

# PŘIHLÁŠKA VYNÁLEZU

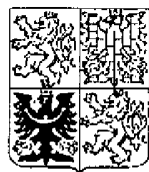
zveřejněná podle § 31 zákona č. 527/1990 Sb.

(21) Číslo dokumentu:

**2396-97**

(19)

ČESKÁ  
REPUBLIKA



ÚŘAD  
PRŮMYSLOVÉHO  
VLASTNICTVÍ

(22) Přihlášeno: **28. 07. 97**

(32) Datum podání prioritní přihlášky: **30.07.96**

(31) Číslo prioritní přihlášky: **96/023322**

(33) Země priority: **US**

(40) Datum zveřejnění přihlášky vynálezu: **15. 04. 98**  
(Věstník č. 4/98)

(13) Druh dokumentu: **A3**

(51) Int. Cl.<sup>6</sup>:

**C 07 K 14/635**  
**A 61 K 38/29**

(71) Přihlášovatel:

F. HOFFMANN - LA ROCHE AG, Basle, CH;

(72) Původce:

Arzeno Humberto chem., Cupertino, CA, US;

(74) Zástupce:

Hořejš Milan Dr. Ing., Národní 32, Praha 1,  
11000;

(54) Název přihlášky vynálezu:

**Způsob přípravy syntetického polypeptidového analogu parathyroidního hormonu nebo peptidu příbuzného parathyroidnímu hormonu a farmaceutický prostředek, který tyto produkty obsahuje**

(57) Anotace:

Způsob přípravy syntetických polypeptidových analogů parathyroidního hormonu nebo z parathyroidního hormonu odvozeného peptidu, nebo jeho soli, kde aminokyselinové zbytky /22-31/ tvoří amfipatickou alfa-šroubovici, při kterém se a/ nezávisle syntetizují prekursorové peptidové fragmenty polypeptidu roztokovou technikou v pevné fázi, b/ kondenzují se takové fragmenty navzájem k vytvoření požadovaného polypeptidového produktu a c/ odstraňují se skupiny chránící aminokyselinu. Produkty jsou vhodné pro ošetřování osteoporosy.

CZ 2396-97 A3

01-1550-97-Ho

Způsob přípravy syntetického polypeptidového analogu parathyroidního hormonu nebo z parathyroidního hormonu odvozeného peptidu a farmaceutického prostředku který tyto peptidy obsahuje

#### Oblast techniky

Vynález se týká způsobu přípravy analogů parathyroidního hormonu a peptidu příbuzného parathyroidnímu hormonu, které jsou užitečné pro ošetřování osteoporosy.

#### Dosavadní stav techniky

Osteoporosa je nejběžnější formou metabolického onemocnění kostí a projevuje se stadiem zlomenin v důsledku ztráty kostní hmoty (osteopenie). Jakkoliv se osteoporosa může vyskytovat jako sekundární při četných nemocech, je 90 % všech případů idiopatická. U postmenopauzálních žen je zvláštní nebezpečí pro idiopatickou osteoporosu (osteoporosa postmenopauzální nebo typu I). Další velkým seskupením nebezpečí pro idiopatickou osteoporosu je stránutí obou pohlaví (senilní osteoporosa typu II). Osteoporosa může také souviset s užíváním kortikosteroidů, se znehybněním nebo s prodlouženým setrváváním na lůžku, s alkoholismem, s diabetes, s gonadotoxickou chemoterapií, s hyperprolaktinemií, s anorexií nervozou, s primární a se sekundární amenorrhea a se stavem po chirurgickém odejmutí vaječníků.

Z různých forem osteoporosy dochází nejčastěji ke zlomeninám kostí, které jsou výsledkem ztráty kostní hmoty až do stupně mechanického zeslabení. Postmenopauzální osteoporosa je charakterizována zlomeninami zápěstí a páteře, zatímco zlomeniny stehenního krčku se zdají být dominantními zlomeninami

v případě senilní osteoporosy.

Mechanismus, kterým se kost ztrácí při osteoporose, je pravděpodobně nerovnováha procesu, kterým se kostra sama obnovuje. Tento proces se označuje jako přestavba kosti. Dochází k němu v řadě oddělených míst aktivity. Tato místa aktivity se spontánně objevují v kostní matrici na daném povrchu kosti jakožto místa kostní resorpce. Osteoclasty (buňky rozpouštějící nebo resorbující kost) jsou zodpovědné za resorpci části kosti v obecně konstantní míře. Proces resorpce je následován výskytem osteoblastů (buňky vytvářející kost), které vyplňují nové kostní dutiny zanechané osteoclasty.

V případě zdravých dospělých jedinců je míra, kterou se vytvářejí osteoclasty a osteoblasty taková, že vytváření a resorpce kosti jsou v rovnováze. V případě osteoporosy dochází k nerovnováze v přestavbě kosti, což vede ke ztrátě kosti větší rychlostí, než kterou se kost vytváří. Jakkoliv k této nerovnováze dochází u většiny jedinců při jejich stárnutí, je mnohem závažnější a přichází v mladším věku v případě postmenopauzální osteoporosy nebo po chirurgickém odejmutí vaječníků.

Adachi a kol. (Seminars in Arthritis and Rheumatism, 22: 6, str. 375 až 384, červen 1993) uvádějí, že přes četné konfliktní údaje, týkající se pathofysiologie kortikosteroidem navozené osteoporosy, je obecná shoda, že dochází k relativnímu poklesu vytváření kosti a k relativnímu vzrůstu resorce kosti. Ztráta kosti, která vede ke zlomeninám a osteonekrosám jsou častým důsledkem kortikosteroidní terapie. Je zřejmé, že ke ztrátě kosti dochází rychleji v prvních 6 až 12 měsících kortikosteroidní terapie. Jeví se také úzký vztah mezi rychlostí ztráty kosti a dávkou kortikosteroidu. Muži jsou stejně citliví na působení kortikosteroidů. Zjištěný výskyt zlomenin a osteonekrosy je 30 až 50 %.

Byly četné snahy ošetřovat osteoporosu s cílem buď zpomalit další ztrátu kosti nebo, což je více žádoucí, dosáhnout čistého vzrůstu kostní hmoty. Zdá se, že určitá činidla, například estrogen a bisfosfonáty zpomalují další ztrátu kostní hmoty při osteoporose. Činidla, která zpomalují ztrátu kostní hmoty v důsledku různého trvání resorpce a vytváření kosti, se mohou jevit jako podporující vytváření kostní hmoty (řádově o 3 až 7 %). Tento zdánlivý vzrůst je však časově omezen, není progresivní a je způsobem poklesem "prostoru přestavby kosti". Kromě toho v důsledku těsného vztahu mezi resorpcí a vytvářením kosti, ošetření bránící resorpci kosti také brání vytváření kosti.

Bylo navrženo ošetřování parathyroidním hormonem (PTH), které by mělo vést ke vzrůstu obnovy kosti a k pozitivní rovnováze vápníku. Avšak klinické zkoušky na lidech ukázaly, že nedochází k žádnému vzrůstu trámcovité kosti při poklesu kortikální kosti, takže nedochází k žádnému čistému přírůstku kostní hmoty.

Hefti a kol. (Clinical Science 62, str. 389 až 396, 1982) uvádějí, že denní subkutanní dávky buď bPTH(1-84) nebo hPTH(1-34) zvyšují celkový vápník v těle a hmotnost popela jednotlivých kostí jak u normálních tak u osteoporetických dospělých krysích samic.

Liu a kol. (J. Bone Miner. Res. 6, 10, str. 1071 až 1080, 1991) uvádějí, že odejmutí vaječníků dospělým krysím samicím navozuje 47% ztrátu trámcovité kosti v proximální růstové části holení kosti, spojenou s výrazným vzrůstem počtu osteoblastů a trámcovitých osteoclastů. Denní subkutanní vstřikování hPTH(1-34) dokonale obrací ztrátu trámcovité kosti a vede k vyššímu vzrůstu trámcovité kosti než u kontrolních zkoušek. Vyrůstá počet osteoblastů a klesá počet osteoclastů.

Hock a kol. (J. Bone Min. Res. 7, 1, str. 65 až 71, 1992) uvádějí, že denní subkutanní vstřikování hPTH(1-34) zdravým dospělým krysím samcům po dobu 12 dní zvyšuje obsah vápníku trámcovité a kortikální kosti a suchou hmotnost. Celková kostní hmota, objem trámcovité kosti, tloušťka a počet trámců a osteoblastických povrchů vzrůstají.

Savčí parathyroidní hormony, například lidský (hPTH), hovězí (bPTH), a veřosvý (pPTH) jsou jednoduché polypeptidové řetězce 84 aminokyselinových zbytků, s molekulovou hmotností přibližně 9500. Biologická aktivita je spojena s N-koncovým podílem se zbytky (1-34) zdánlivě minimálně potřebnými.

N-Koncový segment lidského PTH se liší od N-koncového segmentu hovězího a vepřového hormonu pouze třemi a dvěma aminokyselinovými zbytky:

hPTH(1-34):

|     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |
|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|
| Ser | Val | Ser | Glu | Ile | Gln | Leu | Met | His | Asn | Leu | Gly | Lys | His | Leu |
| 1   |     |     |     | 5   |     |     |     |     | 10  |     |     |     |     | 15  |
| Asn | Ser | Met | Glu | Arg | Val | Glu | Trp | Leu | Arg | Lys | Lys | Leu | Gln | Asp |
|     |     |     |     | 20  |     |     |     |     | 25  |     |     |     |     | 30  |

Val His Asn Phe (SEQ ID NO:1);

bPTH(1-34):

|     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |
|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|
| Ala | Val | Ser | Glu | Ile | Gln | Phe | Met | His | Asn | Leu | Gly | Lys | His | Leu |
| 1   |     |     |     | 5   |     |     |     |     | 10  |     |     |     |     | 15  |
| Ser | Ser | Met | Glu | Arg | Val | Glu | Trp | Leu | Arg | Lys | Lys | Leu | Gln | Asp |
|     |     |     |     | 20  |     |     |     |     | 25  |     |     |     |     | 30  |

Val His Asn Phe (SEQ ID NO:2);

pPTH(1-34):

|     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |
|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|
| Ser | Val | Ser | Glu | Ile | Gln | Leu | Met | His | Asn | Leu | Gly | Lys | His | Leu |
| 1   |     |     |     | 5   |     |     |     |     | 10  |     |     |     |     | 15  |
| Ser | Ser | Leu | Glu | Arg | Val | Glu | Trp | Leu | Arg | Lys | Lys | Leu | Gln | Asp |
|     |     |     |     | 20  |     |     |     |     | 25  |     |     |     |     | 30  |

Val His Asn Phe (SEQ ID NO:3).

Primární funkcí PTH je navodit adaptivní změny, které slouží k udržení konstantní koncentrace vápenatých iontů v extracelulární kapalině. PTH působí na ledviny ke zvýšení tubulární reabsorpce vápenatých iontů z moče a ke stimulaci kon-

verze kalcifediolu na kalcitriol, který je zodpovědný za absorpci vápenatých iontů ze střev. Jedním prominentním účinkem je podporovat mobilizaci kostních vápenatých iontů. PTH působí na kosti ke zvyšování stupně resorpce vápenatých iontů a fosfátu. PTH stimuluje míru kostní resorpce osteoklasty, zvyšuje míru diferenciaci mesenchymálních buněk na osteoclasty a prodlužuje poločas osteoclastů. S prodlouženým působením PTH počet kost vytvářejících osteoblastů se rovněž zvyšuje; tudíž se podporuje míra obnovy a přestavby kosti. Avšak individuální osteoblasty se jeví jako méně aktivní než normálně.

Rosenblatt a kol. (americký patentový spis číslo 4 423037, 4 968669 a 5 001223) popisují PTH antagonisty získané vypuštěním N-koncových (1-6) aminokyselin a selektivní náhradu Phe<sup>7</sup>, Met<sup>8,18</sup> a Gly<sup>12</sup>. Uvádí se, že Tyr<sup>34</sup>-NH<sub>2</sub> zvyšuje aktivitu a stabilitu těchto sloučenin.

Parathyroidní peptid odvozený od hormonu (PTHrp), 140+ protein aminokyseliny a jeho fragmenty reprodukuje hlavní biologické působení PTH. PTHrp je elaborován četnými lidskými a zvířecími nádory a jinými tkáněmi a může hrát úlohu při hyperkalcemii zhoubného bujení. Sekvence hPTHrp (1-34) je následující:

|                               |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |
|-------------------------------|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|
| Ala                           | Val | Ser | Glu | His | Gln | Leu | Leu | His | Asp | Lys | Gly | Lys | Ser | Ile |
| 1                             |     |     |     | 5   |     |     |     |     | 10  |     |     |     |     | 15  |
| Gln                           | Asp | Leu | Arg | Arg | Arg | Phe | Phe | Leu | His | His | Leu | Ile | Ala | Glu |
|                               |     |     |     | 20  |     |     |     |     | 25  |     |     |     |     | 30  |
| Ile His Thr Ala (SEQ ID č:4). |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |

Sekvence homologie mezi hPTH a hPTHrp je silně omezena na 13 N-koncových zbytků, z nichž 8 je identických; V hPTHrp je zachována pouze 1 z 10 aminokyselin ve (25-34) receptorové vazebné oblasti hPTH. Konformační podobnost může podléhat společné aktivitě. Cohen a kol. (J. Biol. Chem. 266, 3, str. 1997 až 2004, 1991) uvádí, že velká část sekvence PTH(1 - 34) a

PTHrp (1 - 34) ve zvláštních oblastech (5-18) a (21-24) zaujímá šroubovitou konfiguraci, přičemž se uvádí, že jsou určité pochybnosti, zda tato konfigurace převládá na karbonylovém zakončení za fyziologických podmínek. Taková sekundární struktura může mít význam pro lipidové interakce, receptorové interakce a/nebo strukturální stabilizaci.

Analogy PTH a PTHrp se zlepšenými terapeutickými vlastnostmi z hlediska restaurování kostní hmoty u savců, včetně postižených osteoporosou jsou již popsány v mezinárodním patentovém spise číslo WO 94/01460.

#### Podstata vynálezu

Způsob přípravy syntetických polypeptidových analogů parathyroidního hormonu (PTH) nebo z parathyroidního hormonu odvozeného peptidu (PTHrP), nebo jeho soli, kde aminokyselinové zbytky (22-31) tvoří amfipatickou alfa-šroubovici, přičemž uvedené zbytky (22-31) jsou voleny ze (SEQ ID č. 85, 86, 26, 27, 28, 29 a 30), spočívá podle vynálezu v tom, že

- a) nezávisle syntetizují prekursorové peptidové fragmenty polypeptidu roztokovou technikou nebo technikou v pevné fázi,
- b) kondenzují se takové fragmenty navzájem k vytvoření požadovaného polypeptidového produktu a
- c) odstraňují se skupiny chránící aminokyselinu.

Podle jednoho provedení způsobu podle vynálezu je sled operací:

- a) nezávislá syntetizace prekursorových peptidových fragmentů polypeptidu na pryskyřičných nosičích,
- b) odštěpení fragmentů polypeptidu od jejich příslušných pryskyřičných nosičů,
- c) následné kondenzování uvedených fragmentů k vytvoření

požadovaného polypeptidového produktu a

d) odstranění chránících aminokyselinových skupin.

Podle výhodného provedení se všechny polypeptidy až na C-koncový fragment odštěpí od jejich příslušných pryskyřičných nosičů, c) tyto fragmenty se následně kondenzují s pryskyřicí vázaným C-koncovým fragmentem, k vytvoření žádoucího polypeptidového produktu, d) odstraní se skupiny chránících aminokyselin a polypeptidový produkt se odštěpí od pryskyřičného nosiče.

Podle výhodného provedení se způsob provádí se třemi prekursorovými peptidovými fragmenty: s N-koncovým fragmentem, se středním fragmentem a s C-koncovým fragmentem. Podle ještě výhodnějšího provedení mají fragmenty na svých C-zakončeních zbytek glutamové kyseliny, glycinu nebo leucinu, pokud je konsistentní se sekvencí požadovaného výsledného polypeptidu. Podle nejvýhodnějšího provedení se polypeptidový produkt připravuje ze tří prekursorových peptidových fragmentů, z N-koncového fragmentu, ze středního fragmentu a z C-koncového fragmentu, kde N-koncový fragment má jako C-zakončení Gly, střední fragment má na svém C-zakončení Leu a C-koncový fragment má Leu jako své N-zakončení. Podle alternativního provedení má střední peptidový fragment C-zakončení Glu a C-koncový fragment má N-zakončení Leu.

Způsob přípravy léčiva, spočívá podle vynálezu v tom, že se provádí

- nezávislá syntetizace prekursorových peptidových fragmentů polypeptidu roztokovou technikou nebo technikou v pevné fázi,
- kondensování takových fragmentů navzájem k vytvoření požadovaného polypeptidového produktu a
- odstranění chránících skupin aminokyselin



jako pro přípravu PTM nebo PTMrP analogu a získaný analog PTM nebo PTMrP se smísí s jedním nebo s několika farmaceuticky přijatelnými přísadmi, přičemž způsob slouží k přípravě farmaceutického prostředku pro léčení osteoporózy, obzvláště pro léčení zlomenin.

Zkratky různých známých nukleotidových zásad a aminokyselin jsou podle Pure Appl.Chem. 31, str.639 až 645 (1972) a 40, str. 277 až 290, (1974) a IUPAC-IUB Biochemical Nomenclature Commission, doplněk 37 CFR §1.822 (55 FR 18245, 1. květen 1990). Třípísmenové symboly a jednopísmenové symboly mají následující význam:

Aminokyselina      Třípísmenový symbol      Jednopísmenový symbol

|                     |     |   |
|---------------------|-----|---|
| Alanin              | Ala | A |
| Arginin             | Arg | R |
| Asparagin           | Asn | N |
| Kyselina asparagová | Asp | D |
| Asn + Asp           | Asx | B |
| Cystein             | Cys | C |
| Glutamin            | Gln | Q |
| Kyselina glutamová  | Glu | E |
| Gln + Glu           | Glx | Z |
| Glycin              | Gly | G |
| Histidin            | His | H |
| Isoleucin           | Ile | I |
| Leucin              | Leu | L |
| Lysin               | Lys | K |
| Methionin           | Met | M |
| Phenylalanin        | Phe | F |
| Prolin              | Pro | P |
| Serin               | Ser | S |
| Threonin            | Thr | T |
| Tryptophan          | Trp | W |

|                     |     |   |
|---------------------|-----|---|
| Tyrosin             | Tyr | Y |
| Valin               | Val | V |
| Další aminokyseliny | Xaa | X |

Zkratky představují L-aminokyseliny, pokud není uvedeno jinak jako D- nebo D,L-. Některé aminokyseliny, jak přírodní tak nepřírodní jsou achirální, například glycin. Všechny peptidové sekvence jsou uváděny s aminokyselinovým N-zakončením na levé straně a s aminokyselinovým C-zakončením na pravé straně.

Dalšími zde používanými zkratkami pro další aminokyseliny a sloučeniny jsou:

|         |                     |
|---------|---------------------|
| hSer    | homoserin           |
| hSerlac | homoserinový lakton |
| Nle     | norleucin.          |

Označení "fyziologicky aktivní komolý analog PTH nebo PTHrp" se vztahuje k polypeptidu majícímu sekvence zahrnující méně než plný celek aminokyselin, zjištěný v PTH nebo PTHrp, který však vyvolává podobnou fyziologickou odezvu. Zkomolené PTH nebo PTHrp nemusí být plně homologické s PTH nebo PTHrp k vyvolání podobné fyziologické odezvy. Přednost se dává PTH (1-34) a PTHrp (1-34), nikoli však výlučně, reprezentantům této skupiny.

Označení "amfipatická alfa-šroubovice" se vztahuje k sekundární struktuře vytvářené určitými polypeptidy, ve které aminokyseliny zaujímají alfa-šroubovicovou konfiguraci mající protilehlá polární a nepolární čela orientovaná ve směru podélné osy šroubovice. Pravděpodobnost alfa-šroubovicové struktury ve sledovaném polypeptidu může být do jisté míry vysledována konstrukcí "Schiffer-Edmundsonova kola" (M. Schiffer a A. B. Edmundson, Biophys.J. 7, str. 121, 1967) se vhodnou roztečí a konstatováním segregace hydrofilních a lipofilních zbytků

na protilehlých podstavách válce obalujícího šroubovici. Alternativně může být k dispozici empirický poznatek, jako je kruhový dichroismus dat rentgenové difrakce, naznačující přítomnost alfa-šroubovitě oblasti v daném polypeptidu. Ideální alfa-šroubovice má na jeden závit 3,6 zbytků aminokyselin s přílehlými bočními řetězci oddělenými  $100^\circ$  oblouku. Eisenberg a kol. (Nature 299, str. 371 až 374, 1982; a Proc. Nat. Acad. Sci. USA 81, str. 140 až 144 (1984) zkombinovali měřítko hydrofobicity se šroubovým kolem ke kvantifikování pojetí amfipatických šroubovic. Střední hydrofobní moment je definován jako vektorový součet hydrofobicity složky aminokyselin tvořících šroubovici.

Následující hydrofobicity pro aminokyseliny nazval Eisenberg (1984) jako "consensus scale" (dohodnuté měřítko): Ile 0,73, Phe 0,61, Val 0,54, Leu 0,53, Trp 0,37, Met 0,26, Ala 0,25, Gly 0,16, Cys 0,04, Tyr 0,02, Pro -0,07, Thr -0,18, Ser -0,26, His -0,40, Glu -0,62, Asn -0,64, Gln -0,69, Asp -0,72, Lys -1,10, Arg -1,76.

Hydrofobní moment  $\mu_H$  pro ideální šroubovici mající 3,6 zbytků na závit (nebo oblouk  $100^\circ$  ( $=360^\circ/3,6$ ) mezi bočními řetězci) lze vypočítat z rovnice:

$$\mu_H = \left[ \left( \sum H_N \sin \theta(N-1) \right)^2 + \left( \sum H_N \cos \theta(N-1) \right)^2 \right]^{1/2},$$

kde  $H_N$  je hodnota hydrofobicity N-té aminokyseliny a součty jsou provedeny přes N aminokyselin v sekvenci s periodicitou  $\theta = 100^\circ$ . Hydrofobní moment lze vyjádřit jako střední hydrofobní moment na zbytek podělením  $\mu_H$  číslem N k získání  $\langle \mu_H \rangle$ . Hodnota  $\langle \mu_H \rangle$  při  $100^\circ$  N  $20^\circ$  přibližně 0,20 nebo větší je určující pro vytvoření amfipatické šroubovice. Hodnota  $\langle \mu_H \rangle$  při  $100^\circ$  pro hPTHrp (22-31) je 0,19 a pro hPTH (22-31) je 0,37.

Cornett a kol. (J. Mol. Biol. 195, str. 659 až 685, 1987)

rozšířil dále studii amfipatických alfa-šroubovic zavedením pojmu "amfipatický index" jako předvídač amfipacity. Dospěli k závěru, že přibližně polovina všech známých alfa-šroubovic je amfipatická, a že převládá frekvence  $97,5^\circ$  spíše než  $100^\circ$ , přičemž počet zbytků na závit je blíže k 3,7 než 3,6. I když jsou takové jemnosti vědecky zajímavé, je základní přístup Eisenberga a kol. postačující ke klasifikaci dané sekvence jako amfipatické, obzvláště když se kreslí sekvence "ab initio" k vytvoření amfipatické alfa-šroubovice.

Substituční amfipatická sekvence alfa-šroubovicové aminokyseliny postrádá homologii se sekvencí daného segmentu přírodně se vyskytujícího polypeptidu, ale vyvolává podobnou sekundární strukturu, například alfa-šroubovici mající protilehlá polární a nepolární čela ve fyziologickém prostředí. Náhrada přírodně se vyskytující sekvence aminokyselin alternativní sekvencí může příznivě ovlivnit fyziologické působení, stabilitu nebo jiné vlastnosti zaměřovaného původního polypeptidu. Vodítkem ke konstruování a výběr takových sekvencí je literatura (například J.L. Krstenansky a kol. FEBS Letters 242, 2, str. 409 až 413, 1989) a J.P. Segrest a kol. Proteins: Structure, Function and Genetics 8, str. 103 až 117 1990).

Vhodným způsobem, jak zjistit, že sekvence je dostatečně amfipatická, aby byla sekvencí podle tohoto vynálezu, je vypočtení středního hydrofobního momentu uvedeného shora. Jestliže vrchol středního momentu pro zbytek při  $100^\circ$  a  $20^\circ$  přesáhne přibližně 0,20, pak sekvence vytvoří amfipatickou šroubovici a je sekvencí podle tohoto vynálezu. Například střední hydrofobní moment pro zbytek při  $100^\circ$  pro (SEQ ID č.:26), Xaa = Glu, se vypočte takto:

| A.A. | $H_N$ | $\partial(N-1)$ | $H \sin \partial(N-1)$ | $H \cos \partial(N-1)$ |
|------|-------|-----------------|------------------------|------------------------|
| E    | -,62  | 0               | 0                      | -,62                   |
| L    | ,53   | 100             | ,52                    | -,17                   |
| L    | ,53   | 200             | -,18                   | -,50                   |
| E    | -,62  | 300             | ,34                    | -,31                   |
| K    | -1,1  | 400             | -,70                   | -,85                   |
| L    | ,53   | 500             | ,34                    | -,41                   |
| L    | ,53   | 600             | -,46                   | -,27                   |
| E    | -,62  | 700             | ,21                    | -,58                   |
| K    | -1,1  | 800             | -1,08                  | -,19                   |
| L    | ,53   | 900             | 0                      | -,53                   |
|      |       |                 | $\Sigma=0,81$          | $\Sigma=-4,43$         |

$$\mu_H = [(0,81)^2 + (-4,43)^2]^{1/2} = 4,50$$

$$< \mu_H > = 4,50/10 = 0,45$$

Pro tuto sekvenci se střední vrcholový hydrofobní moment vyskytuje při 92° a má hodnotu 0,48.

Vynález se také týká způsobu přípravy PTH a PTHrP a fyziologicky aktivních analogů PTH a PTHrP nebo jejich solí, kde zbytky aminokyselin (22-31) vytvářejí amfipatickou alfa-šroubovici, sekvence uvedených zbytků (22-31) je vybrána z:

a) Xaa<sup>1</sup> Xaa<sup>2</sup> Leu Xaa<sup>4</sup> Xaa<sup>5</sup> Leu Xaa<sup>7</sup> Xaa<sup>8</sup> Xaa<sup>9</sup> Xaa<sup>10</sup>

kde znamená

Xaa<sup>1</sup> a Xaa<sup>4</sup> na sobě nezávisle Glu, Glu(OCH<sub>3</sub>), His nebo Phe,

Xaa<sup>2</sup> Leu nebo Phe,

Xaa<sup>5</sup> Lys nebo His,

Xaa<sup>7</sup> a Xaa<sup>10</sup> na sobě nezávisle Leu nebo Ile,

Xaa<sup>8</sup> Ala, Arg nebo Glu a

Xaa<sup>9</sup> Lys nebo Glu (SEQ ID č.:85)

s výhodou Glu Leu Leu Glu Lys Leu Leu Xaa Lys Leu

kde znamená

Xaa Glu nebo Arg (SEQ ID č.:26)

b) Xaa<sup>1</sup> Xaa<sup>2</sup> Leu Xaa<sup>4</sup> Arg Leu Leu Xaa<sup>8</sup> Arg Leu

kde znamená

Xaa<sup>1</sup> a Xaa<sup>4</sup> na sobě nezávisle Glu, Glu(OCH<sub>3</sub>), His nebo Phe,

Xaa<sup>2</sup> Leu nebo Phe,  
 Xaa<sup>8</sup> Glu nebo Lys (SEQ ID č.:86)

s výhodou

Glu Leu Leu Glu Arg Leu Leu Xaa Arg Leu  
 kde znamená

Xaa Glu nebo Lys (SEQ ID č.:27)

c) Ala Leu Ala Glu Ala Leu Ala Glu Ala Leu (SEQ ID NO:28);

d) Ser Leu Leu Ser Ser Leu Leu Ser Ser Leu (SEQ ID NO:29);

e) Ala Phe Tyr Asp Lys Val Ala Glu Lys Leu (SEQ ID NO:30).

Vynález se také týká způsobu přípravy PTH, PTHrP a fyziologicky aktivních analogů PTH, PTHrP nebo jejich solí vzorce:

Xaa<sup>1</sup> Xaa<sup>2</sup> Xaa<sup>3</sup> Xaa<sup>4</sup> Xaa<sup>5</sup> Xaa<sup>6</sup> Xaa<sup>7</sup> Leu His Asp Xaa<sup>11</sup> Gly  
 Xaa<sup>13</sup> Ser Ile Gln Asp Leu Xaa<sup>19</sup> Xaa<sup>20</sup> Xaa<sup>21</sup> Xaa<sup>22-31</sup> Xaa<sup>32</sup>  
 Xaa<sup>33</sup> Xaa<sup>34</sup> Xaa<sup>35</sup> Xaa<sup>36</sup> Xaa<sup>37</sup> Xaa<sup>38</sup> Term,

kde

Xaa<sup>1</sup> chybí nebo znamená Ala,

Xaa<sup>2</sup> chybí nebo znamená Val,

Xaa<sup>3</sup> chybí nebo znamená Ser,

Xaa<sup>4</sup> chybí nebo znamená Glu, Glu(OCH<sub>3</sub>),

Xaa<sup>5</sup> chybí nebo znamená His nebo Ala,

Xaa<sup>6</sup> chybí nebo znamená Gln,

Xaa<sup>7</sup> chybí nebo znamená Leu,

Xaa<sup>11</sup> znamená Lys, Arg nebo Leu,

Xaa<sup>13</sup> znamená Lys, Arg, Tyr, Cys, Leu, Cys(CH<sub>2</sub>CONH(CH<sub>2</sub>)<sub>2</sub>NH  
 (biotinyl), Lys(7-dimethylamino-2-oxo-2H-1-benzopyran-  
 4-acetyl) nebo Lys(dihydrocinnamoyl),

Xaa<sup>20</sup> znamená Arg nebo Leu,

Xaa<sup>19</sup> a Xaa<sup>21</sup> znamená na sobě nezávisle Lys, Ala nebo Arg,

Xaa<sup>22-31</sup> je volen ze (SEQ ID č.: 26, 27, 28, 29 nebo 30),

Xaa<sup>32</sup> znamená His, Pro nebo Lys,

Xaa<sup>33</sup> chybí nebo znamená Pro, Thr, Glu nebo Ala

Xaa<sup>34</sup> chybí nebo znamená Pro, Arg, Met, Ala, hSer, hSer

lakton, Tyr nebo Leu

Xaa<sup>35</sup> chybí nebo znamená Pro, Glu, Ser, Ala nebo Gly,

Xaa<sup>36</sup> chybí nebo znamená Ala, Arg nebo Ile,

Xaa<sup>37</sup> chybí nebo znamená Arg, Trp nebo 3-(2-naftyl)-L-alanin,

Xaa<sup>38</sup> chybí nebo znamená Ala nebo hSer nebo

Xaa<sup>38-42</sup> znamená Thr Arg Ser Ala Trp a

Term znamená OR nebo NR<sub>2</sub>, kde znamená každé R na sobě nezávisle atom vodíku, alkylovou skupinu s 1 až 4 atomy uhlíku nebo fenylalkylovou skupinu s 1 až 4 atomy uhlíku v alkylovém podílu

a jejich fyziologicky vhodných solí.

Ještě dále se vynález týká způsobu přípravy polypeptidových analogů fyziologicky aktivního komolého homologu hPTHrp (1 až 34) podle vzorce I:

Ala Val Ser Glu Xaa<sup>5</sup> Gln Leu Leu His Asp Xaa<sup>11</sup> Gly Xaa<sup>13</sup> Ser  
Ile Gln Asp Leu Xaa<sup>19</sup> Arg Xaa<sup>21</sup> Xaa<sup>22-31</sup> Xaa<sup>32</sup> Xaa<sup>33</sup> Xaa<sup>34</sup>  
Term,

kde znamená

Xaa<sup>5</sup> His nebo Ala,

Xaa<sup>11</sup> a Xaa<sup>13</sup> na sobě nezávisle Lys, Arg nebo Leu,

Xaa<sup>19</sup> a Xaa<sup>21</sup> na sobě nezávisle Ala nebo Arg,

Xaa<sup>22-31</sup> je volen ze

a) Glu Leu Leu Glu Lys Leu Leu Xaa Lys Leu, kde znamená

Xaa Glu, Arg (SEQ ID NO:26);

b) Glu Leu Leu Glu Arg Leu Leu Xaa Arg Leu, kde znamená

Xaa Glu, Lys (SEQ ID NO:27);

c) Ala Leu Ala Glu Ala Leu Ala Glu Ala Leu (SEQ ID NO:28);

d) Ser Leu Leu Ser Ser Leu Leu Ser Ser Leu (SEQ ID NO:29);

e) Ala Phe Tyr Asp Lys Val Ala Glu Lys Leu (SEQ ID NO:30);

Xaa<sup>32</sup> His, Lys;

Xaa<sup>33</sup> Thr, Glu, Ala;

Xaa<sup>34</sup> Ala, hSer, Tyr, Leu;

Term znamená Gly Arg Arg, lakton, OH nebo NR<sub>2</sub>, kde znamená každé R na sobě nezávisle atom vodíku, alkylovou skupinu s 1 až 4 atomy uhlíku nebo

a jejich fyziologicky vhodných solí.

Zvláště se vynález týká způsobu přípravy polypeptidů obecného vzorce (I), kde Xaa<sup>22-31</sup> je (SEQ ID č.:26), pro které  $\langle \alpha_H \rangle$  při 100° přesahuje 0,45. Ještě dále se vynález týká polypeptidů obecného vzorce (I), kde Xaa<sup>22-31</sup> je (SEQ ID č.:26); Xaa<sup>11</sup> a Xaa<sup>13</sup> jsou oba Lys, a Xaa<sup>19</sup> a Xaa<sup>21</sup> jsou oba Arg. Reprezentativní polypeptidy, které mohou být připraveny způsobem podle vynálezu zahrnují bez záměru na jakémkoliv omezení:

Ala Val Ser Glu His Gln Leu Leu His Asp Lys Gly Lys Ser Ile  
Gln Asp Leu Arg Arg Arg Glu Leu Leu Glu Lys Leu Leu Arg Lys  
Leu His Thr Ala OH (SEQ ID NO:5);

Ala Val Ser Glu His Gln Leu Leu His Asp Lys Gly Lys Ser Ile  
Gln Asp Leu Arg Arg Arg Glu Leu Leu Glu Lys Leu Leu Glu Lys  
Leu His Thr Ala OH (SEQ ID NO:6);

Ala Val Ser Glu His Gln Leu Leu His Asp Lys Gly Lys Ser Ile  
Gln Asp Leu Arg Arg Arg Glu Leu Leu Glu Lys Leu Leu Glu Lys  
Leu His Thr Ala NH<sub>2</sub> (SEQ ID NO:7);

Ala Val Ser Glu His Gln Leu Leu His Asp Lys Gly Lys Ser Ile  
Gln Asp Leu Arg Arg Arg Glu Leu Leu Glu Lys Leu Leu Glu Lys  
Leu His Thr hSer NH<sub>2</sub> (SEQ ID NO:8);

Ala Val Ser Glu His Gln Leu Leu His Asp Lys Gly Lys Ser Ile  
Gln Asp Leu Arg Arg Arg Glu Leu Leu Glu Lys Leu Leu Glu Lys  
Leu His Thr hSerlac (SEQ ID NO:9);



Ala Val Ser Glu His Gln Leu Leu His Asp Lys Gly Lys Ser Ile  
 Gln Asp Leu Arg Arg Arg Glu Leu Leu Glu Lys Leu Leu Glu Lys  
 Leu His Thr Ala Gly Arg Arg OH (SEQ ID NO:10); a

Ala Val Ser Glu His Gln Leu Leu His Asp Lys Gly Lys Ser Ile  
 Gln Asp Leu Arg Arg Arg Glu Leu Leu Glu Lys Leu Leu Glu Lys  
 Leu Lys Glu Leu NH<sub>2</sub> (SEQ ID NO:11).

Vynález se dále týká způsobu přípravy polypeptidů obecné  
 ho vzorce (I), kde Xaa<sup>22-31</sup> je (SEQ ID č.: 26); Xaa<sup>11</sup> a Xaa<sup>13</sup>  
 jsou oba Lys a jeden z Xaa<sup>19</sup> a Xaa<sup>21</sup> je Arg a druhý je Ala.  
 Reprezentativní polypeptidy tohoto subrodu, které mohou být  
 připraveny způsobem podle vynálezu, zahrnují bez záměru na ja-  
 kémkoliv omezení:

Ala Val Ser Glu His Gln Leu Leu His Asp Lys Gly Lys Ser Ile  
 Gln Asp Leu Ala Arg Arg Glu Leu Leu Glu Lys Leu Leu Glu Lys  
 Leu His Thr Ala NH<sub>2</sub> (SEQ ID NO:12) a

Ala Val Ser Glu His Gln Leu Leu His Asp Lys Gly Lys Ser Ile  
 Gln Asp Leu Arg Arg Ala Glu Leu Leu Glu Lys Leu Leu Glu Lys  
 Leu His Thr Ala NH<sub>2</sub> (SEQ ID NO:13).

Vynález se dále týká způsobu přípravy polypeptidů  
 obecného vzorce (I), kde Xaa<sup>22-31</sup> je (SEQ ID č.: 26); jeden  
 z Xaa<sup>11</sup> a Xaa<sup>13</sup> je Leu a druhý je Lys; a Xaa<sup>19</sup> a Xaa<sup>21</sup> jsou  
 oba Arg. Reprezentativní polypeptidy tohoto subrodu, které  
 mohou být připraveny způsobem podle vynálezu zahrnují bez zá-  
 měru na jakémkoliv omezení:

Ala Val Ser Glu Ala Gln Leu Leu His Asp Leu Gly Lys Ser Ile  
 Gln Asp Leu Arg Arg Arg Glu Leu Leu Glu Lys Leu Leu Glu Lys  
 Leu His Ala Leu OH (SEQ ID NO:14).

Vynález se dále týká způsobu přípravy polypeptidů obecného vzorce (I), kde Xaa<sup>22-31</sup> je (SEQ ID č.: 27), pro který  $\langle \mu \rangle$  při 100° přesahuje 0,50. Dále se vynález týká způsobu přípravy polypeptidů obecného vzorce (I), kde Xaa<sup>22-31</sup> je (SEQ ID č.: 27): Xaa<sup>11</sup> a Xaa<sup>13</sup> jsou oba Lys nebo oba Arg a Xaa<sup>19</sup> a Xaa<sup>21</sup> jsou oba Arg. Reprezentativní polypeptidy tohoto subrodu, které mohou být připraveny způsobem podle vynálezu zahrnují bez záměru na jakémkoliv omezení:

Ala Val Ser Glu His Gln Leu Leu His Asp Lys Gly Lys Ser Ile  
Gln Asp Leu Arg Arg Arg Glu Leu Leu Glu Arg Leu Leu Glu Arg  
Leu His Thr Ala OH (SEQ ID NO:15);

Ala Val Ser Glu His Gln Leu Leu His Asp Arg Gly Arg Ser Ile  
Gln Asp Leu Arg Arg Arg Glu Leu Leu Glu Arg Leu Leu Glu Arg  
Leu His Thr Ala OH (SEQ ID NO:16);

Ala Val Ser Glu His Gln Leu Leu His Asp Arg Gly Arg Ser Ile  
Gln Asp Leu Arg Arg Arg Glu Leu Leu Glu Arg Leu Leu Lys Arg  
Leu His Thr Ala OH (SEQ ID NO:17);

Vynález se dále týká způsobu přípravy polypeptidů obecného vzorce (I), kde Xaa<sup>22-31</sup> je (SEQ ID č.: 28), pro který  $\langle \mu \rangle$  při 100° je přibližně 0,25. Reprezentativní polypeptidy tohoto subrodu, které mohou být připraveny způsobem podle vynálezu zahrnují bez záměru na jakémkoliv omezení:

Ala Val Ser Glu His Gln Leu Leu His Asp Lys Gly Lys Ser Ile  
Gln Asp Leu Arg Arg Arg Ala Leu Ala Glu Ala Leu Ala Glu Ala  
Leu His Thr Ala NH<sub>2</sub> (SEQ ID NO:20).

Vynález se dále týká způsobu přípravy polypeptidů obecného vzorce, kde kde Xaa<sup>22-31</sup> je (SEQ ID č.: 29), pro který  $\langle \mu \rangle$  při 100° je přibližně 0,28. Reprezentativní polypeptidy tohoto subrodu, které mohou být připraveny způsobem podle vynálezu zahrnují bez záměru na jakémkoliv omezení:

Ala Val Ser Glu His Gln Leu Leu His Asp Lys Gly Lys Ser Ile  
 Gln Asp Leu Arg Arg Arg Ser Leu Leu Ser Ser Leu Leu Ser Ser  
 Leu His Thr Ala NH<sub>2</sub> (SEQ ID NO:21).

Vynález se dále týká způsobu přípravy polypeptidů obecného vzorce, kde kde Xaa<sup>22-31</sup> je (SEQ ID č.: 30), pro který  $\langle \alpha_H \rangle$  při 100° je přibližně 0,29. Reprezentativní polypeptidy tohoto subrodu, které mohou být připraveny způsobem podle vynálezu zahrnují bez záměru na jakémkoliv omezení:

Ala Val Ser Glu His Gln Leu Leu His Asp Lys Gly Lys Ser Ile  
 Gln Asp Leu Arg Arg Arg Ala Phe Tyr Asp Lys Val Ala Glu Lys  
 Leu His Thr Ala NH<sub>2</sub> (SEQ ID NO:22).

Vynález se dále týká způsobu přípravy polypeptidových analogů fyziologicky aktivních homologů bPTH(1-34), jak patrně ve vzorci (II):

Xaa<sup>1</sup> Val Ser Glu Ile Gln Xaa<sup>7</sup> Xaa<sup>8</sup> His Asn Leu Gly Lys His  
 Leu Xaa<sup>16</sup> Ser Xaa<sup>18</sup> Xaa<sup>19</sup> Arg Xaa<sup>21</sup> Xaa<sup>22-31</sup> His Asn Xaa<sup>34</sup>  
 Term,

kde znamená

Xaa<sup>1</sup> Ser nebo Ala,

Xaa<sup>7</sup> Leu nebo Phe,

Xaa<sup>8</sup> Met nebo Nle,

Xaa<sup>16</sup> Asn nebo Ser,

Xaa<sup>18</sup> Leu, Met nebo Nle,

Xaa<sup>19</sup> Glu nebo Arg,

Xaa<sup>21</sup> Val nebo Arg,

Xaa<sup>22-31</sup> je volen ze (SEQ ID č.: 26, 27, 28, 29 nebo 30),

Xaa<sup>34</sup> Phe nebo Tyr,

Term znamená OH nebo NR<sub>2</sub>, kde znamená každé R na sobě nezávisle atom vodíku nebo alkylovou skupinu s 1 až 4 atomy uhlíku

a jejich fyziologicky vhodných solí.

Reprezentativní polypeptidy, které mohou být připraveny způsobem vynálezu zahrnují bez záměru na jakémkoliv omezení:

Ala Val Ser Glu Ile Gln Phe Nle His Asn Leu Gly Lys His Leu  
Ser Ser Nle Glu Arg Val Glu Leu Leu Glu Lys Leu Leu Glu Lys  
Leu His Asn Tyr NH<sub>2</sub> (SEQ ID NO:23) and

Ala Val Ser Glu Ile Gln Phe Nle His Asn Leu Gly Lys His Leu  
Ser Ser Nle Arg Arg Arg Glu Leu Leu Glu Lys Leu Leu Glu Lys  
Leu His Asn Tyr NH<sub>2</sub> (SEQ ID NO:24).

Vynález se dále týká způsobu přípravy analogů PTH a PTHrP majících méně než 34 aminokyselin. Tyto sloučeniny mají obecný vzorec:

Ala Val Ser Glu Xaa<sup>5</sup> Gln Leu Leu His Asp Xaa<sup>11</sup> Gly Xaa<sup>13</sup> Ser  
Ile Gln Asp Leu Xaa<sup>19</sup> Arg Xaa<sup>21</sup> Xaa<sup>22-31</sup> Xaa<sup>32</sup> Xaa<sup>33</sup> Xaa<sup>34</sup>  
Term,

Reprezentativní polypeptidy, které mohou být připraveny způsobem podle vynálezu zahrnují bez záměru na jakémkoliv omezení tyto sloučeniny

Sloučenina 41:

AVSEHQLLHD KGKSIQDLRR RELLEKLLEK LHP-NH<sub>2</sub>

|     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |
|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|
| Ala | Val | Ser | Glu | His | Gln | Leu | Leu | His | Asp | Lys | Gly | Lys | Ser | Ile |
| 1   |     |     |     | 5   |     |     |     |     | 10  |     |     |     |     | 15  |
| Gln | Asp | Leu | Arg | Arg | Arg | Glu | Leu | Leu | Glu | Lys | Leu | Leu | Glu | Lys |
|     |     |     | 20  |     |     |     |     |     | 25  |     |     |     |     | 30  |

Leu His Pro NH<sub>2</sub> (SEQ ID NO:55).

Sloučenina 42:

AVSEHQLLHD KGKSIQDLRR RELLEKLLEK LP-NH<sub>2</sub>

|     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |
|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|
| Ala | Val | Ser | Glu | His | Gln | Leu | Leu | His | Asp | Lys | Gly | Lys | Ser | Ile |
| 1   |     |     |     | 5   |     |     |     |     | 10  |     |     |     |     | 15  |
| Gln | Asp | Leu | Arg | Arg | Arg | Glu | Leu | Leu | Glu | Lys | Leu | Leu | Glu | Lys |
|     |     |     | 20  |     |     |     |     |     | 25  |     |     |     |     | 30  |

Leu Pro NH<sub>2</sub> (SEQ ID NO:56).

Pracovníkům v oboru je zřejmé, že lze syntetizovat četné permutace polypeptidových analogů, které budou mít žádoucí význaky jako zde popisováno, za předpokladu, že sekvence aminokyselin mající střední hydrofobní moment na zbytek při 100° a 20° větší než přibližně 0,20 je vložena v polohách (22-31).

Polypeptidové fragmenty podle vynálezu mohou být připravovány způsoby, které popsali G. Barany, R.B. Merrifield (The Peptides, vydavatelé E. Gross a J. Meienhofer, Academic Press, New York, 1979) sv. 2, str. 1 až 284; J.M. Steward a J.D. Young, Solid Phase Peptide Synthesis, 2. vydání, Pierce Chemical Co. Rockford, Illinois, 1984; a J.Meienhofer, Hormonal Proteins and Peptides, sv. 2 Academic Press, New York, 1973) pro syntesu v pevném stavu a E. Schroder a K. Lubke (The Peptides, sv. 1, Academic Press, New York, 1965) pro roztokovou syntesu. Tyto způsoby zahrnují obecně následné přidávání chráněných aminokyselin do rostoucího peptidového řetězce. Normálně se chrání jednak aminoskupina jednak karbonylová skupina první aminokyseliny a každá skupina kteréhokoli reaktivního bočního řetězce. Tato chráněná aminokyselina se pak buď připojuje k inertnímu pevnému nosiči, nebo se jí použije v roztoku a následující aminokyselina v sekvenci, také vhodně chráněná, se přidává za podmínek vhodných k vytvoření aminové vazby. Když byly všechny požadované aminokyseliny spojeny ve správném sledu, chránící skupiny a veškeré nosiče se odstraní k vytvoření surového polypeptidu. Polypeptid se odsolí a vyčistí, s výhodou chromatograficky k získání konečného produktu.

Při provádění způsobu podle vynálezu se mohou prekursorové peptidové fragmenty připravovat buď roztokovou technikou nebo technikou v pevné fázi nebo jakoukoli jejich kombinací. Například mohou být některé fragmenty připraveny v roztoku a pak kondenzovány na pryskyřici s vazbou na C-koncový fragment, nebo může být každý fragment způsobem pevné fáze odštěpen od pryskyřice a kondenzován v roztoku, nebo lze použít směšovací-

ho protokolu syntesisí roztoku a pevné fáze.

Výhodný způsob přípravy analogů PTH a PTHrP podle vynálezu, majících méně než přibližně 40 aminokyselin, zahrnuje kondenzační peptidovou syntesu fragmentů v pevném stavu. Při tomto způsobu vzniká konečný produkt kondenzací několika peptidových prekurzorových fragmentů. Podle toho, jakému způsobu dává pracovník v oboru přednost, lze použít jakékoli kombinace fragmentů. Například aminokyselinový produkt 34 lze připravit ze dvou prekurzorových fragmentů aminokyselin 17, tří peptidových prekurzorových fragmentů různé délky, čtyř prekurzorových fragmentů (diskusní pojednání LLOYD-Williams a kol. "Convergent Solid Phase Peptide Synthesis", Tetrahedron 49, str.11065 až 11133, 1993):

Obecně jsou skupiny alfa-amino ( $N^{\alpha}$ ) a kterékoli reaktivní boční řetězce chráněny skupinami citlivými vůči zásadám nebo kyselinám. Chránicí skupina má být stálá za podmínek tvoření peptidové vazby a být při tom snadno oddělitelná bez ovlivnění existujícího polypeptidového řetězce. Vhodné skupiny k chránění alfa-aminoskupiny zahrnují bez záměru na jakémkoliv omezení; *t*-butoxycarbonyl (Boc), benzyloxycarbonyl (Cbz), *o*-chlorobenzyloxycarbonyl, biphenylisopropylloxycarbonyl, *t*-amyloxycarbonyl (Amoc), isobornyloxycarbonyl,  $\alpha,\alpha$ -dimethyl-3,5-dimethoxybenzyloxycarbonyl, *o*-nitrophenylsulfenyl, 2-cyano-*t*-butoxycarbonyl, zvláště 9-fluorenylmethoxycarbonyl (Fmoc).

Jakožto vhodné skupiny k chránění vedlejších řetězců se bez záměru na jakémkoliv omezení se příkladně uvádějí: acetyl, benzyl (Bzl), benzyloxymethyl (Bom), *t*-butyl, cyclohexyl, *o*-bromobenzyloxycarbonyl, *t*-butyldimethylsilyl, 2-chlorobenzyl (Cl-z), 2,6-dichlorobenzyl, 2,4-dinitrophenyl, cyclopentyl, isopropyl, pivalyl, tetrahydropyran-2-yl, tosyl (Tos), trimethylsilyl, methyltrityl, mesitylene sulfonyl (Mts), 4-methoxy-2,3,6-trimethylbenzenesulfonyl (Mtr), 2,2,4,6,7-pentamethyldihydrobenzofuran-5-sulfonyl (Pbf), 2,2,5,7,8-pentamethylchroman-6-sulfonyl (Pmc), and trityl (Trt).

Při způsobu přípravy v pevném stavu se napřed C-koncová aminokyselina připojí k vhodnému pryskyřičnému nosiči. Vhodnými pryskyřičnými nosiči jsou materiály, které jsou inertní vůči reakčním činidlům a reakčním podmínkám postupné kondenzace a odstraňování chránících skupin a jsou nerozpustné v použitých prostředích. Mezi obchodně dostupné pryskyřice patří pryskyřice styren/divinylbenzenová modifikovaná reaktivní skupinou, například chlormethylovaná kopoly(styrendivinylbenzenová) pryskyřice, hydroxymethylovaná kopoly(styrendivinylbenzenová) pryskyřice a benzylovaná, hydroxymethylovaná fenylacetaminomethylová (PAM) pryskyřice. K přípravě kyselých koncových peptidů lze použít Wangovy pryskyřice. Výhodnou pryskyřicí je p-methylbenzhydrylaminokopoly(styrendivinylbenzenová) pryskyřice (MBHA).

Podle výhodného provedení se připravují všechny fragmenty, s výjimkou C-koncového fragmentu, na pryskyřici citlivé vůči ke kyselinám, jako je Sasrin (2-methoxy-4-alkoxybenzylalkohol) nebo 4-hydroxymethyl-3-methoxyfenoxymáselná kyselina, 4-methylbenzhydrylamin (HMPB-MBHA). Pro karboxyskupinou zakončené peptidy se hodí také pryskyřice HMPA-MBHA, HMPB-BHA a HMPA-BHA. C-Koncový fragment se připraví pomocí Knorrový obchodní pryskyřice MBHA. Pro aminoskupinou zakončené peptidy se hodí pryskyřice Sieber-amidová, Rink linkerová-MBHA nebo BHA a Ramage linkerová-MBHA nebo BHA. Tyto pryskyřice jsou obchodně dostupné, s první aminokyselinou už vázanou, nebo může být první aminokyselina připojena k linkeru. Pryskyřice HMPB-MBHA a Knorrový obchodní pryskyřice se dají připravit z pryskyřic MBHA, jak popsáno v příkladech 1, 2 a 3. Následná kopulace zbývajících chráněných aminokyselin může být provedena způsoby běžně v oboru známými. Každá chráněná aminokyselina se s výhodou zavádí v přibližně 1,5 až 2,5 molárním nadbytku a kopulace se provádí v inertním, nevodném polárním rozpouštědle, jako je například N-methylpyrrolidon (NMP), dichlormethan, dimethylformaid (DMF), dimethylsulfoxid (DMSO) nebo jejich směs, s vý-

hodou při teplotě okolí. Reprezentativní kopulační činidla jsou N,N'-dicyklohexylkarbodiimid (DCC), N,N'-diisopropylkarbodiimid (DIC) nebo jiný karbodiimid, buď samotný nebo v přítomnosti 1-hydroxybenzotriazolu (HOBt), o-acylmočoviny, benzo-triazol-1-yl-oxytris(pyrrolidino)fosfoniumhexafluorofosfát (Py-Bop), N-hydroxysuccinimid, jiné N-hydroxyimidy nebo oximy. Alternativně lze použít chráněných aminokyselinových aktivních esterů (například p-nitrofenyl, pentafluorfenyl a podobné sloučeniny) nebo symetrických anhydridů. Postupná kopulace Fmoc-chráněných aminokyselin probíhá za použití roztoku sekundárního aminu, jako je pyridin, k odstranění Fmoc-skupin. K posouzení kompletnosti kopulace peptidové pryskyřice se používá Kaiserova testu po každém kopulačním kroku.

Po ukončení syntesy v pevném stavu se plně chráněný peptid od pryskyřice oddělí za použití podmínek, které nevyvolávají předčasné odstranění skupin chránících boční řetězce. Peptidy mohou být odštěpeny zmýdelněním nebo transesterifikací nebo za mírně kyselých podmínek k odstranění chránících skupin za použití například 1% kyseliny trifluoroctové (TFA). Chráněný peptid se může čistit chromatografií na silikagelu.

Roztok může být zbaven soli (například anexovou pryskyřicí BioRad AG-3<sup>R</sup>) a peptid se čistí sledem několika chromatografických kroků zahrnujících alespoň jeden z následujících způsobů, kterými jsou: hydrofobní adsorpční chromatografie na nederivovaném kopoly(styrendivinybenzenu), jako je například Amberlite<sup>R</sup> XAD; adsorpční chromatografie na silikagelu, katexová chromatografie na karboxymethylcelulóze, rozdělovací chromatografie, například Sephadex<sup>R</sup> G-25, protiproudné rozdělování, nebo reversní fázová vysokovýkonná kapalinová chromatografie (HPLC), obzvláště katexová HPLC a reverzní fázová HPLC na sloupci s oktylsilyloxidem křemičitým nebo oktadecylsilyloxidem křemičitým (ODS).



Podle jednoho provedení multifragmentové přípravy se střední a N-koncové fragmenty izolují a postupně se kondenzují na C-koncový fragment. Polypeptidový produkt se zbaví chránících skupin a odštěpí se od pryskyřice a dále se čistí. Čistící sekvence je obecně sledem chromatografických separací. Analýza HPLC určuje sled a volbu čističích operací. Typickým sledem je katexová, reverzní fázová chromatografie HPLC a reverzní fázový koncentrační sloupec. Konečný roztok se podrobuje lyofilizaci a drogový produkt se ukládá do jantarově zbarvených lahví. Chránící aminokyseliny jsou obchodním produktem společnosti Genzyme (Cambridge, MA, Sp. st. a.), Propeptide (Princeton, HJ, Sp. st. a.), nebo Synthetec (Albany, OR, Sp. st. a.).

Vynález objasňují, nijak však neomezují následující příklady praktického provedení.

#### Příklady provedení vynálezu

Polypeptid SEQ ID NO:7, 34-aminokyselinový peptid, AVSEHQLLHDKGSIQDLRRRELLEKLLEKLHTA-NH<sub>2</sub> se připravuje za použití třífragmentového kondenzačního způsobu. N-Koncový fragment sestává z aminokyselin 1 až 12, střední fragment z aminokyselin 13 až 23 a C-Koncový fragment sestává z aminokyselin 24 až 34. Každý fragment se připravuje způsobem v pevné fázi na zařízení Vega 296 Automated Peptide Synthesizer. Automatického způsobu se používá pro odštěpení Nalfa chránících skupin a pro promytí po kopulaci. Kopulační činidla a rozpouštědla se přidávají ručně do reakční nádoby v kopulačním stupni. Střední a koncové fragmenty se čistí chromatografií HPLC a postupně se kondenzují na C-koncový fragment. Konečný peptid se zbavuje chránících skupin, odštěpuje se od pryskyřice a čistí se.

## Příklad 1

## Příprava N-koncového fragmentu

N-Koncový fragment, sestávající z aminokyselin 1 až 12, AVSEHQLLHDKG se připravuje na 250 mmol pryskyřice citlivé ke kyselině, na systému 4-hydroxymethyl-3-methoxyfenoxymáselná kyselina 4-methylbenzhydrylamin (HMPB-MBHA). Pryskyřice se připraví z MBHA pryskyřice (Novabiochem) za těchto podmínek:

| Stupeň | Operace                                                                             | Doba (min)           | Opakování |
|--------|-------------------------------------------------------------------------------------|----------------------|-----------|
| 1.     | CH <sub>2</sub> Cl <sub>2</sub> /DMF (1/1)*                                         | 60                   | 1         |
| 2.     | 10% Et <sub>3</sub> N v CH <sub>2</sub> Cl <sub>2</sub>                             | 5                    | 2         |
| 3.     | CH <sub>2</sub> Cl <sub>2</sub> /DMF (1/1)                                          | 5                    | 3         |
| 4.     | HMPB linker (1,15 eq.)/<br>PyBOP/DIPEA in CH <sub>2</sub> Cl <sub>2</sub> /DMF(1/1) | 300 @40C<br>500 @ RT | 1         |
| 5.     | CH <sub>2</sub> Cl <sub>2</sub> *                                                   | 1,5                  | 2         |
| 6.     | DMF*                                                                                | 1,5                  | 2         |
| 7.     | CH <sub>2</sub> Cl <sub>2</sub> *                                                   | 1,5                  | 1         |
| 8.     | i-PrOH*                                                                             | 1,5                  | 2         |
| 9.     | CH <sub>2</sub> Cl <sub>2</sub> *                                                   | 1,5                  | 3         |

\* znamená vždy (tedy i v následujících tabulkách) promytí,  
pokud nebude uvedeno jinak

eq znamená vždy (tedy i v následujících tabulkách) ekvivalent

Po alespoň jednom promytí systémem dimethylformamid/dichlormethan se provádí kopulace první aminokyseliny (12Gly) za použití Emoc-GlyOH (1,5 až 2,2 ekvivalenty), DIC (1,5 až 2,2 ekvivalenty) a DMAP (0,05 ekvivalenty) podobu přibližně 15 hodin při teplotě místnosti v systému dimethylformamid/dichlormethan (1/1) za podmínek:

| Stupeň | Operace                                                                                 | Doba (min) | Opakování |
|--------|-----------------------------------------------------------------------------------------|------------|-----------|
| 1.     | DMF/CH <sub>2</sub> Cl <sub>2</sub> (1/1)                                               | 60         | 1         |
| 2.     | Fmoc-X-OH (2 eq.) /<br>DIC-DMAP (0,05eq.)<br>CH <sub>2</sub> Cl <sub>2</sub> /DMF (1/1) | 900        | 1         |
| 3.     | CH <sub>2</sub> Cl <sub>2</sub> *                                                       | 1,5        | 2         |
| 4.     | DMF*                                                                                    | 1,5        | 2         |
| 5.     | i-PrOH*                                                                                 | 1,5        | 2         |
| 6.     | DMF/CH <sub>2</sub> Cl <sub>2</sub> (1/1)                                               | 1,5        | 2         |
| 7.     | i-PrOH                                                                                  | 1,5        | 2         |
| 8.     | CH <sub>2</sub> Cl <sub>2</sub> *                                                       | 1,5        | 3         |

Pryskyřice se pak promyje opakováním stupňů 3 až 8 a kopuluje se za následujících podmínek:

| Stupeň | Operace                                                                       | Doba (min) | Opakování |
|--------|-------------------------------------------------------------------------------|------------|-----------|
| 9.     | DMF                                                                           | 15         | 1         |
| 10.    | PhCOCl (0,18M) /<br>pyridin (0,36M)<br>in DMF/CH <sub>2</sub> Cl <sub>2</sub> | 30-180     | 1         |
| 11.    | CH <sub>2</sub> Cl <sub>2</sub> *                                             | 1,5        | 2         |
| 12.    | DMF*                                                                          | 1,5        | 2         |
| 13.    | i-PrOH*                                                                       | 1,5        | 2         |
| 14.    | DMF/CH <sub>2</sub> Cl <sub>2</sub> (1/1)*                                    | 1,5        | 1         |
| 15.    | CH <sub>2</sub> Cl <sub>2</sub> *                                             | 1,5        | 3         |

Zbylé aminokyseliny se vážou na pryskřici postupnými kopulačními cykly v reverzním sledu za použití následujících chráněných aminokyselin:

- aa11 N<sup>α</sup>-Fmoc-N<sup>ε</sup>-t-butyloxy arbonyl-L-lysin
- aa10 N<sup>α</sup>-Fmoc-L-asparagová kyselina, beta-t-butylester
- aa9 N<sup>α</sup>-Fmoc-N<sup>im</sup>-trityl-L-histidin
- aa8 N<sup>α</sup>-Fmoc-L-leucin
- aa7 N<sup>α</sup>-Fmoc-L-leucin

- aa6  $N^{\alpha}$ -Fmoc- $N^{\gamma}$ -trityl-L-glutamin  
 aa5  $N^{\alpha}$ -Fmoc- $N^{\text{im}}$ -trityl-L-histidin  
 aa4  $N^{\alpha}$ -Fmoc-L-glutamová kyselina, gama--t-butylester  
 aa3  $N^{\alpha}$ -Fmoc-O-t-butyl-L-serin  
 aa2  $N^{\alpha}$ -Fmoc-L-valin  
 aa1  $N^{\alpha}$ -t-Butyloxykarbonyl-L-alanin

Kopulace se provádí při teplotě místnosti v NMP za použití 1,5 až 2,2 ekvivalentů aminokyseliny (0,1 až 0,25M), HOBt a DIC. Po 1,5 až 3 hodinách se přidá dimethylsulfoxid a kopulace se provádí po dobu dalších 1,5 až 3 hodin. Každá kopulace zahrnuje následující stupně:

| Stupeň | Operace                             | Doba (min) | Opakování |
|--------|-------------------------------------|------------|-----------|
| 1.     | DMF*                                | 2,5- 30    | 1         |
| 2.     | 20% piperidin v. NMP                | 3          | 1         |
| 3.     | 20% piperidin v. NMP                | 14         | 1         |
| 4.     | DMF*                                | 1,5        | 2         |
| 5.     | $\text{CH}_2\text{Cl}_2^*$          | 1,5        | 2         |
| 6.     | i-PrOH*                             | 1,5- 2,5   | 2- 5      |
| 7.     | DMF/ $\text{CH}_2\text{Cl}_2$ (1/1) | 1,5        | 2- 3      |
| 8.     | kopulace                            | 240        | 1         |
| 9.     | $\text{CH}_2\text{Cl}_2^*$          | 1,5        | 2         |
| 10.    | DMF*                                | 1,5        | 2         |
| 11.    | i-PrOH*                             | 1,5        | 2         |
| 12.    | DMF/ $\text{CH}_2\text{Cl}_2^*$     | 1,5        | 2         |
| 13.    | i-PrOH                              | 1,5        | 1         |
| 14.    | $\text{CH}_2\text{Cl}_2^*$          | 1,5        | 3         |

Úplnost proběhnutí kopulace se posuzuje Kaiserovým testem; pokud jsou výsledky testu pozitivní, opakuji se stupně 8 až 14 případně za použití kopulačního činidla.

K odštěpení chráněného peptidu od pryskyřice se suspenze pryskyřice míchá v systému 1 % trifluoroctové/dichlormethan (4 ml/g pryskyřice) při teplotě 0 °C nebo při teplotě místnosti po dobu až 15 minut. Roztok se zfiltruje a extrahuje se 5%

roztokem hydrogenuhličitanu sodného. Zpracování pryskyřice trifluoroctovou kyselinou se opakuje tři krát. Organické fáze se spojí a promyje se vodou, 5% roztokem hydrogenuhličitanu sodného a opět vodou. Organická fáze se vysuší síranem sodným a odpaří se. Zbytek se čistí chromatografií HPLC za těchto podmínek:

sloupec: Zorbax Pro-10/150 C8, 6" x 40 cm,

teplota sloupce: teplota okolí, průtok: 2,2 až 3,0 ml/min.cm<sup>2</sup>

detektorová vlnová délka: 250 nm

Mobilní fáze: 0,1 % HOAc, pH 6 až 6,2 s triethylaminem, acetonitril

Chráněný peptid se vnese na sloupec v 65 až 70% acetonitrilu. Gradient nechá vzrůstat obsah acetonitrilu až na 85 %. Frakce se spojí, zkoncentrují a produkt se izoluje extrakcí dichlormethanem. Organická fáze se promyje zředěným roztokem hydrogenuhličitanu sodného nebo vodou, vysuší se síranem sodným, zfiltruje se a odpaří se.

## Příklad 2

### Příprava středního fragmentu

Střední fragment, sestávající z aminokyselin 13 až 23, KSIQDLRRREL, se připravuje na 230 mmol pryskyřice citlivé ke kyselině, na systému 4-hydroxymethyl-3-methoxyfenoxymásečná kyselina 4-methylbenzhydrylamin (HMPB-MBHA). Pryskyřice se připraví z MBHA pryskyřice jak popsáno v příkladu 1. První aminokyselina (aa24) se včleňuje jak uvedeno za použití Fmoc-L-leucinu. Zbylé aminokyseliny se připojují na pryskyřici následnými kopulčními cykly způsobem, popsaným v příkladu 1:

aa23 N<sup>α</sup>-Fmoc-L-glutamová kyselina, gama-t-butylester

aa22 N<sup>α</sup>-Fmoc-N<sup>9</sup>-4-methoxy-2,3,6-trimethylbenzylsulfonyl-L-arginin

aa21 N<sup>α</sup>-Fmoc-N<sup>9</sup>-4-methoxy-2,3,6-trimethylbenzylsulfonyl-L-arginin

aa20 N<sup>α</sup>-Fmoc-N<sup>9</sup>-4-methoxy-2,3,6-trimethylbenzylsulfonyl-L-arginin

aa19 N $\alpha$ -Fmoc-L-leucin

aa18 N $\alpha$ -Fmoc-L-asparagová kyselina, beta-t-butylester

aa17 N $\alpha$ -Fmoc-N $\gamma$ -trityl-L-glutamin

aa16 N $\alpha$ -Fmoc-L-isoleucin

aa15 N $\alpha$ -Fmoc-O-t-butyl-L-serin

aa14 N $\alpha$ -Fmoc-N $\epsilon$ -t-butyloxykarbonyl-L-lysin

Peptid se odštěpuje od pryskyřice v podobě volné kyseliny, organický podíl se extrahuje, suší a odpaří způsobem podle příkladu 1. Zbytek se může vysrážet rozpuštěním v dichlormetanu a přidáním do terc.-butylmethyletheru (t-BuOMe). Po zfiltrování, promytí t-BuOMe a po vakuovém vysušení se produkt čistí chromatografií HPLC na sloupci Zorbax, jak shora popsáno za použití 75 % acetonitrilu. Detektorová vlnová délka je 267.

### Příklad 3

#### Příprava C-koncového fragmentu

C-koncový fragment, sestávající z aminokyselin 24 až 34, LEKLLLEKLHTA, se připravuje na 130 mmol pryskyřice MBHA za použití Fmoc-2,4-dimethoxy-4'-((karboxymethyloxy)benzhydrylaminového linkeru za následujících podmínek:

| Stupeň | Operace                                                                  | Doba (min) | Opakování |
|--------|--------------------------------------------------------------------------|------------|-----------|
| 1.     | CH <sub>2</sub> Cl <sub>2</sub> *                                        | 60         | 1         |
| 2.     | 10% DIPEA in CH <sub>2</sub> Cl <sub>2</sub>                             | 5          | 2         |
| 3.     | CH <sub>2</sub> Cl <sub>2</sub>                                          | 5          | 3         |
| 4.     | DMF                                                                      | 5          | 3         |
| 5.     | Linker/HOBt/DIC (1,5 eq)<br>v CH <sub>2</sub> Cl <sub>2</sub> /DMF (1/1) | 300- 420   | 1         |
| 6.     | CH <sub>2</sub> Cl <sub>2</sub>                                          | 1,5        | 2         |
| 7.     | DMF                                                                      | 1,5        | 2         |
| 8.     | iPrOH                                                                    | 2,5        | 2         |
| 9.     | CH <sub>2</sub> Cl <sub>2</sub> /DMF                                     | 1,5        | 2         |
| 10.    | iPrOH                                                                    | 2,5        | 2         |
| 11.    | CH <sub>2</sub> Cl <sub>2</sub>                                          | 1,5        | 3         |
| 12.    | DMF                                                                      | 10         | 1         |
|        | DMF/CH <sub>2</sub> Cl <sub>2</sub>                                      |            |           |
| 13.    | Ac <sub>2</sub> O, DIPEA<br>in DMF/CH <sub>2</sub> Cl <sub>2</sub>       | 30- 35     | 1         |
| 14.    | CH <sub>2</sub> Cl <sub>2</sub> *                                        | 1,5        | 2         |

|     |                                         |     |   |
|-----|-----------------------------------------|-----|---|
| 15. | DMF*                                    | 1.5 | 2 |
| 16. | i-PrOH*                                 | 1.5 | 2 |
| 17. | DMF / CH <sub>2</sub> Cl <sub>2</sub> * | 1.5 | 1 |
| 18. | CH <sub>2</sub> Cl <sub>2</sub> *       | 1.5 | 3 |

Zbylé aminokyseliny se vážou na pryskřici postupnými kopulačními cykly v reverzním sledu za použití následujících chráněných aminokyselin:

- aa34 N $\alpha$ -Fmoc-L-alanin
- aa33 N $\alpha$ -Fmoc-O-t-butyl-L-threonin
- aa32 N $\alpha$ -Fmoc-N<sup>im</sup>-trityl-L-histidin
- aa31 N $\alpha$ -Fmoc-L-leucin
- aa30 N $\alpha$ -Fmoc-N<sup>ε</sup>-t-butyloxykarbonyl-L-lysin
- aa29 N $\alpha$ -Fmoc-L-glutamová kyselina, gama--t-butylester
- aa28 N $\alpha$ -Fmoc-L-leucin
- aa27 N $\alpha$ -Fmoc-L-leucin
- aa26 N $\alpha$ -Fmoc-N<sup>ε</sup>-t-butyloxykarbonyl-L-lysin
- aa25 N $\alpha$ -Fmoc-L-glutamová kyselina, gama--t-butylester
- aa24 N $\alpha$ -Fmoc-L-leucin:

Kopulace se provádí při teplotě místnosti v NMP za použití 1,5 až 2,2 ekvivalentů aminokyseliny (0,1 až 0,25M), HOBt a DIC pro aminokyseliny 34 až 26. Po 1,5 až 3 hodinách se použije tři ekvivalentů aminokyseliny, HOBt a DIC pro aminokyseliny 24 a 25. Po dalších 1,5 až 3 hodinách se přidá 20 % dimethylsulfoxidu a kopulace se provádí po dobu dalších 1,5 až 3 hodin. Každá kopulace zahrnuje následující stupně včetně Fmoc štěpení a promytí po kopulaci:

| Stupeň | Operace                               | Doba (min) | Opakování |
|--------|---------------------------------------|------------|-----------|
| 1.     | DMF*                                  | 2,5- 30    | 1         |
| 2.     | 20% piperidin: ✓ NMP                  | 3          | 1         |
| 3.     | 20% piperidin: ✓ NMP                  | 14         | 1         |
| 4.     | DMF*                                  | 1,5        | 3         |
| 5.     | CH <sub>2</sub> Cl <sub>2</sub> *     | 1,5        | 2         |
| 6.     | i-PrOH*                               | 1,5- 2,5   | 2- 6      |
| 7.     | DMF/CH <sub>2</sub> Cl <sub>2</sub> * | 1,5        | 3         |

|             |                                                                  |          |   |
|-------------|------------------------------------------------------------------|----------|---|
| 8.          | Coupling                                                         | 240      | 1 |
| 9.          | CH <sub>2</sub> Cl <sub>2</sub> *                                | 1,5      | 2 |
| 10.         | DMF*                                                             | 1,5      | 2 |
| 11.         | i-PrOH*                                                          | 1,5- 2,5 | 2 |
| 12.         | DMF/CH <sub>2</sub> Cl <sub>2</sub>                              | 1,5      | 2 |
| 13.         | iPrOH*                                                           | 2,5      | 2 |
| 14.         | CH <sub>2</sub> Cl <sub>2</sub> *                                | 1,5      | 3 |
| Kaiser test |                                                                  |          |   |
| 15.         | DMF                                                              | 2,5- 15  | 1 |
| 16.         | Ac <sub>2</sub> O/DIPEA/<br>CH <sub>2</sub> Cl <sub>2</sub> /DMF | 30- 35   | 1 |
| 17.         | CH <sub>2</sub> Cl <sub>2</sub> *                                | 1,5      | 2 |
| 18.         | DMF*                                                             | 1,5      | 2 |
| 19.         | i-PrOH*                                                          | 1,5      | 2 |
| 20.         | DMF/CH <sub>2</sub> Cl <sub>2</sub> *                            | 1,5      | 1 |
| 21.         | CH <sub>2</sub> Cl <sub>2</sub> *                                | 1,5      | 3 |

Úplnost proběhnutí kopulace se posuzuje Kaiserovým testem po každém kopulačním stupni. Pokud jsou výsledky testu pozitivní (\_ 1,5 % nekopulováno), opakují se stupně 8 až 14. Pokud je výsledek testu negativní, pryskyřice se acetyluje.

#### Příklad 4

##### Kondenzace tří fragmentů

Způsobem podle příkladu 1, 2 a 3 se připraví tři fragmenty. Zbylá N<sup>alfa</sup>-Fmoc skupina C-koncového fragmentu se odstraní ve stupni 1 až 7 podle příkladu 3.

Střední fragment B (172 g, 61,8 mmol), HOBT (59,2 mmol), HOAt (3,7 mmol) a DIC (61,9 mmol) se přidají do C-koncového fragmentu (190 g, 41 mmol) v NMP (900 ml) a v dichlormethanu. Reakční směs se míchá při teplotě místnosti po dobu 22 hodin. DIPEA (7 ml) se přidá a v míchání se pokračuje po dobu dalšího dne. Pryskyřice se promyje způsobem, popsáním v příkladu 1 (stupeň 9 až 13). Kaiserův test dokládá méně než 2 % nekopulo-



vaného zbytku. Pryskyřice se acetyluje (způsobem podle příkladu 3, stupeň 14 až 20) a Fmoc skupiny se odstraní (způsobem podle příkladu 3, stupeň 1 až 7).

N-Koncový fragment A, jako sodná sůl, (153 g, 62,4 mmol), HOBt (59,2 mmol), HOAt (3,7 mmol), PyBOP (62,5 mmol) a DIPEA (125,15 mmol) se přidají do pryskyřice v NMP (900 ml) a v dichlormethanu. Reakční směs se míchá při teplotě místnosti po dobu 24 hodin, zfiltruje se a promyje se (způsobem podle příkladu 3, stupeň 9 až 13). Kaiserův test dokládá méně než 1 % nekopulovaného zbytku. Pryskyřice se acetyluje (způsobem podle příkladu 3, stupeň 14 až 20), vyjme se z reaktoru a vysuší se ve vakuu.

Přidá se roztok fenolu (60,3 g) v thioanisolu (152,6 ml) a trifluorooctová kyselina do systému peptid-pryskyřice (64 g) v prostředí dusíku. Reakční směs se ochladí na teplotu  $-10^{\circ}\text{C}$  a pomalu se přidá TMSBr. Reakční směs se míchá po dobu půl hodiny při teplotě  $-10^{\circ}\text{C}$  v uzavřeném systému a po dobu jedné až dvou hodin při teplotě místnosti. Reakční směs se zkoncentruje na poloviční objem ve vakuu při teplotě  $50^{\circ}\text{C}$ , pryskyřice se odfiltruje a promyje se dvakrát trifluorooctovou kyselinou (250 ml) a ledovou kyselinou octovou (250 ml). Filtráty se vysráží přidáním směsi 3:1 t-butylmethyletheru a hexanu (6,5 litrů). Surový peptid se odfiltruje, promyje se t-butylmethyletherem, toluenem a t-butylmethyletherem (vždy 2 x 250 ml) a vysráží se rozpuštěním v methanolu (500 ml) a přidáním t-butylmethyletheru (7 litrů). Surový produkt se odfiltruje, promyje se t-butylmethyletherem a vysuší se ve vakuu, čímž se získá 33 g peptidu.

Podobným způsobem se získají PTHrP analogy náhradou vhodné pryskyřice za kyselě ukončené peptidy.

AVSEHQLLHDKGKSIQDLRRRELLEKLEKLHTA-OH (SEQ ID NO:6)  
 AVSEHQLLHDKGKSIQDLRRRELLERLLERLHTA-OH (SEQ ID NO:15)  
 AVSEHQLLHDRGRSIQDLRRRELLERLLERLHTA-OH (SEQ ID NO:16)  
 AVSEHQLLHDRGRSIQDLRRRELLERLLKRLHTA-OH (SEQ ID NO:17)  
 AVSEHQLLHDKGKSIQDLRRRELLEKLLRKLHTA-OH (SEQ ID NO:5)  
 AVSEHQLLHDKGKSIQDLRRRELLEKLEKLHTAGRR-OH (SEQ ID NO:10)  
 AVSEAQLLHDLGKSIQDLRRRELLEKLEKLHAL-OH (SEQ ID NO:14)  
 AVSEHQLLHDKGKSIQDLRRRELLEKLELLKEL-NH<sub>2</sub> (SEQ ID NO:11)  
 AVSEIQFXHNLGKHLSSXERVELLEKLEKLHNY-NH<sub>2</sub> (X=Nle, SEQ ID NO:23)  
 AVSEIQFXHNLGKHLSSXRRRELLEKLEKLHNY-NH<sub>2</sub> (X=Nle, SEQ ID NO:24)  
 AVSEHQLLHDKGKSIQDLRRRALAEALAEALHTA-NH<sub>2</sub> (SEQ ID NO:20)  
 AVSEHQLLHDKGKSIQDLARRELLEKLEKLHTA-NH<sub>2</sub> (SEQ ID NO:12)  
 AVSEHQLLHDKGKSIQDLRRAELLEKLEKLHTA-NH<sub>2</sub> (SEQ ID NO:13)  
 AVSEHQLLHDKGKSIQDLRRSLLSSLSSLHTA-NH<sub>2</sub> (SEQ ID NO:21)  
 AVSEHQLLHDKGKSIQDLRRRAFYDKVAEKLHTA-NH<sub>2</sub> (SEQ ID NO:22)  
 AVSEIQFLHN LGKHLSSLRR RELLEKLEK LHNY-NH<sub>2</sub> (SEQ ID NO:35)  
 AVSEHQLLHD KGKSIQDLKL KELLEKLEK LHTA-NH<sub>2</sub> (SEQ ID NO:38)  
 AVSEHQLLHD KGKSIQDLRR RELLEKLEK LHTA-NH<sub>2</sub> (SEQ ID NO:39)  
 AVSEHQLLHD KGKSIQDLRR RELLEKLEK LHTAP-OH (SEQ ID NO:40)  
 AVSEHQLLHD KGKSIQDLRR RELLEKLEK LHTAGRR-OH (SEQ ID NO:41)  
 AVSEHQLLHD KGKSIQDLRR RELLEKLEK LHTY-NH<sub>2</sub> (SEQ ID NO:43)  
 AVSEHQLLHD KGYSIQDLRR RELLEKLEK LHTA-NH<sub>2</sub> (SEQ ID NO:44)  
 AVSEHQLLHD KGCSIQDLRR RELLEKLEK LHTA-NH<sub>2</sub> (SEQ ID NO:45)  
 AVSEHQLLHD KGXSIQDLRR RELLEKLEK LHTA-NH<sub>2</sub> (SEQ ID NO:46)  
 (X = Cys(CH<sub>2</sub>CONH(CH<sub>2</sub>)<sub>2</sub>NH(biotinyl)))  
 AVSEHQLLHD KGXSIQDLRR RELLEKLEK LHTA-NH<sub>2</sub> (SEQ ID NO:47)  
 (X = Lys(7-dimethylamino-2-oxo-2H-1-benzopyran-4-acetyl))  
 AVSEHQLLHD KGKSIQDLRR RELLEKLEK LHTAG-OH (SEQ ID NO:48)

AVSX<sub>1</sub>HQLLHX<sub>2</sub> KGKSIQX<sub>2</sub>LRR RX<sub>1</sub>LLX<sub>1</sub>KLLX<sub>1</sub>K LHA-OH (SEQ ID NO:49)  
(X<sub>1</sub> = Glu(OCH<sub>3</sub>); X<sub>2</sub> = Asp(OCH<sub>3</sub>))

AVSX<sub>1</sub>HQLLHX<sub>2</sub> KGKSIQX<sub>2</sub>LRR RX<sub>1</sub>LLX<sub>1</sub>KLLX<sub>1</sub>K LHA-OCH<sub>3</sub> (SEQ ID NO:50)  
(X<sub>1</sub> = Glu(OCH<sub>3</sub>); X<sub>2</sub> = Asp(OCH<sub>3</sub>))

AVSEHQLLHD KGKSIQDLRR RELLEKLLEK LHTAP-OH (SEQ ID NO:52)

AVSEHQLLHD KGKSIQDLRR RELLEKLLEK LHTP-OH (SEQ ID NO:53)

AVSEHQLLHD KGKSIQDLRR RELLEKLLEK LHTP-NH<sub>2</sub> (SEQ ID NO:54)

AVSEHQLLHD KGKSIQDLRR RELLEKLLEK LHP-NH<sub>2</sub> (SEQ ID NO:55)

AVSEHQLLHD KGKSIQDLRR RELLEKLLEK LP-NH<sub>2</sub> (SEQ ID NO:56)

AVSEHQLLHD KGKSIQDLRR RELLEKLLEK LHTRSAW-OH (SEQ ID NO:57)

AVSEHQLLHD RGRSIQDLRR RELLEKLLEK LHTAGRRTSAW-OH (SEQ ID NO:58)

AVSEHQLLHD RGRSIQDLRR RELLEKLLEK LHTAGRRTSAW-NH<sub>2</sub> (SEQ ID NO:59)

AVSEHQLLHD RGXSIQDLRR RELLEKLLEK LHTAGRRTSAW-OH (SEQ ID NO:60) (X = Lys(dihydrocinnamoyl))

AVSEIQFXHN LGKHLSSXTR SAWLRKKLQD VHNY-NH<sub>2</sub> (SEQ ID NO:61)  
(X = norleucin )

AVSEHQLLHD KGKSIQDLRR RELLEKLLEK LHTMA-NH<sub>2</sub> (SEQ ID NO:62)

AVSEHQLLHD KGKSIQDLRR RFFLEKLLEK LHTA-NH<sub>2</sub> (SEQ ID NO:64)

AVSEHQLLHD KGKSIQDLRR RELLEKLLEK LHTA-NH<sub>2</sub> (SEQ ID NO:65)

AVSEHQLLHD KGKSIQDLRR RELLEKLLEK LHTA-NH<sub>2</sub> (SEQ ID NO:66)

AVSEHQLLHD KGKSIQDLRR RELLEKLLEK LHTA-NH<sub>2</sub> (SEQ ID NO:67)

AVSEHQLLHD KGKSIQDLRR RELLEKLLEK IHTA-NH<sub>2</sub> (SEQ ID NO:68)

AVSEHQLLHD KGKSIQDLRR RELLEKLLEK LHTRSAW-NH<sub>2</sub> (SEQ ID NO:72)

AVSEHQLLHD KGKSIQDLRR RELLEKLLEK LHTRSAX-OH (SEQ ID NO:73)  
(X = Nal(2) = 3-(2-naftyl)-L-alanine)

AVSEHQLLHD KGKSIQDLRR RELLEKLLEK LHTASAW-OH (SEQ ID NO:74)

AVSEHQLLHD KGKSIQDLRR RELLEKLLEK LHTAEIRA-OH (SEQ ID NO:75)

AVSEHQLLHD KGKSIQDLRR RELLEKLLEK LHTAEIR-OH (SEQ ID NO:76)

AVSEHQLLHD KGKSIQDLRR RELLEKLLEK LHTAEI-OH (SEQ ID NO:77)

AVSEHQLLHD KGKSIQDLRR RELLEKLLEK LHTAE-OH (SEQ ID NO:78)

SEHQLLHD KGKSIQDLRR RELLEKLLEK LHTA-NH<sub>2</sub> (SEQ ID NO:80)

LLHD KGKSIQDLRR RELLEKLLEK LHTA-NH<sub>2</sub> (SEQ ID NO:81)

LHD KGKSIQDLRR RELLEKLLEK LHTA-NH<sub>2</sub> (SEQ ID NO:82)

SEHQLLHD RGRSIQDLRR RELLERLLER LHAGRRTSAW-OH (SEQ ID NO:83)

LLHD RGRSIQDLRR RELLERLLER LHAGRRTSAW-OH (SEQ ID NO:84)

[Met<sup>34</sup>, Ala<sup>35</sup>] (SEQ ID NO:25), AVSEHQLLHDKGKSIQDLRRRELLEKLLEKLHTMA-NH<sub>2</sub>, (SEQ ID NO:25), may be prepared and a čistit shora popsanými způsoby. Tento polypeptid se může převádět na homoserinlaktón následujícím způsobem. Vyčištěný polypeptid se rozpustí ve 44% kyselině mravenčí. Roztok se spojí s předmíšeným roztokem bromkyanu (700 mg) a fenolu (1,6 mg) ve 44% kyselině mravenčí při teplotě 0 °C. Roztok se míchá při teplotě 0 °C po dobu dvou hodin a při teplotě místnosti po dobu rovněž dvou hodin. Vytváření produktu se může monitorovat chromatografií HPLC (Vydac<sup>R</sup> C-18, 30 nm, 4,6 x 250 mm, rychlost průtoku 1,2 ml/min, gradient 25 až 45 % acetonitrilu v 0,1% trifluoroctové kyselině po dobu 10 minut). Vzorek se zkoncentruje a čistí preparativní chromatografií RP-HPLC (Vydac<sup>R</sup> C-18, gradient 25 až 45 % acetonitrilu v 0,1% trifluoroctové kyselině) za získání SEQ ID NO:9.

AVSEHQLLHDKGKSIQDLRRRELLEKLLEKLHTX (X=hSerlac, SEQ ID NO:9)

Podobně (SEQ ID NO:79) se může tímto způsobem připravit

AVSEIQFX<sub>1</sub>HN KGKHLSSX<sub>1</sub>ER VEWLRKKLQD VHNX<sub>2</sub> (SEQ ID NO:79)

(X<sub>1</sub> = L-norleucin; X<sub>2</sub> = homoserin<sup>^</sup>laktón)

Pro přípravu homoserinamidu se surový hSerolaktónový analog, sloučenina 4, zkoncentruje a zpracovává se 25 ml nasyceného roztoku amoniaku v methanolu. Roztok se míchá při tep-

lotě 0 °C po dobu dvou hodin a po dobu 16 hodin při teplotě místnosti. Vytváření produktu se může monitorovat chromatografií HPLC (Vydac<sup>R</sup> C-18, 30 nm, 4,6 x 250 mm, rychlost průtoku 1,2 ml/min, gradient 20 až 45 % acetonitrilu v 0,1% trifluor-octové kyselině). Roztok se zkoncentruje a čistí preparativní chromatografií RP-HPLC (Vydac<sup>R</sup> C-18, gradient 25 až 45 % acetonitrilu v 0,1% trifluor-octové kyselině). Homoserinamidpeptidové frakce se shromáždí a lyofilizují se za získání SEQ ID NO:8.

AVSEHQLLHDKGKSIQDLRRRELLEKLLEKLHTX-NH<sub>2</sub> (X=hSer, SEQ ID NO:8)

Podobně se tímto způsobem mohou připravit sloučeniny 22, 23 a 28 za použití methioninu jako C-zakončení.

AVSEIQFLHN LGKHLSSLRR RELLEKLLEK LHNX-NH<sub>2</sub> (SEQ ID NO:36)  
(X = homoserin )

AVSEIQFLHN KGKHLSSLRR RELLEKLLEK LHNX-NH<sub>2</sub> (SEQ ID NO:37)  
(X = homoserin )

AVSEHQLLHD KGKSIQDLRR RELLEKLLEK LHTAGRRX-NH<sub>2</sub> (SEQ ID NO:42)  
(X = homoserin )

Podobně se připravují homoserinalkylamidy z homoserin-laktonu rozpuštěním v dimethylformamidu obsahujícím nadbytek odpovídajícího alkylaminu. Reakční směs se míchá při teplotě místnosti po dobu několika dní (postup reakce se může monitorovat analytickou chromatografií HPLC), reakční směs se odpaří k suchu a peptid se čistí preparativní chromatografií HPLC. Reprezentativními homoserinalkylamidy jsou sloučeniny 55 a 56.

AVSEHQLLHD KGKSIQDLRR RELLEKLLEK LHTX-NHCH<sub>2</sub>CH<sub>3</sub> (SEQ ID NO:69)  
(X = homoserin )

AVSEHQLLHD KGKSIQDLRR RELLEKLLEK LHTX-NHCH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>C<sub>6</sub>H<sub>5</sub> (SEQ ID NO:70) (X = homoserin )

Vodný roztok homoserinlaktónu podobně jako shora se může zpracovávat vepřovou jaterní esterázou (Sigma Chemical Company, St. Louis, MO). Hydrolyza laktónu na C-koncový homoserin se může monitorovat analytickou chromatografií HPLC. Jakmile se hydrolyza považuje za ukončenou, čistí se produkt preparativní chromatografií HPLC, jak shora uvedeno.

AVSEHQLLHD KGKSIQDLRR RELLEKLLEK LHTX-OH (SEQ ID NO:51)  
(X = homoserin.)

Jakkoliv je vynález objasněn přípravou 34 aminokyselinového polypeptidu ze tří fragmentů, je stejně dobře použitelný pro syntézu jiných PTH a PTHrP analogů různé délky z různých fragmentů. Obecně jsou glutamová kyselina, glycin, leucin a prolin žádoucími fragmenty C-zakončení. V předchozích příkladech poskytuje leucin-leucinová kopulace mezi fragmenty 2 a 3 neočekávatelně vysoké výtěžky. Podobně se leucin-leucinové kopulace může využívat při přípravě polypeptidu SEQ ID NO:7 z fragmentů 1-7, 8-23, 24-27 a 28-34. Podle jiného provedení jestliže aminokyseliny 24-27 (LEKL) jsou stejné jako 28-31, mohou se připravit čtyři aminokyselinové fragmenty způsobem v kapalně nebo v pevné fázi a vzájemně se kondenzovat za vytvoření 23-30 fragmentu. Snadné čištění je podporováno použitím malých fragmentů, které snadno krystalizují. Avšak vzrůstající počet fragmentů také zvyšuje počet kondenzačních stupňů.

## Asn Phe

## 2. Informace o SEQ ID. NO.2:

## i) Charakteristiky sekvence

A. Délka: 34 aminokyselin

B. Typ: aminokyselina

D. Topologie: lineární:

ii) Typ molekuly: peptid

iii) Hypotetická: ne

v) Typ fragmentu: N-koncový

xi) Popis sekvence: SEQ ID NO:2:

|     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |
|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|
| Ala | Val | Ser | Glu | Ile | Gln | Phe | Met | His | Asn | Leu | Gly | Lys | His | Leu | Ser |
| 1   |     |     |     | 5   |     |     |     |     | 10  |     |     |     |     | 15  |     |

|     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |
|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|
| Ser | Met | Glu | Arg | Val | Glu | Trp | Leu | Arg | Lys | Lys | Leu | Gln | Asp | Val | His |
|     |     | 20  |     |     |     |     |     | 25  |     |     |     |     | 30  |     |     |

Asn Phe

## 2. Informace o SEQ ID. NO.:3:

## i) Charakteristiky sekvence

A. Délka: 34 aminokyselin

B. Typ: aminokyselina

D. Topologie: lineární:

ii) Typ molekuly: peptid

iii) Hypotetická: ne

v) Typ fragmentu: N-koncový

xi) Popis sekvence: SEQ ID NO:3:

|     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |
|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|
| Ser | Val | Ser | Glu | Ile | Gln | Leu | Met | His | Asn | Leu | Gly | Lys | His | Leu | Ser |
| 1   |     |     |     | 5   |     |     |     |     | 10  |     |     |     |     | 15  |     |

|     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |
|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|
| Ser | Leu | Glu | Arg | Val | Glu | Trp | Leu | Arg | Lys | Lys | Leu | Gln | Asp | Val | His |
|     |     |     | 20  |     |     |     |     | 25  |     |     |     |     | 30  |     |     |

Asn Phe

## 2. Informace o SEQ ID. NO.:4:

## i) Charakteristiky sekvence



A. Délka: 34 aminokyselin

B. Typ: aminokyselina

. Topologie: lineární:

ii) Typ molekuly: peptid

iii) Hypotetická: ne

v) Typ fragmentu: N-koncový

xi) Popis sekvence: SEQ ID NO:4:

|     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |
|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|
| Ala | Val | Ser | Glu | His | Gln | Leu | Leu | His | Asp | Lys | Gly | Lys | Ser | Ile | Gln |
| 1   |     |     |     | 5   |     |     |     |     | 10  |     |     |     |     | 15  |     |

|     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |
|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|
| Asp | Leu | Arg | Arg | Arg | Phe | Phe | Leu | His | His | Leu | Ile | Ala | Glu | Ile | His |
|     |     | 20  |     |     |     |     |     | 25  |     |     |     |     | 30  |     |     |

Thr Ala

## 2. Informace o SEQ ID. NO.:5:

i) Charakteristiky sekvence

A. Délka: 34 aminokyselin

B. Typ: aminokyselina

D. Topologie: lineární:

ii) Typ molekuly: peptid

iii) Hypotetická: ne

v) Typ fragmentu: N-koncový

xi) Popis sekvence: SEQ ID NO:5:

|     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |
|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|
| Ala | Val | Ser | Glu | His | Gln | Leu | Leu | His | Asp | Lys | Gly | Lys | Ser | Ile | Gln |
| 1   |     |     |     | 5   |     |     |     |     | 10  |     |     |     |     | 15  |     |

|     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |
|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|
| Asp | Leu | Arg | Arg | Arg | Glu | Leu | Leu | Glu | Lys | Leu | Leu | Arg | Lys | Leu | His |
|     |     | 20  |     |     |     |     |     | 25  |     |     |     |     | 30  |     |     |

Thr Ala

## 2. Informace o SEQ ID. NO.:6:

i) Charakteristiky sekvence

A. Délka: 34 aminokyselin

B. Typ: aminokyselina

D. Topologie: lineární:

ii) Typ molekuly: peptid

iii) Hypotetická: ne

v) Typ fragmentu: N-koncový

xi) Popis sekvence: SEQ ID NO:6:

|     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |
|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|
| Ala | Val | Ser | Glu | His | Gln | Leu | Leu | His | Asp | Lys | Gly | Lys | Ser | Ile | Gln |
| 1   |     |     |     | 5   |     |     |     |     | 10  |     |     |     |     | 15  |     |

|     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |
|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|
| Asp | Leu | Arg | Arg | Arg | Glu | Leu | Leu | Glu | Lys | Leu | Leu | Glu | Lys | Leu | His |
|     |     | 20  |     |     |     |     |     | 25  |     |     |     |     | 30  |     |     |

Thr Ala

2. Informace o SEQ ID. NO.:7:

i) Charakteristiky sekvence

A. Délka: 34 aminokyselin

B. Typ: aminokyselina

D. Topologie: lineární:

ii) Typ molekuly: peptid

iii) Hypotetická: ne

v) Typ fragmentu: N-koncový

xi) Popis sekvence: SEQ ID NO:7:

|     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |
|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|
| Ala | Val | Ser | Glu | His | Gln | Leu | Leu | His | Asp | Lys | Gly | Lys | Ser | Ile | Gln |
| 1   |     |     |     | 5   |     |     |     |     | 10  |     |     |     |     | 15  |     |

|     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |
|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|
| Asp | Leu | Arg | Arg | Arg | Glu | Leu | Leu | Glu | Lys | Leu | Leu | Glu | Lys | Leu | His |
|     |     | 20  |     |     |     |     |     | 25  |     |     |     |     | 30  |     |     |

Thr Ala

2. Informace o SEQ ID. NO.:8:

i) Charakteristiky sekvence

A. Délka: 34 aminokyselin

B. Typ: aminokyselina

D. Topologie: lineární:

ii) Typ molekuly: peptid

iii) Hypotetická: ne

v) Typ fragmentu: N-koncový

## ix) Charakteristiky

(A) jméno/klíč: modifikované místo

(B) lokace: 34

(D) další informace: / poznámka = "Xaa34 = homoserin"

## xi) Popis sekvence: SEQ ID NO:8:

|     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |
|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|
| Ala | Val | Ser | Glu | His | Gln | Leu | Leu | His | Asp | Lys | Gly | Lys | Ser | Ile | Gln |
| 1   |     |     |     | 5   |     |     |     | 10  |     |     |     |     |     | 15  |     |
| Asp | Leu | Arg | Arg | Arg | Glu | Leu | Leu | Glu | Lys | Leu | Leu | Glu | Lys | Leu | His |
|     |     | 20  |     |     |     |     | 25  |     |     |     |     | 30  |     |     |     |

Thr Xaa

## 2. Informace o SEQ ID. NO.:9:

## i) Charakteristiky sekvence

A. Délka: 34 aminokyselin

B. Typ: aminokyselina

D. Topologie: lineární:

ii) Typ molekuly: peptid

iii) Hypotetická: ne

v) Typ fragmentu: N-koncový

## ix) Charakteristiky

(A) jméno/klíč: modifikované místo

(B) lokace: 34

(D) další informace: / poznámka = "Xaa34 = homoserin"

## xi) Popis sekvence: SEQ ID NO:9:

|     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |
|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|
| Ala | Val | Ser | Glu | His | Gln | Leu | Leu | His | Asp | Lys | Gly | Lys | Ser | Ile | Gln |
| 1   |     |     |     | 5   |     |     |     | 10  |     |     |     |     |     | 15  |     |
| Asp | Leu | Arg | Arg | Arg | Glu | Leu | Leu | Glu | Lys | Leu | Leu | Glu | Lys | Leu | His |
|     |     | 20  |     |     |     |     | 25  |     |     |     |     | 30  |     |     |     |

Thr Xaa

## 2. Informace o SEQ ID. NO.:10:

## i) Charakteristiky sekvence

A. Délka: 34 aminokyselin

B. Typ: aminokyselina

0. Topologie: lineární:

ii) Typ molekuly: peptid

iii) Hypotetická: ne

v) Typ fragmentu: N-koncový

xi) Popis sekvence: SEQ ID NO:10:

Ala Val Ser Glu His Gln Leu Leu His Asp Lys Gly Lys Ser Ile Gln  
1 5 10 15

Asp Leu Arg Arg Arg Glu Leu Leu Glu Lys Leu Leu Glu Lys Leu His  
20 25 30

Thr Ala Gly Arg Arg  
35

2. Informace o SEQ ID. NO.:11:

i) Charakteristiky sekvence

A. Délka: 34 aminokyselin

B. Typ: aminokyselina

0. Topologie: lineární:

ii) Typ molekuly: peptid

iii) Hypotetická: ne

v) Typ fragmentu: N-koncový

xi) Popis sekvence: SEQ ID NO:11:

Ala Val Ser Glu His Gln Leu Leu His Asp Lys Gly Lys Ser Ile Gln  
1 5 10 15

Asp Leu Arg Arg Arg Glu Leu Leu Glu Lys Leu Leu Glu Lys Leu Lys  
20 25 30

Glu Leu

2. Informace o SEQ ID. NO.:12:

i) Charakteristiky sekvence

A. Délka: 34 aminokyselin

B. Typ: aminokyselina

0. Topologie: lineární:

ii) Typ molekuly: peptid

iii) Hypotetická: ne

v) Typ fragmentu: N-koncový

xi) Popis sekvence:SEQ ID NO:12:

|     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |
|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|
| Ala | Val | Ser | Glu | His | Gln | Leu | Leu | His | Asp | Lys | Gly | Lys | Ser | Ile | Gln |
| 1   |     |     |     | 5   |     |     |     |     | 10  |     |     |     |     | 15  |     |
| Asp | Leu | Ala | Arg | Arg | Glu | Leu | Leu | Glu | Lys | Leu | Leu | Glu | Lys | Leu | His |
|     |     |     | 20  |     |     |     |     | 25  |     |     |     |     | 30  |     |     |

Thr Ala

2. Informace o SEQ ID. NO.:13:

i) Charakteristiky sekvence

A. Délka: 34 aminokyselin

B. Typ: aminokyselina

C. Topologie: lineární:

ii) Typ molekuly: peptid

iii) Hypotetická: ne

v) Typ fragmentu: N-koncový

xi) Popis sekvence:SEQ ID NO:13:

|     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |
|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|
| Ala | Val | Ser | Glu | His | Gln | Leu | Leu | His | Asp | Lys | Gly | Lys | Ser | Ile | Gln |
| 1   |     |     |     | 5   |     |     |     |     | 10  |     |     |     |     | 15  |     |
| Asp | Leu | Arg | Arg | Ala | Glu | Leu | Leu | Glu | Lys | Leu | Leu | Glu | Lys | Leu | His |
|     |     |     | 20  |     |     |     |     | 25  |     |     |     |     | 30  |     |     |

Thr Ala

2. Informace o SEQ ID. NO.:14:

i) Charakteristiky sekvence

A. Délka: 34 aminokyselin

B. Typ: aminokyselina

C. Topologie: lineární:

ii) Typ molekuly: peptid

iii) Hypotetická: ne

v) Typ fragmentu: N-koncový

xi) Popis sekvence:SEQ ID NO:14:

|     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |
|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|
| Ala | Val | Ser | Glu | Ala | Gln | Leu | Leu | His | Asp | Leu | Gly | Lys | Ser | Ile | Gln |
| 1   |     |     |     | 5   |     |     |     |     | 10  |     |     |     |     | 15  |     |
| Asp | Leu | Arg | Arg | Arg | Glu | Leu | Leu | Glu | Lys | Leu | Leu | Glu | Lys | Leu | His |
|     |     |     | 20  |     |     |     |     | 25  |     |     |     |     | 30  |     |     |

Ala Leu

## 2. Informace o SEQ ID. NO.:15:

## i) Charakteristiky sekvence

A. Délka: 34 aminokyselin

B. Typ: aminokyselina

D. Topologie: lineární:

ii) Typ molekuly: peptid

iii) Hypotetická: ne

v) Typ fragmentu: N-koncový

xi) Popis sekvence:SEQ ID NO:15:

|     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |
|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|
| Ala | Val | Ser | Glu | His | Gln | Leu | Leu | His | Asp | Lys | Gly | Lys | Ser | Ile | Gln |
| 1   |     |     |     | 5   |     |     |     |     | 10  |     |     |     |     | 15  |     |

|     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |
|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|
| Asp | Leu | Arg | Arg | Arg | Glu | Leu | Leu | Glu | Arg | Leu | Leu | Glu | Arg | Leu | His |
|     |     | 20  |     |     |     |     | 25  |     |     |     |     |     | 30  |     |     |

Thr Ala

## 2. Informace o SEQ ID. NO.:16:

## i) Charakteristiky sekvence

A. Délka: 34 aminokyselin

B. Typ: aminokyselina

D. Topologie: lineární:

ii) Typ molekuly: peptid

iii) Hypotetická: ne

v) Typ fragmentu: N-koncový

xi) Popis sekvence:SEQ ID NO:16:

|     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |
|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|
| Ala | Val | Ser | Glu | His | Gln | Leu | Leu | His | Asp | Arg | Gly | Arg | Ser | Ile | Gln |
| 1   |     |     |     | 5   |     |     |     |     | 10  |     |     |     |     | 15  |     |

|     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |
|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|
| Asp | Leu | Arg | Arg | Arg | Glu | Leu | Leu | Glu | Arg | Leu | Leu | Glu | Arg | Leu | His |
|     |     | 20  |     |     |     |     | 25  |     |     |     |     |     | 30  |     |     |

Thr Ala

## 2. Informace o SEQ ID. NO.:17:

## i) Charakteristiky sekvence

A. Délka: 34 aminokyselin

B. Typ: aminokyselina

D. Topologie: lineární:

ii) Typ molekuly: peptid

iii) Hypotetická: ne

v) Typ fragmentu: N-koncový

xi) Popis sekvence: SEQ ID NO:17:

|     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |
|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|
| Ala | Val | Ser | Glu | His | Gln | Leu | Leu | His | Asp | Arg | Gly | Arg | Ser | Ile | Gln |
| 1   |     |     |     | 5   |     |     |     | 10  |     |     |     |     |     | 15  |     |

|     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |
|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|
| Asp | Leu | Arg | Arg | Arg | Glu | Leu | Leu | Glu | Arg | Leu | Leu | Lys | Arg | Leu | His |
|     |     | 20  |     |     |     |     |     | 25  |     |     |     |     | 30  |     |     |

Thr Ala

## 2. Informace o SEQ ID. NO.:18:

## i) Charakteristiky sekvence

A. Délka: 34 aminokyselin

B. Typ: aminokyselina

D. Topologie: lineární:

ii) Typ molekuly: peptid

iii) Hypotetická: ne

v) Typ fragmentu: N-koncový

## ix) Charakteristiky

(A) jméno/klíč: modifikované místo

(B) lokace: 29

(D) další informace: / poznámka = "Xaa29 =

lyzin-(OCCH<sub>2</sub>(OCH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>)<sub>2</sub>OCH<sub>3</sub>)"

xi) Popis sekvence: SEQ ID NO:18:

|     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |
|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|
| Ala | Val | Ser | Glu | His | Gln | Leu | Leu | His | Asp | Arg | Gly | Arg | Ser | Ile | Gln |
| 1   |     |     |     | 5   |     |     |     | 10  |     |     |     |     |     | 15  |     |

|     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |
|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|
| Asp | Leu | Arg | Arg | Arg | Glu | Leu | Leu | Glu | Arg | Leu | Leu | Xaa | Arg | Leu | His |
|     |     |     | 20  |     |     |     |     | 25  |     |     |     |     | 30  |     |     |

Thr Ala

## 2. Informace o SEQ ID. NO.:19:

## i) Charakteristiky sekvence

A. Délka: 34 aminokyselin

B. Typ: aminokyselina

D. Topologie: lineární:

ii) Typ molekuly: peptid

iii) Hypotetická: ne

v) Typ fragmentu: N-koncový

## ix) Charakteristiky

(A) jméno/klíč: modifikované místo

(B) lokace: 29

(D) další informace: / poznámka = "Xaa29 =

lyzin-(OCCH<sub>2</sub>(OCH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>)<sub>11</sub>OCH<sub>3</sub>)"

## xi) Popis sekvence: SEQ ID NO:19:

|     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |
|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|
| Ala | Val | Ser | Glu | His | Gln | Leu | Leu | His | Asp | Arg | Gly | Arg | Ser | Ile | Gln |
| 1   |     |     |     | 5   |     |     |     |     | 10  |     |     |     |     | 15  |     |

|     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |
|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|
| Asp | Leu | Arg | Arg | Arg | Glu | Leu | Leu | Glu | Arg | Leu | Leu | Xaa | Arg | Leu | His |
|     |     |     | 20  |     |     |     |     | 25  |     |     |     |     | 30  |     |     |

Thr Ala

## 2. Informace o SEQ ID. NO.:20:

## i) Charakteristiky sekvence

A. Délka: 34 aminokyselin

B. Typ: aminokyselina

D. Topologie: lineární:

ii) Typ molekuly: peptid

iii) Hypotetická: ne

v) Typ fragmentu: N-koncový

## xi) Popis sekvence: SEQ ID NO:20:

|     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |
|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|
| Ala | Val | Ser | Glu | His | Gln | Leu | Leu | His | Asp | Lys | Gly | Lys | Ser | Ile | Gln |
| 1   |     |     |     | 5   |     |     |     |     | 10  |     |     |     |     | 15  |     |

|     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |
|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|
| Asp | Leu | Arg | Arg | Arg | Ala | Leu | Ala | Glu | Ala | Leu | Ala | Glu | Ala | Leu | His |
|     |     |     | 20  |     |     |     |     | 25  |     |     |     |     | 30  |     |     |

Thr Ala



## 2. Informace o SEQ ID. NO.:21:

## i) Charakteristiky sekvence

A. Délka: 34 aminokyselin

B. Typ: aminokyselina

C. Topologie: lineární:

ii) Typ molekuly: peptid

iii) Hypotetická: ne

v) Typ fragmentu: N-koncový

xi) Popis sekvence:SEQ ID NO:21:

|     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |
|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|
| Ala | Val | Ser | Glu | His | Gln | Leu | Leu | His | Asp | Lys | Gly | Lys | Ser | Ile | Gln |
| 1   |     |     |     | 5   |     |     |     |     | 10  |     |     |     |     | 15  |     |

|     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |
|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|
| Asp | Leu | Arg | Arg | Arg | Ser | Leu | Leu | Ser | Ser | Leu | Leu | Ser | Ser | Leu | His |
|     |     | 20  |     |     |     |     |     | 25  |     |     |     |     | 30  |     |     |

Thr Ala

## 2. Informace o SEQ ID. NO.:22:

## i) Charakteristiky sekvence

A. Délka: 34 aminokyselin

B. Typ: aminokyselina

C. Topologie: lineární:

ii) Typ molekuly: peptid

iii) Hypotetická: ne

v) Typ fragmentu: N-koncový

xi) Popis sekvence:SEQ ID NO:22:

|     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |
|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|
| Ala | Val | Ser | Glu | His | Gln | Leu | Leu | His | Asp | Lys | Gly | Lys | Ser | Ile | Gln |
| 1   |     |     |     | 5   |     |     |     |     | 10  |     |     |     |     | 15  |     |

|     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |
|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|
| Asp | Leu | Arg | Arg | Arg | Ala | Phe | Tyr | Asp | Lys | Val | Ala | Glu | Lys | Leu | His |
|     |     | 20  |     |     |     |     |     | 25  |     |     |     |     | 30  |     |     |

Thr Ala

## 2. Informace o SEQ ID. NO.:23:

## i) Charakteristiky sekvence

A. Délka: 34 aminokyselin

B. Typ: aminokyselina

Ø. Topologie: lineární:

ii) Typ molekuly: peptid

iii) Hypotetická: ne

v) Typ fragmentu: N-koncový

ix) Charakteristiky

(A) jméno/klíč: modifikované místo

(B) lokace: 8

(D) další informace:/poznámka = "Xaa8 = norleucin"

ix) Charakteristiky

(A) jméno/klíč: modifikované místo

(B) lokace: 18

(D) další informace:/poznámka = "Xaa18 = norleucin"

xi) Popis sekvence:SEQ ID NO:23:

|     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |
|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|
| Ala | Val | Ser | Glu | Ile | Gln | Phe | Xaa | His | Asn | Leu | Gly | Lys | His | Leu | Ser |
| 1   |     |     |     | 5   |     |     |     |     | 10  |     |     |     |     | 15  |     |

|     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |
|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|
| Ser | Xaa | Glu | Arg | Val | Glu | Leu | Leu | Glu | Lys | Leu | Leu | Glu | Lys | Leu | His |
|     |     |     | 20  |     |     |     |     | 25  |     |     |     |     | 30  |     |     |

Asn Tyr

2. Informace o SEQ ID. NO.:24:

i) Charakteristiky sekvence

A. Délka: 34 aminokyselin

B. Typ: aminokyselina

Ø. Topologie: lineární:

ii) Typ molekuly: peptid

iii) Hypotetická: ne

v) Typ fragmentu: N-koncový

ix) Charakteristiky

(A) jméno/klíč: modifikované místo

(B) lokace: 8

(D) další informace:/poznámka = "Xaa8 = norleucin"

ix) Charakteristiky

(A) jméno/klíč: modifikované místo

(B) lokace: 18

(D) další informace:/poznámka = "Xaa18 = norleucin"

xi) Popis sekvence: SEQ ID NO:24:

|     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |
|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|
| Ala | Val | Ser | Glu | Ile | Gln | Phe | Xaa | His | Asn | Leu | Gly | Lys | His | Leu | Ser |
| 1   |     |     |     | 5   |     |     |     |     | 10  |     |     |     |     | 15  |     |
| Ser | Xaa | Arg | Arg | Arg | Glu | Leu | Leu | Glu | Lys | Leu | Leu | Glu | Lys | Leu | His |
|     |     |     | 20  |     |     |     |     | 25  |     |     |     |     | 30  |     |     |

Asn Tyr

2. Informace o SEQ ID. NO.:25:

i) Charakteristiky sekvence

A. Délka: 35 aminokyselin

B. Typ: aminokyselina

D. Topologie: lineární:

ii) Typ molekuly: peptid

iii) Hypotetická: ne

v) Typ fragmentu: N-koncový

xi) Popis sekvence: SEQ ID NO:25:

|     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |
|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|
| Ala | Val | Ser | Glu | His | Gln | Leu | Leu | His | Asp | Lys | Gly | Lys | Ser | Ile | Gln |
| 1   |     |     |     | 5   |     |     |     |     | 10  |     |     |     |     | 15  |     |
| Asp | Leu | Arg | Arg | Arg | Glu | Leu | Leu | Glu | Lys | Leu | Leu | Glu | Lys | Leu | His |
|     |     |     | 20  |     |     |     |     | 25  |     |     |     |     | 30  |     |     |

Thr Met Ala  
35

2. Informace o SEQ ID. NO.:26:

i) Charakteristiky sekvence

A. Délka: 10 aminokyselin

B. Typ: aminokyselina

D. Topologie: šrouhovicová

ii) Typ molekuly: peptid

iii) Hypotetická: ne

v) Typ fragmentu: internální

ix) Charakteristiky

(A) jméno/klíč: modifikované místo

(B) lokace: 8

(D) další informace: /poznámka = "Xaa8 = glutamová kyselina

nebo arginin"

ix) Charakteristiky

(A) jméno/klíč: oblast

(B) lokace: 1 .. 10

(D) další informace: /poznámka = "sekvence 26 je zapuštěna  
v poloze 22 až 31 sekvence 5, 6, 7, 8,  
10, 11, 12, 13 a 14"

xi) Popis sekvence: SEQ ID NO:26:

|     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |
|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|
| Glu | Leu | Leu | Glu | Lys | Leu | Leu | Xaa | Lys | Leu |
| 1   |     |     |     | 5   |     |     |     |     | 10  |

2. Informace o SEQ ID. NO.:27:

i) Charakteristiky sekvence

A. Délka: 10 aminokyselin

B. Typ: aminokyselina

C. Topologie: šroubovicová

ii) Typ molekuly: peptid

iii) Hypoletická: ne

v) Typ fragmentu: internální

ix) Charakteristiky

(A) jméno/klíč: modifikované místo

(B) lokace: 8

(D) další informace: /poznámka = "Xaa8 = glutamová kyselina  
lyzin nebo lyzin-(OCCH<sub>2</sub>PEGX"

ix) Charakteristiky

(A) jméno/klíč: oblast

(B) lokace: 1 .. 10

(D) další informace: /poznámka = "sekvence 27 je zapuštěna  
v poloze 22 až 31 sekvence 15, 16, 17,  
18 a 19"

xi) Popis sekvence: SEQ ID NO:27:

|     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |
|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|
| Glu | Leu | Leu | Glu | Arg | Leu | Leu | Xaa | Arg | Leu |
| 1   |     |     |     | 5   |     |     |     |     | 10  |

## 2. Informace o SEQ ID. NO.:28:

## i) Charakteristiky sekvence

A. Délka: 10 aminokyselin

B. Typ: aminokyselina

D. Topologie: šroubovicová:

## ii) Typ molekuly: peptid

## iii) Hypotetická: ne

## v) Typ fragmentu: internální

## ix) Charakteristiky

(A) jméno/klíč: peptid

(B) lokace: 1..10

(D) další informace: /poznámka = "sekvence 28 je zapuštěna  
v poloze 22 až 31 sekvence 20"

## xi) Popis sekvence: SEQ ID NO:28:

|     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |
|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|
| Ala | Leu | Ala | Glu | Ala | Leu | Ala | Glu | Ala | Leu |
| 1   |     |     | 5   |     |     |     |     |     | 10  |

## 2. Informace o SEQ ID. NO.:29:

## i) Charakteristiky sekvence

A. Délka: 10 aminokyselin

B. Typ: aminokyselina

D. Topologie: šroubovicová

## ii) Typ molekuly: peptid

## iii) Hypotetická: ne

## v) Typ fragmentu: internální

## ix) Charakteristiky

(A) jméno/klíč: peptid

(B) lokace: 1..10

(D) další informace: /poznámka = "sekvence 29 je zapuštěna  
v poloze 22 až 31 sekvence 21"

## xi) Popis sekvence: SEQ ID NO:29:

|     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |
|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|
| Ser | Leu | Leu | Ser | Ser | Leu | Leu | Ser | Ser | Leu |
| 1   |     |     |     | 5   |     |     |     |     | 10  |

## 2. Informace o SEQ ID. NO.:30:

## i) Charakteristiky sekvence

A. Délka: 10 aminokyselin

B. Typ: aminokyselina

D. Topologie: šroubovicová:

## ii) Typ molekuly: peptid

## iii) Hypotetická: ne

## v) Typ fragmentu: internální

## ix) Charakteristiky

(A) jméno/klíč: peptid

(B) lokace: 1..10

(D) další informace: /poznámka = "sekvence 30 je zapuštěna

v poloze 22 až 31 sekvence 22"

## xi) Popis sekvence: SEQ ID NO:30:

|     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |
|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|
| Ala | Phe | Tyr | Asp | Lys | Val | Ala | Glu | Lys | Leu |
| 1   |     |     |     | 5   |     |     |     |     | 10  |

## 2. Informace o SEQ ID. NO.:31:

## i) Charakteristiky sekvence

A. Délka: 88 páru bází

B. Typ: nukleová kyselina

C. řetězcovitost: jeden řetězec

D. Topologie: lineární

## ii) Typ molekuly: cDNA

## iii) Hypotetická: ne

## iv) Antimediátor: ne

## xi) Popis sekvence: SEQ ID NO:31:

CCTCTAGATC TCCGCGGCGC TAGCATGGCT GTTCTGAAC ATCAGCTGCT TCATGACAAA 60

GGTAAATCGA TTCAAGATCT GAGACGTC 88

## 2. Informace o SEQ ID. NO.:32:

## i) Charakteristiky sekvence

A. Délka: 90 páru bází

B. Typ: nukleová kyselina

C. řetězcovitost: jeden řetězec

D. Topologie: lineární

ii) Typ molekuly: cDNA

iii) Hypotetická: ne

iv) Antimediátor: ano

xi) Popis sekvence: SEQ ID NO:32:

CCTCGAAGCT TATGCATCAT TATCTAGACA TAGTATGCAG CTTTCAAGC AGTTTCTCCA 60  
GCAGCTCGCG ACGTCTCAGA TCTTGAATCG 90

2. Informace o SEQ ID. NO.:33:

i) Charakteristiky sekvence

A. Délka: 23 páru bází

B. Typ: nukleová kyselina

C. řetězcovitost: jeden řetězec

D. Topologie: lineární

ii) Typ molekuly: cDNA

iii) Hypotetická: ne

iv) Antimediátor: ne

xi) Popis sekvence: SEQ ID NO:33:

CCTCTAGATC TCCGCGCGCT AGC 23

2. Informace o SEQ ID. NO.:34:

i) Charakteristiky sekvence

A. Délka: 24 páru bází

B. Typ: nukleová kyselina

C. řetězcovitost: jeden řetězec

D. Topologie: lineární

ii) Typ molekuly: cDNA

iii) Hypotetická: ne

iv) Antimediátor: ano

xi) Popis sekvence: SEQ ID NO:34:

CCTCGAAGCT TATGCATCAT TATC 24

## 2. Informace o SEQ ID. NO.:35:

## i) Charakteristiky sekvence

A. Délka: 34 aminokyselin

B. Typ: aminokyselina

D. Topologie: lineární

ii) Typ molekuly: protein

iii) Hypotetická: ne

v) Typ fragmentu: N-koncový

xi) Popis sekvence:SEQ ID NO:35:

|     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |
|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|
| Ala | Val | Ser | Glu | Ile | Gln | Phe | Leu | His | Asn | Leu | Gly | Lys | His | Leu | Ser |
| 1   |     |     |     | 5   |     |     |     |     | 10  |     |     |     |     | 15  |     |

|     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |
|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|
| Ser | Leu | Arg | Arg | Arg | Glu | Leu | Leu | Glu | Lys | Leu | Leu | Glu | Lys | Leu | His |
|     |     |     | 20  |     |     |     |     | 25  |     |     |     |     | 30  |     |     |

Asn Tyr

## 2. Informace o SEQ ID. NO.:36:

## i) Charakteristiky sekvence

A. Délka: 34 aminokyselin

B. Typ: aminokyselina

D. Topologie: lineární

ii) Typ molekuly: protein

iii) Hypotetická: ne

v) Typ fragmentu: N-koncový

## ix) Charakteristiky

(A) jméno/klíč: modifikované místo

(B) lokace: 34

(D) další informace:/poznámka = "Xaa je homosérin"

xi) Popis sekvence:SEQ ID NO:36:

|     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |
|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|
| Ala | Val | Ser | Glu | Ile | Gln | Phe | Leu | His | Asn | Leu | Gly | Lys | His | Leu | Ser |
| 1   |     |     |     | 5   |     |     |     |     | 10  |     |     |     |     | 15  |     |

|     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |
|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|
| Ser | Leu | Arg | Arg | Arg | Glu | Leu | Leu | Glu | Lys | Leu | Leu | Glu | Lys | Leu | His |
|     |     |     | 20  |     |     |     |     | 25  |     |     |     |     | 30  |     |     |

Asn Xaa



## 2. Informace o SEQ ID. NO.:37:

## i) Charakteristiky sekvence

A. Délka: 34 aminokyselin

B. Typ: aminokyselina

D. Topologie: lineární

ii) Typ molekuly: protein

iii) Hypotetická: ne

v) Typ fragmentu: N-koncový

## ix) Charakteristiky

(A) jméno/klíč: modifikované místo

(B) lokace: 34

(D) další informace:/poznámka = "Xaa je homoserin"

## xi) Popis sekvence:SEQ ID NO:37:

|     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |
|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|
| Ala | Val | Ser | Glu | Ile | Gln | Phe | Leu | His | Asn | Lys | Gly | Lys | His | Leu | Ser |
| 1   |     |     |     | 5   |     |     |     |     | 10  |     |     |     |     | 15  |     |

|     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |
|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|
| Ser | Leu | Arg | Arg | Arg | Glu | Leu | Leu | Glu | Lys | Leu | Leu | Glu | Lys | Leu | His |
|     |     |     | 20  |     |     |     |     | 25  |     |     |     |     | 30  |     |     |

Asn Xaa

## 2. Informace o SEQ ID. NO.:38:

## i) Charakteristiky sekvence

A. Délka: 34 aminokyselin

B. Typ: aminokyselina

D. Topologie: lineární

ii) Typ molekuly: protein

iii) Hypotetická: ne

v) Typ fragmentu: N-koncový

## xi) Popis sekvence:SEQ ID NO:38:

|     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |
|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|
| Ala | Val | Ser | Glu | His | Gln | Leu | Leu | His | Asp | Lys | Gly | Lys | Ser | Ile | Gln |
| 1   |     |     |     | 5   |     |     |     |     | 10  |     |     |     |     | 15  |     |

|     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |
|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|
| Asp | Leu | Lys | Leu | Lys | Glu | Leu | Leu | Glu | Lys | Leu | Leu | Glu | Lys | Leu | His |
|     |     |     | 20  |     |     |     |     | 25  |     |     |     |     | 30  |     |     |

Thr Ala

## 2. Informace o SEQ ID. NO.:39:

## i) Charakteristiky sekvence

A. Délka: 34 aminokyselin

B. Typ: aminokyselina

D. Topologie: lineární

ii) Typ molekuly: protein

iii) Hypotetická: ne

v) Typ fragmentu: N-koncový

xi) Popis sekvence: SEQ ID NO:39:

|     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |
|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|
| Ala | Val | Ser | Glu | His | Gln | Leu | Leu | His | Asp | Lys | Gly | Lys | Ser | Ile | Gln |
| 1   |     |     |     | 5   |     |     |     |     | 10  |     |     |     |     | 15  |     |

|     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |
|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|
| Asp | Leu | Arg | Arg | Arg | Glu | Leu | Leu | Glu | Arg | Leu | Leu | Glu | Arg | Leu | His |
|     |     | 20  |     |     |     |     |     | 25  |     |     |     |     | 30  |     |     |

Thr Ala

## 2. Informace o SEQ ID. NO.:40:

## i) Charakteristiky sekvence

A. Délka: 35 aminokyselin

B. Typ: aminokyselina

D. Topologie: lineární

ii) Typ molekuly: protein

iii) Hypotetická: ne

v) Typ fragmentu: N-koncový

xi) Popis sekvence: SEQ ID NO:40:

|     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |
|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|
| Ala | Val | Ser | Glu | His | Gln | Leu | Leu | His | Asp | Lys | Gly | Lys | Ser | Ile | Gln |
| 1   |     |     |     | 5   |     |     |     |     | 10  |     |     |     |     | 15  |     |

|     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |
|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|
| Asp | Leu | Arg | Arg | Arg | Glu | Leu | Leu | Glu | Arg | Leu | Leu | Glu | Arg | Leu | His |
|     |     | 20  |     |     |     |     |     | 25  |     |     |     |     | 30  |     |     |

Thr Ala Pro  
35

## 2. Informace o SEQ ID. NO.:41:

## i) Charakteristiky sekvence

A. Délka: 37 aminokyselin

B. Typ: aminokyselina

D. Topologie: lineární

ii) Typ molekuly: protein

iii) Hypotetická: ne

v) Typ fragmentu: N-koncový

xi) Popis sekvence: SEQ ID NO:41:

```
Ala Val Ser Glu His Gln Leu Leu His Asp Lys Gly Lys Ser Ile Gln
1          5          10          15
Asp Leu Arg Arg Arg Glu Leu Leu Glu Arg Leu Leu Glu Arg Leu His
          20          25          30
Thr Ala Gly Arg Arg
          35
```

2. Informace o SEQ ID. NO.:42:

i) Charakteristiky sekvence

A. Délka: 38 aminokyselin

B. Typ: aminokyselina

D. Topologie: lineární

ii) Typ molekuly: protein

iii) Hypotetická: ne

v) Typ fragmentu: N-koncový

ix) Charakteristiky

(A) jméno/klíč: modifikované místo

(B) lokace: 38

(D) další informace: /poznámka = "Xaa je homoserin"

xi) Popis sekvence: SEQ ID NO:42:

```
Ala Val Ser Glu His Gln Leu Leu His Asp Lys Gly Lys Ser Ile Gln
1          5          10          15
Asp Leu Arg Arg Arg Glu Leu Leu Glu Arg Leu Leu Glu Arg Leu His
          20          25          30
Thr Ala Gly Arg Arg Xaa
          35
```

2. Informace o SEQ ID. NO.:43:

i) Charakteristiky sekvence

A. Délka: 34 aminokyselin

B. Typ: aminokyselina

D. Topologie: lineární

ii) Typ molekuly: protein

iii) Hypotetická: ne

v) Typ fragmentu: N-koncový

xi) Popis sekvence: SEQ ID NO:43:

|     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |
|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|
| Ala | Val | Ser | Glu | His | Gln | Leu | Leu | His | Asp | Lys | Gly | Lys | Ser | Ile | Gln |
| 1   |     |     |     | 5   |     |     |     |     | 10  |     |     |     |     | 15  |     |
| Asp | Leu | Arg | Arg | Arg | Glu | Leu | Leu | Glu | Lys | Leu | Leu | Glu | Lys | Leu | His |
|     |     | 20  |     |     |     |     |     | 25  |     |     |     |     | 30  |     |     |

Thr Tyr

2. Informace o SEQ ID. NO.:44:

i) Charakteristiky sekvence

A. Délka: 34 aminokyselin

B. Typ: aminokyselina

D. Topologie: lineární

ii) Typ molekuly: protein

iii) Hypotetická: ne

v) Typ fragmentu: N-koncový

xi) Popis sekvence: SEQ ID NO:44:

|     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |
|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|
| Ala | Val | Ser | Glu | His | Gln | Leu | Leu | His | Asp | Lys | Gly | Tyr | Ser | Ile | Gln |
| 1   |     |     |     | 5   |     |     |     |     | 10  |     |     |     |     | 15  |     |
| Asp | Leu | Arg | Arg | Arg | Glu | Leu | Leu | Glu | Lys | Leu | Leu | Glu | Lys | Leu | His |
|     |     | 20  |     |     |     |     |     | 25  |     |     |     |     | 30  |     |     |

Thr Ala

2. Informace o SEQ ID. NO.:45:

i) Charakteristiky sekvence

A. Délka: 34 aminokyselin

B. Typ: aminokyselina

D. Topologie: lineární

ii) Typ molekuly: protein

iii) Hypotetická: ne

v) Typ fragmentu: N-koncový

xi) Popis sekvence:SEQ ID NO:45:

|     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |
|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|
| Ala | Val | Ser | Glu | His | Gln | Leu | Leu | His | Asp | Lys | Gly | Cys | Ser | Ile | Gln |
| 1   |     |     |     | 5   |     |     |     |     | 10  |     |     |     |     | 15  |     |
| Asp | Leu | Arg | Arg | Arg | Glu | Leu | Leu | Glu | Lys | Leu | Leu | Glu | Lys | Leu | His |
|     |     | 20  |     |     |     |     |     | 25  |     |     |     |     | 30  |     |     |

Thr Ala

2. Informace o SEQ ID. NO.:46:

i) Charakteristiky sekvence

A. Délka: 34 aminokyselin

B. Typ: aminokyselina

D. Topologie: lineární

ii) Typ molekuly: protein

iii) Hypotetická: ne

v) Typ fragmentu: N-koncový

ix) Charakteristiky

(A) jméno/klíč: modifikované místo

(B) lokace: 13

(D) další informace:/poznámka = "Xaa je

Cys(CH-2CONH(CH-2)-2NH(biotinyl))"

xi) Popis sekvence:SEQ ID NO:46:

|     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |
|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|
| Ala | Val | Ser | Glu | His | Gln | Leu | Leu | His | Asp | Lys | Gly | Xaa | Ser | Ile | Gln |
| 1   |     |     |     | 5   |     |     |     |     | 10  |     |     |     |     | 15  |     |
| Asp | Leu | Arg | Arg | Arg | Glu | Leu | Leu | Glu | Lys | Leu | Leu | Glu | Lys | Leu | His |
|     |     | 20  |     |     |     |     |     | 25  |     |     |     |     | 30  |     |     |

Thr Ala

2. Informace o SEQ ID. NO.:47:

i) Charakteristiky sekvence

A. Délka: 34 aminokyselin

B. Typ: aminokyselina

D. Topologie: lineární

ii) Typ molekuly: protein

iii) Hypotetická: ne

v) Typ fragmentu: N-koncový

ix) Charakteristiky

(A) jméno/klíč: modifikované místo

(B) lokace: 13

(D) další informace:/poznámka = "Xaa je

Lys(7-dimethylamino-2-oxo-2H-1-benzopyran-4-acetyl)"

xi) Popis sekvence:SEQ ID NO:47:

|     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |
|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|
| Ala | Val | Ser | Glu | His | Gln | Leu | Leu | His | Asp | Lys | Gly | Xaa | Ser | Ile | Gln |
| 1   |     |     |     | 5   |     |     |     |     | 10  |     |     |     |     | 15  |     |

|     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |
|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|
| Asp | Leu | Arg | Arg | Arg | Glu | Leu | Leu | Glu | Lys | Leu | Leu | Glu | Lys | Leu | His |
|     |     | 20  |     |     |     |     |     | 25  |     |     |     |     | 30  |     |     |

Thr Ala

2. Informace o SEQ ID. NO.:48:

i) Charakteristiky sekvence

A. Délka: 35 aminokyselin

B. Typ: aminokyselina

D. Topologie: lineární

ii) Typ molekuly: protein

iii) Hypotetická: ne

v) Typ fragmentu: N-koncový

xi) Popis sekvence:SEQ ID NO:48:

|     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |
|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|
| Ala | Val | Ser | Glu | His | Gln | Leu | Leu | His | Asp | Lys | Gly | Lys | Ser | Ile | Gln |
| 1   |     |     |     | 5   |     |     |     |     | 10  |     |     |     |     | 15  |     |

|     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |
|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|
| Asp | Leu | Arg | Arg | Arg | Glu | Leu | Leu | Glu | Lys | Leu | Leu | Glu | Lys | Leu | His |
|     |     | 20  |     |     |     |     |     | 25  |     |     |     |     | 30  |     |     |

Thr Ala Gly  
35

2. Informace o SEQ ID. NO.:49:

i) Charakteristiky sekvence

A. Délka: 33 aminokyselin

B. Typ: aminokyselina

D. Topologie: lineární

ii) Typ molekuly: protein

iii) Hypotetická: ne

v) Typ fragmentu: N-koncový

ix) Charakteristiky

(A) jméno/klíč: modifikované místo

(B) lokace: 4

(D) další informace:/poznámka = "Xaa je Glu(OCH-3)

ix) Charakteristiky

(A) jméno/klíč: modifikované místo

(B) lokace: 10

(D) další informace:/poznámka = "Xaa je Asp(OCH-3)

ix) Charakteristiky

(A) jméno/klíč: modifikované místo

(B) lokace: 17

(D) další informace:/poznámka = "Xaa je Asp(OCH-3)

ix) Charakteristiky

(A) jméno/klíč: modifikované místo

(B) lokace: 22

(D) další informace:/poznámka = "Xaa je Glu(OCH-3)

ix) Charakteristiky

(A) jméno/klíč: modifikované místo

(B) lokace: 25

(D) další informace:/poznámka = "Xaa je Glu(OCH-3)

ix) Charakteristiky

(A) jméno/klíč: modifikované místo

(B) lokace: 29

(D) další informace:/poznámka = "Xaa je Glu(OCH-3)

xi) Popis sekvence:SEQ ID NO:49:

|     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |
|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|
| Ala | Val | Ser | Xaa | His | Gln | Leu | Leu | His | Xaa | Lys | Gly | Lys | Ser | Ile | Gln |
| 1   |     |     |     | 5   |     |     |     |     | 10  |     |     |     |     | 15  |     |

|     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |
|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|
| Xaa | Leu | Arg | Arg | Arg | Xaa | Leu | Leu | Xaa | Lys | Leu | Leu | Xaa | Lys | Leu | His |
|     |     | 20  |     |     |     |     | 25  |     |     |     |     |     | 30  |     |     |

Ala

## 2. Informace o SEQ ID. NO.:50:

## i) Charakteristiky sekvence

A. Délka: 33 aminokyselin

B. Typ: aminokyselina

D. Topologie: lineární

## ii) Typ molekuly: protein

## iii) Hypotetická: ne

## v) Typ fragmentu: N-koncový

## ix) Charakteristiky

(A) jméno/klíč: modifikované místo

(B) lokace: 4

(D) další informace:/poznámka = "Xaa je Glu(OCH-3)

## ix) Charakteristiky

(A) jméno/klíč: modifikované místo

(B) lokace: 10

(D) další informace:/poznámka = "Xaa je Asp(OCH-3)

## ix) Charakteristiky

(A) jméno/klíč: modifikované místo

(B) lokace: 17

(D) další informace:/poznámka = "Xaa je Asp(OCH-3)

## ix) Charakteristiky

(A) jméno/klíč: modifikované místo

(B) lokace: 22

(D) další informace:/poznámka = "Xaa je Glu(OCH-3)

## ix) Charakteristiky

(A) jméno/klíč: modifikované místo

(B) lokace: 25

(D) další informace:/poznámka = "Xaa je Glu(OCH-3)

## ix) Charakteristiky

(A) jméno/klíč: modifikované místo

(B) lokace: 29

(D) další informace:/poznámka = "Xaa je Glu(OCH-3)

## xi) Popis sekvence: SEQ ID NO:50:



Ala Val Ser Xaa His Gln Leu Leu His Xaa Lys Gly Lys Ser Ile Gln  
 1 5 10 15  
 Xaa Leu Arg Arg Arg Xaa Leu Leu Xaa Lys Leu Leu Xaa Lys Leu His  
 20 25 30  
 Ala

2. Informace o SEQ ID. NO.:51:

i) Charakteristiky sekvence

A. Délka: 34 aminokyselin

B. Typ: aminokyselina

D. Topologie: lineární

ii) Typ molekuly: protein

iii) Hypotetická: ne

v) Typ fragmentu: N-koncový

ix) Charakteristiky

(A) jméno/klíč: modifikované místo

(B) lokace: 34

(D) další informace: /poznámka = "Xaa je homoserin"

xi) Popis sekvence: SEQ ID NO:51:

Ala Val Ser Glu His Gln Leu Leu His Asp Lys Gly Lys Ser Ile Gln  
 1 5 10 15  
 Asp Leu Arg Arg Arg Glu Leu Leu Glu Lys Leu Leu Glu Lys Leu His  
 20 25 30

Thr Xaa

2. Informace o SEQ ID. NO.:52:

i) Charakteristiky sekvence

A. Délka: 35 aminokyselin

B. Typ: aminokyselina

D. Topologie: lineární

ii) Typ molekuly: protein

iii) Hypotetická: ne

v) Typ fragmentu: N-koncový

xi) Popis sekvence: SEQ ID NO:52:

- 65 -

Ala Val Ser Glu His Gln Leu Leu His Asp Lys Gly Lys Ser Ile Gln  
 1 5 10 15  
 Asp Leu Arg Arg Arg Glu Leu Leu Glu Lys Leu Leu Glu Lys Leu His  
 20 25 30  
 Thr Ala Pro  
 35

## 2. Informace o SEQ ID. NO.:53:

## i) Charakteristiky sekvence

A. Délka: 34 aminokyselin

B. Typ: aminokyselina

D. Topologie: lineární

ii) Typ molekuly: protein

iii) Hypotetická: ne

v) Typ fragmentu: N-koncový

xi) Popis sekvence: SEQ ID NO:53:

Ala Val Ser Glu His Gln Leu Leu His Asp Lys Gly Lys Ser Ile Gln  
 1 5 10 15  
 Asp Leu Arg Arg Arg Glu Leu Leu Glu Lys Leu Leu Glu Lys Leu His  
 20 25 30

Thr Pro

## 2. Informace o SEQ ID. NO.:54:

## i) Charakteristiky sekvence

A. Délka: 34 aminokyselin

B. Typ: aminokyselina

D. Topologie: lineární

ii) Typ molekuly: protein

iii) Hypotetická: ne

v) Typ fragmentu: N-koncový

xi) Popis sekvence: SEQ ID NO:54:

Ala Val Ser Glu His Gln Leu Leu His Asp Lys Gly Lys Ser Ile Gln  
 1 5 10 15  
 Asp Leu Arg Arg Arg Glu Leu Leu Glu Lys Leu Leu Glu Lys Leu His  
 20 25 30

Thr Pro

## 2. Informace o SEQ ID. NO.:55:

## i) Charakteristiky sekvence

A. Délka: 33 aminokyselin

B. Typ: aminokyselina

D. Topologie: lineární

ii) Typ molekuly: protein

iii) Hypotetická: ne

v) Typ fragmentu: N-koncový

xi) Popis sekvence:SEQ ID NO:55:

|     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |
|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|
| Ala | Val | Ser | Glu | His | Gln | Leu | Leu | His | Asp | Lys | Gly | Lys | Ser | Ile | Gln |
| 1   |     |     |     | 5   |     |     |     |     | 10  |     |     |     |     | 15  |     |

|     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |
|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|
| Asp | Leu | Arg | Arg | Arg | Glu | Leu | Leu | Glu | Lys | Leu | Leu | Glu | Lys | Leu | His |
|     |     | 20  |     |     |     |     |     | 25  |     |     |     |     | 30  |     |     |

Pro

## 2. Informace o SEQ ID. NO.:56:

## i) Charakteristiky sekvence

A. Délka: 32 aminokyselin

B. Typ: aminokyselina

D. Topologie: lineární

ii) Typ molekuly: protein

iii) Hypotetická: ne

v) Typ fragmentu: N-koncový

xi) Popis sekvence:SEQ ID NO:56:

|     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |
|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|
| Ala | Val | Ser | Glu | His | Gln | Leu | Leu | His | Asp | Lys | Gly | Lys | Ser | Ile | Gln |
| 1   |     |     |     | 5   |     |     |     |     | 10  |     |     |     |     | 15  |     |

|     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |
|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|
| Asp | Leu | Arg | Arg | Arg | Glu | Leu | Leu | Glu | Lys | Leu | Leu | Glu | Lys | Leu | Pro |
|     |     | 20  |     |     |     |     |     | 25  |     |     |     |     | 30  |     |     |

## 2. Informace o SEQ ID. NO.:57:

## i) Charakteristiky sekvence

A. Délka: 37 aminokyselin

B. Typ: aminokyselina

D. Topologie: lineární

ii) Typ molekuly: protein

iii) Hypotetická: ne

v) Typ fragmentu: N-koncový

xi) Popis sekvence: SEQ ID NO:57:

|     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |
|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|
| Ala | Val | Ser | Glu | His | Gln | Leu | Leu | His | Asp | Lys | Gly | Lys | Ser | Ile | Gln |
| 1   |     |     |     | 5   |     |     |     |     | 10  |     |     |     |     | 15  |     |

|     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |
|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|
| Asp | Leu | Arg | Arg | Arg | Glu | Leu | Leu | Glu | Lys | Leu | Leu | Glu | Lys | Leu | His |
|     |     | 20  |     |     |     |     |     | 25  |     |     |     |     | 30  |     |     |

|     |     |     |     |     |
|-----|-----|-----|-----|-----|
| Thr | Arg | Ser | Ala | Trp |
|     |     |     |     | 35  |

2. Informace o SEQ ID. NO.:58:

i) Charakteristiky sekvence

A. Délka: 42 aminokyselin

B. Typ: aminokyselina

D. Topologie: lineární

ii) Typ molekuly: protein

iii) Hypotetická: ne

v) Typ fragmentu: N-koncový

xi) Popis sekvence: SEQ ID NO:58:

|     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |
|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|
| Ala | Val | Ser | Glu | His | Gln | Leu | Leu | His | Asp | Arg | Gly | Arg | Ser | Ile | Gln |
| 1   |     |     |     | 5   |     |     |     |     | 10  |     |     |     |     | 15  |     |

|     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |
|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|
| Asp | Leu | Arg | Arg | Arg | Glu | Leu | Leu | Glu | Arg | Leu | Leu | Glu | Arg | Leu | His |
|     |     | 20  |     |     |     |     |     | 25  |     |     |     |     | 30  |     |     |

|     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |
|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|
| Thr | Ala | Gly | Arg | Arg | Thr | Arg | Ser | Ala | Trp |
|     |     | 35  |     |     |     | 40  |     |     |     |

2. Informace o SEQ ID. NO.:59:

i) Charakteristiky sekvence

A. Délka: 42 aminokyselin

B. Typ: aminokyselina

D. Topologie: lineární

ii) Typ molekuly: protein

iii) Hypotetická: ne

v) Typ fragmentu: N-koncový

xi) Popis sekvence: SEQ ID NO:59:

Ala Val Ser Glu His Gln Leu Leu His Asp Arg Gly Arg Ser Ile Gln  
1 5 10 15

Asp Leu Arg Arg Arg Glu Leu Leu Glu Arg Leu Leu Glu Arg Leu His  
20 25 30

Thr Arg Gly Arg Arg Thr Arg Ser Ala Trp  
35 40

2. Informace o SEQ ID. NO.:60:

i) Charakteristiky sekvence

A. Délka: 42 aminokyselin

B. Typ: aminokyselina

D. Topologie: lineární

ii) Typ molekuly: protein

iii) Hypotetická: ne

v) Typ fragmentu: N-koncový

ix) Charakteristiky

(A) jméno/klíč: modifikované místo

(B) lokace: 13

(D) další informace:/poznámka = "sekvence 13 je

Lys(dihydrocinnamoyl)"

xi) Popis sekvence:SEQ ID NO:60:

Ala Val Ser Glu His Gln Leu Leu His Asp Arg Gly Xaa Ser Ile Gln  
1 5 10 15

Asp Leu Arg Arg Arg Glu Leu Leu Glu Arg Leu Leu Glu Arg Leu His  
20 25 30

Thr Arg Gly Arg Arg Thr Arg Ser Ala Trp  
35 40

2. Informace o SEQ ID. NO.:61:

i) Charakteristiky sekvence

A. Délka: 34 aminokyselin

B. Typ: aminokyselina

D. Topologie: lineární

ii) Typ molekuly: protein

iii) Hypotetická: ne

v) Typ fragmentu: N-koncový

ix) Charakteristiky

(A) jméno/klíč: modifikované místo

(B) lokace: 8

(D) další informace:/poznámka = "Leu8 je norleucin"

ix) Charakteristiky

(A) jméno/klíč: modifikované místo

(B) lokace: 18

(D) další informace:/poznámka = "Leu18 je norleucin"

xi) Popis sekvence:SEQ ID NO:61:

|     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |
|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|
| Ala | Val | Ser | Glu | Ile | Gln | Phe | Leu | His | Asn | Leu | Gly | Lys | His | Leu | Ser |
| 1   |     |     |     | 5   |     |     |     |     | 10  |     |     |     |     | 15  |     |

|     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |
|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|
| Ser | Leu | Thr | Arg | Ser | Ala | Trp | Leu | Arg | Lys | Lys | Leu | Gln | Asp | Val | His |
|     |     |     | 20  |     |     |     |     | 25  |     |     |     |     | 30  |     |     |

Asn Tyr

2. Informace o SEQ ID. NO.:62:

i) Charakteristiky sekvence

A. Délka: 35 aminokyselin

B. Typ: aminokyselina

D. Topologie: lineární

ii) Typ molekuly: protein

iii) Hypotetická: ne

v) Typ fragmentu: N-koncový

xi) Popis sekvence:SEQ ID NO:62:

|     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |
|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|
| Ala | Val | Ser | Glu | His | Gln | Leu | Leu | His | Asp | Lys | Gly | Lys | Ser | Ile | Gln |
| 1   |     |     |     | 5   |     |     |     |     | 10  |     |     |     |     | 15  |     |

|     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |
|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|
| Asp | Leu | Arg | Arg | Arg | Glu | Leu | Leu | Glu | Lys | Leu | Leu | Glu | Lys | Leu | His |
|     |     |     |     | 20  |     |     |     | 25  |     |     |     |     | 30  |     |     |

Thr Met Ala  
35

2. Informace o SEQ ID. NO.:63:

i) Charakteristiky sekvence

A. Délka: 33 aminokyselin

B. Typ: aminokyselina

D. Topologie: lineární

ii) Typ molekuly: protein

iii) Hypotetická: ne

v) Typ fragmentu: N-koncový

ix) Charakteristiky

(A) jméno/klíč: modifikované místo

(B) lokace: 33

(D) další informace:/poznámka = "Xaa je Thr

1,4-diaminobutyryllaktam

xi) Popis sekvence:SEQ ID NO:63:

|     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |
|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|
| Ala | Val | Ser | Glu | His | Gln | Leu | Leu | His | Asp | Lys | Gly | Lys | Ser | Ile | Gln |
| 1   |     |     |     | 5   |     |     |     |     | 10  |     |     |     |     | 15  |     |

|     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |
|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|
| Asp | Leu | Arg | Arg | Arg | Glu | Leu | Leu | Glu | Lys | Leu | Leu | Glu | Lys | Leu | His |
|     |     | 20  |     |     |     |     |     | 25  |     |     |     |     | 30  |     |     |

Xaa

2. Informace o SEQ ID. NO.:64:

i) Charakteristiky sekvence

A. Délka: 34 aminokyselin

B. Typ: aminokyselina

D. Topologie: lineární

ii) Typ molekuly: protein

iii) Hypotetická: ne

v) Typ fragmentu: N-koncový

xi) Popis sekvence:SEQ ID NO:64:

|     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |
|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|
| Ala | Val | Ser | Glu | His | Gln | Leu | Leu | His | Asp | Lys | Gly | Lys | Ser | Ile | Gln |
| 1   |     |     |     | 5   |     |     |     |     | 10  |     |     |     |     | 15  |     |

|     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |
|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|
| Asp | Leu | Arg | Arg | Arg | Phe | Phe | Leu | Glu | Lys | Leu | Leu | Glu | Lys | Leu | His |
|     |     | 20  |     |     |     |     |     | 25  |     |     |     |     | 30  |     |     |

Thr Ala

## 2. Informace o SEQ ID. NO.:65:

## i) Charakteristiky sekvence

A. Délka: 34 aminokyselin

B. Typ: aminokyselina

D. Topologie: lineární

ii) Typ molekuly: protein

iii) Hypotetická: ne

v) Typ fragmentu: N-koncový

xi) Popis sekvence: SEQ ID NO:65:

|     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |
|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|
| Ala | Val | Ser | Glu | His | Gln | Leu | Leu | His | Asp | Lys | Gly | Lys | Ser | Ile | Gln |
| 1   |     |     |     | 5   |     |     |     | 10  |     |     |     |     |     | 15  |     |

|     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |
|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|
| Asp | Leu | Arg | Arg | Arg | Glu | Leu | Leu | His | Lys | Leu | Leu | Glu | Lys | Leu | His |
|     |     | 20  |     |     |     |     |     | 25  |     |     |     |     | 30  |     |     |

Thr Ala

## 2. Informace o SEQ ID. NO.:66:

## i) Charakteristiky sekvence

A. Délka: 34 aminokyselin

B. Typ: aminokyselina

D. Topologie: lineární

ii) Typ molekuly: protein

iii) Hypotetická: ne

v) Typ fragmentu: N-koncový

xi) Popis sekvence: SEQ ID NO:66:

|     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |
|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|
| Ala | Val | Ser | Glu | His | Gln | Leu | Leu | His | Asp | Lys | Gly | Lys | Ser | Ile | Gln |
| 1   |     |     |     | 5   |     |     |     | 10  |     |     |     |     |     | 15  |     |

|     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |
|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|
| Asp | Leu | Arg | Arg | Arg | Glu | Leu | Leu | Glu | His | Leu | Leu | Glu | Lys | Leu | His |
|     |     | 20  |     |     |     |     |     | 25  |     |     |     |     | 30  |     |     |

Thr Ala

## 2. Informace o SEQ ID. NO.:67:

## i) Charakteristiky sekvence

A. Délka: 34 aminokyselin



B. Typ: aminokyselina

D. Topologie: lineární

ii) Typ molekuly: protein

iii) Hypotetická: ne

v) Typ fragmentu: N-koncový

xi) Popis sekvence: SEQ ID NO:67:

|     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |
|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|
| Ala | Val | Ser | Glu | His | Gln | Leu | Leu | His | Asp | Lys | Gly | Lys | Ser | Ile | Gln |
| 1   |     |     |     | 5   |     |     |     |     | 10  |     |     |     |     | 15  |     |

|     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |
|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|
| Asp | Leu | Arg | Arg | Arg | Glu | Leu | Leu | Glu | Lys | Leu | Ile | Ala | Lys | Leu | His |
|     |     | 20  |     |     |     |     |     | 25  |     |     |     |     | 30  |     |     |

Thr Ala

2. Informace o SEQ ID. NO.:68:

i) Charakteristiky sekvence

A. Délka: 34 aminokyselin

B. Typ: aminokyselina

D. Topologie: lineární

ii) Typ molekuly: protein

iii) Hypotetická: ne

v) Typ fragmentu: N-koncový

xi) Popis sekvence: SEQ ID NO:68:

|     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |
|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|
| Ala | Val | Ser | Glu | His | Gln | Leu | Leu | His | Asp | Lys | Gly | Lys | Ser | Ile | Gln |
| 1   |     |     |     | 5   |     |     |     |     | 10  |     |     |     |     | 15  |     |

|     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |
|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|
| Asp | Leu | Arg | Arg | Arg | Glu | Leu | Leu | Glu | Lys | Leu | Leu | Glu | Glu | Ile | His |
|     |     | 20  |     |     |     |     |     | 25  |     |     |     |     | 30  |     |     |

Thr Ala

2. Informace o SEQ ID. NO.:69:

i) Charakteristiky sekvence

A. Délka: 34 aminokyselin

B. Typ: aminokyselina

D. Topologie: lineární

ii) Typ molekuly: protein

iii) Hypotetická: ne

v) Typ fragmentu: N-koncový

ix) Charakteristiky

(A) jméno/klíč: modifikované místo

(B) lokace: 34

(D) další informace:/poznámka = "Xaa je homoserin"

xi) Popis sekvence:SEQ ID NO:69:

|     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |
|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|
| Ala | Val | Ser | Glu | His | Gln | Leu | Leu | His | Asp | Lys | Gly | Lys | Ser | Ile | Gln |
| 1   |     |     |     | 5   |     |     |     |     | 10  |     |     |     |     | 15  |     |
| Asp | Leu | Arg | Arg | Arg | Glu | Leu | Leu | Glu | Lys | Leu | Leu | Glu | Lys | Leu | His |
|     |     | 20  |     |     |     |     |     | 25  |     |     |     |     | 30  |     |     |

Thr Xaa

2. Informace o SEQ ID. NO.:70:

i) Charakteristiky sekvence

A. Délka: 34 aminokyselin

B. Typ: aminokyselina

D. Topologie: lineární

ii) Typ molekuly: protein

iii) Hypotetická: ne

v) Typ fragmentu: N-koncový

ix) Charakteristiky

(A) jméno/klíč: modifikované místo

(B) lokace: 34

(D) další informace:/poznámka = "Xaa je homoserin"

xi) Popis sekvence:SEQ ID NO:70:

|     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |
|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|
| Ala | Val | Ser | Glu | His | Gln | Leu | Leu | His | Asp | Lys | Gly | Lys | Ser | Ile | Gln |
| 1   |     |     |     | 5   |     |     |     |     | 10  |     |     |     |     | 15  |     |
| Asp | Leu | Arg | Arg | Arg | Glu | Leu | Leu | Glu | Lys | Leu | Leu | Glu | Lys | Leu | His |
|     |     | 20  |     |     |     |     |     | 25  |     |     |     |     | 30  |     |     |

Thr Xaa

2. Informace o SEQ ID. NO.:71:

i) Charakteristiky sekvence

A. Délka: 34 aminokyselin

B. Typ: aminokyselina

D. Topologie: obojí

ii) Typ molekuly: protein

iii) Hypotetická: ne

v) Typ fragmentu: N-koncový

xi) Popis sekvence: SEQ ID NO:71:

Ala Val Ser Glu His Gln Leu Leu His Asp Lys Gly Lys Ser Ile Gln  
1 5 10 15

Asp Leu Arg Arg Arg Glu Leu Leu Glu Lys Leu Leu Glu Lys Leu His  
20 25 30

Thr Ala

2. Informace o SEQ ID. NO.:72:

i) Charakteristiky sekvence

A. Délka: 37 aminokyselin

B. Typ: aminokyselina

D. Topologie: lineární

ii) Typ molekuly: protein

iii) Hypotetická: ne

v) Typ fragmentu: N-koncový

xi) Popis sekvence: SEQ ID NO:72:

Ala Val Ser Glu His Gln Leu Leu His Asp Lys Gly Lys Ser Ile Gln  
1 5 10 15

Asp Leu Arg Arg Arg Glu Leu Leu Glu Lys Leu Leu Glu Lys Leu His  
20 25 30

Thr Arg Ser Ala Trp  
35

2. Informace o SEQ ID. NO.:73:

i) Charakteristiky sekvence

A. Délka: 36 aminokyselin

B. Typ: aminokyselina

D. Topologie: lineární

ii) Typ molekuly: protein

iii) Hypotetická: ne

v) Typ fragmentu: N-koncový

ix) Charakteristiky

(A) jméno/klíč: modifikované místo

(B) lokace: 36

(D) další informace: /poznámka = "Xaa je Ala  
3-(2-naftyl)-L-alanin"

xi) Popis sekvence: SEQ ID NO:73:

Ala Val Ser Glu His Gln Leu Leu His Asp Lys Gly Lys Ser Ile Gln  
1 5 10 15

Asp Leu Arg Arg Arg Glu Leu Leu Glu Lys Leu Leu Glu Lys Leu His  
20 25 30

Thr Arg Ser Xaa  
35

2. Informace o SEQ ID. NO.:74:

i) Charakteristiky sekvence

A. Délka: 37 aminokyselin

B. Typ: aminokyselina

D. Topologie: lineární

ii) Typ molekuly: protein

iii) Hypotetická: ne

v) Typ fragmentu: N-koncový

xi) Popis sekvence: SEQ ID NO:74:

Ala Val Ser Glu His Gln Leu Leu His Asp Lys Gly Lys Ser Ile Gln  
1 5 10 15

Asp Leu Arg Arg Arg Glu Leu Leu Glu Lys Leu Leu Glu Lys Leu His  
20 25 30

Thr Ala Ser Ala Trp  
35

2. Informace o SEQ ID. NO.:75:

i) Charakteristiky sekvence

A. Délka: 38 aminokyselin

B. Typ: aminokyselina

D. Topologie: lineární

- ii) Typ molekuly: protein
- iii) Hypotetická: ne
- v) Typ fragmentu: N-koncový
- xi) Popis sekvence: SEQ ID NO:75:

Ala Val Ser Glu His Gln Leu Leu His Asp Lys Gly Lys Ser Ile Gln  
 1 5 10 15  
 Asp Leu Arg Arg Arg Glu Leu Leu Glu Lys Leu Leu Glu Lys Leu His  
 20 25 30  
 Thr Ala Glu Ile Arg Ala  
 35

2. Informace o SEQ ID. NO.:76:

- i) Charakteristiky sekvence
  - A. Délka: 37 aminokyselin
  - B. Typ: aminokyselina
  - D. Topologie: lineární

- ii) Typ molekuly: protein
- iii) Hypotetická: ne
- v) Typ fragmentu: N-koncový
- xi) Popis sekvence: SEQ ID NO:76:

Ala Val Ser Glu His Gln Leu Leu His Asp Lys Gly Lys Ser Ile Gln  
 1 5 10 15  
 Asp Leu Arg Arg Arg Glu Leu Leu Glu Lys Leu Leu Glu Lys Leu His  
 20 25 30  
 Thr Ala Glu Ile Arg  
 35

2. Informace o SEQ ID. NO.:77:

- i) Charakteristiky sekvence
  - A. Délka: 36 aminokyselin
  - B. Typ: aminokyselina
  - D. Topologie: lineární

- ii) Typ molekuly: protein
- iii) Hypotetická: ne
- v) Typ fragmentu: N-koncový

xi) Popis sekvence: SEQ ID NO: 77:

Ala Val Ser Glu His Gln Leu Leu His Asp Lys Gly Lys Ser Ile Gln  
 1 5 10 15  
 Asp Leu Arg Arg Arg Glu Leu Leu Glu Lys Leu Leu Glu Lys Leu His  
 20 25 30  
 Thr Ala Glu Ile  
 35

2. Informace o SEQ ID NO.: 78:

i) Charakteristiky sekvence

A. Délka: 35 aminokyselin

B. Typ: aminokyselina

D. Topologie: lineární

ii) Typ molekuly: protein

iii) Hypotetická: ne

v) Typ fragmentu: N-koncový

xi) Popis sekvence: SEQ ID NO: 78:

Ala Val Ser Glu His Gln Leu Leu His Asp Lys Gly Lys Ser Ile Gln  
 1 5 10 15  
 Asp Leu Arg Arg Arg Glu Leu Leu Glu Lys Leu Leu Glu Lys Leu His  
 20 25 30  
 Thr Ala Glu  
 35

2. Informace o SEQ ID NO.: 79:

i) Charakteristiky sekvence

A. Délka: 34 aminokyselin

B. Typ: aminokyselina

D. Topologie: lineární

ii) Typ molekuly: peptid

iii) Hypotetická: ne

v) Typ fragmentu: N-koncový

ix) Charakteristiky

(A) jméno/klíč: modifikované místo

(B) lokace: 8

(D) další informace: /poznámka = "Leu8 je norleucin"

## ix) Charakteristiky

(A) jméno/klíč: modifikované místo

(B) lokace: 18

(D) další informace:/poznámka = "Leu18 je norleucin"

## ix) Charakteristiky

(A) jméno/klíč: modifikované místo

(B) lokace: 34

(D) další informace:/poznámka = "Xaa je homoserinlaktón"

## xi) Popis sekvence:SEQ ID NO:79:

Ala Val Ser Glu Ile Gln Phe Leu His Asn Lys Gly Lys His Leu Ser  
 1 5 10 15

Ser Leu Glu Arg Val Glu Trp Leu Arg Lys Lys Leu Gln Asp Val His  
 20 25 30

Asn Xaa

## 2. Informace o SEQ ID. NO.:80:

## i) Charakteristiky sekvence

A. Délka: 32 aminokyselin

B. Typ: aminokyselina

D. Topologie: lineární

ii) Typ molekuly: protein

iii) Hypotetická: ne

v) Typ fragmentu: internální

## xi) Popis sekvence:SEQ ID NO:80:

Ser Glu His Gln Leu Leu His Asp Lys Gly Lys Ser Ile Gln Asp Leu  
 1 5 10 15

Arg Arg Arg Glu Leu Leu Glu Lys Leu Leu Glu Lys Leu His Thr Ala  
 20 25 30

## 2. Informace o SEQ ID. NO.:81:

## i) Charakteristiky sekvence

A. Délka: 28 aminokyselin

B. Typ: aminokyselina

D. Topologie: obojí

ii) Typ molekuly: protein

iii) Hypotetická: ne

v) Typ fragmentu: internální

xi) Popis sekvence: SEQ ID NO:81:

Leu Leu His Asp Lys Gly Lys Ser Ile Gln Asp Leu Arg Arg Arg Glu  
 1 5 10 15  
 Leu Leu Glu Lys Leu Leu Glu Lys Leu His Thr Ala  
 20 25

2. Informace o SEQ ID. NO.:82:

i) Charakteristiky sekvence

A. Délka: 27 aminokyselin

B. Typ: aminokyselina

D. Topologie: lineární

ii) Typ molekuly: protein

iii) Hypotetická: ne

v) Typ fragmentu: internální

xi) Popis sekvence: SEQ ID NO:82:

Leu His Asp Lys Gly Lys Ser Ile Gln Asp Leu Arg Arg Arg Glu Leu  
 1 5 10 15  
 Leu Glu Lys Leu Leu Glu Lys Leu His Thr Ala  
 20 25

2. Informace o SEQ ID. NO.:83:

i) Charakteristiky sekvence

A. Délka: 41 aminokyselin

B. Typ: aminokyselina

D. Topologie: lineární

ii) Typ molekuly: protein

iii) Hypotetická: ne

v) Typ fragmentu: internální



xi) Popis sekvence: SEQ ID NO:83:

Ser Glu His Gln Leu Leu His Asp Arg Gly Arg Ser Ile Gln Asp Leu  
 1 5 10 15  
 Arg Arg Arg Glu Leu Leu Glu Arg Leu Leu Glu Arg Leu His Leu His  
 20 25 30  
 Arg Gly Arg Arg Thr Arg Ser Ala Trp  
 35 40

2. Informace o SEQ ID. NO.:84:

i) Charakteristiky sekvence

A. Délka: 35 aminokyselin

B. Typ: aminokyselina

D. Topologie: lineární

ii) Typ molekuly: protein

iii) Hypotetická: ne

v) Typ fragmentu: internální

xi) Popis sekvence: SEQ ID NO:84:

Leu Leu His Asp Arg Gly Arg Ser Ile Gln Asp Leu Arg Arg Arg Glu  
 1 5 10 15  
 Leu Leu Glu Arg Leu Leu Glu Arg Leu His Ala Gly Arg Arg Thr Arg  
 20 25 30  
 Ser Ala Trp  
 35

2. Informace o SEQ ID. NO.:85:

i) Charakteristiky sekvence

A. Délka: 10 aminokyselin

B. Typ: aminokyselina

D. Topologie: šroubovicová

ii) Typ molekuly: peptid

iii) Hypotetická: ne

v) Typ fragmentu: N-koncový

ix) Charakteristiky

(A) jméno/klíč: modifikované místo

(B) lokace: 1 a 4

- (D) další informace:/poznámka = "Xaa1 a Xaa4 = Glu,  
Glu(OCH<sub>3</sub>), His nebo Phe"

ix) Charakteristiky

(A) jméno/klíč: modifikované místo

(B) lokace: 2

(D) další informace:/poznámka = "Xaa2 = Glu nebo Phe",

ix) Charakteristiky

(A) jméno/klíč: modifikované místo

(B) lokace: 5

(D) další informace:/poznámka = "Xaa5 = Lys nebo His"

ix) Charakteristiky

(A) jméno/klíč: modifikované místo

(B) lokace: 7 a 10

(D) další informace:/poznámka = "Xaa7 a Xaa10 = Leu nebo  
Ile"

ix) Charakteristiky

(A) jméno/klíč: modifikované místo

(B) lokace: 8

(D) další informace:/poznámka = "Xaa8 = Ala, Arg nebo Glu",

ix) Charakteristiky

(A) jméno/klíč: modifikované místo

(B) lokace: 9

(D) další informace:/poznámka = "Xaa9 = Lys nebo Glu"

xi) Popis sekvence:SEQ ID NO:85:

|     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |
|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|
| Xaa | Xaa | Leu | Xaa | Xaa | Leu | Xaa | Xaa | Xaa | Xaa |
| 1   |     |     | 5   |     |     |     |     |     | 10  |

2. Informace o SEQ ID. NO.:86:

i) Charakteristiky sekvence

A. Délka: 10 aminokyselin

B. Typ: aminokyselina

D. Topologie: šroubovicová

ii) Typ molekuly: peptid

iii) Hypotetická: ne

v) Typ fragmentu: internální

ix) Charakteristiky

(A) jméno/klíč: modifikované místo

(B) lokace: 1 a 4

(D) další informace:/poznámka = "Xaa1 a Xaa4 = Glu,  
Glu(OCH3), His nebo Phe"

ix) Charakteristiky

(A) jméno/klíč: modifikované místo

(B) lokace: 2

(D) další informace:/poznámka = "Xaa2 = Glu nebo Phe",

ix) Charakteristiky

(A) jméno/klíč: modifikované místo

(B) lokace: 8

(D) další informace:/poznámka = "Xaa8 = Glu, Lys nebo His"

ix) Charakteristiky

(A) jméno/klíč: modifikované místo

(B) lokace: 7 a 10

(D) další informace:/poznámka = "Xaa7 a Xaa10 = Leu nebo  
Lys(COCH2PEGX"

xi) Popis sekvence: SEQ ID NO:86:

|     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |
|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|
| Xaa | Xaa | Leu | Xaa | Arg | Leu | Leu | Xaa | Arg | Leu |
| 1   |     |     |     | 5   |     |     |     |     | 10  |

### Průmyslová využitelnost

Syntetického polypeptidový analog parathyroidního hormonu nebo z parathyroidního hormonu odvozeného peptidu pro výrobu farmaceutického prostředku pro ošetřování osteoporosy.

## P A T E N T O V É   N Á R O K Y

1.      Způsob přípravy syntetických polypeptidových analogů parathyroidního hormonu nebo z parathyroidního hormonu odvozeného peptidu, nebo jeho soli, kde aminokyselinové zbytky (22-31) tvoří amfipatickou alfa-šroubovici, přičemž uvedené zbytky (22-31) jsou voleny ze SEQ ID č. 85, 86, 26, 27, 28, 29 a 30),  
v y z n a ě u j í c í   s e   t í m, že se
  - a) nezávisle syntetizují prekursorové peptidové fragmenty polypeptidu roztokovou technikou nebo technikou v pevné fázi,
  - b) kondenzují se takové fragmenty navzájem k vytvoření požadovaného polypeptidového produktu a
  - c) odstraňují se skupiny chránící aminokyselinu.
2.      Způsob podle nároku 1, v y z n a ě u j í c í   s e   t í m, že se
  - a) nezávisle syntetizují prekursorové peptidové fragmenty polypeptidu na pryskyřičných nosičích,
  - b) odštěpují se fragmenty polypeptidu od jeho příslušných pryskyřičných nosičů,
  - c) následně se kondenzují uvedené fragmenty k vytvoření požadovaného polypeptidového produktu a
  - d) odstraňují se skupiny chránící aminokyselinové skupiny.
3.      Způsob podle nároku 1 nebo 2, v y n a ě u j í c í   s e   t í m, že se
  - a) nezávisle syntetizují prekursorové peptidové fragmenty polypeptidu na pevném pryskyřičném nosiči,
  - b) odštěpují se všechny fragmenty až na záměrně poslední C-koncový prekursorový peptidový fragment žádaného polypeptidu od svých příslušných pryskyřičných nosičů,
  - c) následně se kondenzují odštěpené peptidové fragmenty s pryskyřicí vázaným C-koncovým peptidovým fragmentem k vytvoření požadovaného polypeptidového produktu,
  - d) odstraňují se skupiny chránící aminokyselinové skupiny a

e) odštěpuje se polypeptidový produkt od pryskyřičného nosiče.

4. Způsob podle nároku 1 až 3, v y n a č u j í c í s e t í m, že se polypeptidový produkt připravuje ze tří prekurzorových peptidových fragmentů, totiž z N-koncového, ze středního a z C-koncového fragmentu.

5. Způsob podle nároku 4, v y n a č u j í c í s e t í m, že se polypeptidový produkt připravuje z N-koncového fragmentu, který má C-koncový glycin, ze středního fragmentu, který má C-koncový leucin, a z C-koncového fragmentu, který má N-koncový leucin.

6. Způsob podle nároku 1 až 5, v y n a č u j í c í s e t í m, že se připravuje konečný polypeptidový produkt, kterým je polypeptidový analog parathyroidního hormonu nebo z parathyroidního hormonu odvozený peptid vzorce

Xaa<sup>1</sup> Xaa<sup>2</sup> Xaa<sup>3</sup> Xaa<sup>4</sup> Xaa<sup>5</sup> Xaa<sup>6</sup> Xaa<sup>7</sup> Leu His Asp Xaa<sup>11</sup> Gly  
Xaa<sup>13</sup> Ser Ile Gln Asp Leu Xaa<sup>19</sup> Xaa<sup>20</sup> Xaa<sup>21</sup> Xaa<sup>22-31</sup> Xaa<sup>32</sup>  
Xaa<sup>33</sup> Xaa<sup>34</sup> Xaa<sup>35</sup> Xaa<sup>36</sup> Xaa<sup>37</sup> Xaa<sup>38</sup> Term,

kde

Xaa<sup>1</sup> chybí nebo znamená Ala,

Xaa<sup>2</sup> chybí nebo znamená Val,

Xaa<sup>3</sup> chybí nebo znamená Ser,

Xaa<sup>4</sup> chybí nebo znamená Glu nebo Glu(OCH<sub>3</sub>),

Xaa<sup>5</sup> chybí nebo znamená His nebo Ala,

Xaa<sup>6</sup> chybí nebo znamená Gln,

Xaa<sup>7</sup> chybí nebo znamená Leu,

Xaa<sup>11</sup> znamená Lys, Arg nebo Leu,

Xaa<sup>13</sup> znamená Lys, Arg, Tyr, Cys, Leu,

Cys(CH<sub>2</sub>CONH(CH<sub>2</sub>)<sub>2</sub>NH(biotinyl), Lys(7-dimethylamino-2-oxo-2H-1-benzopyran-4-acetyl) nebo Lys(dihydrocinnamoyl),

Xaa<sup>20</sup> znamená Arg nebo Leu,

Xaa<sup>19</sup> a Xaa<sup>21</sup> znamená nezávisle Lys, Ala nebo Arg,

Xaa<sup>22-31</sup> je volen ze SEQ ID NO: 85, 86, 26, 27, 28, 29 nebo 30,

Xaa<sup>32</sup> znamená His, Pro nebo Lys,  
 Xaa<sup>33</sup> chybí nebo znamená Pro, Thr, Glu nebo Ala,  
 Xaa<sup>34</sup> chybí nebo znamená Pro, Arg, Met, Ala, hSer, hSerlaktón,  
 Tyr nebo Leu,  
 Xaa<sup>35</sup> chybí nebo znamená Pro, Glu, Ser, Ala nebo Gly,  
 Xaa<sup>36</sup> chybí nebo znamená Ala, Arg nebo Ile,  
 Xaa<sup>37</sup> chybí nebo znamená Arg, Trp nebo 3-(2-naftyl)-L-alanin,  
 Xaa<sup>38</sup> chybí nebo znamená Ala nebo hSer nebo Xaa<sup>38-42</sup> znamená  
 Thr Arg Ser Ala TRp,  
 a zakončení je OR nebo NR<sub>2</sub>, kde znamená R na sobě nezávisle  
 atom vodíku, alkylovou skupinu s 1 až 4 atomy uhlíku, nebo fe-  
 nylalkylovou skupinu s 1 až 4 atomy uhlíku v alkylovém podílu,  
 a jeho farmaceuticky vhodná sůl.

7. Způsob podle nároku 1 až 5, v y n a č u j í c í s e  
 t í m, že se připravuje konečný polypeptidový produkt, kterým  
 je polypeptidový analog parathyroidního hormonu nebo z para-  
 thyroidního hormonu odvozený peptid vzorce

Xaa<sup>1</sup> Val Ser Glu Ile Gln Xaa<sup>7</sup> Xaa<sup>8</sup> His Asn Xaa<sup>11</sup> Gly Lys His  
 Leu Xaa<sup>16</sup> Ser Xaa<sup>18</sup> Xaa<sup>19</sup> Arg Xaa<sup>21</sup> Xaa<sup>22-31</sup> His Asn Xaa<sup>34</sup>  
 Term,  
 kde

Xaa<sup>1</sup> znamená Ser nebo Ala,  
 Xaa<sup>7</sup> znamená Leu nebo Phe,  
 Xaa<sup>8</sup> znamená Leu, Met nebo Nle,  
 Xaa<sup>11</sup> znamená Leu nebo Lys,  
 Xaa<sup>16</sup> znamená Asn nebo Ser,  
 Xaa<sup>18</sup> znamená Leu, Met nebo Nle,  
 Xaa<sup>19</sup> znamená Glu, Thr nebo Arg,  
 Xaa<sup>21</sup> znamená Val, Ser nebo Arg,  
 Xaa<sup>22-31</sup> je volen ze SEQ ID NO: 26, 27, 28, 29 nebo 30,  
 Xaa<sup>34</sup> znamená Phe, hSer nebo Tyr,  
 a zakončení je OR nebo NR<sub>2</sub>, kde znamená R na sobě nezávisle  
 atom vodíku, alkylovou skupinu s 1 až 4 atomy uhlíku,  
 a jeho farmaceuticky vhodná sůl.

8. Způsob podle nároku 1 až 5, v y n a č u j í c í s e  
t í m, že se připravuje konečný polypeptidový produkt, kterým  
je polypeptidový analog parathyroidního hormonu nebo z para-  
thyroidního hormonu odvozený peptid volený ze souboru zahrnu-  
jícího

- AVSEHQLLHDKGKSIQDLRRRELLEKLLLEKLHTA-NH<sub>2</sub> (SEQ ID NO:7)  
AVSEHQLLHDKGKSIQDLRRRELLEKLLLEKLHTA-OH (SEQ ID NO:6)  
AVSEHQLLHDKGKSIQDLRRRELLERLLERLHTA-OH (SEQ ID NO:15)  
AVSEHQLLHGRGSIQDLRRRELLERLLERLHTA-OH (SEQ ID NO:16)  
AVSEHQLLHGRGSIQDLRRRELLERLLKRLHTA-OH (SEQ ID NO:17)  
AVSEHQLLHDKGKSIQDLRRRELLEKLLRKLHTA-OH (SEQ ID NO:5)  
AVSEHQLLHDKGKSIQDLRRRELLEKLLLEKLHTAGRR-OH (SEQ ID NO:10)  
AVSEAQLLHDLGKSIQDLRRRELLEKLLLEKLHAL-OH (SEQ ID NO:14)  
AVSEHQLLHDKGKSIQDLRRRELLEKLLLELLKEL-NH<sub>2</sub> (SEQ ID NO:11)  
AVSEIQFXHNLGKHLSSXERVELLEKLLLEKLHNY-NH<sub>2</sub> (X=Nle, SEQ ID NO:23)  
AVSEIQFXHNLGKHLSSXRRRELLEKLLLEKLHNY-NH<sub>2</sub> (X=Nle, SEQ ID NO:24)  
AVSEHQLLHDKGKSIQDLRRRALAEALAEALHTA-NH<sub>2</sub> (SEQ ID NO:20)  
AVSEHQLLHDKGKSIQDLARRELLEKLLLEKLHTA-NH<sub>2</sub> (SEQ ID NO:12)  
AVSEHQLLHDKGKSIQDLRRRAELLEKLLLEKLHTA-NH<sub>2</sub> (SEQ ID NO:13)  
AVSEHQLLHDKGKSIQDLRRSLSSLLSSLHTA-NH<sub>2</sub> (SEQ ID NO:21)  
AVSEHQLLHDKGKSIQDLRRRAFYDKVAEKLHTA-NH<sub>2</sub> (SEQ ID NO:22)  
AVSEIQFLHN LGKHLSSLRR RELLEKLLK LHNY-NH<sub>2</sub> (SEQ ID NO:35)  
AVSEHQLLHD KGKSIQDLKL KELLEKLLK LHTA-NH<sub>2</sub> (SEQ ID NO:38)  
AVSEHQLLHD KGKSIQDLRR RELLERLLER LHTA-NH<sub>2</sub> (SEQ ID NO:39)  
AVSEHQLLHD KGKSIQDLRR RELLERLLER LHTAP-OH (SEQ ID NO:40)  
AVSEHQLLHD KGKSIQDLRR RELLERLLER LHTAGRR-OH (SEQ ID NO:41)

- AVSEHQLLHD KGKSIQDLRR RELLEKLLEK LHTY-NH<sub>2</sub> (SEQ ID NO:43)
- AVSEHQLLHD KGYSIQDLRR RELLEKLLEK LHTA-NH<sub>2</sub> (SEQ ID NO:44)
- AVSEHQLLHD KGCSIQDLRR RELLEKLLEK LHTA-NH<sub>2</sub> (SEQ ID NO:45)
- AVSEHQLLHD KGXSIQDLRR RELLEKLLEK LHTA-NH<sub>2</sub> (SEQ ID NO:46)  
(X = Cys(CH<sub>2</sub>CONH(CH<sub>2</sub>)<sub>2</sub>NH(biotinyl)))
- AVSEHQLLHD KGXSIQDLRR RELLEKLLEK LHTA-NH<sub>2</sub> (SEQ ID NO:47)  
(X = Lys(7-dimethylamino-2-oxo-2H-1-benzopyran-4-acetyl))
- AVSEHQLLHD KGKSIQDLRR RELLEKLLEK LHTAG-OH (SEQ ID NO:48)
- AVSX<sub>1</sub>HQLLHX<sub>2</sub> KGKSIQX<sub>2</sub>LRR RX<sub>1</sub>LLX<sub>1</sub>KLLX<sub>1</sub>K LHA-OH (SEQ ID NO:49)  
(X<sub>1</sub> = Glu(OCH<sub>3</sub>); X<sub>2</sub> = Asp(OCH<sub>3</sub>))
- AVSX<sub>1</sub>HQLLHX<sub>2</sub> KGKSIQX<sub>2</sub>LRR RX<sub>1</sub>LLX<sub>1</sub>KLLX<sub>1</sub>K LHA-OCH<sub>3</sub> (SEQ ID NO:50)  
(X<sub>1</sub> = Glu(OCH<sub>3</sub>); X<sub>2</sub> = Asp(OCH<sub>3</sub>))
- AVSEHQLLHD KGKSIQDLRR RELLEKLLEK LHTAP-OH (SEQ ID NO:52)
- AVSEHQLLHD KGKSIQDLRR RELLEKLLEK LHTP-OH (SEQ ID NO:53)
- AVSEHQLLHD KGKSIQDLRR RELLEKLLEK LHTP-NH<sub>2</sub> (SEQ ID NO:54)
- AVSEHQLLHD KGKSIQDLRR RELLEKLLEK LHP-NH<sub>2</sub> (SEQ ID NO:55)
- AVSEHQLLHD KGKSIQDLRR RELLEKLLEK LP-NH<sub>2</sub> (SEQ ID NO:56)
- AVSEHQLLHD KGKSIQDLRR RELLEKLLEK LHTRSAW-OH (SEQ ID NO:57)
- AVSEHQLLHD RGRSIQDLRR RELLERLLER LHTAGRRTSAW-OH (SEQ ID NO:58)
- AVSEHQLLHD RGRSIQDLRR RELLERLLER LHTAGRRTSAW-NH<sub>2</sub> (SEQ ID NO:59)
- AVSEHQLLHD RGXSIQDLRR RELLERLLER LHTAGRRTSAW-OH (SEQ ID NO:60) (X = Lys(dihydrocinnamoyl))
- AVSEIQFXHN LGKHLSSXTR SAWLRKKLQD VHNY-NH<sub>2</sub> (SEQ ID NO:61)  
(X = norleucin )
- AVSEHQLLHD KGKSIQDLRR RELLEKLLEK LHTMA-NH<sub>2</sub> (SEQ ID NO:62)
- AVSEHQLLHD KGKSIQDLRR RFFLEKLLEK LHTA-NH<sub>2</sub> (SEQ ID NO:64)
- AVSEHQLLHD KGKSIQDLRR RELLEKLLEK LHTA-NH<sub>2</sub> (SEQ ID NO:65)
- AVSEHQLLHD KGKSIQDLRR RELLEKLLEK LHTA-NH<sub>2</sub> (SEQ ID NO:66)



- AVSEHQLLHD KGKSIQDLRR RELLEKLIAM LHTA-NH<sub>2</sub> (SEQ ID NO:67)
- AVSEHQLLHD KGKSIQDLRR RELLEKLEE LHTA-NH<sub>2</sub> (SEQ ID NO:68)
- AVSEHQLLHD KGKSIQDLRR RELLEKLEK LHTRSAW-NH<sub>2</sub> (SEQ ID NO:72)
- AVSEHQLLHD KGKSIQDLRR RELLEKLEK LHTRSAX-OH (SEQ ID NO:73)  
(X = NaI(2) = 3-(2-na<sup>4</sup>tyl)-L-alanine)
- AVSEHQLLHD KGKSIQDLRR RELLEKLEK LHTASAW-OH (SEQ ID NO:74)
- AVSEHQLLHD KGKSIQDLRR RELLEKLEK LHTAEIRA-OH (SEQ ID NO:75)
- AVSEHQLLHD KGKSIQDLRR RELLEKLEK LHTAEIR-OH (SEQ ID NO:76)
- AVSEHQLLHD KGKSIQDLRR RELLEKLEK LHTAEI-OH (SEQ ID NO:77)
- AVSEHQLLHD KGKSIQDLRR RELLEKLEK LHTAE-OH (SEQ ID NO:78)
- SEHQLLHD KGKSIQDLRR RELLEKLEK LHTA-NH<sub>2</sub> (SEQ ID NO:80)
- LLHD KGKSIQDLRR RELLEKLEK LHTA-NH<sub>2</sub> (SEQ ID NO:81)
- LHD KGKSIQDLRR RELLEKLEK LHTA-NH<sub>2</sub> (SEQ ID NO:82)
- SEHQLLHD RGRSIQDLRR RELLERLLER LHAGRRTRSAW-OH (SEQ ID NO:83)
- LLHD RGRSIQDLRR RELLERLLER LHAGRRTRSAW-OH (SEQ ID NO:84)
- AVSEHQLLHDKGKSIQDLRRRELLEKLEKLHTX (X=hSerlac, SEQ ID NO:9)
- AVSEIQFX<sub>1</sub>HN KGKHLSSX<sub>1</sub>ER VEWLRKKLQD VHNX<sub>2</sub> (SEQ ID NO:79)  
(X<sub>1</sub> = L-norleucin ; X<sub>2</sub> = homoserin lacton.)
- AVSEHQLLHDKGKSIQDLRRRELLEKLEKLHTX-NH<sub>2</sub> (X=hSer, SEQ ID NO:8)
- AVSEIQFLHN LGKHLSSLRR RELLEKLEK LHNX-NH<sub>2</sub> (SEQ ID NO:36)  
(X = homoserin.)
- AVSEIQFLHN KGKHLSSLRR RELLEKLEK LHNX-NH<sub>2</sub> (SEQ ID NO:37)  
(X = homoserin.)
- AVSEHQLLHD KGKSIQDLRR RELLERLLER LHTAGRRX-NH<sub>2</sub> (SEQ ID NO:42)  
(X = homoserin.)
- AVSEHQLLHD KGKSIQDLRR RELLEKLEK LHTX-NHCH<sub>2</sub>CH<sub>3</sub> (SEQ ID NO:69)  
(X = homoserin.)
- AVSEHQLLHD KGKSIQDLRR RELLEKLEK LHTX-NHCH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>C<sub>6</sub>H<sub>5</sub> (SEQ ID NO:70) (X = homoserine), a

AVSEHQLLHD KGKSIQDLRR RELLEKLLEK LHTX-OH (SEQ ID NO:51)  
(X = homoserin).

9. Způsob podle nároku 1 až 5, v y n a č u j í c í s e t í m, že se připravuje konečný polypeptidový produkt, kterým je polypeptidový analog parathyroidního hormonu nebo z parathyroidního hormonu odvozený peptid SEQ ID NO:7, AVSEHQLLHDKGKSIQDLRRRELLEKLLEKLHTA-NH<sub>2</sub>.
10. Způsob podle nároku 9, v y n a č u j í c í s e t í m, že se připravuje konečný polypeptid, jehož prvním fragmentem je AVSEHQLLHDKG, druhým fragmentem KSIQDLRRREL a třetím fragmentem je LEKLLEKLHTA.
11. Způsob podle nároku 9, v y n a č u j í c í s e t í m, že se připravuje konečný polypeptid, jehož třetí fragment je připravitelný kondenzací LEKL, LEKL a HTA.
12. Syntetický polypeptid sekvence AVSEHQLLHDKG.
13. Syntetický polypeptid sekvence KSIQDLRRREL.
14. Syntetický polypeptid sekvence LEKLLEKLHTA.
15. Způsob podle nároku 9, v y n a č u j í c í s e t í m, že se připravuje konečný polypeptid, jehož prvním fragmentem je AVSEHQLLHDKG, druhým fragmentem KSIQDLRRRE a třetím fragmentem je LLEKLLEKLHTA.
16. Způsob podle nároku 15, v y n a č u j í c í s e t í m, že se připravuje konečný polypeptid, jehož třetí fragment je připravitelný kondenzací LLEK, LLEK a LHTA.
17. Syntetický polypeptid sekvence KSIQDLRRE.

18. Syntetický polypeptid sekvence LLEKLLEKLHTA.
19. Způsob přípravy farmaceutického prostředku, v y z n a -  
č u j í c í s e t í m , že se provádí způsob podle kterého  
koliv z nároků 1 až 11 a 15 a 16 a získaný produkt se mísí  
s alespoň jedním farmaceuticky vhodným činidlem.