



УКРАЇНА

(19) UA (11) 41938 (13) C2

(51) 7 A61K38/08, A61K38/02,
A61P31/18

МІНІСТЕРСТВО ОСВІТИ
І НАУКИ УКРАЇНИ

ДЕРЖАВНИЙ ДЕПАРТАМЕНТ
ІНТЕЛЕКТУАЛЬНОЇ
ВЛАСНОСТІ

ОПИС

ДО ПАТЕНТУ НА ВИНАХІД

(54) ЛІКАРСЬКИЙ ЗАСІБ ТА ПЕПТИД ДЛЯ ЛІКУВАННЯ ВІРУСНИХ ІНФЕКЦІЙ, СНІДУ ТА/АБО СНІД-АСОЦІЙОВАНОГО КОМПЛЕКСУ

(21) 96010026

(22) 02 04 1994

(24) 15 10 2001

(31) P 43 20 201 2

(32) 18 06 1993

(33) DE

(86) PCT/EP94/01037, 02 04 1994

(46) 15 10 2001, Бюл. № 9, 2001 р.

(72) Енгель Юрген, DE, Кутчер Бернхард, DE,
Бернд Міхаель, DE, Німейер Ульф, DE

(73) АСТА МЕДІКА АКЦІЕНГЕЗЕЛЬШАФТ, DE

(56) 1 EP A 0299402 (ASTA PHARMA AG) 18 January 1989

2 EP A 192492 (THE SALK INSTITUTE FOR BIOLOGICAL STUDIES) 27 August 1986

(57) 1 Лекарственное средство для лечения вирусных инфекций, СПИДа и/или СПИД-ассоциированного комплекса, содержащее активное вещество, отличающееся тем, что в качестве активного вещества оно содержит фармацевтически эффективное количество по крайней мере одного соединения с аминокислотной последовательностью общей формулы I

Ac-D-Nal(2)¹-D-Phe-(4-Cl)-xxx-A-B-yyy-zzz-Arg-C-D-Ala-NH₂,

где xxx = D-Pal(3), D-Phe(4-Cl), D-Trp,

yyy = D-Cit, D-Lys(R), D-Arg, D-Hci,

причем R выбран из группы, состоящей из (C₁ – C₄)-ацила и (C₁ – C₁₀)-алкила,

zzz = L-Leu, Nle, Nva, t-Leu,

A = Ser, Ser(сахар), причем сахарный остаток выбран из группы, состоящей из глюкозы, галактозы, аллозы, альтрозы, маннозы, гулозы, идозы и тапозы,

B = Tyr, Lys(Nic), Mor,

C = Pro, Ala или его фармацевтически приемлемая соль, такая как гидрохлорид, трифторацетат, ацетат, сульфат, фосфат, мезилат или тозилат

2 Лекарственное средство по п. 1, отличающееся тем, что указанное соединение представляет собой пептид со следующей аминокислотной последовательностью

Ac-D-Nal(2)¹-D-Phe(4-Cl)²-D-Pal(3)³-Ser⁴-Tyr⁵-D-Cit⁶-Nle⁷-Arg⁸-Pro⁹-D-Ala¹⁰ (формула II)

или его фармацевтически приемлемую соль

3 Лекарственное средство по п. 1, отличающееся тем, что указанное соединение представляет со-

бой пептид со следующей аминокислотной последовательностью

Ac-D-Nal(2)¹-D-Phe(4-Cl)²-D-Pal(3)³-Ser⁴-Tyr⁵-D-Cit⁶-Nva⁷-Arg⁸-Pro⁹-D-Ala¹⁰ (формула III)

или его фармацевтически приемлемую соль

4 Лекарственное средство по п. 1, отличающееся тем, что указанное соединение представляет собой пептид со следующей аминокислотной последовательностью

Ac-D-Nal(2)¹-D-Phe(4-Cl)²-D-Trp³-Ser⁴-Tyr⁵-D-Cit⁶-Leu⁷-Arg⁸-Pro⁹-D-Ala¹⁰ (формула IV)

или его фармацевтически приемлемую соль

5 Лекарственное средство по п. 1, отличающееся тем, что указанное соединение представляет собой пептид со следующей аминокислотной последовательностью

Ac-D-Nal(2)¹-D-Phe(4-Cl)²-D-Pal(3)³-Ser⁴-Tyr⁵-D-Cit⁶-Leu⁷-Arg⁸-Pro⁹-D-Ala¹⁰ (формула V)

или его фармацевтически приемлемую соль

6 Лекарственное средство по п. 1, отличающееся тем, что указанное соединение представляет собой пептид со следующей аминокислотной последовательностью

Ac-D-Nal(2)¹-D-Phe(4-Cl)²-D-Pal(3)³-Ser⁴-Tyr⁵-D-Hci⁶-Leu⁷-Arg⁸-Pro⁹-D-Ala¹⁰ (формула VI)

или его фармацевтически приемлемую соль

7 Лекарственное средство по п. 1, отличающееся тем, что указанное соединение представляет собой пептид со следующей аминокислотной последовательностью

Ac-D-Nal(2)¹-D-Phe(4-Cl)²-D-Pal(3)³-Ser⁴-Tyr⁵-D-Cit⁶-t-Leu⁷-Arg⁸-Pro⁹-D-Ala¹⁰ (формула VII)

или его фармацевтически приемлемую соль

8 Лекарственное средство по п. 1, отличающееся тем, что указанное соединение представляет собой пептид со следующей аминокислотной последовательностью

Ac-D-Nal(2)¹-D-Phe(4-Cl)²-D-Pal(3)³-Ser⁴-Tyr⁵-D-Cit⁶-Leu⁷-Arg⁸-Ala⁹-D-Ala¹⁰ (формула VIII)

или его фармацевтически приемлемую соль

9 Пептид со следующей аминокислотной последовательностью общей формулы I Ac-D-Nal(2)-D-Phe(4-Cl)-xxx-A-B-yyy-zzz-Arg-C-D-Ala-NH₂,

где xxx = D-Pal(3), D-Phe(4-Cl), D-Trp,

yyy = D-Cit, D-Lys(R), D-Arg, D-Hci,

причем R выбран из группы, состоящей из (C₁-C₄)-ацила и (C₁-C₁₀)-алкила,

zzz = L-Leu, Nle, Nva, t-Leu,

A = Ser, Ser (сахар), причем сахарный остаток выбран из группы, состоящей из глюкозы, галактозы, аллозы, альтросы, маннозы, гулозы, идозы и талозы,
 B = Tyr, Lys(Nic), Mor,
 C = Pro, Ala или его фармацевтически приемлемая соль, такая как гидрохлорид, трифторацетат,

ацетат, сульфат, фосфат, мезипат или тозилат, за исключением следующего пептида

Ac-D-Nal(2)¹ - D-Phe(4-Cl)² - (D-Pal(3) или D-Trp)³ - Ser⁴ - Tyr⁵ - (D-Cit или D-Hci)⁶ - Leu⁷ - Arg⁸ - Pro⁹ - D-Ala¹⁰ - NH₂ для лечения вирусных инфекций, СПИДа и/или СПИД-ассоциированного комплекса

С 1981 г у мужчин-гомосексуалистов большей частью в Нью-Йорке и Сан-Франциско наблюдались до настоящего времени редкие неизлечимые инфекционные заболевания. У всех пациентов находили тяжелые дефекты иммунорезистентности. Вскоре после этого Люком Монтанье в Институте Пастера был обнаружен новый вирус, вирус иммунодефицита человека (ВИЧ).

В настоящее время для лечения СПИДа используется только аналог дидезоксинуклеозида 3'-ацетило-3'-дезокситимидин (AZT) или цидовудин (INN). Он смягчает симптомы болезни и увеличивает среднюю продолжительность жизни пациентов, болеющих СПИДом (Европейская заявка на патент № 206497). При лечении с помощью AZT получают образование устойчивых штаммов вируса и отягчающие побочные действия на костный мозг. Другие медикаменты находятся в клиническом испытании. В выложенной заявке ФРГ № 3935580 описывается применение 1-октадецил-2-метил-глицеро-3-фосфохолина для получения лекарственных средств для борьбы с ВИЧ-инфекциями. В Европейской заявке на патент № 493378 описывается применение 2'-3'-дидеоксирибозина или моно- или трифосфатов 2'-3'-дидеоксирибозина для той же цели.

Все эти вещества находятся еще на этапе клинической разработки и еще не достигли рыночной готовности. Лекарственные средства, используемые в области антивирусной химиотерапии, не обладают в настоящее время желательной избирательностью. Таким образом существует большая потребность в хорошо переносимых, сильнодействующих медикаментах, которые не только замедляют течение болезни, но и препятствуют размножению вирусов, и, кроме того, могут стабилизировать ослабленную иммунную систему пациентов.

Неожиданно было обнаружено, что в опыте по скринингу СПИДа на клетках CEM-1W декапептиды, аналогичные LHRH, согласно формулам II-VIII имеют анти-ВИЧ действие, а также стимулируют рост клеточных культур.

Предметом изобретения является получение лекарственного средства на основе пептидных LHRH-антагонистов и бомбезин-антагонистов. Сами соединения имеют незначительную токсичность при самой высокой дозировке при применении.

Аминокислотная последовательность LHRH имеет следующую форму:

LHRH = p-Glu¹-His²-Trp³-Ser⁴-Tyr⁵-Gly⁶-Leu⁷-Arg⁸-Pro⁹-Gly¹⁰-NH₂

Общая формула I описывает предложенные в изобретении пептиды

Ac-D-Nal(2)-D-Phe(4Cl)-xxx-A-B5-yyy-zzz-Arg-Pro-D-Ala-NH₂ Формула I

причем

xxx = D-Pal (3), D-Phe (4Cl)

yyy = D-Cit, D-Lys (R), D-Hci

R может иметь значения (C₁-C₄)-ацил или (C₁-C₁₀)-алкил

zzz = L-Leu, Nle, Nva, t-Leu

A = Ser, Ser (сахар)

Сахар может принимать значения глюкозы, галактозы, аллозы, альтросы, маннозы, гулозы, идозы или талозы.

B = Tyr, Lys (Nic), Mor

Бомбезин имеет следующую аминокислотную последовательность

Бомбезин = p-Glu-Gln-Arg-Leu-Gly-Asn⁶-Gln⁷-Trp⁸-Ala⁹-Val¹⁰-Gly¹¹-His¹²-Leu¹³-Met¹⁴-NH₂ Формула IX

Аналогичный бомбезину пептид согласно формуле X имеет следующую структуру

[D-Trp⁶, Leu-psi-Leu¹³⁻¹⁴]BN(6-14) Формула X

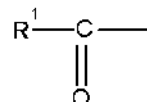
Далее для терапии СПИДа могут применяться бомбезин-антагонисты согласно общей формуле XI

x-A¹-A²-A³-A⁴-A⁵-A⁶-A⁷-A⁸-psi-A⁹ Формула XI

причем Q обозначает -NH₂ или OQ¹

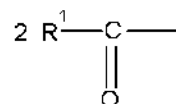
причем Q¹ обозначает водород, (C-C₁₀)-алкил, фенил или фенил, одно- или многократно замещенный через алкильные группы, содержащие от 7 до 10 углеродных атомов,

X обозначает водород или простую связь для радикала A², ацильный радикал органической кислоты с 1-6 углеродными атомами или группу

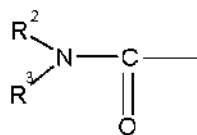


причем

1 R¹ может иметь значения, приведенные выше при Q¹ или



может иметь значения



причем R^2 и R^3 могут быть одинаковыми или различными и могут обозначать водород или метил, далее R^2 может обозначать алкильную группу с 1-10 углеродными атомами, фенильную группу, фенильную группу, замещенную через одну или несколько алкильных групп с 1-10 углеродными атомами, фенильную группу, замещенную через один или несколько галогенных атомов, например, фтор, хлор, бром или йод

A^1 обозначает

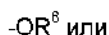
D-, L-, или D-, L-p-Glu, Nal, Phe, Thi, Tyr, Hca, Trp, Hpp, Mpp, Trp, или Trp, замещенный на бензольном кольце, причем один или несколько заместителей отобраны из группы галогенов, $-\text{NO}_2$, $-\text{NH}_2$, $-\text{OH}$, $\text{C}_1\text{-C}_3$ -алкил, $\text{C}_1\text{-C}_3$ -алкокси и галоген может обозначать фтор, хлор или бром,

A^2 обозначает

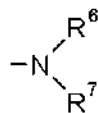
Asp, Dpa, Gln, His, Met, His, His (Bz), His (z) или формулу из группы Dpa (x), Asp (y) Glu [-] и Glu [y]

причем

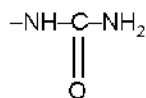
X обозначает ацильную группу, алкильную группу ($\text{C}_1\text{-C}_{10}$) или простую связь и



Y имеют значение



причем R^5 и R^6 могут быть одинаковыми или различными и R^5 обозначает водород, $\text{C}_1\text{-C}_3$ -алкил или фенил, R^6 обозначает водород или $\text{C}_1\text{-C}_3$ -алкил или

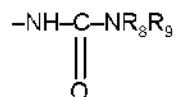


или

- Формула (II) = [Ac-DNal(2)¹, D-Phe(pCl)², D-Pal(3)³, D-Cit⁶, Nle⁷, D-Ala¹⁰]-LHRH
 Формула (III) = [Ac-DNal(2)¹, D-Phe(pCl)², D-Pal(3)³, D-Cit⁶, Nva⁷, D-Ala¹⁰]-LHRH
 Формула (IV) = [Ac-DNal(2)¹, D-Phe(pCl)², D-Trp³, D-Cit⁶, D-Ala¹⁰]-LHRH
 Формула (V) = [Ac-DNal(2)¹, D-Phe(pCl)², D-Pal(3)³, D-Cit⁶, D-Ala¹⁰]-LHRH
 Формула (VI) = [Ac-DNal(2)¹, D-Phe(pCl)², D-Pal(3)³, D-Cit⁶, D-Ala¹⁰]-LHRH
 Формула (VII) = [Ac-DNal(2)¹, D-Phe(pCl)², D-Pal(3)³, D-Cit⁶, t-Leu⁷, D-Ala¹⁰]-LHRH
 Формула (VIII) = [Ac-DNal(2)¹, D-Phe(pCl)², D-Pal(3)³, D-Cit⁶, Ala⁹, D-Ala¹⁰]-LHRH

Предложенные в изобретении олигопептиды синтезируются в соответствии с общепринятыми известными в литературе способами. Обобщенное описание рассматриваемого способа имеется, например, M Bodanszky, Principles of Peptide Synthesis, Springer-Verlag, Berlin, Heidelberg, New York 1984

Принципы твердофазного синтеза полипептидов рассматриваются, например, в учебнике



и [-] является простой связью, соединяющей карбоксильную группу с α -аминогруппой, если X является простой связью

A^3 обозначает Nal, Pal, Trp, Trp, MeTrp, Trp (For) или Trp с замещенным бензольным кольцом, причем бензольное кольцо замещено через одно или несколько звеньев из группы галоген, NO_2 , NH_2 , OH , метил, этил или $\text{C}_1\text{-C}_3$ -алкокси, причем галоген может обозначать фтор, хлор и бром,

A^4 обозначает Ala

A^5 обозначает Val или MeVal,

A^6 обозначает Glu, Phe, или D-Ala,

A^7 обозначает His, MeHis, His(Bz), His(Z), Lys(Z) или Pal,

A^8 обозначает восстановленный изостер из Leu или Phe,

A^9 обозначает Leu, Met, Phe, Trp или замещенный Trp, причем бензольное кольцо замещено одинаковыми заместителями, как в A^3 и бензольный радикал Trp замещен одинаковыми заместителями,

а также фармацевтически приемлемые соли пептидов, как например, гидрохлорид, трифторацетат, ацетат, сульфат, фосфат, месилат или тосилат

Применяемые сокращения для аминокислот, пептидов и их производных рекомендованы комиссией по биохимической номенклатуре Международного союза по чистой и прикладной химии и Международного союза по биохимии (European J Biochem, 1984, 138, 9-37)

Сокращения для менее употребительных аминокислот

Dpa обозначает 2,2-диаминопропионовую кислоту

Nal обозначает 3-(2-нафтил)-аланин,

Thi обозначает β -2'-тиенилаланин,

Trp обозначает 2,3,4,9-тетрагидро-1H-пиридо-[3,4-b]-индол-3- карбоновую кислоту

Nic обозначает никотиноил

Mor обозначает 4-(морфолинометил)-фенилаланин

Особенно предпочтительные соединения согласно общей формуле (I) имеют следующие аминокислотные последовательности

J M Stewart J D Young, Solid Phase Peptide Synthesis Pierce Chem Co, Rockford, IL, 1984 (2 Auflage) и в обзорной статье L Barany et al, Int J Peptide Protein Res 30, 705-749 (1987)

Синтез пептидов согласно формулам II-VIII осуществляется согласно блок-схеме на метилбензидриламине-смоле (товарная форма-гидрохлорид) фирмы Advanced Chem Tech/Louisville

(Kentucky), USA, которая соответственно до присоединения C-концевого Вос-D-аланина была превращена с помощью 10%-го триэтиламина в дихлорметане (V/V) в свободное основание

Все последующие Na-Вос-защищенные аминокислоты были связаны в тройном молярном избытке в присутствии диизопропилкарбодиимида (DIC) и 1-гидроксibenзотриазола (HOBt) в $\text{CH}_2\text{Cl}_2/\text{DMF}$ в течение 90 мин, в дихлорметане/диметилформамид-смеси состава 80/20 (V/V) и Вос-защищенная группа была отщеплена путем почасового воздействия 50%-ной трифторуксусной кислоты (TFA) в дихлорметане. Остатки свободных аминокислот были блокированы путем ацетилирования в пятикратном избытке ацетилимидазола в дихлорметане. Последовательность стадий реакции синтеза пептидов на смоле следует из блок-схемы. Для отщепления пептидов, связанных со смолой, соответствующий конечный продукт твердофазного синтеза высушивали в вакууме и обрабатывали в 500-кратном избытке HF/анизола 10:1 (V/V) в течение 45–60 минут при температуре 0°C.

После отгонки HF и анизола в вакууме неочищенные пептидами при перемешивании с безводным простым этиловым эфиром выпадали в виде белых твердых веществ. Отделение от имеющихся полимерных носителей осуществлялось путем промывания 50%-ной (V/V) водной уксусной кислотой. Путем щадящего концентрирования уксуснокислых растворов в вакууме могли быть получены соответствующие пептиды в виде высоковязких масел, которые после подачи абсолютного простого эфира постепенно превращались на холоде в белые твердые вещества. Неочищенные пептиды выделяли, промывали на фритте абсолютным простым эфиром и высушивали в вакууме.

Препаративная очистка осуществлялась с помощью жидкостной хроматографии высокого давления (ЖХВД) в указанных условиях.

Параметры для препаративной ЖХВД

Приборы	Насос фирмы Шимадзу LC-8A Детектор фирмы Шимадзу SPD-6A Интегратор фирмы Шимадзу C-P4A Контроллер фирмы Шимадзу SCL-6A
Реактивы	Ацетонитрил Lichrosolv Merck ТИП 30 Трифторуксусная кислота Fluka № 91700 Чистая вода (Seralpur-приложение)
Подвижная фаза А	970 мл воды (VE-вода чистая) + 30 мл ацетонитрила + 1 мл трифторуксусной кислоты
Подвижная фаза В	300 мл воды (VE-вода, чистая) + 700 мл ацетонитрила + 1 мл трифторуксусной кислоты
Скорость протока	40 мл/мин
Давление	14 бар
Среднее время пробега препаративного прохождения примерно от 30 до 40 мин	

Идентичность всех синтезированных пептидов была доказана после очистки с помощью ЖХВД путем аминокислотного анализа, масс-спектрометрии и ^1H -ЯМР-спектроскопии.

Блок-схема для твердофазного синтеза LH-RH-пептидов. Повторяющиеся циклы твердофазного синтеза объединены в нижеследующей схеме, этапы 1–17 описывают необходимую последовательность операций для связи соответственно одной аминокислоты.

Этап	Реактивы и операции	Время (мин)
1	Вос-аминокислота, DIC, HOBt 1 1 1	90
2	Тест с окрашиванием на полное превращение, в случае положительно повторить 1 и 2	
3	MeOH, промыть	1
4	DIPEA, 10% в CH_2Cl_2 , нейтрализация	2
5	MeOH, промыть	1
6	CH_2Cl_2 , промыть, трижды	2
7	$(\text{CH}_3\text{CO})_2\text{O}$, имидазол, 1 1, ацетилирование	30
8	MeOH, промыть, дважды	1
9	CH_2Cl_2 , промыть, трижды	2
10	TFA, 50% в CH_2Cl_2 , отщепление Вос	1
11	TFA, 50% в CH_2Cl_2 , отщепление Вос	30
12	Изопропанол, промыть и обесцветить	2
13	DIPEA, 10% в CH_2Cl_2 , нейтрализация	3
14	MeOH, промыть	1
15	DIPEA, 10% в CH_2Cl_2 , нейтрализация	3
16	MeOH, промыть	1
17	CH_2Cl_2 , промыть, дважды	2

Продукт синтеза согласно вышеуказанной блок-схеме

Ac-D-Nal(2)-D-Phe (4Cl)-Xxx-A-B-Yyy-Z-zz-Arg-Pro-D-Ala-NH₂ (согласно формуле I)

Полнота синтеза была проверена с помощью теста на хлоранил по Th Christensen, Acta Chem Scand, B 33, 763 (1979) и с помощью Keiser-теста на нингидрин по Stewart, Young

Изобретение касается способа получения лекарственного средства для терапии вирусных инфекций, предпочтительно для лечения СПИДа. Далее описываются новые пептиды и их синтез, которые можно применять для антивирусной терапии

Сами пептиды имеют незначительную токсичность при очень высокой дозировке. По сравнению с проверенным контрольным соединением азидотимидина величины EC₅₀ в опыте на NCI в исследуемых пептидах находятся между 5,9x10⁻⁷ моль/л и 2,0x10⁻⁵ моль/л. Указанное контрольное соединение AZT (азидотимидин) имело, например, величину EC₅₀ 3,1x10⁻⁹ моль/л

Все соединения дозировались в диапазоне от 10⁻⁴ до 10⁻⁸ моль/л. Поэтому указанная величина IC₅₀ (ингибирующая концентрация, при которой в неинфицированной культуре погибает 50% клеток) больше, чем самая высокая дозировка

Обработанная инфицированная культура показывает величину EC₅₀ 4,5x10⁻⁵ моль/л. Так как величины для обработанной, неинфицированной культуры не снижаются до величины IC₅₀, то для величины IC₅₀ может указываться только величина для самой высокой дозировки, т.е. IC₅₀ = <3,3x10⁻⁵ моль/л. Терапевтический индекс (TI₅₀ = IC₅₀/EC₅₀) больше, чем 7,30

Описание скрининг-метода на анти-ВИЧ активность

Способ пригоден для поиска биологически активных веществ, эффективных на всех фазах вирусного размножения. Принцип теста заключается в умерщвлении лимфоцитов T4 посредством вируса ВИЧ

Небольшое количество вируса ВИЧ вводится в клеточные культуры. Необходимо, по меньшей мере, два полных вирусных воспроизводимых цикла, для того чтобы умертвить лимфоциты T4 и проанализировать результаты

Биологически активные вещества, реагирующие с вирусоподобными частицами, клетками или продуктами вирусных генов для взаимодействия с вирусной активностью и, таким образом, блокирующие размножение вирусов, предохраняют клетки от гибели и лизиса

Для того чтобы можно было исследовать большое количество клеток, инфицированных вирусами, тестовая система автоматизирована. Однако, дегенерирующие, денатурирующие или быстро метаболизирующиеся соединения не обнаруживаются тестовой установкой с достаточной точностью

В качестве положительного контроля служит для теста AZT (азидотимидин) и DDC

Способы проведения опыта

1 Лимфоциты T4 (CEM — линия клетки) смешиваются в соотношении вирус : клетка, примерно, 1 : 0,05 с вирусом на микротитрационной планшете

2 Испытуемое вещество, если не указано иначе, растворяется в диметилсульфоксиде (DMSO) и разбавляется в соотношении 1 : 200 (весовые части). Дальнейшее разбавление проводится пологарифмическими шагами с помощью DMSO и затем вводится как в инфицированные, так и в неинфицированные клеточные культуры

3 Культуры инкубируются в течение 6-7 дней при температуре 37°C в атмосфере 5% CO₂

4 Соль тетразолия ХТТ добавляется в клеточные культуры и клеточные культуры инкубируются дальше, чтобы с помощью выживающих клеток могла осуществляться цветная реакция формазана при соединении с феназинметосульфатом (PMS)

5 Отдельные клеточные культуры анализируются спектрофотометрическим способом и для подтверждения защитного эффекта выжившие клетки исследуются под микроскопом

6 Обработанные инфицированные вирусом клетки сравниваются с обработанными неинфицированными клетками. Дальнейшие сравнения (необработанные, инфицированные клетки и необработанные неинфицированные клетки, углубления, содержащие биологически активное вещество, не содержащие клеток) проводятся на такой же планшете

7 Проверяется активность испытанного соединения

Другие экспериментальные подробности можно получить в литературе Weislow, J Natl Cancer Inst 81 (8), стр 577 (1989)

Таким образом предложенные в изобретении пептиды пригодны для получения лекарственных средств для борьбы со СПИДом и для борьбы с болезнями, связанными с вирусом иммунодефицита (СПИД-ассоциированный комплекс, ARC)

Указания по дозировке

Дозировка предложенного в изобретении лекарственного средства составляет от 0,01 до 10 мг при ежедневном приеме

Пример 1.

Пептид согласно формуле II

Масс-спектр [M+H]⁺ = 1431

¹H-ЯМР-спектр (DMSO-d₆, 250 МГц) δ в частях на миллион

8,65–7,1, много мультиплетов, ароматические и NH-сигналы, 7,0 и 6,6, 2,1 4H, ароматический H Tyr, 5,95 m, NHCONH₂ Cit, 4,8–4,1, несколько мультиплетов, C₆H 3,75 и 3,5, 2 мультиплетов, алифатические H, 3,2–2,65, несколько мультиплетов, CβH алифатические и ароматические аминокислоты, 2,1–1,3, несколько мультиплетов, остаточные алифатические H, 1,780, d, 3H, CβH, Ala, 0,80, m, Nla

Пример 2.

Пептид согласно формуле III

¹H-ЯМР-спектр (DMSO-d₆, 250 МГц) δ в частях на миллион

8,65–7,1, много мультиплетов, ароматические и NH-сигналы, 7,0 и 6,6, 2d 4H, ароматический H Tyr, 5,9 m, NHCONH₂ Cit, 4,8–4,1, несколько мультиплетов, C₆H 3,75 и 3,5, 2 мультиплетов, алифатические H, 3,2–2,65, несколько мультиплетов, CβH алифатические и ароматические аминокислоты, 2,1–1,25 несколько мультиплетов, оста-

точные алифатические Н, 1,70, 5, 3Н, CH_3CO , 1,20, d, 3Н, СβН, Ala, 0,85, m, 3Н, Nva

Масс-спектр $[\text{M}+\text{H}^+] = 1417$

Пример 3.

Пептид согласно формуле IV

Масс-спектр $[\text{M}+\text{H}^+] = 1469$

^1H -ЯМР-спектр (DMSO-d_6 , 250 МГц) δ в частях на миллион

8,2–6,5, много мультиплетов, ароматические и NH-сигналы, 5,8 и 5,4, 2 m 3 Н, NH-CO-NH₂ Citrollia, 4,5, 4,3, 4,2 и 4,0, мультиплеты С α Н, 3,8–2,6, несколько мультиплетов, алифатические и ароматические СβН, 2,0–1,9, несколько мультиплетов, остаточные алифатические протоны, 1,6,5,3 Н, CH_3CO , 1,1 d, 2Н, СβН, Ala, 0,7, d, 6Н СδН leu

Пример 4.

Пептид согласно формуле V, INN Cetorelix

Масс-спектр $[\text{M}+\text{H}^+] = 1431$

^1H -ЯМР-спектр (DMSO-d_6 , 250 МГц) δ в частях на миллион

8,7–7,2, много мультиплетов, ароматические и NH-сигналы, 7,05 и 6,65, 2,d 4Н, ароматические Р Tyr, 5,85 m, NHCONH₂ Cit, 4,8–4,1, несколько мультиплетов, С α Н, 3,8 и 3,55, 2m, алифатические Н, 3,3–2,7 СβН алифатические и ароматические аминокислоты, 2,1–1,3, несколько мультиплетов, остаточные алифатические сигналы, 1,7,5,3 Н CH_3CO , 1,2, d, 3Н, СβН, Ala, 0,85, 2d, 6Н, СδН leu

Пример 5.

Пептид согласно формуле VI

Масс-спектр $[\text{M}+\text{H}^+] = 1444$

^1H -ЯМР-спектр (DMSO-d_6 , 250 МГц) δ в частях на миллион

8,8–7,1, много мультиплетов, ароматические и NH-сигналы, 7,0 и 6,6, 2d, 4Н, ароматические Н

Tyr, 4,8–4,0, несколько мультиплетов, С α Н, 3,7 и 3,5, 2m, 4Н, 3,2–2,7, несколько мультиплетов, СβН ароматические и алифатические аминокислоты, 2,0–1,0, несколько мультиплетов, остаточные алифатические сигналы, 1,7,5, 3Н, CH_3CO , 1,2, d, 3Н, СβН, Ala, 0,8, dd, 6Н, СδН leu

Пример 6.

Пептид согласно формуле VII

Масс-спектр $[\text{M}+\text{H}^+] = 1431$

^1H -ЯМР-спектр (DMSO-d_6 , 250 МГц) δ в частях на миллион

8,6–7,1, много мультиплетов, ароматические и NH-сигналы, 7,0 и 6,6, 2,d 4Н, ароматические Н Tyr, 5,9 m, NHCONH₂ Cit, 4,8–4,0, несколько мультиплетов, С α Н, 3,85 и 3,5, 2 мультиплетов, алифатический Н, 3,1–2,7, несколько мультиплетов, СβН ароматические и алифатические аминокислоты, 2,1–1,3, несколько мультиплетов, остаточные алифатические Н, 1,7,5,3 Н CH_3CO , 1,20, d, 3Н, СβН, Ala, 0,85, 5, 9Н, третбутил, Ple

Пример 7.

Пептид согласно формуле VIII

Масс-спектр $[\text{M}+\text{H}^+] = 1405$

^1H -ЯМР-спектр (DMSO-d_6 , 500 МГц) δ в частях на миллион

9,1–7,3, много мультиплетов, ароматические и NH-сигналы, 7, 21, dd, 4Н, ароматические Н p-Cl-Phe, 7,0 и 6,6 2d, 4Н, ароматические Н Tyr, 5,9 и 5,4, 2m, 3Н, NHCONH₂ Cit, 4,7–4,1, несколько мультиплетов, С α Н, 3,55–2,8, несколько мультиплетов, СβН алифатические и ароматические аминокислоты, 1, 70, 5, 3Н, CH_3CO , 1,55 и 1,45, 2m алифатические сигналы Arg и Leu, 0,80, dd, 6Н, СδН leu

Тираж 50 экз

Відкрите акціонерне товариство «Патент»

Україна, 88000, м. Ужгород, вул. Гагаріна, 101

(03122) 3 – 72 – 89 (03122) 2 – 57 – 03

