ČESKOSLOVENSKÁ SOCIALISTICKÁ REPUBLIKA
(19)

POPIS VYNÁLEZU K AUTORSKÉMU OSVĚDČENÍ

230327
(11) (B1)

(22) Přihlášeno 27 08 82
(21) (PV 6271-82)

(40) Zveřejněno 28 10 83

(45) Vydáno 15 10 86

(51) Int. Cl.[3]
C 07 G 15/00
C 07 C 103/52

ÚŘAD PRO VYNÁLEZY A OBJEVY

(75)
Autor vynálezu

LEBL MICHAL ing. CSc., SERVÍTOVÁ LINDA RNDr. CSc., PRAHA,
BARTH TOMISLAV RNDr. CSc., ROZTOKY, JOŠT KAREL RNDr. DrSc.,
MACHOVÁ ALENA MUDr. CSc., SLANINOVÁ JIŘINA RNDr. CSc.,
PRAHA

(54) Analog oxytocinu a způsob jeho výroby

1

Předmětem vynálezu je analog oxytocinu s inhibičním účinkem vůči uterotonické aktivitě oxytocinu a způsob jeho výroby.

Analogy oxytocinu a vasopresinu s inhibičními účinky vůči typickým aktivitám neurohypofysárních hormonů jsou předmětem několika patentových přihlášek (viz např. čs. autorské osvědčení 226 923, a čs. autorské osvědčení 229 893.

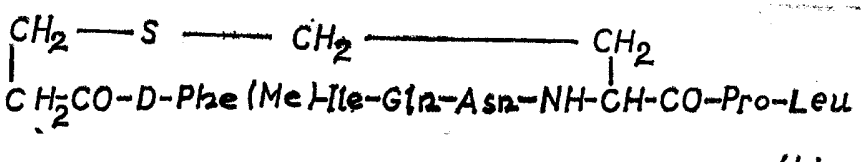
Pro docílení antagonistických aktivit analogů vůči aktivitám neurohypofysárních hormonů je vhodné zavedení některých strukturních rysů, mezi něž patří alkylace hydroxylové skupiny tyrosinu, alkylace β-uhlíku cysteinu, acylace primární aminoskupiny, případně jejich kombinace [přehled viz Sawyer W. H., Grzonka Z., Manning M.: Mol. Cell. Endocrinol, **22**, 117 (1981)].

Již dříve jsme zjistili (čs. AO 226 923), že zavedení hydrofobní D-aminokyseliny do polohy 2 poskytuje analogy s inhibičními účinky. Nyní jsme nalezli, že inhibiční aktivity analogů oxytocinu s aromatickou D-aminokyselinou v poloze 2 jsou zachovány i tehdy, odstraníme-li z jejich molekuly karboxykoncový glycinamid.

2

O tomto typu záměny je známo (čs. AO 230 315; čs. AO 217 633), že eliminuje endokrinní aktivity. A protože u řady připravených inhibitorů byly zjištěny zbytkové vlastní aktivity [Rudinger J., Krejčí I.: Neurohypophysial Hormones and Similar Polypeptides (B. Berde, Ed.), str. 748. Springer Verlag, Berlin 1968], které jsou při využívání inhibičních účinků nevýhodné, měla by tato strukturní změna kvalitativně zlepšit vlastnosti inhibitorů.

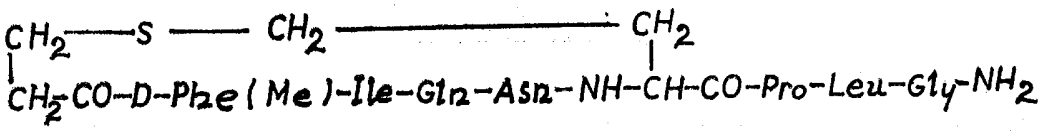
Podstatou vynálezu je nový analog oxytocinu vzorce I,



(I)

kde všechny aminokyseliny jsou L-řady a pouze zbytek p-methylfenylalaninu má konfiguraci D.

Podstatou způsobu výroby nového analogu vzorce I je, že se na látku vzorce II,



(II)

kde všechny chirální aminokyseliny jsou L-řady a pouze zbytek p-methylfenylalaninu je konfigurace D, působí chymotrypsinem, čímž se odštěpí glyciamidový zbytek.

Inhibiční aktivita analogu I je charakterizová hodnotou $pA_2 = 8,8$ při stanovení na krysí děloze in vitro.

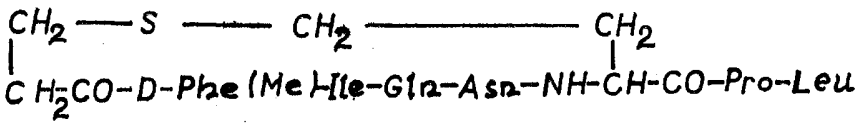
Způsob výroby látky I se dále objasňuje v příkladu provedení.

Příklad

[2-D-p-Methylfenylalanin]deamino-6-karba-oxytocin (2,5 mg) (příprava je popsána v čs. AO 226 923, byl rozpuštěn v 50 μl methanolu a 300 μl 20 mM fosfátového pufru o pH 7,7 a po přidání 2,5 mg chymotrypsinu byla směs inkubována při teplotě 37 °C 12 hodin. Reakce byla sledována pomocí vysokoúčinné kapalinové chromatografie a po vymizení výchozí látky byla reakční směs nanesena na kolonu (25 × 0,4 cm) silikagelu modifikovaného oktadecylovými řetězci. Jako mobilní fáze byla použita směs 40% methanolu a 60% 0,05 M amoniumacetátu o pH 7,0. Po lyofilisaci bylo získáno 1,6 mg látky I, která byla chromatograficky čistá ve čtyřech systémech při chromatografii na tenké vrstvě a ve dvou systémech při vysokoúčinné kapalinové chromatografii. Aminokyselinová analysa: Asp 0,96, Glu 0,98, Pro 1,02, Hcy($C_2H_4CO_2H$) 0,93, Ile 1,93, Leu 1,03, Phe(Me) 1,05.

PŘEDMĚT VYNÁLEZU

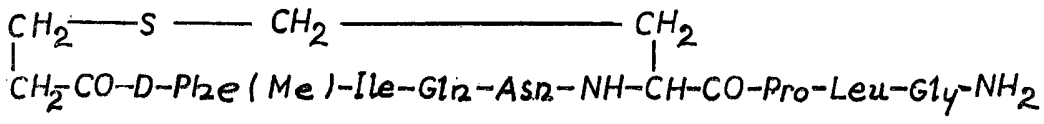
1. Analog oxytocinu vzorce I,



(I)

kde všechny aminokyseliny jsou L-řady a pouze zbytek p-methylfenylalaninu má konfiguraci D.

2. Způsob výroby nového analogu oxytocinu vzorce I podle bodu 1 vyznačený tím, že se na látku vzorce II,



(II)

kde všechny chirální aminokyseliny jsou L-řady a pouze zbytek p-methylfenylalaninu má konfiguraci D, působí chymotrypsinem, čímž se odštěpí glycinamidový zbytek.