



(19)
Bundesrepublik Deutschland
Deutsches Patent- und Markenamt

(10) **DE 695 34 061 T2** 2006.04.13

(12) **Übersetzung der europäischen Patentschrift**

(97) **EP 0 779 076 B1**

(21) Deutsches Aktenzeichen: **695 34 061.1**

(86) PCT-Aktenzeichen: **PCT/RU95/00138**

(96) Europäisches Aktenzeichen: **95 924 554.9**

(87) PCT-Veröffentlichungs-Nr.: **WO 96/002267**

(86) PCT-Anmeldetag: **27.06.1995**

(87) Veröffentlichungstag
der PCT-Anmeldung: **01.02.1996**

(97) Erstveröffentlichung durch das EPA: **18.06.1997**

(97) Veröffentlichungstag
der Patenterteilung beim EPA: **09.03.2005**

(47) Veröffentlichungstag im Patentblatt: **13.04.2006**

(51) Int Cl.⁸: **C07K 5/10** (2006.01)

A61K 38/00 (2006.01)

C07K 7/06 (2006.01)

(30) Unionspriorität:

94024278 **29.06.1994** **RU**

(73) Patentinhaber:

**Immunotech Developments Inc., Toronto, Ontario,
CA**

(74) Vertreter:

**Benedum, U., Dipl.-Chem.Univ.Dr.rer.nat.,
Pat.-Anw., 81669 München**

(84) Benannte Vertragsstaaten:

**AT, BE, CH, DE, DK, ES, FR, GB, GR, IE, IT, LI, LU,
MC, NL, PT, SE**

(72) Erfinder:

**DEIGIN, Vladislav Isakovich, Toronto, CA;
YAROVA, Elena Petrovna, Richmond Hill, CA**

(54) Bezeichnung: **EIN PEPTID, EIN VERFAHREN ZU SEINER DARSTELLUNG UND EIN AUF IHM BASIERENDE PHARMAZEUTISCHE ZUBEREITUNG**

Anmerkung: Innerhalb von neun Monaten nach der Bekanntmachung des Hinweises auf die Erteilung des europäischen Patents kann jedermann beim Europäischen Patentamt gegen das erteilte europäische Patent Einspruch einlegen. Der Einspruch ist schriftlich einzureichen und zu begründen. Er gilt erst als eingelegt, wenn die Einspruchsgebühr entrichtet worden ist (Art. 99 (1) Europäisches Patentübereinkommen).

Die Übersetzung ist gemäß Artikel II § 3 Abs. 1 IntPatÜG 1991 vom Patentinhaber eingereicht worden. Sie wurde vom Deutschen Patent- und Markenamt inhaltlich nicht geprüft.

Beschreibung

[0001] Die vorliegende Erfindung betrifft neue Peptide und deren Derivate, ein Verfahren zu ihrem Erhalt sowie pharmazeutische Zusammensetzungen mit diesen Peptiden und Derivaten.

[0002] Die Erfindung betrifft die Gebiete Chemie, Medizin und Veterinärmedizin und insbesondere das Gebiet der biologisch aktiven Peptide. Sie gilt neuen pharmazeutischen Zusammensetzungen mit diesen Peptiden und Derivaten und Verfahren zu ihrem Erhalt. Die neu entwickelten Verbindungen können wegen ihres breiten Spektrums biologischer Aktivitäten eingesetzt werden, da sie biologische Prozesse stimulieren und beeinflussen wie das Wachstum von Gewebemasse, die Aktivität der Wachstumszone im Epithelium, Haarwachstum, die Wund- und Narbenheilung sowie anabolische Prozesse. Ferner besitzen die neuen Verbindungen analgetische Aktivität.

[0003] Es ist bekannt, dass alle metabolen Vorgänge in jungen oder erwachsenen Organismen von Hormonen geregelt werden und dass Peptide wie andere regulierende Hormone hormonelle Aktivität haben können, welche in lebenden Organismen gewisse Funktionen steuern. Die Zahl der natürlich vorkommenden Peptide dieser Art ist jedoch begrenzt. Viele Labors entwickeln deshalb Verfahren für die Synthese von Peptiden, die potentiell eine höhere biologische Aktivität besitzen als ihre natürlichen Gegenstücke (EP0136720, 1984; EP0137904, 1984). Ferner werden Peptide synthetisiert, welche in lebenden Organismen nicht anzutreffen sind, aber einzigartige Eigenschaften besitzen. Unter diesen Peptiden gibt es eine Peptidgruppe, welche die Hormone steuern, die für das Wachstum verantwortlich sind. Es gibt ein Peptid, das den Spiegel des Wachstumshormons im Blut erhöht (WO89/07111, 1989; WO91/16923, 1991). Und es gibt andere, die den Spiegel des Wachstumshormons im Blut senken (FR 2 235 701, 1978, FR 2 532 308, 1982). Es wurde jüngst ein Peptid synthetisiert, das den Entwicklungsgrad der menschlichen Epidermisschicht erhöht (WO90/13570, 1990). Ein anderes Metallopeptid vermag in warmblütigen Tieren das Haarwachstum zu stimulieren (WO91/07431, 1991) und eine synthetische Version hiervon erzeugt in Tieren Haarausfall (FR 2 487 677, 1982). Es ist offenbar möglich, die diversen metabolen Prozesse durch verschiedene Zusammensetzungen und Peptide zu steuern. Es wäre jedoch wünschenswert, wenn Zusammensetzungen und Substanzen zur Verfügung stünden, die eine spezifische Wirkung hervorrufen.

[0004] Es gibt zur Zeit nur eine kleine Zahl von Peptiden mit multifunktionalen Aktivitäten, bspw. die in US 4 680 283 (1987) oder GB 2 070 618 (1980) beschriebenen synthetischen Peptide. Diese besitzen ein großes Spektrum an nützlichen Aktivitäten und erwiesen sich als Biostimulatoren. Bei Verabreichen oder Aufbringen besaßen sie auf die Anlagen Wirkungen wie die Morphine.

[0005] Die synthetischen Peptide mit opiumähnlichen Wirkungen wurden intensiv untersucht und studiert. In der Natur kommen Kombinationen mit Morphinwirkungen nicht häufig vor. Sie sind sehr schwer zu reproduzieren und aufzufinden und sie sind schwer zu synthetisieren (US 4 042 682, 1977). Diese Lage führte zur Entwicklung eines großen Arsenal an synthetischen Peptidstrukturen (US 4 681 871, 1987; EP 0 112 036, 1983; EP 0 221 019), 1986.

[0006] Es werden eine Anzahl opiumähnlicher Peptide für die klinische Behandlung von Ischämien im Kopf eingesetzt (DE 34 47 720, 1985; US 4 684 624, 1987), als Schmerzmittel für schwangere Frauen (EP 0 099 173, 1984) und als analgetische Verbindungen mit besonderer Wirkung, wenn sie zusammen mit einer herkömmlichen Therapie eingesetzt werden (EP 0 096 592, 1983; EP 0 099 288, 1984; US 4 123 523, 1978; Annu. Rep. Tohoku Coll. Pharm. (1993), 40, 169–173).

[0007] WO86/02079 offenbart Peptide der Formel H-Tyr-A-Phe-Val-T, worin A L-Prolin oder eine D-Aminosäure ist und T gleich OH, NH₂ oder NHNH₂. Sie gelten als geeignet zur Behandlung von Krankheiten.

[0008] Weiterhin beschreiben Schiller P. W. et al in Peptides: Chemistry, Structure and Biology (1990), 323–325 ein Peptid der Formel H-Tyr-D-Arg-Phe-D-Lys-NH₂, das eine Affinität zum μ -Rezeptor besitzt.

[0009] Biologisch aktive Tetra- und Pentapeptide werden gleichermaßen beschrieben in NZ 194 961 (GB 2 070 618), wobei die Peptide eine Kernstruktur mit neutralen L-Aminosäureresten enthält.

[0010] Nichts desto trotz können die bekannten synthetischen Peptide und deren Zusammensetzungen nicht ganz die Anforderungen der modernen Medizin erfüllen, da sie entweder nicht die notwendigen Eigenschaften besitzen oder nicht hinreichend wirksam sind.

[0011] Verfahren auf Basis dieser Peptide verlangen große Dosen, um die gewünschten Wirkungen zu erhalten, so dass zugleich die Gefahr von unerwünschten Nebeneffekten zunimmt.

[0012] Die entdeckten Peptide werden für wissenschaftliche und medizinische Zwecke zur Verfügungen gestellt. Die vorliegenden Peptide und Zusammensetzungen können als opiumähnliche Substanzen eingesetzt werden und für ähnliche Zwecke. Die vorliegenden Peptide können eingesetzt werden als Substanz mit anabolen Eigenschaften, zur Erhöhung der Masse an Lebendgewebe, zur Erwirkung von Wachstum, insbesondere das Wachstum von Haut und Haaren.

[0013] Die biostimulierenden Eigenschaften der vorliegenden Peptide sind geeignet zur Stimulierung von Heilungsprozessen und zur Wundheilung.

[0014] Um die fraglichen Peptide zu erhalten, stehen moderne wirksame Peptidsyntheseverfahren zur Verfügung. Diese erlauben den Einsatz geringster Materialmengen und verlangen nur eine begrenzte Zahl von Schritten bis zum Erhalt großer Mengen an Produkt.

[0015] Die erfindungsgemäßen Peptide lassen sich beschreiben durch folgende Formel:

X-Tyr-Y-Phe-Z-A

worin ist:

- X Arg, D-Arg, Orn, D-Orn, Lys, D-Lys, Har, D-Har, Cyt, D-Cyt;
- Y D-Ala, D-Val, D-Leu, D-Ile, D-Phe, D-Asn, D-Trp, D-Pro, D-Ser, D-Thr, D-Tyr, D-Hyp, D-Cys, D-Cys-Cys, D-Met, D-Lys, D-Har, D-Arg, D-His, D-Asp, D-Glu, D-β-Ala, D-Orn;
- Z D-Ala, D-Val, D-Leu, D-Ile, D-Phe, Asn, D-Asn, Gly, Gln, D-Gln, D-Trp, D-Pro, D-Ser, D-Thr, D-Tyr, Hyp, D-Hyp, Cys, D-Cys, Cys-Cys, Cys-D-Cys, D-Cys-Cys, D-Cys-D-Cys, D-Met, Lys, D-Lys, Arg, D-Arg, His, D-His, Asp, D-Asp, Glu, D-Glu, β-Ala, D-β-Ala, Orn, D-Orn;
- A gleich OH oder ein substituiertes Amid (C₁-C₃);

worin ist: Arg gleich Arginin, Orn Ornithin, Lys Lysin, Har Homoarginin, Cyt Citrullin, Ala Alanin, Val Valin, Leu Leucin, Ile Isoleucin, Phe Phenylalanin, Asn Asparagin, Trp Tryptophan, Pro Prolin, Ser Serin, Thr Threonin, Tyr Thyrosin, Hyp Hydroxyprolin, Cys Cystein, Cys-Cys Cystin, Met Methionin, His Histidin, Asp Asparaginsäure, Glu Glutaminsäure, Gly Glycin und Gln Glutamin.

[0016] Die Peptide der Formel I können erhalten werden durch einen schrittweisen Aufbau der Peptidkette, beginnend mit dem C-terminalen Abschnitt der Aminosäure Z, die substituiert wird mit einem Amid oder einer geschützten Carboxylgruppe, gefolgt von einem Binden eines N-geschützten Phenylalanins gemäß dem Verfahren der Mischanhydride und aktivierten Ether. Der nächste Schritt ist die Entfernung der N-Schutzgruppe, die Addition aktivierter Ester oder Mischanhydride, gefolgt von der N-geschützten Aminosäure, der Entfernung der N-Schutzgruppe und der Addition der N-geschützten Aminosäure. Nach Vervollständigung der Kette werden die Tetra- oder Pentapeptide freigesetzt und das Peptidprodukt durch einen Hydrogenierungsschritt in Gegenwart eines Palladiumkatalysators erhalten.

[0017] Das vorgenannte Peptidprodukt wird als weißes Pulver erhalten und kann eine gelbliche oder gräuliche Färbung besitzen. Es ist in Wasser löslich. Es löst sich gut in Alkohol und ist in Chloroform unlöslich.

[0018] Tabelle 1 enthält die physikalischen und chemischen Eigenschaften der Peptide nach Formel I. RfB wurde in einer Lösung mit Butanol, Essigsäure, Wasser im Verhältnis 3:1:1 gemessen. RfA wurde bestimmt in einer Lösung mit Chloroform, Methanol, 32%iger Essigsäure im Verhältnis 60:45:20.

Tabelle 1

| Peptide | R _{fA} | R _{fB} | [α] ²⁰ _D c=1 00% AcOH |
|---|-----------------|-----------------|---|
| H-Arg-Tyr-D-Ala-Phe-Gly-OH | 0,54 | 0,71 | +43,0 |
| H-Arg-Tyr-D-Lys-Phe-Gly-OH | 0,12 | 0,22 | +29,0 |
| H-Arg-Tyr-D-Orn-Phe-Gly-OH | 0,19 | 0,25 | +36,2 |
| H-Arg-Tyr-D-Ala-Phe-D-Ala-OH | 0,56 | 0,75 | +47,0 |
| H-Arg-Tyr-D-Orn-Phe-D-Ala-OH | 0,16 | 0,74 | +10,0 |
| H-Arg-Tyr-D-Arg-Phe-D-Ala-OH | 0,18 | 0,30 | +43,8 |
| H-Arg-Tyr-D-Arg-Phe-D-Ala-NH ₂ | 0,52 | 0,83 | +40,7 |
| H-Orn-Tyr-D-Ala-Phe-D-Ala-OH | 0,58 | 0,81 | +36,0 |
| H-D-Orn-Tyr-D-Ala-Phe-D-Ala-OH | 0,52 | 0,83 | +5,0 |
| H-Lys-Tyr-D-Lys-Phe-Gly-OH | 0,15 | 0,23 | +29,0 |
| H-D-Lys-Tyr-D-Lys-Phe-Gly-OH | 0,15 | 0,23 | +3,5 |
| H-Har-Tyr-D-Arg-Phe-D-Ala-NH ₂ | 0,51 | 0,84 | +40,7 |
| H-D-Har-Tyr-D-Arg-Phe-D-Ala-NH ₂ | 0,51 | 0,84 | +17,1 |
| H-Cyt-Tyr-D-Arg-Phe-D-Ala-NH ₂ | 0,48 | 0,62 | |
| H-D-Cyt-Tyr-D-Arg-Phe-D-Ala-NH ₂ | 0,48 | 0,62 | |
| H-Arg-Tyr-D-Ala-Phe-D-Val-OH | 0,50 | 0,73 | -0,4 |
| H-Arg-Tyr-D-Ala-Phe-D-Leu-OH | 0,51 | 0,72 | -0,8 |

| | | | |
|------------------------------------|------|------|-------|
| H-Arg-Tyr-D-Ala-Phe-D-Ile-OH | 0,51 | 0,73 | +4,3 |
| H-Arg-Tyr-D-Ala-Phe-D-Phe-OH | 0,52 | 0,69 | |
| H-Arg-Tyr-D-Ala-Phe-Asn-OH | 0,48 | 0,68 | |
| H-Arg-Tyr-D-Ala-Phe-D-Asn-OH | 0,48 | 0,68 | |
| H-Arg-Tyr-D-Ala-Phe-Gln-OH | 0,50 | 0,70 | |
| H-Arg-Tyr-D-Ala-Phe-D-Gln-OH | 0,50 | 0,70 | |
| H-Arg-Tyr-D-Ala-Phe-D-Trp-OH | 0,51 | 0,71 | |
| H-Arg-Tyr-D-Ala-Phe-D-Pro-OH | 0,53 | 0,72 | |
| H-Arg-Tyr-D-Ala-Phe-D-Ser-OH | 0,52 | 0,71 | |
| H-Arg-Tyr-D-Ala-Phe-D-Thr-OH | 0,51 | 0,68 | |
| H-Arg-Tyr-D-Ala-Phe-D-Tyr-OH | 0,54 | 0,74 | |
| H-Arg-Tyr-D-Ala-Phe-Hyp-OH | 0,52 | 0,73 | |
| H-Arg-Tyr-D-Ala-Phe-D-Hyp-OH | 0,52 | 0,73 | |
| H-Arg-Tyr-D-Ala-Phe-Cys-OH | 0,50 | 0,63 | |
| H-Arg-Tyr-D-Ala-Phe-D-Cys-OH | 0,50 | 0,63 | |
| H-Arg-Tyr-D-Ala-Phe-Cys-Cys-OH | 0,48 | 0,65 | |
| H-Arg-Tyr-D-Ala-Phe-Cys-D-Cys-OH | 0,48 | 0,65 | |
| H-Arg-Tyr-D-Ala-Phe-D-Cys-Cys-OH | 0,48 | 0,65 | |
| H-Arg-Tyr-D-Ala-Phe-D-Cys-D-Cys-OH | 0,48 | 0,65 | |
| H-Arg-Tyr-D-Ala-Phe-D-Met-OH | 0,55 | 0,70 | +8,3 |
| H-Arg-Tyr-D-Ala-Phe-Lys-OH | 0,58 | 0,74 | +18,3 |
| H-Arg-Tyr-D-Ala-Phe-D-Lys-OH | 0,58 | 0,74 | -12,1 |
| H-Arg-Tyr-D-Ala-Phe-Arg-OH | 0,16 | 0,65 | |
| H-Arg-Tyr-D-Ala-Phe-D-Arg-OH | 0,16 | 0,65 | |
| H-Arg-Tyr-D-Ala-Phe-His-OH | 0,18 | 0,58 | |
| H-Arg-Tyr-D-Ala-Phe-D-His-OH | 0,18 | 0,58 | |
| H-Arg-Tyr-D-Ala-Phe-Asp-OH | 0,48 | 0,63 | |
| H-Arg-Tyr-D-Ala-Phe-D-Asp-OH | 0,48 | 0,63 | |
| H-Arg-Tyr-D-Ala-Phe-Glu-OH | 0,51 | 0,74 | |
| H-Arg-Tyr-D-Ala-Phe-β-Ala-OH | 0,51 | 0,74 | |
| H-Arg-Tyr-D-Ala-Phe-D-β-Ala-OH | 0,16 | 0,58 | |
| H-Arg-Tyr-D-Ala-Phe-Orn-OH | 0,58 | 0,73 | |
| H-Arg-Tyr-D-Ala-Phe-D-Orn-OH | 0,58 | 0,73 | |

[0019] Die erfindungsgemäßen Peptide können eingesetzt werden als biologisch aktive Wirksubstanz zur Herstellung pharmazeutischer Zusammensetzungen oder Medikamente. Die pharmazeutischen Zusammensetzungen können umfassen eine wirksame Menge der Peptide sowie einen geeigneten Träger und ein geeignetes Verdünnungsmittel. Die Zusammensetzung kann eingesetzt werden als Medikament oder als Nahrungsmittelzusatz.

[0020] Die Zusammensetzung kann formuliert werden für orale Verabreichungen oder für eine äußere oder oberflächliche Anwendung sowie zur interperitonealen Verabreichung als Injektion.

[0021] Die Zusammensetzung besitzt gewöhnlich einen Peptidgehalt von 0,001 bis 0,1%, bevorzugt 0,001 bis 0,01%. Die Peptidmenge hängt auch davon ab, wie viel Wasser in der Flüssigkeit oder der Festsubstanz ist. Zum Erhalt einer pharmazeutischen Zusammensetzung müssen die Peptide mit einem Träger bei einer Temperatur im Bereich zwischen 40 und 70°C gemischt werden. Das Gemisch ist in Lösung bei einer Temperatur von 70°C (20°C) 24 Stunden (3 Jahre) stabil.

[0022] Für den Injektionsvorgang kann jedes pharmazeutische Lösungsmittel eingesetzt werden, einschließlich destilliertes Wasser, eine physiologische Lösung und eine Pufferlösung. Das Peptid kann anwesend sein im Lösungsmittel zwischen 0,001 bis 0,01 Gewichtsprozent.

[0023] Die Injektionslösung kann hergestellt werden durch herkömmliche Gewichtsvolumenverfahren. Je nach Gewicht des Peptidpulvers muss eine geeignete Lösungsmittelmenge zugesetzt werden, damit das für den Injektionsvorgang geeignete Gemisch erhalten wird. Das Gemisch wird dann durch ein Sterilfiltersystem gefiltert und in Teströhrchen und Ampullen aufgeteilt. Das resultierende Gemisch ist eine stabile klare Flüssigkeit ohne chemische oder andere Zusätze.

[0024] Die Festform des Peptids zur oralen Aufnahme kann eine Tablette sein, Pulver oder Kapseln, die auch eingesetzt werden können als Basis für weitere Zusätze wie Farbe- und Geschmackszusätze. Das Verhältnis von Peptid und Additiv kann zwischen 0,001 bis 0,01%, je nach Anforderung an das Gemisch, liegen.

[0025] Bei der Untersuchung der biologischen Funktion der neuen Peptide wurde entdeckt, dass diese wegen ihrer verschiedenen Aktivitäten in einem großen Bereich eingesetzt werden können.

[0026] Es wurde gefunden, dass die neuen Peptide nicht toxisch sind. Für die Bestimmung der LD₅₀-Toxizität der Peptide wurden 24 weiße Mäuse von jeweils 18 g bei identischen Lebens- und Ernährungsbedingungen im Versuchszeitraum getestet. In allen Versuchsgruppen waren die Mäuse zu 50% männlich und zu 50% weiblich. Die Mäuse wurden über den ganzen Versuch und 24 Stunden davor in Tiergehegen bei konstanter Temperatur und Belüftung gehalten. Zwei Stunden vor dem Versuch wurde die Fütterung und die Wassergabe für die Mäuse eingestellt. Die Mäuse wurden in vier Gruppen zu je sechs eingeteilt. Drei Mäusegruppen erhielten intraperitoneale Injektionen mit 0,2 ml eines Gemisches aus Peptid und Wasser, wobei die Dosis 800, 1100, 1400 µg/kg betrug. Die vierte Kontrollgruppe erhielt eine gleiche Menge physiologischer Lösung injiziert. Die Mäuse wurden dann sieben Tage und Nächte überwacht und in dieser Zeit die LD₅₀-Werte ermittelt. Bei diesen Versuchen war keine Verhaltens- oder Zustandsänderung der Versuchstiere zu ermitteln. Nach Injektion des Peptids traten keine Krankheitssymptome auf. Während des Versuchs traten keine Todesfälle auf und alle Tiere legten im Gewicht normal zu. Die Organgewichte waren innerhalb normaler Grenzen. Die Ergebnisse zeigen, dass die Injektion der oben angegebenen Dosen an Peptiden die Tiere nicht schädigte und nicht toxisch war.

[0027] Die nachstehenden Beispiele beschreiben bevorzugte Verfahren zur Derivatisierung der Peptide nach Formel I.

Beispiel 1 - Synthese von H-Arg-Tyr-D-Ala-Phe-Gly-OH

A) Herstellung von BOC-Phe-Gly-oBzl

[0028] 5,6 g (40,0 mmol) Isobutylchlorformiat wurde zu einer gerührten Lösung mit 10,7 g (40 mmol) Boc-Phe-OH und 4,8 ml (40,1 mmol) N-Methylmorpholin in 50 ml Dimethylformamid, abgekühlt auf -15°C, zugesetzt. Zu dieser gekühlten Mischung wurde zwei Minuten später eine gekühlte Lösung zugesetzt, die den p-Toluolsulfonsäurebenzylester des Glycins enthielt in 50 ml Dimethylformamid. Das Reaktionsgemisch wurde 30 Minuten bei -15°C gerührt und dann 2 Stunden bei Raumtemperatur. Das Dimethylformamid wurde unter Vakuum destilliert und zum Rest 100 ml Ethylacetat zugesetzt. Das Gemisch wurde zweimal mit 50 ml 2%iger Lösung Schwefelsäure-Lösung gewaschen, dann zweimal mit 80 ml gesättigter Natriumbicarbonat-Lösung gespült, mit Wasser auf einen neutralen pH gewaschen und dann über wasserfreiem Natriumsulfat getrocknet.

[0029] Die Ethylacetatschicht wurde unter Vakuum abdestilliert. Der Rest wurde aus Ethylacetat rekristallisiert durch Zusatz von Ether und Hexan. Die Ausbeute betrug 16,4 g (98,2%). Tmp: 135,2°C; RfA: 0,71 in einem Gemisch von Chloroform/Ethylacetat/Methanol (3:6:1). RfB: 0,62 im Gemisch Ethylacetat/Hexan (1:1).

B) Herstellung von BOC-D-Ala-Phe-Gly-oBzl

[0030] 16,4 g (39,8 mmol) BOC-Phe-Gly-oBzl wurde gelöst in 80 ml 50%iger Trifluoressigsäure in Chloroform. Nach einer Stunde wurden die Lösungsmittel unter Vakuum abgezogen bis ein festes Öl vorlag. Zu diesem Rest wurde 150 ml Diethylether zugesetzt und der Rest rekristallisiert. Der Rest wurde gefiltert, mit Ether gewaschen und getrocknet. Die Ausbeute betrug 16,2 g (99,8%). Tmp: (TFA-H-Phe-Gly-oBzl) 135°C; R_f 0,34 in einem Gemisch aus Chloroform/Methanol (9:1).

[0031] Das Gemisch aus 7,5 g (39,7 mmol) BOC-D-Ala-OH und 4,6 mg (40,0 mmol) N-Methylmorpholin in 50 ml Dimethylformamid wurde dann auf -15°C gekühlt und unter Rühren 5,6 g (40,3 mmol) Isobutylchlorformiat-Lösung zugesetzt. Zwei Minuten später wurde ein gekühltes Gemisch aus 16,2 g (40,0 mmol) TFA-H-Phe-Gly-oBzl und 4,6 ml (40,0 mmol) N-Methylmorpholin in 50 ml Dimethylformamid zugesetzt und das Reaktionsgemisch 30 Minuten bei -15°C gerührt und 2 Stunden bei Raumtemperatur. Das Dimethylformamid wurde unter Vakuum abgezogen und zum Rest 100 ml Ethylacetat zugesetzt, und dieser zweimal mit einer Lösung von 2%iger Schwefelsäure (jeweils 50 ml) gewaschen, zweimal mit jeweils 80 ml Natriumdicarbonat-Lösung gewaschen, mit Wasser auf einen neutralen Wert gewaschen und schließlich über wasserfreiem Natriumsulfat getrocknet. Die Ethylacetatschicht wurde unter Vakuum abgezogen und der Rest aus Ether rekristallisiert. Ausbeute: 14,5 g (75,9%); T_{mp} : 140°C ; R_f 0,79 in einem Gemisch aus Chloroform/Ethylacetat/Methanol (6:3:1); R_f : 0,55 in einem Gemisch aus Chloroform/Methanol (9:1).

C) Herstellung von BOC-Tyr-(BOC)-D-Ala-Phe-Gly-oBzl

[0032] 14,4 g (29,8 mmol) BOC-D-Ala-Phe-Gly-oBzl wurde in 80 ml 50%iger Trifluoressigsäure in Chloroform gelöst.

[0033] Nach einer Stunde wurden die Lösungsmittel abgezogen bis schließlich ein öliges Stoff vorlag. Dieser Rest wurde in 50 ml Dimethylformamid gelöst und 3,4 mg (29,8 mmol) N-Methylmorpholin zugesetzt. Das Gemisch aus 11,4 g (30,0 mmol) BOC-Tyr-(BOC)-OH und 3,45 ml (30,0 mmol) N-Methylmorpholin in 50 ml Dimethylformamid wurde auf -15°C gekühlt und unter Rühren 4,27 g (30,0 mmol) Isobutylchlorformiat zugesetzt. Zwei Minuten später wurde dieser Mischung 14,3 g (30 mmol) Benzylether-Tripeptid: H-D-Ala-Phe-Gly-oBzl zugesetzt. Dieses Reaktionsgemisch wurde 30 Minuten bei einer Temperatur von -15°C gerührt und dann 2 Stunden bei Raumtemperatur. Das Dimethylformamid wurde unter Vakuum abgezogen und zu den Resten 100 ml Ethylacetat zugesetzt. Es wurde zweimal mit 50 ml 2%igen Schwefelsäure gewaschen, danach noch zweimal gewaschen mit einer gesättigten Mischung von 80 ml Natriumbicarbonat. Die Überreste wurden dann mit Wasser gewaschen auf einen neutralen pH und über Natriumsulfat getrocknet. Die Ethylacetatschicht wurde dann unter Vakuum abgezogen und die Reste rekristallisiert. Ausbeute: 18,5 g (83,4%); T_{mp} : $133,5^{\circ}\text{C}$; R_f 0,63 in einem Gemisch aus Chloroform/Ethylacetat/Methanol (6:3:1); R_f : 0,57 in einem Gemisch aus Chloroform/Methanol (9:1).

D) Herstellung von BOC-Arg(NO₂)-Tyr-D-Ala-Phe-Gly-oBzl

[0034] 9,8 g (13,1 mmol) BOC-Tyr-(BOC)-D-Ala-Phe-Gly-oBzl wurde in 80 ml 50%iger Trifluoressigsäurelösung in Chloroform gelöst. Nach einer Stunde wurden die Lösungsmittel abgezogen bis ein öliges Stoff vorlag. Der Rest wurde in Ether rekristallisiert. Ausbeute: 9,68 g (100%).

[0035] 9,6 g (13,0 mmol) TFA-Tyr-D-Ala-Phe-Gly-oBzl wurde in 150 ml Dimethylformamid gelöst und 1,5 ml (13,0 mmol) N-Methylmorpholin zugesetzt. 5,2 g (14,6 mmol) BOC-Arg(NO₂)-OH-1/2THF, 1,97 (14,6 mmol) Oxybenzotriazol. Das Reaktionsgemisch wurde unter Rühren auf -10°C gekühlt und 3,0 g (14,0 mmol) Dicyclohexylcarbodiimid zugesetzt. Das Gemisch wurde 72 Stunden bei Raumtemperatur gerührt. Der Dicyclohexylharnstoff wurde abfiltriert, das Lösungsmittel unter Vakuum abgezogen und zum Rest 100 ml Ethylacetat zugesetzt. Dieser wurde zweimal mit 50 ml 2%iger Schwefelsäure gewaschen. Das Gemisch wurde dann zweimal gewaschen mit 80 ml Natriumbicarbonatgemisch, mit Wasser auf einen neutralen pH-Wert gespült und über wasserfreiem Natriumsulfat getrocknet.

[0036] Die Ethylacetatschicht wurde unter Vakuum abgezogen und der Rest rekristallisiert. Ausbeute: 9,6 g (87,2%); T_{mp} : $176,7^{\circ}\text{C}$; R_f 0,70 in einem Gemisch aus Chloroform/Ethylacetat-/Methanol/Essigsäure (6:3:1:0,5); R_f : 0,23 in einem Gemisch aus Chloroform/Methanol (9:1).

E) Herstellung von H-Arg-Tyr-D-Ala-Phe-Gly-OH

[0037] 9,6 g (13,6 mmol) BOC-Arg(NO₂)-Tyr-D-Ala-Phe-Gly-oBzl wurde in 60 ml Ameisensäure gelöst und 1,0 g Palladiumkatalysator zugesetzt. Es wurde 6 Stunden lang Wasserstoff zugeführt. Der Katalysator wurde abfiltriert und die Ameisensäure unter mehrfachem Zusatz von 100 ml Wasser verdampft. Zum Rest wurde Diethylether zugesetzt. Der Rest wurde abfiltriert, mit Ether gewaschen und getrocknet. Ausbeute 6,9 g (100%); R_f : 0,44 in einem Gemisch aus Butanol/Essigsäure/Wasser (13:1:1).

[0038] Die weitere Aufreinigung des Peptids erfolgte durch Ionenaustauschchromatographie auf einer Säule, die mit einem SephadexTMG-25-Sorbens gepackt war bei einem Gradienten von 0,1 M bis 1,0 M Pyridin-Ace-

tat-Puffer.

[0039] Die physikalisch-chemische Analyse ergab, dass das Peptid H-Arg-Tyr-D-Ala-Phe-Gly-OH eine Molekülmasse von 612,6 besaß und lineare Struktur. Es ist ein weißes Pulver mit gelblicher Färbung und in Wasser löslich, schlecht löslich in Alkohol und nicht löslich in Chloroform.

[0040] Das UV-Spektrum im Bereich von 250–300 nm besitzt ein Maximum bei 275 ± 2 nm, eine Schulter bei 282 ± 2 nm; eine 0,1%iges Gemisch mit Wasser besaß einen pH von 5,0–7,0.

Beispiel 2

Das Verfahren zur Herstellung des Peptids H-Arg-Tyr-D-Orn-Phe-D-Ala-OH.

A) Herstellung von Z-Phe-D-Ala-OH

[0041] 9,89 g (20, mmol) Z-Phe-OPfp wurde in 20 ml Tetrahydrofuran gelöst und 2,3 g (25,6 mmol) H-D-Ala-OH, gelöst in 5 ml Wasser, pH 8,5, zugesetzt. Das Reaktionsgemisch wurde 24 Stunden bei Raumtemperatur gerührt. Die Lösungsmittel wurden unter Vakuum abgezogen, 70 ml Ethylacetat zugesetzt sowie 70 ml 2%ige Schwefelsäure, bis ein pH von 2,2 bis 3 erreicht wurde. Das Peptid wurde zweimal mit 70 ml Ethylacetat extrahiert, mit gesättigter Natriumchlorid-Lösung bis Neutralwert gewaschen, dann mit wasserfreiem Natriumcarbonat getrocknet. Die Lösungsmittel wurden entfernt und unter Vakuum abgezogen bis ein Öl erhalten wurde.

[0042] Das Produkt wurde aus Ether und Hexan rekristallisiert. Ausbeute: 7,6 g (97,7%); R_f : 0,40 in Chloroform/Ethylacetat/Methanol/Essigsäure (6:3:1:0,1); R_f : 0,53 in Essigsäure/Chloroform/Methanol (0,5:16:1); R_f : 0,58 in Essigsäure/Chloroform/Methanol (0,5:9:1); T_{mp} : 153–154°C; $[\alpha]_D^{20} = +3,2$ (C = 1 MeOH).

B) Herstellung von BOC-D-Orn(Z)-Phe-D-Ala-OH.

[0043] 6,5 g (18,0 mmol) Z-Phe-D-Ala-OH wurde in 15 ml Methanol und 2 ml Ameisensäure gelöst sowie 0,2 g Palladium-Kohlenstoff zugesetzt. Es wurde 3 Stunden Wasserstoff durchgeleitet. Der Katalysator wurde abfiltriert und die Lösungsmittel unter Vakuum abgezogen. Die Reste wurde in Ether gelöst. Der Rest wurde gefiltert, mit Ether gewaschen und getrocknet. Ausbeute (H-Phe-D-Ala-OH): 4,3 g (98,1%); R_f : 0,01 in Chloroform/Ethylacetat/Methanol/Essigsäure (6:3:1:0,1); R_f : 0,45 in Essigsäure/Chloroform/Methanol (1:3:2).

[0044] 8,0 g (15,0 mmol) Pentafluorphenylester BOC-D-Orn(Z)-OPfp wurde in 50 ml Dioxan gelöst und unter Rühren 4,3 g (17,7 mmol) H-Phe-D-Ala-OH, gelöst in Wasser bei einem pH von 8,5 zugesetzt. Das Reaktionsgemisch wurde 24 Stunden bei Raumtemperatur gerührt. Die Lösungsmittel wurden unter Vakuum abgezogen und genauso wie in Absatz a) verarbeitet. Das resultierende Gemisch wurde aus Ethylacetat/Ether/Hexan rekristallisiert. Ausbeute: 6,92 g (74,4%); R_f : 0,44 in Essigsäure/Chloroform/Methanol (0,5:16:1); R_f : 0,32 in Chloroform/Ethylacetat/Methanol (6:3:1); T_{mp} 145°C.

C) Herstellung von BOC-Tyr-(Bzl)-D-Orn(Z)-Phe-D-Ala-OH

[0045] 3,3 g (5,6 mmol) BOC-D-Orn(Z)-Phe-D-Ala-OH wurde in 10 ml 50%iger Trifluoressigsäure in Chloroform gelöst. Nach einer Stunde wurden die Lösungsmittel unter Vakuum abgezogen und zum Rest Ether zugesetzt. Das Produkt wurde gefiltert, mit Ether gewaschen und getrocknet. Ausbeute: 3,0 g (100%).

[0046] 3,0 g (5,4 mmol) BOC-Tyr-(Bzl)-OPfp wurde in 10 ml Dimethylformamid und 3,0 g (5,8 mmol) TFA-H-D-Orn(Z)-Phe-D-Ala-OH und 0,25 ml (5,7 mmol) Diethylisopropylamin zugesetzt. Das Reaktionsgemisch wurde 24 Stunden bei Raumtemperatur gerührt. Nach 24 Stunden wurden die Lösungsmittel durch Verdampfen unter Vakuum abgezogen und 70 ml Ethylacetat sowie 70 ml 2%ige Schwefelsäure, pH 2–3 zugesetzt. Das Peptid wurde mit 70 ml Ethylacetat behandelt (acioliert), mit gesättigtem Natriumchlorid auf einen neutralen pH-Wert gewaschen und mit wasserfreiem Natriumsulfat getrocknet. Die Lösungsmittel wurden dann unter Vakuum entfernt bis eine ölige Substanz vorlag. Der Rest wurde aus Ethylacetat und Ether rekristallisiert. Ausbeute: 4,1 g (82,0%); R_f : 0,47 in Essigsäure/Chloroform/Methanol (0,5:16:1); R_f : 0,35 in Essigsäure/Chloroform/Methanol (0,5:16:1).

D) Herstellung Z3-Arg-Tyr(Bzl)-D-Orn(Z)-Phe-D-Ala-OH

[0047] 0,9 g (1,1 mmol) BOC-Tyr(Bzl)-D-Orn(Z)-Phe-D-Ala-OH wurde in 5 ml 50%ige Trifluoressigsäure in Chloroform gelöst. Nach einer Stunde wurden die Lösungsmittel durch Verdampfen unter Vakuum entfernt und Ether zugesetzt. Der Rest wurde filtriert, mit Ether gewaschen und getrocknet. Ausbeute: 0,8 g (100%).

[0048] 0,65 g (1,1 mmol) Z3-Arg-OPfp wurde in 5 ml Dioxan und 1,5 ml Dimethylformamid gelöst, und 0,8 g (1,0 mmol) zu TFA-H-Tyr(Bzl)-D-Orn(Z)-Phe-D-Ala-OH sowie 0,12 ml (1,0 mmol) Diethylisopropylamin zugesetzt. Das Reaktionsgemisch wurde 24 Stunden bei Raumtemperatur gerührt. Die Lösungsmittel wurden dann unter Vakuum entfernt. Es wurde Ethylacetat zugesetzt und der verbleibende Rest abgefiltert. Die Reste wurden rekristallisiert mit Ethylacetat. Ausbeute: 1,88 g (92,0%); R_f : 0,51 in Essigsäure/Chloroform/Methanol (0,5:16:1); R_f : 0,34 in Chloroform/Ethylacetat/Methanol/Essigsäure (6:3:1:0,1); R_f 0,53 in Essigsäure/Chloroform/Methanol (0,5:9:1); T_{mp} 138–143°C.

E) Herstellung von H-Arg-Tyr-D-Orn-Phe-D-Ala-OH

[0049] 0,5 g (0,39 mmol) Z3-Arg-Tyr(Bzl)-D-Orn-Phe-D-Ala-OH wurde in 3 ml Essigsäure und 2 ml Ameisensäure gelöst. Es wurde 0,62 g Palladium-Kohlenstoff zugesetzt und 3 Stunden lang Wasserstoff durchgeleitet. Der Katalysator wurde abgefiltert und die Lösungsmittel unter Vakuum abgezogen. Die resultierende Verbindung wurde in Wasser gelöst und durch reverse Flüssigkeitschromatographie auf einer 1,6 × 25 cm Säule, gepackt mit dem Sorbent „Silasorb™ C-18“-Sorbent (10 mkm) in Acetonitril – 0,01 M Triethylammoniumacetat (pH = 6,0) aufgereinigt. Ausbeute: 0,20 g (80,8%).

Beispiel 3

Schema zur Herstellung des Peptids der Formel H-Arg-Tyr-D-Arg-Phe-D-Ala-OH.

[0050] 0,9 g (0,14 mmol) H-Arg-Tyr-D-Orn-Phe-D-Ala-OH-Guanidil wurde in 5 ml 1 N NaOH gelöst. Das Reaktionsgemisch wurde 7 Tage und Nächte bei Raumtemperatur gerührt und durch reverse Flüssigkeitschromatographie auf einer 1,6 × 25 cm Säule, gepackt mit dem „Silasorb™ C-8“-Sorbent (10 mkm) mit einem Gradient von Acetonitril bis 0,05%ige Trifluoressigsäuregradienten aufgereinigt. Ausbeute: 0,087 g (76,9%).

Beispiel 4 (entfallen)

Beispiel 5

[0051] Dieses Beispiel beschreibt die verschiedenen Versuche zur Evaluierung der opiumähnlichen Aktivität dieser Peptide.

[0052] Die opiumähnliche Aktivität wurde klassisch durch in-vitro-Versuche an isolierten Organen untersucht. – Test GPI (Guang T. A., Kosterlitz H. W., Agonist and antagonist action of morphine like drugs on the guinea pigs isolated ileum, Br. J. Pharmacol., 1966, V.27N3.P.514–527 – Test MVD; Hugs. J. Kosterlitz H. W., Leslie F. M., Effect of morphine on adrenergic transmission in mouse is different. Assessment of agonist and antagonist potencies of narcotics, Br. J. Pharmacol., 1975, V. 53, N3-P. 371–381). Ferner erfolgten Versuche zur Bestimmung der opiumähnlichen Aktivitäten durch den in-vitro Heißplattentest (Aukier S. I, New hot plate tests to qualify analgesic and narcotic antagonist activities, Eur. J. Pharmacol., 174 – V.27 Ni p.1–4) und „Tail flick“ bei Ratten (D'Amour F. E., Smith D. L., A method for determining loss, Exp. Ther., 1974, V.72 Ni-p. 74–79).

[0053] Die analgesischen Aktivitäten dieser Peptide wurden durch das Schwanzschnittverfahren bei Ratten, die eine intranasale Dosis von 0,005 mg/kg erhielten, bestimmt. Der wirkliche analgesische Effekt von 242 Einheiten war charakteristisch für das Peptid H-Arg-Tyr-D-Ala-Phe-Gly-OH. Tabelle 2 beschreibt die Ergebnisse hinsichtlich der opiumähnlichen Aktivität dieser Peptidgruppe.

Tabelle 2

IC₅₀

| Peptid | GPI | MVD |
|---|-----|-----|
| H-Arg-Tyr-D-Ala-Phe-Gly-OH | 6,1 | <5 |
| H-Arg-Tyr-D-Lys-Phe-Gly-OH | 6,6 | 5,0 |
| H-Arg-Tyr-D-Orn-Phe-Gly-OH | 5,4 | <5 |
| H-Arg-Tyr-D-Ala-Phe-D-Ala-OH | 6,1 | 5,6 |
| H-Arg-Tyr-D-Orn-Phe-D-Ala-OH | 6,1 | <5 |
| H-Arg-Tyr-D-Arg-Phe-D-Ala-OH | 6,8 | 5,8 |
| H-Arg-Tyr-D-Arg-Phe-D-Ala-NH ₂ | 6,7 | <5 |

[0054] Es wird angemerkt, dass die Mindestpeptiddosis mit einem biologischen Effekt bei 1–10 µg/kg liegt.

[0055] Die biologische Aktivität dieser Peptide und Derivate wurde geprüft an Mäusen, Ratten, Mink, Vögel, Fischen, Kälbern und Schweinen.

Beispiel 6

[0056] Dieses Beispiel beschreibt die Wirkung der vorliegenden Peptide auf die Gewichtszunahme bei jungen Ratten und Mäusen.

[0057] Die Versuche erfolgten an vier Gruppen mit ein Monat alten Ratten. Die Kontrollgruppe 1 erhielt 0,1 ml Injektionen einer physiologischen Lösung. Die Kontrollgruppe 2, 3 und 4 erhielten das Peptid intravenös mit einer Dosis von 0,1, 0,5 und 1,0 µg/kg. Die Ratten der vier Gruppen wurden alle fünf Tage gewogen und ihre Nahrungsaufnahme überwacht. Der Versuch dauerte 35 Tage. Die Ergebnisse besitzen eine Genauigkeit von < 0,05 und sind in Tabelle 3 beschrieben.

Tabelle 3

| Nummer der Testgruppe | Peptiddosis µg/kg | Gewichtszunahme in % | Nettogewichtszunahme in % |
|-----------------------|-------------------|----------------------|---------------------------|
| 1 | - | 260 | 0 |
| 2 | 0,1 | 270 | 3,8 |
| 3 | 0,5 | 275 | 5,7 |
| 4 | 1,0 | 310 | 19,0 |

[0058] Die größte Gewichtszunahme war in Gruppe 4 zu beobachten. Diese erhielt 1,0 µg/kg Peptiddosen. Die nachstehende Tabelle 4 beschreibt die Gesamtnahrungsaufnahme der Ratten.

Tabelle 4

| Nummer der Testgruppe | Peptiddosis µg/kg | Nahrungsmenge g/Tag/Tier |
|-----------------------|-------------------|--------------------------|
| 1 | - | 14,5 |
| 2 | 0,1 | 15,5 |
| 3 | 0,5 | 14,5 |
| 4 | 1,0 | 16,0 |

[0059] Die Untersuchung des Nahrungsmittelverbrauchs der verschiedenen Gruppen zeigte keine Unterschiede, was darauf hinweist, dass das Peptid anabole Aktivität besitzt.

b) Dieser Versuch erfolgte an sieben Gruppen mit ein 1-Monat alten Mäusen des NMRI-Stamms. Die Mäuse hatten unbegrenzt Zugang zu Nahrung und Wasser. Die erste Gruppe erhielt physiologische Injektionen von 0,1 ml, die zweite, dritte und vierte Gruppe Injektionen des Peptids mit einer Dosis von 1,0 µg/kg bei Gruppe 2, 10,0 µg/kg, bei Gruppe 3, 100,0 µg/kg bei Gruppe 4. Die fünfte, sechste und siebente Gruppe erhielt täglich über die 30 Versuchstage Dosen einer wässrigen Lösung des Peptids und zwar intravenös mit einer Dosis von 0,1, 0,5 und 1,0 µg/kg. Die Mäuse wurden zweimal wöchentlich über die 30 Versuchs-

tage gewogen und die tägliche Nahrungsaufnahme erfolgt.

[0060] Die Ergebnisse über die Gewichtszunahmen sind in folgender Tabelle 5 enthalten.

Tabelle 5

| Nr. der Testgruppe | Peptiddosis in µg/kg | prozentuale Gewichtszunahme | prozentuale Nettogewichtszunahme |
|--------------------|----------------------|-----------------------------|----------------------------------|
| 1 | - | 68 | 0 |
| 2 | 1,0* | 142 | 108 |
| 3 | 10,0* | 105 | 54 |
| 4 | 100,0* | 90 | 32 |
| 5 | 0,1** | 80 | 18 |
| 6 | 0,5** | 70 | 3 |
| 7 | 1,0** | 65 | -0,4 |

* orale Verabreichung

** intravenöse Verabreichung

[0061] Das wirkungsvollere Verfahren zur Verabreichung des Peptids ist oral mit einer wässrigen Lösung die eine Dosis von 1 µg/kg enthält. Nachstehend sind die mittleren Nahrungsmengen angegeben, die von den jeweiligen Gruppen innerhalb 24 Stunden aufgenommen wurden.

Tabelle 6

| Nr. der Testgruppe | Peptiddosis in µg/kg | Nahrungsmenge g/Tag/Tier |
|--------------------|----------------------|--------------------------|
| 1 | - | 5,6 |
| 2 | 1,0* | 7,0 |
| 3 | 10,0* | 5,0 |
| 4 | 100,0* | 5,5 |
| 5 | 0,1** | 5,3 |
| 6 | 0,5** | 5,2 |
| 7 | 1,0** | 5,8 |

[0062] Die Ergebnisse zeigen, dass die größte Gewichtszunahme in der Tiergruppe auftrat, welche die größte Nahrungsmenge bei einer Peptiddosis von 1,0 µg/kg in wässriger Lösung bekam. Es wird angemerkt, dass die Versuchstiere auf eine Peptidaufnahme mit einer erhöhten Nahrungsaufnahme und einer Gewichtszunahme reagierten. Die beobachtete Gewichtszunahme bei der Aufnahme von einem Gramm Nahrungsmittel ist ein Maß für die kommerzielle Anwendung dieses Peptids. Die Ergebnisse sind in Tabelle 7 gezeigt.

Tabelle 7

| Nr. der Testgruppe | Peptiddosis in µg/kg | prozentuale Nettogewichtszunahme |
|--------------------|----------------------|----------------------------------|
| 1 | - | 100 |
| 2 | 1,0* | 128,1 |
| 3 | 10,0* | 136,5 |
| 4 | 100,0* | 127 |
| 5 | 0,1** | 110,4 |
| 6 | 0,5** | 115,3 |
| 7 | 1,0** | 97 |

[0063] Die größte Gewichtszunahme durch die Aufnahme von einem Gramm Nahrung erfolgte bei Verabreichung des Peptids in einer wässrigen Lösung mit einer Dosis von 10,0 µg/kg. Das Nettogewicht, das die Testgruppen gewonnen, war 36,5% größer als das Nettogewicht bei den Kontrollgruppen.

Beispiel 7

[0064] Das Beispiel schreibt die Wirkung der erfindungsgemäßen Peptide auf die Morphologie der Haut und

das Haarwachstum.

[0065] Der Versuch erfolgte mit vier Gruppen von Mäusen des NMRI-Stamms. Die erste Gruppe war die passive Kontrollgruppe, die anderen Gruppen enthielten das Peptid mit folgenden Dosen: Gruppe 2: 1,0 µg/kg; Gruppe 3: 10,0 µg/kg; und Gruppe 4: 100 µg/kg.

[0066] Die 5 × 5 mm großen Hautproben aus dem Scheitelbereich der Tiere wurden durch Biopsie entnommen und mit dem "Illi"-Verfahren 48 Stunden getestet. Die Hautproben wurden mit Alkohol behandelt und 24 Stunden in ein Pigment getaucht. Der nächste Schritt war eine Behandlung in Cellodin. Die Präparation der histologischen Proben erfolgte mit Skalpell, die von der Firma "Rehard" hergestellt waren. Die Proben wurden axial angeordnet und die Einschnittkanten gefärbt mit Hilfe des klassischen Eosin-Verfahrens.

[0067] Bei der histologischen Prüfung wurden die epidermischen und dermischen Eigenschaften der 10 µm dicken Proben untersucht. Die Zahl der Haarfollikel wurde pro Quadratmillimeter gezählt gemäß dem "Aftondilov"-Verfahren und zwar für die Versuchs- und die Kontrolltiergruppen.

[0068] Es wurde gefunden, dass bei Mäusen, die 100,0, 10,0 und 1,0 µg/kg Peptid erhielten, die Haarfollikel 14%, 19% bzw. 22% zunahmen, und zwar im Vergleich zur Kontrollgruppe.

[0069] Die Hautproben der Tiergruppen zeigten, dass die vierte Tierversuchsgruppe, welche 100,0 µg/kg bekam, ein Wachstum der Epidermisschicht der Hyperkeratosiszone erfuhr. Die dritte Tiergruppe mit der Dosis 100,0 µg/kg veränderte sich ähnlich der Gruppe 4. Es wurde eine Verdickung der Epidermis beobachtet. In der zweiten Tiergruppe trat eine Aktivität in der Wachstumszone des Epithelgewebes auf sowie eine Verbesserung der Zustände der Unterfettschicht.

[0070] Die angegebenen Versuchsgruppen zeigten ein Haarwachstum im Scheitelbereich. Es wurden von jedem Tier mit einer Genauigkeit von einem Mikrometer zehn Haare ausgemessen und die Mittelwerte für die jeweilige Testgruppe berechnet. Tabelle 8 zeigt diese Ergebnisse.

Tabelle 8

| Nr. der Testgruppe | Peptiddosis in µg/kg | Längenzunahme in mm | prozentuale Nettogewichtszunahme |
|--------------------|----------------------|---------------------|----------------------------------|
| 1 | - | 4,2 | 0 |
| 2 | 1,0 | 4,4 | 4,5 |
| 3 | 10,0 | 4,9 | 16,7 |
| 4 | 100,0 | 4,5 | 17,9 |

[0071] Wenn Peptide mit einer Dosis von 10 und 100 µg/kg verabreicht werden, so hat dies eine stimulierende Wirkung auf das Haarwachstum in den Mäusen.

[0072] Die Peptide in diesem Versuch zeigten keinerlei Toxizität. Die Peptide erwiesen sich auch stimulierend für die Wachstumsaktivität der Epithelzellen, die Entwicklung der epidermalen Hautschicht, die das Wachstum der Dichte und Zahl der Haarfollikel sowie eine Zunahme des Volumens an Lebendgewebe.

Beispiel 8

[0073] Das Beispiel beschreibt den Einfluss der Peptide auf die Regenerierung der Schwanzflossen von Fischen.

[0074] Die Versuche erfolgten an jungen Karpfen und Forellenfischen. Die Fische schwammen zwei Monate in einer Peptidlösung mit einer Konzentration von 1,0 mg/l.

[0075] Für die Dauer des Versuchs wurde die Regenerierung der Schwanzflossen beobachtet (Test- und Kontrollgruppen waren durch Trimmen der Schwanzflossen zwecks Identifikation markiert). Beim Messen der Schwanzflossen in der Kontrollgruppe wurde gefunden, dass die Länge des regenerierten Bereichs 183±23 µm war. Die Testgruppe besaß ein Maß von 286±26 µm, was mindestens 1,5 mal größer ist als die Größe der Kontrollgruppe. Die Geschwindigkeit des Regenerierungsprozesses in der Versuchsgruppe war 1,5 mal größer als in der Kontrollgruppe der Karpfenfische. Es ist offensichtlich, dass das Peptid wachstumsstimulierende Eigenschaften besitzt, was für Heilzwecke ausgenutzt werden kann.

[0076] Bei der Bestimmung des Titers von Agglutinin-Erythrocyten von Kaninchen im Blut und Peptidserum von Karpfenfischen über eine Woche stellte sich heraus, dass sich die Titergröße zum Faktor 1,95 erhöhte.

[0077] Die Versuchsergebnisse zeigen, dass die Fische unter dem Einfluss des Peptids widerstandsfähiger sind gegen Protozoen und bakterielle Infektionen und dass sie auch besser mit den Umweltbedingungen zurechtkamen.

Beispiel 9

[0078] Dieses Beispiel beschreibt den Einfluss des Peptids auf die Gewichtszunahme in Mink und Polarfuchs.

[0079] Für diesen Versuch wurden junge Polarfüchse und Minks eingesetzt, die zwei Monate alt waren. Es gab drei Testgruppen und eine Kontrollgruppe für jede Tierart.

[0080] Die erste Testgruppe erhielt Peptide mit einer Dosis von 10 Mikrogramm pro Kilogramm Lebendmasse in Form eines Nahrungsmittelzusatzes.

[0081] Die zweite Versuchsgruppe erhielt über zehn Tage Peptid mit einer Dosis von 10 Mikrogramm pro Kilogramm Lebendmasse, gefolgt von einer 10-Tage-Pause. Dieses Verfahren erfolgte bis zur Schlachtung der Tiere.

[0082] Die dritte Testgruppe erhielt das Peptid in gleicher Weise wie die erste Testgruppe, aber die Dosen betragen 20 Mikrogramm pro Kilogramm Lebendmasse.

[0083] Einen Monat nach Beginn des Versuchs wurden die Tiere gewogen. Die Ergebnisse zeigen einen Unterschied für die männlichen und die weiblichen Tiere der Versuchsgruppen gegenüber denen der Kontrollgruppe. Die Ergebnisse des Versuchs, beschrieben als Mittelwerte, sind in Tabelle 9 enthalten.

Tabelle 9

| Nr. der Versuchsgruppe und Tierart | Peptiddosis in µg/kg | Proz. Gewichtszunahme kg Weibchen – Männchen | Prozentuale Nettogewichtszunahme Weibchen – Männchen |
|------------------------------------|----------------------|--|--|
| Mink | | | |
| 1 | - | 0,419 - 0,611 | 100 - 100 |
| 2 | 10 | 0,375 - 0,728 | 90 - 119 |
| 3 | 10 | 0,381 - 0,726 | 91 - 119 |
| 4 | 20 | 0,443 - 0,771 | 106 - 126 |
| Polarfuchs | | | |
| 1 | - | 0,700 - 0,580 | 100 - 100 |
| 2 | 10 | 1,780 - 0,830 | 105 - 116 |
| 3 | 10 | 1,740 - 1,890 | 102 - 120 |
| 4 | 20 | 1,810 - 1,920 | 106 - 121 |

[0084] Die Ergebnisse zeigen, dass die Weibchen der beiden Tierarten der dritten Versuchsgruppe eine 6%ige Gewichtszunahme erfuhren, wenn sie das Peptid mit einer Dosis von 20 Mikrogramm pro kg Lebendmasse erhielten. Die Minkmännchen erfuhren eine Gewichtszunahme von 26% und die Fuchsmännchen eine Gewichtszunahme von 21%.

Beispiel 10

[0085] Das Beispiel beschreibt den positiven Einfluss des Peptids auf die Pelzqualität von Mink und Polarfüchsen.

[0086] Die Bedingungen und Verfahren dieses Versuchs waren wie in Versuch 9. Nach Schlachtung der Tiere

wurden die Pelzflächen ausgemessen und die Pelzqualität bewertet. Es wurde eine Zunahme der Pelzfläche bei allen Versuchsgruppen gegenüber der Kontrollgruppe beobachtet, wobei die allgemeine Qualität auf einem hohen Wert liegt. Die Zunahme der Indikatoren in der Mink-Testgruppe zeigte einen Mittelwert von 105% für die Gruppe 2, 108% für die Gruppe 3, 108% für die Gruppe 4. Die Ergebnisse mit den Polarfüchsen waren für die Gruppe 2 112%, für die Gruppe 3 107% und die Gruppe 4 106%.

Beispiel 11

[0087] Das Beispiel beschreibt die Peptidwirkung auf die Gewichtszunahme bei Ferkeln.

[0088] In diesem Versuch wurden sieben Gruppen an Ferkeln, die vom Muttertier entwöhnt waren, eingesetzt. Die Ferkel waren vier bis fünf Monate alt. Eine Ferkelgruppe diente als Kontrollgruppe und die anderen sechs waren Versuchsgruppen. Die ersten drei Versuchsgruppen erhielten Peptid als Nahrungsmittelzusatz in einer Höhe von 1,0 µg/kg bei der zweiten Versuchsgruppe, 5,0 µg/kg bei der dritten und 10,0 µg/kg bei der vierten Gruppe, bezogen auf die Lebendmasse der Tiere.

[0089] Die Dosen wurden an zwanzig Tagen des jeweiligen Monats verabreicht, gefolgt von einer zehntägigen Pause. Die anderen drei Versuchsgruppen erhielten das Peptid als Injektion mit einer Dosis von 0,01% wässriger Lösung über 5 Tage in jedem Monat, bei 25 Tagen Pause. Die Gruppe 5 erhielt 0,1 µg/kg, die Gruppe 6 0,5 µg/kg, die Gruppe 7 1,0 µg/kg Tierlebendmasse. Der Versuch dauerte über 100 Tage. Die Versuchsergebnisse sind in Tabelle 10 enthalten.

Tabelle 10

| Nr. der Testgruppe | Peptiddosis in µg/kg | prozentuale Gewichtszunahme | prozentuale Nettogewichtszunahme |
|--------------------|----------------------|-----------------------------|----------------------------------|
| 1 | - | 52+ -3,9 | 100 |
| 2 | 1,0* | 60+ -5,1 | 115 |
| 3 | 5,0* | 56+ -4,8 | 108 |
| 4 | 10,0* | 68+ -4,9 | 130 |
| 5 | 0,1** | 57+ -3,7 | 109 |
| 6 | 0,5** | 59+ -4,1 | 114 |
| 7 | 1,0** | 62+ -1,2 | 118 |

* orale Aufnahme

** Verabreichung durch Injektion

[0090] Die Versuchsergebnisse zeigen, dass beste Resultate erreicht werden, wenn den Tieren hohe Dosen erhielten. Die dritte Versuchsgruppe, die oral das Peptid mit einer Dosis von 10 Mikrogramm pro kg Lebendmasse erhielt, erfuhr eine Gewichtszunahme von 30% und mehr über der Kontrollgruppe. Die sechste Gruppe, welche das Peptid als Injektion mit einer Dosis von 1,0 Mikrogramm pro kg Lebendmasse erhielt, erfuhr eine Gewichtszunahme von 18% über der Kontrollgruppe. Die Versuche zeigen, dass der Einsatz des Peptids keine negativen Wirkungen oder Abweichungen von der Norm hinsichtlich der biochemischen Indikatoren im Blut der Versuchstiere bewirkte. Das Peptid bewirkte eine Erhöhung der Muskelmasse in den Versuchstieren.

Beispiel 12

[0091] Das Beispiel beschreibt die Peptidwirkung auf die Gewichtszunahme bei Masthähnchen.

[0092] Der Versuch erfolgte mit Masthähnchen der Art P-46, die der Geflügelerzeugung dienen. Die Hähnchen waren 24 Stunden alt. Die Versuchshähnchen wurden in fünf Gruppen eingeteilt mit jeweils 13 Tieren. Die erste Gruppe war die Kontrollgruppe und die anderen vier die Versuchsgruppen. Die Hähnchen der Versuchsgruppen erhielten das Peptid mit der Nahrung gemischt und zwar in einer Menge von 8 Mikrogramm pro kg Lebendmasse für Gruppe 2, 12 Mikrogramm pro kg für Gruppe 3, 16 Mikrogramm pro kg in der Gruppe 4 und 20 Mikrogramm pro kg in der Gruppe 5. Das Federvieh wurde bis zu einem Alter von zehn Wochen mit einem Kombinationsfutter, wie es für dieses Geflügel empfohlen ist, gefüttert.

[0093] Alle Hähnchen in diesem Versuch und in den Kontrollgruppen überlebten die Versuchsdauer. Die Be-

obachtung ergab, dass die Versuchsgruppen alle das Futter gerne aufnahmen und dass keine sichtbaren Unterschiede zur Kontrollgruppe bestanden.

[0094] Die Tabelle 11 zeigt die Einzelheiten zu diesem Versuch.

Tabelle 11

| Nr. der Testgruppe | Peptiddosis in µg/kg | prozentuale Gewichtszunahme | prozentuale Nettogewichtszunahme |
|--------------------|----------------------|-----------------------------|----------------------------------|
| 1 | - | 10,2 | 100 |
| 2 | 8 | 10,4 | 102 |
| 3 | 12 | 12,5 | 122,6 |
| 4 | 16 | 11,8 | 115,7 |
| 5 | 20 | 11,6 | 113,7 |

[0095] Die mittlere Gewichtszunahme in den Versuchsgruppen 3 bis 5 lag 13 bis 23% über der Kontrollgruppe und die Futtermenge nahm in gleichem Maße ab. Die Nahrungsaufnahme in den Versuchsgruppen 2 bis 5 erwies sich als niedriger als in der Kontrollgruppe, wobei dieser Wert 2,4% bei Gruppe 2 war, 17,1% bei Gruppe 3, 14,9% bei Gruppe 4 und 14,4% für die Gruppe 5.

[0096] Die organoleptischen Eigenschaften des Hähnchenfleischs von den Versuchsgruppen waren nicht verschieden hinsichtlich Farbe, Geruch, Konsistenz und Geschmacksqualität gegenüber dem Fleisch der Hähnchen-Kontrollgruppe.

Beispiel 13

[0097] Das Beispiel beschreibt den Peptideinfluss auf die Gewichtszunahme von jungen männlichen Bullen.

[0098] In diesem Versuch wurden sieben Gruppen Jungbullen eingesetzt im Alter von 2 Monaten und 12 Tiere pro Versuchsgruppe. Die erste Gruppe war die Kontrollgruppe und die anderen sechs die Versuchsgruppen. Die erste von den drei Versuchsgruppen erhielt das Peptid in wässriger Lösung in oraler Form auf leeren Magen in einer Menge von 1,0 µg/kg für die erste Versuchsgruppe, 5,0 µg/kg für die zweite Versuchsgruppe und 10,0 µg/kg für die dritte Versuchsgruppe. Die weiteren drei Versuchsgruppen erhielten das Peptid als Injektion einer 0,1%igen wässrigen Lösung mit Dosen von 0,1 µg/kg für die vierte Gruppe, 0,5 µg/kg für die fünfte Gruppe und 1,0 µg/kg für die sechste Gruppe. Alle Versuchsgruppen zeigten keinerlei sichtbare Zeichen einer Abweichung von der Norm bei klinischen und physiologischen Untersuchungen.

[0099] Die Ergebnisse sind in Tabelle 12 enthalten. Sie bestätigen die Tatsache, dass das Peptid eine positive Wirkung auf die Wachstumsrate und die Gewichtszunahme bei den Bullen hat, wenn es oral oder intravenös aufgenommen wird.

Tabelle 12

| Nr. der Testgruppe | Peptiddosis in µg/kg | prozentuale Gewichtszunahme | prozentuale Nettogewichtszunahme |
|--------------------|----------------------|-----------------------------|----------------------------------|
| 1 | - | 24,6 | 100 |
| 2 | 1,0* | 27,2 | 110 |
| 3 | 5,0* | 26,1 | 106 |
| 4 | 10,0* | 34,6 | 142 |
| 5 | 0,1** | 30,3 | 123 |
| 6 | 0,5** | 29,7 | 121 |
| 7 | 1,0** | 37,6 | 153 |

* orale Aufnahme

** intravenöse Injektion

[0100] Maximale positive Werte wurden bei den höchsten Dosen erhalten.

[0101] Wird das Peptid oral als wässrige Lösung mit einer Dosis von 10 Mikrogramm pro Kilogramm Lebendmasse verabreicht, dann beträgt die mittlere Gewichtszunahme in einem 24-Stunden-Zeitraum bei 583 g, was

172 g über der Kontrollgruppe im 60-Tage-Messzeitraum liegt. Bei Verabreichung einer wässrigen Lösung als Injektion (Dosis 1 Mikrogramm pro Kilogramm Lebendmasse) waren die Ergebnisse sogar höher. Die mittlere Gewichtszunahme binnen 24 Stunden betrug 627 g und damit 217 g höher als bei der Kontrollgruppe.

Beispiel 14

[0102] Dieses Beispiel beschreibt die Peptidwirkung auf die Gewichtszunahme bei Fischen.

a) Es wurden zehn Karpfenfische in ein Aquarium gegeben, das über zwei Stunden eine Peptidlösung enthielt (Konzentration 0,25 mg/l). Die Fische wurden individuell markiert und gewogen und dann in das Umwälzaquarium gegeben. Die Karpfenfische erhielten eine tägliche Dosis Trockenfutter, wobei die Dosis 3% der Ursprungsmasse betrug.

[0103] Nach 20 Tagen wurden die Fische herausgenommen und gewogen. Die Ergebnisse des Wägeprozesses sind in Tabelle 13 beschrieben.

Tabelle 13

| Eigenschaften | Kontrolle | Versuch |
|---|------------|------------|
| Zahl der Fische | 10 | 10 |
| Mittleres Gewicht zu Beginn des Versuchs in Gramm | 31,6+ -3,9 | 33,0+ -4,9 |
| Mittleres Gewicht am Ende des Versuch in Gramm | 33,0+ -4,7 | 40,6+ -5,6 |
| Vergleich zur Kontrollgruppe in % | 100 | 123,0 |

[0104] Die mit dem Peptid behandelten Karpfen erfuhren im Mittel eine 23%ige Gewichtszunahme, wobei die individuellen Abweichungen 18,9 bis 31% betragen.

b) Dieser Versuch erfolgte mit jungen Forellen von 0,5 g Gewicht. Die Fische schwammen zwei Monate in einer Lösung mit einer Peptidkonzentration von 1,0 Mikrogramm pro Liter. Die Ergebnisse zeigen ein mittleres Fischgewicht in der Kontrollgruppe von 2,83 g und in der Versuchsgruppe von 3,86 g.

[0105] Das Gewicht der Versuchsgruppe nahm gegenüber der Kontrollgruppe um 36,4% zu.

Beispiel 15

[0106] Es wurde eine pharmazeutische Zusammensetzung hergestellt auf Grundlage einer aktiven Komponente gemäß Beispiel 1. Der Peptidgehalt betrug 0,001 bis 0,1%, bevorzugt 0,001 bis 0,1%.

[0107] Es wurden in dieser Zusammensetzung Wassercarbohydrat und andere Träger verwendet, wie sie in Nahrungsmittelzusätzen und Flüssigkeiten für Tiere zu finden sind.

[0108] Die Herstellung des Nahrungsmittelzusatzes erfolgte durch Mischen des Peptidpulvers mit Wasser oder Nahrungsmittel. Die Menge an Nahrungsmittel, die dem Gemisch zugesetzt wird, hängt ab von der gewünschten Konsistenz oder den Versuchsbedingungen.

a) In den Versuchen mit den Fischen schwammen die Fische in einer wässrigen Lösung mit einer Peptidkonzentration von 1,0 mg/L.

b) Die pharmazeutische Zusammensetzung auf Grundlage der biologisch aktiven Komponente wurde wie in Beispiel 1 erhalten. Die Zusammensetzung wurde hergestellt mit einem Peptidgehalt von 0,001% für ein Gemisch, das dann der Trinkflüssigkeit für die Kälber zugesetzt wurde. Das Mischungsmittel war Wasser.

c) Die pharmazeutische Zusammensetzung auf Grundlage der biologisch aktiven Komponente wurde wie in Beispiel 1 hergestellt. Die Zusammensetzung wurde hergestellt mit einem Peptidgehalt von 0,001% für ein Gemisch, das dann der Trinklösung für die Ferkel zugesetzt wurde. Das Mischungsmittel war Wasser.

Kommerzielle Anwendung

[0109] Die Peptide und die pharmazeutische Zusammensetzung gemäß den Beispielen 5 bis 14 können weiterhin in Medizin und Landwirtschaft eingesetzt werden. Die geeigneten Peptide haben die folgende Formel: X-Tyr-Y-Phe-Z-A, worin ist X gleich Arg, D-Arg, Orn, D-Orn, Lys, D-Lys, Har, D-Har, Cyt, D-Cyt; Y gleich D-Ala,

D-Val, D-Leu, D-Ile, D-Phe, D-Asn, D-Trp, D-Pro, D-Ser, D-Thr, D-Tyr, D-Hyp, D-Cys, D-Cys-Cys, D-Met, D-Lys, D-Har, D-Arg, D-His, D-Asp, D-Glu, D-β-Ala, D-Orn; Z gleich D-Ala, D-Val, D-Leu, D-Ile, D-Phe, Asn, D-Asn, Gly, Gln, D-Gln, D-Trp, D-Pro, D-Ser, D-Thr, D-Tyr, Hyp, D-Hyp, Cys, D-Cys, Cys-Cys, Cys-D-Cys, D-Cys-Cys, D-Cys-D-Cys, D-Met, Lys, D-Lys, Arg, D-Arg, His, D-His, Asp, D-Asp, Glu, D-Glu, β-Ala, D-β-Ala, Orn, D-Orn; und A gleich OH oder ein substituiertes Amid (C₁ bis C₃).

[0110] Kommerziell geeignete pharmazeutische Zusammensetzungen umfassen einen aktiven Zusatz wie oben beschrieben sowie ein Verdünnungsmittel oder Füllmittel.

Patentansprüche

1. Peptid der Formel I

X-Tyr-Y-Phe-Z-A (I)

worin ist:

X Arginin, D-Arginin, Ornithin, D-Ornithin, Lysin, D-Lysin, Homoarginin, D-Homoarginin, Citrullin oder D-Citrullin;

Tyr Tyrosin:

Y D-Alanin, D-Valin, D-Leucin, D-Isoleucin, D-Phenylalanin, D-Asparagin, D-Tryptophan, D-Prolin, D-Serin, D-Threonin, D-Tyrosin, D-Hydroxyprolin, D-Cystein, D-Cysteyl-cystein, D-Methionin, D-Lysin, D-Homoarginin, D-Arginin, D-Histidin, D-Asparaginsäure, D-Glutaminsäure, D-β-Alanin oder D-Ornithin;

Phe Phenylalanin;

Z D-Alanin, D-Valin, D-Leucin, D-Isoleucin, D-Phenylalanin, Asparagin, D-Asparagin, Glycin, Glutamin, D-Glutamin, D-Tryptophan, D-Prolin, D-Serin, D-Threonin, D-Tyrosin, Hydroxyprolin, D-Hydroxyprolin, Cystein, D-Cystein, Cysteyl-cystein, Cystein-D-cystein, D-Cysteyl-cystein, D-Cystein-D-cystein, D-Methionin, Lysin, D-Lysin, Arginin, D-Arginin, Histidin, D-Histidin, Asparaginsäure, D-Asparaginsäure, Glutaminsäure, D-Glutaminsäure, β-Alanin, D-β-Alanin, Ornithin oder D-Ornithin; und

A Hydroxyl oder substituiertes Amid (C₁-C₃).

2. Peptid nach Anspruch 1, worin A Hydroxyl ist.

3. Peptid nach Anspruch 1, worin ist:

X Arginin, D-Arginin, D-Ornithin, Homoarginin, D-Homoarginin oder Citrullin;

Y D-Ornithin, D-Alanin oder D-Arginin;

Z D-Alanin, Glycin, D-Prolin oder β-Alanin; und

A Hydroxyl oder substituiertes Amid (C₁-C₃).

4. Peptid nach Anspruch 3, worin A Hydroxyl ist.

5. Peptid nach Anspruch 1, worin ist:

X Arginin, Homoarginin, D-Homoarginin, Citrullin oder D-Citrullin;

Y D-Alanin, D-Ornithin, oder D-Arginin;

Z D-Alanin; und

A Hydroxyl oder substituiertes Amid (C₁-C₃).

6. Peptid nach Anspruch 5, worin A Hydroxyl ist.

7. Peptid der Formel I nach Anspruch 1, worin X Arginin ist, Y D-Alanin, Z D-Prolin oder β-Alanin und A Hydroxyl.

8. Peptid nach Anspruch 1, bestehend im Wesentlichen aus der Sequenz

H-D-Orn-Tyr-D-Ala-Phe-D-Ala-OH,

H-Arg-Tyr-D-Ala-Phe-β-Ala-OH,

H-Arg-Tyr-D-Ala-Phe-Gly-OH,

H-Arg-Tyr-D-Ala-Phe-D-Pro-OH,

H-Arg-Tyr-D-Ala-Phe-D-Ala-OH,

H-Arg-Tyr-D-Orn-Phe-D-Ala-OH oder

H-Arg-Tyr-D-Arg-Phe-D-Ala-OH.

9. Peptid, bestehend im Wesentlichen aus der Sequenz in Anspruch 1
H-Arg-Tyr-D-Arg-Phe-D-Ala-NH₂
H-Har-Tyr-D-Arg-Phe-D-Ala-NH₂
H-D-Har-Tyr-D-Arg-Phe-D-Ala-NH₂
H-Cyt-Tyr-D-Arg-Phe-D-Ala-NH₂ oder
H-D-Cyt-Tyr-D-Arg-Phe-D-Ala-NH₂.
10. Peptid nach Anspruch 1, bestehend im Wesentlichen aus der Sequenz H-Arg-Tyr-D-Ala-Phe-Gly-OH oder H-Arg-Tyr-D-Orn-Phe-D-Ala-OH.
11. Peptid nach Anspruch 1, bestehend im Wesentlichen aus der Sequenz H-Arg-Tyr-D-Ala-Phe-Gly-OH.
12. Zusammensetzung, umfassend ein oder mehrere Peptide nach einem der vorhergehenden Ansprüche 1 bis 11 und ein pharmazeutisch akzeptabler Träger oder Verdünner.
13. Zusammensetzung nach Anspruch 12, wobei die Zusammensetzung 0,001 Gew.-% bis 0,1 Gew.-% Peptid enthält.
14. Substanz oder Zusammensetzung nach irgendeinem der Ansprüche 1 bis 13 zur Verwendung in einem Medikament oder in einem Nahrungsmittelzusatz oder in einer pharmazeutischen Zusammensetzung.
15. Verwendung einer Substanz oder einer Zusammensetzung nach irgendeinem der vorhergehenden Ansprüche 1 bis 14 zur Herstellung einer pharmazeutischen Zusammensetzung oder eines Medikaments oder eines Nahrungsmittelzusatzes zur Modulierung ein oder mehrerer physiologischer Vorgänge ausgewählt aus der Gruppe Gewichtszunahme, Aktivitäten der Epithel-Wachstumszone, Haarwachstum, Wundheilung, reparative und anabole Prozesse.
16. Verwendung einer Substanz oder einer Zusammensetzung nach irgendeinem der Ansprüche 1 bis 14 zur Herstellung eines Medikaments zur Schmerzlinderung.
17. Verwendung einer Substanz oder einer Zusammensetzung nach irgendeinem der Ansprüche 1 bis 14 zur Herstellung eines Medikaments oder eines Nahrungsmittelzusatzes zur Erhöhung der Gewichtszunahme in einem Tier.

Es folgt kein Blatt Zeichnungen