

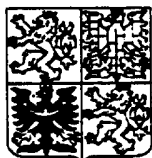
# PATENTOVÝ SPIS

(11) Číslo dokumentu:

# 281 539

ČESKÁ  
REPUBLIKA

(19)



ÚŘAD  
PRŮMYSLOVÉHO  
VLASTNICTVÍ

(21) Číslo přihlášky: **200-95**

(22) Přihlášeno: 10. 06. 93

(30) Právo přednosti:  
27. 07. 92 US 92/919538

(40) Zveřejněno: 18. 10. 95

(47) Uděleno: 05. 09. 96

(24) Oznámeno udělení ve Věstníku: 16. 10. 96

(13) Druh dokumentu: **B6**

(51) Int. Cl.<sup>6</sup>:  
**C 07 K 14/435**  
**A 61 K 38/17**

(73) Majitel patentu:  
PFIZER INC., New York, NY, US;  
NPS PHARMACEUTICALS, INC., Salt Lake  
City, UT, US;

(72) Původce vynálezu:  
Wolkmann Robert A., Mystic, CT, US;  
Saccomano Nicholas A., Ledyard, CT, US;  
Phillips Douglas, Galles Ferry, CT, US;  
Kelly Mary E., Groton, CT, US;

(54) Název vynálezu:  
**Polypeptid pro blokování vápníkových  
kanálek v buňce**

(57) Anotace:  
Polypeptid se sekvencí aminokyselin odpovídající SEQ ID NO: 1 H<sub>2</sub>N-Glu-Ala-Cys-Ala-Gly-Ala-Tyr-Lys-Ser-Cys-Asp-Lys-Val-Lys-Cys--Cys-His-Asp-Arg-Arg-Cys-Arg-Cys-Asn-Ile-Ala-Met-Asp-Asn-Cys-Val-Cys-Lys--Leu-Phe-Tyr-Cys-Glu-Leu-Phe-Gly-Thr-Cys-Asp-Arg-Leu-Lys-Pro a jeho farmaceuticky vhodné soli pro blokování vápníkových kanálek v buňkách, zejména v buňkách nervového systému savce.

CZ 281 539 B6

Polypeptid pro blokování vápníkových kanálků v buňce

### Oblast techniky

Vynález se týká polypeptidu, který je obsažen v jedu pavouka *Agelenopsis aperta*. Tento polypeptid a jeho farmaceuticky vhodné soli blokují vápníkové kanálky v buňkách, včetně neuronových a svalových buněk různých organismů včetně bezobratlých a obratlovců. Vynález se také týká aplikace tohoto polypeptidu a jeho solí pro blokování vápníkových kanálků v buňkách, jako jsou zejména buňky nervového systému.

### Dosavadní stav techniky

Sloučeniny, které jsou účinné jako antagonisty vápníku, nalézají různé aplikace. Je jich možno použít při léčbě takových stavů a chorob, jako je mj. angina, hypertense, kardiomyopathie, supraventrikulární arrhythmie, aesophageální achalasia, předčasná práce k porodu a Raynaudova choroba (viz W. G. Nayler, Calcium Antagonists, Academic Press, Harcourt Brace Jovanovich Publishers, New York, NY 1988). Výše uvedená publikace je zde uvedena náhradou za přenesení celého jejího obsahu do popisu tohoto vynálezu. Tyto sloučeniny jsou dále užitečné při studii fyziologie takových buněk, jako jsou neurony a svalové buňky.

Jiné polypeptidy izolované z *Agelenopsis aperta* jsou zveřejněny v US patentu č. 5 122 596.

### Podstata vynálezu

Předmětem vynálezu je polypeptid se sekvencí aminokyselin odpovídající SEQ ID NO: 1

H<sub>2</sub>N-Glu-Ala-Cys-Ala-Gly-Ala-Tyr-Lys-Ser-Cys-Asp-Lys-Val-Lys-  
-Cys-Cys-His-Asp-Arg-Arg-Cys-Arg-Cys-Asn-Ile-Ala-Met-Asp-Asn-  
-Cys-Val-Cys-Lys-Leu-Phe-Tyr-Cys-Glu-Leu-Phe-Gly-Thr-Cys-Asp-  
-Arg-Leu-Lys-Pro

a jeho farmaceuticky vhodné soli pro blokování vápníkových kanálků v buňce.

Jak již bylo uvedeno výše, tento polypeptid, je obsažen v jedu pavouka *Agelenopsis aperta* (peptid J<sub>2</sub>). Polypeptid podle vynálezu a frakce, v níž je přítomen, jsou charakterizovány dále.

Polypeptid podle vynálezu blokuje vápníkové kanálky v buňkách. V důsledku toho je tento polypeptid užitečný při blokování vápníkových kanálků v buňkách, jako takovém, a také je užitečný při potlačování bezobratlých škůdců a při léčbě chorob a stavů savců, které jsou zprostředkovány funkcí vápníkových kanálků v buňkách.

Následuje podrobný popis tohoto vynálezu.

Jed se získává odběrem z pavouka *Agelenopsis aperta* po jeho elektrické stimulaci ve shodě se standardními postupy, které jsou odborníkům v tomto oboru známy. Přednostně se používá postupů, které zaručují, že nedojde ke kontaminaci jedu abdominálním regurgitantem (vratným proudem) nebo hemolymfou. Takové postupy jsou odborníkům v tomto oboru dobře známy. Takto získaný celý jed se uskladňuje ve zmrazeném stavu při teplotě asi  $-78\text{ }^{\circ}\text{C}$  až do jeho použití při purifikaci popsané dále. Purifikace složek z celého jedu se provádí vysoce účinnou kapalinovou chromatografií (HPLC) s reversními fázemi na různých preparativních nebo semi-preparativních sloupcích, jako je sloupec C-4 a C-18 Vydac<sup>(R)</sup> (Rainin Instrument Co. Inc., Mack Road, Woburn, Massachusetts 01801, USA). Detekce píku se provádí monochromaticky při 220 až 230 nm. Další analýza frakcí se například může provádět na základě polychromních UV dat získaných pomocí detektoru se soustavou diod (Waters 990) (Millipore Corporation Waters Chromatography Division, 34 Maple Street, Milford, Massachusetts 01757, USA). Frakce ze sloupců se sbírají známými postupy, jako například za použití sběrače frakcí ISCO/"FOXY" a píkového detektoru ISCO 2159 (ISCO, 4700 Superior, Lincoln, Nebraska, 68504, USA). Frakce se sbírají do nádob vhodné velikosti, například do sterilních polyethylenových laboratorních nádob. Zkoncentrování frakcí se potom provede lyofilizací z eluátu, po níž následuje lyofilizace z vody. Čistota výsledných složkových frakcí se potom může stanovit chromatografickou analýzou za použití analytického sloupce s gradientovým systémem, který je isokratičtější než systém použitý při finální purifikaci těchto frakcí.

Polypeptid podle vynálezu je možno známými metodami sekvenovat. Obecná strategie pro stanovení základní struktury zahrnuje například tyto stupně

- 1) Redukci a S-pyridylaci disulfidem přemostěných cysteinových zbytků za účelem zvýšení susceptibility substrátu k enzymatickému napadení,
- 2) Regulované jednostupňové nebo vícestupňové štěpení peptidu enzymem.
- 3) Isolace a purifikace fragmentů peptidu vysoce účinnou kapalinovou chromatografií (HPLC) s reversními fázemi.
- 4) Charakterizace fragmentů peptidu pomocí N-terminálního sekvenování a hmotnostní spektrometrie "ion-spray".

S-pyridylethylace cysteinových zbytků studovaných polypeptidů se například může provádět v roztoku a po této operaci následuje sekvenování polypeptidů. Jeden ze způsobů S-pyridylethylace, kterého je možno použít, je popsán dále.

Asi 1 až 10  $\mu\text{g}$  polypeptidu se rozpustí v 50  $\mu\text{l}$  pufru připraveného smícháním 1 dílu 1M TrisHCl o pH 8,5 s obsahem EDTA (4mM) a 3 díly 8M hydrochloridu guanidinu, nebo se tímto pufrem na objem 50  $\mu\text{l}$  zředí. Přidá se 2,5  $\mu\text{l}$  10% vodného 2-merkptoethanolu a směs se inkubuje při teplotě místnosti v temnu pod argonovou atmosférou po dobu 2 hodin. Po inkubaci se přidají 2  $\mu\text{l}$  4-vinyl-

pyridinu (čerstvé reakční činidlo skladované pod argonovou atmosférou při  $-20\text{ }^{\circ}\text{C}$ ) a výsledná směs se další 2 hodiny inkubuje při teplotě místnosti v temnu pod argonovou atmosférou. Potom se směs odsolí, přednostně chromatograficky na krátkém sloupci s reversními fázemi. Získaný alkylovaný polypeptid se potom známými metodami sekvenuje.

Díky vynálezu, který je charakterizován v tomto popisu, se peptid přítomný ve frakci J<sub>2</sub> jedu z *Agelenopsis aperta* může získat také jinými metodami než izolací a purifikací z celého jedu. Polypeptid podle vynálezu je tedy také možno vyrobit za použití rekombinantních DNA technik pomocí klonování kódující sekvence pro tento polypeptid nebo jejich části. Tak například je možno, s využitím informace o známé sekvenci aminokyselin tohoto polypeptid, použít hybridizačních prób pro klonování kódující sekvence pro celý polypeptid, což se provádí způsoby dobře známými odborníkům v tomto oboru. Při výrobě polypeptidu podle vynálezu se také může použít kombinace rekombinantních DNA technik s in vitro syntézou proteinu. Jako neomezující příklad metody in vitro syntézy proteinu je možno uvést metodu prováděnou v syntetizátoru peptidů v pevné fázi ABI 430A (Applied Biosystems Inc., 850 Lincoln Center Drive, Foster City, California 94404, USA), při níž se používá standardní Merrifieldovy chemie nebo jiných chemií pro postup v pevné fázi, které jsou dobře známé odborníkům v tomto oboru.

Polypeptidy podle vynálezu blokuje vápníkové kanálky obsažené v různých buňkách, jako jsou například buňky nervového systému a svalového systému bezobratlých a obratlovců.

Schopnost polypeptidu podle vynálezu blokovat vápníkové kanálky je možno demonstrovat následujícím postupem. Z cerebella osmidenních krys se získají cerebelární granulární buňky (Wilkin et al., Brain Res., 115, 181 až 199, 1976). Čtverečky (1 cm<sup>2</sup>) z Aclaru (Proplastics Inc., 5033 Industrial Ave., Wall, NJ, 07719, USA) se potáhnou poly-L-lysinem a umístí do 12-jamkových misek obsahujících 1 ml Eaglova bazálního média. Buňky se disociují a do každé jamky obsahující čtvereček Aclaru se přidá alikvotní část obsahující  $6,25 \times 10^6$  buněk. Po 24 hodinách se přidá cytosin-beta-D-arabinofuranosid (koncová koncentrace 10  $\mu\text{M}$ ). Buněk se používá pro fura2 analýzu u 6-, 7- a 8-denní kultury. Buňky (připojené k Aclarovým čtverečkům) se převedou do 12-jamkové misky obsahující 1 ml 2  $\mu\text{M}$  fura2/AM (Molecular Probes Inc., Eugene, OR 97402, USA) v pufru HEPES (s obsahem hovězího sérového albuminu 0,01 % a dextrosy 0,01 %; pH 7,4, bez hořčiku). Buňky se inkubují po dobu 40 minut při 37  $^{\circ}\text{C}$  a potom se pufr obsahující fura2/AM odstraní a nahradí 1 ml stejného pufru bez fura2/AM. Do kyvety z křemenného skla se předloží 2,0 ml předehřátého (37  $^{\circ}\text{C}$ ) pufru. Do kyvety se přidají buňky na Aclaru, kyveta se vloží do termostatovaného (37  $^{\circ}\text{C}$ ) držáku vybaveného magnetickým míchadlem a pomocí fluorescenčního spektrofotometru (Biomedical Instrument Group, University of Pennsylvania, USA) se měří fluorescence. Fluorescenční signál se nechá stabilizovat po dobu asi 2 minut. Potom se do kyvety přidá 5 až 20  $\mu\text{l}$  zásobního roztoku studované sloučeniny v roztoku chloridu sodného pufrovaném fosforečnanem (PBS, pH 7,4) o vhodné koncentraci. Kalibrace fluorescentních signálů a oprava úniku fura2/AM se provede zave-

denými postupy (Nemeth et al., J. Biol. Chem. 262, 5188 (1987)) na závěr každé zkoušky. Maximální hodnota fluorescence ( $F_{max}$ ) se stanoví přidávkem ionomycinu ( $35 \mu M$ ) a minimální hodnota ( $F_{min}$ ) se stanoví následujícím přidávkem EGTA ( $12 \mu M$ ) za účelem chelatace vápníku. Za použití výše popsaného postupu se zjistí, že dochází k blokování vápníkových kanálků studovaným polypeptidem, což se projeví poklesem fluorescence po přidání tohoto polypeptidu. Při této zkoušce vykazuje polypeptid podle tohoto vynálezu nízké hodnoty  $IC_{50}$ , pod  $200 \text{ nm}$ , při blokování vápníkových kanálků.

Pro srovnání je možno uvést, že dva známé obchodně dostupné antagonisty vápníkových kanálků, Nifedipine a Verapamil, vykazují hodnotu  $IC_{50}$   $33 \text{ nm}$  a  $4\ 800 \text{ nm}$ .

Polypeptidy podle tohoto vynálezu jsou užitečné při blokování vápníkových kanálků v buňkách, jako takovém. Díky tomu je tento polypeptid také užitečný při potlačování bezobratlých škůdců a při léčbě chorob a stavů zprostředkovaných funkcí vápníkových kanálků v buňkách savců, jako je mj. angina, hypertense, kardiomyopatie, supraventrikulární arrhythmie, aesophageální achalasia, předčasná práce k porodu a Raynaudova choroba. Dále je tento polypeptid užitečný při studii fyziologie buněk, přičemž jako neomezující příklady buněk přicházejících v úvahu, je možno uvést buňky nervového a muskulárního systému.

Do rozsahu tohoto vynálezu spadají také farmaceuticky vhodné soli polypeptidu podle vynálezu. Tyto soli se vyrábějí způsoby, které jsou v tomto oboru o sobě známé. Tak například soli polypeptidu s bázemi je možno vyrobit konvenčními metodami.

Při podávání polypeptidu podle vynálezu savcům je možno tuto látku podávat buď samotnou nebo v kombinaci s farmaceuticky vhodnými nosiči nebo ředidly, v podobě farmaceutických prostředků, jak je to obvyklé ve standardní farmaceutické praxi. Polypeptid je možno podávat orálně nebo parenterálně, přičemž parenterálnímu způsobu podávání se dává přednost. Patenterální podávání zahrnuje intravenosní, intramuskulární, intraperitoneální, subkutánní a topické podávání.

Pokud se polypeptid podle vynálezu podává orálně, může se k tomuto účelu používat prostředků ve formě tablet nebo kapslí nebo vodných roztoků nebo suspenzí. Jako vhodné nosiče, kterých se obvykle používá v tabletách pro orální podávání, je možno uvést laktosu a kukuřičný škrob. Dále se k takovým tabletám přidávají obvykle lubrikační činidla, jako je stearan hořečnatý. Jako vhodná ředidla pro přípravky v podobě kapslí je možno uvést laktosu a sušený kukuřičný škrob. Pokud se mají vyrobit vodné suspenze pro orální podávání, míchá se účinná přísada s emulgačními a suspenzními činidly. Je-li to žádoucí, mohou se též přidávat určitá sladidla a/nebo aromatizační látky.

Pro intramuskulární, intraperitoneální, subkutánní a intravenosní podávání se mohou vyrábět sterilní roztoky účinné přísady. Hodnota pH těchto roztoků se účelně nastavuje nebo pufruje. U roztoků určených pro intravenosní podávání je třeba dbát na nastavení celkové koncentrace rozpuštěných látek, aby byl přípravek isotonický.

Pokud se polypeptid nebo jeho sůl podle vynálezu bude podávat humánnímu pacientovi, stanoví denní dávku obvykle ošetřující lékař. Dávkování bude závislé na věku, hmotnosti a odpovědi konkrétního pacienta a na závažnosti symptomů choroby a účinnosti podávané sloučeniny.

Pokud se polypeptidu nebo jeho soli podle vynálezu bude používat při potlačování bezobratlých škůdců, bude se těmto bezobratlým podávat polypeptid přímo nebo se bude aplikovat na prostředí, v němž se bezobratlí vyskytují. Tak například se může sloučenina podle vynálezu aplikovat na bezobratlé ve formě postřiku roztokem této sloučeniny. Množství sloučeniny potřebné pro potlačení bezobratlých se bude měnit v závislosti na druhu bezobratlých a podmínkách prostředí. Toto množství stanoví osoba provádějící aplikaci.

Pokud se polypeptidu nebo jeho soli podle vynálezu bude používat při studii fyziologie buněk, bude se tento polypeptid podávat buňkám metodami, které jsou známé odborníkům v tomto oboru. Polypeptid je například možno buňkám podávat ve vhodném fyziologickém puftru. Vhodná koncentrace polypeptidu podle vynálezu při použití v takových studiích je 200  $\mu\text{M}$ . Koncentrace polypeptidu při těchto studiích však může být i vyšší nebo podstatně nižší než 200  $\mu\text{M}$ . Množství podávaného polypeptidu stanoví odborník v tomto oboru známými metodami.

Vynález je blíže objasněn v následujících příkladech provedení. Tyto příklady mají výhradně ilustrativní charakter a rozsah vynálezu v žádném ohledu neomezují.

#### Příklady provedení vynálezu

##### Příklad 1

A. Surový jed z *Agelenopsis aperta* (asi 40  $\mu\text{l}$ ) se nanese na sloupec HPLC s reversními fázemi [VYDAC<sup>(R)</sup> C-18, 300 (30 nm), 22 x 250 mm], který se provozuje za použití programu s dvoufázovým lineárním gradientem od složení 95 % složky A a 5 % složky B do složení 80 % složky A a 20 % složky B (30 minut) a dále do složení 30 % složky A a 70 % složky B (25 minut), kde složkou A je 0,1% kyselina trifluoroctová a složkou B je acetonitril, přičemž detekce se provádí při 220 nm a průtoková rychlost je 15 ml/min. Požadovaná frakce se sbírá v době v rozmezí od 38,3 do 38,7 minut. Stejně frakce z různých pokusů se spojí a zkoncentrují lyofilizací.

B. Látka získaná frakcionací podle stupně A. (ze 100  $\mu\text{l}$  surového jedu) se nanese na sloupec HPLC s reversními fázemi [VYDAC<sup>(R)</sup> C-18, 300 (30 nm), 22 x 250 mm], který se provozuje za použití programu s lineárním gradientem od složení 77 % složky A a 23 % složky B do složení 70 % složky A a 30 % složky B (25 minut), kde složkou A je 0,1% kyselina trifluoroctová a složkou B je acetonitril, přičemž detekce se provádí při 220 nm a průtoková rychlost je 12 ml/min. Požadovaná frakce se sbírá v době

v rozmezí od 17,3 do 17,7 minuty. Stejně frakce z různých pokusů se spojí a zkoncentrují lyofilizací.

Struktura peptidu J<sub>2</sub> se stanoví a ověří následujícími metodami. Provede se analýza aminokyselin PTC za použití 1 až 10 nmol (3 x) pomocí systému Waters Pico-Tag. N-terminální sekvenování se provede v pulsním kapalinovém sekvenátoru (ABI) jak na nativním, tak na redukovaném/pyridylethylovaném peptidu. Základní struktura polypeptidu se zjistí za použití automatizovaného pulsního kapalinového sekvenátoru (Applied Biosystems, model 473A). Data hmotnostní spektrální analýzy se získají z hodnot doby desorpce plasmu BIO-ION za použití hmotnostního spektrometru (flight mass).

Pyridylethylovaný derivát peptidu J<sub>2</sub>, který se hodí pro N-terminální sekvenování, se vyrobí následujícím způsobem. Peptid J<sub>2</sub> (50 mg) se rozpustí v 10 µl pufru (směs 1M Tris, pH 8,4, 4 µM EDTA-dvojsytné a 8M hydrochloridu guanidinu v poměru 1 : 3) a ke vzniklému roztoku se přidají 2 µl 0,454M (10 % - objemově) roztoku 2-merkaptoethanolu v pufru, načež se vzniklá směs 3 hodiny udržuje při teplotě místnosti v temnu. Potom se k reakční směsi přidají 2 µl 0,456M roztoku 4-vinylpyridinu v pufru a směs se 18 hodin udržuje v temnu při teplotě místnosti. Vzniklá reakční směs se zředí 90 µl vody a 40 µl acetonitrilu a nanese na sloupec HPLC (Baker WPC-18, 4,6 x 250 mm), který se provozuje za použití programu s dvoufázovým lineárním gradientem. Nejprve se pracuje při složení 80 % složky A a 20 % složky B (5 minut), potom se složení mění od složení 80 % složky A a 20 % složky B do složení 50 % složky A a 50 % složky B (30 minut), kde složkou A je 0,1% kyselina trifluoroctová a složkou B je acetonitril, přičemž detekce se provádí při 220 nm a průtoková rychlost je 1,0 ml/min. Požadovaná frakce se sbírá v době v rozmezí od 20,8 do 21,3 minuty a zkoncentruje se lyofilizací.

Zjištěná data společně potvrzují strukturu peptidu J<sub>2</sub>, která je charakterizována dále.

SEQ ID NO: 1, 48 zbytků, 10 cysteinů, 5 disulfidových vazeb  
 Vypočtená molekulová hmotnost = 5474,4  
 Nalezená molekulová hmotnost = 5474  
 Odhadnutý pl = 7,98

#### Záznam o sekvenci

##### (1) Obecné informace

##### (i) PŘIHLAŠOVATEL

(A) JMÉNO: Pfizer Inc.  
 (B) ULICE: 235 East 42nd Street  
 (C) MĚSTO: New York  
 (D) STÁT: New York  
 (E) ZEMĚ: USA  
 (F) POŠTOVNÍ SMĚROVACÍ ČÍSLO (ZIP): 10017  
 (G) TELEFON: (203) 441-4905  
 (H) TELEFAX: (203) 441-5221

(A) JMÉNO: NPS Pharmaceuticals, Inc.  
 (B) ULICE: 420 Chipeta Way  
 (C) MĚSTO: Salt Lake City  
 (D) STÁT: Utah  
 (E) ZEMĚ: USA  
 (F) POŠTOVNÍ SMĚROVACÍ ČÍSLO (ZIP): 84108  
 (G) TELEFON: (801) 583-4939  
 (H) TELEFAX: (801) 583 4961

(ii) NÁZEV VYNÁLEZU: Polypeptid z Agelenopsis Aperta  
 blokující vápníkové kanálky

(iii) POČET SEKVENCÍ: 1

(iv) STROJNĚ ČITELNÁ FORMA:

(A) TYP NOSIČE: floppy disk  
 (B) POČÍTAČ: IBM PC kompatibilní  
 (C) OPERAČNÍ SYSTÉM: PC-DOS/MS-DOS  
 (D) SOFTWARE: PatentIn Release #1.0,  
 verze # 1.25 (EPO)

(vi) DATA O DŘÍVĚJŠÍ PŘIHLÁŠCE:

(A) ČÍSLO PŘIHLÁŠKY: US 07/919538  
 (B) DATUM PODÁNÍ: 27. července 1992

(2) INFORMACE O SEQ ID NO: 1:

(i) CHARAKTERISTIKA SEKVENCE:

(A) DÉLKA: 48 aminokyselin  
 (B) TYP: aminokyselina  
 (C) ŘETĚZOVOST: jednoduchá  
 (D) TOPOLOGIE: lineární

(ii) TYP MOLEKULY: protein

(vi) PŮVODNÍ ZDROJ:

(A) ORGANISMUS: Agelenopsis aperta  
 (F) TYP TKÁNĚ: jed

(xi) POPIS SEKVENCE: SEQ ID NO: 1:

Glu	Ala	Cys	Ala	Gly	Ala	Tyr	Lys	Ser	Cys	Asp	Lys	Val	Lys	Cys
1				5					10					15
Cys	His	Asp	Arg	Arg	Cys	Arg	Cys	Asn	Ile	Ala	Met	Asp	Asn	Cys
			20					25						30
Val	Cys	Lys	Leu	Phe	Tyr	Cys	Glu	Leu	Phe	Gly	Thr	Cys	Asp	Arg
			35					40						45
Leu	Lys	Pro												

P A T E N T O V É     N Á R O K Y

1. Polypeptid se sekvencí aminokyselin odpovídající SEQ ID NO: 1

H<sub>2</sub>N-Glu-Ala-Cys-Ala-Gly-Ala-Tyr-Lys-Ser-Cys-Asp-Lys-Val-Lys-  
-Cys-Cys-His-Asp-Arg-Arg-Cys-Arg-Cys-Asn-Ile-Ala-Met-Asp-Asn-  
-Cys-Val-Cys-Lys-Leu-Phe-Tyr-Cys-Glu-Leu-Phe-Gly-Thr-Cys-Asp-  
-Arg-Leu-Lys-Pro

a jeho farmaceuticky vhodné soli pro blokování vápníkových ka-  
nálků v buňce.

2. Polypeptid a jeho farmaceuticky vhodné soli podle nároku 1 pro  
blokování vápníkových kanálků v buňce, která se nalézá v ner-  
vovém systému savce.

---

Konec dokumentů

---