



ФЕДЕРАЛЬНАЯ СЛУЖБА
ПО ИНТЕЛЛЕКТУАЛЬНОЙ СОБСТВЕННОСТИ,
ПАТЕНТАМ И ТОВАРНЫМ ЗНАКАМ

(12) ОПИСАНИЕ ИЗОБРЕТЕНИЯ К ПАТЕНТУ

(21), (22) Заявка: 2008120196/13, 22.05.2008

(24) Дата начала отсчета срока действия патента:
22.05.2008

(45) Опубликовано: 10.12.2009 Бюл. № 34

(56) Список документов, цитированных в отчете о
поиске: RU 2000129133 A, 20.10.2002.

GROUZMANN E. et al., Characterization of a selective antagonist of neuropeptide Y at the Y2 receptor. Synthesis and pharmacological evaluation of a Y2 antagonist, J.Biol. Chem., 1997, v.272, n.12, p.:7699-7706. US 7,144,982, 05.12.2006.

Адрес для переписки:

107023, Москва, ул.Большая Семеновская,
д.49, офис 404, ООО "КОНА-ПАТЕНТ",
Н.С.Ковальчук

(72) Автор(ы):

ГОЛУБОВИЧ Владимир Петрович (BY),
ГОРАНОВ Виталий Анатольевич (BY),
Коваленко Александр Павлович (RU),
МЕЛЬНИК Ольга Викторовна (BY),
ШУТОВА Ирина Владимировна (BY)

(73) Патентообладатель(и):

ИБМЕД ХОЛДИНГС ЛИМИТЕД (CY)

RU 2 375 373 С1

(54) ОЛИГОПЕПТИД, ОБЛАДАЮЩИЙ АКТИВНОСТЬЮ ФАКТОРА РОСТА СОСУДИСТОГО ЭНДОТЕЛИЯ (VEGF) ПО ОТНОШЕНИЮ К СТИМУЛИРОВАНИЮ АНГИОГЕНЕЗА

(57) Реферат:

Изобретение относится к области биотехнологии, конкретно к получению биологически активных веществ пептидной природы, обладающих активностью фактора роста сосудистого эндотелия (VEGF) по отношению к стимулированию ангиогенеза, и может быть использовано в медицине. Путем *in silico* конструирования получают олигопептид общей формулы I: A-X1-X2-X3-X4-X5-B (I), где A представляет собой Ac; X1

представляет собой K или R; X2 представляет собой Q, или E, или N, или D; X3 представляет собой R или K; X4 представляет собой T, или F, или S, или L, или отсутствует, X5 представляет собой K, или R, или отсутствует и B представляет собой OMe. Изобретение позволяет получить олигопептид, обладающий активностью VEGF, и расширить арсенал эффективных терапевтических средств, ускоряющих восстановление поврежденных тканей. 4 ил.

RU 2 375 373 С1

R U 2 3 7 5 3 7 3 C 1



Фиг. 1

R U 2 3 7 5 3 7 3 C 1



(51) Int. Cl.
C07K 5/08 (2006.01)
C07K 7/06 (2006.01)

FEDERAL SERVICE
FOR INTELLECTUAL PROPERTY,
PATENTS AND TRADEMARKS

(12) ABSTRACT OF INVENTION

(21), (22) Application: 2008120196/13, 22.05.2008

(24) Effective date for property rights:
22.05.2008

(45) Date of publication: 10.12.2009 Bull. 34

Mail address:
107023, Moskva, ul.Bol'shaja Semenovskaja, d.49,
ofis 404, OOO "KONA-PATENT",
N.S.Koval'chuk

(72) Inventor(s):
GOLUBOVICH Vladimir Petrovich (BY),
GORANOV Vitalij Anatol'evich (BY),
Kovalenko Aleksandr Pavlovich (RU),
MEL'NIK Ol'ga Viktorovna (BY),
ShUTOVA Irina Vladimirovna (BY)

(73) Proprietor(s):
IBMED KhOLDINGS LIMITED (CY)

**(54) OLIGOPEPTIDE WITH ACTIVITY OF VASCULAR ENDOTHELIUM GROWTH FACTOR (VEGF)
WITH RESPECT TO ANGIOGENESIS STIMULATION**

(57) Abstract:

FIELD: medicine.

SUBSTANCE: invention concerns preparation of peptide biologically active substances with activity of vascular endothelium growth factor (VEGF) with respect to angiogenesis stimulation, and can be used in medicine. In silico design is used for making oligopeptide of general formula I: A-X1-X2-X3-X4-X5-B (I) where A is Ac; X1 represents K or R; X2 represents either Q, or E, or N or D; X3 represents R or K; X4 represents either T, or F, or S, or L, or is absent, X5 represents To, or R, or is absent, and B represents OMe.

EFFECT: preparation of oligopeptides with VEGF activity, and extension of range of effective therapeutic agents that accelerates neogenesis.

4 dwg, 2 ex



Фиг. 1

R U 2 3 7 5 3 7 3 C 1

R U

R U 2 3 7 5 3 7 3 C 1

5 Настоящее изобретение относится к области биоорганической химии, биохимии и медицины, а именно к биологически активным веществам пептидной природы, обладающих активностью факторов роста по отношению к стимулированию аngиогенеза, и может найти применение в медицине, ветеринарии, а также в экспериментальной биохимии.

10 Ангиогенез - это процесс образования новых кровеносных сосудов в органе или ткани. Ангиогенез включает в себя пролиферацию и миграцию эндотелиальных клеток в первичных васкулярных структурах и способствует вакуляризации

15 эктодермальных и мезенхимных органов, реконструкции капиллярной сети. Ангиогенез необходим для нормального роста эмбриональных и постнатальных тканей, пролиферации эндометрия, заживления ран, коллатерализации, стимулированной ишемией. Кроме того, ангиогенез наблюдается при опухолевом росте.

20 15 В норме в организме процессы ангиогенеза протекают с умеренной интенсивностью только при регенерации поврежденных тканей, реканализации тромбов, ликвидации очагов воспаления, образовании рубца и тому подобных процессах восстановления, а также при росте и развитии организма.

25 20 При физиологической индукции ангиогенеза тканями вырабатывается набор факторов роста, важнейшими из которых являются фактор роста сосудистого эндотелия (VEGF) [1] и основной фактор роста фибробластов (bFGF) [2].

30 25 Фактор роста сосудистого эндотелия - это гликопротеин, связывающийся только с эндотелиальными клетками и стимулирующий их пролиферацию. Он принадлежит к семейству структурно близких между собой белков, которые являются лигандами для семейства тиразинкиназных рецепторов. VEGF влияет на развитие новых кровеносных сосудов и выживание незрелых кровеносных сосудов (сосудистая поддержка), связываясь с двумя близкими по строению мембранными тиразинкиназными 35 30 рецепторами (рецептором-1 VEGF и рецептором-2 VEGF) и активируя их. Эти рецепторы экспрессируются клетками эндотелия стенки кровеносных сосудов. Связывание VEGF с этими рецепторами запускает сигнальный каскад, который в конечном итоге стимулирует рост эндотелиальных клеток сосуда, их выживание и пролиферацию.

40 35 Основной фактор роста фибробластов bFGF (FGF-2) является гепаринсвязывающим белком и относится к FGF-семейству, к которому, в частности, относится и фактор роста сосудистого эндотелия VEGF. Молекулярная масса различных форм bFGF колеблется от 16800 до 25000 дальтон. В исследованиях *in vitro* [3] и *in vivo* [4] обнаружен синергизм между VEGF и bFGF в индукции ангиогенеза.

45 40 Задачей настоящего изобретения является расширение арсенала эффективных терапевтических средств, ускоряющих восстановления поврежденных тканей. Основной технический результат, который может быть получен при осуществлении настоящего изобретения, заключается в реализации данного назначения: создании новых олигопептидов, обладающих активностью факторов роста по отношению к стимулированию ангиогенеза, общей формулы:

50 А-Х1-Х2-Х3-Х4-Х5-В,

где А представляет собой Ac;

Х1 представляет собой Lys или Arg;

Х2 представляет собой Gin, Glu, Asn или Asp;

Х3 представляет собой Arg или Lys;

Х4 представляет собой Thr, Phe, Ser, Leu или отсутствует,

Х5 представляет собой Lys, Агд или отсутствует и

В представляет собой ОМе,

при этом размер олигопептидов, проявляющих данную активность, варьируется от три- до пентапептидов.

5 В формуле: Ac-ацетил, Lys-лизин, Arg-аргинин, Gin-глутамин, Glu-глутаминовая кислота, Asn-аспаргин, Asp-аспарагиновая кислота, Thr-треонин, Phe-фенилаланин, Ser-серин, Leu-лейцин, ОМе-метил.

В отличие от производства чистых белков синтез заявляемых олигопептидов

10 осуществляется по упрощенной и недорогостоящей технологии, что снижает стоимость новых препаратов, сказывается на их доступности и, следовательно, расширяет возможности их применения.

15 Формула заявляемых олигопептидов была выявлена по результатам компьютерного конструирования участков связывания фактора роста сосудистого эндотелия VEGF и основного фактора роста фибробластов bFGF с рецепторами поверхности стволовых клеток. Компьютерное конструирование участков связывания VEGF и bFGF с их рецепторами проводили с помощью программного комплекса [5], осуществляющего компьютерное моделирование пространственной 20 структуры белковых молекул и дизайн низкомолекулярных соединений, ответственных за биологическую функцию белка.

25 Нижеследующие чертежи составляют часть описания настоящего изобретения и включены для дополнительной демонстрации некоторых аспектов настоящего изобретения. Настоящее изобретение можно лучше понять путем обращения к одному или нескольким из этих чертежей в сочетании с подробным описанием 30 представленных здесь конкретных вариантов осуществления настоящего изобретения.

На чертежах представлены:

фиг.1 - пространственная структура фрагмента белка VEGF [6];

30 фиг.2 - пространственная структура фрагмента фактора роста сосудистого эндотелия VEGF с идентифицированным функциональным сайтом (функциональные сайты в каждом из двух гомологичных доменов белка выделены);

фиг.3-пространственная структура фрагмента белка bFGF [7];

35 фиг.4 - пространственная структура фрагмента белка bFGF с идентифицированным функциональным сайтом (функциональный сайт).

Пример 1

In silico конструирование функционального сайта VEGF на основе пространственной структуры белка VEGF

40 Для осуществления конструирования функционального сайта VEGF использовалась компьютерная программа [5].

Исходными данными для работы послужили первичные и пространственные структуры белков, импортированные из банка данных Protein Data Bank [8]. В базе 45 данных банка проводили поиск пространственной структуры VEGF. В результате для компьютерного конструирования отобрали пространственную структуру VEGF [6] (фиг.1).

Далее проводили компьютерное моделирование, которое позволило идентифицировать пространственно сближенные аминокислотные остатки, находящиеся на поверхности глобулы белка VEGF и принимающие участие во взаимодействии VEGF с его рецептором (фиг.2). На основе полученных данных спрогнозировали формулу заявляемых олигопептидов.

Пример 2

In silico конструирование функционального сайта bFGF на основе пространственной структуры белка bFGF.

Для осуществления конструирования функционального сайта bFGF использовалась компьютерная программа [5].

Исходными данными для работы послужили первичные и пространственные структуры белков, импортированные из банка данных Protein Data Bank [8]. В базе данных банка проводили поиск пространственной структуры bFGF. В результате для компьютерного конструирования отобрали пространственную структуру bFGF [7] (фиг.3).

Далее проводили компьютерное моделирование, которое позволило идентифицировать пространственно сближенные аминокислотные остатки, находящиеся на поверхности глобулы белка bFGF и принимающие участие во взаимодействии bFGF с его рецептором (фиг.4). На основе полученных данных спрогнозировали формулу заявляемых олигопептидов.

Идентифицированные участки связывания являются структурными аналогами эпитопов, определенных для VEGF (см. пример 1), что подтверждает активность in silico спрогнозированных соединений по отношению к стимулированию ангиогенеза.

Из представленных на фиг.2 и фиг.4 данных по результатам компьютерного моделирования можно сделать вывод, что заявляемые олигопептиды представляют собой функциональный сайт VEGF и bFGF, принимающий участие в связывании с рецепторами на поверхности стволовых клеток и стимулирующий ангиогенез. Данное соединение может найти применение в медицине и ветеринарии в качестве средства с ранозаживляющим действием, ускоряющего регенерацию поврежденных тканей, образование рубца и другие подобные процессы восстановления поврежденных тканей.

Источники информации

1. Dvorak H.F., Brown L.F., Detmar M. and Dvorak A.M. Vascular permeability factor/vascular endothelial growth factor, microvascular hyperpermeability and angiogenesis. // Am. J. Pathol. 1995. 146, 1029-1039.
2. Parsons-Wingerter, P. Fibroblast growth factor-2 selectively stimulates angiogenesis of small vessels in arterial tree. / P. Parsons-Wingerter [et al.] // Arteriosclerosis, Thrombosis, and Vascular Biology. - 2000. Vol.20. - P. 1250.
3. Pepper, M.S. Potent synergism between vascular endothelial growth factor and basic fibroblast growth factor in the induction of angiogenesis in vitro I M.S. Pepper [et al.] // Biochemical and Biophysical Research Communications. - 1995. - Vol.189, №2. - P.824-831.
4. Asahara, T. Synergistic effect of vascular endothelial growth factor and basic fibroblast growth factor on angiogenesis in vivo I Takayuki Asahara [et al.] // Circulation. - 1995. - Vol.92. - P.365-371.
5. Шутова И.В. Компьютерное моделирование пространственной структуры белковых молекул / И.В.Шутова, Л.М.Чемитова, В.П.Голубович. // Химия, структура и функция биомолекул; Тез.докл. - Мн., 2006. - С.Р.162.
6. <http://www.rcsb.org/pdb/explore.do?structureId=2C7W>.
7. <http://www.rcsb.org/pdb/explore.do?structureId=1 BFG>.
8. <http://www.rcsb.org/pdb/home/home.do>.

Формула изобретения

Олигопептид общей формулы I:

A-X1-X2-X3-X4-X5-B (I),

где А представляет собой Ac;
Х1 представляет собой K или R;
Х2 представляет собой Q, или E, или N или D;
Х3 представляет собой R или K;
Х4 представляет собой T, или F, или S, или L или отсутствует,
Х5 представляет собой K или R или отсутствует и
В представляет собой OMe,
обладающий активностью факторов роста сосудистого эндотелия (VEGF) по
отношению к стимулированию ангиогенеза, при этом размер олигопептида
варьируется от три- до пентапептида.

15

20

25

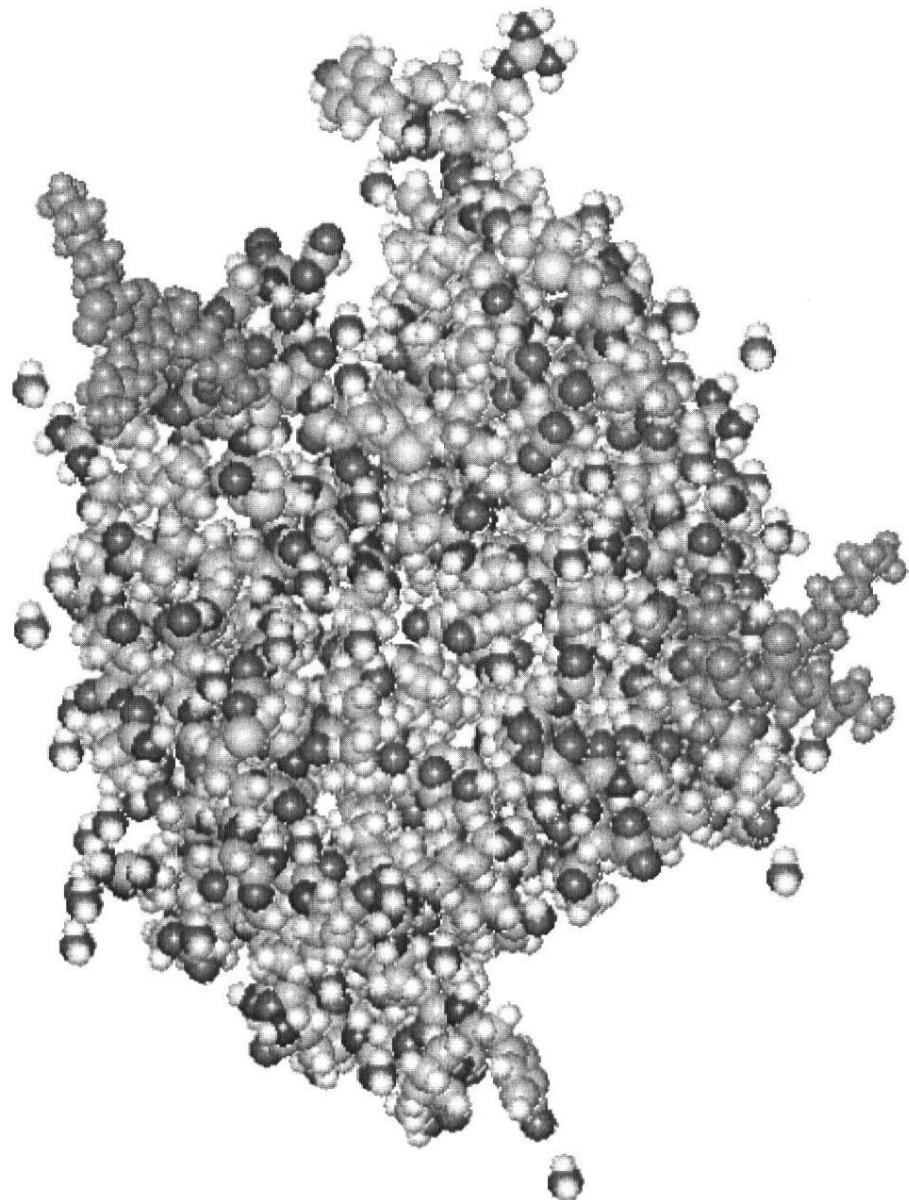
30

35

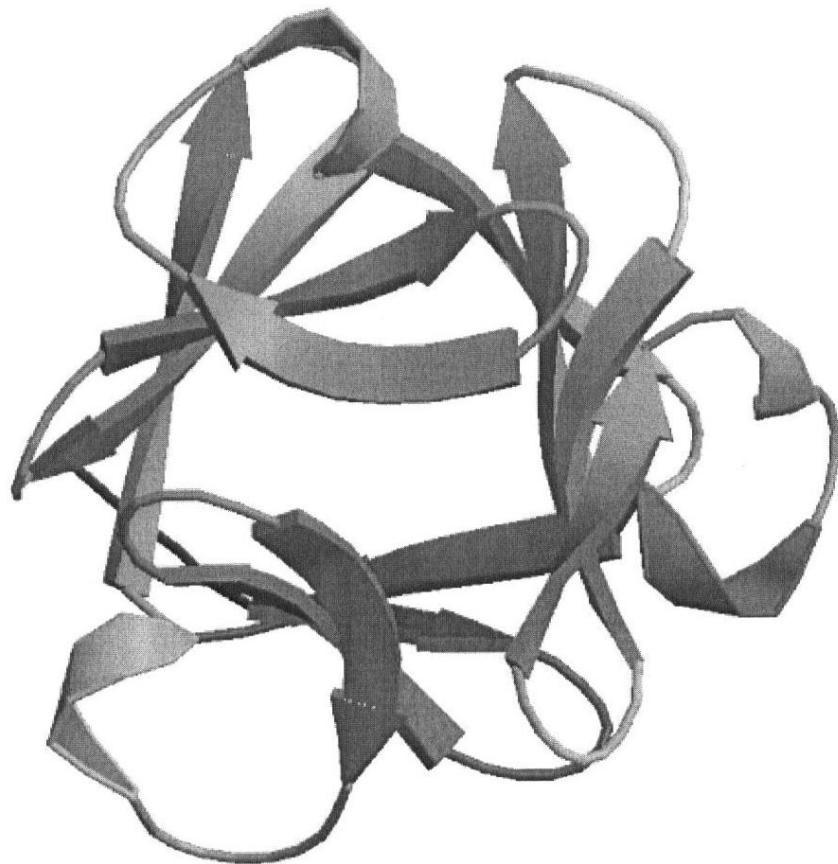
40

45

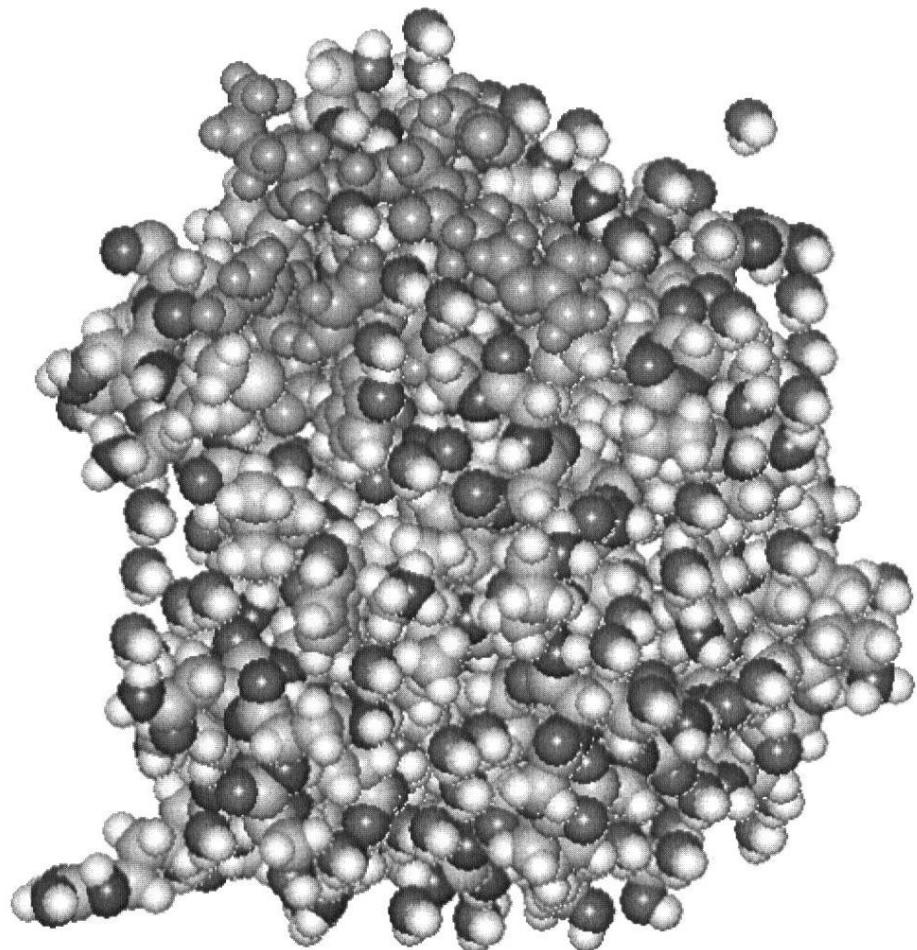
50



Фиг. 2



Фиг. 3



Фиг. 4