

# POPIS VYNÁLEZU K AUTORSKÉMU OSVĚDČENÍ

## 229894

(11) (B1)



ÚŘAD PRO VYNÁLEZY  
A OBJEVY

(22) Přihlášeno 26 08 82  
(21) (PV 6204-82)

(51) Int. Cl.<sup>3</sup>  
C 07 G 15/00,  
C 07 C 103/52

(40) Zveřejněno 28 10 83

(45) Vydáno 15 04 86

(75)  
Autor vynálezu

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

(54) Analog vasopresinu a způsob jeho výroby

Vynález se týká analogu vasopresinu chemického vzorce I

Cys-D-Phe(Et)-Phe-Gln-Asn-Cys-Pro-Lys-  
-Gly-NH<sub>2</sub> (I)

kde všechny chirální aminokyseliny mají konfiguraci L s výjimkou p-etylfenylalaninu /Phe(Et)/, který má konfiguraci D. Tento analog se vyznačuje tím, že má inhibiční účinek vůči presorické aktivitě vasopresinu.

Podstata způsobu výroby nového analogu vasopresinu spočívá v tom, že se z lineárního peptidu vzorce II

$$\begin{array}{ccccccc} & R^2 & & R^3 & & R^4 & \\ & | & & | & & | & \\ R^1 - & Cys - D - Phe - Gln - Asn - Cys - Pro - Lys - Gly - NH_2 \end{array}$$

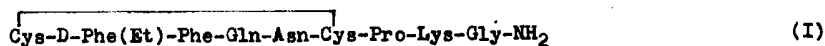
(II)

odstranění chránicí skupiny a vzniklá disulfhydrilová látka se oxiduje za vzniku disulfidové vazby.

Předmětem vynálezu je analog vasopresinu s inhibičním účinkem a způsob jeho výroby.

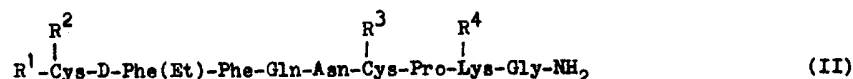
Analogy neurohypofysárních hormonů, které jsou schopny inhibovat vlastní aktivity přírodních hormonů, mohou nalézt uplatnění v lékařské praxi.

Již dříve bylo zjištěno (AO 226 923), že zavedení hydrofobní aminokyseliny konfigurace D do polohy 2 analogů oxytocinu vede k získání inhibitorů oxytocinu. Dosud byla ověřena možnost zavedení alkylovaného tyrosinu konfigurace D do polohy 2 molekuly vasopresinu, která je modifikovaná v polohách 1 a 4 (Manning M., Olma A., Klis W. A., Kolodziejczyk A. M., Seto J., Sawyer W. H.: J. Med. Chem. 25, 45 /1982/). Nyní bylo zjištěno, že i pouhá substituce molekuly lysin-vasopresinu D-p-etyl-fenylalaninem v poloze 2 vede k získání analogu s inhibičním působením na aktivitu vasopresinu při testu na kryse in vivo  $pA_2 = 7,05$ ;  $pA_2$  je záporný dekadický logaritmus koncentrace analogu vzorce I, vedoucí ke snížení biologického účinku vasopresinu (krevní tlak u despinalizované krysy) na 50 % původní odpovědi.



kde všechny chirální aminokyseliny mají konfiguraci L s výjimkou p-etyl-fenylalaninu (Phe(Et)), který má konfiguraci D.

Podstatou způsobu výroby nového analogu vasopresinu vzorce I podle vynálezu je, že se z lineárního peptidu vzorce II



odstraní chránící skupiny  $R^1$ ,  $R^2$ ,  $R^3$  a  $R^4$  a vzniklá sulfhydrylová látka se oxiduje za vzniku disulfidové vazby.

Způsob výroby se dále objasňuje v příkladu provedení.

#### P ř í k l a d

Látka vzorce II N-benzyl-oxycarbonyl-S-benzylcysteinyl-D-p-etyl-fenylalanin-fenylalaninyl-glutaminyl-asparaginyl-S-benzylcysteinyl-prolyl- $N^{\epsilon}$ -p-toluensulfonyl-lysyl-glycinamid (100 mg), připravená postupnou výstavbou v roztoku, byla redukována sodíkem v kapalném amoniaku (40 ml) do vzniku modrého zabarvení stálého 60 sekund. Poté byla barva odstraněna přidáním kyseliny octové a roztok byl lyofilizován.

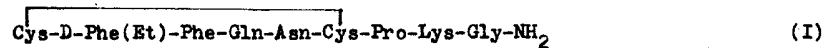
Odparek byl rozpuštěn v 0,1 M-HCl (10 ml), zředěn vodou na objem 200 ml, pH bylo upraveno na hodnotu 7 a po přidání roztoku  $K_3Fe(CN)_6$  do trvale žlutého zabarvení byla tato hodnota pH udržována za míchání 1 h. Roztok byl poté nanesen na kolonu karboxylátového katexu, sloupec byl promyt 0,05% kyselinou octovou a produkt byl eluován 50% kyselinou octovou.

Po lyofilizaci byl produkt rozpuštěn ve vodě (10 ml) a nanesen na kolonu silikagelu modifikovaného oktadecylovými řetězci (rozměry kolony 50 x 0,9 cm). Eluce byla provedena směsí 40% metanolu a 60% kyseliny trifluorocetové (0,1% vodná kyselina). Příslušné frakce byly lyofilizovány. Čistota produktu byla ověřena chromatografií na tenké vrstvě (4 systémy), kapalinovou chromatografií a papírovou elektroforézou (2 pufrů o různém pH).

Aminokyselinová analýza: Lys 1,07, Asp 1,03, Glu 0,92, Pro 0,94, Gly 1,04, Cys 1,84, Phe 1,06, Phe(Et) 0,92.

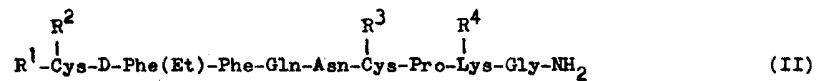
## PŘEDMĚT VYNÁLEZU

## 1. Analog vasopresinu vzorce I



kde všechny chirální aminokyseliny mají konfiguraci L s výjimkou p-etylfenylalaninu /Phe(Et)/, který má konfiguraci D.

2. Způsob výroby nového analogu vasopresinu vzorce I podle bodu 1, vyznačený tím, že se z lineárního peptidu vzorce II



odstraní chránicí skupiny  $\text{R}^1$ ,  $\text{R}^2$ ,  $\text{R}^3$  a  $\text{R}^4$  a vzniklá disulfhydriková látka se oxiduje za vzniku disulfidové vazby.