



[12] 发明专利申请公开说明书

[21] 申请号 90106803.9

[51] Int.Cl⁸

C07K 7/00

[43] 公开日 1991年2月13日

[22] 申请日 90.7.6

[30] 优先权

[32] 89.7.7 [33] US [31] 376,754

[71] 申请人 斯克里普斯临床学与研究基金会

地址 美国加利福尼亚州

[72] 发明人 理查德·A·霍顿

胡利奥·H·奎尔沃

[74] 专利代理机构 中国专利代理有限公司

代理人 杨九昌

A61K 37/02

说明书页数: 47

附图页数:

[54] 发明名称 Magainin 肽的取代类似物

[57] 摘要

一种化合物, 包括某些氨基酸残基至少被其他氨基酸残基取代一次的 Magainin 或 Magainin II 肽, 所述肽称为取代类似物。

除了这样的取代外, 在本发明范围内还包括下述类似物: 其中氨基酸残基 15 和 23 中至少有一个被除去, 并且其中在所余肽链上还进行了取代。在本发明范围内的某些氨基酸类似物显示出具有提高了的抗菌活性。

△20△

1. 一种化合物, 包括:

Magainin I 肽或Magainin II 肽类似物, 所述Magainin I 肽或Magainin II肽呈端氨基或端羧基形式, 其中Magainin I 由如下结构式表示, 式中使用单字母氨基酸符号并且各氨基酸残基下面的数字是指肽中残基的位置:

G I G K F L H S A G K F G K A F V G E I M K S
 1 2 3 4 5 6 7 8 9 10 11 12 13 14 15 16 17 18 19 20 21 22 23

其中Magainin II 由如下结构式表示, 式中使用单字母氨基酸符号并且各氨基酸残基下面的数字是指肽中残基的位置:

G I G K F L H S A K K F G K A F V G E I M N S
 1 2 3 4 5 6 7 8 9 10 11 12 13 14 15 16 17 18 19 20 21 22 23

并且其中所述Magainin I 或Magainin II 肽的1 - 2 3 位中至少有一位被取代, 其中能用于1 - 2 3 位各个位置的取代基列于下表:

残基号	取代基
1	Lys, Ala
2	Lys, Ala, D-Ile, Arg, Leu, Val, His, Met
3	Lys, Ala, Trp, Arg, His
4	D-Lys, Ala, Arg, His
5	D-Phe, Ala, Lys, Trp, Leu, Ile, Val, Met
6	D-Leu, Lys, Ala, Ile, Val, Met
7	Lys, D-His, Ala, Arg, Ile, Val, Met
8	Ala, Lys, D-Ser, Trp, Met, Ile, Arg, His,

	Thr, Leu, Val
9	Lys, D-Ala, Trp, Arg, His, Leu, Ile, Val
10	D-Lys, Lys Ala, Trp, Arg, His, Leu, Ile, Val
11	D-Lys, Arg, His
12	D-Phe, Lys, Trp, Arg, His
13	Ala, Lys, Trp, Met, Arg, His, Phe, Leu, Ile, Val
14	Ala, D-Lys, Arg, His
15	Lys, Trp, D-Ala, Arg, His, Phe
16	Ala, Lys, D-Phe, Ile, Val, Met, Leu
17	Ala, Lys, D-Val, Trp, Arg, His, Met, Leu
18	Ala, Lys, Trp, Arg, His, Leu, Met
19	Ala, Lys, D-Glu, Gly, Arg, His, Leu Ile, Phe, Asn
20	D-Ile, Ala, Lys, Trp, Leu, Phe, Val, Met
21	Lys, Pro, Ala, His, Leu, Arg, Ile, Phe
22	Lys, Ala, D-Asn, Gln, Arg, His
23	D-Ser, Lys, Ala, Thr, Gly, Leu, Ile, Gln, Asn。

2. 权利要求 1 的化合物, 其中所述 Magainin I 或 Magainin II 肽的 1-23 位中至少有一个位置被取代, 其中在 1 - 2 3 位各个位置上的各取代基列于下表:

<u>残基号</u>	<u>取代基</u>
------------	------------

1	Lys,Ala
2	Lys,Ala,D-Ile
3	Lys,Ala,Trp
4	D-Lys,Ala
5	D-Phe,Ala,Lys,Trp
6	D-Leu,Lys,Ala
7	Lys,D-His,Ala
8	Ala,Lys,D-Ser,Trp
9	Lys,D-Ala,Trp
10	D-Lys,Lys Ala,Trp
11	D-Lys
12	D-Phe,Lys,Trp
13	Ala,Lys,Trp
14	Ala,D-Lys
15	Lys,Trp,D-Ala
16	Ala,Lys,D-Phe
17	Ala,Lys,D-Val,Trp
18	Ala,Lys,Trp
19	Ala,Lys,D-Glu
20	D-Ile,Ala,Lys,Trp
21	Lys,Pro,Ala
22	Lys,Ala,D-Asn
23	D-Ser,Lys,Ala

3. 权利要求 2 的化合物, 其中肽是 Magainin I 肽, 并且其中氨基酸残基 8、10、13、16、18 和 19 中至少有一个被丙氨酸残基取代。

4. 权利要求 2 的化合物, 其中肽是 Magainin I 肽, 并且其中氨基酸残基 3、8、16、19 和 23 被丙氨酸残基取代。

5. 权利要求 2 的化合物, 其中肽是 Magainin I 肽, 并且氨基酸残基 3、8、16、19 和 23 中有四个被丙氨酸残基取代, 氨基酸残基 3、8、16、19 和 23 中所余的另一个被赖氨酸残基取代。

6. 权利要求 2 的化合物, 其中肽是 Magainin I 肽, 并且其中氨基酸残基 21 被脯氨酸残基取代。

7. 权利要求 2 的化合物, 其中肽是 Magainin I 肽, 并且氨基酸残基 3、7、8、10、18-21 和 23 中至少有一个被赖氨酸残基取代。

8. 权利要求 2 的化合物, 其中肽是 Magainin I 肽, 并且其中氨基酸残基 3、8、9、19 和 23 均被赖氨酸残基取代, 以及氨基酸残基 16 被丙氨酸残基取代。

9. 权利要求 2 的化合物, 其中肽是 Magainin I 肽, 并且其中氨基酸残基 2、4、19 或 23 中至少有一个是 D-氨基酸残基。

10. 权利要求 2 的化合物, 其中肽是 Magainin I 肽, 并且其中氨基酸残基 3、5、8、10、12、13、15、18 和 20 中至少有一个是被保护的色氨酸残基。

11. 权利要求 2 的化合物, 其中肽是 Magainin I 肽, 并且其中氨基酸残基 9、13、15 和 17 中至少有一个是未保护的色氨酸残基。

1 2. 权利要求 2 的化合物, 其中肽是 Magainin II 肽, 并且其中氨基酸残基 1 - 8、1 0、1 3、1 4、1 6 或 1 8 - 2 3 中至少有一个是丙氨酸残基。

1 3. 权利要求 2 的化合物, 其中肽是 Magainin II 肽, 并且其中氨基酸残基 1 - 3、5 - 9、1 2、1 3 或 1 5 - 2 3 中至少有一个是赖氨酸残基。

1 4. 权利要求 2 的化合物, 其中肽是 Magainin II 肽, 并且其中氨基酸残基 2、4 - 1 2 - 1 5 - 1 7、1 9、2 0、2 2 或 2 3 中至少有一个被 D - 氨基酸残基取代。

1 5. 一种化合物, 包括:

Magainin I 肽或 Magainin II 肽类似物, 所述 Magainin I 肽或 Magainin II 肽呈端氨基或端羧基形式, 其中 Magainin I 由如下结构式表示, 式中使用单字母氨基酸符号, 并且各氨基酸残基下面的数字是指肽中残基的位置:

G I G K F L H S A G K F G K A F V G E I M K S
1 2 3 4 5 6 7 8 9 10 11 12 13 14 15 16 17 18 19 20 21 22 23,

其中 Magainin II 由如下结构式表示, 式中使用单字母氨基酸符号, 并且各氨基酸残基下面的数字是指肽中残基的位置:

G I G K F L H S A K K F G K A F V G E I M N S
1 2 3 4 5 6 7 8 9 10 11 12 13 14 15 16 17 18 19 20 21 22 23

并且其中氨基酸残基 1 5 - 2 3 中至少有一个被除去, 以及其中所述 Magainin I 或 Magainin II 肽的所余 1 - 2 3 位中至少有一个位置被取代, 其中能用于 1 - 2 3 位各位置的取代基列于下表:

<u>残基号</u>	<u>取代基</u>
------------	------------

- 1 Lys, Ala
- 2 Lys, Ala, D-Ile, Arg, Leu, Val, His, Met
- 3 Lys, Ala, Trp, Arg, His
- 4 D-Lys, Ala, Arg, His
- 5 D-Phe, Ala, Lys, Trp, Leu, Ile, Val, Met
- 6 D-Leu, Lys, Ala, Ile, Val, Met
- 7 Lys, D-His, Ala, Arg, Ile, Val, Met
- 8 Ala, Lys, D-Ser, Trp, Met, Ile, Arg, His,
Thr, Leu, Val
- 9 Lys, D-Ala, Trp, Arg, His, Leu, Ile, Val
- 10 D-Lys, Lys
Ala, Trp, Arg, His, Leu, Ile, Val
- 11 D-Lys, Arg, His
- 12 D-Phe, Lys, Trp, Arg, His
- 13 Ala, Lys, Trp, Met, Arg, His, Phe, Leu,
Ile, Val
- 14 Ala, D-Lys, Arg, His
- 15 Lys, Trp, D-Ala, Arg, His, Phe
- 16 Ala, Lys, D-Phe, Ile, Val, Met, Leu
- 17 Ala, Lys, D-Val, Trp, Arg, His, Met, Leu
- 18 Ala, Lys, Trp, Arg, His, Leu, Met, Phe
- 19 Ala, Lys, D-Glu, Gly, Arg, His, Leu
Ile, Phe, Asn
- 20 D-Ile, Ala, Lys, Trp, Leu, Phe, Val, Met

- 21 Lys, Pro, Ala, His, Leu, Arg, Ile, Phe
 22 Lys, Ala, D-Asn, Gln, Arg, His
 23 D-Ser, Lys, Ala, Thr, Gly, Leu, Ile,
 Gln, Asn

16. 权利要求15的化合物, 其中所说的Magainin I 或Magainin II 肽在所余1-23位中至少有一个位置被取代, 1-23位各个位置上的各个取代基列于下表:

<u>残基号</u>	<u>取代基</u>
1	Lys, Ala
2	Lys, Ala, D-Ile
3	Lys, Ala, Trp
4	D-Lys, Ala
5	D-Phe, Ala, Lys, Trp
6	D-Leu, Lys, Ala
7	Lys, D-His, Ala
8	Ala, Lys, D-Ser, Trp
9	Lys, D-Ala, Trp
10	D-Lys, Lys Ala, Trp
11	D-Lys
12	D-Phe, Lys, Trp
13	Ala, Lys, Trp
14	Ala, D-Lys
15	Lys, Trp, D-Ala

16	Ala, Lys, D-Phe
17	Ala, Lys, D-Val, Trp
18	Ala, Lys, Trp
19	Ala, Lys, D-Glu
20	D-Ile, Ala, Lys, Trp
21	Lys, Pro, Ala
22	Lys, Ala, D-Asn
23	D-Ser, Lys, Ala

17. 权利要求16的化合物，其中肽是Magainin I肽，并且氨基酸残基16-23被除去，以及氨基酸残基3、8和10被丙氨酸残基取代。

18. 权利要求16的化合物，其中肽是Magainin I肽，并且其中氨基酸残基19被除去。

19. 权利要求18的化合物，其中氨基酸残基5、8、9和16均被赖氨酸残基取代；氨基酸残基21被亮氨酸残基取代，和氨基酸残基18和23均被丙氨酸残基取代。

20. 权利要求16的化合物，其中肽是Magainin I肽，并且其中氨基酸残基21被除去。

21. 权利要求20的化合物，其中氨基酸残基5、10、18和19均被赖氨酸残基取代；氨基酸7被苯丙氨酸残基取代，氨基酸残基22被丙氨酸残基取代。

22. 权利要求15的化合物，其中氨基酸17-23或16-23或15-23被除去，并且氨基酸3、7和8被赖氨酸残基取代。

23. 权利要求22的化合物，其中所说Magainin I或 Magai-

nin II 肽选自：

GIKKFLKKAGKFGK-NH₂

GIKKFLKKAGKFGKAF-NH₂;

GIKKFLKKAKKFGKA-NH₂;

GIKKFLKKAKKFAKA-NH₂; 和

GIKKFLKKAAKFAKA-NH₂。

24. 权利要求15的化合物，其中氨基酸残基19被除去，并且氨基酸残基3、7、8、10、13、15、16、18、21、22或23中至少有一个被列于下表中的其它氨基酸残基取代：

<u>残基号</u>	<u>取代基</u>
3	Leu
7	Lys
8	Lys, Ala
10	Ala, Lys
13	Trp, Phe, Leu, Ala
15	Phe
16	Ala
18	Lys, Ala, Phe
21	Lys, Ile
22	Lys
23	Lys, D-Ser

25. 权利要求24的化合物，其中肽是Magainin II 肽。

26. 权利要求25的化合物，其中所说的肽选自：

GIGKFLHSAKKFGKAFVGINKS;

GIGKFLHSAKKFGKAFVAIMKS;

GIGKFLHSAKKFGKAFVFIMNS*, 其中

S* 是 D-丝氨酸;

GIGKFLHSAKKFFKAFVFIMNS;

GIGKFLKSAKKFGKAFVFIMNS;

GIGKFLHKAKKFAKAFVFIMNS;

GIGKFLKSAKKFAKAFVFIMNS;

GIGKFLHKAKKFAKAFVFIMNK;

GIGKFLKKAKKFGKAFVFIMKK; 和

GIGKFLHSAKKFGKAFVK **IMNS, 其中

K** 是 E-F-moc-赖氨酸。

27. 权利要求15的化合物, 其中氨基酸残基19被除去, 并且或者氨基酸残基1-4被除去, 或者氨基酸残基3、5和6被除去。

28. 权利要求27的化合物, 其中肽是Magainin II肽。

29. 权利要求15的化合物, 其中肽选自:

FLHSAKKFGKAFVFIMNS

GIKHSAKKFAKAFKAIMNS

FLKSAKKFGKAFVGIMNS

FLKSAKKFAKAFVGIMNS。

30. 一种方法, 包括:

对宿主施用有效抗菌量的权利要求1化合物。

31. 一种方法, 包括:

对宿主施用抗病毒有效量的权利要求1化合物。

32. 一种方法, 包括:

对宿主施用抗肿瘤有效量的权利要求 1 化合物。

3 3 . 一种方法, 包括:

对宿主施用有效杀精子量的权利要求 1 化合物。

3 4 . 一种方法, 包括:

对宿主施用抗菌有效量的权利要求 1 5 化合物。

3 5 . 一种方法, 包括:

对宿主施用抗病毒有效量的权利要求 1 5 化合物。

3 6 . 一种方法, 包括:

对宿主施用抗肿瘤有效量的权利要求 1 5 化合物。

3 7 . 一种方法, 包括:

对宿主施用有效杀精子量的权利要求 1 5 化合物。

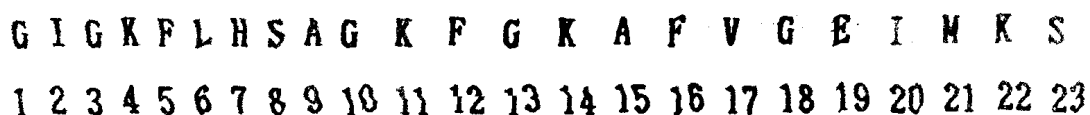
3 8 . 权利要求 2 4 的化合物, 其中所说的Magainin I 或 Magainin II 肽类似物用下述结构式表示, 式中使用单字母氨基酸符号:

GIGKFLKKAKKFGKAFVKIMKK-NH₂

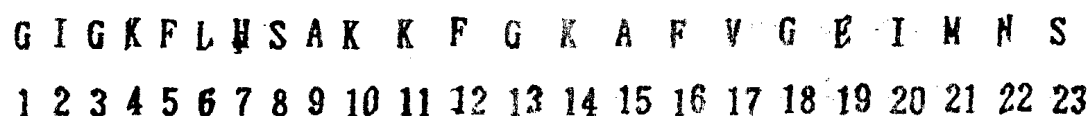
Magainin肽的取代类似物

本发明涉及一类称为magainin的具有生理活性的肽。本发明尤其涉及肽中至少有一个氨基酸残基被另一个氨基酸残基取代的magainin肽类似物。上述类似物通常称为“取代类似物”。

按照本发明目的，提供包括Magainin I 肽或Magainin II 肽类似物的化合物。Magainin I 或Magainin II 肽呈端氨基或端羧基形式。Magainin I 由下面的结构式表示，式中使用单字母氨基酸符号，各氨基酸残基下面的数字指的是肽中残基的位置：



Magainin II 由下面的结构式表示，式中使用单字母氨基酸符号，各氨基酸残基下面的数字指的是肽中残基的位置：



在Magainin I 或Magainin II 肽的第1-23位上至少有一个位置被取代。

可用于1-23位的各个位置的取代基列于下表：

<u>残基号</u>	<u>取 代 基</u>
1	Lys, Ala
2	Lys, Ala, D-Ile, Arg, Leu, Val, His, Met

- 3 Lys,Ala,Trp,Arg,His
- 4 D-Lys,Ala,Arg,His
- 5 D-Phe,Ala,Lys,Trp,Leu,Ile,Val,Met
- 6 D-Leu,Lys,Ala,Ile,Val,Met
- 7 Lys,D-His,Ala,Arg,Ile,Val,Met
- 8 Ala,Lys,D-Ser,Trp,Met,Ile,Arg,His,
Thr,Leu,Val
- 9 Lys,D-Ala,Trp,Arg,His,Leu,Ile,Val
- 10 D-Lys,Lys
Ala,Trp,Arg,His,Leu,Ile,Val
- 11 D-Lys,Arg,His
- 12 D-Phe,Lys,Trp,Arg,His
- 13 Ala,Lys,Trp,Met,Arg,His,Phe,Leu,
Ile,Val
- 14 Ala,D-Lys,Arg,His
- 15 Lys,Trp,D-Ala,Arg,His,Phe
- 16 Ala,Lys,D-Phe,Ile,Val,Met,Leu
- 17 Ala,Lys,D-Val,Trp,Arg,His,Met,Leu
- 18 Ala,Lys,Trp,Arg,His,Leu,Met
- 19 Ala,Lys,D-Glu,Gly,Arg,His,Leu
Ile,Phe,Asn
- 20 D-Ile,Ala,Lys,Trp,Leu,Phe,Val,Met
- 21 Lys,Pro,Ala,His,Leu,Arg,Ile,Phe
- 22 Lys,Ala,D-Asn,Gln,Arg,His

23 D-Ser, Lys, Ala, Thr, Gly, Leu, Ile.
Gln, Asn

下述取代基较好：

<u>残基号</u>	<u>取代基</u>
1	Lys, Ala
2	Lys, Ala, D-Ile
3	Lys, Ala, Trp
4	D-Lys, Ala
5	D-Phe, Ala, Lys, Trp
6	D-Leu, Lys, Ala
7	Lys, D-His, Ala
8	Ala, Lys, D-Ser, Trp
9	Lys, D-Ala, Trp
10	D-Lys, Lys Ala, Trp
11	D-Lys
12	D-Phe, Lys, Trp
13	Ala, Lys, Trp
14	Ala, D-Lys
15	Lys, Trp, D-Ala
16	Ala, Lys, D-Phe
17	Ala, Lys, D-Val, Trp
18	Ala, Lys, Trp

19	Ala,Lys,D-Glu
20	D-Ile,Ala,Lys,Trp
21	Lys,Pro,Ala
22	Lys,Ala,D-Asn
23	D-Ser,Lys,Ala

当然，就本发明来说，色氨酸残基可以被甲酰基保护或者不保护。苯丙氨酸残基，无论此残基存在于它的正常位置，或被用作取代残基，都可以是正常的苯丙氨酸残基或碘代苯丙氨酸残基。

按照一个实施例，肽是Magainin I 肽，并且氨基酸残基 8、10、13、16、18 和 19 中至少有一个被丙氨酸残基取代。在另一实施例中，Magainin I 肽在氨基酸残基 3、8、16、19 和 23 上均有丙氨酸残基取代。

按照另一实施例，Magainin I 肽在氨基酸残基 3、8、16、19 和 23 中有四个被丙氨酸残基取代，这些残基中所余的那一个被赖氨酸残基取代。

还按照再一个实施例，Magainin I 肽的氨基酸 21 被脯氨酸残基取代。

按照另一实施例，Magainin I 的氨基酸残基 3、7、8、10、18 - 21 和 23 中至少有一个被赖氨酸残基取代。

按照另一实施例，Magainin I 的氨基酸残基 3、8、9、19 和 23 均被赖氨酸残基取代，并且氨基酸残基 16 被丙氨酸残基取代。

按照另一实施例，Magainin I 的氨基酸残基 2，4，19 或 23 中至少有一个是 D - 氨基酸残基，其结构相应于原始存在于Magainin

I 中的 L-氨基酸残基。

按照又一个实施例，Magainin I 的氨基酸残基 3、5、8、10、12、13、15、18 和 20 中至少有一个被保护了的色氨酸残基取代，其中保护基是甲酰基较好。按照另一实施例，Magainin I 的氨基酸残基 9、13、15 和 17 中至少有一个被未保护的色氨酸残基取代。

按照另一实施例，肽是 Magainin II 肽，并且氨基酸残基 1-8、10、13、14、16 和 18-23 中至少有一个是丙氨酸残基。

按照另一实施例，Magainin II 的氨基酸残基 1-3、5-9、12、13 和 15-23 中至少有一个是赖氨酸残基。

还按照另一个实施例，Magainin II 的氨基酸残基 2、4-12、15-17、19、20、22 和 23 中至少有一个被 D-氨基酸残基取代，其结构相应于原始存在于 Magainin II 中的 L-氨基酸残基。

按照本发明的另一目的，提供 Magainin I 或 Magainin II 肽类似物，所述 Magainin I 或 Magainin II 肽呈端氨基或端羧基形式并具有上述结构式，并且其中氨基酸残基 15-23 中至少有一个被除去，而且所余氨基酸残基中至少有一个被取代。能用于 1-23 位中至少一个位置上的取代基列于下表：

<u>残基号</u>	<u>取 代 基</u>
1	Lys, Ala
2	Lys, Ala, D-Ile, Arg, Leu, Val, His, Met
3	Lys, Ala, Trp, Arg, His
4	D-Lys, Ala, Arg, His
5	D-Phe, Ala, Lys, Trp, Leu, Ile, Val, Met

- 6 D-Leu, Lys, Ala, Ile, Val, Met
- 7 Lys, D-His, Ala, Arg, Ile, Val, Met
- 8 Ala, Lys, D-Ser, Trp, Met, Ile, Arg, His,
Thr, Leu, Val
- 9 Lys, D-Ala, Trp, Arg, His, Leu, Ile, Val
- 10 D-Lys, Lys
Ala, Trp, Arg, His, Leu, Ile, Val
- 11 D-Lys, Arg, His
- 12 D-Phe, Lys, Trp, Arg, His
- 13 Ala, Lys, Trp, Met, Arg, His, Phe, Leu,
Ile, Val
- 14 Ala, D-Lys, Arg, His
- 15 Lys, Trp, D-Ala, Arg, His, Phe
- 16 Ala, Lys, D-Phe, Ile, Val, Met, Leu
- 17 Ala, Lys, D-Val, Trp, Arg, His, Met, Leu
- 18 Ala, Lys, Trp, Arg, His, Leu, Met, Phe
- 19 Ala, Lys, D-Glu, Gly, Arg, His, Leu
Ile, Phe, Asn
- 20 D-Ile, Ala, Lys, Trp, Leu, Phe, Val, Met
- 21 Lys, Pro, Ala, His, Leu, Arg, Ile, Phe
- 22 Lys, Ala, D-Asn, Gln, Arg, His
- 23 D-Ser, Lys, Ala, Thr, Gly, Leu, Ile,
Gln, Asn

下述取代基较好：

<u>残基号</u>	<u>取代基</u>
1	Lys, Ala
2	Lys, Ala, D-Ile
3	Lys, Ala, Trp
4	D-Lys, Ala
5	D-Phe, Ala, Lys, Trp
6	D-Leu, Lys, Ala
7	Lys, D-His, Ala
8	Ala, Lys, D-Ser, Trp
9	Lys, D-Ala, Trp
10	D-Lys, Lys Ala, Trp
11	D-Lys
12	D-Phe, Lys, Trp
13	Ala, Lys, Trp
14	Ala, D-Lys
15	Lys, Trp, D-Ala
16	Ala, Lys, D-Phe
17	Ala, Lys, D-Val, Trp
18	Ala, Lys, Trp
19	Ala, Lys, D-Glu
20	D-Ile, Ala, Lys, Trp
21	Lys, Pro, Ala

22	Lys,Ala,D-Asn
23	D-Ser,Lys,Ala

按照一具体实施例，Magainin I 的氨基酸残基 16-23 被除去，氨基酸残基 3、8 和 10 被丙氨酸残基取代。

再按照另一实施例，Magainin I 的氨基酸残基 19 被除去，而且较好是氨基酸残基 5、8、9 和 16 均被赖氨酸残基取代，氨基酸残基 21 被亮氨酸残基取代，氨基酸残基 18 和 23 被丙氨酸残基取代。

按照另一实施例，在端羧基或端氨基（端氨基较好）Magainin I 或 Magainin II 肽中，氨基酸残基 17-23 或 16-23 或 15-23 被除去，氨基酸残基 3、7 和 8 均被赖氨酸残基取代，并且氨基酸残基 13 和 / 或氨基酸残基 10 任意的被丙氨酸残基取代。较好的肽如下：

GIKKFLKKAGKFGK-NH₂

GIKKFLKKAGKFGKAF-NH₂

GIKKFLKKAKKFGKA-NH₂

GIKKFLKKAKKFAKA-NH₂

GIKKFLKKAAKFAKA-NH₂

初步的研究说明上面提及的较好的肽具有低溶血活性。根据另一实施例，Magainin I 的氨基酸残基 21 可以被除去，并且较好的是氨基酸残基 5，10，18 和 19 均被赖氨酸残基取代，氨基酸残基 7 被苯丙氨酸残基取代，氨基酸残基 22 被丙氨酸残基取代。

根据另一实施例，在端羧基或端氨基（端氨基较好）Magainin I 或 Magainin II（优选 Magainin II）中，氨基酸残基 19 被略去，氨

氨基酸残基 3、7、8、10、13、15、16、18、21、22
或 23 中至少有一个被下述的另一氨基酸取代：

<u>残基号</u>	<u>取 代 基</u>
3	Leu
7	Lys
8	Lys,Ala
10	Ala,Lys
13	Trp,Leu,Phe,Ala
15	Phe
16	Ala
18	Lys,Ala,Phe
21	Lys,Ile
22	Lys
23	Lys,D-Ser

具有代表性的肽在实施例 14 和 21 - 23 中公开。

在较佳实施例中，肽是 Magainin II 肽，而且氨基酸 19 被除去了
的取代类似物选自下列取代类似物组成的一组中：

GIGKFLHSAKKFGKAFVGIKNS;

GIGKFLHSAKKFGKAFVAIKNS;

GIGKFLHSAKKFGKAFVFIHNS* 其中，

S*是D-丝氨酸；

GIGKFLHSAKKFFKAFVFIHNS;

GIGKFLKSAKKFGKAFVFIHNS;

GIGKFLHKAKKFAKAFVFMNS;
GIGKFLKSAKKFAKAFVFMNS;
GIGKFLHKAKKFAKAFVFMNK;
GIGKFLKKAKKFGKAFVFMKK; 和
GIGKFLHSAKKFGKAFVK**IMNS;

其中K**是E - F - m o c - 赖氨酸。

初步的研究说明，这些较佳的类似物具有低溶血活性。

按照另一实施例，提供了Magainin I或Magainin II衍生物（端羧基或端氨基的），Magainin II较好，其中碱性肽的部分被除去，并且如上述所余氨基酸残基中至少有一个被取代；特别是，氨基酸残基19被略去，此外，或者氨基酸残基1 - 4或者3、5和6被略去。

较佳的肽如下：

FLHSAKKFGKAFVFMNS
GIKHSAKKFAKAFKAIMNS
FLKSAKKFGKAFVGMNS
FLKSAKKFAKAFVGMNS

申请人发现，当使用上述的Magainin I或Magainin II的取代类似物时，这些肽表现出与母体Magainin I或Magainin II肽相等的或较大的生理活性。这样的肽被称为“成功的取代类似物”。

包括按照本发明的Magainin I或Magainin II肽的取代类似物的这些化合物用作抗菌素是有效的，并可用于抑制，阻止或破坏微生物的生长或繁殖，这些微生物如细菌，真菌，病毒等。同样地，这些化合物也能用作抗病毒组合物，用以抑制，阻止或破坏这些病毒的生长或繁殖。

这里使用的术语“取代类似物”包括肽结构中至少一个氨基酸残基被不同的氨基酸残基取代了的magainin肽，以及magainin肽，其中，除上面提及的取代外，氨基酸残基15-23中至少还有一个从肽序列中被略去。此术语还包括具有D-氨基酸或碘代苯丙氨酸残基的magainin肽，这些残基是被取代进入肽序列的。

这样的化合物也能用作杀精子剂，用以抑制，阻止或破坏精子的游动。

这样的化合物还能用作抗肿瘤剂，用以抑制肿瘤生长或破坏肿瘤。

这些化合物具有宽范围抗多种微生物的有效抗菌活性，上述微生物包括格兰氏阳性和格兰氏阴性菌，真菌，原生动物等。这样的化合物能用于治疗或控制对这些化合物敏感的生物体所引起的细菌感染。

这些化合物也可用作对微生物污染易感染的物质的防腐剂或消毒剂。在下述的实施例3-27中例举了体外抗菌活性。

通常，当全身用药时，Magainin I或Magainin II肽的取代类似物的施用剂量为每公斤体重从约1mg至500mg。当局部用药时，这些肽的使用浓度为从约0.5%至约5%。

包括根据本发明的Magainin I或Magainin II的取代类似物的这些化合物可用于治疗多种宿主。按照较佳实施例，宿主可以是动物，并且这样的动物可以是人或非人动物。

这些包括Magainin I或Magainin II的取代类似物的化合物可用于多种药物组合物，它与下列成分结合：无毒药物载体或赋形剂例如填充剂，无毒缓冲剂，或生理盐水溶液。这样的药物组合物可局部或全身使用并可以任何合适的形式使用，例如液体、固体、半一固体、注射液、片剂、软膏、洗剂、糊剂、胶囊等。包括这些Magainin I或

Magainin II的取代类似物的化合物也可与辅剂，蛋白酶抑制剂或相容的药物一起结合使用，这种结合在控制有害的微生物引起的感染时被认为是需要的或有益的，有害的微生物包括原生动物，病毒等。

包括本发明的Magainin I或Magainin II取代类似物的这些化合物可施用于宿主，特别是动物，以有效抗菌和/或抗肿瘤和/或抗病毒和/或抗微生物和/或杀精子量使用。

Magainin I或Magainin II，以及本发明的Magainin I和Magainin II的取代类似物（Magainin I和Magainin II的端氨基和端羧基两种形式）可用本专业熟练技术人员熟知的合成肽的一般方法来合成。固相合成法更好。

在此所述的肽由同步多肽合成法（SMP S）制备。此方法详述于下面的文献中：Houghten, R.A., "General Method for Rapid Solid-Phase Synthesis of Large Numbers of Peptides; Specificity of Antigen-Antibody Interaction at the level of Individual Amino Acids", Proc. Natl. Acad. Sci., U.S.A. Vol.82, p.5131-5135(1985), 和 Houghten, R.A., 等 "Simultaneous Multiple Peptide Synthesis; The Rapid Preparation of large Numbers of Discrete Peptides for Biological, Immunological, and Methodological studies", Peptide chemistry, p.295-298 (1987)。

就下述实施例来说，合成了这样的Magainin I和Magainin II取代类似物：其中多个氨基酸残基被取代和/或其它的氨基酸残基被除去。

为了比较，全Magainin I或Magainin II肽也可由SMP S

方法合成。从Magainin I或Magainin II结构中略去一个或多个氨基酸残基的取代类似物也可由SMP S法制备，这也考虑在本发明范围中。

现在就下述实施例来阐述本发明，然而，并不意味着本发明范围被其限制。

实施例 1 —— 肽的合成

使用同步多肽合成的方法步骤来完成Magainin I和Magainin II取代类似物肽的合成。所有的溶剂和试剂是分析纯，使用时不需要进一步纯化。标准N-t-Boc(丁氧羰基)-保护的氨基酸用于合成。所使用的侧链官能团为：苄基(Ser, Glu), 2-Cl-Z(Lys)(Z=苄氧羰基), N¹-DNP(His)和亚砷(Met)。肽的合成始于或者每个树脂包装单位100 mg Boc-氨基酸-Pam树脂去制备C-末端羧基肽(PAM购自Applied Biosystems, 取代0.56meq/gm, 是氨基聚苯乙烯的氨酰基-4-[氧甲基]苯乙酸衍生物), 或者用每树脂包装单位100mg甲基二苯甲基胺(MBHA)树脂(取代 0.65meq/gm)去制备C-末端氨基肽。

合成后，用DMF中0.5M的苯硫酚三次处理完全保护了的肽树脂以除去组氨酸中的N¹-二硝基苯基团。用TFA除去最终的Boc-基团，以避免最终的HF处理期间甲硫氨酰残基正丁基化。使用低-高HF方法完成分裂。Tam, 等, J. Am. Chem. Soc., 105卷, 6442页(1983)。对于Pam树脂上合成的肽，无需从该树脂包中移去树脂就进行低-HF，使用多容器HF装置于0℃进行2小时。对于使用MBHA树脂制备的肽，低HF步骤在一般反应器中在0℃下2小时完成。对于Pam树脂肽，用水吸气器，接着用机械泵从24个单独的反应器中吸出低-HF混合物。通过将液体倾入废

物槽的方法使低-HF混合物从装有盛MBHA树脂包的低-HF反应器中排空。这些树脂立即用冷却的醚洗涤，接着用CH₂Cl₂，DMF，CH₂Cl₂，IPA，CH₂Cl₂交替洗涤。然后将上述树脂进行干燥并投入24容器HF装置的各试管中，用0.7ml苯甲醚作净化剂。高-HF通过于-70℃冷凝干燥氟化氢来完成。反应于-10℃进行1小时，最后30分钟是-5℃-0℃。用强氨气流蒸出HF。最后，将残留的碳铀离子净化剂用无水乙醚洗涤除去。

接着粗肽用10%乙酸萃取，并在分析用反向柱(Vidac ODS 25cm×4.6mm)上进行RP-HPLC分析，使用Beckman-Altek型421 HPLC系统和两个110A型泵。溶剂系统由缓冲剂A和B组成，A为0.05% TFA/H₂O，B为0.05% TFA/CH₃CN，流速为1.0ml/min。这些肽用Hitachi 100-20分光光度计于215nm测定。

用反向HPLC在Vidac C₁₈(22mm×25cm)，10μm填充柱上对这些肽进行纯化，用CH₃CN和0.05% TFA进行梯度淋洗。将这些肽于110℃在恒定的(沸腾)6NHCl中进行24小时水解后，在Beckman 6300分析仪上进行氨基酸分析，这些分析在理论值的±10%以内。

实施例2 - 抗菌试验

抗菌试验在96阱细胞培养板上进行。每个阱中装有悬浮于LB培养基(实施例3-17)，或TSB培养基(实施例18-27)中的给定微生物[大肠杆菌(*Escherichia coli*)，葡萄球菌表皮菌素(*Staphylococcus epidermidis*)，金色酿脓葡萄球菌(*Staphylococcus aureus*)或绿脓杆菌(*Pseudomonas aeruginosa*)]，将其进行培养。加入Magainin I或其取代类似物(溶于1×PBS，pH7.0)后，各阱含有最终细胞密度为1.0×10⁶菌落形成单位(CFU)/ml。所使用的最终肽的浓

度为100 $\mu\text{g/ml}$, 75.0 $\mu\text{g/ml}$, 50.0 $\mu\text{g/ml}$, 25 $\mu\text{g/ml}$, 12.5 $\mu\text{g/ml}$, 10 $\mu\text{g/ml}$, 5 $\mu\text{g/ml}$, 2.5 $\mu\text{g/ml}$, 和1.25 $\mu\text{g/ml}$ 。

肽加入阱时的时间定为零。在6小时时将板置入Titertek Multiskan装置并测定O.D 620。这些板以及最初接种物于37 $^{\circ}\text{C}$ 时进行培养。

每板有五个阱只盛有培养基，同时另外五个阱盛有培养基和细胞。这些对照物用于消除培养基污染的可能性，并同时提供未抑制的微生物的生长程度。

通过在6小时期间，用对照细胞未抑制的生长与取代类似物比较来测定肽活性度。取代类似物的抑制生长有效率列于下述实施例和表中。

实施例3 - 丙氨酸取代的Magainin I类似物

如上述实施例1，制备Magainin I和用一个丙氨酸残基来取代Magainin I中的不同氨基酸残基的类似物，并测试对大肠杆菌的抑制生长有效率%，其浓度如上述实施例2中给定的（ $\mu\text{g/ml}$ ）。丙氨酸取代的Magainin I类似物，于浓度 $\mu\text{g/ml}$ 时的抑制生长有效率%列于下表I中。在此使用的表头“被取代的氨基酸残基”是指被所期望的氨基酸残基取代了的肽中的氨基酸残基的序号。所有肽中的其他残基与正常肽序列保持一致。对术语“抑制生长有效率%”的说明如下：例如值“25时为100”，是指浓度为25 $\mu\text{g/ml}$ 时抑制生长有效率为100%。

表1 - 丙氨酸取代的Magainin I类似物

<u>被取代的 氨基酸残基</u>	<u>浓度为 $\mu\text{g/ml}$ 时的 抑制生长有效率%</u>
无 (Magainin I)	25 时为100
23	10 时为100
22	50 时为100
21	50 时为100
20	50 时为100
19	5 时为100
18	25 时为100
17	75 时为100
16	25 时为100
14	100 时为100
13	25 时为100
12	50 时为100
11	100 时为 0
10	25 时为100
8	5 时为100
7	75 时为100
6	100 时为 0
5	100 时为 0
4	100 时为 0
3	75 时为100
2	100 时为100
1	100 时为100

还制备了氨基酸残基 19、16 或 8 分别被丙氨酸残基取代的 Magainin I 类似物，并与未取代的 Magainin I 比较测试了这些取代类似物对葡萄球菌表皮菌素和 / 或金色酿脓葡萄球菌的抑制生长有效率 (%)。Magainin I 浓度为 25 $\mu\text{g/ml}$ 时对葡萄球菌表皮毒素的抑制生长有效率为 100%，浓度 100 $\mu\text{g/ml}$ 时对金色酿脓葡萄球菌的抑制生长有效率为 80%。对葡萄球菌表皮菌素的抑制生长有效率，氨基酸残基 19 被丙氨酸取代的 Magainin I 类似物在 25 $\mu\text{g/ml}$ 时为 100%，氨基酸残基 16 被丙氨酸取代的 Magainin I 类似物在 100 $\mu\text{g/ml}$ 时为 75%。对金色酿脓葡萄球菌的抑制生长有效率，氨基酸残基 19 被丙氨酸取代的 Magainin I 类似物在 25 $\mu\text{g/ml}$ 时为 100%，氨基酸残基 8 被丙氨酸取代的 Magainin I 类似物在 50 $\mu\text{g/ml}$ 时为 100%。

实施例 4 - 脯氨酸取代的 Magainin I 类似物

制备用脯氨酸残基取代 Magainin I 上不同氨基酸残基的 Magainin I 类似物，并如上所述试验在给定浓度 ($\mu\text{g/ml}$) 下对大肠杆菌的抑制生长有效率 %。各种脯氨酸取代的 Magainin I 类似物的抑制生长有效率 % 列于下表 II 中。

表 II - - 脯氨酸取代的 Magainin I 类似物

<u>被取代的 氨基酸残基</u>	<u>浓度为 $\mu\text{g/ml}$ 时的 抑制生长有效率 %</u>
22	100 时为 0
21	25 时为 100
20	100 时为 100
19	50 时为 100
18	75 时为 100

17	100 时为 0
16	100 时为 0
15	100 时为 50
14	100 时为 0
13	100 时为 100
12	100 时为 0
11	100 时为 0
10	100 时为 0
9	100 时为 100
8	75 时为 100
7	100 时为 0
6	100 时为 0
4	100 时为 0
3	75 时为 100
2	100 时为 0
1	100 时为 100

实施例 5 - 赖氨酸取代的Magainin I 类似物

制备了用赖氨酸残基取代Magainin I 中的不同氨基酸残基的Magainin I 类似物，并如上述检测给定浓度 ($\mu\text{g}/\text{ml}$) 时对大肠杆菌的抑制生长有效率%。各种赖氨酸取代的Magainin I 类似物的抑制生长有效率%列于下表 III 中。

表 III - 赖氨酸取代的Magainin I 类似物

<u>被取代的 氨基酸残基</u>	<u>浓度为 $\mu\text{g/ml}$ 时的 抑制生长有效率%</u>
23	5 时为 100
21	25 时为 100
20	25 时为 100
19	2.5 时为 100
18	25 时为 100
17	100 时为 100
16	100 时为 0
15	50 时为 100
13	50 时为 100
12	100 时为 100
10	25 时为 100
9	100 时为 100
8	5 时为 100
7	5 时为 100
6	100 时为 0
5	100 时为 0
3	25 时为 100
2	100 时为 100
1	50 时为 100

测试氨基酸残基 23、19、8 或 7 分别被赖氨酸残基取代的
Hagainin I 类似物对葡萄球菌表皮菌素和 / 或金色酿脓葡萄球菌的抑

制生长有效率%。氨基酸残基 23 被赖氨酸残基取代的Magainin I 取代类似物对金黄色葡萄球菌的抑制生长有效率%在浓度为 100 μ g/ml 时为 30%。氨基酸残基 19 被赖氨酸取代的Magainin I 类似物对葡萄球菌表皮毒素的抑制生长有效率%在浓度 25 μ g/ml 时为 100%，对金黄色葡萄球菌在浓度 100 μ g/ml 时为 50%。氨基酸残基 8 被赖氨酸取代的Magainin I 对金黄色葡萄球菌的抑制生长有效率%在 100 μ g/ml 时为 70%。氨基酸残基 7 被赖氨酸取代的Magainin I 对葡萄球菌表皮菌素的抑制生长有效率%在 25 μ g/ml 时为 100%，对金黄色葡萄球菌在 50 μ g/ml 时为 100%。

实施例 6 - 谷氨酸取代Magainin I 类似物

制备了用谷氨酸残基取代Magainin I 中不同氨基酸残基的Magainin I 类似物，并按上述方法测试对大肠杆菌的抑制生长有效率%。对于各种谷氨酸取代的Magainin I 类似物其抑制生长有效率%列于下表 IV 中。

表 IV - 谷氨酸取代的Magainin I 类似物

<u>被取代的 氨基酸残基</u>	<u>浓度为 μg/ml 时的 抑制生长有效率%</u>
22	100 时为 0
21	75 时为 100
20	100 时为 0
18	75 时为 100
17	100 时为 0
16	100 时为 0

15	100 时为	0
14	100 时为	0
13	100 时为	0
12	100 时为	0
11	100 时为	0
10	75 时为	100
9	100 时为	0
8	75 时为	100
7	100 时为	32
3	100 时为	0

实施例 7 - 含 D - 氨基酸残基的 Magainin I 肽

合成多种 Magainin I 肽，其中，各肽中氨基酸残基 23，19，17，16，14，4 或 2 之一分别被 D - 氨基酸残基所取代。然后按上文所述测试各种 Magainin I 肽类似物在一定浓度 ($\mu\text{g}/\text{ml}$) 时对大肠杆菌的抑制生长有效率%。对每种 D - 氨基酸残基取代的 Magainin I 类似物，其抑制生长有效率%列于下表 V 中。

表 V - D - 氨基酸残基取代的 Magainin I 类似物

<u>被取代的 氨基酸残基</u>	<u>浓度为 $\mu\text{g}/\text{ml}$ 时的 抑制生长有效率%</u>
23	10 时为 100
19	25 时为 100
17	50 时为 100
16	50 时为 100

14	50 时为 100
4	25 时为 100
2	25 时为 100

实施例 8

在本例中，制备了Magainin I 取代类似物，其中氨基酸残基 19 (E, 或谷氨酸) 被除去，并且氨基酸残基 5, 8, 9 和 16 各被赖氨酸残基所取代，氨基酸残基 21 被亮氨酸残基取代，氨基酸残基 18 和 23 各被丙氨酸残基取代。这些取代类似物具有下述结构：

G I G K K L H K K G K F G K F K G A I L K A

测试 这种肽对大肠杆菌的抑制生长有效率%，5 $\mu\text{g}/\text{ml}$ 时为 100%。

实施例 9

在本例中，制备了Magainin I 取代类似物，其中，氨基酸 21 被除去，并且氨基酸残基 5, 10, 18 和 19 各被赖氨酸残基取代，氨基酸残基 7 被苯丙氨酸残基取代，氨基酸残基 22 被丙氨酸残基取代。此肽具有下列结构：

G I G K K L F S A K K F G K A F V K K I A S

测试 此肽对大肠杆菌的抑制生长有效率%，2.5 $\mu\text{g}/\text{ml}$ 时为 100%。

实施例 10

制备多种Magainin I 和 Magainin II 肽，其中，各肽中的苯丙氨酸残基 5 和 12 被碘化。测试含碘化苯丙氨酸残基的各肽对大肠杆菌的抑制生长有效率%。对Magainin I 肽，10 $\mu\text{g}/\text{ml}$ 时，抑制生

长有效率为100%。对Magainin II 肽, 5 $\mu\text{g}/\text{ml}$ 时, 抑制生长有效率为100%。

实施例 11 - 色氨酸 (除去了甲酰基) 取代的Magainin I 类似物

制备了Magainin I 类似物, 其中, 用色氨酸残基取代了Magainin I 的不同氨基酸残基。此色氨酸已除去了甲酰基, 这导致未保护的色氨酸残基取代进入这些Magainin I 类似物中。测试这些类似物对大肠杆菌和葡萄球菌表皮菌素的抑制生长有效率%, 一定浓度 ($\mu\text{g}/\text{ml}$) 时对大肠杆菌和葡萄球菌表皮菌素的抑制生长有效率%列于下列VI中。

表 VI - 色氨酸 (除去了甲酰基) 取代的Magainin I 类似物

被取代的 氨基酸残基	浓度为 $\mu\text{g}/\text{ml}$ 时的 抑制生长有效率%	
	大肠杆菌	葡萄球菌表皮菌素
1	50 时为 100	75 时为 80
3	25 时为 100	50 时为 100
4	100 时为 90	100 时为 0
5	25 时为 100	100 时为 80
6	50 时为 100	75 时为 50
8	100 时为 100	50 时为 100
9	25 时为 100	100 时为 40
10	25 时为 100	50 时为 100
11	100 时为 0	100 时为 0
12	25 时为 100	100 时为 0
13	25 时为 100	50 时为 100

14	N/A	100 时为	0
15	10 时为	96	100 时为 90
16	50 时为	95	100 时为 0
17	25 时为	100	100 时为 100
18	25 时为	93	100 时为 90
19	10 时为	100	75 时为 100
20	25 时为	90	100 时为 30
21	50 时为	100	100 时为 0
22	75 时为	40	100 时为 0

实施例12-色氨酸(含甲酰基)取代的Magainin I 类似物

制备了多种Magainin I 类似物，其中，如实施例 11 中一样用色氨酸残基取代了Magainin I 的不同的氨基酸残基，不同的是在本例中甲酰基保留在色氨酸残基上，这导致了被保护的色氨酸残基取代进入Magainin I 类似物中。测试 这些类似物对大肠杆菌和葡萄球菌表皮菌素的抑制生长有效率%。浓度 $\mu\text{g}/\text{ml}$ 时对大肠杆菌和葡萄球菌表皮菌素的抑制生长有效率%列于下表 VII 中。

表 VII - 色氨酸(含甲酰基)取代的Magainin I 类似物

被取代的 氨基酸残基	浓度为 $\mu\text{g}/\text{ml}$ 时的 抑制生长有效率%	
	大肠杆菌	葡萄球菌表皮菌素
1	50 时为 100	75 时为 100
3	50 时为 100	75 时为 100
4	100 时为 70	100 时为 0

5	50 时为 100	100 时为 100
6	50 时为 100	100 时为 100
7	75 时为 100	100 时为 90
8	25 时为 100	75 时为 100
9	50 时为 100	100 时为 44
10	25 时为 100	75 时为 100
11	100 时为 0	100 时为 0
12	25 时为 100	75 时为 90
13	10 时为 100	50 时为 100
14	100 时为 0	100 时为 0
15	10 时为 100	75 时为 -100
16	50 时为 100	100 时为 0
17	50 时为 100	75 时为 100
18	25 时为 100	100 时为 63
19	75 时为 100	N/A
20	25 时为 100	100 时为 55
21	50 时为 92	100 时为 36
22	75 时为 80	100 时为 0

实施例 13 - 用赖氨酸和/或丙氨酸残基多取代的Magainin I 类似物

制备了多种Magainin I 类似物，其中氨基酸残基 3，8，9，16，19 和/或 23 被丙氨酸（A）或赖氨酸（K）残基所取代。测试了各取代类似物对大肠杆菌、葡萄球菌表皮菌素和/或金色酿脓葡萄球菌的抑制生长有效率%。各种合成的取代类似物的结构以及在

浓度 $\mu\text{g} / \text{ml}$ 时对大肠杆菌、葡萄球菌表皮菌素和金色酿脓葡萄球菌的抑制生长有效率%列于下表Ⅷ中。

表 VIII

浓度为 $\mu\text{g}/\text{ml}$ 时的抑制生长有效率%

肽结构	大肠杆菌	葡萄球菌表皮菌素	金黄色腺葡萄球菌
GIAKFLHAAGKFGKAAVGAINKA	2.5 时为 90	N/A	75 时为 100
GIAKFLHAAGKFGKAAVGAIMKK	2.5 时为 100	25 时为 100	100 时为 74
GIAKFLHAAGKFGKAAVKGINKA	2.5 时为 100	25 时为 100	75 时为 100
GIAKFLHAKGKFGKAAVGAINKA	10 时为 90	N/A	100 时为 0
GIAKFLHKAGKFGKAAVGAINKA	2.5 时为 100	25 时为 100	50 时为 100
GIAKFLHAAGKFGKAAVGAINKA	2.5 时为 100	25 时为 100	25 时为 100
GIAKFLHKKGKFGKAAVGAIMKK	2.5 时为 96	N/A	100 时为 0

实施例 1 4 - 除去了谷氨酸并有丙氨酸或赖氨酸取代的Magainin I 类似物

制备了Magainin I 类似物，其中氨基酸残基 1 9 (E, 或谷氨酸) 被除去，并用或者丙氨酸或者赖氨酸去取代肽中其余的氨基酸残基之一。丙氨酸取代或者残基 1 6、1 0 或者 8，或者赖氨酸取代或者残基 1 8，8 或者 7。对这些取代衍生物均测试对大肠杆菌，葡萄球菌表皮菌素，和/或金色酿脓葡萄球菌的抑制生长有效率%。各肽的结构和在各种浓度 ($\mu\text{g} / \text{ml}$) 时对大肠杆菌，葡萄球菌表皮菌素或金色酿脓葡萄球的抑制生长有效率%列于下表 IX 中。

表 IX

浓度为 $\mu\text{g}/\text{m l}$ 时的抑制生长有效率%

肽结构	大肠杆菌	葡萄球菌表皮菌素	金黄色脓葡萄球菌
GIGKFLHSAGKFGKAAVGIKMS	25 时为 100	100 时为 100	N/A
GIGKFLHSAKFGKAFVGIKMS	2.5 时为 100	N/A	50 时为 100
GIGKFLHAAGKFGKAFVGIKMS	2.5 时为 100	25 时为 100	50 时为 100
GIGKFLHSAGKFGKAFVKIKMS	2.5 时为 100	10 时为 100	N/A
GIGKFLHKAGKFGKAFVGIKMS	2.5 时为 100	10 时为 84	N/A
GIGKFLKSAGKFGKAFVGIKMS	2.5 时为 100	12.5 时为 97	N/A

实施例 1 5

制备了Magainin I 取代类似物，其中，在一种类似物中，氨基酸残基 8、19 和 23 均被赖氨酸取代，在另一种类似物中，氨基酸残基 7、8、19 和 23 均被赖氨酸取代。然后测量浓度为 $\mu\text{g}/\text{ml}$ 时对大肠杆菌和葡萄球菌表皮菌素的抑制生长有效率%。对于氨基酸残基 8、19 和 23 被赖氨酸所取代了的类似物，对大肠杆菌，浓度为 $2.5 \mu\text{g}/\text{ml}$ 时，抑制生长有效率为 100%，对葡萄球菌表皮菌素，浓度为 $12.5 \mu\text{g}/\text{ml}$ 时为 100%；而对氨基酸残基 7、8、19、23 被赖氨酸取代了的类似物，对大肠杆菌，浓度为 $1.25 \mu\text{g}/\text{ml}$ 时，为 100%，对葡萄球菌表皮菌素，浓度为 $5 \mu\text{g}/\text{ml}$ 时，为 100%。

实施例 1 6

在本例中，制备了Magainin I 类似物，其中，氨基酸残基 16 - 23 被除去，残基 3、7、8 被赖氨酸残基取代。所得的肽具有如下结构：

G I K K F L K K A G K F G K A

然后测试了这种肽对大肠杆菌的抑制生长有效率%。这种肽对大肠杆菌的抑制生长有效率于 $5 \mu\text{g}/\text{ml}$ 时为 100%。

实施例 1 7

在本例中，制备了Magainin I 类似物，其中，氨基酸残基 16 - 23 被除去，并且氨基酸残基 3、8 和 10 被丙氨酸取代。所得的肽具有如下结构：

G I A K F L H A A K F G K A

测试了此肽对大肠杆菌的抑制生长有效率%。此肽浓度为 25μ

g / m l 时 对 大 肠 杆 菌 的 抑 制 生 长 有 效 率 为 1 0 0 %。

实 施 例 1 8 — 丙 氨 酸 取 代 的 Magainin II 类 似 物

如 上 实 施 例 1 所 述 制 备 了 Magainin II 和 其 中 用 丙 氨 酸 残 基 取 代 了 Magainin II 的 不 同 氨 基 酸 残 基 的 类 似 物 ， 并 如 上 实 施 例 2 所 述 测 试 了 对 大 肠 杆 菌 ， 绿 脓 杆 菌 和 葡 萄 球 菌 表 皮 菌 素 的 抑 制 生 长 有 效 率 %。 丙 氨 酸 取 代 的 Magainin II 类 似 物 浓 度 为 μ g / m l 时 抑 制 生 长 有 效 率 % 列 于 下 表 X 中。

表 X — 丙氨酸取代的Magainin II 类似物

被取代的氨基酸残基	浓度为 $\mu\text{g}/\text{ml}$ 时的抑制生长有效率%			葡萄球菌表皮菌素
	大肠杆菌	绿脓杆菌		
无 (Magainin II)	10 时为 100	50 时为 100	25 时为 100	25 时为 100
23	10 时为 100	>50 时为 100	25 时为 100	25 时为 100
22	25 时为 100	25 时为 100	25 时为 100	25 时为 100
21	25 时为 100	25 时为 100	25 时为 100	25 时为 100
20	50 时为 100	25 时为 100	50 时为 100	50 时为 100
19	5 时为 100	10 时为 100	5 时为 100	5 时为 100
18	10 时为 100	5 时为 100	25 时为 100	25 时为 100
16	25 时为 100	25 时为 100	> 50 时为 100	> 50 时为 100
14	25 时为 100	25 时为 100	> 50 时为 100	> 50 时为 100
13	5 时为 100	10 时为 100	25 时为 100	25 时为 100
12	25 时为 100	> 50 时为 100	> 50 时为 100	> 50 时为 100

续表X

被取代的氨基酸残基	大肠杆菌	绿脓杆菌	葡萄球菌表皮菌素
11	25 时为 100	> 50 时为 100	> 50 时为 100
10	10 时为 100	25 时为 100	25 时为 100
8	10 时为 100	10 时为 100	10 时为 100
7	25 时为 100	25 时为 100	25 时为 100
6	50 时为 100	50 时为 100	> 50 时为 100
5	50 时为 100	50 时为 100	> 50 时为 100
4	25 时为 100	50 时为 100	50 时为 100
3	25 时为 100	25 时为 100	25 时为 100
2	25 时为 100	50 时为 100	50 时为 100
1	25 时为 100	25 时为 100	50 时为 100

实施例 19 - 赖氨酸取代的Magainin II 类似物

制备 Magainin II 类似物，其中，赖氨酸残基取代了Magainin II 的不同氨基酸残基，并如上述测试在给定的浓度 $\mu\text{g} / \text{ml}$ 时对大肠杆菌，绿脓杆菌和葡萄球菌表皮菌素的抑制生长有效率。各赖氨酸取代的Magainin II 类似物的抑制生长有效率列于下表Ⅱ。

表 XI - 赖氨酸取代的 Magainin II 类似物

浓度为 $\mu\text{g}/\text{m l}$ 时的抑制生长有效率%

被取代的氨基酸残基	大肠杆菌	绿脓杆菌	葡萄球菌表皮菌素
23	25 时为 100	50 时为 100	50 时为 100
22	25 时为 100	25 时为 100	10 时为 100
21	10 时为 100	25 时为 100	25 时为 100
20	25 时为 100	25 时为 100	50 时为 100
19	5 时为 100	10 时为 100	5 时为 100
18	2.5 时为 100	5 时为 100	5 时为 100
17	25 时为 100	25 时为 100	25 时为 100
16	25 时为 100	25 时为 100	50 时为 100
15	5 时为 100	10 时为 100	10 时为 100
13	5 时为 100	25 时为 100	25 时为 100
12	10 时为 100	25 时为 100	25 时为 100

续表 XI

被取代的氨基酸残基	大肠杆菌	绿脓杆菌	葡萄球菌表皮白素
9	25 时为 100	25 时为 100	25 时为 100
8	5 时为 100	5 时为 100	25 时为 100
7	5 时为 100	5 时为 100	25 时为 100
6	10 时为 100	25 时为 100	50 时为 100
5	25 时为 100	50 时为 100	50 时为 100
3	5 时为 100	25 时为 100	10 时为 100
2	10 时为 100	10 时为 100	25 时为 100
1	5 时为 100	10 时为 100	25 时为 100

实施例 20 - 具有 D - 氨基酸残基的 Magainin II 肽

合成 Magainin II 肽，其中不同的氨基酸残基被 D - 氨基酸残基取代，其结构相当于最初存在于 Magainin II 中的残基的结构。如上述测试所有这些 Magainin II 肽类似物于浓度 $\mu\text{g} / \text{ml}$ 时，对大肠杆菌，绿脓杆菌和葡萄球菌表皮菌素的抑制生长有效率%。各 D - 氨基酸残基取代的 Magainin II 类似物的抑制生长有效率%列于下表 XII 中。

表 VII - D - 氨基酸残基取代的 Magainin II 类似物

浓度为 $\mu\text{g}/\text{ml}$ 时的抑制生长有效率%			
被取代的氨基酸残基	大肠杆菌	绿脓杆菌	葡萄球菌表皮菌素
23	5 时为 100	10 时为 100	25 时为 100
22	10 时为 100	10 时为 100	25 时为 100
20	25 时为 100	25 时为 100	50 时为 100
19	25 时为 100	25 时为 100	25 时为 100
17	25 时为 100	25 时为 100	50 时为 100
16	25 时为 100	25 时为 100	25 时为 100
15	25 时为 100	25 时为 100	>50 时为 100
14	25 时为 100	>25 时为 100	>50 时为 100
12		25 时为 100	50 时为 100
11	25 时为 100	25 时为 100	25 时为 100
10	25 时为 100	25 时为 100	25 时为 100

续表 VII

被取代的氨基酸残基	大肠杆菌	绿脓杆菌	葡萄球菌表皮菌素
9	25 时为 100	25 时为 100	25 时为 100
8	25 时为 100	25 时为 100	25 时为 100
7	10 时为 100	25 时为 100	25 时为 100
6	25 时为 100	25 时为 100	50 时为 100
5	25 时为 100	25 时为 100	50 时为 100
4	25 时为 100	25 时为 100	50 时为 100
2	25 时为 100	25 时为 100	50 时为 100

实施例 2 1 - 去除了谷氨酸的Magainin II 类似物

在本例中，合成了Magainin II 类似物，所述类似物的氨基酸残基 1 9（谷氨酸）从肽结构中除去，并且其中一个或多个其它的氨基酸残基被不同于正常氨基酸残基的氨基酸残基所取代。然后按照实施例 1 所述的方法合成下式结构的类似物。

<u>类似物</u>	<u>结构</u>
1	GIGKFLHSAKKFWKAFVGMNS
2	GIGKFLHSAKKFLKAFVGMNS
3	GILKFLHSAKKFLKAFVGMNS
4	GILKFLHSAKKFFKAFVKILNS
5	GIGKFLHSAKKFFKAFVFILNS
6	GIGKFLHSAKKFGKAFVGMKS
7	GIGKFLHSAKKFGKAFVAIMKS
8	GIGKFLHSAKKFGKAFVFMNS*
9	GIGKFLHSAKKFAKAFVFMNS
10	GIGKFLHSAKKFFKAFVFMNS
11	GIGKFLKSAKKFGKAFVFMNS
12	GIGKFLHKAKKFAKAFVFMNS
13	GIGKFLKSAKKFAKAFVFMNS
14	GIGKFLHKAKKFFKAFVFMNS
15	GIGKFLKSAKKFFKAFVFMNS
16	GIGKFLHKAKKFAKAFVFMNK
17	GIGKFLKSAKKFAKFFVFMNK
18	GIGKFLKKAKKFGKAFVFMKK

19 GIGKFLHSAKKFGKAFVK**IMNS

20 GIGKFLHSAKKFGKAFVKIMNS

21 GICKFLIKAKKFGKAFVKIMNS

* D-丝氨酸

**-ε-F 羧-赖氨酸

然后如上述测试 $\mu\text{g} / \text{ml}$ 浓度下各肽对大肠杆菌、绿脓杆菌和葡萄球菌表皮菌素的抑制生长有效率%。各类似物的抑制生长有效率%列于下表XIII中。

表 XIII

浓度为 $\mu\text{g}/\text{ml}$ 时的抑制生长有效率%

类似物	大肠杆菌	绿脓杆菌	葡萄球菌表皮菌素
1	5 时为 100	5 时为 100	5 时为 100
2	2.5 时为 100	2.5 时为 100	5 时为 100
3	2.5 时为 100	2.5 时为 100	5 时为 100
4	2.5 时为 100	2.5 时为 100	5 时为 100
5	10 时为 100	5 时为 100	5 时为 100
6	5 时为 100	10 时为 100	2 5 时为 100
7	2.5 时为 100	5 时为 100	5 时为 100
8	5 时为 100	5 时为 100	5 时为 100
9	5 时为 100	2.5 时为 100	5 时为 100
10	5 时为 100	10 时为 100	5 时为 100
11	5 时为 100	5 时为 100	5 时为 100

续表XIII

<u>类似物</u>	<u>大肠杆菌</u>	<u>绿脓杆菌</u>	<u>葡萄球菌表皮菌素</u>
12	1.25 时为 100	2.5 时为 100	1.25 时为 100
13	2.5 时为 100	1.25 时为 100	2.5 时为 100
14	10 时为 100	2.5 时为 100	2.5 时为 100
15	5 时为 100	5 时为 100	1.25 时为 100
16	1.25 时为 100	1.25 时为 100	1.25 时为 100
17	1.25 时为 100	5 时为 100	2.5 时为 100
18	2.5 时为 100	2.5 时为 100	2.5 时为 100
19	10 时为 100	10 时为 100	5 时为 100
20	1.25 时为 100	2.5 时为 100	1.25 时为 100
21	1.25 时为 100	5 时为 100	2.5 时为 100

实施例 2 2

端氨基 (NH₂) Magainin II 类似物, 其中氨基酸残基 19 (谷氨酸) 被除去, 其他氨基酸残基被取代。这些类似物如下:

类似物 1 GIGKFLKKAKKFAKAFVKIINN-NH₂

类似物 2 GIGKFLKKAANKFAKAFVKIINN-NH₂

然后如上述测试这些类似物对大肠杆菌, 绿脓杆菌和葡萄球菌表皮菌素的抑制生长有效率%。类似物 1 的浓度 1.25 μg/ml 时对大肠杆菌的抑制生长有效率为 100%, 浓度为 2.5 μg/ml 时对绿脓杆菌的抑制生长有效率为 100%, 浓度为 1.25 μg/ml 时对葡萄球菌表皮菌素的抑制生长有效率为 100%。类似物 2 的浓度为 1.25 μg/ml 时对绿脓杆菌的抑制生长有效率为 100%, 浓度为 1.25 μg/ml 时对葡萄球菌表皮菌素的抑制生长有效率为 100%。

实施例 2 3

合成了端氨基 (NH₂) 类似物, 按其结构可以是 Magainin I 或 Magainin II 的类似物, 其中氨基酸残基 19 (谷氨酸) 被除去, 而其他氨基酸残基被取代。这些类似物如下:

类似物 1 GIGKFLKKAKKFGKAFVKIMKK-NH₂

类似物 2 GIGKFLKKAKKFAKAFVKIMKK-NH₂

类似物 3 GIGKFLKKAKKFAKAFVKIISK-NH₂

然后测试这些类似物对大肠杆菌、绿脓杆菌和葡萄球菌表皮菌素的抑制生长有效率%。类似物 1 于浓度 1.25 μg/ml 时对大肠杆菌的抑制生长有效率为 100%, 浓度为 2.5 μg/ml 时对绿脓杆菌的抑制生长有效率为 100%, 浓度为 1.25 μg/ml 时

对葡萄球菌表皮菌素的抑制生长有效率为100%。类似物2于浓度为 $2.5\mu\text{g}/\text{ml}$ 时对大肠杆菌的抑制生长有效率为100%，浓度为 $2.5\mu\text{g}/\text{ml}$ 时对绿脓杆菌的抑制生长有效率为100%，于浓度为 $1.25\mu\text{g}/\text{ml}$ 时对葡萄球菌表皮菌素的抑制生长有效率为100%。类似物3于浓度为 $1.25\mu\text{g}/\text{ml}$ 时对大肠杆菌的抑制生长有效率为100%，浓度为 $2.5\mu\text{g}/\text{ml}$ 时对绿脓杆菌的抑制生长有效率为100%，浓度为 $1.25\mu\text{g}/\text{ml}$ 时对葡萄球菌表皮菌素的抑制生长有效率为100%。

实施例 2 4

合成了端氨基(NH_2)Magainin I 类似物，其中至少氨基酸残基17-23被除去，并且氨基酸残基3，7和8被赖氨酸残基取代。这些类似物具有如下结构：

类似物 1 GIKKFLKKAGKFGK- NH_2

类似物 2 GIKKFLKKAGKFGKAF- NH_2

然后测试这些类似物的抑制生长有效率。类似物1于浓度为 $10\mu\text{g}/\text{ml}$ 时对大肠杆菌的抑制生长有效率为100%，浓度为 $10\mu\text{g}/\text{ml}$ 时对绿脓杆菌的抑制生长有效率为100%，浓度为 $10\mu\text{g}/\text{ml}$ 时对葡萄球菌表皮菌素的抑制生长有效率为100%。类似物2于浓度为 $2.5\mu\text{g}/\text{ml}$ 时对大肠杆菌的抑制生长有效率为100%，浓度为 $5\mu\text{g}/\text{ml}$ 时对绿脓杆菌的抑制生长有效率为100%，浓度为 $5\mu\text{g}/\text{ml}$ 时对葡萄球菌表皮菌素的抑制生长有效率为100%。

实施例 2 5

合成了端氨基(NH_2)Magainin II 类似物，其中至少氨基酸残基

16-23 被除去，并且对其他残基进行了取代。这些类似物具有以下结构：

类似物 1 GIKKFLKKAKKFGKA-NH₂

类似物 2 GIKKFLKKAKKFAKA-NH₂

然后测试这些类似物的抑制生长有效率。类似物 1 于浓度为 10 μg/ml 对绿脓杆菌的抑制生长有效率为 100%，浓度为 5.0 μg/ml 时对葡萄球菌表皮菌素的抑制生长有效率为 100%。类似物 2 于 5 μg/ml 浓度时对大肠杆菌的抑制生长有效率为 100%，浓度为 5 μg/ml 时对绿脓杆菌的抑制生长有效率为 100%，浓度为 5 μg/ml 时对葡萄球菌表皮菌素的抑制生长有效率为 100%。

实施例 26

合成了端氨基 (NH₂) 类似物，按其结构可以是 Magainin I 或 Magainin II 的类似物，其中氨基酸 16-23 被除去，氨基酸残基 3、7 和 8 被赖氨酸残基取代，而氨基酸残基 10 和 13 被丙氨酸残基取代。这种类似物具有以下结构：

GIKKFLKKAACKFAKA-NH₂

然后测试这种类似物的抑制生长有效率%。这种类似物于浓度为 5 μg/ml 时对大肠杆菌的抑制生长有效率为 100%，浓度为 5 μg/ml 时对绿脓杆菌的抑制生长有效率为 100%，浓度为 5 μg/ml 时对葡萄球菌表皮菌素的抑制生长有效率为 100%。

实施例 27

合成 Magainin II 类似物，其中氨基酸残基 19 (谷氨酸) 被除去，并且氨基酸 1-4 或 3、5 和 6 被除去，并且所余的氨基酸残基

中至少有一个被取代。这些类似物具有如下结构：

类似物 1: FLKSAKKFGKAFVGIMNS

类似物 2: FLKSAKKFAKAFVGIMNS

类似物 3: FLHSAKKFGKAFVFIMNS

类似物 4: GIKHSAKKFAKAFKAIMNS

然后测试这些类似物对大肠杆菌，绿脓杆菌和葡萄球菌表皮菌素的抑制生长有效率%。各个类似物的抑制生长有效率列于下表XIV。

表 XIV

$\mu\text{g} / \text{m l}$ 浓度下的抑制生长有效率%

类似物	大肠杆菌	绿脓杆菌	葡萄球菌表皮菌素
1	25 时为 100	25 时为 100	50 时为 100
2	10 时为 100	25 时为 100	50 时为 100
3	25 时为 100	25 时为 100	10 时为 100
4	10 时为 100	25 时为 100	5 时为 100

按照上面的讲述，本发明可能有多种改进和变种，因此，本发明可以在同时提交的权利要求的范围内实施，而不是作为特定的描述。