной по отношению к связывающему реагенту и предпочтительно стабильной в условиях реакции присоединения, выбранных для удаления альфа-аминозащитной группы в каждой стадии синтеза; (c) защитная группа боковой цепи должна быть удаляемой после завершения синтеза нужной аминокислотной последовательности, причем в таких реакционных условиях, которые не приводили бы к нежелательным изменениям в пептидной цепи.

Защитные группы боковой цепи связывают с аминокислотными остатками постадийным способом, хорошо известным специалистам. Подходящими боковыми защитными группами для H является Bom, а для Glu и Cys является But.

2. Синтетические промежуточные пептиды.

При этом следует отметить, что в объем изобретения входят промежуточные пептиды на соответствующих стадиях синтеза. Ниже проиллюстрированы промежуточные пептиды 2 на трех стадиях:

Стадия A: после присоединения всех аминокислот и смолы:

Boc-D-Phe-Gln-Trp-Ala-Val-Gly-His(Bom)-Leu-psi-Cys(But)-BHA-смола ("1/02/A")

Стадия B: после удаления - концевой Boc-группы:

D-Phe-Gln-Trp-Ala-Val-Gly-His(Bom)-Leu-psi-Cys-BHA-смола ("1/02/B").

Стадия С: после циклизации A⁰:

D-Phe-Gln-Trp-Ala-Val-Gly-His(Bom)-Leu-psi-Tac-BHA-смола ("1/02/C").

Причем существует еще одна стадия, стадия D, которая проиллюстрирована в синтезе пептида N 17 (в примере 2). Промежуточный пептид стадии D отделен от носителя, однако он еще не имеет простой связи X, связывающей A¹ с A².

Применение в медицине.

Антагонисты бомбезина могут быть использованы для лечения таких заболеваний, как гипер-гастринемия, например, перциниозная анемия, хронический атрофический гастрит, синдром Золлингера-Эллисона и витилиго, ассоциированное с диффузной гиперплазией энтерохромаффинных клеток желудка и с повышенным риском развития первично-множественного рака желудка. Кроме того, гиперплазия энтерохромаффинных клеток часто развивается у животных, страдающих ги-пергастринемией.

Антагонисты данного изобретения имеют преимущества по сравнению с уже существующими лекарственными средствами, поскольку H₂-антагонисты подобно циметидину вызывают ги-пергастринемия и могут привести к образованию карциноидных опухолей у человека. Кроме того, прекращение терапии с использованием H₂ - антагонистов сразу приводит к рецидиву язвенной болезни, обусловленной наличием гипергастринемии.

Поскольку соединения по изобретению являются антагонистами бомбезина/GRP-рецепторов, то они могут быть использованы для лечения рака легких, рака толстой кишки и рака желудка.

Антагонисты бомбезина формулы I данного изобретения могут быть введены в виде фармацевтически приемлемых нетоксичных кислот или солей, таких, как кислые аддитивные соли. Примерами таких кислых аддитивных солей могут служить гидрохлорид, гидробромид, сульфат, фосфат, фумарат, глюконат, таннат, малеат, ацетат, цитрат, бензоат, сукцинат, альгинат, памоат, малат, аскорбат, тертрат и т. п.

В основном фармацевтические композиции содержат псевдопептиды формулы I в сочетании со стандартными фармацевтически приемлемыми носителями, из которых наиболее подходящим является физиологический раствор, хотя могут быть использованы и другие известные носители.

Лечение с использованием указанных фармацевтических композиций может быть осуществлено тем же способом, которым обычно проводят клиническое лечение с использованием других агонистов и антагонистов LHRH или аналогов соматостатина. Так, например, антагонисты бомбезина формулы I могут быть введены внутривенно, подкожно, внутримышечно, интраназально, с помощью легочных аэрозолей или с использованием форм замедленного всасывания (например, микрокапсулы, микрогранулы или цилиндрические стержнеобразные имплантаты), изготовленных из биологически разлагаемого полимера (такого, как DL-лактидогликоolid). Изобретение включает в себя также и другие способы введения композиций, например путем капельного вливания, вливания с использованием инфузионного насоса и введения с использованием лекарственных форм пролонгированного высвобождения, например микрокапсул и т. п.

Эффективные дозы пептидов формулы I могут варьироваться в зависимости от способа введения и от вида млекопитающего, подвергающегося лечению. При парентеральном введении доза вводимых пептидов может составлять от около 1 до 1000 мг на 1 кг массы тела в день. Этот диапазон доз является предпочтительным, однако в некоторых случаях могут быть использованы и более высокие дозы. Физиологический раствор, содержащий указанный пептид, может быть введен в таком количестве, которое обеспечивало бы дозу около 0,01 - 0,20 мг/кг массы тела в день, за исключением тех случаев, когда используются формы замедленного всасывания, где количество инъецируемого средства рассчитывается примерно на 15-30 дней или более.

В приведенных примерах для идентификации промежуточных пептидов на определенных стадиях синтеза используются три кодовых обозначения. Пептид под кодом "1/01/A" представляет собой промежуточный пептид для пептида "01", полученного в примере 1, который был синтезирован в стадии А синтеза. Аналогично коды "2/08/B" и "4/19/C" относятся к промежуточным пептидам для пептидов "08" и "19", полученных в примерах 2 и 4, которые были синтезированы в стадиях В и С соответственно.

Пример 1.

Пептид #

1. D-pGlu-Gln-Trp-Ala-Val-Gly-His-Leu-psi-Tac-NH₂
2. D-Phe-Gln-Trp-Ala-Val-Gly-His-Leu- psi-Tac-NH₂
4. Ac-D-Phe-Gln-Trp-Ala-Val-Gly-His-Leu-psi-Tac-NH₂
5. D-Cpa-Gln-Trp-Ala-Val-Gly-His-Leu-psi-Tac-NH₂
7. D-Nal-Gln-Trp-Ala-Val-Gly-His-Leu-psi-Tac-NH₂
8. Pal-Gln-Trp-Ala-Gly-His-Leu- psi -Tac-NH₂
9. D-Pal-Gln-Trp-Ala-Val-Gly-His-Leu-psi-Tac-NH₂
10. D-Trp-Gln-Trp-Ala-Val-Gly-His-Leu-psi-Tac-NH₂
11. Ac-D-Trp-Gln-Trp-Ala-Val-Gly-His-Leu-psi -Tac-NH₂
12. Tpi-Gln-Trp-Ala-Val-Gly-His-Leu-psi-Tac-NH₂
13. D-Tpi-Gln-Trp-Ala-Val-Gly-His-Leu-psi-Tac-NH₂
14. Hea-Gln-Trp-Ala-Val-Gly-His-Leu-psi-Tac-NH₂

Эти пептиды могут быть синтезированы исходя из общего промежуточного пептида 1-1 (Fmoc-Trp-Ala-Val-Gly-His-(Bom)-Leu- psi -Cys(But)-BHA-смола следующим способом:

Fmoc-Leu- psi -Cys (But)-BHA-смолу получали следующим образом: 2,0 г BHA-смолы (0,55 ммоль H₂/г) обрабатывали 20 мл 10% TEA в CH₂Cl₂ (нейтрализация) (два раза по 3 мин) и промывали 6 раз 20 мл метилхлорида, после чего в течение 3 мин смешивали с 3,3 мМ Fmoc-Cys(But) и 3,6 мМ HOBT в ДМФ. Затем добавляли 3 экв. DIC (в виде 20%-ного раствора в CH₂Cl₂). Смесь встряхивали в течение 90 мин при

комнатной температуре. Полученную Fmoc-Cys(But)-BHA-смолу промывали два раза метиленхлоридом, два раза метанолом и три раза снова метиленхлоридом, а затем подвергали тесту Kaiser.

Присоединение Fmoc-Leu-CHO с образованием псевдопептидной связи проводили следующим образом. Отщепление Fmoc-группы от A⁹ осуществляли путем добавления 15 мл 50%-ного пиперидина в ДМФ с последующим 30-минутным перемешиванием и промыванием (6x1 мин) 15 мл ДМФ. После этого добавляли 3,3 мм Fmoc-Leu-CHO (3 экв.) в ДМФ, содержащего 1% AcOH, а затем NaBH₃CN (3 экв.) в ДМФ. Смесь встряхивали в течение 1 ч, а затем последовательно промывали 15 мл 50%-ного MeOH (3x1 мин); 15 мл 100% MeOH (3x1 мин); и 15 мл ДМФ (3x1 мин).

Удаление Fmoc-группы (разблокирование) из Fmoc-Leu - psi Cys (Bom)-BHA- смолы проводили в соответствии с процедурой 4А.

После отщепления Fmoc-группы от Fmoc-Leu -psi Cys (But)- BHA-смолы и нейтрализации проводили реакцию присоединения Fmoc-His(Bom) в соответствии с процедурой 4А (см. выше).

Присоединение Fmoc-Gly осуществляли, как описано в процедуре 4. Для этого к ДМФ - раствору (0°C) 3,3 мм Fmoc-Gly и 3,6 мм HOBt добавляли 20% 1,3 - диизопропилкарбодиимид (3,3 мм) и размешивали 15 мин при охлаждении и 15 мин при комнатной температуре, после чего осадок отфильтровывали, добавляли к смоле и размешивали 60 мин. Затем таким же образом последовательно присоединяли аминокислотные остатки Fmoc-Val, Fmoc-Ala и Fmoc-Trp, в результате чего получали 3,80 г промежуточного пептида 1-1, т. е. защищенного пептида на носителе со структурой:

Fmoc-Trp-Ala-Val-Gly-His(Bom)-Leu - psi -Cys (But)- BHA-смола.

В результате последующего присоединения Fmoc-Cln и Boc-D-pGlu к промежуточному пептиду 1-1, получали Boc-D-pGlu - Gln-Trp-Ala-Val-Gly-His(Bom)-Leu- psi -Cys (But)-BHA-смолу ("1/01/A").

В результате последующего присоединения Fmoc-Gln и Boc-D-Phe к промежуточному пептиду 1-1 получали Boc-D-Phe-Gln-Trp-Ala-Val-Gly-His (Bom)-Leu - psi - Cys(But)-BHA-смолу ("1/02/A").

В результате последующего присоединения Fmoc Gln и Ac-D-Phe к промежуточному пептиду 1-1, получали Ac-D-Phe-Gln-Trp-Ala-Val-Gly-His(Bom)-Leu - psi - Cys (But) - BHA - смолу ("1/04/A").

В результате последующего присоединения Fmoc-Gln и Boc-D-Cpa к промежуточному пептиду 1-1, получали Boc-D-Cpa-Gln-Trp-Ala-Val-Gly-His(Bom)-Leu - psi- Cys(But)-BHA-смолу ("1/05/A").

В результате последующего присоединения Fmoc-Gln и Boc-D-Nal к промежуточному пептиду 1-1, получали Boc-D-Nal-Gln-Trp-Ala-Val-Gly-His(Bom)-Leu- psi - Cys(But)-BHA-смолу (1/07/A").

В результате последующего присоединения Fmoc-Gln и Boc-Pal к промежуточному пептиду 1-1, получали Boc-Pal-Gln-Trp-Ala-Val-Gly-His(Bom)-Leu - psi -Cys(But)-BHA-смолу ("1/08/A").

В результате последующего присоединения Fmoc-Cln и Boc-D-Pal к промежуточному пептиду 1-1, получали Boc-D-Pal-Gln-Trp-Ala-Val-Gly-His(Bom)-Leu - psi - Cys(But)-BHA-смолу ("1/09/A").

В результате последующего присоединения Fmoc- Cln и Boc-D-Trp к промежуточному пептиду 1-1 получали Boc-D-Trp-Gln-Trp-Ala-Val-Gly-His(Bom)-Leu - psi -Cys-(But)-BHA-смолу ("1/10/A").

В результате последующего присоединения Fmoc-Gln и Ac-D-Trp к промежуточному пептиду 1-1 получали Ac-D-Trp-Gln-Trp-Ala-Val-Gly-His(Bom)-Leu - psi -Cys(But)-BHA-смолу "1/11/A").

В результате последующего присоединения Fmoc-Gln и Boc-Trp к промежуточному пептиду 1-1 получали Boc-Trp-Gln-Trp-Ala-Val-Gly-His(Bom)-Leu - psi - Cys(But)-BHA-смолу (" 1 /12/A").

В результате последующего присоединения Fmoc-Gln и Boc-D-Trp к промежуточному пептиду 1-1 получали Boc-D-Trp-Gln-Trp-Ala-Val-Gly-His(Bom)-Leu- psi - Cys(But)-BHA-смолу ("1/13/A").

В результате последующего присоединения Fmoc- Gln и Hca к промежуточному пептиду 1-1 получали Hca-Gln-Trp-Ala-Val-Gly-His(Bom)-Leu-psi - Cys(But)-BHA-смолу("1/14/A").

Затем N-концевую Boc-группу промежуточного пептида 1/01/A удаляли путем обработки 50% TFA в CH₂Cl₂, содержащем 5% меркаптоэтанол и 5% анизол (два раза: сначала 5 мин, а затем 25 мин). Полученный промежуточный пептид промывали метиленхлоридом (2x1 мин), метанолом (2x1 мин) и ДМФ (3x1 мин). Затем от Cys также отщепляли защитную But-группу, в результате чего получали промежуточный пептид "D-pGlu-Gln-Trp-Ala-Val-Gly-His(Bom)-Leu- psi - Cys-BHA-смола" ("1/01/B"), который последовательно промывали метиленхлоридом, метанолом, и диметилформамидом (каждый раз по 1 мин).

На этой стадии боковую Cys-группу промежуточного пептида 1/01/B подвергали циклизации путем окисления с образованием 5-членного гетероциклического кольца, показанного в формуле IIA (процедура 5). Для этого к указанному пептиду добавляли 10 мл смеси AcOH, 3,7% HCHO и ДМФ (1: 1: 8). Полученную реакционную смесь встряхивали 3 мин при комнатной температуре промывали водой, ДМФ и CH₂Cl₂ (по 3 раза каждым), в результате чего получали промежуточный пептид 1/01/C(D-pGln-Gln-Trp-Ala-Gly-His(Bom)-Leu-psi -Tac-BHA-смола).

Затем промежуточный пептид 1/01/C обрабатывали фтороводородом и анизолом в соответствии с процедурой 6 в целях отделения защитной Bom-группы от His и одновременного отщепления нонапептида от смолы-носителя, в результате чего образовывалась C-концевая Q-группа, которая представляла собой -NH₂. Полученный пептид очищали с помощью ВРЖХ, как описано в процедуре 7. Таким образом, был получен пептидный антагонист бомбезина, называемый далее пептид 1.

Аналогичные стадии по удалению Boc-группы и But-группы и последующей циклизации - CH₂ -SH-группы Cys-остатка с вторичным амином редуцированной связи осуществляли с использованием промежуточных соединений 1/02/A, 1/05/A, 1/07/A, 1/08/A, 1/09/A, 1/10/A и 1/12/A, в результате чего получали следующие промежуточные пептиды:

1/02/D-Phe-Gln-Trp-Ala-Val-Gly-His(Bom)-Leu- psi -Tac-BHA-смола

1/04/B Ac-D-Phe-Gln-Trp-Ala-Val-Gly-His(Bom)-Leu- psi -Tac-BHA-смола

1/05/D-Cpa-Gln-Trp-Ala-Val-Gly-His(Bom)-Leu- psi -Tac-BHA-смола
1/07/D-Nal-Gen-Trp-Ala-Val-Gly-His(Bom)-Leu- psi -Tac-BHA-смола
1/08/B Pal-Gln-Trp-Ala-Val-Gly-His(Bom)-Leu- psi -Tac-BHA-смола
1/09/BD-Pal-Gln-Trp-Ala-Val-Gly-His(Bom)-Leu- psi -Tac-BHA-смола
1/10/BD-Trp-Gln-Trp-Ala-Val-Gly-His(Bom)-Leu- psi -Tac-BHA-смола
1/11/BAC-D-Trp-Gln-Trp-Ala-Val-Gly-His(Bom)- Leu- psi - Tac-BHA-смола
1/12/B Tpi-Gln-Trp-Ala-Val-Gly-His(Bom)-Leu- psi -Tac-BHA-смола
1/13/BD-Tpi-Gln-Trp-Ala-Val-Gly-His(Bom)-Leu- psi-Tac-BHA смола
1/14/ВНса-Gln-Trp-Ala-Gly-His(Bom)- Leu-psi -Tac-BHA смола

Неочищенные пептиды отщепляли от BHA-смолы, а затем очищали в соответствии с процедурами 6 и 7, в результате чего получали очищенные пептиды 2, 4, 5 и 7-14.

В табл. 1 приводятся данные относительно времени удерживания при проведении ВЭЖХ.

Альтернативно 5-членное гетероциклическое кольцо может быть сформировано в растворе в соответствии со следующей процедурой:

25 мг промежуточного пептида, включая структуру Leu-psi Cys-NH₂, полученную путем твердо-фазного синтеза, в 0,8 ледяной уксусной кислоте смешивали с 100 мкл 1% формальдегида (мас. %, раствор в воде) в течение 30 с при комнатной температуре, а затем добавляли 20 мкл 50%-ного раствора ацетата аммония. После очистки реакционной смеси получали нужный пептид, который со-держал структуру - Leu-psi-Tac-NH₂.

Пример 2. 15. D-Phe-His-Trp-Ala-Val-Gly-His-Leu- psi -Tac-NH₂

16. D-Phe-Glu(OMe)-Trp-Ala-Val-Gly-His-Leu-psi - Tac-NH₂

17. D-Phe-Glu[-] -Trp-Ala-Val-Gly-His-Leu-psi -Tac-NH₂

В этом примере пептиды могут быть синтезированы из общего промежуточного пептида 1-2 (Fmoc-Trp-Ala-Val-Gly-His(Bom)- Leu- psi -Cys(But)-BHA-смола), который был постадийно сконструирован на основе 0,5 г BHA - смолы (0,55 мМ NH₂/г). Промежуточный пептид 1-2 получали в соответствии с описанными процедурами, и с процедурами примера 1. Часть (150 мг) промежуточного пептида 1-2 разделяли на 3 аликвоты и подвергали двум последующим реакциям присоединения в соответствии с процедурой 4, в результате чего получали конечные нонапептиды на носители.

В результате последовательного присоединения Fmoc-Glu(OMe) и Boc-D-Phe к промежуточному пептиду 1-2 получили Boc-D-Phe-Glu(OMe)-Trp-Ala-Val-Gly-His(Bom)-Leu-psi-Cys(But)-BHA-смолу ("2/15/A").

В результате последовательного присоединения (OMe) и Boc-D-Phe к промежуточному пептиду 1-2 получали Boc-D-Phe-Glu(But)-Trp-Ala-Val-Gly-His(Bom)-Leu- psi -Cys(But)-BHA-смолу ("2/16/A").

В результате последовательного присоединения Fmoc-Glu(But) и Boc-D-Phe к промежуточному пептиду 1-2 получали Boc-D-Phe-Glu(But)-Trp-Ala-Val-Gly-His(Bom)-Leu- psi -Cys(But)-BHA-смолу ("2/17/A")/

Удаление Boc-группы из промежуточного пептида 2/15/A осуществляли в соответствии с процедурой 4 с использованием 50% TFA в CH₂Cl₂, содержащем 5% меркаптоэтанол и 5% анизол. В этой реакции также удаляли But-группу из остатка A⁹, в результате чего получали промежуточный пептид 2/15/B:

"D-Phe-His(Bom)-Trp-Ala-Val-Gly-His(Bom)-Leu- psi -Cys-BHA-смола".

На этой стадии боковую Cys-группу промежуточного пептида 2/15/B подвергали циклизации путем окисления с образованием 5-членного гетероциклического кольца (показанного в формуле IIA), как описано в процедуре 5. Для этого к указанному пептиду добавляли 10 мл смеси AcOH, 3,7% HCHO и ДМФ (1: 1: 8). Реакционную смесь встряхивали 3 мин при комнатной температуре, а затем промывали водой, диметилформамидом и метиленхлоридом (по 3 раза каждый), в результате чего получали промежуточный пептид 2/15/C:

D-Phe-His(Bom)-Trp-Ala-Val-Gly-His(Bom)-Leu- psi -Tac-BHA-смола.

Затем промежуточный пептид 2/15/C обрабатывали свежедистиллированным фтороводородом (5 мл) и анизолом (0,25 м) в течение 1 ч при 0°C, в результате чего от His отщеплялась защитная Bom-группа. После этого растворитель выпаривали в вакууме, промывали этилацетатом, экстрагировали 70 - 80%-ным водным раствором уксусной кислоты и лиофилизовали. После очистки получали пептидный антагонист бом-безина N 15.

Аналогичные стадии по удалению М-концевой Boc-группы, циклизации Cys⁹, отщеплению промежуточного пептида от BHA-смолы и очистке с помощью ВРЖХ осуществляли с использованием промежуточных пептидов 2/16/A и 2/17/A, в результате чего получали пептид N 16, и промежуточный пептид 2/17/D:

D-Phe-Glu-Trp-Ala-Val-Gly-His-Leu-psi-Tac-NH₂.

Смесь из 15 мг промежуточного пептида 2/17/1 и 15 мг HOBt в 0,8 ДМФ при 0° С добавляли к 50 мкл 25% диизопропилкарбодиимида в CH₂Cl₂ и размешивали 2 ч при 0° С. В результате образовывалась простая связь пептида 17, связывающая альфа-аминогруппу остатка D-Phe¹ с гамма-карбоксильной частью на 3-пропионильной части остатка Glu²:

D-Phe-Glu[-]-Trp-Ala-Val-Gly-His-Leu-psi-Tac-NH₂

Затем реакционную смесь подвергали очистке с помощью ВРЖХ в соответствии с процедурой 7.

В табл. 2 приводятся времена удерживания для указанных пептидов.

Пример 3. Пептид N

3. D-Phe-Gln-Trp-Ala-Val-Gly-His-Leu-psi-MTac- NH₂

6. D-Cpa-Gln-Trp-Ala-Val-Gly-His-Leu-psi-MTac- NH₂

Указанные пептидные антагонисты бом-
безина могут быть синтезированы из общего
промежуточного пептида 1 - 3 (т. е., Fmoc-Gln-Trp-Ala-Val-Gly-His(Bom)-Leu-psi-Cys(But)-BHA-смола). Этот пептид был получен исходя из BHA-смолы (1,0 г, 0,55 мМ NH₂/г) путем последовательных реакций присоединения, как описано в примере 1, начиная с Fmoc-Cys(But) с последующим присоединением Fmoc-Leu-CHO (с NaBH₃CN); Fmoc-His(Bom); и т. п. в соответствии с процедурой, описанной в примере 1. Fmoc-Gln присоединяли к N-концу в соответствии с процедурой 4 и получали промежуточный пептид 1-3. После конечного присоединения Boc-D-Phe или Boc-D-Cpa к промежуточному пептиду 1-3, проводимого в соответствии с процедурой 4, получали промежуточные пептиды "3/3/A", или "3/6/A" соответственно.

Удаление Boc-группы осуществляли с использованием 50% TFA в CH₂Cl₂, содержащем 5% меркаптоэтанол и 5% анизол, в соответствии с процедурой 4.

На этой стадии боковую Cys-группу промежуточного пептида 3/3/B подвергали циклизации путем окисления с образованием 5-членного гетероциклического кольца (показанного в формуле IIB), как описано в процедуре 5. Для этого к указанному пептиду добавляли 10 мл смеси 50% AcOH, 10 CH₃CHO и ДМФ (1,5: 0,5: 8). Реакционную смесь размешивали в шейкере в течение 10 мин, а затем промывали водой, диметилформамидом и метиленхлоридом (по 3 раза каждый), в результате чего получали промежуточный пептид 3/3/C : D-Phe-Trp-Ala-Val-Gly-His-Leu-psi-MTac-BHA-смола.

Затем промежуточные пептиды 3/3/C и 3/6/C отщепляли от смолы-носителя, как описано в процедуре 6, т. е. путем обработки (1 ч, при 0° C) фтороводородом (5 мл) и анизолом (0,25 мл). В этой процедуре также отщеплялась от His защитная Bo-группа. В результате получали конечные нонапептиды 3 и 6.

Эти пептиды очищали с помощью ВРЖХ в соответствии с процедурой 5; их времена удерживания представлены в табл. 3.

Альтернативно 5-членное гетероциклическое кольцо может быть образовано в растворе путем добавления к 25 мг промежуточного пептида, содержащего структуру Leu- psi -Cys-NH₂ 0,8 мл ледяной уксусной кислоты, смешанной с 100 мкл 10% ацетальдегида при комнатной температуре. Смесь размешивали 5 мин, а затем добавляли 100 мкл ацетата аммония. Реакционную смесь подвергали очистке и получали нужный пептид, который содержал структуру Leu- psi-MTac-NH₂.

Пример 4.

18. D-Phe-Gln-Trp-Ala-Val-Gly-His-Leu-psi -DMTAc-NH₂

19. AC-D-Phe-Gln-Trp-Ala-Val-Gly-His-Leu-psi -DMTAc

20. D-Cpa-Gln-Trp-Ala-Val-Gly-His-Leu-psi -DMTAc-NH₂

21. Tri-Gln-Trp-Ala-Val-Gly-His-Leu-psi-DMTAc-NH₂

22. D-Tri-Gln-Trp-Ala-Val-Gly-His-Leu-psi-DMTAc-NH₂

Эти полипептиды могут быть синтезированы из общего промежуточного пептида 1-4 (Fmoc-Trp-Ala-Val-Gly-His(Bom)-Leu-psi-Pen(But)-BHA-смола). Этот промежуточный пептид постадийно конструировали в соответствии со стандартными методами твердофазного синтеза (описанного в примерах 1 и 2 с использованием бензгидриламиновой (BHA) смолы).

Так, например, 1,0 г BHA-смолы (0,55 мМ NH₂/г), полученной в соответствии с процедурой 2, обрабатывали 10 мл 10% TEA в CH₂Cl₂ (нейтрализация) (два раза по 3 мин) и 6 раз промывали 10 мл метиленхлорида, после чего в течение 3 мин смешивали с 1,6 мМ Fmoc-Pen (But) и 1,8 мМ 1-гидроксibenзотриазолом (HOBT) в ДМФ. Затем добавляли 20% 1,3-диизопропилкарбодиимид (DLC) (1,6 мМ) в CH₂Cl₂. Смесь размешивали в шейкере в течение 90 мин при комнатной температуре. Полученный пептид "Fmoc-Pen (But)-BHA-смола" промывали метиленхлоридом, метанолом (каждым по 2 раза) и снова метиленхлоридом (три раза), а затем подвергали тесту Kaiser.

Отщепление Fmoc-группы (разблокирование) от пептида "Fmoc-Pen(But)-BHA-смола" осуществляли в соответствии с процедурой 4A.

Присоединение Fmoc-Leu-CHO осуществляли в соответствии с процедурой 3. A⁹ (But)-BHA промывали два раза диметилформамидом. Затем добавляли 1,6 мМ Fmoc-Leu-CHO в ДМФ, содержащем 1% AcOH, а после этого 1,8 мМ NaBH₃CN в ДМФ. Реакционную смесь размешивали 60 мин в шейкере, а затем два раза промывали 50% метанолом в воде, два раза 100% метанолом, три раза метиленхлоридом (каждый раз по 1 мин).

После удаления Fmoc-группы из пептида "Fmoc-Leu-psi-Pen (But)-BHA-смола" и нейтрализации осуществляли присоединение Fmoc-His (Bom) в соответствии с процедурой 4.

Присоединение Fmoc-Gly осуществляли, как описано в процедуре 4. Для этого к ДМФ-раствору (0°С), содержащему 1,5 мМ Fmoc-Gly и 1,65 мМ HOBT, добавляют 20% 1,3-диизопропилкарбодиимид (1,5 мМ) в CH₂Cl₂ и размешивали 15 мин при охлаждении и 15 мин при комнатной температуре, после чего осадок отфильтровывали, добавляли к смоле и размешивали 60 мин в шейкере. Затем таким же образом последовательно присоединяли аминокислотные остатки Fmoc-Val, Fmoc-Ala и Fmoc-Trp, в результате чего получали 1,9 г промежуточного пептида 1-4, т. е. защищенного пептида на носителе, имеющего структуру:

Fmoc-Trp-Ala-Val-Gly-His(Bom)-Leu-psi-Pen (But)-BHA-смола.

0.91 г полученного промежуточного пептида 1-4 разделяли на пять аликвот (около 200 мг каждая), которые использовали для синтеза защищенных полипептидов на носителях в соответствии с процедурой 4.

В результате последовательного присоединения Fmoc-Gln и Boc-D-Phe к промежуточному пептиду 1-4 получали пептид:

"Boc-D-Phe-Gln-Trp-Ala-Val-Gly-His(Bom)-Leu- psi -Pen(But)-BHA-смола" ("4/18/A").

В результате последовательного присоединения Fmoc-Gln и Ac-D-Phe к промежуточному пептиду 1-4 получали пептид:

"Ac-D-Phe-Gln-Trp-Ala-Val-Gly-His(Bom)-Leu- psi -Pen(But)-BHA-смола" ("4/19/A").

В результате последовательного присоединения Fmoc-Gln и Boc-D-Cpa к промежуточному пептиду 1-4 получали пептид:

"Boc-D-Cpa-Gln-Trp-Ala-Val-Gly-His(Bom)-Leu- psi -Pen(But)-BHA-СМона" ("4/20/A").

В результате последовательного присоединения Fmoc-Gln и Boc-Trp к промежуточному пептиду 1-4 получали пептид:

Boc-Trp-Gln-Trp-Ala-Val-Gly-His (Bom)-Leu- psi - Pen(But)-BHA-смола" ("4/21/A").

В результате последовательного присоединения Fmoc - Gln и Boc-Trp к промежуточному пептиду 1-4 получали пептид:

Boc-D-Trp-Gln-Trp-Ala-Val-Gly-His(Bom)-Leu- psi -Pen(But)-BHA-смола" ("4/22/A").

Затем из промежуточного пептида 4/18/A удаляли Boc-группу путем обработки 50% TFA в CH₂Cl₂, содержащем 5% меркаптоэтанол и 5% анизол, в результате чего получали промежуточный пептид 4/18/B:

D-Phe-Gln-Trp-Ala-Val-Gly-His(Bom)-Leu-psi -Pen-BHA-смола.

На этой стадии боковую Pen-группу промежуточного пептида 4/18/B подвергали циклизации путем окисления с образованием 5-членного гетероциклического кольца (показанного в формуле IIC), как описано в процедуре 5. Для этого добавляли 10 мл смеси AcOH, 3,7% HCHO и ДМФ (1: 1: 8) и полученную реакционную смесь размешивали 3 мин при комнатной температуре, а затем промывали водой, диметилформамидом и метиленхлоридом (каждым по 3 раза). В результате этой процедуры получали промежуточный пептид 4/18/C: D-Phe-Gln-Trp-Ala-Val-Gly-His(Bom)-Leu- psi -DMTAc-BHA-смола.

Затем промежуточный пептид 4/18/C промывали 5 мл CH₂Cl₂, метанола и CH₂Cl₂ (каждым по три раза), и обрабатывали свежедистиллированным фтороводородом (5 мл) и анизолом (0,25 мл) при 0° С в течение 1 ч Растворитель выпаривали в вакууме, промывали эфиром или этилацетатом, экстрагировали 70-80%-ной уксусной кислотой и лиофилизировали, в результате чего получали неочищенную нонапептидную смолу. Реакционную смесь очищали и получали пептидный антагонист бомбезина N 18.

Аналогичные стадии удаления защитных групп, циклизации разблокированного A⁹-остатка и отщепления пептида от BHA-смолы осуществляли с использованием промежуточных пептидов 4/19/A, 4/20/A, 4/21/A, и 4 / 22 /A, в результате чего получали пептиды 19, 20, 21 и 22.

Очистку проводили с помощью ВРЖХ в соответствии с процедурой 7, используя систему растворителей, состоящую из (А) 0,1%TFA и (В) 1% TFA в 70% ацетонитрила. Как показала аналитическая ВРЖХ, очищенные пептиды имели чистоту свыше 97%. Времена удерживания для этих пептидов представлены в табл. 4.

Альтернативно A⁹-остаток может быть циклизован в растворе путем добавления 25 мг свободного пептида, содержащего структуру -Leu - psi

- Pen-NH₂, к 25 мг HOBt в 0,8 мл ледяной уксусной кислоты, смешанной с 100 мкл 10%-ного формальдегида, с последующим размешиванием в течение 30 мин при 0° С. В результате этой процедуры получали пептид, имеющий 5-членную кольцевую структуру Leu - psi -DMTAc-NH₂.

Пример 5.

Pal-Gln-Trp-Ala-Val-Gly-His-Leu- psi -Cys-NH₂

D-Pal-Gln-Trp-Ala-Val-Gly-His-Leu- psi -Cys-NH₂

Trp-Gln-Trp-Ala-Val-Gly-His-Leu - psi -Cys-NH₂

D-Trp-Gln-Trp-Ala-Val-Gly-His-Leu-psi-Cys-NH₂

Hea-Gln-Trp-Ala-Val-Gly-His-Leu-psi-Cys-NH₂

Эти пептиды могут быть синтезированы из промежуточного пептида: "Fmoc-Gln-Trp-Ala-Val-Gly-His (Bom)-Leu- psi -Cys (But)-BHA-смола".

Fmoc-Leu- psi -Cys(But)-BHA-смолу получали следующим образом:

1,0 г BHA-смолы (0,55 мМ H₂/г) последовательно связывали с Fmoc-Cys (But) и Fmoc-Leu-CHO в соответствии с процедурами 2 и 3 (см. выше).

В результате последовательного присоединения Fmoc-His (Bom),

Fmoc-Gly, Fmoc-Val, Fmoc-Ala и Fmoc-Trp и Fmoc-Gln получали промежуточный пептид 1-5 (Fmoc-Gln-Trp-Ala-Val-Gly-His(Bom)-Leu-psi-Cys (But)-BHA-смола).

150 мг - аликвоту этого (общего для всех пептидов данного примера) промежуточного пептида 1-5 подвергали дополнительным реакциям присоединения, проводимым в соответствии с процедурой 4, в результате чего получали пептиды на смоле-носителе.

После присоединения Boc-Pal к промежуточному пептиду 1-5 получали пептид Boc-Pal-Gln-Trp-Ala-Val Gly-His (Bom)-Leu- psi -Cys (But)-BHA-смола ("5/08/A").

После присоединения Boc-D-Pal к промежуточному пептиду 1-5 получали пептид: Boc-D-Pal-Gln-Trp-Ala-Val-Gly-His(Bom)-Leu-psi-Cys(But)-BHA-смола ("5/09/A").

После присоединения Boc-Trp к промежуточному пептиду 1-5 получали пептид: Boc-Trp-Gln-Trp-Ala-Val-Gly-His(Bom)-Leu-psi-Cys(But)-BHA-смола ("5/12/A").

После присоединения Boc-D-Trp к промежуточному пептиду 1-5 получали пептид: Boc-D-Trp-Gln-Trp-Ala-Val-Gly-His(Bom)-Leu-psi-Cys(But)-BHA-смола ("5/13/A").

После присоединения Hsa к промежуточному пептиду 1-5 получали пептид:

Gln-Trp-Ala-Gly-His(Bom)-Leu-psi-Cys(But)-BHA-смола("5/14/A").

N-концевую Вос-группу удаляли из промежуточного пептида 5/01/A путем обработки 50% TFA в CH_2Cl_2 , содержащем 5% меркаптоэтанола и 5% анизола, которую проводили два раза: сначала в течение 5 мин, а затем в течение 25 мин. В процессе этой обработки была удалена защитная группа из Cys. После этого пептид промывали ме-тиленхлоридом и диметилформамидом в соответствии с описанием в процедуре 4 и получали в результате промежуточный пептид 5/08/B: Pal-Gln-Trp-Ala-Val-Gly-His (Bom)-Leu- psi -Cys-BHA-смола.

Затем промежуточный пептид 5/08/B обрабатывали в течение 1 ч (при 0° C) свежедистиллированным фтороводородом (95 мл) и анализом (0,25 мл), в результате чего отщеплялась (от His) также защитная Вос-группа. После этого растворитель выпаривали в вакууме, промывали этила-цетатом, экстрагировали 70-80% уксусной кислотой и лиофилизировали, в результате чего получали следующий пептид: Pal-Gln-TRp-Ala-Val-Gly-His-Leu- psi-Cys-NH₂.

Из промежуточных пептидов 5/08/A, 5/09/A, 5/11/A, 5/12/A, 5/13/A и 5/14/A удаляли защитную группу и BHA-смола и получали пептиды, указанные в начале этого примера. Полученные пептиды были подвергнуты тесту на чистоту в соответствии с описанием в процедуре 7. Данные приведены в табл. 5.

Альтернативно эти пептиды могут быть постадийно синтезированы в соответствии со стандартной техникой твердофазного синтеза на основе BHA-смола с Вос-защищенными аминокислотами и с использованием Bz для защиты -SH- группы остатка Cys⁹. В результате этого могут быть получены следующие промежуточные пептиды:

Boc-Pal-Gln-Trp-Ala-Val-Gly-His(Bom)-Leu-psi Cys(Bz)-BHA resin ("5/08/A").

Boc-D-Pal-Gln-Trp-Ala-Val-Gly-His(Bom)-Leu- psi Cys(Bz)-BHA resin ("5/09/A").

Boc-Tpi-Gln-Trp-Ala-Val-Gly-His(Bom)-Leu-psi Cys(Bz)-BHA resin("5/12/A").

Boc-D-Tpi-Gln-Trp-Ala-Val-Gly-His(Bom)-Leu- psi Cys(Bz)-BHA resin("5/13/A").

Hca-Gln-Trp-Ala-Val-Gly-His(Bom)-Leu-psi-Cys(Bz)-BHA resin("5/14/A").

Вос-группу удаляли путем обработки 50% TFA в CH_2Cl_2 , содержащем 5% меркаптоэтанола и 5% анизола, а пептид смола отделяли путем обработки HF и анизолом, в результате чего были также отщеплены защитная Bom-группа (от His) и Bz-группа (от Cys). В результате описанных процедур получали пептиды, указанные в начале этого примера.

Пример 6. Процедуры анализа.

А Анализ на связывание с рецептором.

Связанные ¹²⁵I-Tyr⁴ -бомбезина и его вытеснение псевдопептидными антагонистами оценивали с использованием 24-луночных планшетов для культивирования тканей (CIBCO) и клеток SWiss 3T3. Мышечные фибробласты Swiss 3T3 поддерживали путем еженедельного пассирования в DMEM, содержащую 10% FCB и противогрибковые средства. Культуры инкубировали при 37° C в воздухе с 5% CO₂. Лунки засевали клетками (10⁵ кл./лунку, жизнеспособность > 95%), выращенными до состояния сплошности и фазы покоя. Процедуру связывания осуществляли через 7 дней после посева клеток. Клетки промывали 2 раза 0,5 мл буфера для связывания (модифицированная по способу Дюльбекко, среда Игла, содержащая 20 нМ HEPES-NaOH, pH 7,4; 0,2% BSA; и 100 мкг/мл бацитрацина). Затем клетки инкубировали с 0,2 нМ ¹²⁵I-Tyr⁴ -бомбезина в присутствии (или в отсутствии) различных концентраций антагонистов (6 · 10⁻¹¹ - 6 · 10⁻⁶ М, полный объем 0,4 мл).

Клетки инкубировали в течение 30 мин при 37° C, поскольку связывание ¹²⁵I-GRP при 37° C достигает своего максимума за 30 мин, а затем снижается, как указывается Zachary и Rozengurt (1985) и Layton и др. (1988). После этого клетки два раза промывали охлажденным льдом (4° C) буфером и два раза - охлажденным льдом фосфатно-буферным раствором (PBS, mM): NaCl 138, KCl 2,8; Na₂HPO₄ 8; KH₂PO₄ 1,45; CaCl₂ 0,91; MgCl₂ 0,49. Промытые культуры экстрагировали в 0,5 мл 0,5 М NaOH и переносили в пробирки для подсчета. Лунки один раз промывали 0,5 мл дистиллированной воды (стерильной) и промывки добавляли в соответствующие пробирки. Радиоактивность образца подсчитывали в автоматическом гамма-счетчике (Micromedic System, Inc. Huntsville, Ala.).

Для определения типов связывания с рецептором константы диссоциации (Kd), константы ассоциации (Ka) и максимальной способности к связыванию с рецептором (Bmax) использовали программу Munson и Rodbard для компьютеризованного подбора "лиганд-PC" - кривой.

Данные, относящиеся к связыванию полипептидов данного изобретения представлены в табл. 6. Для оценки способности к конкурентному специфическому связыванию ¹²⁵I-Tyr⁴ -бомбезина использовали различные дозы немеченного пептида.

Данные представляют собой средние значения по 2-3 независимым тестам, проведенным для каждого пептида в 3-х дубликатах.

Пример 7. Тест для оценки воздействия обработки антагонистами бомбезина на размер (объем) опухоли эстроген-независимого рака молочной железы мыши MXT проводили следующим образом.

40 самок мышей B61D2F₁ получали из Национального института рака, Frederick Cancer Research Facility (Frederick, Maryland) и помещали их в условия 55±5% влажности при 21±1° C. Животных содержали в автоматическом световом режиме: 12 ч - свет/12 ч - темнота, и давали лабораторный рацион для грызунов 50001 и водопроводную воду ad libitum. Кримоконсервированную ткань эстроген-независимой карциномы молочной железы MXT (3,2/0 Ovex, полученную от Dr. A E Bogden (Biomeasure Inc., Hopkinton, MA) инокулировали подкожно зрелой мышью-самке с объемом опухоли MXT (3,2)/Ovex- 1 мм³.

Через два дня после трансплантации опухоли мышей произвольно делили на 4 группы и начинали проводить терапию с использованием системы пролонгированного высвобождения (микрокапсулы) пептидов. Указанные четыре группы распределялись следующим образом:

- 1) Контроль, инъекция лишь одного наполнителя;
- 2) [D-Trp⁶, Leu¹³-psi - Leu¹⁴] Bn(6-14);
- 3) [D-Phe⁶, Leu¹³-psi - Tac¹⁴] Bn (6-14);
- 4) Двусторонняя хирургическая овариэктомия.

При сокращении в названиях антагонистов бомбезина, приведенных выше, использовали стандартную нумерацию остатков пептидного фрагмента, т. е. каждый остаток пронумерован в соответствии с его положением в полном фрагменте. Однако чтобы эти антагонисты бомбезина можно было легко сравнить с другими пептидами, эта нумерация начинается с "1" от N-конца. Так, например "[D-Trp⁶-Leu¹³-psi - Leu¹⁴] Bn(6-14)" представляет собой D-Trp¹ - Gln² - Trp³-Ala⁴ -Val⁵-Gly⁶ - His⁷-Leu⁸ - psi - Leu⁹-NH₂ (обозначаемый далее "B1", а "[D-Phe⁶-Leu¹³-psi - Tac¹⁴] Bn (6-14)" представляет собой тот же самый пептид, что указан под N 2.

Два указанных антагониста бомбезина синтезировали методом твердофазного синтеза. Мыши группы 2 получали композицию пролонгированного высвобождения "B1", а мыши группы 3 получали композицию с пептидом N 2 (см. выше). Композиция пролонгированного высвобождения обеспечивала замедленное высвобождение B1 или пептида N 2 при норме 25 мкг/день в течение 15 дней.

Для обеспечения пролонгированной доставки использовали осмотические насосы Alzet (Alzo Co., Pa 10 Alto, CA). Насос модели Alzet 2002 с нормой высвобождения 0,48 мкг/ч имплантировали подкожно в нижнелатеральную область спинки. Для наполнения осмотических мини-насосов пептиды растворяли в 50% (об. /об.) водном растворе пропиленгликоля.

После того как все опухоли стали видны и пальпируемы, их объемы измеряли и проводили вычисления в соответствии с описанием Szende B. и др. в "Growth inhibition of MXT Mammary Carcinoma by Enhancing Programmed Cell Death" (apoptosis with analogues of LH-RH and Somatostatin (апоптоз аналогами Lh-PH и соматостатином). Breast Cancer Res. Treat, 307-314(1989).

Эксперименты завершали на экспоненциальной фазе роста. Первое измерение объема опухоли проводили через 10 дней. Различия в объемах опухоли между контрольными группами и группами, обработанными антагонистами бомбезина, а также между двумя группами, обработанными антагонистами бомбезина, были статистически значимыми. Результаты измерений объема опухолей показаны в табл. 7 и проиллюстрированы на фиг. 1.

После окончания экспериментов мышей умерщвляли путем обескровливания под анестезией Metofane, определяли массу опухолей и полученные данные подвергали статистическому анализу с помощью критерия Дункана и Стьюдента. Результаты анализа представлены в табл. 8.

Пример 8. Воздействие одного из аналогов соматостатина и трех антагонистов бомбезина на мелкоклеточную карциному легких человека у "голых" мышей оценивали следующим образом. Из Национального института рака (Bethesda, MD) получали самцов "голых" мышей (бестимусных мышей с мутацией по гену nude) в возрасте 6 нед. , и содержали в условиях, близких к стерильным.

Клетки мелкоклеточного рака легких человека (SCLC, линия H69) культивировали в виде монослоя в RPMI 1640 - среде (Gibco, Grand Island, NY), дополненной 10% альбумином бычьей сыворотки, антибиотиками и противогрибковыми средствами при 37°C в увлажненной атмосфере, содержащей 5% CO₂. Ксенографты были иницированы путем подкожной инъекции 1 • 10⁷ клеток, взятых из экспоненциально растущих клеток тканевой культуры (в правый бок) пяти "голым" мышам. Через три недели образовавшиеся опухоли иссекали в асептических условиях и механически измельчали. Затем кусочки опухолевой ткани в 3 мм³ трансплантировали подкожно (с помощью иглы Трокара) 60 животным. Через две недели после трансплантации, когда опухоли увеличивались приблизительно до объема 10 мм³, животных произвольно распределяли на 5 экспериментальных групп для обработки пятью различными соединениями (начиная с первого дня по прошествии двух недель после трансплантации). Опухоли измеряли еженедельно в течение 5 нед. Объем опухоли вычисляли по формуле: (длина • ширина • высота)/6. Затем 8 животных из каждой группы умерщвляли в целях измерения массы опухолей.

В качестве первого лекарственного средства для введения "голым" мышам использовали аналог соматостатина D-Phe-Cys-Tyr-D-Trp-Lys-Val-Cys-Trp-NH₂ (обозначаемый "SI").

Первый из трех антагонистов бомбезина представлял собой пептид -D-Trp¹ -Gln² -Trp³-Ala⁴-Val⁵- Gly⁶-His⁷-Leu⁸-psi-Leu⁹-NH₂, т. е. B1. Вторым антагонистом бомбезина представлял собой:

[Trp⁶-Leu¹³-psi-Trp¹⁴] Bn (6-14), т. е. D-Trp¹ -Gln² -Trp³ -Ala⁴ -Val⁵ - Gly⁶ -His⁷ -Leu⁸ -psi-Trp⁹ -NH₂, обозначенный "B2", а третьим антагонистом был пептид 2.

Микрогранулы из памоатной соли SI в поли (DL-лактидогликолиде) получали от Cytotech A и составляли таким образом, чтобы в течение 2 нед. из аликвоты 16 мг высвобождалось около 100 мкг в день. Эти микрогранулы инъецировали каждые 15 дней со стороны, противоположной локализации опухоли. Каждый из антагонистов бомбезина растворяли в физиологическом растворе, содержащем 0,1% диметилсульфоксида, и два раза в день подкожно инъецировали в дозе 20 мкг/день. Эффект воздействия лекарственной терапии на объем опухоли показан в табл. 9 и проиллюстрирован на фиг. 2.

Пример 9. Воздействие антагонистов бомбезина на опухоли рака поджелудочной железы MIA PACA-2 оценивали следующим образом.

"Голым" мышам, аналогичным мышам, описанным в примере 8, подкожно инъецировали клетки рака поджелудочной железы человека MIA PACA-2, взятые из тканевой культуры, культивированной таким же

способом, что и SCLC в примере 8. Объемы опухолей измеряли для двух экспериментальных групп так же, как в примере 8.

Указанными двумя экспериментальными группами являлись: группа мышей, получавшая в качестве антагониста бомбезина пептид 2, и контрольная группа, получавшая лишь инъекцию наполнителя. 50 мкг указанных пептида 2 и раствора наполнителя вводили каждой мыши подкожно два раза в день.

Результаты измерения объемов опухолей представлены в табл. 10 и проиллюстрированы на фиг. 3.

Пример 10. Воздействие антагонистов бомбезина на опухоли рака поджелудочной железы человека CAPAN-2, трансплантированные "голым" мышам, оценивали следующим образом.

"Голым" мышам, аналогичным тем, что были описаны в примере 7, вводили ксенотрансплантаты опухолей поджелудочной железы человека CAPAN-2, происходящих от тканевой культуры, выращенной, как описано в примере 7. Всех мышей распределяли на две группы, а именно на контрольную группу, получавшую только раствор наполнителя, и на группу, получавшую инъекцию антагониста бомбезина (пептида 2). 50 мл указанного раствора наполнителя или пептида 2 вводили каждой мыши подкожно два раза в день.

Результаты измерения объемов опухолей представлены в табл. 11 и проиллюстрированы на фиг. 4.

Хотя изобретение описано на предпочтительных примерах его осуществления, в него могут быть внесены изменения и модификации, не выходящие, однако, за рамки объема и существа изобретения, сформулированные в формуле изобретения. При этом могут быть внесены некоторые замены, известные специалистам, и не оказывающие неблагоприятного влияния на эффективность изобретения.

Пример 11. Композиция таблеток для транс-бuccального (например, сублингвального) введения.

1. Пептид N 14 10,0 мг; прессующийся сахар, фармакопея США, 86,0 мг; стеарат кальция 4,0 мг.
2. Пептид N 14 10,0 мг; прессующийся сахар, фармакопея США, 88,5 мг; стеарат магния 1,5 мг.
3. Пептид N 14 5,0 мг; маннит, фармакопея США, 83,5 мг; крахмал-магниевый, фармакопея США, 1,5 мг.
4. Пептид N 14 10,0 мг; прежелатинизированный крахмал, фармакопея США, 10,0 мг; лактоза, фармакопея США, 74,5 мг; прежелатинизированный крахмал, фармакопея США, 15,0 мг; стеарат магния, фармакопея США, 1,5 мг.

Способ А. Пептид растворяют в воде в количестве, достаточном для образования влажной грануляционной массы при смешивании с сахарной составляющей наполнителей. По завершении перемешивания грануляционную массу высушивают на поддоне сушилки жидкого слоя. Сухую грануляционную массу затем просеивают для удаления любых больших агрегатов, а затем перемешивают с остальными компонентами. Грануляционную массу затем прессуют на стандартном оборудовании для изготовления таблеток до получения желаемой массы таблеток.

Способ В. В этом способе изготовления все рецептуры содержат 0,01% желатина, фармакопея США. Желатин первым растворяют в водном растворителе грануляционной массы, после чего растворяют пептид. Остальные этапы такие же, как в способе А, описанном выше.

Пример 12. Композиция для внутримышечного введения продолжительного действия.

Гель кунжутного масла для в/м введения продолжительного действия.

Пептид N 14 10,0 мг.

Моностеарат алюминия, фармакопея США, 20,0 мг.

Кунжутное масло до 1,0 мл.

Моностеарат алюминия соединяют с кунжутным маслом и нагревают до 125°C при перемешивании до получения прозрачного желтого раствора. Эту смесь затем помещают в автоклав для стерилизации и оставляют для охлаждения, после чего в асептических условиях добавляют пептид в режиме истирания.

Пример 13. Микрокапсулы из биоразлагаемого полимера для внутримышечного введения продолжительного действия.

Пептид N14 – 1%.

Сополимер гликолид/лактид 25/75 (характеристическая вязкость 0,5) - 99%.

Микрокапсулы (0° - 150°) описанной рецептуры, суспендированные в следующих компонентах:

Декстроза 5,0%

СМС, натрий 0,5%

Бензиловый спирт 0,9%

Твин 80 0,1%

Очищенная вода до 100,0%

25 мг микрокапсул суспендируют в 1,0 мл носителя.

Пример 14. Водный раствор для внутримышечного введения.

Пептид N 14 500 мг.

Неантигенный желатин 5 мг.

Вода для инъекций до 100 мл.

Желатин и пептид растворяют в воде для инъекций и полученный раствор фильтруют в стерильных условиях.

Пример 15. Композиция для ректального введения.

Суппозиторий-носитель для ректального введения.

Пептид N 14 5,0 мг.

Витепсол Н15 (Witepsol H15) 20,0 мг.

Пептид соединяют с расплавленным Witepsol H15, перемешивают и выливают в формы вместимостью 2 г.

Список последовательностей.

(i) Общая информация.
(i) Заявитель: Schally, Andrew V. Cai, Renzhi.
(ii) Название изобретения: Полипептидные антагонисты бомбезина
(iii) Число последовательностей: 37
(iv) Почтовый адрес:
(A) Адрес: OMPI M. BEHR, ESQ
(B) Улица: 325 PIERSON AVENUE
(C) Город: EDISON
(O) Штат: NEW JERSEY
(E) Страна: США
(F) Почтовый индекс: 08837
(v) Тип машинного считывания.
(A) Тип носителя: гибкий диск
(B) Компьютер: PC совместимый с IBM
(C) Операционная система: PC-DOS/MC-DOS
(D) Программное обеспечение: Patentin Release # 1,0, Версия # 1,25
(vi) Данные настоящей заявки.
(A) Номер заявки: US 08/031, 325
(B) Дата подачи: 15 марта 1993 г.
(C) Классификация:
(vii) Данные предшествующей заявки.
(A) Номер заявки: US07/619, 747
(B) Дата подачи: 29 ноября 1990 г.
(viii) Информация о поверенном/агенте:
(A) Имя, фамилия: BEHR, OMPI M.
(B) Регистрационный номер: 22940
(C) Номер документа/досье: SHAL3, 0-014
(ix) Телекоммуникационные данные.
(A) Телефон: (908) 494-5240.
(B) Телефакс: (908) 494-0428
(C) Телекс: 511642 BEPANEDIN.
(2) Данные последовательности SEQ 1D N1:
(i) Характеристики последовательности.
(A) Длина: 9 аминокислот
(B) Тип: аминокислотная
(C) Цепочечность: одноцепочечная
(D) Топология: линейная
(ii) Тип молекулы: пептид
(ix) Отличительная особенность.
(A) Название/ключ: различ. особенности
(B) Локализация: 1
(D) Дополнительная информация: /Прим= "остаток 1 = D-pGlu"
(ix) Отличительная особенность.
(A) Название/ключ: различ. отличительные особенности
(B) Локализация: 8
(D) Дополнительная информация: /Прим. = "Остаток 8 = редуцированная изостера лейцина
(ix) Отличительная особенность.
(A) Название/ключ: различ. отличит. особенности
(B) Локализация: 9
(D) Дополнительная информация: /прим. = "Остаток 9= Tас-NH2"
(xi) Описание последовательности EO 1 N 1.
Xaa Gln Trp Ala Val Gly His Xaa Xaa
1 5
(2) Данные последовательности SEQ ID N 2:
(i) Характеристики последовательности.
(A) Длина: 9 аминокислот
(B) Тип: аминокислотная
(C) Цепочечность: одноцепочечная
(D) Топология: линейная
(ii) Тип молекулы: пептид
(ix) Отличительная особенность.
(A) Название/ключ: различ. отличительные особенности
(B) Локализация: 1
(D) Дополнительная информация: /Прим. = "Остаток 1 = D-Phe"
(ix) Отличительная особенность.
(A) Название/Ключ: различ. отличит. особенности
(B) Локализация: 8

(O) Дополнительная информация: /Прим. = "Остаток 8 = редуцированная изостера лейцина"

(ix) Отличительная особенность.

(A) Название/ключ: различ. отличит. особенности

(B) Локализация: 9

(D) Дополнительная информация: /Прим. = "Остаток 9= Tас-NH2"

(xi) Описание последовательности SEQ ID N2.
 Xaa Gln Trp Ala Val Gly His Xaa Xaa
 1 5

(2) Данные последовательности SEQ ID N 3.

(i) Характеристики последовательности.

(A) Длина: 9 аминокислот

(B) Тип: аминокислотная

(C) Цепочечность: одноцепочечная

(D) Топология: линейная

(ii) Тип молекулы: пептид

(ix) Отличительная особенность.

(A) Название/Ключ: различ. отличительные особенности

(B) Локализация: 1

(D) Дополнительная информация: /Прим. = "Остаток 1= D-Phe"

(ix) Отличительная особенность.

(A) Название/Ключ: различ. отлич. особенности

(B) Локализация: 8

(D) Дополнительная информация: /Прим = "Остаток 8 = редуцированная изостера лейцина"

(ix) Отличительная особенность:

(A) Название/Ключ: различ. отличит. особенности

(B) Локализация: 9

(D) Дополнительная информация: /Прим. = "Остаток 8= MTас-NH2"

(xi) Описание последовательности SEQ ID B3.
 Xaa Gln Trp Ala Val Gly His Xaa Xaa
 1 5

(2) Данные последовательности SEQ ID N 4.

(i) Характеристики последовательности.

(B) Тип: аминокислотная

(A) Длина: 9 аминокислот

(B) Тип: аминокислотная

(C) Цепочечность: одноцепочечная

(D) Топология: линейная

(ii) Тип молекулы: пептид

(ix) Отличительная особенность.

(A) Название/Ключ: различ. отличительные особенности

(B) Локализация: 1

(D) Дополнительная информация: /Прим. = "Остаток 1 = Ac-D-Phe"

(ix) Отличительная особенность.

(A) Название/Ключ: различ. отличительные особенности

(B) Локализация: 8

(D) Дополнительная информация: /Прим. = "Остаток 8 = редуцированная изостера лейцина"

(ix) Отличительная особенность.

(A) Название/Ключ: различ. отличительные особенности

(B) Локализация: 9

(D) Дополнительная информация: /Прим. = "Остаток 9= Tас-NH2"

(xi) Описание последовательности SEQ ID N4.
 Xaa Gln Trp Ala Val Gly His Xaa Xaa
 1 5

(2) Данные последовательности SEQ ID N5.

(i) Характеристики последовательности.

(A) Длина: 9 аминокислот

(B) Тип: аминокислотная

(C) Цепочечность: одноцепочечная

(D) Топология: линейная

(ii) Тип молекулы: пептид

(ix) Отличительная особенность.

(A) Название/Ключ: различ. отличительные особенности

(B) Локализация: 1

(D) Дополнительная информация: /Прим. = "Остаток 1 = D-Cpa"

(ix) Отличительная особенность.

(A) Название/Ключ: различ. отличительные особенности

(B) Локализация: 8

(D) Дополнительная информация: /Прим. = "Остаток 8 = редуцированная изостера лейцина"

(ix) Отличительная особенность.

(A) Название/Ключ: различ. отличительные особенности

(B) Локализация: 9

(D) Дополнительная информация: /Прим. = "Остаток 9= Tас-NH2"

(xi) Описание последовательности SEQ ID N5.
 Xaa Gln Trp Ala Val Gly His Xaa Xaa
 1 5

(2) Данные последовательности SEQ ID N6.

(i) Характеристики последовательности.

(A) Длина: 9 аминокислот

(B) Тип: аминокислотная

(C) Цепочечность: одноцепочечная

(D) Топология: линейная

(ii) Тип молекулы: пептид

(ix) Отличительная особенность.

(A) Название/Ключ: различ. отличительные особенности

(B) Локализация: 1

(D) Дополнительная информация: /Прим. = "Остаток 1 = D-Сра"

(ix) Отличительная особенность:

(A) Название/Ключ: различ. отличительные особенности

(B) Локализация: 8

(D) Дополнительная информация: /Прим. = "Остаток 8 = редуцированная изостера лейцина"

(ix) Отличительная особенность.

(A) Название/Ключ: различ. отличительные особенности

(B) Локализация: 9

(D) Дополнительная информация: /Прим. = "Остаток 9= MTас-NH2"

(xi) Описание последовательности SEQ ID N6.
 Xaa Gln Trp Ala Val Gly His Xaa Xaa
 1 5

(2) Данные последовательности SEQ ID N7.

(i) Характеристики последовательности.

(A) Длина: 9 аминокислот

(B) Тип: аминокислотная

(C) Цепочечность: одноцепочечная

(D) Топология: линейная

(ii) Тип молекулы: пептид

(ix) Отличительная особенность.

(A) Название/Ключ: различ. отличительные особенности

(B) Локализация: 1

(D) Дополнительная информация: /Прим. = "Остаток 1 = D-Nal"

(ix) Отличительная особенность.

(A) Название/Ключ: различ. отличительные особенности

(B) Локализация: 8

(D) Дополнительная информация: /Прим. = "Остаток 8 = редуцированная изостера лейцина"

(ix) Отличительная особенность.

(A) Название/Ключ: различ. отличительные особенности

(B) Локализация: 9

(D) Дополнительная информация: /Прим. = "Остаток 9= Tас-NH2"

(xi) Описание последовательности SEQ ID N7:
 Xaa Gln Trp Ala Val Gly His Xaa Xaa
 1 5

(2) Данные последовательности SEQ ID N8:

(i) Характеристики последовательности.

(A) Длина: 9 аминокислот

(B) Тип: аминокислотная

(C) Цепочечность: одноцепочечная

(D) Топология: линейная

(ii) Тип молекулы: пептид

(ix) Отличительная особенность.

(A) Название/Ключ: различ. отличительные особенности

(B) Локализация: 1

(D) Дополнительная информация: /Прим. = "Остаток 1 = Pal"

(ix) Отличительная особенность.

(A) Название/Ключ: различ. отличительные особенности

(B) Локализация: 8

(D) Дополнительная информация: /Прим. = "Остаток 8 = редуцированная изостера лейцина"

(ix) Отличительная особенность.
 (A) Название/Ключ: различ. отличительные особенности
 (B) Локализация: 9
 (D) Дополнительная информация: /Прим. = "Остаток 9= Тас-NH2"
 (xi) Описание последовательности SEQ ID N8:
 Xaa Gln Trp Ala Val Gly His Xaa Xaa
 1 5
 (2) Данные последовательности SEQ ID N9.
 (i) Характеристики последовательности.
 (A) Длина: 9 аминокислот
 (B) Тип: аминокислотная
 (C) Цепочечность: одноцепочечная
 (D) Топология: линейная
 (ii) Тип молекулы: пептид
 (ix) Отличительная особенность.
 (A) Название/Ключ: различ. отличительные особенности
 (B) Локализация: 1
 (D) Дополнительная информация: /Прим. = "Остаток 1 = D-Pal"
 (ix) Отличительная особенность.
 (A) Название/Ключ: различ. отличительные особенности
 (B) Локализация: 8
 (D) Дополнительная информация: /Прим. = "Остаток 8 = редуцированная изостера лейцина"
 (ix) Отличительная особенность.
 (A) Название/Ключ: различ. отличительные особенности
 (B) Локализация: 9
 (D) Дополнительная информация: /Прим. = "Остаток 9= Тас-NH2"
 (xi) Описание последовательности SEQ ID N9:
 Xaa Gln Trp Ala Val Gly His Xaa Xaa
 1 5
 (2) Данные последовательности SEQ ID N10.
 (i) Характеристики последовательности.
 (A) Длина: 9 аминокислот
 (B) Тип: аминокислотная
 (C) Цепочечность: одноцепочечная
 (D) Топология: линейная
 (ii) Тип молекулы: пептид
 (ix) Отличительная особенность.
 (A) Название/Ключ: различ. отличительные особенности
 (B) Локализация: 1
 (D) Дополнительная информация: /Прим. = "Остаток 1 = D-Trp"
 (ix) Отличительная особенность.
 (A) Название/Ключ: различ. отличительные особенности
 (B) Локализация: 8
 (D) Дополнительная информация: /Прим. = "Остаток 8 = редуцированная изостера лейцина"
 (ix) Отличительная особенность.
 (A) Название/Ключ: различ. отличительные особенности
 (B) Локализация: 9
 (D) Дополнительная информация: /Прим. = "Остаток 9= Тас-NH2"
 (xi) Описание последовательности SEQ ID N10:
 Xaa Gln Trp Ala Val Gly His Xaa Xaa
 1 5
 (2) Данные последовательности SEQ ID N11.
 (i) Характеристики последовательности.
 (A) Длина: 9 аминокислот
 (B) Тип: аминокислотная
 (C) Цепочечность: одноцепочечная
 (D) Топология: линейная
 (ii) Тип молекулы: пептид
 (ix) Отличительная особенность.
 (A) Название/Ключ: различ. отличительные особенности
 (B) Локализация: 1
 (D) Дополнительная информация: /Прим. = "Остаток 1 = Ac-D-Trp"
 (ix) Отличительная особенность.
 (A) Название/Ключ: различ. отличительные особенности
 (B) Локализация: 8
 (D) Дополнительная информация: /Прим. = "Остаток 8 = редуцированная изостера лейцина"
 (ix) Отличительная особенность.

(A) Название/Ключ: различ. отличительные особенности
 (B) Локализация: 9
 (D) Дополнительная информация: /Прим. = "Остаток 9= Tас-NH₂"
 (xi) Описание последовательности SEQ ID N11:
 Xaa Gln Trp Ala Val Gly His Xaa Xaa
 1 5
 (2) Данные последовательности SEQ ID N2.
 (i) Характеристики последовательности.
 (A) Длина: 9 аминокислот
 (B) Тип: аминокислотная
 (C) Цепочечность: одноцепочечная
 (D) Топология: линейная
 (ii) Тип молекулы: пептид
 (ix) Отличительная особенность.
 (A) Название/Ключ: различ. отличительные особенности
 (B) Локализация: 1
 (D) Дополнительная информация: /Прим. = "Остаток 1 = Trp"
 (ix) Отличительная особенность.
 (A) Название/Ключ: различ. отличительные особенности
 (B) Локализация: 8
 (D) Дополнительная информация: /Прим. = "Остаток 8 = редуцированная изостера лейцина"
 (ix) Отличительная особенность.
 (A) Название/Ключ: различ. отличительные особенности
 (B) Локализация: 9
 (D) Дополнительная информация: /Прим. = "Остаток 9= Tас-NH₂"
 (xi) Описание последовательности SEQ ID N12:
 Xaa Gln Trp Ala Val Gly His Xaa Xaa
 1 5
 (2) Данные последовательности SEQ ID N13.
 (i) Характеристики последовательности.
 (A) Длина: 9 аминокислот
 (B) Тип: аминокислотная
 (C) Цепочечность: одноцепочечная
 (D) Топология: линейная
 (ii) Тип молекулы: пептид
 (ix) Отличительная особенность.
 (A) Название/Ключ: различ. отличительные особенности
 (B) Локализация: 1
 (D) Дополнительная информация: /Прим. = "Остаток 1 = D-Trp"
 (ix) Отличительная особенность.
 (A) Название/Ключ: различ. отличительные особенности
 (B) Локализация: 8
 (D) Дополнительная информация: /Прим. = "Остаток 8 = редуцированная изостера лейцина"
 (ix) Отличительная особенность.
 (A) Название/Ключ: различ. отличительные особенности
 (B) Локализация: 9
 (D) Дополнительная информация: /Прим. = "Остаток 9= Tас-NH₂"
 (xi) Описание последовательности SEQ ID N13:
 Xaa Gln Trp Ala Val Gly His Xaa Xaa
 1 5
 (2) Данные последовательности SEQ ID N14.
 (i) Характеристики последовательности.
 (A) Длина: 8 аминокислот
 (B) Тип: аминокислотная
 (C) Цепочечность: одноцепочечная
 (D) Топология: линейная
 (ii) Тип молекулы: пептид
 (ix) Отличительная особенность.
 (A) Название/Ключ: различ. отличительные особенности
 (B) Локализация: 1
 (D) Дополнительная информация: /Прим. = "Остаток 1 = Hca-Gln"
 (ix) Отличительная особенность.
 (A) Название/Ключ: различ. отличительные особенности
 (B) Локализация: 7
 (D) Дополнительная информация: /Прим. = "Остаток 7 = редуцированная изостера лейцина"
 (ix) Отличительная особенность.
 (A) Название/Ключ: различ. отличительные особенности

(B) Локализация: 8
 (D) Дополнительная информация: /Прим. = "Остаток 8= Тас-NH2"
 (xi) Описание последовательности SEQ ID N14:
 Xaa Gln Trp Ala Val Gly His Xaa Xaa
 1 5
 (2) Данные последовательности SEQ ID N15.
 (i) Данные последовательности.
 (i) Характеристики последовательности.
 (A) Длина: 9 аминокислот
 (B) Тип: аминокислотная
 (C) Цепочечность: одноцепочечная
 (D) Топология: линейная
 (ii) Тип молекулы: пептид
 (ix) Отличительная особенность.
 (A) Название/Ключ: различ. отличительные особенности
 (B) Локализация: 1
 (D) Дополнительная информация: /Прим. = "Остаток 1 = D-Phe"
 (ix) Отличительная особенность.
 (A) Название/Ключ: различ. отличительные особенности
 (B) Локализация: 8
 (D) Дополнительная информация: /Прим. = "Остаток 8 = редуцированная изостера лейцина"
 (ix) Отличительная особенность.
 (A) Название/Ключ: различ. отличительные особенности
 (B) Локализация: 9
 (D) Дополнительная информация: /Прим. = "Остаток 9= Тас-NH2"
 (xi) Описание последовательности SEQ ID N15:
 Xaa Gln Trp Ala Val Gly His Xaa Xaa
 1 5
 (2) Данные последовательности SEQ ID N15:
 Xaa His Trp Ala Val Gly His Xaa Xaa
 (2) Данные последовательности SEQ ID N16.
 (i) Характеристики последовательности.
 (A) Длина: 9 аминокислот
 (B) Тип: аминокислотная
 (C) Цепочечность: одноцепочечная
 (D) Топология: линейная
 (ii) Тип молекулы: пептид
 (ix) Отличительная особенность.
 (A) Название/Ключ: различ. отличительные особенности
 (B) Локализация: 1
 (D) Дополнительная информация: /Прим. = "Остаток 1 = D-Phe"
 (ix) Отличительная особенность.
 (A) Название/Ключ: различ. отличительные особенности
 (B) Локализация: 2
 (D) Дополнительная информация: /Прим. = "Остаток 2= Glu(OMe)"
 (ix) Отличительная особенность.
 (A) Название/Ключ: различ. отличительные особенности
 (B) Локализация: 8
 (D) Дополнительная информация: /Прим. = "Остаток 8 = редуцированная изостера лейцина"
 (ix) Отличительная особенность.
 (A) Название/Ключ: различ. отличительные особенности
 (B) Локализация: 9
 (D) Дополнительная информация: /Прим. = "Остаток 9= Тас-NH2"
 (xi) Описание последовательности SEQ ID N16:
 Xaa Gln Trp Ala Val Gly His Xaa Xaa
 1 5
 (2) Данные последовательности SEQ ID N17.
 (i) Характеристики последовательности.
 (A) Длина: 9 аминокислот
 (B) Тип: аминокислотная
 (C) Цепочечность: одноцепочечная
 (D) Топология: линейная
 (ii) Тип молекулы: пептид
 (ix) Отличительная особенность.
 (A) Название/Ключ: различ. отличительные особенности
 (B) Локализация: 1
 (D) Дополнительная информация: /Прим. = "Остаток 1 = D-Phe"

- (ix) Отличительная особенность.
- (A) Название/Ключ: различ. отличительные особенности
- (B) Локализация: 2
- (D) Дополнительная информация: /Прим. = "Остаток 2= Glu[-] "
- (ix) Отличительная особенность.
- (A) Название/Ключ: различ. отличительные особенности
- (B) Локализация: 8
- (D) Дополнительная информация: /Прим. = "Остаток 8 = редуцированная изостера лейцина"
- (ix) Отличительная особенность.
- (A) Название/Ключ: различ. отличительные особенности
- (B) Локализация: 9
- (D) Дополнительная информация: /Прим. = "Остаток 9= Tас-NH2"
- (xi) Описание последовательности SEQ ID N17:
Xaa Gln Trp Ala Val Gly His Xaa Xaa
1 5
- (2) Данные последовательности SEQ ID N18.
- (i) Характеристики последовательности.
- (A) Длина: 9 аминокислот
- (B) Тип: аминокислотная
- (C) Цепочечность: одноцепочечная
- (D) Топология: линейная
- (ii) Тип молекулы: пептид
- (ix) Отличительная особенность.
- (A) Название/Ключ: различ. отличительные особенности
- (B) Локализация: 1
- (D) Дополнительная информация: /Прим. = "Остаток 1 = D-Phe"
- (ix) Отличительная особенность.
- (A) Название/Ключ: различ. отличительные особенности
- (B) Локализация: 8
- (D) Дополнительная информация: /Прим. = "Остаток 8 = редуцированная изостера лейцина" (ix) Отличительная особенность.
- (A) Название/Ключ: различ. отличительные особенности
- (B) Локализация: 9
- (D) Дополнительная информация: /Прим. = "Остаток 9= MTас-NH2"
- (xi) Описание последовательности SEQ ID N18:
Xaa Gln Trp Ala Val Gly His Xaa Xaa
1 5
- (2) Данные последовательности SEQ ID N19.
- (i) Характеристики последовательности.
- (A) Длина: 9 аминокислот
- (B) Тип: аминокислотная
- (C) Цепочечность: одноцепочечная
- (D) Топология: линейная
- (ii) Тип молекулы: пептид
- (ix) Отличительная особенность.
- (A) Название/Ключ: различ. отличительные особенности
- (B) Локализация: 1
- (D) Дополнительная информация: /Прим. = "Остаток 1 = Ac-D-Phe"
- (ix) Отличительная особенность.
- (A) Название/Ключ: различ. отличительные особенности
- (B) Локализация: 8
- (D) Дополнительная информация: /Прим. = "Остаток 8 = редуцированная изостера лейцина"
- (ix) Отличительная особенность.
- (A) Название/Ключ: различ. отличительные особенности
- (B) Локализация: 9
- (D) Дополнительная информация: /Прим. = "Остаток 9= MTас-NH2"
- (xi) Описание последовательности SEQ ID N19:
Xaa Gln Trp Ala Val Gly His Xaa Xaa
1 5
- (2) Данные последовательности SEQ ID N20.
- (i) Характеристики последовательности.
- (A) Длина: 9 аминокислот
- (B) Тип: аминокислотная
- (C) Цепочечность: одноцепочечная
- (D) Топология: линейная
- (ii) Тип молекулы: пептид
- (x) Отличительная особенность.

(A) Название/Ключ: различ. отличительные особенности
(B) Локализация: 1
(D) Дополнительная информация: /Прим. = "Остаток 1 = D-Cpa"
(ix) Отличительная особенность.
(A) Название/Ключ: различ. отличительные особенности
(B) Локализация: 8
(D) Дополнительная информация: /Прим. = "Остаток 8 = редуцированная изостера лейцина"
(ix) Отличительная особенность,
(A) Название/Ключ: различ. отличительные особенности
(B) Локализация: 9
(D) Дополнительная информация: /Прим. = "Остаток 9= MTac-NH2"
(xi) Описание последовательности SEQ ID N20:
Xaa Gln Trp Ala Val Gly His Xaa Xaa
1 5

(2) Данные последовательности SEQ ID N21.

(i) Характеристики последовательности.

(A) Длина: 9 аминокислот
(B) Тип: аминокислотная
(C) Цепочечность: одноцепочечная
(D) Топология: линейная
(ii) Тип молекулы: пептид
(ix) Отличительная особенность.
(A) Название/Ключ: различ. отличительные

особенности

(B) Локализация: 1
(D) Дополнительная информация: /Прим. = "Остаток 1 = Trp"
(ix) Отличительная особенность.
(A) Название/Ключ: различ. отличительные особенности
(B) Локализация: 8
(D) Дополнительная информация: /Прим. = "Остаток 8 = редуцированная изостера лейцина"
(ix) Отличительная особенность:
(A) Название/Ключ: различ. отличительные особенности
(B) Локализация: 9
(D) Дополнительная информация: /Прим. = "Остаток 9= MTac-NH2"
(xi) Описание последовательности SEQ ID N21:
Xaa Gln Trp Ala Val Gly His Xaa Xaa
1 5

(2) Данные последовательности SEQ ID N22.

(i) Характеристики последовательности.

(A) Длина: 9 аминокислот
(B) Тип: аминокислотная
(C) Цепочечность: одноцепочечная
(D) Топология: линейная
(ii) Тип молекулы: пептид
(ix) Отличительная особенность.
(A) Название/Ключ: различ. отличительные особенности
(B) Локализация: 1

(D) Дополнительная информация: /Прим. = "Остаток 1 = D-Trp"
(ix) Отличительная особенность:
(A) Название/Ключ: различ. отличительные особенности
(B) Локализация: 8
(D) Дополнительная информация: /Прим. = "Остаток 8 = редуцированная изостера лейцина"
(ix) Отличительная особенность.
(A) Название/Ключ: различ. отличительные особенности
(B) Локализация: 9
(D) Дополнительная информация: /Прим. = "Остаток 9= MTac-NH2"
(xi) Описание последовательности SEQ ID N22:
Xaa Gln Trp Ala Val Gly His Xaa Xaa
1 5

(2) Данные последовательности SEQ ID N23.

(i) Характеристики последовательности.

(A) Длина: 14 аминокислот
(B) Тип: аминокислотная
(C) Цепочечность: одноцепочечная
(D) Топология: линейная
(ii) Тип молекулы: пептид
(ix) Отличительная особенность.

(A) Название/Ключ: различ. отличительные особенности
 (B) Локализация: 1
 (D) Дополнительная информация: /Прим. = "Остаток 1 = pGlu"
 (ix) Отличительная особенность.
 (A) Название/Ключ: различ. отличительные особенности
 (B) Локализация: 14
 (D) Дополнительная информация: /Прим. = "Остаток 14= Met-NH2"
 (xi) Описание последовательности SEQ ID N23:
 Xaa Gln Arg Leu Gly Asn Gln Trp Ala Val Gly His Leu Xaa
 1 5 10
 (2) Данные последовательности SEQ ID N24.
 (i) Характеристики последовательности
 (A) Длина: 10 аминокислот
 (B) Тип: аминокислотная
 (C) Цепочечность: одноцепочечная
 (D) Топология: линейная
 (ii) Тип молекулы: пептид
 (ix) Отличительная особенность:
 (A) Название/Ключ: различ. отличительные особенности
 (B) Локализация: 1
 (D) Дополнительная информация: /Прим. = "Остаток 1 = H-Gly"
 (ix) Отличительная особенность.
 (A) Название/Ключ: различ. отличительные особенности
 (B) Локализация: 10
 (D) Дополнительная информация: /Прим. = "Остаток 10= Met-NH2"
 (xi) Описание последовательности SEQ ID N24:
 Xaa Asn His Trp Ala Val Gly His Leu Xaa
 1 5 10
 (2) Данные последовательности SEQ ID N25.
 (i) Характеристики последовательности.
 (A) Длина: 9 аминокислот
 (B) Тип: аминокислотная
 (C) Цепочечность: одноцепочечная
 (D) Топология: линейная
 (ii) Тип молекулы: пептид
 (ix) Отличительная особенность.
 (A) Название/Ключ: различ. отличительные особенности
 (B) Локализация: 9
 (D) Дополнительная информация: /Прим. = "Остаток 9= Met-NH2"
 (x) Описание последовательности SEQ ID N25:
 Asn His Trp Ala Val Gly His Leu Xaa
 1 5
 (2) Данные последовательности SEQ ID N26.
 (i) Характеристики последовательности.
 (A) Длина: 11 аминокислот
 (B) Тип: аминокислотная
 (C) Цепочечность: одноцепочечная
 (D) Топология: линейная
 (ii) Тип молекулы: пептид
 (ix) Отличительная особенность.
 (A) Название/Ключ: различ. отличительные особенности
 (B) Локализация: 11
 (D) Дополнительная информация: /Прим. = "Остаток 11 = Met-NH2"
 (x) Описание последовательности SEQ ID N26:
 Arg Pro Lys Pro Gln Gln Phe Phe Gly Leu Xaa
 1 5 10
 (2) Данные последовательности SEQ ID N27.
 (i) Характеристики последовательности.
 (A) Длина: 8 аминокислот
 (B) Тип: аминокислотная
 (C) Цепочечность: одноцепочечная
 (D) Топология: линейная
 (ii) Тип молекулы: пептид
 (ix) Отличительная особенность.
 (A) Название/Ключ: различ. отличительные особенности
 (B) Локализация: 1

(D) Дополнительная информация. /Прим. = "Остаток 1= (R1) (R2)-AO-Al, где AO = делетирован; Al= D-Phe, D-Трп или D= Nal; R1 и R2 = H"

(ix) Отличительная особенность.

(A) Название/Ключ: различ. отличит. особенности

(B) Локализация: 8

(D) Дополнительная информация. /Прим. = "Остаток 8= A8-W, где W= -N(R₈)-CH(Z1)-R₄CH(Z2)-CO-V, где R₄ = CH₂NH; Z1= -CH₂CH(CH₃)₂; Z2= -CH₂SH или (CH₂)₂ -S-CH₃; V= N(R₆)R₇, где R₆, R₇ и R₈ могут быть H; R₁ и R₂ могут быть H или COEI, где EI= C₁-C₂₀-алкил"

(ix)	Описание	последовательности	SEQ	ID
N 27:	Хаа Gln Trp Ala Val Gly His Хаа			

1 5

(2) Данные последовательности SEQ N 28.

(i) Характеристики последовательности.

(A) Длина: 9 аминокислот

(B) Тип: аминокислотная

(C) Цепочечность: одноцепочечная

(D) Топология: линейная

(ii) Тип молекулы: пептид

(ix) Отличительная особенность.

(A) Название/Ключ: различ. отличительные особенности

(B) Локализация: 1

(D) Дополнительная информация. Прим. = "Остаток 1 = X-Al, где X представляет собой H, простую связь, соединяющую альфа-аминогруппу остатка Al с гамма-карбоксилем на 3-пропионильной группе глутамина (Glu), если остаток 2 является Glu; или R₁CO, где R₁ представляет собой H, C₁-C₁₀-алкил, фенил, фенил-C₁-C₁₀-алкил, p-HI-фенил, p-1-фенил-C₁-C₁₀-алкил, нафтил, нафтил-C₁-C₁₀-алкил, индолил, индолил-C₁-C₁₀-алкил, пиридил, пиридил-C₁-C₁₀-алкил; тиенил, тиенил-C₁-C₁₀-алкил, циклогексил или циклогексил-C₁-C₁₀-алкил, где HI представляет собой F, Cl, Br, OH-, CH₃, или OCH₃; либо R₁ представляет собой N(R₂) (R₃), если R₂ представляет собой H, C₁-C₁-алкил, фенил или фенил-C₁-C₁₀-алкил; R₃ представляет собой H или C₁-C₁₀-алкил; либо R₁ представляет собой R₄O, если R₄ представляет собой C₁-C₁₀-алкил, фенил или фенил-C₁-C₁₀-алкил; а Al представляет собой D-, L- или DL-аминокислотный остаток, выбранный из Phe, p-HI-Phe, pGlu, Nal, Pal, Trp, незамещенного Trp или Trp, замещенного в бензольном кольце 1 или фтором, хлором, бромом, NH₂ или C₁-C₃-алкилом; либо пептидную связь, связывающую ацильную часть остатка R₁CO с альфа-аминочастью остатка 2".

(ix) Отличительная особенность.

(A) Название/Ключ: различ. отличительные особенности

(B) Локализация: 2

(D) Дополнительная информация. /Прим. = "Остаток 2 = Gln, Glu [-], Glu(Y) или His"

(ix) Отличительная особенность.

(A) Название/Ключ: различ. отличит. особенности

(B) Локализация: 8

(D) Дополнительная информация. /Прим. = "Остаток 8= редуцированная изостера лейцина"

(ix) Отличительная особенность.

(A) Название/Ключ: различ. отличительные особенности

(B) Локализация: 9

(D) Дополнительная информация. /Прим. = "Остаток 9= A9-Q, если A9 = Tас, MTас или DMTас; и Q = NH₂ или OQI, где QI = H, фенил или фенил-C₁-C₁₀-алкил"

(x)	Описание	последовательности	SEQ	ID
N 28:	Хаа Хаа Trp Ala Val Gly His Хаа Хаа			

1 5

(2)	Данные	последовательности	SED	ID
N 29.				

(i) Характеристики последовательности.

(A) Длина: 9 аминокислот

(B) Тип: аминокислотная

(C) Цепочечность: одноцепочечная

(D) Топология: линейная

(ii) Тип молекулы: пептид

(ix) Отличительная особенность.

(A) Название/Ключ: различ. отличительные особенности

(B) Локализация: 1

(D) Дополнительная информация. / Прим. = "Остаток 1 = D-Phe"

(ix) Отличительная особенность.

(A) Название/Ключ: различ. отличительные особенности

(B) Локализация: 8				
(D) Дополнительная информация. /Прим. = "Остаток 8 = редуцированная изостера лейцина".				
(ix) Отличительная особенность.				
(ix) Отличительная особенность.				
(A) Название/Ключ: различ. отличительные особенности				
(B) Локализация: 9				
(D) Дополнительная информация. /Прим. = "Остаток 9= Tас-NH2"				
N 29:	(xi)	Описание	последовательности	SEQ ID
	Xaa Gln Trp Ala Val Gly His Xaa Xaa			
N 30.	1 5			
	(2)	Данные	последовательности	SEQ ID
(i) Характеристики последовательности				
(A) Длина: 9 аминокислот				
(B) Тип: аминокислотная				
(C) Цепочечность: одноцепочечная				
(D) Топология: линейная				
(ii) Тип молекулы: пептид				
(ix) Отличительная особенность.				
(A) Название/Ключ: различ. отличительные особенности				
(B) Локализация: 1				
(D) Дополнительная информация. /Прим. = "Остаток 1 = D-Trі"				
(ix) Отличительная особенность.				
(A) Название/Ключ: различ. отличит. особенности				
(B) Локализация: 8				
(D) Дополнительная информация. /Прим. = "Остаток 8 = редуцированная изостера лейцина"				
(ix) Отличительная особенность.				
(A) Название/Ключ: различ. отличит. особенности				
(B) Локализация: 9				
(D) Дополнительная информация. /Прим. = "остаток 9 = Leu-NH2"				
N 30.	(xi)	Описание	последовательности	SEQ ID
	Xaa Gln Trp Ala Val Gly His Xaa Xaa			
N 31.	1 5			
	(2)	Данные	последовательности	SEQ ID
(i) Характеристики последовательности.				
(A) Длина: 8 аминокислот				
(B) Тип: аминокислотная				
(C) Цепочечность: одноцепочечная				
(D) Топология: линейная				
(ii) Тип молекулы: пептид				
(ix) Отличительная особенность.				
(A) Название/Ключ: различ. отличительные особенности				
(B) Локализация: 1				
(D) Дополнительная информация. /Прим. = "остаток 1 = D-Phe"				
(ix) Отличительная особенность.				
(A) Название/Ключ: различ. отличительные особенности				
(B) Локализация: 4				
(D) Дополнительная информация. /Прим. = "Остаток 4 = D-Trp"				
(ix) Отличительная особенность.				
(A) Название/Ключ: различ. отличит. особенности				
(B) Локализация: 8				
(D) Дополнительная информация. /Прим. = "Остаток 8= Trp-NH2"				
(xi) Описание последовательности SEQ ID				
N 31:				
Xaa Cys Xaa Lys Val Cys Xaa				
1 5				
(2) Данные последовательности SEQ ID N 32.				
(i) Характеристики последовательности.				
(A) Длина: 9 аминокислот				
(B) Тип: аминокислотная				
(C) Цепочечность: одноцепочечная				
(D) Топология: линейная				
(ii) Тип молекулы: пептид				
(ix) Отличительная особенность.				

- (A) Название/Ключ: различ. отличительные особенности
- (B) Локализация: 1
- (D) Дополнительная информация. /Прим. = "Остаток 1 = D-Tri"
- (ix) Отличительная особенность.
- (A) Название/Ключ: различ. отличит. особенности
- (B) Локализация: 8
- (D) Дополнительная информация. /Прим. = "Остаток 8 = редуцированная изостера лейцина"
- (ix) Отличительная особенность.
- (A) Название/Ключ: различ. отличит. особенности
- (B) Локализация: 9
- (D) Дополнительная информация. /Прим. = "Остаток 9= Tri-NH2"
- (xi) Описание последовательности SEQ ID N 32:
Xaa Gln Trp Ala Val Gly His Xaa Xaa
1 5

(2) Данные последовательности SEQ ID N 32.

(2) Данные последовательности SEQ ID N 33.

(i) Характеристики последовательности.

(A) Длина: 9 аминокислот

(B) Тип: аминокислотная

(C) Цепочность: одноцепочечная

(D) Топология: линейная

(ii) Тип молекулы: пептид

(ix) Отличительная особенность.

(A) Название/Ключ: различ. отличит. особенности

(B) Локализация: 1

(D) Дополнительная информация. /Прим. = "Остаток 1 = X-Al, где X = H или Ac; а Al = D-Phe, L- или D-

Tri"

(ix) Отличительная особенность.

(A) Название/Ключ: различ. отличит. особенности

(B) Локализация: 8

(D) Дополнительная информация. /Прим. = "Остаток 8 = редуцированная изостера лейцина"

(ix) Отличительная особенность.

(A) Название/Ключ: различ. отличит. особенности

(B) Локализация: 9

(D) Дополнительная информация. /Прим. = "остаток 9 = Tас-NH2"

(xi) Описание последовательности SEQ ID N 33:

Xaa Gln Trp Ala Val Gly His Xaa Xaa

1 5

(2) Данные последовательности SEQ ID N 34.

(i) Характеристики последовательности.

(A) Длина: 9 аминокислот

(B) Тип: аминокислотная

(C) Цепочность: одноцепочечная

(D) Топология: линейная

(ii) Тип молекулы: пептид

(ix) Отличительная особенность.

(A) Название/Ключ: различ. отличит. особенности

(B) Локализация: 1

(D) Дополнительная информация. /Прим. = "Остаток 1 = X-Al, где X = H или Ac, а Al = D-Phe, L- или

D-Tri"

(ix) Отличительная особенность.

(A) Название/Ключ: различ. отличит. особенности

(B) Локализация: 8

(D) Дополнительная информация. /Прим. = "Остаток 1 редуцированная изостера лейцина"

(ix) Отличительная особенность.

(A) Название/Ключ: различ. отличит. особенности

(B) Локализация: 9

(D) Дополнительная информация. /Прим. = "Остаток 9= MTас-NH2"

(xi) Описание последовательности SEQ ID N34:

Xaa Gln Trp Ala Val Gly His Xaa Xaa

1 5

(2) Данные последовательности SEQ ID N35.

(i) Характеристики последовательности.

(A) Длина: 9 аминокислот

(B) Тип: аминокислотная

(C) Цепочность: одноцепочечная

(D) Топология: линейная

- (ii) Тип молекулы: пептид
 (ix) Отличительная особенность.
 (A) Название/Ключ: различ. отличит. особенности
 (B) Локализация: 1
 (D) Дополнительная информация. /Прим. = "Остаток 1 = X-A1, где X представляет собой водород, простую связь, соединяющую альфа-аминогруппу остатка A1 с гамма-карбоксилем на 3-пропионильной группе глутамина, если остаток 2 является Glu; либо R₁CO, где R₁ является водородом, C₁-C₁₀ -алкилом, фенилом, фенил-C₁-C₁₀-алкилом; либо R₁ является N(R₂)(R₃), где R₂ представляет собой водород, C₁-C₁₀ -алкил, фенил или фенил-C₁-C₁₀-алкил; R₃ представляет собой H или C₁-C₁₀-алкил; или R₁ представляет собой R₄, где R₄ является C₁-C₁₀ -алкилом, фенилом или фенил-C₁-C₁₀ -алкилом; а A1 является L-, D- Pal, L- или D-Tri"
- (ix) Отличительная особенность.
 (A) Название/Ключ: различ. отличит. особенности
 (B) Локализация: 2
 (D) Дополнительная информация. /Прим. = "Остаток 2 = Gln, Glu [-], Giu (Y) или His"
- (x) Отличительная особенность.
 (A) Название/Ключ: различ. отличит. особенности
 (B) Локализация: 8
 (D) Дополнительная информация. /Прим. = "Остаток 8 = редуцированная изостера лейцина"
- (x) Отличительная особенность.
 (A) Название/Ключ: различ. отличит. особенности
 (B) Локализация: 9
 (D) Дополнительная информация. /Прим. = "Остаток 9 = A9-0, где A9 представляет собой Cys или Pen, а Q представляет собой NH₂ или OQ₁, где Q₁ является водородом, C₁-C₁₀-алкилом, фенилом или фенил-C₁-C₁₀-алкилом"
- | (xi) | Описание | последовательности | SEQ | ID |
|-------|---|--------------------|-----|----|
| N 35: | Хаа Хаа Trp Ala Val His Хаа Хаа | | | |
| | 1 5 | | | |
| (2) | Данные | последовательности | SEQ | ID |
| N 36. | (i) Характеристики последовательности.
(A) Длина: 8 аминокислот
(B) Тип: аминокислотная
(C) Цепочечность: одноцепочечная
(D) Топология: линейная
(ii) Тип молекулы: пептид
(ix) Отличительная особенность.
(A) Название/Ключ: различ. отличит. особенности
(B) Локализация: 1
(D) Дополнительная информация. /Прим. = "Остаток 1 = X-A1-Gln, где X представляет собой Hca, Hna, Paa, Mpp, Hpp или Naa; а A1 представляет собой пептидную связь, связывающую ацильную часть остатка X с альфа-амино-частью Gln" | | | |
| | (ix) Отличительная особенность.
(A) Название/Ключ: различ. отличит. особенности
(B) Локализация: 7
(D) Дополнительная информация. /Прим. = "Остаток 7 = редуцированная изостера лейцина" | | | |
| | (ix) Отличительная особенность.
(A) Название/Ключ: различ. отличит. особенности
(B) Локализация: 8
(D) Дополнительная информация. /Прим. = "Остаток 8= Tас-NH ₂ " | | | |
| (x) | Описание | последовательности | SEQ | ID |
| N 36. | Хаа Trp Ala Val Gly His Хаа Хаа | | | |
| | 1 5 | | | |
| (2) | Данные | последовательности | SEQ | ID |
| N 37. | (i) Характеристики последовательности.
(A) Длина: 9 аминокислот
(B) Тип: аминокислотная
(C) Топология: линейная
(D) Цепочечность: одноцепочечная
(ii) Тип молекулы: пептид
(ix) Отличительная особенность.
(A) Название/Ключ: различ. отличит. особенности
(B) Локализация: 1
(D) Дополнительная информация /Прим. = "Остаток 1 = pGlu" | | | |

(ix) Отличительная особенность.

(A) Название/Ключ: различ. отличит. особенности

(B) Локализация: 9

(D) Дополнительная информация /Прим. = "Остаток 9= Met-NH2"

(xi) Описание последовательности

SEQ

ID

N 37.

Хаа Gln Trp Ala Gly His Leu Хаа

1 5n

Таблица 1

Пептид №	Данные аналитической ВЭЖХ Градиент %, В/мин	Время удерживания на колонке I
1	25-65	14,40
2	25-65	14,20
4	25-75	15,17
5	25-65	16,11
7	20-60	23,75
8	20-60	13,19
9	25-65	12,00
10	25-65	16,98
11	25-65	24,50
12	25-65	19,91
13	25-65	16,99
14	40-80	13,68

Таблица 2

Пептид I	Данные аналитической ВРЖХ Градиент %, В/мин	Время удерживания на колонке I
15	20-60	17,23
16	25-65	19,13
17	20-60	20,34

Таблица 3

Пептид	Данные аналитической ВРЖХ Градиент %, В/мин	Время удерживания на колонке I
3	25-65	15,71
6	25-65	17,37

Таблица 4

Пептид I	Данные аналитической ВРЖХ Градиент %, В/мин	Время удерживания на колонке I
18	25-65	14,1
19	25-65	22,96
20	25-65	15,97
21	25-65	19,19
22	25-65	16,53

Таблица 5

Пептид №	Данные аналитической ВРЖХ Градиент %, В/мин	Время удерживания на колонке I
5/08	20-60	5,56
5/09	25-65	4,60
5/12	25-65	12-78
5/13	25-65	9-62
5/14	40-80	7,39

Таблица 6

Ингибирование связывания ^{125}I -Tyr⁴ - бомбезина с клетками Swiss 3T3 антагонистами бомбезина

Пептид №	K _i [нМ] K _i [нМ]
01	5,0
02	0,078
03	13
04	13
05	0,007
06	4,3
07	0,009
08	4,5
09	8,8
10	0,11
11	5,4
12	<0,001
13	<0,001
14	<0,001
15	0,26
16	12
17	213
18	0,93
19	20
20	13
21	0,07
22	0,074
D-Tpi-Gin-Trp-Ala-Val-Gly-His-Leu-psi-Leu-NH ₂ ^a	0,20
Бомбензин ^b	0,28

Примечание: а) среднее значение по 6 тестам; б) среднее значение по 11 тестам.

Таблица 7

Воздействие антагонистов бомбезина на объем опухолевой
эстрогеннезависимого рака молочной железы МХТ мыши

Пептид	Объем опухоли (дни)		
	10	14	17
Контроль	729	2565	5000
[D-Tpi ⁶ -Leu ¹³ -psi-Leu ¹⁴]-Bn(6-14) ("B1")	363*	2437	3742*
[D-Tpi ⁶ -Leu ¹³ -psi-Tac ¹⁴]-Bn(6-14), ie Peptide No.2 т.е. пептид № 2	360*	1477*	3323**

Двусторонняя овариэктомия			
---------------------------	--	--	--

*p<0,05 **p<0,01

Таблица 8

Соединение, введенное мышам, имеющей эстрогеннезависимую опухоль молочной железы МХТ	Масса опухоли, г
Контроль	8,45±0,23
[D-Trp ⁶ -Leu ¹³ - <u>psi</u> -Leu ¹⁴]Bn(6-14)	7,36±0,46
Пептид № 2	5,48±1,00**

Данные представляют собой средние значения ± ср. кв. ош. ^{xx} p<0,01

Таблица 9

Воздействие антагонистов бомбезина на размер (объем) С С-опухолей

Пептид				Объем опухоли (дни)		
	0	7	14	21	28	35
Контроль	10,5±0,5	19,3±1,4	31,6±5,6	63,8±10,6	142,8±37,5	249,7±74,3
S1	9,8±0,8	14,4±1,5	15,8±1,3	18,4±2,9	33,2±9,0	66,0±12,1
B1	11,2±0,8	13,3±1,2	17±3,4	24,7±8,2	55±24,5	80,2±27,2
B2	10±1,1	11,7±1,2	14,7±2,4	24,5±7,9	45±15	74,1±31,8
Пептид №2	11,6±1,7	7,4±1,8	8,9±2,3	14,3±6,3	19,2±9,4	49,0±21,0

Таблица 10

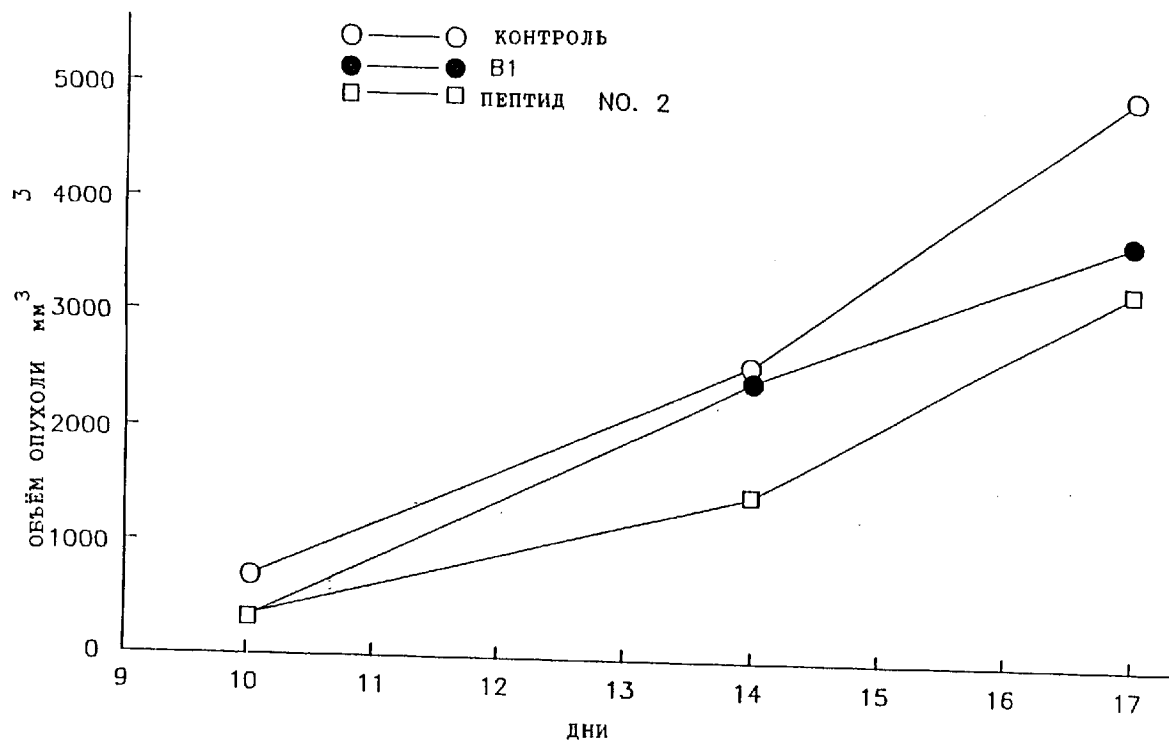
Воздействие антагонистов бомбезина на объем опухолей (мм³) рака поджелудочной железы MIA-PACA-2

Пептид			Объем опухоли (дни)	
	0	7	11	15
Контроль	45,6±7,9	254,2±59,8	645,1±128,6	855,9±145,4
Пептид №2	29,8±4,3	252,3±98,9	427,9±122,6	634,1 ±174,0

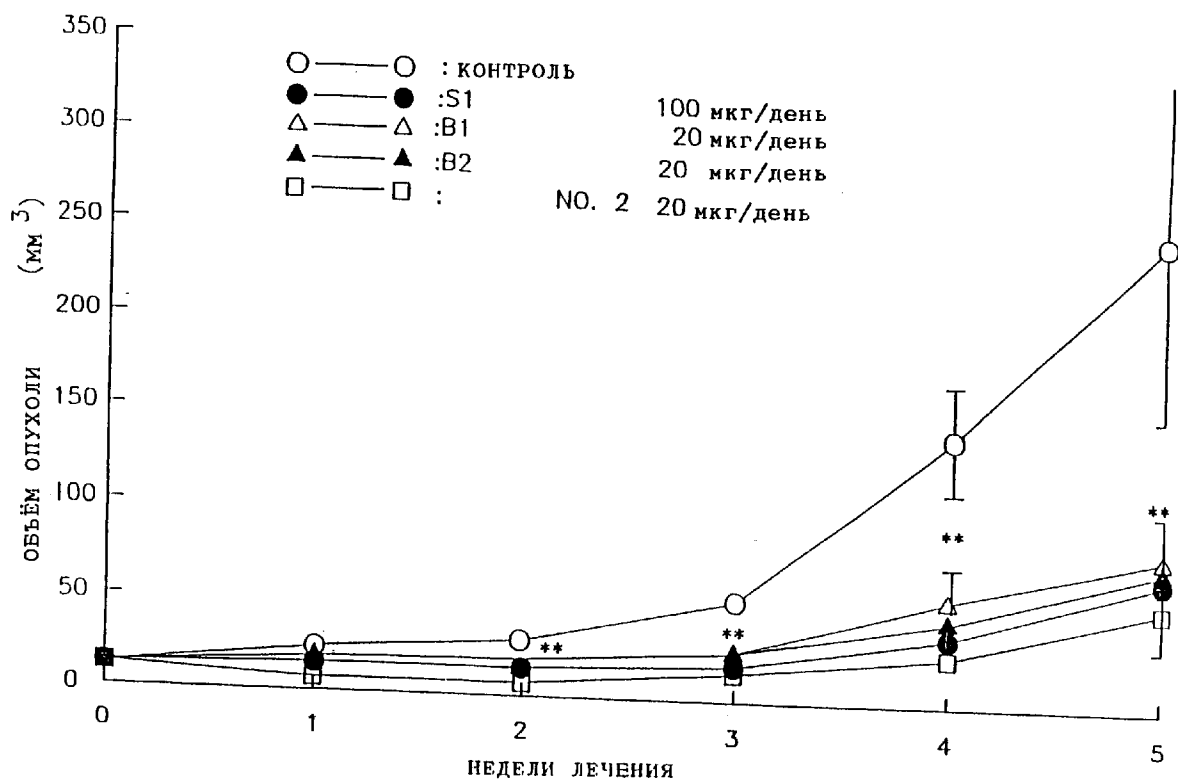
Таблица 11

Воздействие антагонистов бомбезина на объем опухолей (мм³) рака поджелудочной железы CAPAN

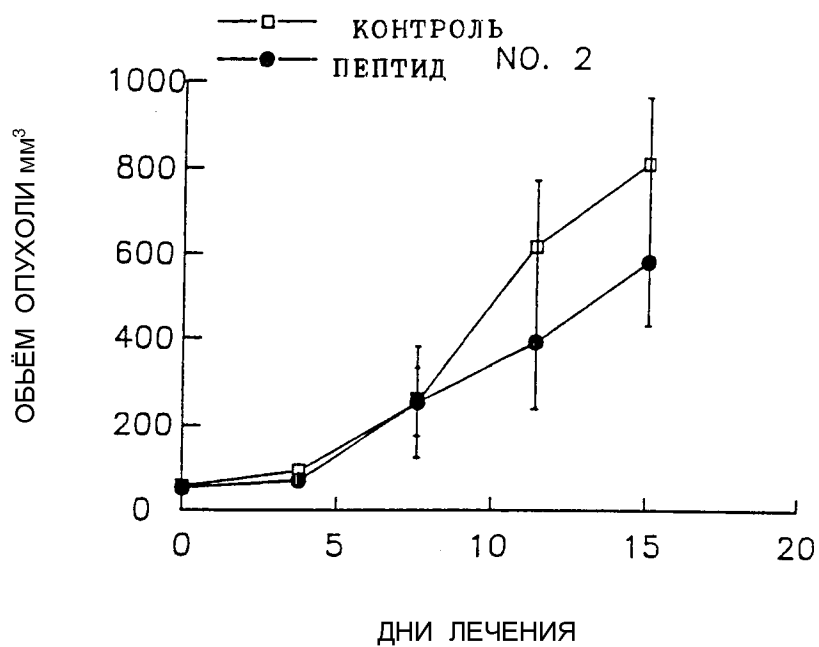
Пептид			Объем опухоли (дни)		
	0	7	14	21	28
Контроль	21,2±1,7	28,3±2,3	43,0±3,6	51,4±8,9	78,8±16,7
Пептид №2	19,7±1,7	27,8±3,3	32,2±3,5	46,4±3,0	50,5±17,8



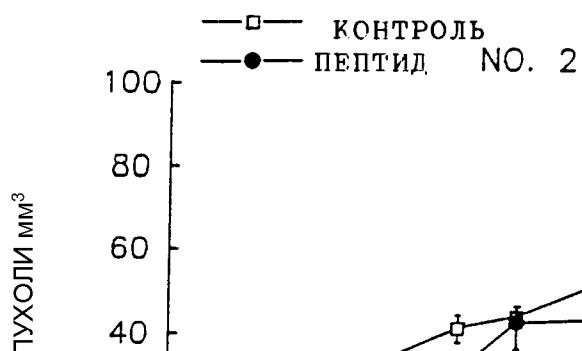
Фиг. 1



Фиг. 2



Фиг. 3



ДНИ ЛЕЧЕНИЯ

Фиг. 4

Тираж 50 екз.

Відкрите акціонерне товариство «Патент»
Україна, 88000, м. Ужгород, вул. Гагаріна, 101
(03122) 3 – 72 – 89 (03122) 2 – 57 – 03
