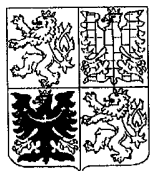


PŘIHLÁŠKA VYNÁLEZU

zveřejněná podle § 31 zákona č. 527/1990 Sb.

(19)
ČESKÁ
REPUBLIKA



ÚŘAD
PRŮMYSLVÉHO
VLASTNICTVÍ

(22) Přihlášeno: **02.06.1999**
(32) Datum podání prioritní přihlášky: **26.06.1998**
(31) Číslo prioritní přihlášky: **1998/090714**
(33) Země priority: **US**
(40) Datum zveřejnění přihlášky vynálezu: **15.08.2001**
(Věstník č. 8/2001)
(86) PCT číslo: **PCT/IB99/00993**
(87) PCT číslo zveřejnění: **WO00/00507**

(21) Číslo dokumentu:

2000 -4806

(13) Druh dokumentu: **A3**

(51) Int. Cl. ⁷:

C 07 K 1/107

C 07 K 14/61

A 61 K 47/48

(71) Přihlašovatel:
PFIZER PRODUCTS INC., Groton, CT, US;

(72) Původce:
Way Bruce Allan, East Lyme, CT, US;
Clark Michael Thomas, Gales Ferry, CT, US;

(74) Zástupce:
Matějka Jan JUDr., Národní 32, Praha 1, 11000;

(54) Název přihlášky vynálezu:
Zlepšený způsob přípravy Schiffových bází,
aduktů a činů s o-hydroxyaldehydy a kompozice
na jejich rozkladě

(57) Anotace:

Zlepšený způsob přípravy Schiffových bází, aduktů vzniklých kondenzační reakcí, kde složky aduktů tvoří protein mající prospěšné účinky pro živočichy a aromatický o-hydroxyaldehyd. Výhodné aromatické o-hydroxyaldehydy zahrnují o-vanilin; salicylaldehyd; 2,2-dihydroxybenzaldehyd; 2,6-dihydroxybenzaldehyd; 2-hydroxy-3-ethoxybenzaldehyd; nebo pyridoxal. Vhodné proteiny zahrnují velmi široký rozsah proteinů. Způsob poskytuje výtěžky nad 90 % a v podstatě kvantitativní konverzi aldehydu a proteinu na kondenzační adukt.

Zlepšený způsob přípravy Schiffových bazí, aduktů aminů s o-hydroxyaldehydy a kompozice na jejich podkladě.

Oblast techniky

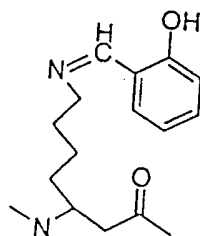
Vynález je z technické oblasti syntéz organických sloučenin zahrnujících Schiffovy baze, tj. adukty aminů s aldehydy nebo s ketony, se zlepšenou stabilitou a dalšími požadovanými vlastnostmi. Zejména se vynález týká ekonomických a účinných způsobů přípravy velkých množství těchto aduktů v průmyslovém měřítku. Výše zmíněná oblast techniky zahrnuje zejména ty adukty, ve kterých aminovou složku tvoří protein se známými vhodnými léčebnými účinky při léčbě živočichů a lidí a kde připravený adukt má zlepšené vlastnosti pokud jde o jeho podávání a farmakokinetické vlastnosti.

Předložený vynález je založený na nečekaném objevu, že výše uvedené adukty lze připravit snadným, reprodukovatelným a transponovatelným způsobem v kvantitativních výtěžcích s použitím lyofilizace, sušení rozprašováním nebo podobnými způsoby aplikovanými v základní reakci; a udržováním hodnoty pH reakční směsi na hodnotě 7,0 nebo vyšší; a za splnění požadavku, že aldehydový reaktant je zvolen z aromatických orto-hydroxyaldehydů. Tento objev je široce aplikovatelný na všechny proteinové reaktanty splňující určitá kritéria jejich použitelnosti která jsou podrobněji popsána níže. Vynález například zahrnuje přípravu Schiffovy baze jako aduktu prasečího somatotropinu a aromatického orto-hydroxyaldehydu, vanilinu. Prasečí somatotropin je růstový hormon používaný pro zlepšení účinnosti výkrmu vepřů.

Dosavadní stav techniky

V oboru je známé, a nejvíce se to také týká předloženého vynálezu, že vlastnosti aminové sloučeniny pokud jde o její stabilitu a vlastností při zpracování, lze zlepšit reakcí s aldehydem nebo s ketonem. Například reakce cytochromu c se salicylaldehydem byla použita jako snadno reverzibilní proces umožňující studii účinku modifikace náboje na vlastnosti proteinu.

Na rozdíl od většiny popisů v technické literatuře, v práci autorů Williams a Jacobs, Biochem.Biophys.Acta, 154 (1968), 323-331 je uvedena izolace Schiffovy baze ve formě finálního aduktového produktu. Směs salicylaldehydu a cytochromu c se vysráží a úplná se konverze se odvodí z použitých dlouhých rovnovážných časů. Tvorbu aduktu podle výše uvedené práce lze znázornit následujícím parciálním vzorcem (1):



(1.)

kde primární aminová skupina je ϵ -aminoskupina molekuly lysinu, která reaguje s karbonylovou skupinou molekuly salicylaldehydu za tvorby iminu, který je možné znázornit vzorcem $R-(R)C=N-R$. Tyto iminy se obvykle označují jako Schiffovy baze a jejich příprava se obvykle provádí za katalýzy kyselinou nebo bazí nebo za zahřívání. Průběh tvorby Schiffových bazí se obvykle urychluje srážením iminu, odstraňováním vody nebo obojím způsobem.

Dalším příkladem oboru je aplikace, kde srpkovité erytrocyty byly zpracovány s různými aldehydy a ketony za tvorby iminových vazeb s intracelulárním hemoglobinem. Viz Zaugg a sp., J.Biol.Chem., 252(23) (1977), 8542-8548. Aromatické aldehydy se projevily jako reaktivnější složky než alifatické aldehydy a ketony, které byly nereaktivní. Účinek substituce v kruhu na reaktivitu potvrdil její očekávané elektronové a sterické jevy. Zejména 2,4-dihydroxybenzaldehyd a o-vanilin významně zvýšily afinitu kyslíku na hemoglobiny A a S. Nicméně v uvedené práci není žádný návrh, že pomocí o-hydroxyaldehydů by bylo možné docílit kvantitativních výtěžků Schiffových bazí, jako aduktů s proteiny.

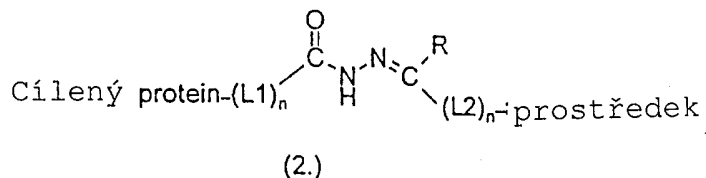
V technické literatuře jsou také uvedeny některé příklady Schiffových bazí jako aduktů s aminy jinými než jsou proteiny, například s malými molekulami léčiv. Fujiwara a sp., Chem.Pharm.Bull., 30 (1982), 3310, a Chem.Pharm.Bull., 31(4) (1983) 1335-1344, popisují tvorbu aduktů s antibiotiky, cefalexinem a cefalosporinem, a s aldehydy. Ani v těchto pracích není žádný návrh na použití o-hydroxyaldehydů; a přestože uvedené produkty se získávají lyofilizací jejich alkalických roztoků, v těchto pracích není popsán navrhovaný postup podle vynálezu a dosažení kvantitativních výsledků předloženým způsobem.

Schiffovy baze se dosud využívaly v analytických postupech pro stanovení molekulové hmotnosti proteinů a stanovení počtu primárních aminových míst (N-terminálních plus lysinových zbytků) v proteinu. Viz například Le Blanc a sp., Anal.Chem., 66 (1994), 3289-3296, kteří popisují hmotnostně-spektrometrickou studii s ionizací "elektrospray" rovnováhy

protein-keton v roztoku. V této práci byl použit aceton, použití aromatických o-hydroxyaldehydů nebylo navrženo.

Hmotnostní spektrometrie s ionizací "elektrospray" se používá k hodnocení velkých proteinů, například insulínu, ubiquitinu a hemoglobinu, a také byla použita v souvislosti se způsobem podle vynálezu jako odpovídající a přesný prostředek pro stanovení stupně tvorby aduktů, Schiffových bazí. Klasické způsoby stanovení tvorby Schiffových bazí, aduktů aldehydů s aminy, není účinný v případech použití velkého proteinu, protože tyto způsoby jsou obvykle způsoby v roztocích, a jestliže se Schiffova base, tj. připravený adukt, rozpustí ve vodě, začne probíhat opačná reakce vedoucí k rovnovážné směsi. Nicméně Le Blanc ve své práci používá aceton a nenavrhuje použití aromatických o-hydroxyaldehydů.

Konjugáty vzniklé vazbou typu Schiffovy base již byly použity jako spojovací skupiny mezi cílovým proteinem a jedním nebo více diagnostickým nebo terapeutickým prostředkem. Viz například Reed, US 5,633,351. Cílový protein váže definovanou populaci buněk tak jako receptor nebo enzymový substrát, a terapeutickým prostředkem je léčivo, toxin nebo radionuklid, přičemž diagnostický prostředek je radionuklid. Spojovací Schiffova base pak má následující strukturu (2):



kde "L1" a "L2" znamenají heterobifunkční spojovací skupiny obsahující na jednom konci spojovací skupiny hydrazidovou nebo aldehydovou/ketonovou aktivní skupinu. Nicméně ani v této práci není uveden návrh použití aromatického o-hydroxyaldehydu

při $\text{pH} \geq 7,0$ k získání konečného aduktu Schiffovy baze v kvantitativních výtěžcích.

Použití stabilizovaného somatotropinu pro parenterální podání uvádějí Clark a sp. v US 5,198,422, kde jako výhodný aromatický aldehyd se doporučuje použití 2-hydroxy-3-methoxy-benzaldehydu, tj. o-vanilinu. Nicméně Clark a sp. uvádějí pouze terapeutické výhody somatotropinového růstového hormonu při jeho izolaci v krystalické formě. I když v této práci se obecně uvádí použití lyofilizace, je zřejmé, že způsoby izolace uvažované Clarkem a sp., zahrnují "sušící" způsoby, tj. sušení po delší dobu jak je uvedeno v příkladech, a to s použitím vakuové sušárny a sušením přes noc. I tato práce tedy uvádí jiný postup než je způsob přípravy podle vynálezu.

V odborné literatuře je jen několik odkazů týkajících se přípravy aduktů ve formě Schiffových bazí připravovaných sušením rozprašováním. Viz například Tomlinson a sp., Food Chemistry 48 (1993), 373-379, kteří uvádějí sušení rozprašováním vodného roztoku glukosy a glycinu. Tímto způsobem je možné připravit hnědý prášek, který má možné použití při barvení potravin. Probíhající chemický proces zahrnuje Maillardovu reakci nebo "reakci pro zhnědnutí", při které aminoskupiny proteinů reagují s hydroxylovými skupinami cukrů za tvorby hnědých pigmentů.

Výše uvedení autoři, Tomlinson a sp., uvádějí také dřívější práci, ze které rovněž vycházejí, kterou je práce autorů Baines a sp., US 4,886,659, která se rovněž zabývá přípravou barevných sloučenin pro použití v potravinářské chemii. Baines a sp. předpokládají, že uvedená barviva se mohou tvořit z Maillardových výchozích složek během velmi krátkých reakčních dob při sušení rozprašováním, například při

dobách reakce menších než deset sekund nebo v některých případech během doby reakce menší než jednu sekundu předtím než dojde k úplnému odpaření vody, což vede k účinnému zakončení reakce.

Rovněž je popsáno použití rozprašovací trysky nebo rozprašovacího kotouče s popisem nastavení pro řízení velikosti kapek, velikosti suchých částic a dalších parametrů kapek. Předpokládá se, že reakční teplota je přibližně stejná jako teplota výstupního vzduchu. Rovněž je uvedena možnost předebrátí vodného roztoku před vstupem do zařízení pro sušení rozprašováním například až na 60 °C, a obsah vlhkosti produktu je údajně 3,5-15 % hmotnostních. Rovněž je uvedena rychlost rotujícího kotouče v zařízení pro sušení rozprašováním, která je 35 000 až 40 000 ot./min.

Nicméně způsob podle Tomlinsona a sp. a Baines a sp. nesouvisí se způsobem přípravy podle vynálezu, protože jejich způsob se týká Maillardovy reakce, což je ve všech aspektech zcela odlišný proces. Uvedená Maillardova reakce je typicky ireverzibilní proces vedoucí k tvorbě oligomerů. Uvedené vlastnosti omezují vhodnost Maillardovy reakce na způsob přípravy tmavých pigmentů.

Dhont v Proc.Int.Symp.Aroma Research, Zeist, (1975) 193-194 uvádí způsob aromatizace syntetických potravin typů získaných z proteinu ze sojových bobů. V práci se uvádí lyofilizace roztoku albuminu a vanilinu kde asi 90 % přidaného vanilinu se naváže na protein, i když se uvádí, že určitý podíl vanilinu je proteinem zachycen zapouzdřením nebo absorpcí. V uvedené práci se popisuje tvorba Schiffových bazí; nicméně vanilin není o-hydroxyaldehyd a v uvedené práci se nedosahuje úplných konverzí reaktantů na Schiffovy baze. Výše

uvedený způsob podle Dhonta tedy není stejný jako způsob podle vynálezu a ani z něj tento způsob nevyplyvá.

Podstata vynálezu

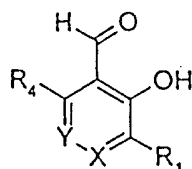
Vynález se týká nového zlepšeného způsobu přípravy Schiffových bazí ve formě konečných kondenzačních aduktů jejichž složky obsahují protein mající prospěšnou aktivitu u zvířat, a aromatický o-hydroxyaldehyd. Uvedený způsob přípravy podle vynálezu poskytuje v podstatě kvantitativní tvorbu kondenzačního aduktu a zlepšené celkové výtěžky konečného produktu.

Způsob podle vynálezu dále zahrnuje způsob výroby konečných kondenzačních aduktů, který je snadný, reprodukovatelný, transponovatelný, účinný a ekonomický. Uvedený způsob zahrnuje uvedení výše zmíněných složek do vzájemného kontaktu ve vodném prostředí o pH 7,0 nebo vyšším čímž se vytvoří reakční směs. Rozpouštědlo pro reakci je v tomto případě voda, tj. médium vhodné k proběhnutí reakce, včetně vody vzniklé v průběhu reakce, přičemž podmínky reakce jsou takové, že uvedená kondenzační reakce probíhá až do úplného zreagování složek tím, že se odstraňuje 97,0 % až asi 99,9 % hmotnostních, výhodně od asi 98 % do asi 99,0 % hmotnostních vody přítomné při uvedené kondenzační reakci, za zachování integrity reaktantů účastnících se kondenzační reakce a konečného aduktového produktu s výtěžkem konečného aduktového produktu 98,5 % hmotnostních nebo více, výhodně ve výtěžku asi 99,5 % hmotnostních nebo více vztažených na hmotnost výchozích složek.

Výše uvedenou reakci je také možné provést za podmínek snížené vlhkosti, čímž se urychlí rychlost odstraňování vody a zvýší se celkové množství odstraněné vody. To umožňuje,

v souladu s cílem posunout reakci k úplnému průběhu eliminací od asi 97,0 % do asi 99,9 % hmotnostních přítomné vody, aby obsah vlhkosti v konečném aduktovém produktu byl 3,0 % až 0,001 % hmotnostních vztaženým na hmotnost konečného produktu, výhodně aby byl v rozmezí od 2,0 % do 3,0 % hmotnostních vztažených na hmotnost konečného produktu. Po ukončení kondenzační reakce lze množství přítomné vlhkosti snížit na rozmezí od 0,1 % do 0,001 % hmotnostních nebo od 0,05 % do 0,005 % hmotnostních, nebo dokonce na až tak nízký obsah, který je v rozmezí od 0,03 % do 0,01 % hmotnostních vztažených na hmotnost konečného produktu. Je-li to zapotřebí z důvodů stability proteinu, může být obsah vlhkosti také vyšší, a to v rozmezí od 3,0 % do 20,0 % hmotnostních, výhodně od 5,0 % do 15 % hmotnostních, a ještě výhodněji v rozmezí od 8,0 % do 12,0 % hmotnostních vztažených na hmotnost konečného produktu.

Aromatické o-hydroxyaldehydy vhodné pro výše uvedený kondenzační způsob výhodně zahrnují jednu nebo více sloučenin obecného vzorce (1):



kde:

(1.)

R_1 a R_4 znamenají skupinu nezávisle zvolenou ze skupiny zahrnující především vodík; hydroxy; halogen; nitro; kyan; trifluormethyl; (C_1-C_6) alkyl; (C_1-C_6) alkoxy; (C_3-C_6) cykloalkyl; (C_2-C_6) alkenyl; $-C(=O)OR_7$; $-OC(=O)R_7$; $-S(=O)_2$; $-S(=O)_2N(R_7)(R_9)$; $-S(=O)_2R_7$; $-S(=O)_2OR_7$; $-C(=O)NR_7R_9$; $-C(=O)R_9$; a $-N(R_7)(R_9)$, kde R_7 znamená vodík nebo (C_1-C_4) alkylovou skupinu a R_9 znamená (C_1-C_4) alkylovou skupinu; přičemž uvedená alkylová, cykloalkylová a alkenylová skupina ve významu R_1 a R_4 může být

případně každá nezávisle substituovaná jedním nebo dvěma substituenty které znamenají skupinu ze skupiny zahrnující především halogen; hydroxy; (C_1-C_2) alkyl; (C_1-C_2) alkoxy; (C_1-C_2) alkoxy- (C_1-C_2) alkyl; (C_1-C_2) alkoxykarbonyl; karboxy; (C_1-C_2) alkylkarbonyloxy; nitro; kyan; aminoskupinu disubstituovanou (C_1-C_2) alkylovou skupinou; sulfonyl; a sulfonamid skupinu disubstituovanou (C_1-C_2) alkylovou skupinou; a

X a Y každý nezávisle znamenají N nebo CHR_2 nebo respektive CHR_3 , kde R_2 a R_3 znamenají skupinu nezávisle zvolenou ze skupiny zahrnující především vodík; hydroxy; halogen; nitro; kyan; trifluormethyl; (C_1-C_6) alkyl; (C_1-C_6) alkoxy; (C_3-C_6) cykloalkyl; (C_2-C_6) alkenyl; $-C(=O)OR_{11}$; $-OC(=O)R_{11}$; $-S(=O)_2$; $-S(=O)_2N(R_{11})(R_{13})$; ; a $-N(R_{11})(R_{13})$, kde R_{11} znamená vodík nebo (C_1-C_4) alkylovou skupinu a R_{13} znamená (C_1-C_4) alkylovou skupinu; přičemž uvedená alkylová, cykloalkylová a alkenylová skupina ve významu R_2 a R_3 může být každá nezávisle případně substituovaná jedním nebo dvěma substituenty které znamenají skupinu ze skupiny zahrnující především halogen; hydroxy; (C_1-C_2) alkyl; (C_1-C_2) alkoxy; (C_1-C_2) alkoxy- (C_1-C_2) alkyl; (C_1-C_2) alkoxykarbonyl; karboxy; (C_1-C_2) alkylkarbonyloxy; nitro; kyan; aminoskupinu disubstituovanou (C_1-C_2) alkylovou skupinou; sulfonyl; a sulfonamido-skupinu disubstituovanou (C_1-C_2) alkylovou skupinou.

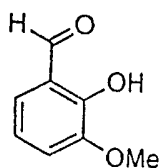
Výhodně R_1 a R_4 každý znamenají skupinu nezávisle zvolenou ze skupiny zahrnující vodík; hydroxy; trifluormethyl; (C_1-C_4) alkyl; (C_1-C_4) alkoxy; $-C(=O)OR_7$; nebo $-N(R_7)(R_9)$, kde R_7 znamená vodík nebo (C_1-C_2) alkylovou skupinu a R_9 (C_1-C_2) ; a výhodněji, R_1 a R_4 každý znamenají skupinu nezávisle zvolenou ze skupiny zahrnující vodík; hydroxy; (C_1-C_2) alkyl; (C_1-C_2) alkoxy; karboxy nebo methylamino, kdy v uvedeném případě R_7 znamená vodík a R_9 znamená methylovou skupinu. Výhodné je,

jestliže R_1 a R_4 znamenají alkylovou skupinu a jsou substituované, přičemž substituent je jeden a znamená skupinu zvolenou ze skupiny zahrnující hydroxy; (C_1-C_2) alkoxy; karboxy; aminoskupinu disubstituovanou (C_1-C_2) alkylovou skupinou; a sulfonamid skupinu disubstituovanou (C_1-C_2) alkylovou skupinou; a ještě výhodněji uvedený jeden substituent znamená skupinu zvolenou ze skupiny zahrnující hydroxy, methoxy a dimethylamino.

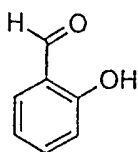
Výhodně jeden X nebo Y znamená N a druhý pak znamená CHR_2 nebo respektive CHR_3 ; ještě výhodněji X znamená CHR_2 a Y znamená CHR_3 , kde R_2 a R_3 výhodně každý nezávisle znamená skupinu nezávisle zvolenou ze skupiny zahrnující vodík; hydroxy; halogen; trifluormethyl; (C_1-C_4) alkyl; (C_1-C_4) alkoxy; $-C(=O)OR_{11}$; $-S(=O)_2N(R_{11})(R_{13})$; ; nebo $-N(R_{11})(R_{13})$, kde R_{11} znamená výhodně vodík nebo (C_1-C_2) alkylovou skupinu a R_{13} znamená (C_1-C_2) alkylovou skupinu; a ještě výhodněji R_2 a R_3 výhodně znamenají skupinu nezávisle zvolenou ze skupiny zahrnující vodík; hydroxy; (C_1-C_2) alkyl; (C_1-C_2) alkoxy; karboxy; nebo methylamino, kdy v tomto případě R_{11} znamená vodík a R_{13} znamená methylovou skupinu.

Výhodné je, jestliže R_2 a R_3 znamenají alkylovou skupinu a jsou substituované, přičemž substituent je jeden a znamená skupinu zvolenou ze skupiny zahrnující hydroxy; (C_1-C_2) alkoxy; karboxy; aminoskupinu disubstituovanou (C_1-C_2) alkylovou skupinou; a sulfonamid skupinu disubstituovanou (C_1-C_2) alkylovou skupinou.

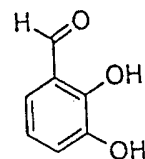
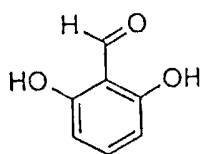
Nejvýhodněji uvedené o-hydroxyaldehydy znamenají o-vanilin; salicylaldehyd; 2,3-dihydroxybenzaldehyd; 2,6-dihydroxybenzaldehyd, 2-hydroxy-3-ethoxybenzaldehyd; nebo pyridoxal; které znázorňují následující strukturní vzorce:



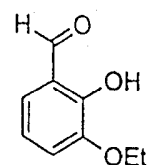
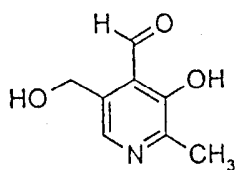
o-vanilin



salicylaldehyd

2,3-dihydroxy-
benzaldehyd

2,6-dihydroxy- pyridoxal

2-hydroxy-3-ethoxy-
benzaldehyd

Dále, proteinovou složku Schiffovy baze, připravené v konečné formě aduktu vzniklého kondenzační reakcí, tvoří peptid vykazující prospěšnou aktivitu u živočichů, zahrnující podporu růstu zvířat zahrnutých ve výrobě potravin a rovněž terapeutické použití ve formě veterinárního prostředku pro léčbu a prevenci různých chorob a nežádoucích stavů. Proteinové složky mají rovněž terapeutické použití při léčbě a prevenci chorob a nežádoucích stavů člověka.

Proteinové složky jsou primární aminy s chemickou strukturou která může zahrnovat již jen od pouhých dvou aminokyselin přes několik set aminokyselin až po tisíc nebo více aminokyselin. Uvedené proteinové složky a kondenzační adukty z nich připravené, jsou vhodné při léčbě živočichů a lidí.

Zvláště vhodné pro použití podle vynálezu jsou následující uvedené proteiny:

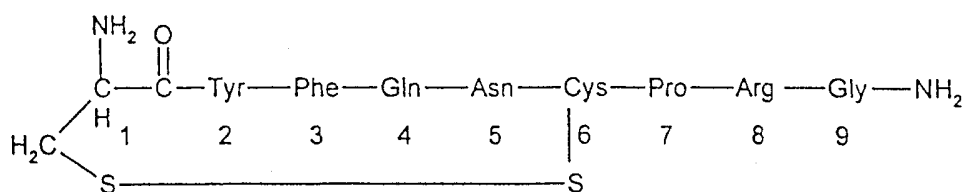
endogenní proteinová a syntetická opioidní analgetika a antagonisté zahrnující enkefaliny, endorfiny, a dynorfiny, jako selektivní nebo neselektivní agonisty a antagonisty μ , κ , a δ subtypů opioidního receptoru zahrnující [Leu⁵] a [Met⁵]enkefalin; dynorfin A a B; α - a β -neoendorfin; [D-Ala², MePhe⁴, -Gly(ol)⁵]enkefalin (DAMGO); [D-Pen², D-Pen⁵]enkefalin (DPDPE); [D-Ser², Leu⁵]enkefalin-Thr⁶ (DSLET); [D-Ala², D-Leu⁵]enkefalin (DADL); D-Phe-Cys-Tyr-D-Trp-Orn-Thr-Pen-Thr-NH₂ (CTOP); [D-Ala², N-MePhe⁴, Met(O)⁵-ol]enkefalin (FK-33824); Tyr-D-Ala-Phe-Asp-Val-Val-Gly-NH₂ [D-Ala²]deltorfin I; Tyr-D-Ala-Phe-Glu-Val-Val-Gly-NH₂ [D-Ala², Glu⁴]deltorfin II; Tyr-Pro-Phe-Pro-NH₂ (morficeptin); Tyr-Pro-MePhe-D-Pro-NH₂ (PL-017); a [D-Ala², Leu⁵, Cys⁶]enkefalin;

autokoidy zahrnující bradykinin a kallidin produkované proteolytickými reakcemi v odezvě na zánětlivé stavy zahrnující poškození tkání, virové infekce a alergické reakce, kde uvedené proteiny lokálně vyvolávají bolest a působí vazodilataci, zvyšují vaskulární permeabilitu a syntézu prostaglandinů, kde uvedené proteiny mají agonistickou a antagonistickou aktivitu a jsou vhodné k léčbě mužské neplodnosti, k transportu nádorových chemoterapeutik přes hematoencefalickou bariéru, a k léčbě bolesti, astma, a dalších chronických zánětlivých chorob, a zahrnují:

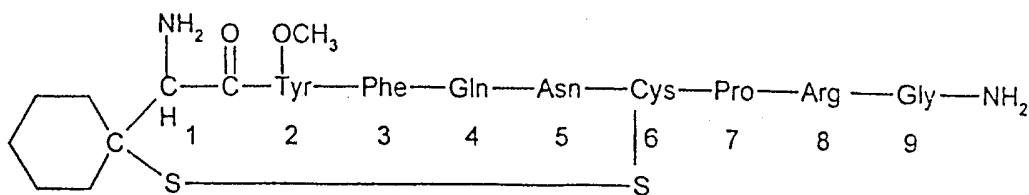
Arg-Pro-Pro-Gly-Phe-Ser-Pro-Phe-Arg (bradykinin);
Lys-Arg-Pro-Pro-Gly-Phe-Ser-Pro-Phe-Arg (kallidin);
Arg-Pro-Pro-Gly-Phe-Ser-Pro-Phe (des-Arg⁹-bradykinin);
Lys-Arg-Pro-Pro-Gly-Phe-Ser-Pro-Phe (des-Arg¹⁰-kallidin);
Arg-Pro-Pro-Gly-Phe-Ser-Pro-Leu (des-Arg⁹-[Leu⁸]bradykinin);

Arg-Pro-Pro-Gly-Phe-Ser-[D-Phe]-Phe-Arg ([D-Phe⁷]-bradykinin);
 a [D-Arg]-Arg-Pro-Hyp-Gly-Thi-Ser-Tic-Oic-Arg (HOE 140), kde
 Hyp znamená trans-4-hydroxy-Pro; Thi znamená β -(2-thienyl)-Ala;
 Tic znamená [D]-1,2,3,4-tetrahydrochinolin-3-yl-karbonyl; a Oic
 znamená (3as, 7as)-oktahydroindol-2-yl-karbonyl;

proteiny aktivní na subtypech V_1 a V_2 vasopresinového
 receptoru jako mediátoru presorických odezev respektive
 antidiuretických odezev a zahrnují antagonisty V_1 vhodné při
 léčbě kongestivního srdečního selhání, hypertense, a příhod
 jako je pooperační ileus a abdominální distenze, agonisty V_2
 vhodné při léčbě centrálního diabetes insipidus řízením
 polyurie a polydipsie, k léčbě krvácivých chorob zahrnujících
 Willebrandovu chorobu, kde mezi uvedené proteiny patří
 přirozeně se vyskytující peptidy podobné vasopresinu: arginin-
 vasopresin (AVP) následujícího vzorce:



a lypresin [Lys⁸]-AVP; syntetické vasopresinové peptidy:
 V_{1a} -selektivní agonista [Phe², Ile², Orn⁸]AVP; V_{1b} -selektivní
 agonista deamino[D-3-(3'-pyridyl)-Ala²]AVP; V_2 -selektivní
 agonisté desmopresinu (dDAVP) a deamino[Val⁴, D-Arg⁸]AVP; a
 peptidoví antagonisté zahrnující V_{1a} -selektivního antagonistu
 d(CH₂)₅[Tyr(Me)²]AVP vzorce:



a V_{1b} -selektivní antagonistá $dp[\text{Tyr}(\text{Me})^2]\text{AVP}$; a V_2 -selektivní antagonisté $\text{des-Gly-NH}_2^9\text{-d}(\text{CH}_2)_5[\text{D-Ile}^2, \text{Ile}^4]\text{AVP}$, a $\text{d}(\text{CH}_2)_5[\text{D-Ile}^2, \text{Ile}^4, \text{Ala-NH}_2^9]\text{AVP}$;

pentagastrin používaný jako indikátor žaludeční sekrece
vzorce: $\text{N-terc.butyloxykarbonyl-}\beta\text{-Ala-Trp-Met-Asp-Phe-NH}_2$;

oktreotid vhodný při léčbě symptomů tumorů
gastrointestinálního traktu, průjmu odolávajícího jiné léčbě,
poruch motility a krvácení do gastrointestinálního traktu,
vzorce: $\text{L-cysteinamid-D-Phe-L-Cys-L-Phe-D-Trp-L-Lys-L-Thr-N-}$
 $\text{-[2-hydroxy-1-(hydroxymethyl)propyl]-}$, cyklický (2→7) disulfid,
 $[\text{R-(R}^*, \text{R}^*)]\text{-}$;

prostředky obsahující protilátky vhodné jako
imunosupresiva, zahrnující antithymocytový globulin;
monoklonální protilátku muromonab-CD3; a imunoglobulin $\text{Rh}_0(\text{D})$;
a proteinové imunostimulanty vhodné pro léčbu imunodeficitních
stavů zahrnující imunoglobulin;

cytokiny produkované leukocyty, které mají různé
imunoregulační vlastnosti a které zahrnují: interferony,
faktory pro stimulaci kolonií a interleukiny, zejména
 α -interferon; interferon- γ (IFN- γ); faktor pro stimulaci
granulocytových kolonií (G-CSF); faktor stimulující
granulocytové-makrofágové kolonie (GM-CSF); a interleukin-1
(IL-1) až interleukin 12 (IL-12);

hematopoetické růstové faktory zahrnuté v regulačním
procesu kontinuální náhrady zralých krevních buněk, které jsou
vhodné při léčbě primárních hematologických chorob a jako
přídavné prostředky při léčbě těžkých infekcí a jako

prostředky léčebné péče pro pacienty po chemoterapii nebo po transplantaci kostní dřeně, které specificky zahrnují: růstové faktory zahrnující erythropoetin (EPO); faktor kmenových buněk (SCF); interleukiny (IL-1-12); faktor stimulující monocytové/makrofágové kolonie (M-CSF, CSF-1); FlXY321 (GM-CSF/IL-3 fúzní protein); a trombopoetin;

trombolytické proteiny vhodné pro rozpouštění patologických trombů a fibrinových depozit v místech vaskulárního poškození, zahrnující streptokinasu; tkáňový aktivátor plasminogenu (t-PA); a urokinasu;

hormony předního laloku hypofýzy a faktory hypothalamu které je regulují, zahrnující: a) somatotropní hormony zahrnující růstový hormon (GH), prolaktin (Prl), placentární laktogen (PL); b) glykoproteinové hormony zahrnující luteinizační hormon (LH), folikuly stimulující hormon (FSH) a tyreotropní hormon (TSH); a c) hormony odvozené od POMC zahrnující kortikotropin (ACTH), α -melanocyty stimulující hormon (α -MSH), β -melanocyty stimulující hormon (β -MSH), β -lipotropin (β -MSH), a γ -lipotropin (γ -LPH); faktory hypothalamu regulující uvolňování uvedených hormonů zahrnují hormon uvolňující růstový hormon (GHRH), hormon uvolňující luteinizační hormon (LHRH), růstový faktor s účinky blízkými insulinu (IGF-1 a IGF-2), somatostatin a faktor uvolňující gonadotropin (GnRH);

růstový hormon vhodný k použití při substituční terapii u dětí s deficitem růstového hormonu zahrnuje: somatostatin, syntetický analog somatostatinu, okterotid; gonadotropní hormony zahrnující LH, FSH a choriový gonadotropin (GC) jsou vhodné pro diagnózu poruch reprodukce a pro léčbu neplodnosti a zahrnují: urofolitropin, lidský menopauzní gonadotropin

s v podstatě odstraněným LH který je vhodný pro indukci ovulace, a gonadorelin, syntetický lidský GnRH vhodný pro stimulaci sekrece gonadotropinu; syntetické agonisty GnRH zahrnující: leuprolid, histrelin, nafarelin, a goserelin, vhodné k léčbě endokrinních chorob způsobených redukcí tvorby gonádových steroidů;

tyreotropní hormon (TSH), jehož sekreci řídí hormon uvolňující tyreotropní hormon (TRH), vhodný pro náhradní hormonální terapii u pacientů s hypotyreózou a u pacientů při TSH supresivní terapii trpících netoxickou strumou nebo po léčbě rakoviny štítné žlázy;

insulin k léčbě pacientů trpících insulin dependentním a insulin nondependentním diabetes mellitus; glukagon, který má svoji fyziologickou úlohu v řízení metabolismu glukosy a ketonů v těle a je vhodný pro léčbu těžké hypoglykémie a v rentgenologii k inhibici gastrontestinálního traktu; somatostatin, který je vhodný k tlumení uvolňování hormonů v tumorech s endokrinní sekrecí zahrnujících insulinomy, glukagonomy, VIPomy, karcinoidní tumory a somatotropinomy, a jeho syntetický analog, oktreotid;

kalcitonin, hormon působící specificky na osteoklasty a tím inhibující kostní resorpci, který je vhodný k řízení hyperkalcémie a chorob charakterizovaných zvýšenou přeměnou kostí zahrnujících Pagetovu chorobu; hormon příštítných tělísek, který je vhodný k léčbě pacientů trpících spinální osteoporózou;

aldesleukin, 125-L-serin-2-133-interleukin 2, vhodný jako antineoplastikum a jako imunostimulační prostředek; alglucerasa, monomerní glykoprotein o 497 aminokyselinách, modifikovaná forma lidské placentární β -glukocerebrosidasy,

vhodná jako doplňující zdroj enzymu glukocerebrosidasy;
alsaktid, syntetický analog kortikotropinu: 1- β -Ala-17[L-
-2,6-diamino-N-(4-aminobutyl)hexanamid]- α^{1-17} -kortikotropin;
alteplasa, serinová proteasa o 527 aminokyselinách jejichž
sekvence je totožná s přirozeně se vyskytující proteasou
produkovanou endotheliálními buňkami v cévních stěnách, vhodná
jako aktivátor plasminogenu; alvircept sudotox, syntetický
chimerický protein navržený tak, že připojuje prvních 178
aminokyselin extracelulární domény CD₄ přes dva spojovací
zbytky k aminokyselinám 1-3 a 253-613 Pseudomonas exotoxinu A,
který je vhodný jako antivirový prostředek; amlintid, protein
o 37 aminokyselinách vhodný jako antidiabetikum; amogastrin:
N-karboxy-L-Trp-L-Met-L- α -Asp-3-fenyl-L-alaninamid; anakinra:
N²-L-Met- antagonist receptoru interleukinu 1, který je vhodný
jako nesteroidní protizánětlivý prostředek a jako supresivum
při léčbě zánětlivého onemocnění střev; anaratid-acetat,
atriopeptin 21 (kryší), N-L-Arg-8-L-Met-21a-L-Phe-21b-L-Arg-
-21-c-L-Tyr-, acetat, vhodný jako antihypertenzní prostředek a
jako diuretikum; angiotensin-amid, angiotensin II, 1-L-Asn-5-
L-Val-, s použitím jako vazokonstriktor; aprotinin, inhibitor
pankreatického trypsinu obsahující obsahující 58 aminokyselin,
který je vhodný jako inhibitor enzymu (proteiny); arfalsin,
1-sukcinamová kyselina-5-L-Val-8-(L-2-fenylglycin)angiotensin
II, vhodný jako antihypertenzní prostředek; argipressin-
tannat, vasopresin, 8-L-Arg-, tannat, vhodný jako
antidiuretikum; aspartocin, oxytocin, 4-L-Asn-, antibiotikum
produkované Streptomyces griseus; atosiban, oxytocin, 1-(3-
merkaptopropanová kyselina)-2-(O-ethyl-D-Tyr)-
-4-L-Thr-8-L-Orn-, vhodný jako antagonist oxytocinu;
avoparcin, glykopeptidové antibiotikum získané z Streptomyces
candidus; basifungin, N-[(2R,3R)-2-hydroxy-3-MeVal]-N-L-MeVal-
-L-Phe-N-L-MePhe-L-Pro-L-allo-Ile-N-L-MeVal-L-Leu-3-hydroxy-N-
L-MeVal α_1 -lakton, vhodné jako fungicidní prostředek;

bekaplermin, rekombinantní lidský proteinový růstový faktor B z krevních destiček, produkováný geneticky zpracovanými *Saccharomyces cerevisiae*, který má podobné složení aminokyselin a podobnou aktivitu jako endogenní lidský PDGF-BB homodimer, a je vhodný pro léčbu chronických dermálních vředů podporou proliferace buněk mesenchymálního původu; bivalirudin, antikoagulační, antitrombotický prostředek obsahující 20 aminokyselin; karbetocin, 1-butyrová kyselina-2-[3-(p-methoxyfenyl)-L-Ala]oxytocin; kargutocin, 1-butyrová kyselina-6-(L-2-aminobutyrová kyselina)-7-glycinoxytocin; ceruletid, 5-O-L-Pro-L-Gln-L- α -Asp-L-O-sulfo-L-Tyr-L-Thr-L-Gly-L-Trp-L-Met-L- α -Asp-L-Phe-amid, vhodný jako prostředek podporující žaludeční sekreci; cetermin, transformační lidský růstový faktor β 2, obsahující 122 aminokyselin; cilmostim, 1-233 kolonie stimulující faktor 1 (lidský klon p3ACSF-69 proteinová skupina), cyklický (7 $\rightarrow$ 90), (48 $\rightarrow$ 139), (102 $\rightarrow$ 146)-tris(disulfid)-dimer, vhodný jako hematopetikum (faktor stimulující makrofágové kolonie); kolistimethat sodný, složka kolistinu A vhodná jako antibakteriální prostředek; kortikorelin, ovčí trifluoracetatová sůl, faktor uvolňující kortikotropin (ovčí), trifluoracetatová sůl, vhodný jako diagnostický prostředek adrenokortikální nedostatečnosti a Cushingova syndromu a jako hormon uvolňující kortikotropin; kosyntropin, tetrakosid-acetat, α^{1-24} -kortikotropin, vhodný jako adrenokortikotropní hormon; cyklosporin, cyklický protein obsahující 11 aminokyselin a 3-hydroxy-4-methyl-2-(methylamino)-6-oktenylovou skupinu v poloze 6, který je vhodný jako imunosupresivní prostředek; daklaximab (Ro-24-7375), humanizovaná anti-TAC monoklonální protilátka obsahující čtyři subjednotky připojené přes disulfidové můstky a mající molekulovou hmotnost asi 150 kD, který je vhodný jako imunosupresivní prostředek; daklizumab; daptomycin, proteinový antimikrobiální prostředek; desirudin, 63-desulfohirudin

z *Hirudo medicinalis*, obsahující 63 aminokyselin, vhodný jako antikoagulační prostředek; deslorelin, faktor uvolňující luteinizační hormon (prasečí) obsahující 9 aminokyselin, vhodný jako agonista LHRH; desmopresin-acetat, vasopresin, 1-(3-merkaptopropanová kyselina)-8-D-Arg-, monoacetatová sůl, trihydrát, obsahující 9 aminokyselin, vhodný jako antidiuretikum; detirelix-acetat obsahující 10 aminokyselin a vhodný jako LHRH antagonist; dmorelin, 27-L-Leu-44a-Gly-hormon uvolňující růstový hormon (lidský); elkatonin, 1-buturová kyselina-7-(L-2-aminobuturová kyselina)-26-L-Asp-27-L-Val-29-L-Ala kalcitonin (lososí); emoktakin, interleukin 8 (lidský) obsahující 72 aminokyselin s dvěma Cys můstky; epoetin alfa, glykoprotein obsahující 165 aminokyselin regulující tvorbu červených krvinek, který je produkován ovariálními buňkami čínského křečka s insertovaným genem lidského erythropoetinu, a který je vhodný jako antianemikum a prostředek podporující tvorbu krve; ersefermin, rekombinantní lidský základní fibroblastový růstový faktor (bFGF) obsahující 157 aminokyselin, neglykosylovaný lidský placentární protein klonovaný a exprimovaný *E.coli*, vhodný jako prostředek pro hojení ran; felypresin což je vasopresin 2-L-Phe-8-L-Lys, obsahující 9 aminokyselin, vhodný jako vazokonstrikční prostředek; filgrastim, jednoduchý polypeptid obsahující řetězec 175 aminokyselin, neglykosylovaný a exprimovaný *E.coli*, vhodný jako antineutropenní prostředek a hematopoetický stimulační prostředek; glukagon, protein s jednoduchým řetězcem o 29 aminokyselinách, vhodný jako antidiabetikum; gonadorelin-acetat, diacetatová sůl acetátové soli hormonu uvolňujícího luteinizační hormon obsahující 10 aminokyselin, vhodný jako gonádostimulační prostředek; goserelin, hormon uvolňující luteinizační hormon (prasečí) obsahující 9 aminokyselin, vhodný jako agonista LHRH; histrelin, hormon uvolňující luteinizační hormon (prasečí) obsahující 9 aminokyselin, vhodný jako LHRH agonista;

imiglucerasa, 495-L-histidinglukosylceramidasový proteinový placentární isoenzym, vhodný jako doplněk glukocerebrosidasy; insulin dealaninovaný, derivát insulínu připravený odstraněním C-terminálního alaninu z B-řetězce insulínu, vhodný jako antidiabetikum; interferon alfa-2a, interferon αA (redukována lidská leukocytová proteinová část), obsahující 165 aminokyselin, vhodný jako antineoplastikum a jako modifikátor biologické odezvy; interferon alfa-2b, interferon $\alpha 2b$ (redukována lidský leukocytový proteinový klon Hif-SN206) obsahující 165 aminokyselin, rovněž vhodný jako antineoplastikum a jako modifikátor biologické odezvy; interferon beta-1a, glykosylovaný polypeptid obsahující 166 aminokyselinových zbytků, který je produkovaný ovariálními buňkami čínského křečka s vneseným genem pro lidský interferon beta, rovněž vhodný jako antineoplastikum a jako modifikátor biologické odezvy; interferon beta-1b, neglykosylovaný polypeptid obsahující 165 aminokyselinových zbytků produkovaný E.coli, který je vhodný jako imunomodulátor; interferon gama-1b, 1-139 interferon γ (redukována lidská lymfocytová proteinová část), N^2 -L-Met, vhodný jako antineoplastikum a jako imunomodulátor; N-methionyl- faktor 4 krevních destiček (lidská subjednotka) obsahující 71 aminokyselinových zbytků s dvěma Cys můstky; lanoteplasa, proteinový aktivátor tkáňového plasminogenu odvozený z lidského t-PA vynecháním domén podobných fibronektinu a EGF a mutací Asn 117 na Gln 117, produkovaný expresí DNA sekvence kódující peptidovou sekvencí hostitelských buňkách savce, vhodný jako aktivátor plasminogenu a trombolytický prostředek; lanreotid-acetat, obsahující 8 aminokyselin a jeden disulfidový můstek, vhodný jako antineoplastikum; lenograstim, glykoprotein obsahující 174 aminokyselinových zbytků produkovaný v ovariálních buňkách čínského křečka expresí lidské c-DNA pro faktor stimulující granulocytové kolonie mRNA z buněčné linie dlaždicových buněk

lidské dutiny ústní, který je vhodný jako antineutropenní prostředek a jako hematopoetický stimulační prostředek; lutrelin-acetat, hormon uvolňující luteinizační hormon (prasečí) obsahující 9 aminokyselin, vhodný jako agonista LHRH; molgramostim, faktor 2 pro stimulaci tvorby kolonií (redukovaný lidský klon pHG₂₅, proteinová část) obsahující 127 aminokyselin, vhodný jako antineutropenní prostředek a jako hematopoetický stimulační prostředek; murodermin, epidermální růstový faktor (myší slinné žlázy); nafarelin-acetat, hormon uvolňující luteinizační hormon (prasečí) obsahující 9 aminokyselin, vhodný jako agonista LHRH; nagrestipen, 26-L-alaninlymfokin MiP 1 α (lidský klon pAT 464, zánětlivý makrofág) obsahující 69 aminokyselin obsahující dva disulfidové můstky; pepstatin, N-(3-methyl-1-oxobutyl)-L-Val-L-Val-4-amino-3-hydroxy-6-methylheptanoyl-L-Ala-4-amino-3-hydroxy-6-methylheptanová kyselina, který je vhodný jako inhibitor enzymu pepsinu; pramlintid, protein obsahující 37 aminokyselin a jeden disulfidový můstek, který je vhodný jako antidiabetikum; lidský proinsulin, proinsulin (prasečí) obsahující 86 aminokyselinových zbytků a tři disulfidové můstky, vhodný jako antidiabetikum; sagramostim, faktor 2 pro stimulaci kolonií (lidský klon pHG₂₅, proteinová část), 23-L-Leu-, jednoduchý řetězec, glykosylovaný polypeptid obsahující 127 aminokyselinových zbytků exprimovaný *Saccharomyces cerevisiae*, vhodný jako antineutropenní prostředek a jako hematopoetický stimulační prostředek; somatotropiny přirozeně se vyskytující a syntetické, zahrnující rekombinantní somatotropiny odvozené od lidských a živočišných somatotropinů (růstových hormonů), zejména od hovězích a prasečích somatotropinů; somagrebov, somatotropin (hovězí redukovaný), 1-[N²-L-Met- α -Asp-L-glutamin]-, obsahující 191 aminokyselin, vhodný jako galaktopoetický prostředek zejména pro veterinární použití; somalapor, somatotropin (prasečí klon pPGH-1

redukovaný), N-L-alanyl-růstový hormon obsahující 191 aminokyselin vhodný hormon (růstový, prasečí); somatrem, somatotropin (lidský), N-L-Met- obsahující 191 aminokyselin a obsahující dva disulfidové můstky, vhodný jako růstový hormon; somatotropin, jednoduchý polypeptidový řetězec obsahující 191 aminokyselin s normální strukturou hlavního stimulačního hormonu získaného z předního laloku hypofýzy, vhodný jako růstový hormon; somatotropin, dostupný v rekombinantní formě; somavubov, somatotropin (hovězí), 127-L-Leu, jeden ze čtyř přirozeně se vyskytujících strukturně molekulových variant v hovězím hypofyzárním somatotropinu, vhodný jako galaktopoetický prostředek; somenopor, somatotropin (redukovaný prasečí klon pPGH-1), N-L-Ala-32-de-L-Glu-33-de-L-Arg-34-de-L-Ala-35-de-L-Tyr-36-de-L-Ile-37-de-L-Pro-38-de-L-Glu- obsahující 190 aminokyselin, vhodný jako vepřový růstový hormon; sometribov, somatotropin (hovězí), 1-L-Met-127-L-Leu- obsahující 191 aminokyselin, vhodný ve veterinářství jako stimulační prostředek růstu; sometripor, somatotropin (prasečí rekombinantní) $C_{979}H_{1527}N_{265}O_{287}S_8$; somfasepor, somatotropin (prasečí rekombinantní) $C_{938}H_{1465}N_{257}O_{278}S_6$; somidobov, somatotropin (hovězí rekombinantní) $C_{1020}H_{1596}N_{274}O_{302}S_9$; teprotid, potenciátor bradykininu B, 2-L-Trp-3-de-L-Leu-4-de-L-Pro-8-L-glutamin obsahující 9 aminokyselin, vhodný jako inhibitor enzymu konvertujícího angiotenzin; teriparatid, protein obsahující 34 aminokyselin vhodný jako inhibitor kostní resorpce a podpůrný prostředek v terapii osteoporózy; thymalfasin, thymosin $\alpha 1$ (hovězí) obsahující 28 aminokyselin, vhodný jako antineoplastikum, při léčbě hepatitidy a infekčních chorob a jako prostředek zvyšující účinnost vakcinace; thymopentin, pentapeptid, vhodný jako imunoregulátor; triptorelin, faktor uvolňující luteinizační hormon (prasečí), 6-D-Trp obsahující 10 aminokyselin, vhodný jako antineoplastikum; vapreotid obsahující 8 aminokyselin a

jeden disulfidový můstek, vhodný jako antineoplastikum;
vasopresin ve formě 8-L-Arg- nebo 8-L-Lys-, obsahující 9
aminokyselin a jeden disulfidový můstek, vhodný jako
antidiuretický hormon; myoglobin; hemoglobin; β -laktoglobulin;
imunoglobulin-G (IgG); antihemofilický faktor (faktor VIII);
lysozym; ubiquitin; faktor aktivující krevní destičky (PAF);
tumor necrosis faktor- α (TNF- α); tumor necrosis faktor- β (TNF- β); makrofágový zánětlivý protein (MIP); heparin; eosinofilní
kationtový protein (ECP); rekombinantní faktor IX;
monoklonální protilátka pro nehodgkinský B-buněčný lymfom;
interferon alfa, vhodný pro léčbu hepatitidy C; a umělá kůže
na základě fibroblastů pro léčbu ran spálenin.

Podmínky, které účinně posunují kondenzační reakci podle
vynálezu v podstatě až do úplného zreagování výchozích složek
zahrnují stavy, při kterých dochází ke změně obsahu vody
přítomné v tekuté fázi vzhledem k plynné nebo pevné fázi, čímž
dochází k jejímu odstraňování z uvedené kondenzační reakce.
Aby uvedené podmínky byly pro použití podle vynálezu vhodné,
musí být charakterizované schopností přizpůsobit se zvětšení
měřítka výroby, tj. schopností snadno a účinně se přizpůsobit
zvýšení objemu výroby, a reprodukovatelností, tj. schopností
následných použití bez významnějších odchylek v konečném
výsledku. Podle výše uvedeného, uvedené podmínky zahrnují
podmínky optimalizující vstup energie do procesu, která je
potřebná k co nejúčinnějšímu oddělení vody z vodného prostředí
ve kterém uvedená kondenzační reakce probíhá, včetně vody
vzniklé samotnou kondenzační reakcí, vody obsažené ve
výchozích složkách reakce v konečném připraveném aduktu.

Při teplotách nad 0 °C, podmínky optimalizující vstup
energie do procesu zahrnují a) zahřívání uvedené reakční směsi
ve vodném prostředí na co nejvyšší teplotu, při které je

zachovaná integrita výchozí proteinové složky a finálního kondenzačního aduktu, a které odpovídá optimálním účinností a ekonomickému provedení tohoto procesu zahrnujícího uvedenou kondenzační reakci; b) rozdělení uvedené reakční směsi v uvedeném vodném prostředí do co nejmenších kapek při kterých je zachována integrita výchozí proteinové složky a finálního kondenzačního aduktu, a které odpovídá optimálním účinností a ekonomickému provedení tohoto procesu zahrnujícího uvedenou kondenzační reakci; a c) udělení co nejvyšší relativní rychlosti takto vzniklým kapkám vzhledem k plynu kterým procházejí, při které je zachována integrita výchozí proteinové složky a finálního kondenzačního aduktu, a které odpovídá optimálním účinností a ekonomickému provedení tohoto procesu zahrnujícího uvedenou kondenzační reakci.

Dále, reakční směs se zahřívá na teplotu od 25 °C do 125 °C, výhodně na 40 °C až 120 °C, ještě výhodněji na 50 °C až 115 °C, a ještě výhodněji na 60 až 110 °C a nejvýhodněji na 75 °C až 105 °C, za udržování vodného prostředí v kapalně fázi aplikací zvýšeného tlaku je-li to zapotřebí. Obvykle je však vzhledem k tomu, že jeden z reaktantů je protein, výhodnější použití snížených, tj. redukováných tlaků. Snížené reakční tlaky umožňují, že při vstupu v podstatě stejného množství energie do systému se převede reakční směs z kapalně do plynně fáze při nižší teplotě. Je nutné si uvědomit, že každý výskyt vysokých teplot, které jsou povolené v průběhu reakce je nutné pečlivě sledovat. Nejvyšší z výše uvedených teplot lze umožňovat pouze velmi krátký časový úsek, obvykle úseku v sekundách. Udržování reakční směsi při nižších teplotách, případně ve spojení se sníženým tlakem může být výhodné nebo dokonce nutné v případech, kdy reaktanty nebo konečné produkty mají natolik nízké teploty tání, že může dojít k problémům v průběhu procesu.

Ještě dále, rozčlenění reakční směsi v uvedeném vodném prostředí do malých kapek se provede na kapky o středním průměru od 1,0 μm do 5,0 μm , výhodně od 10 μm do 1,0 μm , výhodněji od 100 μm do 900 μm , ještě výhodněji od 200 μm do 800 μm a nejvýhodněji od 300 μm do 700 μm .

Relativní rychlost udělená uvedeným kapkám je v rozmezí od 0,1 m/s až 5,0 m/s, výhodně od 0,2 m/s do 4,0 m/s, výhodněji od 0,3 m/s do 3,0 m/s, ještě výhodněji od 0,4 m/s do 2 m/s, a nejvýhodněji od 0,5 m/s do 1,0 m/s.

Při teplotách 0 °C a nižších, uvedené podmínky optimalizující vstup energie do procesu, zahrnují a) ochlazení uvedené reakční směsi v uvedeném vodném prostředí na teplotu dostatečnou ke zmrazení v podstatě veškeré nevázané vody v kapalném stavu obsažené v uvedeném reakčním prostředí, přičemž při uvedené teplotě je zachována integrita výchozí proteinové vstupní složky reakce a konečného kondenzačního aduktu, a postup je v souladu s optimálními účinnostmi a ekonomickým provedením tohoto procesu zahrnujícího uvedenou kondenzační reakci; b) podrobení takto ochlazené reakční směsi ve zmrazeném vodném reakčním prostředí sníženému tlaku navíc v přítomnosti inertního plynu, za podmínek zachování integrity výchozí proteinové vstupní složky reakce a konečného kondenzačního aduktu a v souladu s optimálními účinnostmi a ekonomickým provedením tohoto procesu zahrnujícím uvedenou kondenzační reakci.

Dále, reakční směs ochladí na teplotu v rozmezí od -110 °C do 0 °C, výhodně na teplotu od -45 °C do -5 °C, výhodněji na teplotu od -40 °C do -10 °C, ještě výhodněji na teplotu od -35 °C do -15 °C a nejvýhodněji na teplotu od -30 °C do -20 °C, za udržování vodného prostředí v pevné fázi.

Snížený tlak, kterému se uvedená ochlazená reakční směs v uvedeném vodném prostředí vystaví, je v rozmezí absolutního tlaku od 5,0 mm Hg do 0,0001 mm Hg, výhodně absolutního tlaku tlaku 1,0 mm Hg až 0,0005 mm Hg, výhodněji absolutního tlaku v rozmezí od 0,5 mm Hg do 0,001 mm Hg, ještě výhodněji absolutního tlaku v rozmezí od 0,2 mm Hg do 0,005 Hg a nejvýhodněji absolutního tlaku od 0,1 mm Hg do 0,01 mm Hg.

Kondenzační reakční způsoby podle vynálezu lze rovněž provést za podmínek snížené vlhkosti, čímž se urychlí rychlost odstraňování vody a celkové množství odstraněné vody. Tento způsob je v souladu s cílem posunout kondenzační reakci až k úplnému průběhu reakce eliminací od asi 97,0 % do asi 99,9 % hmotnostních, výhodně od asi 98,0 % do asi 99,0 % hmotnostních vody již přítomné v reakční směsi nebo vzniklé v průběhu uvedené kondenzační reakce, což zajišťuje stupeň konverze až na uvedený konečný adukt, tj. výsledný výtěžek uvedeného konečného kondenzačního aduktu rovný asi 98,5 % hmotnostních nebo vyšší, výhodně rovný 99,5 % nebo vyšší, kde uvedená procenta jsou vztažena na hmotnost vstupních složek reakce. Při použití výše uvedeného způsobu se bude množství vlhkosti obsažené v konečném kondenzačním aduktu pohybovat odpovídajícím způsobem od 3,0 % do 0,001 % hmotnostních vztažených na hmotnost konečného produktu, výhodně od 2,0 do 3,0 % hmotnostních vztažených na hmotnost uvedeného konečného produktu. Dále uvedený způsob poskytuje možnost snížení vlhkosti po skončení kondenzační reakce na vlhkost v rozmezí od 0,1 % do 0,001 hmotnostních, nebo od 0,05 % do 0,005 % hmotnostních, nebo dokonce na tak nízkou vlhkost jako je 0,03 až 0,01 % hmotnostních, vztažených na hmotnost konečného produktu. Je-li to potřebné pro stabilitu proteinu, může však být vlhkost podstatně vyšší, a to v rozmezí od 3,0 % do 20,0 % hmotnostních, výhodně od 5,0 % do 15,0 % a ještě výhodněji od

8,0 % do 12,0 % hmotnostních vztažených na hmotnost konečného produktu.

Výše popsané způsoby přípravy zahrnující kondenzační způsoby lze tedy provádět za podmínek snížené vlhkosti čímž se zvýší rychlost odstraňování vody a celkové množství odstraněné vody. Tento způsob je v souladu s cílem posunout kondenzační reakci až k úplnému průběhu reakce eliminací od asi 97,0 % do asi 99,9 % hmotnostních, výhodně od asi 98,0 % do asi 99,0 % hmotnostních vody již přítomné v reakční směsi nebo vzniklé v průběhu uvedené kondenzační reakce. Nicméně množství vlhkosti přítomné v konečném kondenzačním aduktu musí být v souladu se zachováním integrity uvedeného konečného produktu. Podle výše uvedeného, jsou požadované hladiny vlhkosti v konečném aduktu v rozmezí od 3,0 % do 20 % hmotnostních, výhodně v rozmezí od 4,0 % do 15 % hmotnostních a ještě výhodněji v rozmezí od 5,0 % do 10 % hmotnostních vztažených na hmotnost konečného produktu. Například v případě zpracování ovčího somatotropinu je množství vlhkosti v konečném produktu v rozmezí od 6,0 do 9,0 % hmotnostních.

Aplikací výše popsaných podmínek ve způsobech přípravy podle vynálezu se docílí odstranění od 97,0 % do asi 99,9 % hmotnostních, výhodně od asi 98,0 % do asi 99,0 % hmotnostních vody přítomné v průběhu uvedené kondenzační reakce, které je v souladu se zachováním integrity reaktantů v uvedené kondenzační reakci a konečného aduktu, přičemž se za uvedených podmínek dosáhne výtěžku asi 98,5 % hmotnostních nebo vyššího, výhodně asi 99,5 % hmotnostních nebo vyššího, kde uvedená procenta jsou vztažena na hmotnost vstupních složek reakce.

Dále, výchozí složky reakce lze uvést do těsného vzájemného styku ve vodném roztoku bezprostředně před rozptýlením nebo v podstatě současně s rozptylováním konečného

kondenzačního aduktu do kapkové formy. Uvedené těsné smísení složek ve vodném roztoku se docílí mechanickým způsobem dostatečně účinným pro uvedení uvedených výchozích složek do vzájemného kontaktu tak aby současně nedošlo k mechanické degradaci proteinové složky uvedeného kondenzačního aduktu. Mísicí zařízení je možné zvolit ze známých prostředků pro míchání, která umožňuje mírné míchání zabráňující vzniku významných smykových napětí v roztoku. Pracovník v oboru může například zvolit mísicí prostředky zahrnující míchání pomocí tyčinek, lopatek nebo jiných typů míchadel ve stacionárních nádobách; kontinuální mísicí zařízení ve formě kanálu který obsahuje pomalu se pohybující šnek nebo přepážky ve spojení s kyvným pohybem celého kanálu; mísicí zařízení s dvoutrubkovým uspořádáním, kde reakční směs se zavádí do středové trubky a prostorem mezi trubkami se vede ohřevné médium, přičemž míchání je zajištěno centrálním hřídelem nesoucím mísicí listy umístěným ve středové trubce; mísicí zařízení tvořené míchanou nádobou obsahující topnou komoru vhodnou pro ohřev, a svod s míchadlem umožňující nucenou cirkulaci pro zvýšení přenosu tepla do reakční směsi; mísicí zařízení zahušťující reakční směs; a vakuový reakční systém s míchanou komorou udržovanou při sníženém tlaku.

Výše uvedené dokonalé smísení do formy vodného roztoku je také možné docílit inverzí inverzní emulze, ze které se výchozí reagující složky od sebe oddělí jako rozpuštěné látky v dispergující tj. rozpouštědlové fázi a v dispergované, tj. vodné fázi. Inverze uvedené inverzní emulze se docílí rychlou distribucí uvedené inverzní emulze do vodného systému, což je stejná fáze, jakou je dispergovaná fáze. Konečný kondenzační adukt, vzniklý kterýmkoli z výše uvedených způsobů mísení je pak ve formě vhodné k dispergaci do formy kapek za podmínek okolí jak je dále popsáno níže.

Výchozí složky reakce lze také uvést do těsného vzájemného styku ve formě kapek, tj. k tvorbě uvedeného kondenzačního aduktu dochází bezprostředně před nebo v podstatě současně s dispergací tohoto konečného produktu do formy kapek. Uvedené dokonalé smísení výchozích složek reakce ve formě kapek lze docílit mechanicky, a současným nástřikem uvedených reagujících výchozích složek způsobem, při kterém dochází k maximálnímu smísení, kolizím a kontaktům uvedených částic. Rozstřikovací zařízení vhodná pro výše uvedený účel mohou být zařízení, obsahující mechanické nebo tlakové čerpací prostředky umožňující předat energii dostatečnou k rozdělení vodného toku obsahujícího výchozí reagující složky do kapek takové velikosti, které umožňují eliminaci od asi 97,0 % do asi 99,9 % hmotnostních, výhodně od asi 98,0 % do asi 99,0 % hmotnostních vody již přítomné nebo vzniklé kondenzační reakcí, při zachování integrity vstupních složek kondenzační reakce a konečného aduktu, a při zajištění stupně konverze na požadovaný kondenzační adukt, tj. aby konečný výtěžek uvedeného kondenzačního aduktu byl rovný nebo větší než 98,5 % hmotnostních, výhodně rovný nebo větší než asi 99,5 % hmotnostních vztažených na vstupní složky reakce. Uvedené čerpací prostředky lze použít ve spojení s prostředky obsahujícími trysku, čímž je možné aplikovat smykové síly na uvedený vodný tok výchozích reagujících složek a jejich působením se tento tok postupně rozděluje na kapky menšího objemu až se dosáhne požadované velikosti kapek.

Lze také použít rozstřikovací zařízení obsahující generátory toku plynu a prostředky ve kterých je uvedený vodný tok vstupních složek reakce do toku plynu dispergovaný na kapky požadované velikosti. Uvedený plyn by měl být plyn v podstatě inertní k výchozím složkám reakce a ke konečnému kondenzačnímu aduktu a mezi jinými plyny zahrnuje vzduch, dusík nebo helium, stlačený na tlak umožňující poskytnout tok

plynu dostatečného objemu a rychlosti, aby strhával uvedené kapky obsahující výchozí složky reakce a zajišťoval tak jejich maximální promísení, kontakt a kolize, dostatečné k eliminaci od asi 99,9 % hmotnostních, výhodně od asi 98,0 % do asi 99,0 % hmotnostních vody již přítomné nebo vzniklé během kondenzační reakce, při zachování integrity vstupních složek kondenzační reakce a konečného aduktu a současně při zajištění potřebného stupně konverze vedoucího ke konečnému kondenzačnímu aduktu, tj. k výtěžku asi 98,5 % hmotnostních nebo většímu, výhodně k výtěžku asi 99,5 % hmotnostních nebo většímu uvedeného konečného kondenzačního aduktu, kde procenta jsou vztažena na hmotnost vstupních složek reakce.

Rozstříkovací zařízení vhodné k použití podle vynálezu tvoří každá vhodná kombinace výše uvedených generátorů toku plynu s dispergačními prostředky společně s výše popsányými tlakovými čerpacími prostředky a připojenými tryskami.

Intenzivní promísení uvedených výchozích reakčních složek v kapkové formě podle vynálezu lze rovněž docílit pomocí rychle rotujícího disku na jehož povrch se zavádí vodný tok obsahující každou z uvedených výchozích složek reakce. Je možné použít pro každou složku reakce jeden samostatný disk, nebo je možné použít jeden disk v uspořádání vhodném pro oba vodné toky výchozích složek reakce. Každý z uvedených vodných toků se zavádí na disk tak, že z okraje uvedeného disku je rozptylován ve formě kapek. Rychlost rotace uvedeného rotujícího disku je volitelná, aby umožňovala udělení dostatečné energie každému z uvedených vodných toků potřebné k jejich rozdělení do kapkových forem a je taková, aby zajišťovala maximální promísení, kolizi a kontakt získaných kapek. Promísení uvedených výchozích složek probíhá v podstatě za podmínek místností upravených z hlediska teploty, vlhkosti a tlaku tak, aby se docílilo odstranění od asi 97,0 % do asi 99,9 %

hmotnostních, výhodně od asi 98,0 % do asi 99,0 % hmotnostních vody jak již přítomné tak vody vzniklé kondenzační reakcí, při uchování integrity vstupních složek kondenzační reakce a konečného aduktu, a za podmínek vhodných k zajištění požadovaného stupně konverze na uvedený adukt vzniklý kondenzační reakcí, tj. k výtěžku asi 98,5 % hmotnostních nebo většímu, výhodně k výtěžku asi 99,5 % hmotnostních nebo většímu uvedeného konečného kondenzačního aduktu, kde procenta jsou vztažena na hmotnost vstupních složek reakce.

Vynález zahrnuje provedení výše popsaného způsobu přípravy za podmínek v podstatě rovných podmínkách v místnosti. Nicméně ve výhodných provedeních podle vynálezu jsou výše uvedené podmínky v podstatě rovné podmínkách v místnosti významně modifikované s cílem zlepšit rychlost odstraňování a celkový podíl odstraněné vody z uvedené kondenzační reakční směsi a z vzniklého konečného aduktu. Uvedené modifikace zahrnují zejména ohřev uvedených vodných toků obsahujících výchozí složky reakce a prostředků kterými jsou uvedené toky zpracovávány v některých nebo ve všech částech postupu. Těmito způsoby se významně zvýší rychlost reakce a stupeň konverze na adukt vznikající kondenzační reakcí.

Uvedený způsob přípravy lze modifikovat aplikací elektrických polí v různých částech zařízení nebo na materiály použité v procesu přípravy, čímž dojde k maximalizaci vzájemného promísení, kolizí a kontaktů kapiček obsahujících výchozí složky reakce a významně se zlepší výtěžek konečného aduktu vzniklého kondenzační reakcí.

Prostředky zahrnuté v zařízení lze umístit v prostředí s významně sníženým tlakem, stejně tak jako stupně přípravy lze realizovat v tomto prostředí, zejména ty prostředky a stupně, které zahrnují reakci uvedených výchozích složek, aby

se docílilo maximálního promísení a počtu kolísí a kontaktů mezi těmito složkami, a eliminace od asi 97,0 % do asi 99,9 % hmotnostních, výhodně od asi 98,0 % do asi 99,0 % hmotnostních vody již přítomné nebo vzniklé uvedenou kondenzační reakcí, při zachování integrity vstupních složek kondenzační reakce a konečného aduktu, a zajištění požadovaného stupně konverze na uvedený konečný adukt vzniklý kondenzační reakcí, tj. aby výtěžek konečného aduktu vzniklého kondenzační reakcí byl 98,5 % hmotnostních nebo vyšší, výhodně 99,5 % hmotnostních nebo více, kde uvedená procenta jsou vztažena na výchozí složky reakce.

Ke zlepšení rychlosti a rozsahu eliminace vody z konečného aduktu vzniklého kondenzační reakcí který je ve formě kapek, stejně tak jako ke zlepšení výtěžku uvedeného konečného aduktu vzniklého kondenzační reakcí který je ve formě kapek na výtěžek 98,5 % hmotnostních nebo více vztažených na hmotnost vstupních složek, lze rovněž použít prostředky s fluidním ložem.

Vynález se dále týká nových kompozičních prostředků připravených výše uvedenými způsoby podle vynálezu, které obsahují Schiffovy baze ve formě kondenzačních aduktů jejichž složky obsahují protein a aromatický o-hydroxyaldehyd, kde uvedené složky tvoří reakční směs a vzniklý adukt se podrobí podmínkám účinným k eliminaci od asi 97,0 % do asi 99,9 % hmotnostních, výhodně od asi 98,0 % do asi 99,0 % hmotnostních vody již přítomné nebo vzniklé kondenzační reakcí, vhodných k zachování integrity reakčních složek reakce a konečného produktu, a vhodných k zajištění požadovaného stupně konverze na konečný adukt vzniklý kondenzační reakcí, tj. vedoucí ke konečnému výtěžku asi 98,5 % hmotnostních nebo více, výhodně k výtěžku asi 99,5 % hmotnostních nebo více, vztažených na hmotnost výchozích složek reakce. Postup rovněž zahrnuje stav

uvedených kompozic ve formě kapek majících střední průměr v rozmezí od asi 0,1 μm do asi 10,0 μm , výhodně od asi 1,0 do asi 5,0 μm , ještě výhodněji od asi 2,0 μm do asi 4,0 μm , a nejvýhodněji od asi 2,5 μm do asi 3,5 μm .

Nové kompoziční prostředky podle vynálezu zahrnují prostředky, jejichž proteinovou složku lze podávat živočichům, a kterou může živočich po přijetí s prospěchem využít, metabolizovat a vyloučit, tj. eliminovat ze svého organismu. Uvedená proteinová složka může mít tyto vlastnosti již před reakcí s aromatickým o-hydroxyaldehydem a tvorbou zlepšených kondenzačních aduktů, a které jsou Schiffovými bazemi, způsobem podle vynálezu; nicméně tvorba uvedeného kondenzačního aduktu tyto vlastnosti a parametry významně podporuje a tím umožňuje i použití proteinu, které by jinak selhávalo.

Uvedená proteinová složka je složka mající schopnost vyvolat prospěšný účinek u živočicha nebo živočichů kterým se podává, a obvykle je to složka mající vlastnosti léčiva. Mezi tyto složky patří také proteiny mající další biologicky účinné vlastnosti prospěšné živočichům nebo související s jejich využitím, které zahrnují proteinové hormony jako je somatotropin používající se k regulaci růstu domestikovaných plemen zvířat chovaných pro produkci potravin, kde somatotropin podávaný uvedeným zvířatům má prospěšný vliv na zvýšení účinnosti výkrmu a redukuje dobu potřebnou mezi výkrmem a dodávkou na trh. Mezi uvedené složky patří také proteiny, u kterých se zpracováním způsoby podle vynálezu zlepší jednak jejich stabilita při dlouhodobém uchovávání a jednak se rozšíří jejich způsoby aplikací na zvířata, mezi které patří parenterální pevné implantáty. Mezi uvedené složky

také patří proteiny s prokázanými léčivými účinky u živočichů a člověka, které lze použít ve způsobech podle vynálezu.

Podrobný popis vynálezu

Vynález se týká způsobu přípravy Schiffových bazí ve formě aduktů připravených kondenzací o-hydroxyaldehydu a proteinu, který představuje významné zlepšení dosud v oboru známých způsobů přípravy aduktů tohoto typu. Způsob přípravy podle vynálezu je nejen vhodnější z hlediska pojmů zahrnujících reprodukovatelnost, účinnost, vysoké výtěžky a transponovatelnost, tj. možnost zvětšení měřítka provedení, ale také tím, že konečný adukt připravený kondenzační reakcí způsobem podle vynálezu zahrnuje významná a překvapující zlepšení vůči produktům dosud používaným k jejich přípravě. Konečný adukt kondenzační reakce připravený způsobem podle vynálezu se získává přímo uvedeným zlepšeným způsobem provedení kondenzační reakce podle vynálezu s překvapivě vysokou reprodukovatelností, účinností, za vysokých výtěžků a s transponovatelností, tj. možnostmi vhodného zvětšení měřítka provedení reakce.

Jak již bylo uvedeno výše, předložený vynález představuje významné zlepšení kondenzačních způsobů přípravy Schiffových bazí dosud popsaných v technické literatuře. Příkladem těchto způsobů je způsob popsaný Clarkem a sp. v US 5198422, podle kterého se připraví stabilizovaný komplex obsahující růstový hormon, zejména prasečí somatotropin, pST a aromatický aldehyd, a konečný komplex se izoluje z vodného roztoku ve formě krystalického produktu údajně s prodlouženým uvolňováním uvedeného růstového hormonu.

Konkrétní postup, kterým se podle Clarkova a sp. způsobu konečný komplex izoluje z vodného roztoku zahrnuje odstranění

vodného rozpouštědla odpařováním, které se provádí v poměrně významně dlouhém časovém období, a následné seškrábnutí produktu ze stěn nádoby ve které reakce probíhala. Způsob podle Clarka a sp. je obtížné řídit, často vede k rozkladu produktu, a prakticky je nemožné zvýšit objem výroby. Významný zdroj rozkladu produktu přímo vyplývá z udržování reakční směsi, koncentrovaného vodného roztoku obsahujícího jako složku konečného aduktu jako produktu kondenzační reakce a rovněž jako vstupní složku reakce protein, často podléhající rozkladu, při zvýšených teplotách po delší doby. Na rozdíl od výše uvedeného způsobu, způsoby podle vynálezu, zejména provedení zahrnující sušení rozprašováním a lyofilizací, redukuje dobu zdržení výchozích složek reakce a konečného aduktu jako produktu kondenzační reakce ve vodném roztoku na minimum. Odstranění vodného rozpouštědla vymrazením, tj. lyofilizací, uvádějí i Clark a sp., ale z popisu jejich vynálezu vyplývá, že tento způsob nebyl nikdy vyzkoušen. Pracovník v oboru následkem toho nemá žádný přijatelný důvod se domnívat, že takový způsob je funkční. Clark a sp. nenavrhují zásadní použití o-hydroxyaldehydu a udržování pH na hodnotě 7 nebo vyšší, jak se uvádí ve způsobu podle vynálezu. I když by pracovník v oboru provedl lyofilizaci podle Clarka a sp., s odpařováním jak je popsáno výše, byl by uvedený způsob charakterizovaný prodlouženou dobou sušení, přímo směřující k výše popsaným problémům při zpracování týkajících se reprodukovatelnosti, kvality produktu a možností zvýšení objemu výroby.

Nicméně práce Clarka sp. vedla ke zlepšeným produktům, které dříve neměly optimální vlastnosti s ohledem na dlouhodobou stabilitu při uchovávání a celkovou čistotu produktů, což výrazně omezovalo jejich použití při léčbě živočichů. Tento stav měl zvláště nežádoucí dopad v případech, kde produkt byl pevný implantát ve formě pelety nebo v podobné

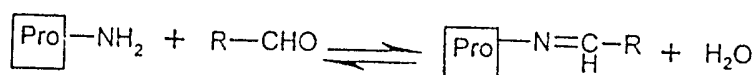
formě určené k parenterální aplikaci instilací nebo insercí pod kůži nebo do svalové tkáně léčeného živočicha. Přestože způsob podle Clarka a sp. umožňuje docílit určitá zlepšení týkající se stability produktu, neposkytuje zřetelný způsob, pomocí kterého by bylo možné rozšířit tento způsob na účinnou a ekonomicky přijatelnou průmyslovou výrobu, a to vzhledem k velké spotřebě energie a k dlouhým dobám potřebným k dosažení úplného odpaření vodného rozpouštědla.

Z výše uvedeného vyplývá, že v oboru stále existuje potřeba překonat existující nevýhody současně používaných postupů přípravy kondenzačních aduktů tvořících Schiffovy baze, rovněž jako překonat nevýhody aduktů připravených dřívějšími, ještě méně uspokojivými způsoby, zahrnujícími nestabilitu těchto aduktů. Předložený vynález je tedy nutné chápat v souvislosti s vyřešením výše uvedených potřeb v oboru.

Překonání nevýhod dosavadních způsobů a produktů uváděných v technické literatuře způsobem podle vynálezu lze nalézt ve zjištění, že odstranění vodného rozpouštědla lze uskutečnit způsoby které jsou velmi snadné, reprodukovatelné a transponovatelné, tj. schopné účinně se přizpůsobit zvýšenému objemu výroby v průmyslovém měřítku při zachování účinných a ekonomických parametrů výroby. Nutnou neproteinovou složkou konečného produktu kondenzační reakce kterým je Schiffova base, použitou ve způsobech přípravy podle vynálezu, je aromatický o-hydroxyaldehyd typu, který je dále podrobněji popsán níže.

Adukty připravené kondenzační reakcí ve formě Schiffových bazí byly původně v oboru používané s cílem překonat problém týkající se stability základní proteinové složky. Příčina uvedeného problému souvisejícího se stabilitou proteinu přímo

spočívá v postupné denaturaci proteinového produktu s porušením terciární struktury, tj. konfigurace proteinu a v určitých degeneracích i pokud jde o sekundární a primární struktury uvedeného proteinu, jejichž důsledkem je změna fyzikálních vlastností proteinu a významná ztráta původní aktivity uvedeného proteinu. Konjugace uvedeného proteinu a karbonylové sloučeniny do formy Schiffovy baze se v oboru používá s cílem dosáhnout větší stability proteinového produktu, například způsobem popsáným Clarkem a sp., kde produkt připravený způsobem podle výše uvedených autorů údajně poskytuje prodloužené uvolňování somatotropinu. Základní kondenzační reakce poskytující tvorbu aduktu tvořeného Schiffovou bází je rovnovážná reakce kterou lze znázornit následující schematickou rovnicí:



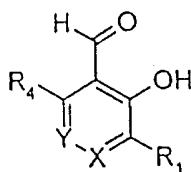
Skutečnost, že kondenzační reakce vedoucí k tvorbě Schiffovy baze je rovnovážná reakce, a tato reakce není výrazně posunutá ve směru pravé strany znázorněné rovnice, tvoří základ pro vznik uvedených problémů a to i v případě řešení navrhovaného Clarkem a sp., totiž skutečnost, že významná množství proteinu nepřejdou do formy aduktu a proto u tohoto podílu proteinu dochází k porušení jeho struktury denaturací a tím k následné ztrátě biologických účinků, ve výše uvedeném případě ke ztrátě účinků podporujících růst.

Existuje také další aspekt zahrnutý v kondenzační reakci pro přípravu Schiffových bází, tvořící základní překážku vývoje, zejména pokud jde o způsoby podle Clarka a sp. Uvedený problém spočívá v sublimaci aldehydové složky, zahrnující aromatické o-hydroxyaldehydy projevující se ve významné míře během dlouhého sušicího procesu. Rozsah této sublimace může

tvořit až jednu třetinu nebo více původně přítomného aldehydu v reakční směsi. Tato významná ztráta výchozí složky reakce vede nejen k nevyhnutelným ztrátám na výtěžku konečného produktu, ale rovněž k dalším problémům, z nichž mnohé spočívají v podílu nezreagované výchozí proteinové složky. Nezreagovaný protein podléhá během sušicího procesu denaturaci, a vzniklé vedlejší produkty tvoří další komplikace uvedeného způsobu přípravy, například srážení nebo ulpívání na povrchu zpracovací zařízení jak je uvedeno na jiném místě tohoto popisu. Na rozdíl od uvedených výsledků, způsoby podle vynálezu vedou k mimořádně vysokým výtěžkům a problém se sublimací aldehydové složky je téměř úplně eliminován.

Přestože odstranění vody vzniklé kondenzací, což znázorňuje pravá strana výše uvedené rovnice, by mělo teoreticky posunout rovnováhu podle zákona o působení hmot ve směru dokončení reakce, uvedené odstranění vody vzniklé kondenzací se stává problematické z hlediska skutečnosti, že reakce probíhá ve vodném roztoku. Odstranění vody vzniklé kondenzací ve skutečnosti znamená odstranění veškeré vody přítomné v reakčním prostředí. V oboru je uvedený základní problém spojený s tvorbou kondenzačních aduktů ve formě Schiffových bazí již známý, ale před řešením tohoto problému způsobem který poskytuje předložený vynález není v technické literatuře popsán žádné řešení uvedeného problému.

První aspekt vynálezu, který tvoří základní prvek úspěšného provedení podle vynálezu, je použití aromatického o-hydroxyaldehydu, jako jednoho ze dvou klíčových složek reagujících v kondenzační reakci za tvorby aduktu, kterým je Schiffova base. Aromatické o-hydroxyaldehydy, vhodné k použití v kondenzačním způsobu podle vynálezu, výhodně tvoří jedna nebo více sloučenin obecného vzorce (1):



(1.)

kde:

R_1 a R_4 znamenají skupinu nezávisle zvolenou ze skupiny zahrnující především vodík; hydroxy; halogen; nitro; kyan; trifluormethyl; (C_1-C_6) alkyl; (C_1-C_6) alkoxy; (C_3-C_6) cykloalkyl; (C_2-C_6) alkenyl; $-C(=O)OR_7$; $-OC(=O)R_7$; $-S(=O)_2$; $-S(=O)_2R_7$; $-S(=O)_2OR_7$; $-C(=O)NR_7R_9$; $-C(=O)R_9$; $S(=O)_2N(R_7)(R_9)$; a $-N(R_7)(R_9)$, kde R_7 znamená vodík nebo (C_1-C_4) alkylovou skupinu a R_9 znamená (C_1-C_4) alkylovou skupinu;

kde uvedená alkylová, cykloalkylová a alkenylová skupina ve významu R_1 a R_4 může každá nezávisle být substituovaná jedním nebo dvěma substituenty které znamenají skupinu ze skupiny zahrnující především halogen; hydroxy; (C_1-C_2) alkyl; (C_1-C_2) alkoxy; (C_1-C_2) alkoxy- (C_1-C_2) alkyl; (C_1-C_2) alkoxykarbonyl; karboxy; (C_1-C_2) alkylkarbonyloxy; nitro; kyan; aminoskupinu disubstituovanou (C_1-C_2) alkylovou skupinou; sulfonyl; a sulfonamidoskupinu disubstituovanou (C_1-C_2) alkylovou skupinou; a

X a Y každý nezávisle znamenají N , O , S , CHR_2 nebo popřípadě CHR_3 , s výhradou, že X a Y nemohou současně být zvoleny ze skupiny zahrnující O a S ;

kde R_2 a R_3 znamenají skupinu nezávisle zvolenou ze skupiny zahrnující především vodík; hydroxy; halogen; nitro; kyan; trifluormethyl; (C_1-C_6) alkyl; (C_1-C_6) alkoxy; (C_3-C_6) cykloalkyl; (C_2-C_6) alkenyl; $-C(=O)OR_{11}$; $-OC(=O)R_{11}$; $-S(=O)_2$; $-S(=O)_2N(R_{11})(R_{13})$; ; a $-N(R_{11})(R_{13})$,

kde R_{11} znamená vodík nebo (C_1-C_4) alkylovou skupinu a R_{13} znamená (C_1-C_4) alkylovou skupinu;

příčemž uvedená alkylová, cykloalkylová a alkenylová skupina ve významu R_2 a R_3 může být každá nezávisle případně substituovaná jedním nebo dvěma substituenty které znamenají skupinu ze skupiny zahrnující především halogen; hydroxy; (C_1-C_2) alkyl; (C_1-C_2) alkoxy; (C_1-C_2) alkoxy- (C_1-C_2) alkyl; (C_1-C_2) alkoxykarbonyl; karboxy; (C_1-C_2) alkylkarbonyloxy; nitro; kyan; aminoskupinu disubstituovanou (C_1-C_2) alkylovou skupinou; sulfonyl; a sulfonamidoskupinu disubstituovanou (C_1-C_2) alkylovou skupinou.

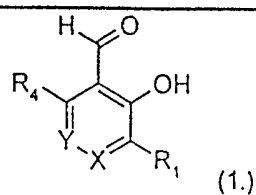
Ve výhodném aspektu vynálezu R_1 a R_4 znamenají skupinu nezávisle zvolenou ze skupiny zahrnující vodík; hydroxy; trifluormethyl; (C_1-C_4) alkyl; (C_1-C_4) alkoxy; $-C(=O)OR_7$; nebo $-N(R_7)(R_9)$, kde R_7 znamená vodík nebo (C_1-C_2) alkylovou skupinu a R_9 znamená (C_1-C_2) .

V ještě výhodnějším provedení vynálezu R_1 a R_4 znamenají skupinu nezávisle zvolenou ze skupiny zahrnující vodík; hydroxy; (C_1-C_2) alkyl; (C_1-C_2) alkoxy; karboxy nebo methylamino. V tomto konkrétním provedení R_7 znamená vodík a R_9 znamená methylovou skupinu. Výhodné také je, jestliže R_1 a R_4 znamenají alkylovou skupinu a jsou substituované, přičemž substituent je jeden a znamená skupinu zvolenou ze skupiny zahrnující hydroxy; (C_1-C_2) alkoxy; karboxy; aminoskupinu disubstituovanou (C_1-C_2) alkylovou skupinou; a sulfonamidoskupinu disubstituovanou (C_1-C_2) alkylovou skupinou. Ještě výhodněji uvedený jeden substituent znamená skupinu zvolenou ze skupiny zahrnující hydroxy, methoxy a dimethylamino.

Dále, podle výhodných aspektů vynálezu X a Y každý nezávisle znamená skupinu zvolenou ze skupiny zahrnující N, CHR_2 , nebo CHR_3 ; a podle ještě výhodnějších aspektů vynálezu jeden z X nebo Y znamená N a druhý pak znamená CHR_2 nebo respektive CHR_3 ; v ještě výhodnějším provedení vynálezu X znamená CHR_2 a Y znamená CHR_3 , kde R_2 a R_3 výhodně znamenají skupinu nezávisle zvolenou ze skupiny zahrnující vodík; hydroxy; halogen; trifluormethyl; $(\text{C}_1\text{--C}_4)$ alkyl; $(\text{C}_1\text{--C}_4)$ alkoxy; $-\text{C}(=\text{O})\text{OR}_{11}$; $-\text{S}(=\text{O})_2\text{N}(\text{R}_{11})(\text{R}_{13})$; ; a $-\text{N}(\text{R}_{11})(\text{R}_{13})$, kde R_{11} znamená výhodně vodík nebo $(\text{C}_1\text{--C}_2)$ alkylovou skupinu a R_{13} znamená $(\text{C}_1\text{--C}_2)$ alkylovou skupinu; a ještě výhodněji R_2 a R_3 výhodně znamenají skupinu nezávisle zvolenou ze skupiny zahrnující vodík; hydroxy; $(\text{C}_1\text{--C}_2)$ alkyl; $(\text{C}_1\text{--C}_2)$ alkoxy; karboxy; a methylamino. V tomto případě R_{11} znamená vodík a R_{13} znamená methylovou skupinu.

Výhodné je, jestliže R_2 a R_3 znamenají alkylovou skupinu a jsou substituované, přičemž substituent je jeden a znamená skupinu zvolenou ze skupiny zahrnující hydroxy; $(\text{C}_1\text{--C}_2)$ alkoxy; karboxy; aminoskupinu disubstituovanou $(\text{C}_1\text{--C}_2)$ alkylovou skupinou; a sulfonamidoskupinu disubstituovanou $(\text{C}_1\text{--C}_2)$ alkylovou skupinou.

K dalšímu znázornění výše uvedeného aspektu vynálezu, týkajícího se jednotlivých aromatických o-hydroxyaldehydů, které jsou zvláště vhodné pro použití ve způsobu podle vynálezu, jsou níže uvedené následující tabulky zahrnující tyto výhodné aldehydy a skupiny v nich obsažené:



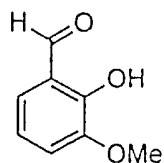
R ₁	R ₄	X	Y	R ₂	R ₃
H	H	CHR ₂	CHR ₃	H	H
H	OH	CHR ₂	CHR ₃	H	H
OH	H	CHR ₂	CHR ₃	H	H
CF ₃	H	CHR ₂	CHR ₃	H	H
CH ₃	H	CHR ₂	CHR ₃	H	H
CH ₂ CH ₃	H	CHR ₂	CHR ₃	H	H
OCH ₃	H	CHR ₂	CHR ₃	H	H
C(=O)OH	H	CHR ₂	CHR ₃	H	H
C(=O)OCH ₃	H	CHR ₂	CHR ₃	H	H
NHCH ₃	H	CHR ₂	CHR ₃	H	H
N(CH ₃) ₂	H	CHR ₂	CHR ₃	H	H
H	OH	CHR ₂	CHR ₃	H	H
H	CH ₃	CHR ₂	CHR ₃	H	H
H	CF ₃	CHR ₂	CHR ₃	H	H
H	CH ₂ CH ₃	CHR ₂	CHR ₃	H	H
H	OCH ₃	CHR ₂	CHR ₃	H	H
H	C(=O)OH	CHR ₂	CHR ₃	H	H
H	C(=O)OCH ₃	CHR ₂	CHR ₃	H	H
H	NHCH ₃	CHR ₂	CHR ₃	H	H
H	N(CH ₃) ₂	CHR ₂	CHR ₃	H	H
OH	OH	CHR ₂	CHR ₃	H	H
CF ₃	CF ₃	CHR ₂	CHR ₃	H	H
CH ₃	CH ₃	CHR ₂	CHR ₃	H	H
CH ₂ CH ₃	CH ₂ CH ₃	CHR ₂	CHR ₃	H	H
OCH ₃	OCH ₃	CHR ₂	CHR ₃	H	H
C(=O)OH	C(=O)OH	CHR ₂	CHR ₃	H	H
C(=O)OCH ₃	C(=O)OCH ₃	CHR ₂	CHR ₃	H	H
NHCH ₃	NHCH ₃	CHR ₂	CHR ₃	H	H

$N(CH_3)_2$	$N(CH_3)_2$	CHR_2	CHR_3	H	H
H	H	CHR_2	CHR_3	OH	H
H	H	CHR_2	CHR_3	H	OH
H	H	CHR_2	CHR_3	OH	OH
H	H	CHR_2	CHR_3	CH_3	H
H	H	CHR_2	CHR_3	H	CH_3
H	H	CHR_2	CHR_3	CH_3	CH_3
H	H	CHR_2	CHR_3	OCH_3	H
H	H	CHR_2	CHR_3	H	OCH_3
H	H	CHR_2	CHR_3	OCH_3	OCH_3
H	H	CHR_2	CHR_3	$NHCH_3$	H
H	H	CHR_2	CHR_3	H	$NHCH_3$
H	H	CHR_2	CHR_3	$NHCH_3$	$NHCH_3$
H	H	CHR_2	CHR_3	$N(CH_3)_2$	H
H	H	CHR_2	CHR_3	H	$N(CH_3)_2$
H	H	CHR_2	CHR_3	$N(CH_3)_2$	$N(CH_3)_2$
CH_3	H	CHR_2	CHR_3	CH_3	H
H	CH_3	CHR_2	CHR_3	H	CH_3
OCH_3	H	CHR_2	CHR_3	OCH_3	H
OCH_3	H	CHR_2	CHR_3	H	CH_3
H	H	CHR_2	CHR_3	H	OH
H	OH	CHR_2	CHR_3	CH_3	CH_3
OCH_3	H	CHR_2	CHR_3	OCH_3	H
OH	H	CHR_2	CHR_3	OCH_3	OCH_3
OCH_3	H	CHR_2	CHR_3	H	$NHCH_3$
H	$NHCH_3$	CHR_2	CHR_3	$NHCH_3$	H
H	OH	CHR_2	CHR_3	H	$NHCH_3$
H	OH	CHR_2	CHR_3	OH	H
H	OH	CHR_2	CHR_3	H	OH
$N(CH_3)_2$	H	CHR_2	CHR_3	OCH_3	H
CH_3	H	CHR_2	CHR_3	H	OCH_3
H	CH_3	CHR_2	CHR_3	$N(CH_3)_2$	H
H	$N(CH_3)_2$	CHR_2	CHR_3	CH_3	H
OCH_3	H	CHR_2	CHR_3	H	OCH_3

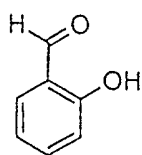
09.05.01

OCH ₃	H	CHR ₂	CHR ₃	CH ₃	CH ₃
OCH ₃	H	O	CHR ₃	—	H
H	OCH ₃	O	CHR ₃	—	H
CH ₃	H	O	CHR ₃	—	CH ₃
H	OCH ₃	CHR ₂	O	H	CH ₃
H	H	CHR ₂	O	N(CH ₃) ₂	—
H	CH ₃	CHR ₂	O	CH ₃	—
CH ₃	H	S	CHR ₃	—	CH ₃
OCH ₃	H	S	CHR ₃	—	H
N(CH ₃) ₂	H	CHR ₂	S	H	—
OCH ₃	H	CHR ₂	S	OCH ₃	—
OCH ₃	H	N	CHR ₃	—	H
CH ₃	H	N	CHR ₃	—	CH ₃
H	N(CH ₃) ₂	N	CHR ₃	—	H
H	CH ₃	N	CHR ₃	—	CH ₃
OCH ₃	OCH ₃	N	CHR ₃	—	H
CH ₃	H	N	CHR ₃	—	NHCH ₃
CH ₃	OCH ₃	N	CHR ₃	—	H
CH ₃	CH ₂ OH	N	CHR ₃	—	H
CH ₃	CH ₂ OH	N	CHR ₃	—	CH ₃
OCH ₃	CH ₂ OH	N	CHR ₃	—	H
OCH ₃	CH ₃	CHR ₂	N	H	—
NHCH ₃	H	CHR ₂	N	H	—
H	CH ₃	CHR ₂	N	CH ₃	—
H	H	CHR ₂	N	N(CH ₃) ₂	—
CH ₃	CH ₂ OH	CHR ₂	N	H	—
OCH ₃	CH ₂ OH	CHR ₂	N	H	—
CH ₃	CH ₂ OH	CHR ₂	N	CH ₃	—
CH ₃	CH ₃	N	N	—	—
CH ₃	CH ₂ OH	N	N	—	—
OCH ₃	OCH ₃	N	N	—	—

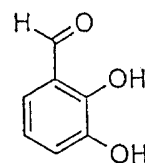
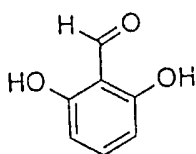
Mezi výše uvedenými druhy aromatických o-hydroxyaldehydů které jsou vhodné a výhodné pro použití ve způsobech podle vynálezu a pro produkty podle vynálezu je několik, které jsou nejvýhodnější na základě jejich dostupnosti, ceny, účinnosti, snadnosti provedení a efektivity při použití v uvedených způsobech a jejich schopnosti poskytnout zlepšený produkt, vykazující optimální požadované parametry z hlediska stability uvedených produktů v čase a zachování původních hodnot jejich biologické aktivity. Uvedené nejvýhodnější druhy zahrnují salicylaldehyd; 2,3-dihydroxybenzaldehyd; o-vanilin; a pyridoxal, které lze znázornit následujícími strukturními vzorci:



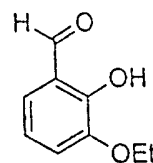
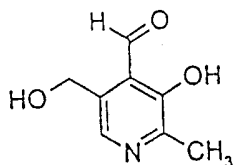
o-vanilin



salicylaldehyd

2,3-dihydroxy-
benzaldehyd

2,6-dihydroxy- pyridoxal

2-hydroxy-3-ethoxy-
benzaldehyd

Jak již bylo popsáno bezprostředně výše, první aspekt vynálezu tvoří základní předpoklad úspěšného provedení, tj. použití aromatického o-hydroxyaldehydu jako jedné ze dvou klíčových složek reagujících za tvorby zlepšeného aduktu

vzniklého kondenzační reakcí a tvořícího Schiffovu bazi. Níže je obdobně uveden podrobný popis druhé složky, proteinu, který reaguje s uvedeným aromatickým o-hydroxyaldehydem způsobem přípravy podle vynálezu za tvorby zlepšených aduktů vzniklých kondenzační reakcí a tvořících Schiffovy baze.

Protein který připadá v úvahu jako druhá složka zlepšeného aduktu tvořícího Schiffovu bazi a připraveného kondenzační reakcí podle vynálezu musí splňovat při posouzení jeho vhodnosti pro uvedený účel několik požadavků. První kritérium, které nemá striktní omezení, je založeno pouze na velikosti proteinu. Molekulová hmotnost proteinu se vyjadřuje v daltonech nebo kilodaltonech (kD) a protein může být tvořen již tak malým počtem jako jsou dvě aminokyseliny až po několik set aminokyselin a tak mnoho jako je tisíc nebo více aminokyselin. Typický protein má hmotnost 30 000 daltonů. Důležité však je, aby zvolený protein mohl být podán živočichovi a po podání aby byl prospěšně využit, metabolizován a vyloučen, tj. eliminován z organismu uvedeného živočicha. Žádoucí je, aby zvolený protein měl tyto vlastnosti již předtím než se podrobí reakci s aromatickým o-hydroxyaldehydem a vytvoří zlepšený adukt tvořící Schiffovu bazi vzniklý kondenzační reakcí způsobem podle vynálezu; nicméně tvorba uvedeného kondenzačního aduktu významně tyto vlastnosti a parametry podpoří a umožňuje tak i použití proteinu, které jinak selhává.

Dalším základním parametrem proteinu navrženého pro použití při přípravě aduktů tvořených Schiffovými bazemi kondenzační reakcí způsobem podle vynálezu je jeho schopnost vyvolat prospěšný účinek u živočicha nebo živočichů kterým je podán. Uvedený prospěšný účinek je nejobvykleji terapeutický, ať již při podání živočichovi nebo člověku. Výrazy "živočich" a

"živočichové" použité v tomto textu zahrnují všechny druhy živočišné říše a především druhy, které splňují další požadavky vkládané na proteiny používané podle vynálezu s ohledem na jejich prospěšné použití pro uvedené druhy. Výraz "prospěšné použití" použitý v tomto textu obvykle označuje prospěšný účinek pro konkrétního živočicha a proto také lidem v oblasti ekonomických přínosů v chovu hospodářských zvířat. Nicméně tento výraz se používá i pro účinky které jsou pro konkrétního živočicha nevýhodné nebo škodlivé, ale mohou naopak být ekonomicky přínosné lidem. Mezi takové účinky patří pesticidní účinky různých typů, například inhibice růstu a reprodukce nebo úplná likvidace škůdců kteří v ekonomicky významném měřítku poškozují úrodu plodin nebo škodí hospodářsky cenným domestikovaným zvířatům. Podle výše uvedeného, vynález tedy zahrnuje všechny hlavní kmeny a jejich podskupiny které mají ekonomický význam, například členovce kmene Arthropoda, kam patří třídy hmyzu (Insecta), pavouků a roztočů (Arachnida) a korýšů (Crustacea); nebo podkmen Vertebrata, zahrnující třídy savců (Mammalia), ptáků, plazů (Reptilia), obojživelníků (Amphibia) a ryb; bezobratlé kmene Mollusca zahrnující mlže a plže; nebo kmen Annelida zahrnující žížaly a pijavice; nebo kmen Echinodermata, zahrnující hvězdice a ježovky; nebo kmen Nematoda zahrnující hlístice.

Proteiny vhodné k použití podle vynálezu mohou mít ještě další biologické účinky, které jsou pro živočicha nebo jeho využití prospěšné, ale obvykle nejsou pokládány za účinky léčivé. Například proteinové hormony jako je somatotropin se používají k regulaci růstu zvířat obvykle chovaných jako domácí zvířata pro výrobu potravin, kde somatotropin podávaný uvedeným zvířatům se výhodně využívá pro zvýšení účinnosti výkrmu a k redukci doby potřebné k výkrmu a dřívějšího uvedení uvedených zvířat na trh. Použití tohoto proteinového hormonu

tak poskytuje jasný a definovaný obchodní a ekonomický prospěch nesouvisející přímo s terapeutickým použitím jako takovým.

Také další hormony a regulátory funkcí organismu, které patří mezi proteiny a běžně se využívají pro obchodní účely, lze zlepšit přípravou způsoby podle vynálezu. Toto zlepšení spočívají ve zvýšené koncentraci aduktu vzniklého kondenzací a rovněž ve výtěžku aduktu vzniklého kondenzační reakcí, což zpřístupňuje možnosti jejich podávání živočichům způsoby zahrnujícími parenterální pevné implantáty.

Nicméně většina proteinů vhodných pro použití podle vynálezu jsou proteiny, používané jako léčivé prostředky živočichů a lidí. Uvedené proteiny našly uplatnění a jsou používané v různých skupinách léčivých přípravků. Z popisu v níže uvedených odstavcích bude zřejmé, že těchto proteinů existuje nejen velký počet, ale také že pro všechny tyto proteiny bude prospěšná zlepšená dlouhodobá stabilita a ochrana jejich biologické aktivity pokud se připraví způsobem podle vynálezu ve formě zlepšených aduktů tvořených Schiffovou bazí po kondenzační reakci. Tato prospěšnost je zvláště zřetelná při přípravě pelet nebo podobných forem určených pro podání jako zásobní implantát s řízeným uvolňováním.

Velkou skupinu tvoří proteinová endogenní a syntetická opioidní analgetika a antagonisté, které lze rozdělit na tři skupiny označované jako enkefaliny, endorfiny, a dynorfiny. Uvedené proteiny jsou selektivní a neselektivní agonisté a antagonisté μ , κ , a δ subtypů opioidního receptoru, a mají terapeutické využití především jako analgetika. Specifické proteiny zahrnují [Leu⁵] a [Met⁵]enkefalin; dynorfin A a B; α - a β -neoendorfin; [D-Ala², MePhe⁴, -Gly(ol)⁵]enkefalin (DAMGO); [D-

Pen², D-Pen⁵]enkefalin (DPDPE); [D-Ser², Leu⁵]enkefalin-Thr⁶ (DSLET); [D-Ala², D-Leu⁵]enkefalin (DADL); D-Phe-Cys-Tyr-D-Trp-Orn-Thr-Pen-Thr-NH₂ (CTOP); [D-Ala², N-MePhe⁴, Met(O)⁵-ol]-enkefalin (FK-33824); Tyr-D-Ala-Phe-Asp-Val-Val-Gly-NH₂-[D-Ala²]deltorfin I; Tyr-D-Ala-Phe-Glu-Val-Val-Gly-NH₂-[D-Ala², Glu⁴]deltorfin II; Tyr-Pro-Phe-Pro-NH₂ (morficeptin); Tyr-Pro-MePhe-D-Pro-NH₂ (PL-017); a [D-Ala², Leu⁵, Cys⁶]-enkefalin.

Skupina proteinů označovaná jako autokoidy, která zahrnuje bradykinin a kallidin, které jsou produkovány proteolytickými reakcemi v odezvě na zánětlivé stavy zahrnující poškození tkání, virové infekce a alergické reakce. Tyto proteiny působí lokálně a vyvolávají bolest a působí vazodilataci, zvyšují vaskulární permeabilitu a syntézu prostaglandinů. Uvedené proteiny a jejich analogy mají agonistickou a antagonistickou aktivitu a jsou potenciálně vhodné k léčbě mužské neplodnosti, k transportu nádorových chemoterapeutik přes hematoencefalickou bariéru, a k léčbě bolesti, astma, a dalších chronických zánětlivých chorob. Specifické proteiny tohoto typu zahrnují:

Arg-Pro-Pro-Gly-Phe-Ser-Pro-Phe-Arg (bradykinin);
 Lys-Arg-Pro-Pro-Gly-Phe-Ser-Pro-Phe-Arg (kallidin);
 Arg-Pro-Pro-Gly-Phe-Ser-Pro-Phe (des-Arg⁹-bradykinin);
 Lys-Arg-Pro-Pro-Gly-Phe-Ser-Pro-Phe (des-Arg¹⁰-kallidin);
 Arg-Pro-Pro-Gly-Phe-Ser-Pro-Leu (des-Arg⁹-[Leu⁸]bradykinin);
 Arg-Pro-Pro-Gly-Phe-Ser-[D-Phe]-Phe-Arg ([D-Phe⁷]-bradykinin);
 a [D-Arg]-Arg-Pro-Hyp-Gly-Thi-Ser-Tic-Oic-Arg (HOE 140), kde
 Hyp znamená trans-4-hydroxy-Pro; Thi znamená β-(2-thienyl)-Ala;
 Tic znamená [D]-1,2,3,4-tetrahydrochinolin-3-yl-karbonyl; a Oic
 znamená (3as, 7as)-oktahydroindol-2-yl-karbonyl;

$$\begin{array}{ccccccccccccccc}
 & \text{NH}_2 & & \text{O} & & & & & & & & & & & & & & & \\
 & | & & || & & & & & & & & & & & & & & & \\
 & \text{C} & - & \text{C} & - & \text{Tyr} & - & \text{Phe} & - & \text{Gln} & - & \text{Asn} & - & \text{Cys} & - & \text{Pro} & - & \text{Arg} & - & \text{Gly} & - & \text{NH}_2 \\
 & / & & & & 1 & & 2 & & 3 & & 4 & & 5 & & 6 & & 7 & & 8 & & 9 \\
 \text{H}_2\text{C} & & \text{H} & & & & & & & & & & & | & & & & & & & & \\
 & \backslash & & & & & & & & & & & & \text{S} & \text{-----} & \text{S} & & & & & &
 \end{array}$$

a V_{1b} -selektivní antagonistu $dp[\text{Tyr}(\text{Me})^2]\text{AVP}$; a V_2 -selektivní antagonisté $\text{des-Gly-NH}_2^9\text{-d}(\text{CH}_2)_5[\text{D-Ile}^2, \text{Ile}^4]\text{AVP}$, a $\text{d}(\text{CH}_2)_5[\text{D-Ile}^2, \text{Ile}^4, \text{Ala-NH}_2^9]\text{AVP}$.

Pentagastrin se používá jako indikátor žaludeční sekrece a má vzorec: $\text{N-terc.butyloxykarbonyl-}\beta\text{-Ala-Trp-Met-Asp-Phe-NH}_2$.

Oktreotid je syntetický analog somatostatinu a je vhodný při léčbě symptomů tumorů gastrointestinálního traktu, průjmu odolávajícího jiné léčbě, různých poruch motility a krvácení do gastrointestinálního traktu. Oktreotid je dostupný jako acetát a pamoát a má vzorec: $\text{L-cysteinamid-D-Phe-L-Cys-L-Phe-D-Trp-L-Lys-L-Thr-N-[2-hydroxy-1-(hydroxymethyl)propyl]-}$, cyklický (2→7) disulfid, $[\text{R}-(\text{R}^*, \text{R}^*)]\text{-}$.

Pro klinické použití bylo povoleno více prostředků obsahujících protilátky s imunosupresivním účinkem. Pokročilá hybridomní technologie umožňuje výrobu těchto protilátek ve velkých množstvích z kontinuálně kultivovaných buněk generujících vysoce čisté a specifické protilátky používané jako standardizovaná farmakologická činidla. Mezi uvedené protilátky patří antithymocytový globulin; monoklonální protilátka muromonab-CD3; a imunoglobulin $\text{Rh}_0(\text{D})$. Proteinová imunostimulancia vhodná k použití při léčbě imunodeficitních stavů zahrnují imunoglobulin.

Cytokiny jsou skupina různých proteinů produkovaných leukocyty a příbuznými buňkami, které mají různé imunoregulační vlastnosti. Hlavní obecně známé cytokiny zahrnují: interferony, faktory stimulující kolonie a interleukiny. Specifické příklady těchto tříd zahrnují α -interferon; interferon- γ (IFN- γ); faktor pro stimulaci granulocytových kolonií (G-CSF); faktor stimulující

granulocytové/makrofágové kolonie (GM-CSF); a interleukin-1 (IL-1) až interleukin 12 (IL-12).

Hematopoetické růstové faktory tvoří skupina glykoproteinů podobných hormonům, které jsou zahrnuté v regulačním procesu kontinuální náhrady zralých krevních buněk. Klinické aplikace těchto proteinů zahrnují léčbu primárních hematologických chorob a použití ve formě přídatných prostředků při léčbě těžkých infekcí a jako prostředky léčebné péče pro pacienty po chemoterapii nebo po transplantaci kostní dřeně. Specifické příklady těchto růstových hormonů zahrnují erythropoetin (EPO); faktor kmenových buněk (SCF); interleukiny (IL-1-12); faktor stimulující monocytové/makrofágové kolonie (M-CSF, CSF-1); PLXY321 (GM-CSF/IL-3 fúzní protein); a trombopoetin.

Trombolytika jsou vhodná pro rozpouštění patologických trombů a fibrinových depozit v místech vaskulárního poškození, a zahrnují proteiny jako je streptokinasa; tkáňový aktivátor plasminogenu (t-PA); a urokinasa.

Hormony předního laloku hypofýzy a faktory hypothalamu které je regulují, jsou rovněž proteiny mající terapeutické použití. Hormony předního laloku hypofýzy se rozdělují do třech skupin zahrnujících: a) somatotropní hormony včetně růstového hormonu (GH), prolaktin (Prl), placentární laktogen (PL); b) glykoproteinové hormony zahrnující luteinizační hormon (LH), folikuly stimulující hormon (FSH) a tyreotropní hormon (TSH); a c) hormony odvozené od POMC zahrnující kortikotropin (ACTH), α -melanocyty stimulující hormon (α -MSH), β -melanocyty stimulující hormon (β -MSH), β -lipotropin (β -MSH), a γ -lipotropin (γ -LPH). Faktory hypothalamu regulující uvolňování uvedených hormonů zahrnují hormon uvolňující

růstový hormon (GHRH), hormon uvolňující luteinizační hormon (LHRH), růstový faktor s účinky blízkými insulinu (IGF-1 a IGF-2), somatostatin a faktor uvolňující gonadotropin (GnRH).

Růstový hormon se používá při substituční terapii u dětí s deficitem růstového hormonu. Somatostatin je produkt hypothalamu inhibující růstový hormon který však má krátký poločas. Jeho syntetický analog, oktreotid, již podrobněji popsán výše, se používá k léčbě akromegálie vyvolané nadměrnou sekrecí růstového hormonu. Gonadotropní hormony zahrnující LH, FSH a choriový gonadotropin (GC) se používají jako diagnostické prostředky. GC se používá ke stanovení těhotenství, zatímco LH a FSH se používají pro diagnózu těžkých poruch reprodukce. Uvedené proteinové gonadotropiny se rovněž používají jako terapeutické prostředky při léčbě neplodnosti. Například urofolitropin je lidský menopauzní gonadotropinový (hMG) nebo menotropinový přípravek kde většina LH byla odstraněna, má tak především účinky FSH. Urofolitropin se používá pro indukci ovulace. Gonadorelin, je přípravek obsahující syntetický lidský GnRH vhodný pro stimulaci sekrece gonadotropinu. Na druhé straně agonisty GnRH zahrnující například leuprolid, histrelin, nafarelin, a goserelin, lze použít k léčbě různých endokrinních chorob, které reagují na redukci gonádních steroidů.

Funkci štítné žlázy řídí tyreotropní hormon (TSH), glykoprotein, jehož sekreci řídí hormon uvolňující tyreotropní hormon (TRH), TSH se terapeuticky používá v náhradní hormonální terapii u pacientů s hypotyreózou a u pacientů při TSH supresivní terapii trpících netoxickou strumou nebo po léčbě rakoviny štítné žlázy;

Protein insulin je hlavní prostředek při léčbě prakticky všech pacientů trpících insulin-dependentním diabetem a

v mnoha případech u pacientů trpících insulin-nondependentním diabetes mellitus (NIDDM). Používají se rovněž syntetické analogy insulinu, které se rychleji vstřebávají při subkutánním podání. K pomalému uvolňování insulinu, které probíhá několik dní nebo týdnů byly navrženy implatovatelné pelety. Glukagon je protein, který má významnou fyziologickou úlohu v řízení metabolismu glukosy a ketonů v těle a je vhodný pro léčbu těžké hypoglykémie a v rentgenologii má inhibiční účinky na gastrontestinální trakt. Somatostatin, který byl již uveden výše, je hormon s krátkým biologickým poločasem který má omezené použití především při blokování uvolňování hormonů v tumorech s endokrinní sekrecí zahrnujících insulinomy, glukagonomy, VIPomy, karcinoidní tumory a somatotropinomy. Jeho syntetický analog je oktreotid, který má déle působící účinek a častější terapeutické použití.

Kalcitonin (CT), je hormon působící specificky na osteoklasty a tím inhibující kostní resorpci, který je vhodný k řízení hyperkalcémie. CT je také účinný u chorob charakterizovaných zvýšenou přeměnou kostí zahrnujících Pagetovu chorobu. Hormon příštítných tělísek (PTH), má potenciální hodnotu při léčbě pacientů trpících spinální osteoporózou.

Aldesleukin, 125-L-serin-2-133-interleukin 2, se používá jako antineoplastikum a jako imunostimulační prostředek.

Alglucerasa, je monomerní glykoprotein o 497 aminokyselinách a je to modifikovaná forma lidské placentární β -glukocerebrosidasy, a používá se jako doplňující zdroj enzymu glukocerebrosidasy.

Alsaktid je syntetický analog kortikotropinu, 1- β -Ala-17[L-2,6-diamino-N-(4-aminobutyl)hexanamid]- α^{1-17} -kortikotropin.

Alteplasa je serinová proteasa o 527 aminokyselinách jejichž sekvence je totožná s přirozeně se vyskytující proteasou produkovanou endotheliálními buňkami v cévních stěnách, a používá se jako aktivátor plasminogenu.

Alvircept sudotox je syntetický chimerický protein navržený tak, že spojuje prvních 178 aminokyselin extracelulární domény CD₄ přes dva spojovací zbytky k aminokyselinám 1-3 a 253-613 Pseudomonas exotoxinu A, a používá se jako antivirový prostředek.

Amlintid, protein o 37 aminokyselinách se používá jako antidiabetikum.

Amogastrin je N-karboxy-L-Trp-L-Met-L- α -Asp-3-fenyl-L-alaninamid.

Anakinra je N²-L-Met antagonist receptoru interleukinu 1, je vhodný jako nesteroidní protizánětlivý prostředek a jako supresivum při léčbě zánětlivého onemocnění střev.

Anaratid-acetat je atriopeptin 21 (krysí), N-L-Arg-8-L-Met-21a-L-Phe-21b-L-Arg-21-c-L-Tyr-, acetat, který se používá jako antihypertenzní prostředek a jako diuretikum.

Angiotensin-amid je angiotensin II, 1-L-Asn-5-L-Val-, a používá se jako vazokonstriktor.

Aprotinin je inhibitor pankreatického trypsinu obsahující obsahující 58 aminokyselin, který se používá jako inhibitor enzymu (proteiny).

Arfalsin je 1-sukcinamová kyselina-5-L-Val-8-(L-2-fenylglycin)angiotensinu II, a používá se jako antihypertenzní prostředek.

Argipressin-tannat je vasopresin, 8-L-Arg-, tannat, a používá se jako antidiuretikum.

Aspartocin je antibiotikum produkované *Streptomyces griseus* a je to oxytocin 4-L-Asn-.

Atosiban je oxytocin, 1-(3-merkaptopropanová kyselina)-2-(O-ethyl-D-Tyr)-4-L-Thr-8-L-Orn-, používaný jako antagonist oxytocinu.

Avoparcin je glykopeptidové antibiotikum získané z *Streptomyces candidus*.

Basifungin je fungicidní prostředek mající vzorec
N-[(2R,3R)-2-hydroxy-3-MeVal]-N-L-MeVal-L-Phe-N-L-MePhe-L-Pro-L-allo-Ile-N-L-MeVal-L-Leu-3-hydroxy-N-L-MeVal, α_1 -lakton.

Bekaplermin je rekombinantní z lidských krevních destiček odvozený růstový faktor B, produkovaný geneticky zpracovanými *Saccharomyces cerevisiae*, který má podobné složení aminokyselin a podobnou aktivitu jako endogenní lidský PDGF-BB homodimer, a používá se pro léčbu chronických dermálních vředů podporou proliferace buněk mesenchymálního původu.

Bivalirudin je antikoagulační, antitrombotický prostředek obsahující 20 aminokyselin.

Karbetocin je 1-butyrová kyselina-2-[3-p-methoxyfenyl)-L-Ala]oxytocin.

Kargutocin je 1-butyrová kyselina-6-(L-2-aminobutyrová kyselina)-7-glycinoxytocin.

Ceruletid je prostředek stimulující sekreci žaludeční šťávy vzorce 5-O-L-Pro-L-Gln-L- α -Asp-L-O-sulfo-L-Tyr-L-Thr-L-Gly-L-Trp-L-Met-L- α -Asp-L-Phe-amid.

Cetermin je transformační lidský růstový faktor β 2, obsahující 122 aminokyselin.

Cilmostim, 1-233 kolonie stimulující faktor 1 (lidský klon p3ACSF-69 proteinová skupina), cyklický (7 $\rightarrow$ 90), (48 $\rightarrow$ 139), (102 $\rightarrow$ 146)-tris(disulfid)-dimer, používaný jako hematopetikum (faktor stimulující makrofágové kolonie).

Kolistimethat sodný, složka kolistinu A vhodná jako antibakteriální prostředek.

Ovčí kortikorelin, trifluoracetatová sůl, faktor uvolňující kortikotropin (ovčí), trifluoracetatová sůl, používaný jako diagnostický prostředek adrenokortikální nedostatečnosti a Cushingova syndromu a jako hormon uvolňující kortikotropin.

Kosyntropin je tetrakosid-acetat, α^{1-24} -kortikotropin, používaný jako adrenokortikotropní hormon.

Cyklosporin je cyklický protein obsahující 11 aminokyselin a 3-hydroxy-4-methyl-2-(methylamino)-6-oktenylovou skupinu v poloze 6, a používá se jako imunosupresivní prostředek.

Daklirimab (Ro-24-7375), je humanizovaná anti-TAC monoklonální protilátka obsahující čtyři subjednotky připojené přes disulfidové můstky a má molekulovou hmotnost asi 150 kD, a používá se jako imunosupresivní prostředek. Podobný imunosupresivní protein je daklizumab.

Daptomycin je proteinový antimikrobiální prostředek.

Desirudin je 63-desulfohirudin z *Hirudo medicinalis*, obsahující 63 aminokyselin, který se používá jako antikoagulační prostředek.

Deslorelin je faktor uvolňující luteinizační hormon (prasečí) obsahující 9 aminokyselin, a používá se jako agonista LHRH.

Desmopresin-acetat je vasopresin, 1-(3-merkaptopropanová kyselina)-8-D-Arg-, monoacetatová sůl, trihydrat, obsahující 9 aminokyselin, který se používá jako antidiuretikum.

Detirelix-acetat obsahuje 10 aminokyselin a používá se jako LHRH antagonist.

Dumorelin je 27-L-Leu-44a-Gly hormon uvolňující růstový hormon (lidský).

Elkatonin je 1-butyrová kyselina-7-(L-2-aminobutyrová kyselina)-26-L-Asp-27-L-Val-29-L-Ala kalcitonin (lososí).

Emoktakin je interleukin 8 (lidský) obsahující 72 aminokyselin s dvěma Cys můstky.

Epoetin-alfa je glykoprotein obsahující 165 aminokyselin regulující tvorbu červených krvinek, který je produkován ovariálními buňkami čínského křečka s insertovaným genem lidského erythropoetinu. Používá se jako antianemikum a prostředek podporující tvorbu krve.

Ersofermin je rekombinantní lidský základní fibroblastový růstový faktor (bFGF) obsahující 157 aminokyselin, neglykosylovaný lidský placentární protein, klonovaný a exprimovaný E.coli. Používá se jako prostředek pro hojení ran.

Felypresin je vasopresin, 2-L-Phe-8-L-Lys, obsahující 9 aminokyselin, který se používá jako vasokonstrikční prostředek.

Filgrastim je polypeptid s jednoduchým řetězcem obsahujícím 175 aminokyselin, neglykosylovaný a exprimovaný E.coli, který se používá jako antineutropenní prostředek a hematopoetický stimulační prostředek.

Glukagon je protein s jednoduchým řetězcem o 29 aminokyselinách, který se používá jako antidiabetikum.

Gonadorelin-acetat je diacetatová sůl hormonu uvolňujícího luteinizační hormon obsahující 10 aminokyselin, který se používá gonádostimulační prostředek.

Goserelin je hormon uvolňující luteinizační hormon (prasečí) obsahující 9 aminokyselin, který se používá jako agonista LHRH.

Histrelin je hormon uvolňující luteinizační hormon (prasečí) obsahující 9 aminokyselin, který se používá jako agonista LHRH.

Imiglucerasa je 495-L-histidinglukosylceramidasový proteinový placentární isoenzym, vhodný jako enzymový doplněk glukocerebrosidasy.

Insulin dealaninovaný je derivát insulínu připravený odstraněním C-terminálního alaninu z B-řetězce insulínu, který se používá jako antidiabetikum.

Interferon alfa-2a je interferon αA (redukováná lidská leukocytová proteinová část), obsahující 165 aminokyselin, který se používá jako antineoplastikum a jako modifikátor biologické odezvy. Interferon alfa-2b je interferon $\alpha 2b$ (redukováný lidský leukocytový proteinový klon Hif-SN206) obsahující 165 aminokyselin, rovněž používaný jako antineoplastikum a jako modifikátor biologické odezvy. Interferon beta-1a je glykosylovaný polypeptid obsahující 166 aminokyselinových zbytků, který je produkován ovariálními buňkami čínského křečka s vneseným genem pro lidský interferon beta, který se rovněž používá jako antineoplastikum a jako modifikátor biologické odezvy. Interferon beta-1b je neglykosylovaný polypeptid obsahující 165 aminokyselinových zbytků který je produkován E.coli, a který se rovněž používá jako imunomodulátor. Interferon gama-1b je 1-139 interferon γ (redukováná lidská lymfocytová proteinová část), N^2 -L-Met, který se rovněž používá jako antineoplastikum a jako imunomodulátor.

Iroplakt je N-methionyl-faktor 4 krevních destiček (lidská subjednotka) obsahující 71 aminokyselinových zbytků s dvěma Cys můstky.

Lanoteplasa, je proteinový aktivátor tkáňového plasminogenu odvozený z lidského t-PA vynecháním domén podobných fibronektinu a EGF a mutací Asn 117 na Gln 117. Tento protein je produkován expresí DNA sekvence kódující peptidovou sekvenci v savčích hostitelských buňkách a je vhodný jako aktivátor plasminogenu a jako trombolytický prostředek.

Lanreotid-acetat obsahuje 8 aminokyselin a jeden disulfidový můstek a je vhodný jako antineoplastikum.

Lenograstim je glykoprotein obsahující 174 aminokyselinových zbytků produkováný v ovariálních buňkách čínské křečka expresí lidské c-DNA pro faktor stimulující granulocytové kolonie z mRNA buněčné linie dlaždicových buněk lidské dutiny ústní. Tento protein se používá jako antineutropenní prostředek a jako hematopoetický stimulační prostředek.

Lutrelin-acetat je hormon uvolňující luteinizační hormon (prasečí) obsahující 9 aminokyselin, který se používá jako agonista LHRH.

Molgramostin je faktor 2 pro stimulaci tvorby kolonií (redukovaný lidský klon pHG₂₅, proteinová část) obsahující 127 aminokyselin, který se používá jako antineutropenní prostředek a jako hematopoetický stimulační prostředek.

Murodermin je epidermální růstový faktor (myši slinné žlázy).

Nafarelin-acetat je hormon uvolňující luteinizační hormon (prasečí) obsahující 9 aminokyselin, který se používá jako agonista LHRH.

Nagrestipen je 26-L-alaninlymfokin MiP 1 α (lidský klon pAT 464 zánětlivého makrofágu) obsahující 69 aminokyselin obsahující dva disulfidové můstky.

Pepstatin je N-(3-methyl-1-oxobutyl)-L-Val-L-Val-4-amino-3-hydroxy-6-methylheptanoyl-L-Ala-4-amino-3-hydroxy-6-methylheptanová kyselina, který se používá jako inhibitor enzymu pepsinu.

Pramlintid je protein obsahující 37 aminokyselin a jeden disulfidový můstek, a používá se jako antidiabetikum;

Lidský proinsulin je proinsulin (prasečí) obsahující 86 aminokyselinových zbytků a tři disulfidové můstky, který se používá jako antidiabetikum.

Sagramostim je faktor 2 pro stimulaci kolonií (lidský klon pHG25 proteinová část), 23-L-Leu-, jednoduchý řetězec, glykosylovaný polypeptid obsahující 127 aminokyselinových zbytků exprimovaný *Saccharomyces cerevisiae*, který se používá jako antineutropenní prostředek a jako hematopoetický stimulační prostředek.

Somagrebov je somatotropin (hovězí redukovaný), 1-[N²-L-Met- α -Asp-L-glutamin]-, obsahující 191 aminokyselin, který se používá jako galaktopoetický prostředek zejména pro veterinární použití.

Somalapor je somatotropin (prasečí klon pPGH-1 redukovaný), N-L-alanyl-růstový hormon obsahující 191 aminokyselin, který se používá jako hormon (růstový, prasečí).

Somatrem je somatotropin (lidský), N-L-Met- obsahující 191 aminokyselin a obsahující dva disulfidové můstky, který se používá růstový hormon.

Somatotropin který je někdy nazývaný jako adenohypofyzární růstový hormon, GH, hypofyzární hormon, hormon předního laloku hypofýzy, hypofyzární růstový hormon a somatotropní růstový hormon, je druh specifického anabolického proteinu podporujícího somatický růst, stimulujícího syntézu proteinů a regulujícího metabolismus glycidů a lipidů. Somatotropin je vylučován předním lalokem hypofýzy za regulace hormony hypothalamu kterými jsou somatoliberin a somatostatin. Somatotropní růstové hormony z různých druhů se liší sekvencí aminokyselin, antigenicitou, isoelektrickým bodem a druhy zvířat u kterých produkují biologickou odezvu.

Lidský somatotropin je jednoduchý polypeptidový řetězec obsahující 191 aminokyselin s obvyklou strukturou hlavního růstového stimulačního hormonu získaného z předního laloku lidské hypofýzy, který se používá jako růstový hormon. Somatotropin je rovněž dostupný v rekombinantní formě. Výraz "somatotropin" použitý v tomto popisu zahrnuje jak přirozeně se vyskytující tak syntetické, včetně rekombinantních somatotropinů odvozených od lidských a zvířecích somatotropinů (růstových hormonů), zejména hovězích a vepřových somatotropinů. Methionylovaný lidský růstový hormon, $C_{995}H_{1537}N_{263}O_{301}S_8$, je produkován bakteriemi s rekombinovanou DNA a obsahuje úplnou sekvenci aminokyselin jako v přirozeném hormonu a navíc N-terminální methionin.

Jsou známe čtyři přirozeně se vyskytující molekulární varianty hovězího somatotropinu, z nichž jeden je známý jako somavubov. Některé varianty byly připraveny technologií rekombinace DNA, a zahrnují somagrebov, $C_{987}H_{1550}N_{268}O_{291}S_9$; sometribov, $C_{978}H_{1537}N_{265}O_{286}S_9$; a somidobov, $C_{1020}H_{1596}N_{274}O_{302}S_9$,

Některé varianty přirozeně se vyskytujícího vepřového somatotropinu byly připraveny technologií rekombinace DNA, a zahrnují somalapor, $C_{977}H_{1527}N_{265}O_{287}S_7$; somenopor, $C_{938}H_{1469}N_{255}O_{275}S_7$; sometripor, $C_{979}H_{1527}N_{265}O_{287}S_8$; somfasepor, $C_{938}H_{1465}N_{257}O_{278}S_6$.

Somavubov je somatotropin (hovězí), 127-L-Leu, jeden ze čtyř přirozeně se vyskytujících strukturně molekulových variant hovězího hypofyzárního somatotropinu, který se používá jako galaktopoetický prostředek.

Somenopor je somatotropin (redukovaný prasečí klon pPGH-1), N-L-Ala-32-de-L-Glu-33-de-L-Arg-34-de-L-Ala-35-de-L-Tyr-36-de-L-Ile-37-de-L-Pro-38-de-L-Glu- obsahující 190 aminokyselin, který se používá jako vepřový růstový hormon.

Sometribov je somatotropin (hovězí), 1-L-Met-127-L-Leu- obsahující 191 aminokyselin, který se používá ve veterinářství jako stimulační prostředek růstu.

Sometripor je rekombinantní prasečí somatotropin $C_{979}H_{1527}N_{265}O_{287}S_8$.

Somfasepor je prasečí rekombinantní somatotropin $C_{938}H_{1465}N_{257}O_{278}S_6$.

Somidobov je hovězí rekombinantní somatotropin $C_{1020}H_{1596}N_{274}O_{302}S_9$.

Teprotid je potenciátor bradykininu B, 2-L-Trp-3-de-L-Leu-4-de-L-Pro-8-L-glutamin obsahující 9 aminokyselin, který se používá jako inhibitor enzymu konvertujícího angiotenzin.

Teriparitid je protein obsahující 34 aminokyselin, který se používá jako inhibitor kostní resorpce a podpůrný prostředek v terapii osteoporózy.

Thymalfasin je thymosin $\alpha 1$ (hovězí) obsahující 28 aminokyselin, který se používá jako antineoplastikum, při léčbě hepatitidy a infekčních chorob a jako prostředek zvyšující účinnost vakcinace;

Thymopentin je pentapeptid, který se používá jako imunoregulátor.

Triptorelin je faktor uvolňující luteinizační hormon (prasečí), 6-D-Trp obsahující 10 aminokyselin, který se používá jako antineoplastikum.

Vapreotid obsahuje 8 aminokyselin a jeden disulfidový můstek, a používá se jako antineoplastikum.

Vasopresin ve formě 8-L-Arg- nebo 8-L-Lys-, obsahující 9 aminokyselin a jeden disulfidový můstek, který se používá jako antidiuretický hormon.

Trvalý rozvoj biotechnologického průmyslu a používání biotechnologických prostředků a způsobů ve výzkumu přináší další a jiné typy terapeutických prostředků proteinového typu, které se povolují pro klinické zkoušky a nakonec pro uvedení na trh. V úvahu přicházejí například následující proteinové

prostředky: myoglobin; hemoglobin; β -laktoglobulin; imunoglobulin-G (IgG); antihemofilický faktor (faktor VIII); lysozym; ubichitin; faktor aktivující krevní destičky (PAF); tumor necrosis faktor- α (TNF- α); tumor necrosis faktor- β (TNF- β); makrofágový zánětlivý protein (MIP); heparin; a eosinofilní kationtový protein (ECP). Mezi další léčiva proteinového typu povolená v poslední době patří růstový faktor krevních destiček, rekombinantní faktor IX a monoklonální protilátka pro ne Hodgkinský B-buněčný lymfom; zlepšený interferon alfa, vhodný pro léčbu hepatitidy C; a umělá kůže na základě fibroblastů pro léčbu ran spálenin.

Po výše uvedeném podrobném popisu výchozích složek používaných ve způsobech přípravy podle vynálezu, zahrnujících výše uvedený způsob kondenzace, je v níže uvedených odstavcích podrobně popsán vlastní způsob přípravy podle vynálezu.

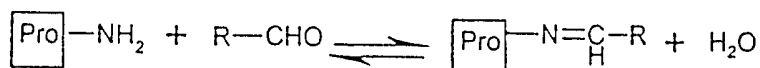
Způsoby přípravy podle vynálezu se připraví nové zlepšené konečné kondenzační adukty, které jsou Schiffovými bazemi, jak je popsáno níže. V uvedených způsobech se nejprve připraví reakční směs obsahující protein a aromatický o-hydroxyaldehyd jako výchozí složky reakce. Tato reakční směs se připraví uvedením proteinové složky reakce a aromatického o-hydroxyaldehydu jako výchozí složky reakce do dokonalého vzájemného styku ve vodném prostředí.

Výrazy "výchozí reaktant", "složka reakce", a "reaktant" použité v tomto popise označují proteinovou složku reakce reakce a aromatický o-hydroxyaldehyd jako složku reakce kterou vzniká kondenzační adukt ve formě Schiffovy baze.

Výraz "ve vodném prostředí" znamená, že rozpouštědlem pro reakční směs je voda a voda je rovněž tvoří reakční prostředí

ve kterém reakce probíhá. Voda která vzniká v průběhu kondenzační reakce je tak rovněž nerozlišitelnou součástí uvedeného "vodného prostředí".

Po spojení výchozích složek reakce do formy reakční směsi, ihned začne probíhat způsob přípravy podle vynálezu zahrnující kondenzační reakci s tvorbou Schiffovy baze. Výraz "kondenzační reakce s tvorbou Schiffovy baze" použitý v tomto popise znamená reakci v oboru organické chemie a syntézy organických sloučenin dobře známou. Základní schéma kondenzační reakce tvořící Schiffovu bazi lze znázornit následovně:



kde

$\boxed{\text{Pro}}$ = protein ve formě fragmentu, protože nejméně jedna aminokyselina proteinu obsahuje primární aminoskupinu, která je připojená, jak je znázorněné, k fragmentu proteinu. Důležité je uvědomit si, že kondenzační reakce vedoucí k aduktu tvořenému Schiffovou bází je rovnovážná reakce, a může rovněž vést k separaci aduktu na složky ze kterého adukt vzniká, a že rychlost této rozkladné reakce může být větší než základní reakce vedoucí ke tvorbě kondenzačního aduktu.

Kondenzační způsob v přípravě podle vynálezu probíhá s v podstatě úplným průběhem. Výraz "v podstatě úplný průběh" použitý v tomto textu znamená, reakce je kvantitativní, tj. probíhá s úplným nebo téměř úplným kvantitativním průběhem. Kvantitativní průběh kondenzační reakce ve způsobu přípravy

podle vynálezu se zajistí odstraněním od asi 97,0 % do asi 99,9 % hmotnostních, výhodně od asi 98,0 % do asi 99,0 % hmotnostních vody již přítomné nebo vzniklé při uvedené kondenzační reakci, při zajištění integrity reakčních složek kondenzační reakce a konečného aduktu, a zajištění potřebného stupně konverze na konečný adukt vzniklý kondenzací, tj. zajištění výsledného výtěžku uvedeného kondenzačního aduktu rovného nebo většího než asi 98,5 % hmotnostních, výhodně rovného nebo většího než asi 99,5 % hmotnostních vztažených na hmotnost reaktantů.

Výraz "způsob přípravy" použitý v tomto textu ve spojení s provedením podle vynálezu zahrnuje kondenzační reakci tvořící Schiffovu bazi a rovněž kroky zahrnuté v uvedené přípravě vedoucí k posunu uvedené reakce ve směru jejího úplného průběhu. Uvedená druhá část celkové přípravy se realizuje odstraňováním v podstatě veškeré vody z vodného prostředí reakční směsi.

Podmínky ve výše uvedeném způsobu přípravy, které účinně vedou k posunu uvedené kondenzační reakce v podstatě k úplnému průběhu zahrnují podmínky, které převádějí vodu přítomnou v kapalně fázi do plynné nebo do pevné fáze, a tím ji odstraňují z vlastního prostředí uvedené kondenzační reakce. Uvedené podmínky použité ve způsobu podle vynálezu musí být rovněž charakterizované přizpůsobitelností, tj. schopností snadného a účinného přizpůsobení při zvětšení měřítka výroby, a reprodukovatelností, tj. aby umožňovaly postupná provedení bez významných odchylek konečného výsledku. Protože reakční směs ve svém vodném rozpouštědle je při teplotě místnosti nebo při teplotách vyšších ale pod teplotou varu vody, obsažená voda bude přirozeně v kapalně fázi. Aby bylo možné vést reakci až k úplnému průběhu, musí být zcela a rychle odstraněna

z bezprostředního kontaktu s reakční směsí. Tento krok nelze provést jednoduchým oddělením konečného kondenzačního aduktu od vodného rozpouštědla a odstraněním uvedeného rozpouštědla. Tento přístup vylučuje skutečnost, že jde o rovnovážnou reakci a že produkt nevzniká ve vysrážené formě.

Ve způsobech podle vynálezu se k provedení tohoto kroku používají dva přístupy. Při provedení podle jednoho přístupu se voda převede na páru nebo plyn a odstraní se například pomocí sušení rozprašováním, přičemž provedení tímto způsobem se označuje jako provedení při teplotách nad 0 °C. Při provedení podle druhého přístupu se voda převede do pevného stavu a odstraní se například lyofilizací, přičemž provedení tímto způsobem podle vynálezu se označuje jako provedení při teplotách 0 °C nebo nižších.

Při použití prvního přístupu ve způsobu podle vynálezu je k odstranění přítomné vody potřebné ji převést z kapalné fáze do formy plynu nebo páry. Tento stupeň se obvykle provede poměrně rychle. Převod vody z kapalné fáze do plynné nebo parní fáze zahrnuje odpaření vody. V důsledku toho je nutné do procesu přivádět energii, odpovídající skupenskému teplu odpařování (LHE) vody, což je množství tepelné energie přijaté jednotkou hmotnosti vody při přechodu vody z kapalného stavu do plynného stavu. Množství potřebné energie lze vypočítat z rovnice: $LHE = 0,02T^2/E$, kde T znamená absolutní teplotu varu vody a E je molekulární zvýšení teploty varu roztoku. Příbuznou hodnotou je specifické skupenské teplot odpařování (SLHV), které odpovídá počtu joulů potřebných k převedení 1 gramu dané složky z kapalné fáze do plynné fáze bez změny teploty. Pro vodu při 100 °C je výše uvedená hodnota 2257 J.

Způsob přípravy podle vynálezu se provádí za podmínek, které jsou optimální k využití energie pro potřebné, co

nejúčinnější oddělení vody z uvedeného vodného prostředí ve kterém probíhá kondenzační reakce, včetně vody vzniklé samotnou kondenzační reakcí, od výchozích složek a konečného kondenzačního aduktu.

Výraz "vstupní energie procesu" použitý v tomto textu zahrnuje všechny formy energie, samostatně a společně, a jejich použití ve způsobu podle vynálezu, při kterém voda ve vodném prostředí se převede z kapalné fáze do plynné nebo do pevné fáze. Tento výraz jako jedno z prvních zahrnuje atomové teplo, což je množství tepelné energie potřebné ke zvýšení teploty jednoho gramu vody z $0\text{ }^{\circ}\text{C}$ na $1\text{ }^{\circ}\text{C}$. Blízký výraz zahrnuje molární teplo, což je množství tepelné energie potřebné ke zvýšení teploty jednoho molu vody o $1\text{ }^{\circ}\text{C}$, tj. specifické teplo $\times$ molekulová hmotnost. Tento podíl vstupní energie zvýší teplotu reakční směsi a vodného prostředí ve kterém je obsažená na požadovanou hodnotu.

Další podíl vstupní energie je nutný dodat jako skupenské teplo odpařování, jak je podrobněji uvedeno výše. Potom je zapotřebí vynaložit na reakční směs obsaženou ve vodném prostředí mechanickou energii k přechodu na stupeň zahrnující sušení rozprašováním, ve kterém dochází k úplnému odpaření vody. Podmínky, které jsou optimální pro vstup energie při provedení způsobu podle vynálezu při teplotách nad $0\text{ }^{\circ}\text{C}$ tedy zahrnují:

a) zahřívání uvedené reakční směsi v uvedeném vodném prostředí na nejvyšší teplotu, při které je zachována integrita vstupní proteinové složky a rovněž konečného kondenzačního aduktu, která rovněž odpovídá optimálním účinnostem a výrobním nákladům pro provedení uvedeného způsobu přípravy ve kterém je zahrnuta uvedená kondenzační reakce.

Výraz "integrita proteinové výchozí složky reakce a konečného aduktu vzniklého kondenzační reakcí" použitý v tomto textu v souvislosti s použitými teplotami znamená hlavně to, že proteinová složka zahrnutá ve výchozích složkách reakce a/nebo její produkty nepodlehnu žádně významné degradaci vlivem zahřívání, tj. denaturaci, jejímž následkem by byla případná ztráta biologické aktivity, nebo která by mohla interferovat s uvolňováním, zejména s řízeným uvolňováním konečného produktu z míst podání, například ze subkutánních nebo parenterálních pevných pelet s prodlouženým uvolňováním.

Výraz " optimální účinnosti a ekonomické provedení" uváděný při popisu provedení podle vynálezu zahrnujícího kondenzační reakci znamená, že při výběru teploty reakční směsi a dalších parametrů použitých v popsaném způsobu zpracování je nutné provést patřičnou úvahu vedoucí k tomu, aby postup byl proveden s ohledem na nejvyšší možnou účinnost postupu a stejně tak způsobem umožňujícím aby konečný produkt byl připraven s nejnižšími náklady konsistentními s ostatními zvolenými parametry. Výběr parametrů postupu, které poskytují nejvyšší výtěžek konečného produktu tak závisí na tom, zda tyto parametry jsou souměřitelné s dalšími parametry postupu vedoucími ke kvalitě produktu a na tom zda výsledný postup patří mezi způsoby s výhodným ekonomickým hodnocením poskytujícím nejlepší výsledky. Pracovníkům v oboru je tento způsob, jak vyvážit tyto požadavky tak, aby bylo možné dosáhnout co nejlepší výsledky v rámci celého procesu, dobře známý.

Jestliže se vezmou v úvahu všechny uvedené možnosti mající dopad na celkový výsledek procesu, tak obvykle se reakční směs zahřívá na teplotu od 25 °C do 125 °C, výhodně na

teplotu od 40 °C do 120 °C, ještě výhodněji na teplotu od 50 °C do 115 °C, ještě více výhodněji na teplotu od 60 °C do 110 °C a nejvýhodněji na teplotu od 75 °C do 105 °C, přičemž vodné prostředí se udržuje je-li to zapotřebí v kapalně fázi pomocí zvýšeného tlaku. Dosažení teplot nad teplotu varu vody za podmínek místnosti, tj. 100 °C, za uchování vodného prostředí v kapalně fázi se docílí použitím zvýšených tlaků.

Další stupeň způsobu přípravy podle vynálezu při kterém je teplota nad 0 °C zahrnuje:

b) další rozdělení uvedené reakční směsi v uvedeném vodném reakčním prostředí do co nejmenších kapek, které je konsistentní se zachováním integrity výchozí proteinové reagující složky a konečného kondenzačního aduktu, a je rovněž konzistentní s optimální účinností a ekonomickým provedením uvedeného způsobu přípravy, který zahrnuje uvedenou kondenzační reakci.

V souvislosti s výše uvedeným stupněm zpracování, zachování integrity proteinu závisí v určité míře na velikosti použitého proteinu. Vhodné průměrné velikosti kapek v tomto stupni je tedy možné u velmi velkých proteinů modifikovat směrem k větším velikostem. Obvykle se však reakční směs v uvedeném vodném prostředí dělí na kapky mající střední velikost od 1,0 μm do 5,0 mm, výhodně od 10 μm do 1,0 mm, ještě výhodněji od 100 μm do 900 μm , ještě více výhodněji od 200 μm do 800 μm , a nejvýhodněji od 300 μm do 700 μm .

Způsob přípravy podle vynálezu zahrnuje provedení, při kterém se uvedené výchozí složky reakce uvedou do dokonalého vzájemného styku ve formě kapek, tj. k tvorbě uvedeného kondenzačního aduktu dochází bezprostředně před nebo

v podstatě současně s dispergací uvedeného konečného produktu do formy kapek. Dokonalé smísení uvedených výchozích složek ve formě kapek se docílí mechanickým účinkem který postačuje k tomu, aby výchozí složky se dostaly do vzájemného těsného styku a současně aby nedošlo k mechanické degradaci proteinové složky uvedeného kondenzačního aduktu. Výběr konkrétního mísícího zařízení je v možnostech zkušeností pracovníka zkušeného v oboru s podporou popisu v této přihlášce zahrnujícího různé parametry, které je zapotřebí vzít v úvahu.

Mezi nejdůležitější z těchto faktorů patří podstata proteinové složky použité v reakci a velikost smykového napětí které se může ve vodném roztoku vyskytovat dříve než vyvolá degradaci struktury uvedené proteinové složky. Tento vliv lze snadno stanovit použitím rutinních testů pro hodnocení integrity struktury jako je elektroforesa, které jsou vhodné ke zjištění účinků zvoleného mísícího zařízení na integritu uvedeného proteinu pokud toto zařízení nějaký vliv má. Uvedené rutinní testy mohou být nutné, protože odolnost daného proteinu vůči mechanickému smykovému napětí ve vodném roztoku není převážně a jasně předvídatelná díky schopnosti velkých peptidů umožňujících vícenásobné svinutí, což může tvořit prvky jejich strukturální stability. Na druhé straně je možné se výše uvedeným problémům vyhnout výběrem mechanického mísícího zařízení s mírným účinkem. Výběr zařízení zaměřený na omezení významných hodnot smykových napětí v roztoku tak často může zabránit potřebě provedení výše uvedených testů.

Pracovníkovi v oboru je k dispozici velký výběr mechanických mísících zařízení. Mísící nádoba může být například stacionární a k dosažení promísení za mírného míchání lze použít pohyblivé prvky jako jsou tyčinky, lopatky nebo další typy míchadel. Je-li žádoucí provést kondenzační proces kontinuálně, mísící zařízení může mít formu žlabu do

kterého vstupují na jednom konci vstupní složky a reakční směs a konečný kondenzační adukt vystupují z druhého konce. Míchání v takovémto zařízení může zajistit pomalu se v roztoku pohybující šnek, který odvádí konečný produkt od zahřívacího povrchu a distribuuje ho do roztoku a pomalu posunuje žlabem. Také je možné použití způsobu, při kterém se celý žlab houpe a obsahuje přepážky zvyšující dobu zdržení roztoku ve žlabu. Oba tyto typy mísících zařízení jsou charakterizované nízkými koeficienty přenosu tepla, a rychlejší výměnu tepla lze docílit v zařízení s dvoutrubkovým uspořádáním, ve kterém reakční směs prochází centrální trubkou a ohřevné médium je vedené mezikružím mezi oběma trubkami proti směru toku reakční směsi. Míchání zajišťuje hřídel, který rotuje v centrální trubce a jsou na něm umístěné lopatky působící na ohřevný povrch jako škrabák a umožňující tak vysoké koeficienty přenosu tepla.

Mísící zařízení může být také pasivnějším prvkem sestavy ve které se nevyužívá typ přenosu tepla jako u míchaných nádob. Pro větší objemy výroby lze použít pro ohřev komoru s trubkovým topným tělesem a dostatečně velký svod odpovídající toku reakční směsi, a obvykle zahrnující oběhové čerpadlo a nucenou cirkulaci zvyšující přenos tepla do reakční směsi. Také je možné použít kontinuální způsob s použitím mísících zařízení ve kterých se reakční směs zahušťuje a které musí být spojené s prostředky pro sledování a řízení kvality konečného produktu. Při použití vakuové reakční nádoby se obvykle horká koncentrovaná reakční směs zavádí do míchané reaktorové komory ve které je snížený tlak. To umožňuje adiabatický ohřev nebo ochlazení reakční směsi na teplotu varu odpovídající pracovnímu tlaku v nádobě.

Další typ mísícího zařízení který může být vhodný pro použití ve způsobu podle vynálezu zahrnuje použití toků

reakční směsi poskytovaných pomocí například tlakových čerpadel, která v uvedených tocích vyvolávají turbulenci dostatečnou k dokonalému promísení složek. Použitý mechanický účinek může mít také formu oddělených nástřiků obsahujících jednotlivé vstupní složky reakce, kde uvedené nástřiky jsou vzájemně směrované způsobem, při kterém dochází k vzájemnému maximálnímu promísení, kolizím a kontaktům získaných kapek. Rozprašovací zařízení použité při výše uvedeném způsobu mohou tvořit jednoduché mechanické nebo tlakové čerpací prostředky dostatečně účinné k předání energie potřebné k rozdělení vodného toku obsahujícího výchozí složky reakce do kapek jejichž velikost je popsána výše, které jsou potřebné k eliminaci od asi 97,0 % do asi 99,9 % hmotnostních, výhodně od asi 98,0 % do asi 99,0 % hmotnostních vody již přítomné v reakční směsi nebo vzniklé během uvedené kondenzační reakce, a kde uvedený proces je konsistentní se zachováním integrity reakčních složek uvedené kondenzační reakce a konečného aduktu, a se zajištěním požadovaného stupně konverze na uvedený konečný kondenzační adukt, tj. konečného výtěžku uvedeného kondenzačního aduktu asi 98,5 % hmotnostních nebo více, výhodně asi 99,5 % nebo více vzhledem k hmotnosti vstupních složek reakce.

Výše uvedené čerpací prostředky lze použít ve spojení s tryskami, jejichž pomocí se na toky vodných roztoků obsahující výchozí složky reakce aplikují smykové síly, a výsledkem jejich použití je dělení uvedených toků do kapek majících postupně menší a menší objem až do dosažení požadované velikosti kapek.

Ve způsobu přípravy podle vynálezu je také možné použít rozprašovací zařízení zahrnující generátory toků plynu a prostředky pro dispergaci uvedeného vodného toku obsahujícího výchozí složky reakce do toku plynu tak, aby uvedený vodný tok

byl zachycen do toku plynu ve formě kapek majících požadovanou velikost kapek. Uvedený plyn je zejména plyn v podstatě inertní k výchozím složkám reakce a k uvedenému konečnému kondenzačnímu aduktu. Používané plyny zahrnují mezi jinými vzduch, dusík nebo helium, kde plyn se předem stlačí na tlak dostatečný k vytvoření toku plynu, který má objem rychlost dostatečnou ke stržení kapek uvedených výchozích složek reakce a zajištění jejich vzájemného maximálního promísení, a počtu kolizí a kontaktů potřebných k eliminaci od asi 97,0 % do asi 99,9 % hmotnostních, výhodně od asi 98,0 % do asi 99,0 % hmotnostních vody již přítomné v reakční směsi nebo vzniklé během uvedené kondenzační reakce, a kde uvedený proces je konsistentní se zachováním integrity reakčních složek uvedené kondenzační reakce a konečného aduktu, a se zajištěním požadovaného stupně konverze na uvedený konečný kondenzační adukt, tj. konečného výtěžku uvedeného kondenzačního aduktu asi 98,5 % hmotnostních nebo více, výhodně asi 99,5 % nebo více vzhledem k hmotnosti vstupních složek reakce.

Rozprašovací zařízení vhodné pro použití ve způsobu podle vynálezu může obsahovat každou vhodnou kombinaci výše uvedených generátorů plynu a souvisejících dispergačních prostředků s výše uvedenými mechanickými nebo tlakovými čerpacími prostředky a připojeními tryskami. Provedení, kdy teplota vodného prostředí obsahujícího reakční směs má být udržovaná na teplotě vyšší než je normální teplota varu vody, tj. 100 °C, lze realizovat udržováním systému pod zvýšenými tlaky, které zvýší teplotu varu vody v systému předem zjištěným způsobem. Také je nutné si uvědomit, že jakmile reakční směs a vodný systém se dostanou pomocí rozprašovacího zařízení do rozprášeného stavu ve formě jemných kapiček, v uvedených kapkách dojde k okamžitému a významnému snížení teploty. Například aplikací zvýšeného tlaku je možné udržovat teplotu reakční směsi a vodného prostředí ve vstupní části

rozprašovacího zařízení na 115 °C, avšak jakmile reakční směs a vodné prostředí vystoupí z trysek rozprašovacího zařízení, jejich teplota klesne na 80 °C.

Podle ještě dalšího provedení vynálezu se dokonalé smísení uvedených výchozích složek ve formě kapek docílí mechanickým působením rotujícího disku, na jehož povrch jsou nasměrované vodné toky obsahující jednotlivé vstupní složky reakce. Je možné použít samostatný disk pro každou výchozí složku nebo v dalším případě jeden disk v uspořádání vhodném pro přijetí obou vodných toků obsahujících vstupní složky reakce. Každý z uvedených vodných toků traverzuje přes uvedený disk takovým způsobem, že z okraje uvedeného disku je hnán ve formě kapek; rychlost uvedeného rotujícího disku lze měnit tak, aby docházelo k předávání energie dostatečné k dělení každého z uvedených vodných toků do kapek takové velikosti a majících takovou rychlost, které zajišťují maximální promísení, počet kolizí a kontaktů uvedených kapek.

Smísení uvedených výchozích složek probíhá v podmínkách, které byly z hlediska teploty, vlhkosti a tlaku upraveny tak, aby za uvedených podmínek došlo k eliminaci od asi 97,0 % do asi 99,9 % hmotnostních, výhodně od asi 98,0 % do asi 99,0 % hmotnostních vody již přítomné nebo vzniklé během kondenzační reakce, a za podmínek konsistentních se zachováním integrity vstupních složek kondenzační reakce a konečného aduktu, a zajišťujících požadovaný stupeň konverze na uvedený konečný kondenzační adukt, tj. poskytujících konečný výtěžek konečného kondenzačního aduktu asi 98,5 hmotnostních nebo více, výhodně asi 99,5 % hmotnostních nebo více, vztažených na hmotnost vstupních složek reakce. Například teplota bude obecně v rozmezí popsaném výše, kde uvedená reakční směs se obvykle zahřeje na teplotu od 25 °C do 125 °C, výhodně na teplotu od 40 °C do 120 °C, ještě výhodněji na teplotu od 50 °C do 115

°C, ještě více výhodněji na teplotu od 60 °C do 110 °C a nejvýhodněji na teplotu od 75 °C do 105 °C, přičemž vodné prostředí je udržované v kapalně fázi s použitím redukováného tlaku je-li to zapotřebí.

Rotující disk může být umístěný v zařízení umožňujícím použití snížených tlaků pomocí například vývěv, ačkoliv to není typické uspořádání. Zvýšené tlaky lze použít ke zvýšení teploty varu reakční směsi ve vodném prostředí jak je popsáno výše. Příklad rozprašovacího zařízení s rotujícím diskem zahrnuje mobilní zařízení pro sušení rozprašováním Niro dostupné u firmy Niro Atomizer, Dánsko. Uvedené zařízení obsahuje komoru tvořenou válcem o výšce 600 mm a průměru 800 mm s kónickou základnou kde úhel kužele je 60°. Při provozu při atmosférickém tlaku je rychlost rotace disku v rozmezí 35000 až 40000 ot./min a průtoková rychlost sušícího vzduchu je 80 kg/h.

Kombinace výše popsaného zahřátí reakční směsi a vodného reakčního prostředí společně s mechanickou energií předanou směsi během jejího rozdělení na malé kapky tvoří energii která je pro molekuly vody dostatečná k jejich přestupu do plynné fáze nebo formy páry. K dalšímu usnadnění odstranění vody z reakční směsi a z vodného prostředí je výhodné navíc použít proud vzduchu který sebou unáší odpařenou vodu. Energie vstupující s pohybujícím se proudem vzduchu přímo zvyšuje odpařování vody, a obecně platí, že čím vyšší je rychlost toku vzduchu, tím více se zvýší odpařování. Uvedené zvýšení odpařování se dále zlepší použitím proudů vzduchu o vyšších teplotách, například teplotách od 75 °C do 150 °C, výhodně o teplotách 90 °C až 110 °C. Ohřátý vzduch předává procesu odpařování další energii. Odpařování vody se dále zvýší použitím proudu ohřátého vzduchu který je suchý, tj. který má nízkou vlhkost, čímž se zlepšuje schopnost proudu ohřátého

vzduchu přijmout další podíly vodní páry. Vlhkost v ohřátém toku vzduchu je výhodně v rozmezí od 1 % do 20 % hodnocená jako relativní vlhkost, výhodně je relativní vlhkost 2 % až 10 %.

Posledním stupněm ve způsobu přípravy podle vynálezu je tedy stupeň zahrnující:

c) uvedení vzniklých kapek do stavu nejvyšší poměrné rychlosti vzhledem k inertnímu plynu kterým procházejí, která je konsistentní se zachováním integrity proteinové výchozí složky a konečného kondenzačního aduktu, a která je rovněž konsistentní s optimálními účinnostmi a ekonomickým provedením uvedeného způsobu přípravy zahrnujícího tuto kondenzační reakci.

Výraz "inertní plyn kterým procházejí" se vztahuje jak na kapky reakční směsi a jejího vodného prostředí tak na kapky obsahující vzniklý reakční produkt, a znamená každý plyn, který je inertní vůči uvedenému konečnému produktu. Snadno dostupné jsou obvykle používané plyny jako je dusík a helium, které jsou za uvedených okolností inertní a je možné je použít. Z praktických důvodů je však obvykle obtížné najít vhodnější plyn než je vzduch z okolního prostředí. U vzduchu lze rovněž předpokládat, že je nejvíce konzistentní s optimálními účinnostmi a ekonomikou provedení přípravy způsobem podle vynálezu.

Poměrná rychlost, kterou se uvedené kapky pohybují, je od 0,1 m/s až 5,0 m/s, výhodně od 0,2 m/s do 4,0 m/s, ještě výhodněji od 0,3 m/s do 3,0 m/s, ještě více výhodněji od 0,4 m/s do 2,0 m/s, a nejvýhodněji od 0,5 m/s do 1,0 m/s. V této poměrné rychlosti je zahrnuta relativní rychlost toku

inertního plynu, který může proudit souhlasným směrem, protiproudě, příčně nebo v libovolném úhlu vzhledem k toku uvedených částic.

Pomocí výše uvedených způsobů je možné rozdělit reakční směs v uvedeném vodném prostředí do kapek o střední velikosti od 1,0 μm do 5,0 mm, výhodně o velikosti od 10,0 μm do 1,0 mm, ještě výhodněji o velikosti od 100 μm do 900 μm , ještě více výhodněji o velikosti 200 μm do 800 μm , a nejvýhodněji o velikosti 300 μm do 700 μm . Je nutné si uvědomit, že čím menší kapky, tím účinnější bude odpařování a odstraňování vody z reakční směsi a z jejího vodného prostředí. K tomu dochází především díky značnému zvětšení povrchové plochy dostupné molekulám vody, ze které mohou přecházet z kapalné fáze do plynné fáze a mohou být odváděné proudem inertního plynu který je obklopí.

Dále je možné provést uvedené kondenzační způsoby za podmínek redukované vlhkosti, aby se urychlila rychlost odstraňování vody. Toto provedení přispívá k úplnému průběhu kondenzační reakce a tomuto provedení odpovídá vlhkost obsažená v konečném kondenzačním aduktu v rozmezí od 3,0 % do 0,001 % vztažených na hmotnost konečného produktu, výhodně vlhkost od 2,0 % do 3,0 % hmotnostních vztažených na hmotnost konečného produktu. Nicméně možné je dále odstranit další podíly vlhkosti a získat tak suchý konečný produkt odolný vůči spékání a mající zlepšenou stabilitu a další vhodnější parametry pro následné použití. Vlhkost obsažená v konečném kondenzačním aduktu může tedy mít již tak nízkou hodnotu jakou je hodnota v rozmezí od 0,1 % do 0,001 hmotnostních, nebo od 0,05 % do 0,005 % hmotnostních, nebo dokonce tak nízkou hodnotu jako je hodnota v rozmezí od 0,03 do 0,01 % hmotnostních, vztažených na hmotnost konečného produktu. Na

druhé straně je zapotřebí určité opatrnosti, protože v některých případech je nutné aby produkt obsahoval podstatně vyšší množství vlhkosti, protože mnoho proteinů je ve stavu úplné dehydratace nestabilních. V souladu s cílem vynálezu zachovat integritu konečného produktu může být vlhkost přítomná v konečném produktu v rozmezí od 3 % do 20 % hmotnostních, výhodně od 5,0 % do 15,0 % hmotnostních a ještě výhodněji v rozmezí od 8,0 % do 12,0 % hmotnostních vztažených na hmotnost konečného produktu.

Jak již bylo popsáno výše, ve způsobech podle vynálezu se používají dva přístupy k přípravě. Podle prvního přístupu popsaného výše se voda převede na plyn nebo páru a odstraní se například sušením rozprašováním, přičemž toto provedení podle vynálezu se označuje jako provedení probíhající při teplotách nad 0 °C. Podle druhého přístupu popsaného v odstavcích uvedených níže se voda převede do pevné fáze a odstraní se například lyofilizací, přičemž toto provedení podle vynálezu se označuje jako provedení probíhající při teplotě 0 °C nebo nižší.

Podle uvedeného druhého přístupu provedení způsobu podle vynálezu je k odstranění vody potřebné vodu převést z kapalně fáze do pevné fáze. Tento stupeň není obvykle tak rychlý jako stupeň konverze do plynné fáze. Při přeměně vody z kapalně fáze do pevné fáze je nutné použít zmrazení vody, které nutně vyžaduje odvod energie z vodného prostředí obsahujícího reakční směs. Nicméně k odejmutí energie uvedenému vodnému prostředí, tj. snížení teploty a nakonec převedení tohoto prostředí do pevné fáze, je nutné při použití tohoto způsobu přípravy podle vynálezu vynaložit energii. Například zahrnuje použití chladicího zařízení nebo zařízení umožňujícího rychlou výměnu tepla a uvedení tohoto zařízení do styku s vodným prostředím. Následkem toho je nezbytné v uvedeném způsobu

přípravy k odstranění potřebného množství tepelné energie na danou jednotku hmotnosti obsažené vody, ke snížení její teploty a nakonec její přeměny na pevnou fázi, přívod energie.

Jedním způsobem zahrnutým ve způsobu přípravy zahrnujícím výše popsany odvod tepelné energie z uvedeného vodného prostředí je sušení mrazovou sublimací neboli lyofilizací uvedeného vodného prostředí, obsahujícího reakční směs. Ve způsobu podle vynálezu lze sušení mrazovou sublimací možné provést způsobem, při kterém se reakční směs ochladí na teplotu od $-110\text{ }^{\circ}\text{C}$ do $0\text{ }^{\circ}\text{C}$, výhodně od $-45\text{ }^{\circ}\text{C}$ do $-5\text{ }^{\circ}\text{C}$, ještě výhodněji od $-40\text{ }^{\circ}\text{C}$ do $-10\text{ }^{\circ}\text{C}$, ještě více výhodněji od $-35\text{ }^{\circ}\text{C}$ do $-15\text{ }^{\circ}\text{C}$ a nejvýhodněji od $-30\text{ }^{\circ}\text{C}$ do $-20\text{ }^{\circ}\text{C}$ za udržování vodného prostředí v pevném, tj. zmrazeném stavu. Sušící proces pak v zásadě zahrnuje postup, kde vodné rozpouštědlo se odstraní tak, že se nejprve zmrazí a pak se odstraní sublimací v prostředí vakua.

Snížený tlak, kterému se ochlazená reakční směs ve vodném prostředí vystaví aby se zvýšila rychlost odstraňování vody je v rozmezí absolutního tlaku od $5,0\text{ mm Hg}$ do $0,0001\text{ mm Hg}$, výhodně od $1,0\text{ mm Hg}$ do $0,0005\text{ mm Hg}$, ještě výhodněji od $0,5\text{ mm Hg}$ do $0,0001\text{ mm Hg}$, ještě více výhodněji od $0,2\text{ mm Hg}$ do $0,005\text{ mm Hg}$ a nejvýhodněji je v rozmezí absolutního tlaku od $0,1\text{ mm Hg}$ do $0,01\text{ mm Hg}$. Tyto snížené tlaky je možné docílit použitím vývěv různých typů a kapacit známých konstrukcí.

V obvyklém provedení lyofilizačního procesu typu popsaného výše se vodný roztok obsahující reakční směs rozplní do vhodných kontejnerů jako jsou lahvičky, které se pak umístí do prostředí s řízenou teplotou jakou je velká sušící komora. Konečné kondenzační adukty přítomné v lahvičkách se pak nakonec použijí při léčbě chorob a stavů člověka a živočichů. Podle výše uvedeného je výhodné zpracování uvedených produktů

ve formě malých šarží tvořených například souborem lahviček, protože jednotlivě poskytují vhodný poměr objemu k povrchu pro provedení lyofilizačního procesu a přitom se najednou zpracuje velký počet lahviček.

Potom se teplota sušící komory uvede na teplotu asi -40°C a udržuje se na této hodnotě, načež se reakční směs rychle přeměňuje na pevnou hmotu tvořenou ledem a pevnou složkou která byla ve vodě rozpuštěná, tj. konečným kondenzačním aduktem. Led krystalizuje a rozpuštěná složka buď krystalizuje nebo je ve sklovité formě v závislosti na druhu konečného produktu a typu prováděné lyofilizace. Pak se sušící komora evakuuje pomocí prostředků jako jsou vývěvy a teplota v sušící komoře se pak zvýší na teplotu při které začíná při lyofilizaci proces sublimace ledu na páru, který se často označuje jako primární sušící stupeň. Vodní pára vzniklá sublimací se pak převádí přes částečně vysušený produkt do kondenzační komory opatřené povrchy které mají ještě nižší teploty, asi -60°C , kde dochází ke kondenzaci páry a tím jejímu odstranění. Se zvyšováním teploty konečného kondenzačního aduktu se rychlost primárního sušení zvyšuje, ale je zapotřebí určité opatrnosti aby se nepřekročila maximální teplota, při které je zachovaná integrita produktu.

V primárním sušícím stupni se odstraní veškerý led v iniciálním kondenzačním aduktu. Nicméně množství vlhkosti v produktu, která je obsažena v rozpuštěné formě v amorfních podílech produktu je stále významné a tvoří asi 20 % až 50 % hmotnostních v závislosti na charakteru uvedeného produktu. Odstranění této zbylé vody se provádí během sekundárního sušícího stupně, který se obvykle provádí při zvýšených teplotách produktu. Tyto teploty však nejsou tak vysoké jako jsou teploty používané ve způsobech podle vynálezu s použitím sušení rozprašováním jak je popsáno výše. Obvykle je

výhodnější využít lyofilizační způsoby podle vynálezu než způsoby se sušením rozprašováním podle vynálezu, protože při použití prvního způsobu se používají nižší teploty a pravděpodobnost, že nedojde k případným destruktivním účinkům na konečný produkt obsahující protein je větší. Výhoda lyofilizačních způsobů je rovněž v tom, že umožňuje snadnější prevenci před mikrobiální kontaminací a kontaminací mechanickými částicemi. Na druhé straně mezi nevýhody lyofilizačních způsobů ve srovnání se způsoby používajícími sušení rozprašováním patří vyšší pořizovací náklady a vyšší provozní náklady vzhledem k vyšší spotřebě energie. U všech způsobů přípravy však proteinová podstata konečného produktu znamená významný problém k řešení zachovat konformační stabilitu konečného produktu.

Výše uvedenou amorfní fázi kondenzačního aduktu tvoří nevykrystalizovaný rozpuštěný produkt a nevykrystalizovaná voda. Z praktického hlediska tato voda nekrystaluje na led v rovnovážném bodě, ale musí se podchladiť o 10-15 °C pod tuto teplotu, kdy začne tvořit zárodečná krystalizační jádra a krystalizovat. Velikost potřebného podchlazení určuje povaha rozpuštěné látky a teplota a doba zdržení v sušicí komoře, stejně tak jako velikost a povaha materiálu ze kterého jsou lahvičky vyrobené a přítomnost jakýchkoli částic ve vodném roztoku obsahujícím kondenzační adukt, které mohou poskytnout heterogenní zárodečná místa pro tvorbu krystalů ledu. Výše uvedený problém se může dále zvýšit při výrobě léčiv pro humánní i veterinární použití, jejichž použití ve formě kondenzačních aduktů je velmi pravděpodobné, a která je potřebné připravovat ve sterilních výrobních prostorách prostých kontaminace mechanickými částicemi. Tato prostředí limitují možnosti tvorby zárodečných míst pomocí částic, což vede k potřebě většího podchlazení aduktu, které však zase reguluje velikost vzniklých krystalů ledu. Velikost krystalů

ledu je důležitá, protože určuje velikost pórů nebo kanálů vznikajících v krystalech ledu během sublimace, která je zase ovlivňovaná povrchovou plochou těchto pórů dostupnou během sublimace.

Rozhodně, rychlost sublimace stejně tak jako rychlost sekundárního sušení jsou výše uvedenými faktory významně ovlivněné. Zvýšení podchlazení o 10 °C může vést k řádovému zvýšení doby primárního sušení. Rozsah podchlazení by měl být omezen na podchlazení o 10 °C - 15 °C a měl by být homogenní v rámci sušicí komory i v jednotlivých lahvičkách.

Teplota v sušicí komoře a doba zdržení se volí tak, aby se dosáhlo optimálních výsledků z hlediska cíle, kterým je dosažení homogenního stupně podchlazení a homogenního chování při zmrazování, kde postup zahrnuje první ochlazení veškerého kondenzačního aduktu na teplotu nižší než 0 °C, ale vyšší než je teplota vyvolávající tvorbu krystalizačních jader a krystalizaci, která je asi -5 °C až -10 °C. Potom se teplota v sušicí komoře sníží na hodnotu přiměřenou k vyvolání krystalizace ve všech lahvičkách, která je asi -20 °C až -30 °C. Jakmile tato krystalizace proběhne, teplota sušicí komory se sníží dostatečně pod nejnižší eutektickou teplotu, při které rozpuštěná složka krystalizuje nebo pod teplotu skelného přechodu při které rozpuštěná látka přechází do amorfního stavu, která je asi -40 °C. Jakmile dojde ke krystalizaci eutektické soustavy, je systém v pevném stavu a lze pokračovat stupněm zahrnujícím primární sušení.

Jestliže systém obsahující rozpuštěný produkt má sklon zůstat v amorfním stavu, lze použít způsoby zahrnující popouštění nebo temperování, při kterých se teplota kondenzačního aduktu zvýší na několik hodin o alespoň několik stupňů nad teplotu skelného přechodu aby se umožnila

krystalizace rozpuštěné složky, načež se teplota sušící komory opět sníží a obnoví se primární sušení. Také je nutné poznamenat, že během uvedeného procesu vede tvorba ledu k zahuštění všech rozpuštěných složek, ve kterých mohou být zahrnuté rozpuštěné sole, například v případě, kdy kondenzační adukt je rozpuštěný v mírně koncentrovaném solném roztoku. Postup tak může vést ke zvýšení koncentrace NaCl, což může nakonec vyvolat degradaci produktu.

Primární stupeň sušení se provádí vhodněji při takzvané nejvyšší přípustné teplotě než při nejvyšší možné teplotě při které ještě nedochází k degradaci produktu. Touto teplotou je eutektická teplota při které produkt krystalizuje a také teplota deformace, nebo eutektická teplota tání, kde rozpuštěná složka přechází do amorfního stavu. Sušení při teplotě nad nejvyšší přípustnou teplotou vede k nepřijatelnému produktu postrádajícimu definovaný geometrický tvar. Maximální přípustná teplota se snadno stanoví metodami termické analýzy, měřením elektrického odporu nebo mikroskopickou analýzou produktu v závislosti na teplotě, tato teplota se může pohybovat ve významném rozmezí a je nutné ji stanovit jako první při výběru parametrů lyofilizačního procesu.

Výše popsané způsoby přípravy je také možné provést za podmínek snížené vlhkosti, čímž se urychlí rychlost odstraňování vody a její celkové odstranění množství. Tento způsob je konsistentní s cílem vést kondenzační reakci až k úplnému průběhu eliminaci od asi 97,0 % do asi 99,9 % hmotnostních, výhodně od asi 98,0 % do asi 99,0 % hmotnostních vody již přítomné nebo vzniklé v průběhu uvedené kondenzační reakce, konsistentní se zachováním integrity vstupních složek kondenzační reakce konečného připraveného aduktu a se zajištěním potřebného stupně konverze na uvedený konečný kondenzační adukt, tj. výtěžku uvedeného kondenzačního aduktu

který je rovný nebo větší než asi 98,5 % hmotnostních, výhodně rovný nebo větší než asi 99,5 % hmotnostních vztažených na hmotnost vstupních složek reakce.

V souladu s tímto cílem, je obsah vlhkosti v konečném kondenzačním aduktu v odpovídajícím rozmezí od 3,0 % do 0,001 % hmotnostních vztažených na hmotnost konečného produktu, výhodně od 2,0 % do 3 % hmotnostních vztažených na hmotnost uvedeného konečného produktu. Je však také možné po skončení kondenzační reakce odstranit z konečného produktu další podíly vlhkosti je-li to žádoucí pro prevenci spékání, zvýšení stability, zlepšení parametrů vhodných pro další manipulaci nebo pro jiné účely požadované pracovníkem v oboru. Obsah vlhkosti v konečném kondenzačním aduktu může tedy být až tak nízký jako v rozmezí od 0,1 % do 0,001 % hmotnostních, nebo od 0,05 % do 0,005 % hmotnostních nebo dokonce tak nízký jako v rozmezí od 0,03 % do 0,01 % hmotnostních vztažených na hmotnost konečného produktu.

Nicméně, v závislosti na podstatě konečného kondenzačního aduktu, zejména jeho proteinové složky může být nutné, aby konečný produkt obsahoval podstatně vyšší podíly vlhkosti, protože mnoho proteinů je nestabilních, jestliže se zbaví veškeré vody. Takže v souladu se zachováním integrity konečného produktu může být vhodné aby konečný produkt obsahoval větší podíly vlhkosti, v rozmezí od 3,0 % do 20 % hmotnostních, výhodně od 5,0 % do 15 % hmotnostních, a ještě výhodněji od 8,0 % do 12,0 % hmotnostních vztažených na hmotnost konečného produktu.

Popis výhodných provedení

Níže uvedené příklady jsou určeny k dalšímu znázornění nových způsobů přípravy a produktů podle vynálezu ale předložený vynález žádným způsobem neovlivňuje.

Příklady provedení vynálezu

Příklad 1

Kondenzační adukty Met-pST s aldehydy připravené lyofilizací

Rozpuštěním 76,1 mg o-vanilinu v 200 ml destilované vody se připraví 2,50 mM roztok o-vanilinu. K úplnému rozpuštění aldehydu se roztok minimálním potřebným způsobem zahřeje a sonifikuje. Podobným způsobem se připraví vodné roztoky vanilinu, salicylaldehydu a benzaldehydu (všechny 2,50 mM). Ve 2,00 ml každého aldehydového roztoku se při teplotě místnosti rozpustí suchý, lyofilizovaný met-pST (21,9 mg, 21858 g/mol, 1,00 μ mol). Hodnota pH se upraví na 8,0 zředěným roztokem hydroxidu sodného (je-li zapotřebí úprava pH směrem k nižší hodnotě, použije roztok zředěné kyseliny octové). Konečné roztoky obsahují 1,00 μ mol proteinu a 5,00 μ mol aldehydu. Pak se roztoky ponechají v klidu při teplotě místnosti, potom se vnesou do lyofilizačních baněk objemu 20 ml a podrobí se zmrazení v mrazničce které se nechá probíhat 16 hodin při -28°C . Zmrazené vzorky se pak vloží do zařízení pro mrazovou sublimaci s rozvaděčem a baňky se evakuují. Tlak se udržuje po 24 hodin na hodnotě $< 1,0$ mm. Pak se baňky vyjmou zpět do prostředí atmosférického tlaku a stanoví se hmotnost získaných produktů. V každém z uvedených případů byla stanovená hmotnost ve srovnání se spojenou hmotností aldehydové a proteinové výchozí složky v rámci experimentální chyby. V tomto rozsahu reakce nebyla zjištěna žádná ztráta aldehydu. HPLC analýzou na reverzní fázi byly prokázány píky odpovídající monomernímu met-pST a příslušnému aldehydu s výtěžkem monomeru > 95 %. U

každého vzorku bylo rovněž provedeno stanovení hmotnostní spektrometrií s ionizací způsobem elektrospray. Vzorky pro stanovení byly připraveny rozpuštěním v roztoku 0,1% kyseliny trifluoroctové v 2-methoxyethanolu ($\sim 0,1$ mg/ml) s pomocí ultrazvuku. Vzorky byly připravené v době pod 5 minut před stanovením, protože v kontrolních pokusech bylo prokázáno, že jestliže se rozpuštěné vzorky ponechají delší dobu, dochází k částečné hydrolýze.

Výše popsané přípravy zahrnují jak přípravy konečných kondenzačních aduktů tvořících Schiffovy baze podle vynálezu, tak aduktů které vynález nezahrnuje, protože k jejich přípravě se užijí jiné než aromatické o-hydroxyaldehydy. Souhrn všech příprav je uveden níže v tabulce 1-A. V tabulce 1-B uvedené rovněž níže, jsou uvedené výsledky analýzy každého z uvedených připravených vzorků, včetně údaje předpokládaného poměru počtu ekvivalentů aldehydu k proteinu pro kvantitativní průběh přípravy kondenzačního aduktu tvořícího Schiffovu bazi. Výtěžek se u každého vzorku stanoví výše popsaným způsobem. Hmotnostní výtěžek při lyofilizačním způsobu vztažený na veškerý vstupní aldehyd a protein byl vždy v rámci chyby pokusu kvantitativní, protože jediné ztráty které vznikají jsou ztráty vzniklé sublimací aldehydu, a k těm dochází pouze v případě použití jiných aldehydů než jsou o-hydroxyaldehydy, a v i tomto případě jsou příliš malé pro stanovení. Procentuální výtěžek Schiffovy baze je ekvivalentní hmotnosti konečného produktu, která je vždy 100 % teoretické hodnoty z důvodů uvedených výše, a vynásobením stupněm konverze. Stupeň konverze se zase získá ze skutečného počtu ekvivalentů aldehydu zjištěných hmotnostní spektrometrií s použitím ionizace způsobem elektrospray a dělením této hodnoty teoretickým předpokládaným počtem ekvivalentů a vynásobením výsledku číslem 100 k vyjádření v procentech. Získané hodnoty

dále prokazují účinnost konverze na Schiffovy baze dosaženou způsoby podle vynálezu.

Závěrem je třeba uvést, že před provedením pokusu bylo stanoveno pH každého ze vzorků, aby byla prokázána důležitost udržování hodnoty pH na 7,0 nebo na vyšší hodnotě pro zajištění nejvyšších výtěžků.

Tabulka 1-A

produkt č.	způsob	protein	mol. hmotn.	počet vazebných míst	aldehyd
1a	lyofilizace -28 °C	myoglobin	16951	20	o-vanilin
1b	lyofilizace -28 °C	myoglobin	16951	20	vanilin
1c	lyofilizace -28 °C	myoglobin	16951	20	salicylaldehyd
1d	lyofilizace -28 °C	myoglobin	16951	20	benzaldehyd
1e	lyofilizace -28 °C	β -laktoglobulin	18365	16	o-vanilin
1f	lyofilizace -28 °C	β -laktoglobulin	18365	16	vanilin
1g	lyofilizace -28 °C	β -laktoglobulin	18365	16	salicylaldehyd
1h	lyofilizace -28 °C	β -laktoglobulin	18365	16	benzaldehyd
1i	lyofilizace -78 °C	Met-pST	21858	12	o-vanilin
1j	lyofilizace -78 °C	Met-pST	21858	12	vanilin
1k	lyofilizace -78 °C	Met-pST	21858	12	salicylaldehyd
1l	lyofilizace -78 °C	Met-pST	21858	12	benzaldehyd
1m	lyofilizace -28 °C	Met-bST	21875	12	o-vanilin
1n	lyofilizace -28 °C	Met-bST	21875	12	vanilin
1o	lyofilizace -28 °C	Met-bST	21875	12	salicylaldehyd
1p	lyofilizace -28 °C	Met-bST	21875	12	benzaldehyd

Tabulka 1-A (pokračování)

produkt č.	způsob	protein	mol. hmotn.	počet vazebných míst	aldehyd
lq	lyofilizace -28 °C	lysozym	14306	7	o-vanilin
lr	lyofilizace -28 °C	lysozym	14306	7	vanilin
ls	lyofilizace -28 °C	lysozym	14306	7	salicylaldehyd
lt	lyofilizace -28 °C	lysozym	14306	7	benzaldehyd
lu	lyofilizace -28 °C	Met-bST	21875	12	o-vanilin
lv	lyofilizace -28 °C	Met-bST	21875	12	vanilin
lw	lyofilizace -28 °C	Met-bST	21875	12	salicylaldehyd
lx	lyofilizace -28 °C	Met-bST	21875	12	benzaldehyd
ly	lyofilizace -28 °C	lysozym	14306	7	o-vanilin
lz	lyofilizace -28 °C	lysozym	14306	7	o-vanilin
laa	lyofilizace -28 °C	lysozym	14306	7	o-vanilin
lbb	lyofilizace -28 °C	lysozym	14306	7	o-vanilin
lcc	lyofilizace -28 °C	lysozym	14306	7	o-vanilin
ldd	lyofilizace -28 °C	lysozym	14306	7	o-vanilin
lee	lyofilizace -28 °C	Met-pST	21858	12	o-vanilin
lff	lyofilizace -28 °C	Met-pST	21858	12	vanilin
lgg	lyofilizace -28 °C	Met-pST	21858	12	salicylaldehyd
lhh	lyofilizace -28 °C	Met-pST	21858	12	benzaldehyd

Tabulka 1-B

produkt č.	o-hydroxy ano/ne	ekv. ald/prot.	nalezeno průměrně	výtěžek v %	pH
1a	ano	6	6,3	105	7,61
1b	ne	6	4,4	73*	7,61
1c	ano	6	5,6	93	7,54
1d	ne	6	1,6	27	7,71
1e	ano	6	5,7	95	7,41
1f	ne	6	3,6	60	7,51
1g	ano	6	5	83**	7,59
1h	ne	6	2	33	7,62
1i	ano	2	2	100	7,5
1j	ne	2	1,4	70	7,5
1k	ano	2	1,8	90	7,5
1l	ne	2	0,6	30	7,5
1m	ano	5	4,2	84**	8,6
1n	ne	5	1,8	36	8,79
1o	ano	5	4,3	86**	8,66
1p	ne	5	3,4	68	8,86
1q	ano	3	3	100	7,52
1r	ne	3	1,3	43	7,53
1s	ano	3	2,7	90	7,67
1t	ne	3	0,8	27	7,5

Tabulka 1-B (pokračování)

produkt č.	o-hydroxy ano/ne	ekv. ald/prot.	nalezeno průměrně	výtěžek v %	pH
1u	ano	5	4,5	90	9,03
1v	ne	5	3,4	68	9,15
1w	ano	5	4,7	94	8,98
1x	ne	5	2,8	56	9,01
1y	ano	3	1	33	3,31
1z	ano	3	1,8	60	4,47
1aa	ano	3	2,1	70	5,62
1bb	ano	3	2,4	80	6,53
1cc	ano	3	2,7	90	7,55
1dd	ano	3	2,8	93	8,52
1ee	ano	5	5,4	108	8
1ff	ne	5	1,9	38	8,03
1gg	ano	5	5,5	110	8,01
1hh	ne	5	3,3	66	8,01

*/ jediný příklad s výtěžkem nad 70 % u aduktu s jiným druhem aldehydu než je o-hydroxyaldehyd;

**/ jediný příklad s výtěžkem pod 80 % u aduktu vzniklého s o-hydroxyaldehydem.

Způsoby přípravy podle vynálezu prováděné při teplotách nad 0 °C znázorňuje následující příklad.

Příklad 2

Kondenzační adukty Met-pST s o-vanilinem připravené sušením rozprašováním

1 g vzorku suchého lyofilizovaného Met-pST (45,7 μmol) se rozpustí ve 100,0 ml destilované vody. K tomuto roztoku se přidá o-vanilin (34,8 mg, 228,5 μmol , 5,00 ekv.). Přidaný o-vanilin se rozpustí mícháním po dobu 1 hodiny při 40 °C. Potom se hodnota pH upraví na 7,50 0,1 N roztokem hydroxidu sodného. Tento roztok se zavádí do zařízení pro sušení rozprašováním firmy Buchi typ 190 Mini Spray Dryer rychlostí 2,0 ml/min. Aspirátor se nastaví na -25 mbar, vstupní teplota roztoku je 110 °C a výstupní teplota vzorku je 75 °C. Produkt se oddělí v cyklonovém separátoru a podrobí se analýze metodou HPLC s použitím reverzní fáze a metodou hmotnostní spektrometrie s ionizací způsobem elektrospray.

Výše popsané způsoby přípravy vedou k Schiffovým bazím ve formě kondenzačních aduktů které jsou v rozsahu vynálezu, protože byly připraveny s použitím o-vanilinu, aromatického o-hydroxyaldehydu. Při použití dalších aldehydů byly použité podobné podmínky zpracování. Souhrn příprav je uveden níže v tabulce 2-A. V tabulce 2-B uvedené rovněž níže, jsou uvedené výsledky analýzy každého z uvedených připravených vzorků, včetně údaje předpokládaného poměru počtu ekvivalentů aldehydu k proteinu pro kvantitativní průběh přípravy kondenzačního aduktu tvořícího Schiffovu bazi. Výtěžek se u každého vzorku stanoví výše popsaným způsobem. Hmotnostní výtěžek při způsobu pomocí sušení rozprašováním vztažený na veškerý vstupní aldehyd a protein je vždy v rámci chyby pokusu kvantitativní, protože jediné ztráty které vznikají jsou ztráty vzniklé sublimací aldehydu, a k těm dochází pouze v případě použití jiných aldehydů než jsou o-hydroxyaldehydy, a v i tomto případě jsou příliš malé pro stanovení. Procentuální výtěžek

Schiffovy baze je ekvivalentní hmotnosti konečného produktu, která je vždy 100 % teoretické hodnoty z důvodů uvedených výše, a vynásobením stupněm konverze. Stupeň konverze se získá ze skutečného počtu ekvivalentů aldehydu zjištěných hmotnostní spektrometrií s použitím ionizace způsobem elektrospray a dělením této hodnoty teoretickým předpokládaným počtem ekvivalentů a vynásobením výsledku číslem 100 k vyjádření v procentech.

Získané hodnoty dále potvrzují účinnost konverze na Schiffovy baze dosaženou způsobu podle vynálezu. Hmotnostně vyjádřené výtěžky získané ve výše uvedeném způsobu s použitím sušení rozprašováním jsou poměrně nízké následkem provedení uvedeného způsobu v maloobjemovém měřítku. Významná množství konečného produktu ulpívají na povrchu sušicího zařízení a nedojde k jejich získání. Podle toho je v tomto případě pro demonstraci vhodnosti způsobu podle vynálezu vhodnější vyjádření ve formě stupně konverze na konečný produkt.

Závěrem je třeba uvést, že před provedením pokusu bylo stanoveno pH každého ze vzorků, aby byla prokázána důležitost udržování hodnoty pH na 7,0 nebo na vyšší hodnotě pro zajištění nejvyšších výtěžků.

Tabulka 2-A

produkt č.	způsob	protein	mol. hmotnost	počet vazeb. míst	aldehyd
2a	sušení rozpraš.	Met-pST	21858	12	o-vanilin
2b	sušení rozpraš.	Met-pST	21858	12	isovanilin
2c	sušení rozpraš.	Met-pST	21858	12	pyridoxal•HCl
2d	sušení rozpraš.	Ala-pST	21858	12	vanilin
2e	sušení rozpraš.	Ala-pST	21858	12	2,4-dihydrobenz- aldehyd

Tabulka 2-B

produkt č.	o-hydroxy ano/ne	ekv. ald/prot.	nalezeno průměrně	výtěžek v %	pH
2a	ano	5	5	100	7,5
2b	ne	5	3,1	62	7,5
2c	ano	3,7	3,4	92	7,5
2d	ne	5	1,7	34	7,5
2e	ano	5	4,6	92	7,5

V údajích uvedených ve výše uvedených tabulkách je přesnost uvedených výtěžků (v %) 5-10 % vzhledem k uvedeným číslům. Je třeba uvést, že ve všech přípravách, ve kterých byl

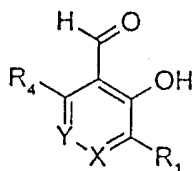
použit aromatický o-hydroxyaldehyd a hodnota pH byla $\geq 7,0$ byl výtěžek ≥ 90 %. Jediné výjimky z tohoto tvrzení jsou ve výše uvedených tabulkách označené. Na rozdíl od výše uvedených příprav, přípravy s použitím jiných než o-hydroxyaldehydů vedly vždy k výtěžkům ≤ 70 %, dokonce i při $\text{pH} \geq 7,0$, stejném jako u o-hydroxyaldehydů. Jediná výjimka z tohoto zjištění je ve výše uvedené tabulce označená.

Kritický význam udržování pH na hodnotě $\geq 7,0$ pro získání vysokých výtěžků je znázorněný výsledky ve výše uvedené tabulce 1-B u vzorků č. 1y až 1dd. Při přípravách všech těchto vzorků byl použit aromatický o-hydroxyaldehyd, takže u všech těchto příprav by bylo možné očekávat výtěžky ≥ 90 % pokud by pH bylo udržováno na $\geq 7,0$. Nicméně byly zjištěné jiné hodnoty pH, které se v rozmezí od nejnižší hodnoty 3,31 progresivně zvyšovaly až na 8,52. Výtěžky v % vykazaly odpovídající vývoj, s nejnižším výsledkem 33 % a postupným se zvyšovaly až na 93 %.

P A T E N T O V É N Á R O K Y

1. Zlepšený způsob přípravy Schiffových bazí, aduktů vzniklých kondenzační reakcí, v y z n a č u j í c í s e t í m , že jejich složky tvoří protein s prospěšnými účinky pro živočichy a aromatický o-hydroxyaldehyd, kde uvedený způsob zahrnuje spojení výše uvedených složek ve vodném prostředí při pH 7,0 nebo vyšším do formy reakční směsi za podmínek, které jsou účinné pro vedení uvedené kondenzační reakce v podstatě kvantitativním způsobem, odstraňováním od asi 97,0 % do asi 99,9 % hmotnostních, výhodně od asi 98,0 % do asi 99,0 % hmotnostních vody již přítomné nebo vody vzniklé během uvedené kondenzační reakce, a konsistentní se zachováním integrity vstupních složek kondenzační reakce a uvedeného konečného kondenzačního aduktu a zajišťují stupeň konverze na uvedený kondenzační adukt jako konečný produkt, tj. zajišťují výsledný výtěžek uvedeného kondenzačního aduktu rovný nebo větší než asi 98,5 % hmotnostních, výhodně rovný nebo větší než asi 99,5 % hmotnostních vztažených na hmotnost výchozích složek reakce.

2. Způsob podle nároku 1 v y z n a č u j í c í s e t í m , že uvedený aromatický o-hydroxyaldehyd je jedna nebo více sloučenin obecného vzorce (1):



(1.)

kde

R_1 a R_4 každý znamená skupinu nezávisle zvolenou ze skupiny zahrnující především vodík; hydroxy; halogen; nitro; kyan; trifluormethyl; (C_1-C_6) alkyl; (C_1-C_6) alkoxy; (C_3-C_6) cykloalkyl; (C_2-C_6) alkenyl; $-C(=O)OR_7$; $-OC(=O)R_7$; $-S(=O)_2-S(=O)_2N(R_7)(R_9)$; $-S(=O)_2R_7$; $-S(=O)_2OR_7$; $-C(=O)NR_7R_9$; $-C(=O)R_9$; a $-N(R_7)(R_9)$, kde R_7 znamená vodík nebo (C_1-C_4) alkylovou skupinu a R_9 znamená (C_1-C_4) alkylovou skupinu;

kde uvedená alkylová, cykloalkylová a alkenylová skupina ve významu R_1 a R_4 může být případně každá nezávisle substituovaná jedním nebo dvěma substituenty které znamenají skupinu ze skupiny zahrnující především halogen; hydroxy; (C_1-C_2) alkyl; (C_1-C_2) alkoxy; (C_1-C_2) alkoxy- (C_1-C_2) alkyl; (C_1-C_2) alkoxykarbonyl; karboxy; (C_1-C_2) alkylkarbonyloxy; nitro; kyan; aminoskupinu disubstituovanou (C_1-C_2) alkylovou skupinou; sulfonyl; a sulfonamidoskupinu disubstituovanou (C_1-C_2) alkylovou skupinou;

X a Y každý nezávisle znamenají N nebo CHR_2 respektive CHR_3 , kde R_2 a R_3 znamenají skupinu nezávisle zvolenou ze skupiny zahrnující především vodík; hydroxy; halogen; nitro; kyan; trifluormethyl; (C_1-C_6) alkyl; (C_1-C_6) alkoxy; (C_3-C_6) cykloalkyl; (C_2-C_6) alkenyl; $-C(=O)OR_{11}$; $-OC(=O)R_{11}$; $-S(=O)_2$; $-S(=O)_2N(R_{11})(R_{13})$; ; a $-N(R_{11})(R_{13})$, kde R_{11} znamená vodík nebo (C_1-C_4) alkylovou skupinu a R_{13} znamená (C_1-C_4) alkylovou skupinu; přičemž uvedená alkylová, cykloalkylová a alkenylová skupina ve významu R_2 a R_3 může být každá nezávisle případně substituovaná jedním nebo dvěma substituenty které znamenají skupinu ze skupiny zahrnující především halogen; hydroxy; (C_1-C_2) alkyl; (C_1-C_2) alkoxy; (C_1-C_2) alkoxy- (C_1-C_2) alkyl; (C_1-C_2) alkoxykarbonyl; karboxy; (C_1-C_2) alkylkarbonyloxy; nitro; kyan; aminoskupinu disubstituovanou (C_1-C_2) alkylovou skupinou; sulfonyl; a sulfonamidoskupinu disubstituovanou (C_1-C_2) alkylovou skupinou.

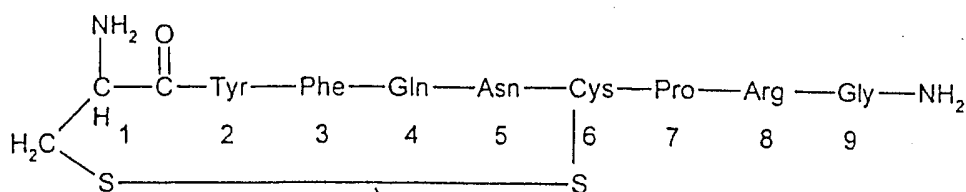
3. Způsob podle nároku 2 v y z n a č u j í c í s e t í m ,
že uvedený aromatický o-hydroxyaldehyd je o-vanilin;
salicylaldehyd; 2,3-dihydroxybenzaldehyd;
2,6-dihydroxybenzaldehyd, 2-hydroxy-3-ethoxybenzaldehyd; nebo
pyridoxal.

4. Způsob podle nároku 1 v y z n a č u j í c í s e t í m ,
že uvedený protein mající prospěšné účinky pro živočichy je
jeden nebo více proteinů zvolených ze skupiny zahrnující:

endogenní proteinová a syntetická opioidní analgetika a
antagonisty zahrnující enkefaliny, endorfiny, a dynorfiny,
patřící mezi selektivní nebo neselektivní agonisty a
antagonisty μ , κ , a δ subtypů opioidního receptoru a zahrnující
[Leu⁵] a [Met⁵]enkefalin; dynorfin A a B; α - a β -neoendorfin; [D-
Ala², MePhe⁴, -Gly(ol)⁵]enkefalin (DAMGO); [D-Pen², D-
Pen⁵]enkefalin (DPDPE); [D-Ser², Leu⁵]enkefalin-Thr⁶ (DSLET); [D-
Ala², D-Leu⁵]enkefalin (DADL); D-Phe-Cys-Tyr-D-Trp-Orn-Thr-Pen-
Thr-NH₂ (CTOP); [D-Ala², N-MePhe⁴, Met(O)⁵-ol]enkefalin (FK-
33824); Tyr-D-Ala-Phe-Asp-Val-Val-Gly-NH₂ [D-Ala²]deltorfin I;
Tyr-D-Ala-Phe-Glu-Val-Val-Gly-NH₂ [D-Ala², Glu⁴]deltorfin II;
Tyr-Pro-Phe-Pro-NH₂ (morficeptin); Tyr-Pro-MePhe-D-Pro-NH₂ (PL-
017); a [D-Ala², Leu⁵, Cys⁶]enkefalin;

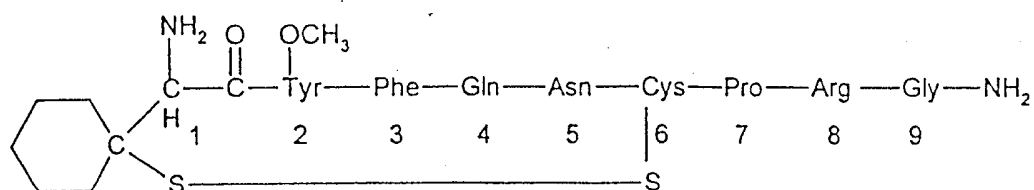
autokoidy zahrnující bradykinin a kallidin produkované
proteolytickými reakcemi v odezvě na zánětlivé stavy
zahrnující poškození tkání, virové infekce a alergické reakce,
kde uvedené proteiny lokálně vyvolávají bolest a působí
vazodilataci, zvyšují vaskulární permeabilitu a syntézu
prostaglandinů, kde uvedené proteiny mají agonistickou a
antagonistickou aktivitu a jsou vhodné k léčbě mužské

proteiny aktivní na subtypech V_1 a V_2 vasopresinového receptoru jako mediátoru presorických odezev respektive antidiuretických odezev a zahrnují antagonisty V_1 vhodné při léčbě kongestivního srdečního selhání, hypertenze, a příhod jako je pooperační ileus a abdominální distenze, agonisty V_2 vhodné při léčbě centrálního diabetes insipidus řízením polyurie a polydipsie, k léčbě krvácivých chorob zahrnujících Willebrandovu chorobu, kde mezi uvedené proteiny patří přirozeně se vyskytující peptidy podobné vasopresinu: arginin-vasopresin (AVP) následujícího vzorce:



a lypresin [Lys⁸]-AVP; syntetické vasopresinové peptidy: V_{1a}-selektivní agonista [Phe², Ile², Orn⁸]AVP; V_{1b}-selektivní agonista deamino[D-3-(3'-pyridyl)-Ala²]AVP; V₂-selektivní

agonisté desmopresinu (dDAVP) a deamino[Val⁴, D-Arg⁸]AVP; a peptidoví antagonisté zahrnující V_{1a}-selektivního antagonistu d(CH₂)₅[Tyr(Me)²]AVP vzorce:



a V_{1b}-selektivního antagonistu dp[Tyr(Me)²]AVP; a V₂-selektivní antagonisté des-Gly-NH₂⁹-d(CH₂)₅[D-Ile², Ile⁴]AVP, a d(CH₂)₅[D-Ile², Ile⁴, Ala-NH₂⁹]AVP;

pentagastrin používaný jako indikátor žaludeční sekrece vzorce: N-terc.butyloxykarbonyl-β-Ala-Trp-Met-Asp-Phe-NH₂;

oktreotid vhodný při léčbě symptomů tumorů gastrointestinálního traktu, průjmu odolávajícího jiné léčbě, poruch motility a krvácení do gastrointestinálního traktu, vzorce: L-cysteinamid-D-Phe-L-Cys-L-Phe-D-Trp-L-Lys-L-Thr-N-[2-hydroxy-1-(hydroxymethyl)propyl]-, cyklický (2→7) disulfid, [R-(R*,R*)]-;

prostředky obsahující protilátky vhodné jako imunosupresiva, zahrnující antithymocytový globulin; monoklonální protilátku muromonab-CD3; a imunoglobulin Rh₀(D); a proteinové imunostimulanty vhodné pro léčbu imunodeficitních stavů zahrnující imunoglobulin;

cytokiny produkované leukocyty, které mají různé imunoregulační vlastnosti a které zahrnují: interferony, faktory pro stimululaci kolonií a interleukiny, zejména

α -interferon; interferon- γ (IFN- γ); faktor pro stimulaci granulocytových kolonií (G-CSF); faktor stimulující granulocytové, makrofágové kolonie (GM-CSF); a interleukin-1 (IL-1) až interleukin 12 (IL-12);

hematopoetické růstové faktory zahrnuté v regulačním procesu kontinuální náhrady zralých krevních buněk, které jsou vhodné při léčbě primárních hematologických chorob a jako přídavné prostředky při léčbě těžkých infekcí a jako prostředky léčebné péče pro pacienty po chemoterapii nebo po transplantaci kostní dřeně, které specificky zahrnují: růstové faktory zahrnující erythropoetin (EPO); faktor kmenových buněk (SCF); interleukiny (IL-1-12); faktor stimulující monocytové/makrofágové kolonie (M-CSF, CSF-1); PLXY321 (GM-CSF/IL-3 fúzní protein); a trombopoetin;

trombolytické proteiny vhodné pro rozpouštění patologických trombů a fibrinových depozit v místech vaskulárního poškození, zahrnující streptokinasu; tkáňový aktivátor plasminogenu (t-PA); a urokinasu;

hormony předního laloku hypofýzy a faktory hypothalamu které je regulují, zahrnující: a) somatotropní hormony zahrnující růstový hormon (GH), prolaktin (Prl), placentární laktogen (PL); b) glykoproteinové hormony zahrnující luteinizační hormon (LH), folikuly stimulující hormon (FSH) a tyreotropní hormon (TSH); a c) hormony odvozené od POMC zahrnující kortikotropin (ACTH), α -melanocyty stimulující hormon (α -MSH), β -melanocyty stimulující hormon (β -MSH), β -lipotropin (β -MSH), a γ -lipotropin (γ -LPH); faktory hypothalamu regulující uvolňování uvedených hormonů zahrnující hormon uvolňující růstový hormon (GHRH), hormon uvolňující luteinizační hormon (LHRH), růstový faktor s účinky blízkými

insulinu (IGF-1 a IGF-2), somatostatin a faktor uvolňující gonadotropin (GnRH);

růstový hormon vhodný k použití při substituční terapii u dětí s deficitem růstového hormonu zahrnující: somatostatin, syntetický analog somatostatinu, okterotid; gonadotropní hormony zahrnující LH, FSH a choriový gonadotropin (GC) které jsou vhodné pro diagnózu poruch reprodukce a pro léčbu neplodnosti a zahrnují: urofolitropin, lidský menopauzální gonadotropin (hMG) s v podstatě odstraněným LH který je vhodný pro indukci ovulace, a gonadorelin, syntetický lidský GnRH vhodný pro stimulaci sekrece gonadotropinu; syntetické agonisty GnRH zahrnující: leuprolid, histrelin, nafarelin, a goserelin, vhodné k léčbě endokrinních chorob způsobených redukcí tvorby gonádových steroidů;

tyreotropní hormon (TSH), jehož sekreci řídí hormon uvolňující tyreotropní hormon (TRH), vhodný vhodný pro náhradní hormonální terapii u pacientů s hypotyreózou a pro TSH supresivní terapii pacientů trpících netoxickou strumou nebo po léčbě rakoviny štítné žlázy;

insulin k léčbě pacientů trpících insulin dependentním a insulin nondependentním diabetes mellitus; glukagon, který má svoji fyziologickou úlohu v řízení metabolismu glukosy a ketonů v těle a je vhodný pro léčbu těžké hypoglykémie a v rentgenologii k inhibici gastrontestinálního traktu; somatostatin, který je vhodný k tlumení uvolňování hormonů v tumorech s endokrinní sekrecí zahrnujících insulinomy, glukagonomy, VIPomy, karcinoidní tumory a somatotropinomy, a jeho syntetický analog, oktreotid;

kalcitonin, hormon působící specificky na osteoklasty a tím inhibující kostní resorpci, který se používá k řízení

hyperkalcémie a u chorob charakterizovaných zvýšenou přeměnou kostí zahrnujících Pagetovu chorobu; hormon příštítných tělísek, který je vhodný k léčbě pacientů trpících spinální osteoporózou;

aldesleukin, 125-L-serin-2-133-interleukin 2, vhodný jako antineoplastikum a jako imunostimulační prostředek; alglucerasa, monomerní glykoprotein o 497 aminokyselinách, modifikovaná forma lidské placentární β -glukocerebrosidasy, vhodná jako doplňující zdroj enzymu glukocerebrosidasy; alsaktid, syntetický analog kortikotropinu: 1- β -Ala-17[L-2,6-diamino-N-(4-aminobutyl)hexanamid]- α^{1-17} -kortikotropin; alteplasa, serinová proteasa o 527 aminokyselinách jejichž sekvence je totožná s přirozeně se vyskytující proteasou produkovanou endotheliálními buňkami v cévních stěnách, vhodná jako aktivátor plasminogenu; alvircept sudotox, syntetický chimerický protein navržený tak že spojuje prvních 178 aminokyselin extracelulární domény CD₄ přes dva spojovací zbytky k aminokyselinám 1-3 a 253-613 Pseudomonas exotoxinu A, který je vhodný jako antivirový prostředek; amlintid, protein o 37 aminokyselinách vhodný jako antidiabetikum; amogastrin: N-karboxy-L-Trp-L-Met-L- α -Asp-3-fenyl-L-alaninamid; anakinra: N²-L-Met antagonist receptoru interleukinu 1, který je vhodný jako nesteroidní protizánětlivý prostředek a jako supresivum při léčbě zánětlivého onemocnění střev; anaratid-acetat, atriopetin 21 (krysí), N-L-Arg-8-L-Met-21a-L-Phe-21b-L-Arg-21-c-L-Tyr-, acetat, vhodný jako antihypertenzní prostředek a jako diuretikum; angiotensin-amid, angiotensin II, 1-L-Asn-5-L-Val-, vhodný jako vazokonstriktor; aprotinin, inhibitor pankreatického trypsinu obsahující 58 aminokyselin, který je vhodný jako inhibitor enzymu (proteinasy); arfalasin, 1-sukcinamová kyselina-5-L-Val-8-(L-2-fenylglycin)angiotensin II, vhodný jako antihypertenzní prostředek; argipressin-

tannat, vasopresin, 8-L-Arg-, tannat, vhodný jako antidiuretikum; aspartocin, oxytocin, 4-L-Asn-, antibiotikum produkované *Streptomyces griseus*; atosiban, oxytocin, 1-(3-merkaptopropanová kyselina)-2-(O-ethyl-D-Tyr)-4-L-Thr-8-L-Orn-, vhodný jako antagonist oxytocinu; avoparcin, glykopeptidové antibiotikum získané z *Streptomyces candidus*; basifungin, N-[(2R,3R)-2-hydroxy-3-MeVal]-N-L-MeVal-L-Phe-N-L-MePhe-L-Pro-L-allo-Ile-N-L-MeVal-L-Leu-3-hydroxy-N-L-MeVal α_1 -lakton, vhodný jako fungicidní prostředek; bekaplermin, rekombinantní lidský proteinový z krevních destiček odvozený růstový faktor B, rekombinantní protein produkovaný geneticky zpracovanými *Saccharomyces cerevisiae*, který má podobné složení aminokyselin a podobnou aktivitu jako endogenní lidský PDGF-BB homodimer, a je vhodný pro léčbu chronických dermálních vředů podporou proliferace buněk odvozených z mesenchymálních buněk; bivalirudin, antikoagulační, antitrombotický prostředek obsahující 20 aminokyselin; karbetocin, 1-butyrová kyselina-2-[3-(p-methoxyfenyl)-L-Ala]oxytocin; kargutocin, 1-butyrová kyselina-6-(L-2-aminobutyrová kyselina)-7-glycinoxytocin; ceruletid, 5-O-L-Pro-L-Gln-L- α -Asp-L-O-sulfo-L-Tyr-L-Thr-L-Gly-L-Trp-L-Met-L- α -Asp-L-Phe-amid, vhodný jako prostředek podporující žaludeční sekreci; cetermin, transformační lidský růstový faktor β_2 obsahující 122 aminokyselin; cilmostim, 1-233 kolonie stimulující faktor 1 (lidský klon p3ACSF-69, proteinová část), cyklický (7→90), (48→139), (102→146)-tris(disulfid)-dimer, vhodný jako hematopetikum (faktor stimulující makrofágové kolonie); kolistimethat sodný, složka kolistinu A vhodná jako antibakteriální prostředek; kortikorelin, ovčí, trifluoracetatová sůl, faktor uvolňující kortikotropin (ovčí), trifluoracetatová sůl, vhodný jako diagnostický prostředek adrenokortikální nedostatečnosti a Cushingova syndromu a jako hormon uvolňující kortikotropin; kosyntropin, tetrakosid-

acetat, α^{1-24} -kortikotropin, vhodný jako adrenokortikotropní hormon; cyklosporin, cyklický protein obsahující 11 aminokyselin a 3-hydroxy-4-methyl-2-(methyldamino)-6-oktenylovou skupinu v poloze 6, který je vhodný jako imunosupresivní prostředek; daklizimab (Ro-24-7375), humanizovaná anti-TAC monoklonální protilátka obsahující čtyři subjednotky připojené přes disulfidové můstky a mající molekulovou hmotnost asi 150 kD, který je vhodný jako imunosupresivní prostředek; daklizumab; daptomycin, proteinový antimikrobiální prostředek; desirudin, 63-desulfohirudin z *Hirudo medicinalis*, obsahující 63 aminokyselin, vhodný jako antikoagulační prostředek; deslorelin, faktor uvolňující luteinizační hormon (prasečí) obsahující 9 aminokyselin, vhodný jako agonista LHRH; desmopresin-acetat, vasopresin, 1-(3-merkaptopropanová kyselina)-8-D-Arg-, monoacetatová sůl, trihydrát, obsahující 9 aminokyselin, vhodný jako antidiuretikum; detirelix-acetat obsahující 10 aminokyselin a vhodný jako LHRH antagonist; dmorelin, 27-L-Leu-44a-Gly-hormon uvolňující růstový hormon (lidský); elkatonin, 1-butyrová kyselina-7-(L-2-aminobutyrová kyselina)-26-L-Asp-27-L-Val-29-L-Ala kalcitonin (lososí); emoktakin, interleukin 8 (lidský) obsahující 72 aminokyselin s dvěma Cys můstky; epoetin alfa, glykoprotein regulující tvorbu červených krvinek obsahující 165 aminokyselin, který je produkován ovariálními buňkami čínského křečka s insertovaným genem lidského erytropoetinu, a který je vhodný jako antianemikum a prostředek podporující tvorbu krve; ersefermin, rekombinantní lidský základní bazální fibroblastový růstový faktor (bFGF) obsahující 157 aminokyselin, neglykosylovaný lidský placentární protein klonovaný a exprimovaný *E.coli*, vhodný jako prostředek pro hojení ran; felypresin což je vasopresin 2-L-Phe-8-L-Lys, obsahující 9 aminokyselin, vhodný jako vazokonstrikční prostředek; filgrastim, jednoduchý polypeptid

obsahující řetězec 175 aminokyselin, neglykosylovaný, a exprimovaný E.coli, vhodný jako antineutropenní prostředek a hematopoetický stimulační prostředek; glukagon, protein s jednoduchým řetězcem o 29 aminokyselinách, vhodný jako antidiabetikum; gonadorelin-acetat, diacetatová sůl acetátové soli hormonu uvolňujícího luteinizační hormon obsahující 10 aminokyselin, vhodný jako gonádostimulační prostředek; goserelin, hormon uvolňující luteinizační hormon (prasečí) obsahující 9 aminokyselin, vhodný jako agonista LHRH; histrelin, hormon uvolňující luteinizační hormon (prasečí) obsahující 9 aminokyselin, vhodný jako LHRH agonista; imiglucerasa, 495-L-histidinglukosylceramidasový proteinový placentární isoenzym, vhodný jako doplněk glukocerebrosidasy; insulin dealaninovaný, derivát insulínu připravený odstraněním C-terminálního alaninu z B-řetězce insulínu, vhodný jako antidiabetikum; interferon alfa-2a, interferon αA (redukováná lidská leukocytová proteinová část), obsahující 165 aminokyselin, vhodný jako antineoplastikum a jako modifikátor biologické odezvy; interferon alfa-2b, interferon $\alpha 2b$ (lidský leukocytový klon Hif-SN206, redukováná proteinová část) obsahující 165 aminokyselin, rovněž vhodný jako antineoplastikum a jako modifikátor biologické odezvy; interferon beta-1a, glykosylovaný polypeptid obsahující 166 aminokyselinových zbytků, který se je produkovaný kultivací ovariálních buněk čínského křečka s vneseným genem pro lidský interferon beta, rovněž vhodný jako antineoplastikum a jako modifikátor biologické odezvy; interferon beta-1b, neglykosylovaný polypeptid obsahující 165 aminokyselinových zbytků produkovaný E.coli, který je vhodný jako imunomodulátor; interferon gama-1b, 1-139 interferon γ (lidský lymfocytový redukováný protein), N^2 -L-Met, vhodný jako antineoplastikum a jako imunomodulátor; iroplakt, N-methionyl-faktor 4 krevních destiček (lidská subjednotka) obsahující 71

aminokyselinových zbytků s dvěma Cys můstky; lanoteplasa, proteinový aktivátor tkáňového plasminogenu odvozený z lidského t-PA delecí domén podobných fibronektinu a EGF a mutací Asn 117 na Gln 117, produkovaný expresí DNA sekvence kódující peptidovou sekvenci v hostitelských buňkách savce, vhodný jako aktivátor plasminogenu a trombolytický prostředek; lanreotid-acetat, obsahující 8 aminokyselin a jeden disulfidový můstek, vhodný jako antineoplastikum; lenograstim, glykoprotein obsahující 174 aminokyselinových zbytků produkovaný v ovariálních buňkách čínského křečka expresí lidské c-DNA pro faktor stimulující granulocytové kolonie odvozené z mRNA buněčné linie dlaždicových buněk lidské dutiny ústní, který je vhodný jako antineutropenní prostředek a jako hematopoetický stimulační prostředek; lutrelin-acetat, hormon uvolňující luteinizační hormon (prasečí) obsahující 9 aminokyselin, vhodný jako agonista LHRH; molgramostim, faktor 2 pro stimulaci tvorby kolonií (lidský klon pHG₂₅, redukováná proteinová část) obsahující 127 aminokyselin, vhodný jako antineutropenní prostředek a jako hematopoetický stimulační prostředek; murodermin, epidermální růstový faktor (myší slinné žlázy); nafarelin-acetat, hormon uvolňující luteinizační hormon (prasečí) obsahující 9 aminokyselin, vhodný jako agonista LHRH; nagrestipen, 26-L-alaninlymfokin MiP 1 α (lidský klon pAT 464 zánětlivého makrofágu) obsahující 69 aminokyselin obsahující dva disulfidové můstky; pepstatin, N-(3-methyl-1-oxobutyl)-L-Val-L-Val-4-amino-3-hydroxy-6-methylheptanoyl-L-Ala-4-amino-3-hydroxy-6-methylheptanová kyselina, který je vhodný jako inhibitor enzymu pepsinu; pramlintid, protein obsahující 37 aminokyselin a jeden disulfidový můstek, který je vhodný jako antidiabetikum; lidský proinsulin, proinsulin (prasečí) obsahující 86 aminokyselinových zbytků a tři disulfidové můstky, vhodný jako antidiabetikum; sagramostim, faktor 2 pro stimulaci kolonií

(lidský klon pHG25 proteinová část), 23-L-Leu-, jednoduchý řetězec, glykosylovaný polypeptid obsahující 127 aminokyselinových zbytků exprimovaný *Saccharomyces cerevisiae*, vhodný jako antineutropenní prostředek a jako hematopoetický stimulační prostředek; somatotropiny přirozeně se vyskytující a syntetické, zahrnující rekombinantní somatotropiny odvozené od lidských a živočišných somatotropinů (růstových hormonů), zejména od hovězích a prasečích somatotropinů; somagrebov, somatotropin (hovězí redukovaný), 1-[N²-L-Met- α -Asp-L-glutamin]-, obsahující 191 aminokyselin, vhodný jako galaktopoetický prostředek zejména pro veterinární použití; somalapor, somatotropin (prasečí klon pPGH-1 redukovaný), N-L-alanyl-růstový hormon obsahující 191 aminokyselin vhodný jako hormon (růstový, prasečí); somatrem, somatotropin (lidský), N-L-Met- obsahující 191 aminokyselin a obsahující dva disulfidové můstky, vhodný jako růstový hormon; somatotropin, jednoduchý polypeptidový řetězec obsahující 191 aminokyselin s normální strukturou hlavního stimulačního hormonu získaného z předního laloku lidské hypofýzy, vhodný jako růstový hormon; somatotropin, dostupný v rekombinantní formě; somavubov, somatotropin (hovězí), 127-L-Leu, jeden ze čtyř přirozeně se vyskytujících strukturně molekulových variant v hovězím hypofyzárním somatotropinu, vhodný jako galaktopoetický prostředek; somenopor, somatotropin (prasečí klon pPGH-1 redukovaný), N-L-Ala-32-de-L-Glu-33-de-L-Arg-34-de-L-Ala-35-de-L-Tyr-36-de-L-Ile-37-de-L-Pro-38-de-L-Glu- obsahující 190 aminokyselin, vhodný jako vepřový růstový hormon; sometribov, somatotropin (hovězí), 1-L-Met-127-L-Leu- obsahující 191 aminokyselin, vhodný ve veterinářství jako stimulační prostředek růstu; sometripor, somatotropin (prasečí rekombinantní) C₉₇₉H₁₅₂₇N₂₆₅O₂₈₇S₈; somfasepor, somatotropin (prasečí rekombinantní) C₉₃₈H₁₄₆₅N₂₅₇O₂₇₈S₆; somidobov, somatotropin (hovězí rekombinantní) C₁₀₂₀H₁₅₉₆N₂₇₄O₃₀₂S₉; teprotid,

potenciátor bradykininu B, 2-L-Trp-3-de-L-Leu-4-de-L-Pro-8-L-glutamin obsahující 9 aminokyselin, vhodný jako inhibitor enzymu konvertujícího angiotenzin; teriparid, protein obsahující 34 aminokyselin vhodný jako inhibitor kostní resorpce a podpůrný prostředek v terapii osteoporózy; thymalfasin, thymosin $\alpha 1$ (hovězí) obsahující 28 aminokyselin, vhodný jako antineoplastikum, při léčbě hepatitidy a infekčních chorob a jako prostředek zvyšující účinnost vakcinace; thymopentin, pentapeptid, vhodný jako imunoregulátor; triptorelin, faktor uvolňující luteinizační hormon (prasečí), 6-D-Trp obsahující 10 aminokyselin, vhodný jako antineoplastikum; vapreotid obsahující 8 aminokyselin a jeden disulfidový můstek, vhodný jako antineoplastikum; vasopresin ve formě 8-L-Arg- nebo 8-L-Lys-, obsahující 9 aminokyselin a jeden disulfidový můstek, vhodný jako antidiuretický hormon; myoglobin; hemoglobin; β -laktoglobulin; imunoglobulin-G (IgG); antihemofilický faktor (faktor VIII); lysozym; ubiquitin; faktor aktivující krevní destičky (PAF); tumor necrosis faktor- α (TNF- α); tumor necrosis faktor- β (TNF- β); makrofágový zánětlivý protein (MIP); heparin; eosinofilní kationtový protein (ECP); rekombinantní faktor IX; monoklonální protilátka pro nehodgkinský B-buněčný lymfom; interferon alfa, vhodný pro léčbu hepatitidy C; a umělá kůže na základě fibroblastů pro léčbu ran a spálenin.

5. Způsob podle nároku 1 v y z n a č u j í c í s e t í m , že uvedené podmínky účinně zajišťují aby uvedená kondenzační reakce proběhla v podstatě kvantitativně a zahrnují:

a) podmínky, při nichž dochází k převodu veškeré vody přítomné v kapalně fázi do plynné nebo do pevné fáze, čímž dochází k odstranění vody z uvedeného vodného prostředí uvedené kondenzační reakce; a

b) podmínky, které optimalizují vstup energie do uvedeného procesu pro potřebné, co nejúčinnější oddělení vody z uvedeného vodného prostředí ve kterém kondenzační reakce probíhá, včetně vody vzniklé uvedenou kondenzační reakcí od vstupních složek reakce a konečného kondenzačního aduktu.

6. Způsob podle nároku 5 v y z n a č u j í c í s e t í m , že uvedené podmínky zajišťují převod veškeré přítomné vody z kapalné fáze do plynné fáze a optimalizují vstup energie do uvedeného procesu při teplotách nad 0 °C a zahrnují a) zahřátí reakční směsi v uvedeném vodném prostředí na co nejvyšší teplotu, která je konsistentní se zachováním integrity uvedené proteinové výchozí složky a uvedeného konečného kondenzačního aduktu, a stejně tak je konsistentní s optimálními účinnostmi a ekonomickým provedením uvedeného způsobu přípravy zahrnujícího tuto kondenzační reakci; b) rozdělení uvedené reakční směsi obsažené v uvedeném vodném prostředí do co nejmenších kapek při zachování integrity uvedené proteinové výchozí složky reakce a uvedeného konečného kondenzačního aduktu, a které je rovněž v souladu s optimálními účinnostmi a ekonomickým provedením uvedeného způsobu přípravy zahrnujícího tuto kondenzační reakci; a c) udělení vzniklým kapkám co nejvyšší relativní rychlost vzhledem k inertnímu plynu kterým procházejí při zachování integrity uvedené proteinové výchozí složky reakce a uvedeného konečného kondenzačního aduktu, a rovněž v souladu s optimálními účinnostmi a ekonomickým provedením uvedeného způsobu přípravy zahrnujícího tuto kondenzační reakci.

7. Způsob podle nároku 6 v y z n a č u j í c í s e t í m , že uvedené rozdělení reakční směsi do kapek se provede pomocí rozprašovacího zařízení obsahujícího každou vhodnou kombinaci

vysokotlakých generátorů toku plynu ve spojení s dispergačními prostředky a vysokotlakými čerpadly a souvisejícími tryskami.

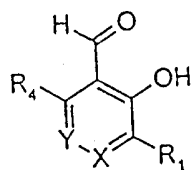
8. Způsob podle nároku 6 v y z n a č u j í c í s e t í m , že uvedené rozdělení reakční směsi do kapek se provede mechanickým účinkem vyvolaným rychle rotujícím diskem na jehož povrch se zavádí vodný tok obsahující každou ze vstupních složek reakce, přičemž vodný tok je veden přes disk způsobem, při kterém je vypuzován z okraje disku ve formě kapek, a celý proces probíhá za podmínek teploty, vlhkosti a tlaku nastavených tak, aby došlo k eliminaci od asi 97,0 % do asi 99,9 % hmotnostních, výhodně od asi 98,0 % do asi 99,0 % hmotnostních vody již přítomné nebo vzniklé během uvedené kondenzační reakce, způsobem konsistentním pro zachování integrity vstupních složek kondenzační reakce a konečného aduktu, a zajišťujícím stupeň konverze na uvedený konečný kondenzační adukt, tj. výsledný výtěžek uvedeného konečného kondenzačního aduktu rovný nebo větší než asi 98,5 % hmotnostních, výhodně rovný nebo větší než asi 99,5 % hmotnostních vztažených na hmotnost vstupních složek reakce.

9. Způsob podle nároku 5 v y z n a č u j í c í s e t í m , že uvedené podmínky zajišťují převod veškeré přítomné vody z kapalně fáze do pevné fáze a optimalizují vstup energie do uvedeného procesu při teplotách 0 °C a nižších a zahrnují a) ochlazení uvedené reakční směsi v uvedeném vodném prostředí na teplotu dostatečnou k zmrazení v podstatě veškeré volné vody obsažené v kapalném stavu v uvedeném vodném prostředí, přičemž uvedená teplota je konsistentní se zachováním integrity výchozí proteinové složky reakce a konečného kondenzačního aduktu, a stejně tak je ve shodě s optimálními účinnostmi a ekonomickým provedením uvedeného způsobu přípravy zahrnujícího uvedenou kondenzační reakci; b) podrobení takto ochlazené reakční směsi ve zmrazeném vodném prostředí

sníženému tlaku v přítomnosti plynu inertního k této směsi, za podmínek konsistentních se zachováním integrity výchozí proteinové složky reakce a uvedeného konečného kondenzačního aduktu, a konsistentních s optimálními účinnostmi a ekonomickým provedením uvedeného způsobu přípravy zahrnujícího uvedenou kondenzační reakci.

10. Kondenzační adukt který je Schiffovou bází obsahující protein a aromatický o-hydroxyaldehyd, připravený kondenzační reakcí za podmínek které vedou k odstranění od asi 97,0 % do asi 99,9 % hmotnostních, výhodně od asi 98,0 % do asi 99,0 % hmotnostních vody již přítomné nebo vzniklé během uvedené kondenzační reakce, které jsou konsistentní se zachováním integrity vstupních složek kondenzační reakce a konečného aduktu, a se zajištěním stupně konverze na uvedený konečný kondenzační adukt, tj. výsledného výtěžku uvedeného konečného kondenzačního aduktu rovného nebo většího než asi 98,5 % hmotnostních, výhodně rovného nebo většího než asi 99,5 % hmotnostních vztažených na hmotnost vstupních složek reakce.

11. Adukt podle nároku 10, ve kterém uvedený aromatický o-hydroxyaldehyd je jedna nebo více sloučenin obecného vzorce (1):



(1.)

kde

R_1 a R_4 každý znamená skupinu nezávisle zvolenou ze skupiny především zahrnující vodík; hydroxy; halogen; nitro; kyan; trifluormethyl; (C_1-C_6) alkyl; (C_1-C_6) alkoxy; (C_3-C_6) cykloalkyl; (C_2-C_6) alkenyl; $-C(=O)OR_7$; $-OC(=O)R_7$; $-S(=O)_2-S(=O)_2N(R_7)(R_9)$; $-S(=O)_2R_7$; $-S(=O)_2OR_7$; $-C(=O)NR_7R_9$;

$-C(=O)R_9$; a $-N(R_7)(R_9)$, kde R_7 znamená vodík nebo (C_1-C_4) alkylovou skupinu a R_9 znamená (C_1-C_4) alkylovou skupinu;

kde uvedená alkylová, cykloalkylová a alkenylová skupina ve významu R_1 a R_4 může být případně každá nezávisle substituovaná jedním nebo dvěma substituenty které znamenají skupinu ze skupiny především zahrnující halogen; hydroxy; (C_1-C_2) alkyl; (C_1-C_2) alkoxy; (C_1-C_2) alkoxy- (C_1-C_2) alkyl; (C_1-C_2) alkoxykarbonyl; karboxy; (C_1-C_2) alkylkarbonyloxy; nitro; kyan; aminoskupinu disubstituovanou (C_1-C_2) alkylovou skupinou; sulfonyl; a sulfonamidoskupinu disubstituovanou (C_1-C_2) alkylovou skupinou;

X a Y každý nezávisle znamenají N nebo CHR_2 respektive CHR_3 , kde R_2 a R_3 znamenají skupinu nezávisle zvolenou ze skupiny především zahrnující vodík; hydroxy; halogen; nitro; kyan; trifluormethyl; (C_1-C_6) alkyl; (C_1-C_6) alkoxy; (C_3-C_6) cykloalkyl; (C_2-C_6) alkenyl; $-C(=O)OR_{11}$; $-OC(=O)R_{11}$; $-S(=O)_2$; $-S(=O)_2N(R_{11})(R_{13})$; ; a $-N(R_{11})(R_{13})$, kde R_{11} znamená vodík nebo (C_1-C_4) alkylovou skupinu a R_{13} znamená (C_1-C_4) alkylovou skupinu; přičemž uvedená alkylová, cykloalkylová a alkenylová skupina ve významu R_2 a R_3 může být každá nezávisle případně substituovaná jedním nebo dvěma substituenty které znamenají skupinu ze skupiny zahrnující především halogen; hydroxy; (C_1-C_2) alkyl; (C_1-C_2) alkoxy; (C_1-C_2) alkoxy- (C_1-C_2) alkyl; (C_1-C_2) alkoxykarbonyl; karboxy; (C_1-C_2) alkylkarbonyloxy; nitro; kyan; aminoskupinu disubstituovanou (C_1-C_2) alkylovou skupinou; sulfonyl; a sulfonamidoskupinu disubstituovanou (C_1-C_2) alkylovou skupinou.

12. Adukt podle nároku 11, kde uvedený aromatický o-hydroxyaldehyd je o-vanilin; salicylaldehyd; 2,3-dihydroxybenzaldehyd; 2,6-dihydroxybenzaldehyd, 2-hydroxy-3-ethoxybenzaldehyd; nebo pyridoxal.

13. Adukt podle nároku 11, kde uvedený protein mající prospěšné účinky na živočichy je jeden nebo více proteinů zvolených ze skupiny uvedené v nároku 4.

14. Způsob podle nároku 4 v y z n a č u j í c í s e t í m , že uvedený protein mající prospěšné účinky pro živočichy je protein, zvolený ze skupiny zahrnující především prasečí somatotropin přirozeného původu; somalapor, somatotropin (prasečí klon pPGH-1, redukovaný), N-L-alanyl-růstový hormon obsahující celkem 191 aminokyselin; somenopor, somatotropin (prasečí klon pPGH-1 redukovaný), N-L-Ala-32-de-L-Glu-33-de-L-Arg-34-de-L-Ala-35-de-L-Tyr-36-de-L-Ile-37-de-L-Pro-38-de-L-Glu- obsahující 190 aminokyselin; somatotropin (prasečí rekombinantní) $C_{979}H_{1527}N_{265}O_{287}S_8$; a somfasepor, somatotropin (prasečí rekombinantní) $C_{938}H_{1465}N_{257}O_{278}S_6$.

15. Adukt podle nároku 13 ve kterém uvedený protein mající prospěšné účinky pro živočichy je protein zvolený ze skupiny zahrnující především prasečí somatotropin přirozeného původu; somalapor, somatotropin (prasečí klon pPGH-1, redukovaný), N-L-alanyl-růstový hormon obsahující celkem 191 aminokyselin; somenopor, somatotropin (prasečí klon pPGH-1 redukovaný), N-L-Ala-32-de-L-Glu-33-de-L-Arg-34-de-L-Ala-35-de-L-Tyr-36-de-L-Ile-37-de-L-Pro-38-de-L-Glu- obsahující 190 aminokyselin; somatotropin (prasečí rekombinantní) $C_{979}H_{1527}N_{265}O_{287}S_8$; a somfasepor, somatotropin (prasečí rekombinantní) $C_{938}H_{1465}N_{257}O_{278}S_6$.