

Pávó Imre

SZOMATOSZTATIN ANALÓGOK ÉS FRAGMENTEK SZINTÉZISE,  
NÉHÁNY FRAGMENTEK BIOLÓGIAI HATÁSA

Egyetemi doktori értekezés

Szegedi Orvostudományi Egyetem

1987



B 5145



E 2.888



## TARTALOMJEGYZÉK

	Oldal
BEVEZETÉS, CÉLKITŰZÉS	1
ELMÉLETI RÉSZ	2
A szomatosztatin felfedezése	2
A szomatosztatin általános biológiai hatásai	3
Szomatosztatin előfordulása az emésztőtraktusban	5
A szomatosztatin fiziológiai szerepe az emésztőtraktusban	8
Szomatosztatin a keringő vérben	14
Szomatosztatin receptorok	15
Szomatosztatin a therápiában	18
Szomatosztatin analógok	20
Szomatosztatin analógok előállítás	25
Szomatosztatin fragmensek előállítás	41
KÍSÉRLETI RÉSZ	50
A szomatosztatin analógok szintézise	50
A szomatosztatin fragmensek szintézise	61
ÖSSZEFOGLALÁS	63
A TÉMAKÖRBEN ELHANGZOTT ELŐADÁSOK, KÖZLEMÉNY	64
IRODALOMJEGYZÉK	67

## BEVEZETÉS, CÉLKITŰZÉS

Az adenohipofízis az emberi humorális szabályozás központi szerve. Ennek stimuláló hormonjai negatív feedback kölcsönhatás alapján hatnak a célmirigyek hormonszekréciójára. Többek között ez a humorális rendszer is felelős a szervezet homeosztázisának fenntartásáért. Megfigyelések hosszú sora bizonyítja azonban, hogy szabályozó működésének az adenohipofízis csak akkor tud eleget tenni, ha a hipotalamusz és az adenohipofízis közti anatómiai összeköttetés sértetlen. A hipotalamusz szöveteiből, ill. a hipotalamuszt elhagyó portális vérből az utóbbi évtizedben több olyan peptidtermészetű anyagot izoláltak, amelyek megfelelő adagban in vitro és in vivo serkentik ill. gátolják az adenohipofízis egyes trophormonjainak szekrécióját. Ezen anyagok egyike a szomatosztatin is.

Sokirányú szerepe között a szomatosztatin jelentősen csökkenti a gyomornyálkahártya sósav szekrécióját. Ez is az alapja a hormon antiulcerogén hatásának.

Munkánk célja biológiailag aktív szomatosztatin analógok előállítása volt, amelyek különböző vizsgálatokban felhasználhatók a hormon hatásmechanizmus tanulmányozására.

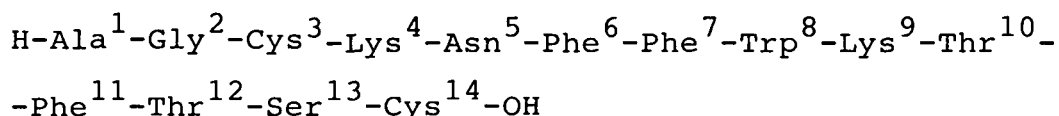
Szintetizálni kívántuk emellett a tetradekapeptid szomatosztatin kisebb fragmenseit is. Úgy gondoltuk, hogy a természetes lebomlás során is keletkező több rövidebb frekvenciának is lehet fiziológiai jelentősége, rendelkezhet a hormonális hatásspektrum valamely részével.

## ELMÉLETI RÉSZ

### A szomatosztatin felfedezése

KRULICH és munkatársai már 1967-ben birka tisztított hipotalamusz-kivonatát vizsgálva olyan frakciót különítettek el, amely a már akkor többé-kevésbé ismert növekedési hormon elválasztását serkentő faktor, a GH-RF növekedési hormon (GH) szintet emelő hatását in vivo megakadályozták /1/. SHALLY laboratóriuma 1973-ban hipotalamusz extraktum frakcionálása során keletkezett több olyan kivonat előállításáról számolt be, amelyek adenohipofízis-sejttenszében vizsgálva a GH elválasztását növelték ill. csökkentették /2/. Ezen kísérletek alapján valószínűnek tartották egy GH-szekréciónegatív faktor létét. Még ugyanebben az évben egy kaliforniai munkacsoport BRAZEAU, VALE, RIVIER és GUILLEMIN vezetésével a feltételezett GH-RF (GH-releasing factor) keresése közben nyers birka hipotalamusz kivonatban találtak egy kis dózisban (mintegy 1500 agyalapi mirigyből előállított) ható anyagot, amely patkány hipofízis-sejttenszét GH szintjét csökkentette. A hatás specifikusnak és dóziszfüggőnek bizonyult /3/. Az eredmény nyomán 500 000 birka hipotalamuszt dolgoztak fel az anyag identifikálására. A mirigyhomogenizátum kloroform-jégecet-metanolos extraktumát karboximetilcellulóz ioncserélő kromatográfia útján tisztították, majd gélszűrésnek vetették alá SEPHADEX G 25 töltetű oszlopon. Az

ily módon izolált peptid szekvenciáját lépcsőzetes lebontással állapították meg:



Ezt a peptidet - hatása alapján - szomatosztatinnak nevezték el. Ugyanez a munkacsoport végezte elsőnek a hormon szintézisét is szilárd fázisú eljárással, RIVIER vezetésével 1973-74-ben /4/. A biológiai vizsgálatok alapján megállapították, hogy a szintetikus peptid aktivitása megegyezik a természetesével. A későbbiekben még sokan állították elő a hormont kémiai úton. A szintézisek közül kiemelkedik SARANTAKIS munkája, aki ezt elsőként végezte klasszikus peptidkémiai módszerekkel, ami egyben a szerkezetmeghatározás helyességének döntő bizonyítéka volt /5/.

A szomatosztatin általános biológiai hatásai

A szomatosztatin mesterséges előállítása nagymértékben meggyorsította a biológiai vizsgálatokat. Ezek során hamarosan kiderült, hogy ez a hipofízishormon a gerincek sok szervében, szövetében fellelhető, és sokrétű, biológiailag jelentős hatásokkal rendelkezik.

1974-ben állította elő ARIMURA az első radioimmunoassay (RIA) vizsgálatra alkalmas szomatosztatin antiszérumot /6/. HÖKFELT és munkatársai a szomatosztatin szervezeten belüli

megoszlásának vizsgálatára alkalmas immunfluoreszcens technikát dolgoztak ki /7/. PELLETIER intracelluláris, elektronmikroszkópos vizsgálatokra alkalmas immunperoxidázos módszert dolgozott ki és alkalmazott szomatosztatin identifikálására /8/. Az utóbbi években a hormon jelenlétét a fent említett eljárások segítségével kimutatták pancreasból, a gastro-intesztinális traktus szinte minden részéből, a pajzsmirigyből, a thymusból, a decíduából, a szérumból, vizeletből, magzatvízből, cerebroszpinális folyadékból. Felfedeztek humán somatostatinomákat, melyek extrém mennyiségű hormont produkáltak. Legnagyobb mennyiségben van jelen a hormon az agyállományban. Az agy összes szomatosztatin tartalmának 28 %-a a hipotalamuszban, 21 %-a a kéregben, 11 %-a az agytörzsben, 7 %-a a középagyban található, míg a talamusz 12 %-ban, a septum-praeoptikus area 18 %-ban részesedik /9/. Legnagyobb a hormon koncentrációja a hipotalamuszmagvakban, főként az eminentia mediana területén.

A szomatosztatin biológiai hatásaira összefoglalóan a gátló effektus a jellemző. Gyakorlatilag az általa befolyásolt minden endokrin és exokrin mirigyfunkciót - ha különböző mértékben is - gátolja. Más jellegű hatásaira is a gátlás a jellemző. A szomatosztatin csökkenti a GH szekréciót, a TSH /10/ és az ACTH /11/ elválasztását. Az adenohipofízis többi hormonjaira gyakorolt effektusa nem egyértelmű.

Központi idegrendszeri hatásait is intenzíven kutatják. Intracerebrális beadása után majmokban tranquilláns hatást észleltek /12/, patkányokban viszont több alkalommal excitatorikus, izgalmi állapotot sikerült kiváltani. Központi idegrendszeri hatásai összetettek, feltehetően több támadáspontúak, nagymértékben függenek a hormon beadási módjától, a vér-agyagát állapotától és sok egyéb tényezőtől.

A szomatosztatin széleskörű fellelhetősége, összetett hatásspektruma ismeretében felmerül a kérdés, hogy mi a hormon fiziológiás szerepe. Mai tudásunk szerint a szomatosztatin élettani hatásai túlnyomó többségben "közelhatások", (féléletideje emberben mintegy 3 perc) mint pl. feltételezett neurotransmitter szerepe a központi idegrendszerben, hipofízis működést gátló funkciója, széleskörű gasztrointesztinális szabályozó működése. Nagyon valószínű, hogy a szomatosztatin - ma még nem kellően ismert - jelentős funkciót visel a fenti szerepkörökben. A szomatosztatin és a más reguláló faktorok interakcióinak tanulmányozása részben a jövő feladata.

Szomatosztatin előfordulása az emésztőtraktusban

A hormont, felfedezését követően rövid idő múlva kimutatták a gyomor-béltraktus szerveiből. A későbbiekben a struktúra-funkció elvnek megfelelően megjelentek azok a



közlemények, amelyek az itt jelenlévő szomatosztatin biológiai szerepét igazolták. Mai tudásunk szerint a gasztrointesztinális tevékenységek szabályozási modelljei a szomatosztatin figyelembe vétele nélkül nem teljesek.

Immunreaktív szomatosztatin a gyomor-béltraktus minden rétegéből kimutatható /13/. Immuncitokémiával kimutatható szomatosztatin van a nyálkahártya endokrint sejtjeiben, a béltraktus idegrostjaiban, a pancreas-sziget D-sejtjeiben.

A bélrendszer mucosa sejtjei között mindenütt vannak szomatosztaint tartalmazók, de különösen a fundusban, az antrumban és a colonban. Ezen sejtek morfológiájára az jellemző, hogy gyakran rendelkeznek csúcsi nyúlvánnyal, mely elérheti a lument is, mint pl. az antralis mucosában. Ez lehet a morfológiai alapja annak a fiziológiai ténynek, hogy több bélürön belüli hatás - pH változás, stb. - közvetlen hat a peptid vérszintjére, a szomatosztatin szekréciójára.

Gyakran találhatók a sejtek bázisán nyúlványszerű képződmények is, melyek a parakrin hatással hozhatók összefüggésbe /14/. Ez a megnyúlt citoplazmarész gyakran van nagyon szoros anatómiai kapcsolatban neuroendokrin sejtekkel, a fundus parietalis sejtjeivel, és az antrum gasztrin tartalmú sejtjeivel /14/. Valószínűleg igaz az a feltételezés, hogy ez a közeli kapcsolat lehetőséget

biztosít a sejtek közötti közvetlen információcserére, arra, hogy a szomatosztatin gasztrin sejtekre és sósavat exkretáló sejtekre parakrin módon közvetlen gátló hatást fejtsen ki. A parakrin hatás további morfológiai bizonyítéka a szekretoros granulumok anterográd transzportja /15/.

A pancreas szomatosztatin tartalmú sejtjei a Langerhans-szigetekben találhatóak fajtól függően főleg periférikus vagy disszeminált elrendezésben.

Emberben a bél szomatosztatin aktivitása a 8. gesztációs héten jelenik meg a vékonybélben és a gyomorban /16/.

1975 óta tudunk a gasztrointesztinális idegrendszer szomatosztatin tartalmáról /7/. Tengerimalacban részletesen 1980-ban írták le a bél-idegrendszer szomatosztatin tartalmú hálózatait /17,18/. Szomatosztatinerg rostok főleg a coeliaco-mesentericus ganglionokból indulnak ki, és a mesenterikus idegeken keresztül jutnak el a belekbe. Egyes idegrostok a szomatosztatinnal együtt más neurotranszmittert is tartalmaznak. Erre a jelenségre az utóbbi időben a módszerek fejlődésének következtében egyre több példa van. Egy helyen szomatosztatin és kolecisztoxinin együtt fordul elő tengerimalac ganglionsejtjeiben, a vastagbélben /19/.

A szomatosztatin gyomorsav-szekrécióban játszott szerepének pontosabb megítélésére sokan kerestek az elmúlt időben morfológiai bizonyítékokat. Egy érdekes kísérletben különböző betegcsoportok gyomornyálkahártya biopsziáit

dolgozták fel. Vizsgálták anaemia perniciosás és vagotomián átesett betegek mintáit, ill. olyan szövetdarabokat, amelyek fokozott savszekrécióval járó betegekből származtak: gastrinoma, G-sejt hiperplázia. A metszeteken a gasztrin: szomatosztatin pozitív sejtek arányát számolták. Az arány kisebbedett csökkent savszekrécióval járó állapotokban és nőtt hiperaciditásos kórképekben /20/. Ez a megfigyelés is a két hormon fiziológiai, patofiziológiai szerepét támasztja alá.

A szomatosztatin fiziológiai szerepe az emésztő-traktusban

A szomatosztatin nemcsak a pancreas endokrin funkciót gátolja, hanem a nagy emésztőmirigy külső elválasztását is befolyásolja. Hatására csökken a kiválasztott exkrétum mennyisége, az emésztőferment és a bikarbonát-tartalom.

A hasnyálmirigyre gyakorolt befolyás mellett a hormon legjelentősebb gasztrointesztinális hatásai: a gyomornyálkahártya sósav termelésében, a felszívódásban, a bélmotilitásban, a zsigeri vérkeringésben előidézett változások.

Ezek közül témánk szempontjából a sósavexkréció befolyásolása a legjelentősebb. E szempontból a legfontosabb figyelembeveendő kölcsönhatás a szomatosztatin-gasztrin kompetíció. A két hormon egyensúlya a fiziológiás gyomor-nedv-kiválasztás jelentős komponense lehet.

A gyomornyálkahártya szomatosztatin tartalmú sejtjei

citoplazma nyúlványokkal szorosán kapcsolódnak az antrum G-sejtjeihez, és a fundus parietalis sejtjeihez. A szomatosztatin in vitro és in vivo a gasztrin erős inhibitora. A neurológiailag domináns kolinerg aktivitás gátolja a szomatosztatin felszabadulását, stimulálja a gasztrint. A nem-kolinerg út a gasztrin elválasztást fokozza, itt valószínűleg bombesin (gastrin releasing peptid) a transzmitter. A lumnalis stimulusok (pH változás, pepton jelenléte) részben bipoláros szenzoros neuronokon keresztül, részben közvetlenül hatnak a szomatosztatin és gasztrin-termelő sejtekre /21/.

A szomatosztatin gátolja a sósavszekréciót, a parakrin és endokrin hatásmódra is van bizonyíték. A fundus szomatosztatin-sejtjei gátolják a parietális sejtek  $H^+$  szekrécióját. Kolinerg neuronok stimulálják a parietális sejteket, gátolják a hormon szekréciót. A szomatosztatin szekréciót közvetlenül befolyásolja a lumnalis pH változás. Szomatosztatin antiszérum egyaránt fokozza a bazális és a stimulált savszekréciót /22/.

Étkezést követően megemelkedik a szérum szomatosztatin koncentrációja. Ezen mértékű növekedés kiváltja a nyugalmi és az (étkezés által) stimulált sósavszekréció szignifikáns gátlását emberben. A hatás nem jár együtt a szérum gasztrin szint változásával /23/. Ezek az adatok azt támasztják alá, hogy a szomatosztatin fiziológiásan

is részt vesz gyomorsav-szekréció szabályozásában, esetleg hatással van a duodenális ulcus keletkezésére. Nem sikerült azonban különbséget kimutatni egészséges és duodenális ulcusban szenvedő ember nyugalmi és étkezés által indukált szérum szomatosztatin koncentrációja között, ill. iv. adott hormon savszekréció-gátlásában /23/.

A rendelkezésre álló kísérleti eredmények összegzett figyelembevételével megállapíthatjuk azt, hogy nincs olyan adat, mely a szomatosztatin gasztrointesztinális fekély kivédésében játszott direkt szerepét bizonyítaná. Az sem evidencia, hogy a fekély kialakulásához vezető patomechanizmus része lenne a szomatosztatin szintézis, metabolizmus, receptor-kötődés stb. megváltozása. Figyelembe véve azt, hogy a fekély képződés patológiájában jelenleg is csak jórészt az előidéző, a szerepet játszó faktorok felsorolására kell hogy szorítkozzunk - talán túlzott elvárás lenne épp a szomatosztatin vonatkozásában jelentősen túllépni ezen.

Néhány tény a rendelkezésre álló kísérleti adatokkal is bizonyítható. Nagy, farmakológias dózisú szomatosztatin antiulcerogén hatású állatkísérletekben. Hasonló eredményre jutottak a humán kipróbálás során is, ezen esetekben azonban nem jól definiált "kísérletek modelleken" végrehajtott kísérletekről van szó, hanem heterogén összetelű, ún. felső gasztrointesztinális vérzésekben kifej-

tett szomatosztatin hatásról.

A felső gyomor-béltraktus vérzései általános gyakorlati problémát jelentenek, sürgősségi ellátást igényelnek. A vérzések legnagyobb része jóindulatú, könnyű, középsúlyos esetek, melyek különösebb therápia nélkül spontán is rendeződhetnek. Súlyosabb esetekben a vérzés erőssége, az idősebb életkor, és a kísérő betegségek rossz prognosztikai tényezőként jelentkeznek. Sebészi beavatkozásra az esetek 10-20 %-ban kerül sor, átlagosan 20 %-os mortalitással /24/.

Az adatok is jelzik, hogy mekkora jelentősége van minden olyan beavatkozásnak, mely nem sebészeti módszereken alapszik és a vérzés elállításához vezethet. Ezen metódusok nagy részének különböző gyógyszerek alkalmazása a lényege.

A különböző készítmények vérzés-ellenes hatásának bizonyítása nagyon nehéz - figyelembe véve azt, hogy a vérzések spontán is csökkenésre hajlamosak, különböző etiológiájúak - csak széleskörű statisztikai feldolgozással együttjáró ellenőrzési módszerek vezethetnek eredményre.

Az elmúlt évtized során több gyógyszerről állították, hogy hatásos felső gasztrointesztinális vérzésekben. Ezek közül a mai napig a cimetidin a legnépszerűbb, noha újabban végzett széleskörű klinikai ellenőrző vizsgálatok nem

támasztják alá egyértelműen általános hatásosságát /25/.

A tetradekapeptid szomatosztatin akut felső gasztrointesztinális vérzésekben történő alkalmazása azon alapszik, hogy csökkenti a gyomorsav szekréciót /26/ és a zsigeri vérátáramlást patkányban /27/, emberben /28/ és más fajokban is. Az utóbbi tényt cirrhotikus betegekben nem sikerült bizonyítani, ennek ellenére ellenőrzött kísérletek szerint szomatosztatin hatásosabb oesophagus varix vérzésekben mint a vazopresszin /29/. Acut felső gasztrointesztinális vérzésekben több tanulmány tanúsága szerint a szomatosztatin hatásosnak bizonyult, hatásosabbnak mint a cimetidin vagy egyes antacidák /27, 30/.

A szomatosztatin humán therápiában való hatékonysága még nem lezárt kérdés. A végső szót csak további klinikai kipróbálások után szabad kimondani. Az eddigi vizsgálatok mindenesetre biztatóak, további vizsgálatokra ösztönöznek.

Jelentős a szomatosztatin fiziológiai jelentősége a tápanyagok vékonybélből történő felszívódásában. A hatás több szinten fejeződik ki: a hormon befolyásolja az emésztőenzimek termelődését, a bélnyálkahártya transzportfolyamatait. A tápanyagok felszívódására gyakorolt hormonhatás ismét egy példa a szomatosztatin sokoldalúságára.

Azonos volumenű és azonos kalóriájú tápanyag esetén

fehérje és zsír kétszer akkora szérumszomatostatin koncentráció emelkedést vált ki mint a szénhidrát. A hormon főleg a gyomorból és pancreasból származik /31/. A szomatostatin gátolja a felszívódást emberben. Ez kimutatható az étkezés utáni cukor, triglicerid, Ca plazma szint redukciójában /32/.

Fajtól, dózistól függően eltérő hatást gyakorol a szomatostatin a bélmotilitásra.

Összefoglalóan megállapítható, hogy a nagy farmakológiai dózisú szomatostatin gyakorlatilag minden gasztrointesztinális és pancreas endo- és exocrin funkciót gátol.

A fiziológiai dózisú infúzió hat a gyomorsav szekréciójára, a gyomorürülésre, a gyomor interdigesztív kontrakcióira, a triglicerid-, a xilóz-, a glükóz abszorpciójára, a pancreas volumen-, bikarbonát-, enzimszekréciójára, az epehólyag ürülésére, az inzulin-, a glukagon- és a gasztrin szekréciójára.

Endokrin és paracrin hatás együtt van jelen a különböző effektusokban. Bizonyíték az endokrin hatásra, hogy anti-szomatostatin szérum emeli a bazális növekedési hormon-, enteroglukagon-, étkezést követő gastrin-, inzulin-, pancreatikus polipeptid koncentrációt.

A szomatostatin ellentmondásos szereppel bír a



kövértségben. A hyposomatostatinaemia bizonyok fajokban összefügg a kövérséggel, így pl. a "kövér egér" modell esetében /33/.

Szomatosztatin a keringő vérben

A pancreatikus szomatosztatin parakrin hatását igazolták biológiailag aktív de a szomatosztatinnal keresztreakciót nem adó analóg felhasználásával, szimultán mérésekkel /34/.

A parakrin hatás mellett arra is van adat, hogy a szomatosztatin endokrin úton gátolja a gasztrin szekréciót /35/.

A plazma szomatosztatin tartalma a zsigeri szervekből származik. Legmagasabb a gyomor és a pancreas véna hormon szintje. A kevert étkezés vénás hormonszint emelkedését eredményezi emberben /36/. A peptid a pancreasból és a gyomorból származik. A legnagyobb elválasztást a fehérje és a zsírgazdag táplálékok váltják ki. A gasztrikus és az intesztinális fázisban van szomatosztatin emelkedés, a kefalikus fázisban, vagy volumenterhelésre nincs.

A gyomorba került sav is erős stimulus, önmagában is megemeli a keringő hormonszintet. Fajtól függően a vagus stimulálja vagy gátolja az étkezést követő szomatosztatin elválasztást.

A kolecisztokinin, a secretin, a gasztrointesztinális

polipeptid infúzió stimulálja a gyomor és a hasnyálmirigy eredetű hormon elválasztást /37/. Ezen hormonok keveréke, aminosav infúzióval együtt emeli a szomatosztatin szintet, ami ezen hatások étkezés utáni fiziológiai jelentőségét húzza alá.

H<sub>2</sub> receptor aktivátor impromidine emeli, a gátló cimetidín csökkenti az étkezés utáni hormon szintet. Patofiziológiai szerepük nem bizonyított /38, 39/.

Proszttaglandin infúzió stimulál a gyomorban, pancreasban hormon elválasztást. Indomethacin gátolja az elválasztást, az étkezést követően /40/. A proszttaglandin fiziológiás, szomatosztatinon keresztüli savcsökkentő hatása nem valószínű.

A Langerhaus-szigeten belüli hormonok közül glukagon stimulálja a szomatosztatint /41/, a pancreatikus polipeptid hatása ezzel ellentétes, és a szomatosztatin maga is gátolja a D-sejt funkciót. A D-sejt funkció feltehetőleg leghatásosabb inhibitora az inzulin /42/.

#### Szomatosztatin receptorok

Celluláris szomatosztatin receptor jelenlétét, tulajdonságait illetően több forrásból állnak rendelkezésünkre fontos adatok:

1. hormon-analógok gátló hatása különböző anyagok szekréciójára (inzulin, glukagon, növekedési hormon, sav-

szekréció)

2. receptorok direkt karakterizálása (radioaktív analógokkal in vitro sejtmembrán preparátumokon)
3. a receptorkötődés szekrécióra gyakorolt hatás-összefüggései, ezek tanulmányozásai nyomán.

A peptidhormon felépítésében résztvevő egyes aminosavak különböző jelentőségűek a hatás szempontjából. Változtatásuk sokszor nem eredményez hatáscsökkenést, néhány esetben a csere a hatás teljes megszűnésével járhat (7, 8, 9 pozíció). A 8 D-Trp például jobb hatású analóg mint az eredeti hormon, feltehetően proteolitikus ellenállóképessége, jobb térbeli stabilitása miatt. Az aktív hormon konformáció "hajtű" alakú és a 8, 9 aminosavak között béta "turn" van /43/. A diszulfid hídnak fontos szerepe van a molekula stabilizálásában.

Az analógok hatásspektruma is különbözik: a Veber-féle biciklikus analógok például döntően inzulinspecifikusak és nem hatnak a sósavszekrécióra /44/.

A Bauer-féle analógnak az első ún. long acting szomatostatinnak jelentős növekedési hormon specificitása van /45/. Ezeket a hatás-eltéréseket különböző receptorok létével, (hipofízis, pancreas, gyomor stb.), az analógok lebomlásának különbözőségeivel magyarázhatjuk.

A receptorokra vonatkozó tanulmányok döntően különböző jódozott radioaktív ligandok felhasználásával

készültek. A szomatosztatin receptorok karakterizálásának jó modellje a növekedési hormont termelő patkány adenohipofízis tumor sejtvonala, a GH<sub>4</sub>Cl /46/, és az ACTH termelő egér adenohipofízis sejtvonala, az AtT20 /47/. Újabban akromegáliás betegek műtét során eltávolított adenohipofízisből hasonló sejtvonalat sikerült előállítani /48/.

Nemcsak a központi idegrendszerben, de más szervekben is karakterizáltak receptorokat: mellékvesében, pancreasban, gyomorban - ezek általában nagyobb affinitásúak, mint a hipofízisben találhatóak. A gyomor fundus epithel sejtjeiben mai tudásunk szerint két receptor alosztály található 0.08 és 4.5 nM affinitással, 500 ill. 4600 kötőhely/sejt sűrűségben /49/. Pancreasban, gyomorban, belek sejtjeiben citosolikus kötőhelyeket is találtak. Ezek fiziológiai szerepe nem ismert, feltehető az is hogy membránreceptorok internalizálásával jönnek létre /50/.

A szomatosztatin 28-nak nagyobb az affinitása a kéri és hipofízis receptorokhoz, mint a 14-nek.

A szomatosztatin gátló hatása a celluláris CAMP szintézisre régóta ismert, de az adenilát ciklázra ható direkt gátlása újabban vált köztudottá /51/.

Szomatosztatin aktiválta foszfoprotein-foszfátát találtak a gyomor, a pancreas, a bél sejtnedv-kivonatában.

Gyomor citosolból nagy molekulásúlyú részlegesen tisztított fehérjekomplexet izoláltak. Ez azt sejteti, hogy fehérjék defoszforilációja része lehet a hormon intracelluláris inhibitoros hatásának /50/.

#### Szomatosztatin a therápiában

A szomatosztatint kiterjedt hatásai folytán már felfedezése óta sok esetben alkalmazzák a klinikai gyakorlatban, therápiás céllal. Sok hatása közül azonban csak néhány használható ki a klinikumban. A kísérletek biztatóak, néhány kórképben a szomatosztatin therápiás indikációja megelőzi a hagyományos medicina fegyvertárában szereplő szerek alkalmazását.

Elsőnek diabetes mellitus therápiájában használták föl, részleges sikerrel. Vércukorszint-csökkentő hatása miatt, ami elsősorban glukagon-szint-csökkentő effektusán keresztül érvényesül, a juvenilis diabetesesek 70 %-ánál a fenntartó inzulinadag csökkenthető volt /52/.

Acromegaliás esetekben a szomatosztatin-infúzió adásának időtartama alatt a plazma GH szintje szignifikánsan és nagy mértékben csökkent /53/. Az infúziót követően a GH szint a megelőző magas szintre állt vissza, sőt egyes esetekben ezt meg is haladta.

A pancreas exokrin funkciót csökkentő hatását használják ki acut pancreatitis gyógykezelésében. Profilak-

tikus alkalmazása acut pancreatitis operációja előtt csökkentette a műtéti kockázatot, kisebb mortalitást eredményezett. A hasnyálmirigy-gyulladás konzervatív kezelésében is kiterjedten alkalmazzák. Kettős vak vizsgálatok felhasználásának hatásosságát objektíven is bizonyították /54/.

Antiulcerogén hatásáról, akut felső gasztrointesztinális vérzésekben történő alkalmazásáról már részletesen szóltunk.

A szomatosztatin klinikai felhasználásának szélesebb körű, több kórképben történő alkalmazásának elterjedését több tényező is hátráltatja:

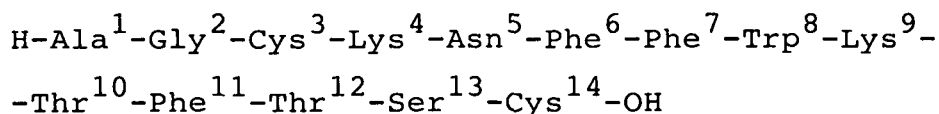
1. A szomatosztatin lebomlása nagyon gyors. Intravénás beadást követő féléletideje a plazmában 2-3 perc mindössze.
2. Összetett, sokszor egymásnak ellentmondó hatásai (pl. inzulin- és glukagonszint csökkentése) miatt alkalmazásának farmakológiai hatásai nehezen számíthatók ki.

Nagy adagban történő beadása szubjektív panaszok (émelygés, hányás, fejfájás) forrása lehet. A szomatosztatin hormon therápiás alkalmazása a fent említett nehézségek miatt perspektivikusan korlátozott, jóllehet még sok a kiaknázatlan lehetőség. Ezek ismeretében már gyakorlatilag a hormon felfedezése óta folyik származékainak (analogjainak) előállításával azzal a céllal, hogy alacsony dózisban alkalmazható, szelektív hatású, hosszú élettarta-



mú, gyógyászati szerek előállítása válják lehetségessé. A kutatások ígéretesek, különösen az elmúlt 2-3 esztendő tükrében.

Szomatosztatin analógok



#### A szomatosztatin szekvenciája

RIVIER és munkatársai már 1974-ben megállapították, hogy az N-terminális két aminosav nem szükséges a hatásához /55/, ugyanígy a terminális amino- és karboxil-csoport sem elengedhetetlen /56/. Ha a diszulfid-híd kialakulása lehetetlen - mint az Ala<sup>3</sup>, Ala<sup>14</sup> analóg esetében - a hatás az eredetinek csak 0,01 %-a /57/, tehát a biológiai aktivitáshoz szükség van a diszulfid-hídra.

Analógok előállítására elvileg az alábbi módszerek jöhetnek szóba /58/:

1. Az N ill. a C terminálisan történő lánchosszabbítás, lánchrövidítés
2. Egy-egy aminosav szisztémás elhagyása
3. Egy-egy aminosav szisztémás cseréje alaninra
4. Egy-egy aminosav D sztereoizomerének beépítése

5. Egy-egy aminosav másikkal történő helyettesítése
6. Több aminosav kihagyása vagy mással történő helyettesítése

Ad 1. Az N-terminális hosszabbítása tirozinnal nem jár az aktivitás csökkenésével, ilyen pl. a Tyr-szomatosztatin (Tyr SS) és a Tyr-Gly-Tyr SS. Ezek radioaktív jódosított származékai felhasználhatók receptor-kötődési tanulmányokhoz, RIA vizsgálatokhoz is, mivel antigenitásuk is megtartott /6/.

Ad 2. A fentiekben kitűnt, hogy a des Ala<sup>1</sup>-Gly<sup>2</sup> SS aktív, aktivitása az eredeti szomatosztatin (SS) 60 %-a /54/. Bármelyik más aminosav elhagyása a 12-ből minimalisan 95 %-os aktivitáscsökkenést eredményez, tehát a gyakorlat számára használhatatlan produktumokat eredményez.

Ad 3. Az Ala<sup>3</sup>-Ala<sup>14</sup> SS származék gyakorlatilag inaktív, mint ezt már fentebb jeleztük. A biológiai hatás egyes aminosavak alaninra történő cseréje esetén nem változik jelentősen, sőt esetleg növekedhet is. Más aminosavakat, a Phe<sup>6</sup>, Phe<sup>7</sup>, Trp<sup>8</sup>, Lys<sup>9</sup>, Phe<sup>11</sup>-t alaninra cserélve minimum 30-szoros hatáscsökkenés észlelhető. Ezek alapján úgy tűnik, hogy az előző aminosavaknak jórészt csak spacer, azaz térkitöltő funkciójuk van, a térbeli szerkezet kialakításában



játszanak szerepet, míg az utóbbiak - amint ez a későbbi vizsgálatok messzemenően igazolták - a hormon aktív centrumát alkotják.

Ad 4. A természetes L aminosavak D sztereoiszomerjeinek beépítése az eredeti helyett a peptidkémikusok egyik gyakran alkalmazott módszere peptid természetű, szintetikus előállított biológiailag aktív anyagok analógjainak előállításakor. D aminosavak beépítése az alábbi következményekkel járhat általában:

- kis fokban változtatja meg csak a szerkezetet, nem eredményez alapvető struktúrális változást, így a biológiai effektus a döntő hányadban megmarad
- a szerkezetváltozás azonban elégséges ahhoz, hogy a peptid metabolizmusát megváltoztassa - a specifikus bontóenzimek, a kötőhelyspecifikus peptidázok aktív centruma a megváltozott szekvenciát nehezebben ismeri fel, így nehezebben bontja el a peptidkötést is
- változhat a peptidhormon receptorkötődése is.

MARKS és STERN /59/ vizsgálatai szerint a szomatostatin fő hasítási helye, vagyis az a hely, amelyet a szervezetben előforduló peptidázok leggyorsabban bontanak, az a Phe<sup>7</sup>-Trp<sup>8</sup> aminosavak közötti peptidkötés. Ezzel is magyarázható, hogy a D-Trp<sup>8</sup> SS analóg 8-szor

hatásosabb az eredeti hormonnál patkányban in vivo a GH hormon szekréciógátlásában. Mivel az analóg in vitro is kis mértékben hatásosabb mint a természetes szomatosztatin - valószínű, hogy az enzimrezisztencia fokozódása mellett az erősebb receptorkötődés vagy a megnövekedett intrinsic aktivitás is szerepet játszik a megnövekedett hatásosságban.

Egy másik analóg, a D Cys<sup>14</sup> SS is hatásosabb az eredeti hormonnál.

Ad 6. Kísérletek hosszú sorából, többszáz előállított analóg biológiai kipróbálásából vonták le a tapasztalatokat a szomatosztatin aktív centrumának meghatározására. A számos vizsgálatból kitűnt, hogy a Phe<sup>6</sup>-Phe<sup>7</sup>-Trp<sup>8</sup>-Phe<sup>11</sup> hidrofób aminosavak és a Lys<sup>9</sup> kapcsolódnak a legerősebben a receptorkötőhelyhez. A Thr<sup>10</sup> minden valószínűség szerint esszenciális spacer, térkitöltő elem. Emellett az aktivitás elengedhetetlen feltétele az a gyűrűkonformáció, amely a két ciszteinszulfhidril csoportja között alakul ki. A gyűrűkonformáció kialakításához nem feltétlen diszulfidhíd szükségeltetik: GARSKY analókjában a Cys<sup>3</sup>-t  $\gamma$ -amino-vajsavval, a Cys<sup>14</sup>-t  $\alpha$ -amino-borostyánkőssavval szubsztituálta és a két molekularesz közötti savamid kötés kialakításával biztosította az aktív konformációt /60/.  
VEBER hasonló célból előállított hatásos karbaanalóg-

járól /44/ a későbbiekben még szó esik.

Az alábbiakban táblázatban foglaljuk össze az eddig előállított leghatásosabb szomatosztatin analógokat, főként GH, inzulin ill. glukagon elválasztásra gyakorolt gátló hatásukat az eredeti hormon hatásaihoz viszonyítva, százalékban kifejezve. A táblázatból leolvasható, hogy a különböző hatások mértékének változása egymáshoz viszonyítva korántsem párhuzamos. Tehát lehetséges szelektív hatású analógok előállítása. Ezek nemcsak elméleti jelentőségű anyagok, amelyek csak azt igazolják, hogy különböző szomatosztatin-receptorok léteznek. Diabetes mellitus terápiájában például a specifikusan a glukagon elválasztást szelektíven gátló analógok jöhetnek szóba, akromegalia gyógyításában ezzel szemben azok az analógok tölthetnek be jelentős szerepet, amelyek szelektíven GH-release gátlók.

Biológiailag jelentős szomatosztatin analógok  
("első generáció", VALE nyomán) /58/  
(1. táblázat)

a peptid	a gátlóhatás %-ban az eredetihez viszonyítva		
	GH	inzulin	glukagon
SMS	100	100	100
D-Trp <sup>8</sup>  SMS	800	850	640
D-Trp <sup>8</sup> -D-Cys <sup>14</sup>  SMS	650	100	1000
des AA <sup>1,2</sup> - D-Trp <sup>8</sup>  SMS	400	-	-
des AA <sup>1,2,4,5</sup> - D-Trp <sup>8</sup>  SMS	110	700	< 1
des AA <sup>1,2,4,5,13</sup> - D-Trp <sup>8</sup> -Phe <sup>12</sup>  SMS	60	8	140
des Asn <sup>5</sup> - D-Trp <sup>8</sup> -D-Ser <sup>11</sup>  SMS	13	1750	< 1
Ala <sup>8</sup>  SMS	< 1	-	-

## Szomatosztatin analógok előállítás

Munkánk közvetett kiindulópontja a VEBER ill. a BAUER munkacsoport eredményei voltak. Ezek nyomán célul tűztük ki enzimrezisztens, emiatt hosszú élettartamú, szelektív hatású szomatosztatin analógok szintézisét.

VEBER és munkatársai /44/ irodalmi előzmények alapján, a szomatosztatin feltételezett aktív centruma ismeretében állítottak elő fokozatosan egyszerűsödő szerkezetű, de biológiailag hatásos analógokat. Az általuk szintetizált peptidek közös jellemzője, hogy az aktív konformáció kialakítását  $\omega$ -amino-karbonsavak felhasználásával végezték úgy, hogy az egyébként is meglévő, de más jellegű intramolekuláris kölcsönhatásokat metilénhidakkal helyettesítették. A "hidak" mellett a molekula szerkezetét az aktív centrumra redukálták. (1. ábra)

A 2. táblázat a Veber-analógok biológiai aktivitását mutatja a szomatosztatin aktivitás %-ában.



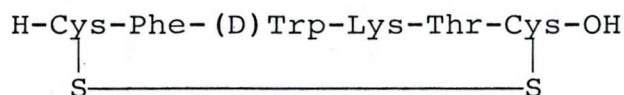
(2. táblázat)

A Veber-analógok biológiai hatásai

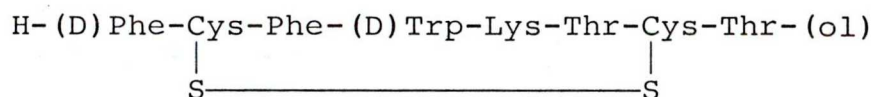
az analógok száma	a gátlóhatás %-ban a szomatosztatinhoz viszonyítva			
	GH	inzulin	glukagon	gyomor-szekréció
I.	188	153	140	10
II.	65	88	84	3
III.	255	350	266	5

A Veber-analógok jelentősége nagy a szomatosztatin kutatás folyamatában. A kísérletek egyértelműen meghatározták a szomatosztatin aktív centrumát, a 7-10 aminosavak ilyen irányú szerepét. Bebizonyították, hogy a molekula összes többi része jórészt "csak" az aktív konformáció kialakításában bír jelentőséggel. A stabilis, aktív konformáció az aktív centrummal együtt a biológiai hatás alapja.

BAUER és munkatársai 1982-ben /45/ analógjaik előállításakor egy végletesen leegyszerűsített, önmagában nagyon csekély biológiai aktivitású alapvegyületből indultak ki, amely tartalmazza a 7-10 aminosavakat - az aktív centrumot - ill. ehhez a tetrapeptid részhez kapcsolódó két Cys-t, amelyek egymással diszulfidhidat alkotnak:



A triptofán D sztereoizomerjét építették be, hogy enzim-rezisztens, hosszú biológiai aktivitású származékokat állíthassanak elő. Az első Cys N-terminális, a második Cys C-terminális végeihez kapcsolt aminosavak ill. aminosav-származékok szisztémás cserélgetésével állítottak elő hatásos származékokat. Leghatásosabb vegyületük GH szekréciógátló hatása az eredeti hormon 70-szerese:



Ennél a vegyületnél célszerű néhány fontos tulajdonságot részletesen számba venni, mivel ez a szomatosztatin analóg sohasem várt karriert futott be napjainkig. Sokan ma is úgy emlegetik mint "a" long acting szomatosztatint, hisz elsőként ez az anyag ötvözte magában a megnövekedett biológiai aktivitást és a megnyúlt élettartamot. Az utóbbi években BAUER-ék anyagát a legkülönbözőbb kísérleti modellben alkalmazták, számos therápiás próbálkozás is történt.

Az oktapeptid jellegű szomatosztatin származék, melynek a Sandoz cég által adott és széleskörben használt elnevezése az SMS 201-995, előállításának menete

jól példázza a mai peptidkémiai-peptidbiológiai kutatások folyamatát. BAUER munkacsoportjának egyre több információ állt rendelkezésre a szomatosztatin analógok szerkezetéről, biológiai hatásairól. Világosnak tűnt, hogy a hatékony vegyületeket a ciklikus analógok körében kell keresni, és hogy a szintetizálendő molekulának tartalmaznia kell a 7-10 aminosavakat is. Minden addigi tapasztalat amellett szólt, hogy a Trp<sup>8</sup> aminosav szubsztitúciója az ellentétes konfigurációjú származékával, a D Trp<sup>8</sup> nem természetes aminosavval, minden esetben a hatékonyság növelésével járt. Ez az adat igaz volt mind az intakt tetradekapeptid, mind pedig bármely származéka vizsgálata esetén. Érthető, hogy a tervezők ez esetben is figyelembe vették ezt a tapasztalatot. A molekula tervezéséhez emellett konformációs megfontolásokat is akceptáltak. Ez időben már sok adat állt rendelkezésre arra vonatkozóan, hogy a szomatosztatin és egyes analógjai feltehetően milyen aktív, receptorkötődésre alkalmas térszerkezettel rendelkeznek. A konformációs tanulmányok döntően néhány tapasztalati mérés extrapolálásán alapultak, valójában közelítő módszerekkel dolgoztak. Mindenesetre a felgyülemlett információ figyelembe vétele a hatékony analóg tervezésekor azzal járt, hogy jó pár lehetséges vegyületet eleve nem kellett előállítani, hisz a megelőző számítások alapján



bármifajta szubsztituens, vagy kapcsolódó rész, mely a "hajtúyszerű" szerkezet kialakulását gátolhatta volna, nem valószínű, hogy nagy biológiai aktivitással rendelkezett volna.

Ezen adatok figyelembevételével történt az analóg és rokonvegyületeinek szintézise. Akkor sem állt és ma sem áll a kutatók rendelkezésére olyan biztos módszer, melynek segítségével akár közelítőleg is meg lehetne jósolni egy-egy anyag élettani tulajdonságait. Analógok szintézisénel mindig analógsorozatok szintéziséről van szó, melyek között, az előállítók reménysége szerint hatásosak is találhatóak, de ezt a tényt csak utólag lehet biztosan igazolni. Így hát a peptidkémiai kutatásoknál a szakmai felkészültség mellett sok esetben a technikai felkészültség is döntő szereppel bír, hisz a nagy számú vegyület előállítása ezt is igényli.

Az SMS 201-995 szomatosztatin analóg megnövekedett biológiai aktivitása minden bizonnyal hosszabb in vitro és in vivo élettartamával is összefügg. Ennek bizonyítására számos kísérlet történt. Tripszin, kimo-tripszin és pepszin enzimek keverékében a molekula stabilnak bizonyult. Patkány vese homogenizátumban az anyag lassú degradálódását lehetett megfigyelni, de ez a folyamat sokkal hosszabb időt vett igénybe mint a ter-

mészetes tetradekapeptid hasonló körülmények közötti lebomlása. /61/

Az analóg jelentős stabilitása a szomatosztatinhoz képest jelentősen javította általában is az anyag biológiai aktivitását, és a biológiai hatás időtartamát is megnövelte. A 3. táblázat erről ad áttekintő képet.

Az SMS 201-995 hatásereősége az eredeti hormonhoz viszonyítva különböző modellekben /61/

(3. táblázat)

Szekréciógátlás	Inkubációs idő	SMS 201-995 és az eredeti hormon hatásainak aránya
GH	15 perc	70
	30 "	300
	60 "	2200
inzulin	15 "	3
glukagon	15 "	23
gyomorsav-szekréció		80

Receptorvizsgálatok céljából előállították az SMS 201-995 radioaktív származékát, a Tyr<sup>3</sup> származék radioaktív <sup>125</sup>I-tel történt szubsztitúciójával. Ezen analóg a <sup>125</sup>I-Tyr-szomatosztatinnal összehasonlítva a hormon-receptorok hasonló elhelyezkedését bizonyítja,

vagyis a kísérletek tanúsága szerint feltehetően azonos receptorokhoz kötődnek /62/. A jövőben feltehetően a long acting analóg radioaktív származékát fogják használni receptor tanulmányokra, stabilitása és a keresztreakciók minimális aránya miatt.

Az SMS 201-995 humán farmakológiai, farmakokinetikai vizsgálatai is elkészültek részben. Az adatok szerint az anyag félélettartama - a beadás módjától függetlenül - másfél óra körüli érték, amely harmincszorosa az eredeti hormonénak /63/. Az önkéntesek jól tolerálták az 50-400 mikrogramm közötti dózisokat. Csak néhány esetben lépett fel enyhe émelygés, később gyomorfájdalom, főleg az intravénás és nagyobb dózisú adagolást követően.

Az SMS 201-995 előállítására és állatkísérletes vizsgálata új lehetőséget teremtett akut felső gasztrointesztinális vérzések kezelésében. Az elméleti megfontolás ez esetben is azonos volt a természetes hormonéval: SMS 201-995 szintén csökkenti a gyomorsav szekréciót /64/. A kezdeti eredmények biztatóak. Az anyag előnye a természetes hormonnal szemben, hogy szubkután is adagolható, mely tulajdonság gyakorlati alkalmazását nagy mértékben leegyszerűsíti, későbbi elterjedését elősegítheti. Az SMS 201-995 használhatóságát akut felső gasztrointesztinális vérzések terápiájában nagyszámú randomizált kísérletsorozat,

klinikai kipróbálások fogják véglegesen eldönteni. Az SMS 201-995 klinikai kipróbálását a fentiekben részletezett területen túl több klinikai esetcsoportban folytatják. Próbálkozások folynak az SMS 201-995 therápiás felhasználására akromegáliában, a bélrendszer neuroendokrin tumorjaiban, stb.

Összességében megállapíthatjuk, hogy a szomatosztatin SMS 201-995 analógja frontáttörés volt mind a szomatosztatin analógok szintézisében, mind pedig a szomatosztatin és származékai therápiás alkalmazásában.

Az SMS 201-995 előállításával és vizsgálatával nem állt meg az a fejlődés, amelyet újabb és újabb szomatosztatin analógok előállítás és kipróbálása jelzett az elmúlt évtizedben a peptidkémia és neuroendokrinológia területén. Az elmúlt év legigéretesebb eredményét SCHALLY munkacsoportja szolgáltatta. A már ismert aktív centrum megőrzésével, módosításával újabb analógokat szintetizáltak. A kutatócsoport által előállított analógok kivétel nélkül gyűrűs szerkezetűek és a gyűrűzárást minden esetben cisztein oldalláncok közötti diszulfid-híd képződés eredményezi. Megőrizték a SMS 201-995 jellemzőiből azt is, hogy a C terminálison lévő aminosav karboxilcsoportja nem szabad, emiatt karboxipeptidázokkal szembeni érzékenysége jelentősen kisebb. Az aktív centrum triptofán-

ja természetesen ezen esetekben is D konfigurációjú. Minden hatásos analóg - az SMS 201-995-höz hasonlóan - N terminálisan szabad aminocsoportot tartalmazó, de D konfigurációjú fenilalaninnal végződik.

Az SMS 201-995-tel összehasonlítva a különbség az, hogy a SCHALLY-analógok - oktapeptidek szintén - 3. helyzetben nem mind fenilalanint, hanem tirozint is, a 6. helyzetben nem treonint, hanem apoláros karakterű, egyébként a treoninhoz hasonló valint tartalmaznak. Különbség még az is, hogy az új analógok N terminális treoninja nem alkohollá redukált karboxilcsoportot, hanem sav-amid csoportot tartalmaz. Néhány új analóg pedig nem is treonint, hanem L-Trp-t, illetve ennek amidját tartalmazza N terminálisan /66/. Az új analógokat mutatja be a 2. ábra.

Új, nagyhatású szomatosztatin analógok

CAI és munkatársai nyomán /66/

H-(D)-Phe-Cys-Tyr-(D)-Trp-Lys-Val-Cys-Thr-NH <sub>2</sub>	I.
H-(D)-Phe-Cys-Tyr-(D)-Trp-Lys-Val-Cys-Trp-NH <sub>2</sub>	II.
H-(D)-Phe-Cys-Tyr-(D)-Trp-Lys-Thr-Cys-Thr-NH <sub>2</sub>	III.
H-(D)-Phe-Cys-Tyr-(D)-Trp-Lys-Thr-Cys-Trp-NH <sub>2</sub>	IV.

2. ábra

Az analógok a kísérletes adatok szerint jelentős növekedési hormon elválasztását gátló effektussal rendelkeznek. Az I. és II. analóg ilyen irányú hatása a szomatosztatin harmincszorosa. Sokkal gyengébb az analógok inzulinra, glukagonra, gyomorsósav szekrécióra gyakorolt hatása. Az analógok közül a Tyr<sup>3</sup>, Val<sup>6</sup> szubsztituáltak aktívabbak, mint a Phe<sup>3</sup>, Thr<sup>6</sup> származékok.

A szomatosztatint és természetesen az SMS 201-995 analógot egyes béleredetű endokrin tumorokban állatkísérletekben széleskörűen alkalmazzák, humán kísérletek is folynak. Az új SCHALLY-analógok nagyon ígéretes antitumorális szerek. Nagy mennyiségű adat áll ma már rendelkezésre állati prosztata, emlő, duktális pancreas carcinoma modellekben az anyagok tumorcsökkentő hatására. Megkezdődtek a klinikai kipróbálások is.

A nagyhatású szomatosztatin analógok voltak szintézisünk kiindulópontjai. Analógjaink tervezésekor az volt a célunk, hogy a Bauer-vegyület módosításával lehetőleg még hatásosabb szomatosztatin származékokat szintetizáljunk. A Bauer-analóg N-terminálisán lévő D-Phe-nek, és a C-terminálisán elhelyezkedő treoninoknak döntő jelentősége van a receptorhoz történő kötődésben, így a biológiai aktivitásban is. A konkrét molekularészektől elvonatkoztatva úgy tűnt, hogy analógjaink akkor lehetnek hatásosak, ha

az "alapváz" (H-Cys-Phe-D-Trp-Lys-Thr-Cys-OH) N-terminálisához aromás, apoláros aminosav, -származékot kapcsolunk, ill. a C-terminálist egy vagy több hidroxilcsoportot tartalmazó molekularésszel egészítjük ki. Ezen szempontok figyelembevételével a 3. ábrán látható négy analógot állítottuk elő.

Előállított szomatosztatin analógok

1. H-(D)-Phe-Cys-Phe-(D)-Trp-Lys-Thr-Cys-O-CH<sub>2</sub>- $\begin{array}{c} \text{OH} \\ | \\ \text{CH} \end{array}$ -CH<sub>2</sub>-OH  
fenilalanin glicerin
2. H-(D)-Phe-Cys-Phe-(D)-Trp-Lys-Thr-Cys-NH-CH<sub>2</sub>-CH<sub>2</sub>-OH  
fenilalanin kolamin
3.  $\text{C}_6\text{H}_5$ -CH<sub>2</sub>-CH<sub>2</sub>-CO-Cys-Phe-(D)-Trp-Lys-Thr-Cys-O-CH<sub>2</sub>- $\begin{array}{c} \text{OH} \\ | \\ \text{CH} \end{array}$ -CH<sub>2</sub>-OH  
fenilpropionsav glicerin
4.  $\text{C}_6\text{H}_5$ -CH<sub>2</sub>-CH<sub>2</sub>-CO-Cys-Phe-(D)-Trp-Lys-Thr-Cys-NH-CH<sub>2</sub>-CH<sub>2</sub>-OH  
fenilpropionsav kolamin

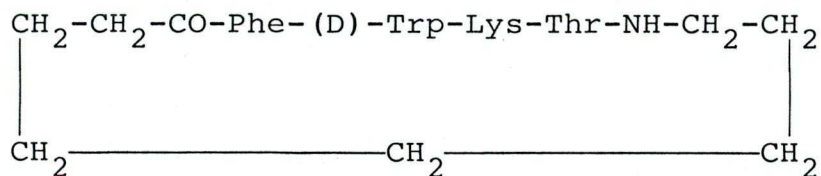
3. ábra

Első két vegyületünk N-terminálisa megegyezik a Bauer-analógéval. Ennek az a célja, hogy a C-terminális biológus-

giai aktivitást módosító hatását izoláltan vizsgálhassuk. E két anyag C-terminálisát a két szabad hidroxilcsoport-tartalmú glicerin, ill. az egy hidroxilcsoport-tartalmú kolamin alkotja. Mind a glicerin, mind a kolamin természetes vegyületek, melyek egyébként is jelentős szerepet játszanak biokémiai folyamatokban. Elképzelhető, hogy receptor-affinitásuk, intrinsic aktivitásuk a treoninol származék hasonló jellemzőit felülmúlják.

A két másik analóg N-terminálisát a fenilpropionsav molekula alkotja. Ez az aminosavszármazék gyakorlatilag egy deamidált fenilalanin, így a fenilalaninnál apolárosabb struktúrájú, feltételezésünk szerint ez növeli a receptorhoz történő kötődés erősségét. Kedvező a hatás szempontjából az is, hogy a fenilpropionsavat a fenilalanin mellett hasító peptidázok kevésbé ismerik fel, tehát a fenilpropionsav tartalmú analógok enzimrezisztenciája fokozottabb, így hatása erősebb, tartósabb lehet.

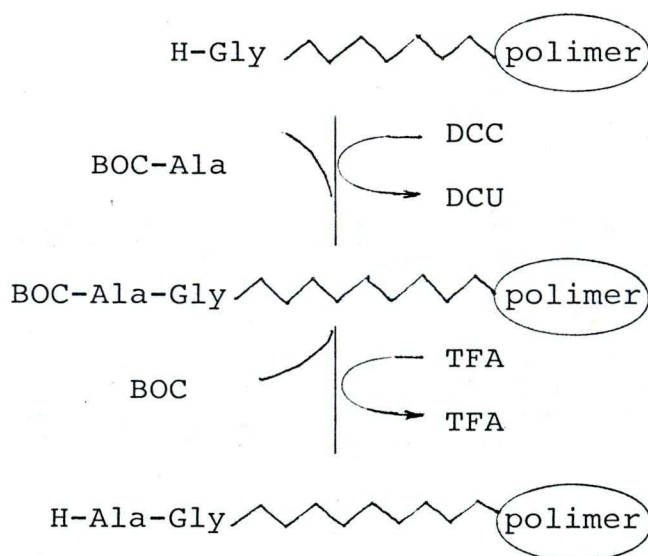
A diszulfidhíd-kötés biológiai szerepének vizsgálatára előállítottunk egy ún. karbaanalógot, amelyben az S-S kötést metilénhíd helyettesíti:





Feltételezésünk szerint a diszulfid-híd szerepe az aktív konformáció stabilizálása, így a karbaanalóg biológiai hatása azonosnak várható az eredeti származékkal.

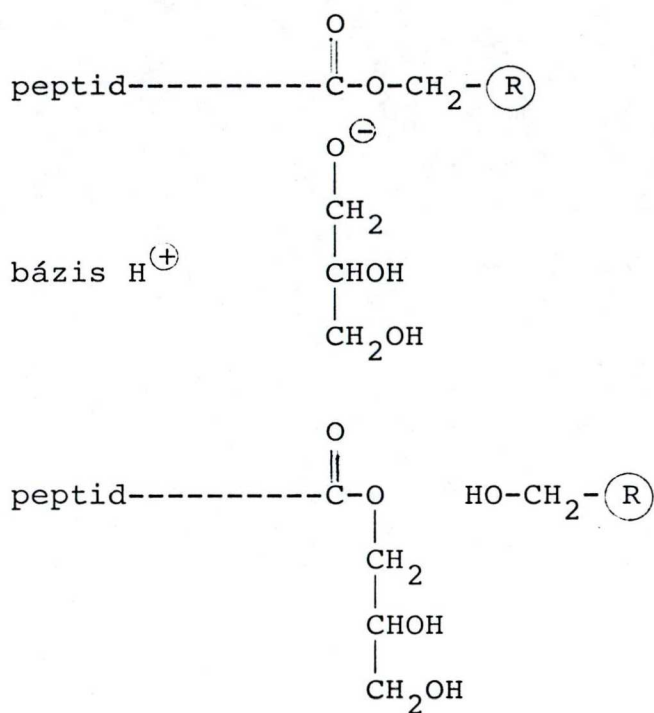
A szomatosztatin analógokat szilárd fázisú szintézissel állítottuk elő. Ezt a módszert MERRIFIELD /67, 68, 69/ alkalmazta elsőnek a peptidkémiaiban, azóta rendkívül elterjedt a mindennapi gyakorlatban. Fő előnyei az egyszerűség, a séma szerinti alkalmazhatóság és ebből következően az automatizálhatóság. Lényege az, hogy a peptidszintézis, a láncnövekedés egy polimer gyanta felületén folyik, az egymást követő lépcsőkben a reagensek mellől kiszűrhető, tehát elmaradhat az időrabló izolálási folyamat. Egy aminosav szilárd fázison történő elvi, vázlatos kapcsolását mutatja be sémásan a 4. ábra.



4. ábra

A kapcsolás kvantitatív lejátszódását, illetve a védőcsoport (BOC) eltávolítás teljességét a ninhidrin színreakción alapuló KAISER-teszt segítségével ellenőriztük. Pozitív volt a Kaiser-teszt a védőcsoport eltávolítás után, szabad aminocsoport jelenléte esetén, negatív a kvantitatíve lejátszódott kapcsolás esetén.

A védőcsoportokat tartalmazó kész peptideket bázis katalizálta átészteresítési reakcióval távolítottuk el a gyantáról /70/. Irodalmi közlések szerint az átészteresítési reakció sebessége függ a gyantához közvetlen kapcsolódó aminosavtól, az átlagos termelés 60-70 %-os. Az irodalomban ilyen átészteresítési reakciót csak metilészter előállítására alkalmaztak metanol és trietilamin felhasználásával. Peptid-glicerínészterek szintézisére tudomásunk szerint elsőként mi alkalmaztuk ezt a reakciótípust. Feltételezésünk szerint a reakciómechanizmus a következő /5. ábra/.



peptid-glicerinészter

5. ábra

A glicerín egyik - a bázikus közegben nukleofil - primer alkoholos hidroxil csoportja támadó reagensként lép fel, majd a benzil-észterkötést felbontva glicerinésztert alakít ki. A reakció egyensúlyba jut a termelés mintegy 30 %-os, ami a reakció megismétlésével 50 %-ra növelhető.

A szintetizált anyagok tisztaságát vékonyréteg-kromatográfiával és aminosavanalízissel ellenőriztük.

Az anyagok biológiai vizsgálata a közeljövőben történik.

## Szomatosztatin fragmensek előállítás

Munkánk másik részében néhány szomatosztatin fragmenset szintetizáltunk biológiai vizsgálatok céljára. Az irodalomból régóta ismertek azok a helyei a tetradapeptid hormonnak, melyek leginkább ki vannak téve a bontóenzimek tevékenységének. Feltételeztük, hogy a metabolizmus során legnagyobb mennyiségben keletkezők fiziológiai jelentőséggel is rendelkezhetnek. Erre a jelenségre a peptidhormonok, neurotranszmitter szerepű peptidek között több példát is meg lehet figyelni. Különösen nagy lehet ennek jelentősége a szomatosztatin esetében, hiszen az adatok szerint a szerteágazó hatások más-más receptor közvetítésével manifesztálódnak. Feltehető így, hogy a különböző affinitású receptorok más-más frekvencia-részletre specifikusak.

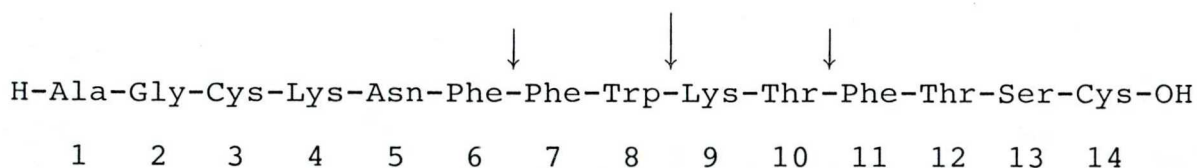
Szomatosztatin fragmensek biológiai szerepét illetően biztatást adtak az irodalom adatai is, melyek a hatásos, aktív szomatosztatin analógok szintéziséről számoltak be. Az analógok nagy része ugyanis szintén a hormon kisebb fragmensének módosított - általában ciklizált - és más módon is kiegészített része. A molekula aktív centruma is a hormon egyik rövid fragmense, a 7-10 tetrapeptid szekvencia.

MARKS és STERN agyhomogenizátum kivonatában tanulmányozta a szomatosztatin degradációját /59/. Tapasztá-

lataik szerint a peptidázok leginkább a Phe<sup>6</sup>-Phe<sup>7</sup>, a Trp<sup>8</sup>-Lys<sup>9</sup> és a Thr<sup>10</sup>-Phe<sup>11</sup> savamid kötések hidrolízisével kezdik meg a hormon lebontását. Ezek közül is arányát tekintve a 8-9 aminosavak közötti kötés felbontása a legjelentősebb. Ennek fényében egyébként jobban érthető az a tény is, hogy a 8-as aminosav, a triptofán, konfigurációjának megváltoztatása D-re eredményezi a legnagyobb pozitív irányú változtatást az eredeti hormon és minden analógja esetében, hisz ezen a kötőhelyen jelentősen megnöveli a molekulák enzimrezisztenciáját. A 6. ábra a szomatosztatin fő lebomlási helyeit szimbolizálja.

#### A szomatosztatin lebomlási helyei

MARKS és STERN nyomán /59/



6. ábra

Az irodalmi adatok figyelembevételével szintetizáltuk a szomatosztatin tetradekapeptid egyes dipeptid részeit. Előállítottuk az egymást követő minden dipeptidet

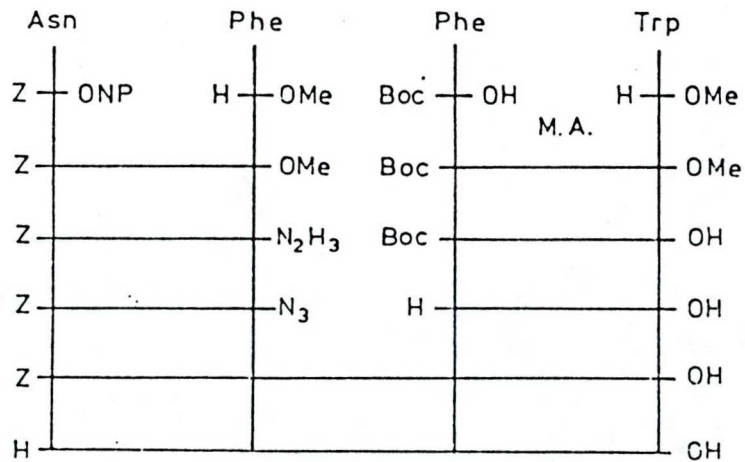
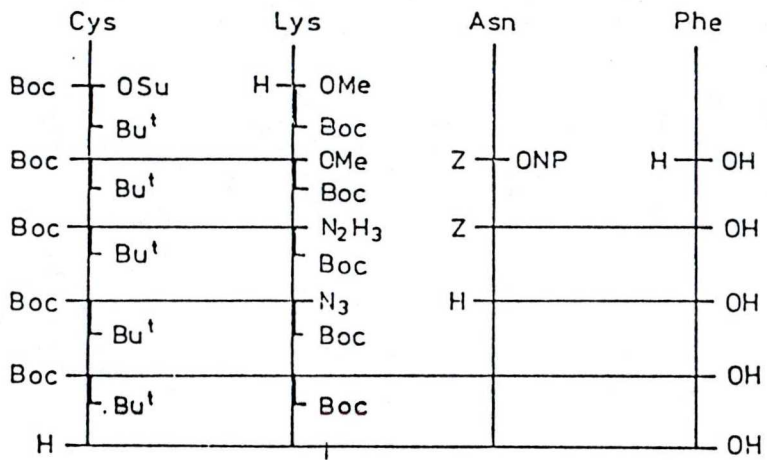


a H-Cys<sup>3</sup>-Lys<sup>4</sup>-OH molekulától a H-Ser<sup>13</sup>-Cys<sup>14</sup>-OH szekven-  
ciáig. Szintetizáltunk öt, egymást részben átfedő tetra-  
peptid részt is: a szomatosztatin 3-6, 5-8, 7-10, 9-12 és  
11-14 szekvenciákat, és egy hexapeptidet, a 7-12-t is.

Meglepő módon a legtöbb viszonylag egyszerű és rö-  
vid peptid ismeretlen az irodalomban. Ez azzal magyaráz-  
ható, hogy a szomatosztatin szekvencia meglehetősen egye-  
di, egyik másik peptidcsalád sem tartalmaz sok hasonló  
részt. A magyarázat másik része feltehetően az, hogy  
a szomatosztatin egyik korábbi szintézise során sem izo-  
lálták szabad formában az előállított és különböző mó-  
don védett di- és tetrapeptid származékokat.

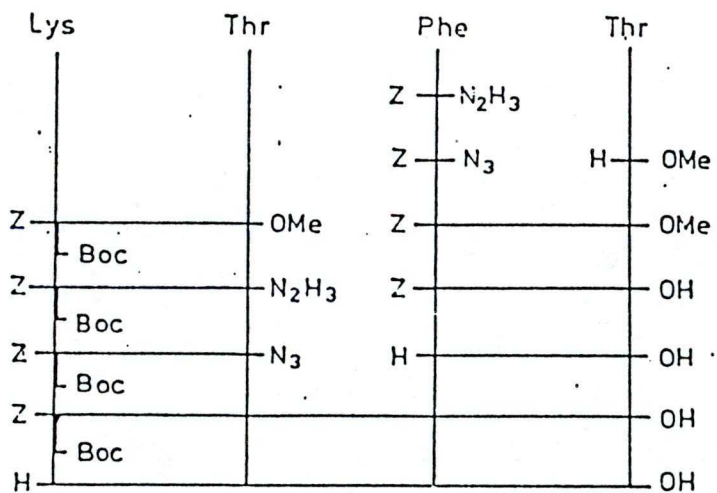
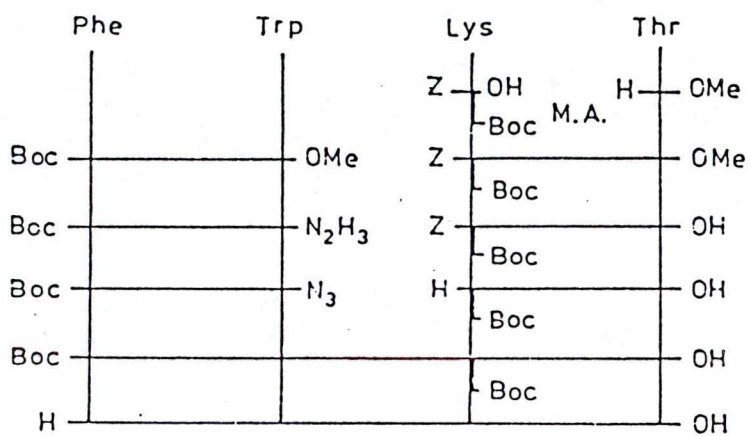
Munkánk során minden fragmenst klasszikus peptidké-  
miai módszerrel állítottunk elő. A szintézisek során nem  
merült fel speciális peptidkémiai probléma. A szintézisek  
vázlata a 7-9. ábrákon látható. Az ábrákról nem olvasható  
le minden szabad dipeptid előállításának módja. Ezeket a  
védett származékok rutin feldolgozásával kaptuk.

A H-Cys-Lys-Asn-Phe-OH és a H-Asn-Phe-Phe-Trp-OH előállítására



7. ábra

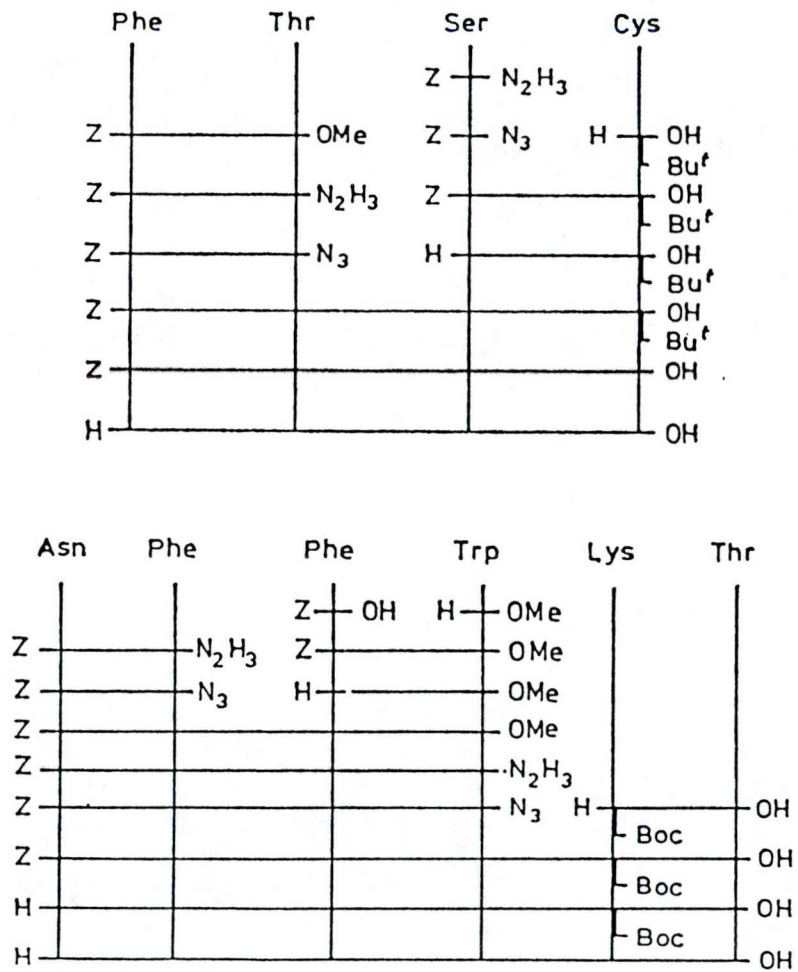
A H-Phe-Trp-Lys-Thr-OH és H-Lys-Thr-Phe-Thr-OH  
előállításása



8. ábra



A H-Phe-Thr-Ser-Cys-OH és H-Asn-Phe-Phe-Trp-Lys-Thr-OH  
előállítására



9. ábra

Szomatosztatin dipeptidek

(4. táblázat)

Peptid	Kapcsolási mód oldószer	Védőcsoport eltávolítás	Termelés %	Jellemzők Op., °C[α] <sub>D</sub> <sup>20</sup> (c=1)	R <sub>f</sub>
1. Boc-Cys(Bu <sup>1</sup> )-Lys(Boc)-OMe	AE-Pyr		67		
2. Boc-Cys(Bu <sup>1</sup> )-Lys(Boc)-N <sub>2</sub> H <sub>3</sub>	HH-MeOH		80	93-95	0.75 <sup>a</sup>
3. Boc-Cys(Bu <sup>1</sup> )-Lys(Boc)-OH	AE-Pyr, H <sub>2</sub> O		56		0.41 <sup>d</sup>
4. H-Cys-Lys-OH		TFA/Hg(Ac) <sub>2</sub>	84	180-182	0.63 <sup>a</sup>
5. Z-Asn-Phe-OH	AE-Pyr		87	202-203	0.77 <sup>b</sup>
				— 125 MeOH	0.35 <sup>e</sup>
				— 3.4 MeOH, DMF	
6. H-Asn-Phe-OH [71]	MeOH	H <sub>2</sub> /Pd	82	259-260	0.46 <sup>a</sup>
				1:1 + 25	0.62 <sup>b</sup>
7. Z-Asn-Phe-OMe [72, 73, 74]	AE-Pyr		79	195-198	0.39 <sup>d</sup>
				H <sub>2</sub> O + 15	
				Acetone	
8. Z-Asn-Phe-N <sub>2</sub> H <sub>3</sub>	III-MeOH		77	198-199	0.65 <sup>a</sup>
9. Boc-Phe-Trp-OMe	MA-AtOAc		78	156-157	0.89 <sup>d</sup>
				+ 29	0.75 <sup>e</sup>
10. Boc-Phe-Trp-OH	Dioxan, H <sub>2</sub> O	NaOH	85	102-104	
				EtOAc — 1.7	
11. H-Phe-Trp-OH [75, 76]		TFA	94	264-266	0.63 <sup>a</sup>
				MeOH — 28	0.71 <sup>a</sup>
				DMF	0.81 <sup>b</sup>
12. Boc-Phe-Trp-N <sub>2</sub> H <sub>3</sub>	III-MeOH		76	154-156	0.74 <sup>a</sup>
				DMF — 13.6	
13. Z-Phe-Trp-OMe	Ma-Chloroform		78	129-130	0.85 <sup>d</sup>
				+ 43	0.75 <sup>e</sup>
14. H-Phe-Trp-OMe	MeOH	H <sub>2</sub> /Pd	86	276-278	0.61 <sup>e</sup>
				EtOAc + 12	
				MeOH, DMF	
15. Z-Lys(Boc)-Thr-OMe	MA-EtOAc, DMF		68	95-96	0.69 <sup>d</sup>
				1:1 — 3.4	0.28 <sup>e</sup>
16. Z-Lys(Boc)-Thr-OH x DCIA [77]	Dioxan, H <sub>2</sub> O	NaOH	64	101-103	0.25 <sup>a</sup>
				EtOAc + 13.5	0.64 <sup>e</sup>
				DMF	0.5 <sup>a</sup>
17. H-Lys(Boc)-Thr-OH	MeOH	H <sub>2</sub> /Pd	80	128-129	
				+ 15.3 MeOH	
18. Z-Lys(Boc)-Thr-N <sub>2</sub> H <sub>3</sub>	III-MeOH		72	148-149	0.34 <sup>a</sup>
				— 4.2 DMF	
19. H-Lys-Thr-OH		HF	76	83-84	0.15 <sup>a</sup>
				+ 14.5 DMF	0.31 <sup>b</sup>
20. Z-Phe-Thr-OMe [78]	N <sub>3</sub> -DMF		66	119-121	0.76 <sup>d</sup>
				— 6 EtOAc	0.46 <sup>a</sup>
21. Z-Phe-Thr-OH x DCIA	Dioxan, H <sub>2</sub> O	NaOH	67	131-135	0.31 <sup>a</sup>
				— 7.7 MeOH, DMF	0.66 <sup>e</sup>
22. H-Phe-Thr-OH	MeOH	H <sub>2</sub> /Pd	82	127-128	0.50 <sup>a</sup>
				1:1 — 9.4	0.65 <sup>b</sup>
23. Z-Phe-Thr-N <sub>2</sub> H <sub>3</sub>	III-MeOH		84	202-203	0.41 <sup>a</sup>
				DMF — 10	
24. Boc-Ser-Cys(Bu <sup>1</sup> )-OH x DCIA	N <sub>3</sub> DMF		72	187-188	0.76 <sup>e</sup>
25. Z-Ser-Cys(Bu <sup>1</sup> )-OH x DCIA	N <sub>3</sub> DMF		68	192-194	0.24 <sup>a</sup>
				— 4.2 MeOH	0.59 <sup>a</sup>
26. H-Ser-Cys(Bu <sup>1</sup> )-OH		TFA	84	oil	0.53 <sup>a</sup>
27. H-Ser-Cys-OH		TFA/Hg(Ac) <sub>2</sub>	74	149-150	0.24 <sup>a</sup>
				— 17.8 DMF, H <sub>2</sub> O	

Rövidítések: DMF = N,N-dimetilformamid, EtOAc = etilacetát, MeOH = metanol, Pyr = piridin (oldószer); Hg(Ac)<sub>2</sub> = higany(II)acetát, HH = hidrazin-hidrát, TFA = trifluorecetsav (reagensek), AE = aktív észter, VA = végyes anhidrid, N<sub>3</sub> = azidos módszer (kapcsolási mód).

Szomatosztatin tetrapeptidek és hexapeptid  
(5. táblázat)

Peptid	Kapcsolási mód oldószer	Védőcsoport eltávolítás	Termelés %	Jellemzők Op., °C[α] <sub>D</sub> <sup>20</sup> (c=1)	R <sub>f</sub>
1. Boc-Cys(Bu <sup>t</sup> )-Lys(Boc)-Asn-Phe-OH	N <sub>3</sub> -DMF		45	181–183 DMF –10.2	0.73 <sup>a</sup>
2. H-Cys-Lys-Asn-Phe-OH		TFA/Hg(Ac) <sub>2</sub>	57	198–200 DMF + 4.2	0.40 <sup>a</sup> 0.60 <sup>b</sup>
3. Z-Asn-Phe-Phe-Trp-OH [76]	N <sub>3</sub> -DMF		58	201–203 DMF –17.4	0.45 <sup>f</sup>
4. H-Asn-Phe-Phe-Trp-OH [76]	MeOH, Acetone, H <sub>2</sub> O	H <sub>2</sub> /Pd	38	157–158 DMF –17	0.65 <sup>a</sup> 0.79 <sup>b</sup>
5. Z-Asn-Phe-Phe-Trp-OMe	N <sub>3</sub> -DMF		64	225–228 DMF –25.5	0.73 <sup>c</sup>
6. Z-Asn-Phe-Phe-Trp-N <sub>2</sub> H <sub>3</sub>	HH-MeOH		48	240–242 DMF –32.3	0.80 <sup>a</sup>
7. Boc-Phe-Trp-Lys(Boc)-Thr-OH	N <sub>3</sub> -DMF		66	114–116 EtOAc –34	0.38 <sup>f</sup>
8. H-Phe-Trp-Lys-Thr-OH		TFA	90	146–147 DMF 0	0.44 <sup>a</sup> 0.62 <sup>b</sup>
9. Z-Lys(Boc)-Thr-Phe-Thr-OH	N <sub>3</sub> -DMF		58	91–92	0.83 <sup>f</sup> 0.76 <sup>c</sup>
10. H-Lys-Thr-Phe-Thr-OH		HF	80	113–115 DMF –6.8	0.13 <sup>a</sup> 0.27 <sup>b</sup>
11. Z-Phe-Thr-Ser-Cys(Bu <sup>t</sup> )-OH	N <sub>3</sub> -DMF		64	113–115 MeOH –21.3	0.22 <sup>f</sup>
12. Z-Phe-Thr-Ser-Cys-OH		TFA/Hg(Ac) <sub>2</sub>	74	131–133 DMF –19.8	0.79 <sup>a</sup>
13. H-Phe-Thr-Ser-Cys-OH		HF	72	169–170 DMF, H <sub>2</sub> O –8.5	0.45 <sup>a</sup>
14. H-Asn-Phe-Phe-Trp-Lys-Thr-OH				182–185 DMF 1:1 –22	0.44 <sup>a</sup>

Rövidítések: DMF = N,N-dimetilformamid, EtOAc = etilacetát, MeOH = metanol, Pyr = piridin (oldószerek); Hg(Ac)<sub>2</sub> = higany(II)acetát, HH = hidrazin-hidrát, TFA = trifluorecetsav (reagensek), AE = aktív észter, VA = végyes anhidrid, N<sub>3</sub> = azidos módszer (kapcsolási mód).

A 4. és 5. táblázat az előállított közti termékek és fragmensek kémiai jellemzőit tartalmazza.

Néhány előállított fragmens biológiai vizsgálata folyamatban van. Vizsgálatainkat elsősorban az anyagok gasztrointesztinális hatásainak ellenőrzésével kezdtük. A kezdeti eredmények biztatóak. A hormon 7-10. és 11-14. fragmense kis dózisban - a teljes hormonnal egyező mennyiségben - jelentős gyomornyálkahártya-védő hatást fejt ki patkány etanol által kiváltott gyomornyálkahártya erózióra. Az elkészült dózis-hatás görbék mind a hormon, mind a vizsgált fragmensek esetében két csúcsúak. Ez a tény arra utal, hogy feltehetően a védő hatás kifejlődése is több, esetleg két receptor által mediált.

KÍSÉRLETI RÉSZ

A szomatosztatin analógok szintézise

BOC-Cys(Bu<sup>t</sup>)O-(P) (Merrifield) előállítás

5 g klórmetilezett (0,9 mekv/g) Merrifield gyantához (Merck) 4 mmól BOC-Cys Bu<sup>t</sup> OH-t és 8 mmól kálium-fluoridot (KF) adtunk, amit 25 ml vízmentes dimetil-formamidban (DMF) 1 órán át kevertettünk. A reakcióelegyet egy éjszakán át 70°C-on tartottuk.

Feldolgozást lsd. 1. séma.

A gyantát exsikkátorban szárítottuk.

Súly: 5,4 g (kb. 0,2 mmól/g).

Fenilpropionsav-Cys-Phe-D-Trp-Lys-Thr-Cys-O-(P) előállítás  
  |  |  |  
  Bu<sup>t</sup>  Z  Bzl  Bu<sup>t</sup>

Gyanta mennyisége: 5,4 g (0,2 mmól/g) BOC-Cys-O-(P)  
  Bu<sup>t</sup>

Aminosav	Mennyiség	Minőség	Aktiválás módja	ideje	Kaiser-teszt de	BOC kapcs. után
BOC-Thr (Bzl) OH	3 mmól	Reanal	DCC	1 nap	+	-
BOC-Lys (Z) OH	3 mmól	Saját	DCC	"	+	-
BOC-D-Trp-OH	"	Reanal	DCC	2 nap	+	-
BOC-Phe-OH	"	Saját	DCC	3 óra	+	-
BOC-Cys (Bu <sup>t</sup> ) OH	"	"	DCC	1 nap		-

A kapcsolás menetét lsd. 2. séma

Végsúly: 5,8 g.

Fenilpropionsav-Cys-Phe-D-Trp-Lys-Thr-Cys-O-glicerid  
előállításához  $\begin{array}{ccccccc} & | & & | & | & | & \\ & \text{Bu}^t & & \text{Z} & \text{Bzl} & \text{Bu}^t & \end{array}$

2,9 g gyantát (az előző végtermékét) 50 ml vízmentes glicerinben szuszpendáltunk, majd hozzáadtunk 10 ml abs. dioxánt és 15 ml trietilamint (TEA). 2 napon át szobahőn kevertettük. A gyantát kiszűrtük, az oldat 2 fázisát szétválasztottuk. A dioxán-TEA-s fázist bepároltuk. Sárgás színű, ammónia szagú olajat kaptunk. Ezt 0°C-on 35 ml 0,5N sósav oldatba felvettük, amiben fehér csapadék vált ki. A csapadékot kiszűrtük. Fehér kristály.

Súly: 310 mg      5 % BAW      rf.: 0,74

Az eljárást a gyantával mégegyszer megismételtük.

Súly: 220 mg      5 % BAW      rf.: 0,74

A két kristályt egyesítettük.

Súly: 530 mg      Term.: 64 %.

Fenilpropionsav-Cys-Phe-D-Trp-Lys-Thr-Cys-O-kolamid  
előállításához  $\begin{array}{ccccccc} & | & & | & | & | & \\ & \text{Bu}^t & & \text{Z} & \text{Bzl} & \text{Bu}^t & \end{array}$

2,9 g gyantát (az előző kiindulási anyaggal azonosat) 10 ml abs. metanolban és 40 ml kolaminban szuszpendáltunk. Két napot kevertettük szobahőn. A gyantát kiszűr-

tük, a metanolt bepároltuk, a kolaminos oldatot 0°C-on hűtöttük, majd kb. 30 ml 0,1N HCl-t adtunk a csapadék kiválásáig. A keletkezett csapadékot kiszűrtük, vízzel 3-szor mostuk. 1-szer éterrel kifóztuk.

Súly: 350 mg      5 % BAW      rf.: 0,71

BOC-Cys(Bzl)-O-(P) előállítása

5 g klórmetilézett (0,9 mekv/g) gyantához (Merck)  
4 mmól BOC-Cys(Bzl)OH-t és 8 mmól KF-t adtunk, amit  
25 ml vízmentes DMF-ben 1 órán át kevertettünk. A reakcióelegyet egy éjszakán át 70°C-on tartottuk.

Feldolgozást lsd. 1. séma.

A gyantát exszikkátorban szárítottuk.

Súly: 5,66 g (kb. 0,3 mmól/g)

BOC-(D)-Phe-Cys-Phe-(D)-Trp-Lys-Thr-Cys-O-(P) előállítása  
                  |                                  |      |      |  
                  Bzl                                  Z      Bzl  Bzl

Gyanta mennyisége: 5,66 g (0,3 mmól/g) BOC-Cys(Bzl)-O-(P)

Aminosav	Meny- nyiség	Minőség	Aktiválás módja	ideje	Kaiser-teszt de BOC kapcs. után	
BOC-Thr (Bzl) OH	5 mmól	Reanal	DCC	1 nap	+	-
BOC-Lys (Z) OH	5 mmól	saját	DCC	2 nap		±!*
BOC-Lys (Z) OH	5 mmól	"	DCC	1 nap	+	-
BOC- (D) Trp-OH	5 mmól	Reanal	DCC	1 nap	+	-
BOC-Phe-OH	5 mmól	saját	DCC	1 nap	+	-
BOC-Cys (Bzl) OH	5 mmól	Reanal	DCC	1 nap	+	-
BOC- (D) -Phe-OH	5 mmól	Reanal	DCC	1 nap		-

\*Sikertelen reakció miatt a lépést meg kellett ismételni.

A kapcsolás menetét lsd. 2. séma.

Végsúly: 70,4 g

BOC- (D) -Phe-Cys-Phe- (D) -Trp-Lys-Thr-Cys-O-glicerid  
 előállítása Bzl Z Bzl Bzl

3,7 g gyantát (az előző reakciósorozat végtermékét) 50 ml vízmentes glicerinben szuszpendáltunk, majd hozzáadtunk 10 ml abs. dioxánt és 1,5 ml TEA-t. 2 napon át kevertettük a reakcióelegyet szobahőn. A gyantát kiszűrtük, az oldat két fázisát szétválasztottuk. A dioxános fázist bepároltuk. Sárgás színű, ammónia szagú olajat kaptunk. Ezt 0°C-on 40 ml 0,5N sósav oldatba felvettük, amiben fehér csapadék vált ki. A csapadékot kiszűrtük. Fehér kristály.

Súly: 590 mg      5 % BAW      rf.: 0,66



Az eljárást a gyantával mégegyszer megismételtük.

Súly: 385 mg      5 % BAW      rf.: 0,65

A két kristályt egyesítettük.

Súly: 975 mg      Term. 73 %.

BOC-(D)-Phe-Cys-Phe-(D) Trp-Lys-Thr-Cys-kolamid előállítására  
                          |                          |      |      |  
                          Bzl                          Z      Bzl  Bzl

3,7 g gyantát (az előző kiindulási anyaggal azonosat) 10 ml abs. metanolban és 40 ml kolaminban szuszpendáltunk. A reakcióelegyet szobahőn kevertettük két napig. A gyantát kiszűrtük, a metanolt bepároltuk, a kolaminos oldatot 0°C-on hűtöttük, majd kb. 30 ml 0,1 N HCl-t adtunk a csapadék kiválásáig. A keletkezett csapadékot kiszűrtük, vízzel 3-szor mostuk. Egyszer éterrel kifőztük.

Súly: 650 mg      5 % BAW      rf.: 0,64

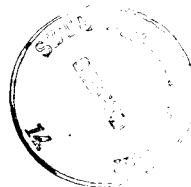
BOC- $\omega$ -ACAP-O-(P) előállítására

5 g klórmethylizett (0,9 mekv/g) Merrifield gyantához (Merck) 4 mmól BOC- $\omega$ -aminokaprilsavat (BOC- $\omega$ -ACAP) és 8 mmól KF-t adtunk, amit 25 ml vízmentes DMF-ben 1 órán át kevertettük. A reakcióelegyet egy éjszakán át 70°C-on tartottuk.

Feldolgozást lsd. 1. séma

A gyantát exszikkátorban számítottuk.

Súly: 5,52 g



BOC-Phe-(D)-Trp-Lys-Thr- $\omega$ -ACAP-O-(P) előállítása  
                          |      |  
                          Z      Bzl

Gyanta mennyisége: 1,8 g (0,7 mmól) BOC- $\omega$ -ACAP-O-(P)

Aminosav	Mennyiség	Minőség	Aktiválás módja	ideje	Kaiser-teszt de BOC	kapcs. után
BOC-Thr(Bzl)OH	3 mmól	Reanal	DCC	1 nap	+	-
BOC-Lys(Z)OH	3 mmól	saját	DCC	1 nap	+	-
BOC-(D)-Trp-OH	3 mmól	"	DCC	1 nap	+	-
BOC-Phe-OH	3 mmól	"	DCC	1 nap	+	-

A kapcsolás menetét lsd. 2. séma

Végsúly: 2,3 g

BOC-Phe-(D)-Trp-Lys-Thr-ACAP-O-Me előállítása  
                          |      |  
                          Z      Bzl

2,3 g gyantát (az előző végtermékét) 50 ml abs. metanolban szuszpendáltuk, majd 15 ml TEA-t is hozzáadtunk. Két napig kevertettük. A gyantát kiszűrtük, az oldatot bepároltuk. Étert ráöntve kristályosítottuk.

A reakciót megismételtük.

Súly: 470 mg      5 % BAW      rf.: 0,89

H-(D)-Phe-Cys-Phe-(D)-Trp-Lys-Thr-Cys-O-glicerid előállítása  
                  |                                  |      |      |  
                  Bzl                                  Z      Bzl  Bzl

590 mg BOC-(D)-Phe-Cys-Phe-(D)-Trp-Lys-Thr-Cys-O-gliceridet  
                                  |                                  |      |      |  
                                  Bzl                                  Z      Bzl  Bzl

0°C-on 5 ml trifluorecetsavban (TFA) oldottuk, majd szobahőn fél órát állni hagytuk. Ezután kb. 20 ml abs. étert adtunk hozzá, aminek hatására az oldatból fehér csapadék vált ki. A csapadékot kiszűrtük, éterrel háromszor megmostuk, szárítottuk. Fehér kristály.

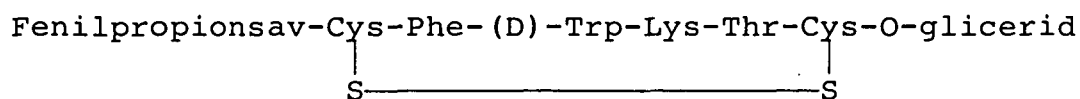
Súly: 410 mg      Term: 84 %

H-(D)-Phe-Cys-Phe-(D)-Trp-Lys-Thr-Cys-kolamid előállítása  
                  |                                  |      |      |  
                  Bzl                                  Z      Bzl  Bzl

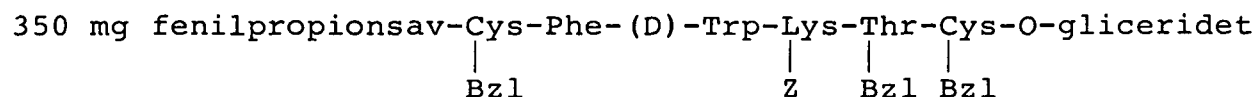
650 mg BOC-(D)-Phe-Cys-Phe-(D)-Trp-Lys-Thr-Cys-kolamidot  
                                  |                                  |      |      |  
                                  Bzl                                  Z      Bzl  Bzl

0°C-on 6 ml TFA-ban oldottunk, majd szobahőn fél órát állni hagytuk. Ezután kb. 25 ml abs. étert adtunk hozzá, aminek hatására az oldatból fehér csapadék vált ki. A csapadékot kiszűrtük, éterrel háromszor mostuk, szárítottuk. Fehér kristály.

Súly: 450 mg      Term: 78 %



előállítás



-20°C-on szárazjég-hűtés mellett 150 ml cseppfolyós, át-desztillált ammóniában oldottunk. Az anyag oldódása után fém Na darabkákat adtunk hozzá addig, amíg az oldat színe maradandóan kék lett. Ezután 2-3 ml abs. ecetsavat pipettáztunk az oldatba, mire az elszíntelenedett. A lombik tartalmát vízsugárszivattyúval - melegítés nélkül - szárazra pároltuk. A száraz anyagot 500 ml 0,1 mólos ecetsav oldatban feloldottuk, majd folyamatos kevertetés közben 4,7 ml 0,01 mólos  $K_3(Fe(CN)_6)$  oldatot adtunk hozzá, míg maradandó sárga szín meg nem jelent. Fél óra után Amberlyt típusú anioncserélő gyantát adtunk oldatunkhoz. Keverés közben néhány perc alatt az oldat elszíntelenedett. A gyantát kiszűrtük, az oldatot liofilizáltuk.

Súly: 1,46 g.

Az anyag sómentesítésére és tisztítására Sephadex G 15 töltetű oszlopot használtunk. Az oszlopkromatográfia során az eluáló oldat 20 %-os ecetsav volt. Vékonyréteg kromatográfiás ellenőrzéssel két hasonló tisztaságú frakciót különítettünk el.

- I. frakció súly: 80 mg
- II. frakció súly: 10 mg
- n butanol-jégecet-víz 4:1:1 rf: 0,55
- n mutanol-jégecet-víz 8:5:4 rf: 0,61

Fenilpropionsav-Cys-Phe-(D)-Trp-Lys-Thr-Cys-kolamid előállítására

250 mg fenilpropionsav-Cys-Phe-(D)-Trp-Lys-Thr-Cys-kolamidból

indultunk ki, és az előző kísérletben leírtak szerint jár-  
tunk el. Az eredmények:

- I. frakció súly: 270 mg
- II. frakció súly: 470 mg
- n-butanol-jégecet-víz 4:1:1 rf: 0,65
- n-butanol-jégecet-víz 8:5:4 rf: 0,78

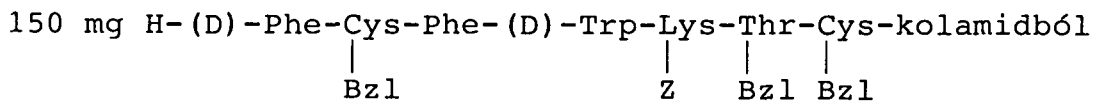
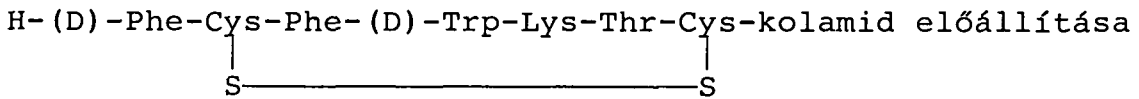
H-(D)-Phe-Cys-Phe-(D)-Trp-Lys-Thr-Cys-O-glicerid előállítására

150 mg H-(D)-Phe-Cys-Phe-(D)-Trp-Lys-Thr-Cys-O-gliceridet

-20°C-on szárazjég-hűtés mellett 100 ml cseppfolyós, át-  
desztillált ammóniában oldottunk. Az anyag oldódása után

kék szín megjelenéséig fém Na darabkákat adtunk hozzá, a feleslegben levő Na-t abs. ecetsav 3 ml-ének hozzáadásával elreagáltattuk, mire az oldat ismét színtelen lett. Az ammóniát melegítés nélkül vízsugárszivattyúval távolítottuk el. A lombik szilárd tartalmát 500 ml 0,1 mólos ecetsav oldatban oldottuk, majd sárga szín megjelenéséig  $K_3(Fe(CN)_6)$ -dal titráltuk folyamatos keverés közben. A fogyasztott mennyiség 6,7 ml volt. Az oldathoz Amberlyt típusú anioncserélő gyantát adtunk, amitől néhány perc alatt elszíntelenedett. A gyantát kiszűrtük, az oldatot liofilizáltuk.

Súly: 1,7 g.



indultunk ki, és az előző kísérletben leírtak szerint jártunk el.

Súly: 1,25 g.

1. séma

szűrőn történő mosás:

100 ml DMB  
100 ml DMF-víz  
500 ml víz  
100 ml metanol-víz  
100 ml metanol  
100 ml diklórmetán  
100 ml metanol

2. séma

A védőcsoport eltávolítása

40 ml TFA-diklórmetán 10 perc  
40 ml TFA-diklórmetán 15 perc

a gyanta mosása

40 ml diklórmetán 2-szer 3 perc  
40 ml 10 % TEA-diklórmetán 1 perc  
40 ml metanol 3 perc  
40 ml 10 % TEA-diklórmetán 3 perc  
40 ml metanol 3 perc  
40 ml diklórmetán 3-szor 3 perc  
40 ml metanol 3 perc  
40 ml diklórmetán 3 perc  
40 ml metanol 3 perc  
40 ml diklórmetán 3 perc

40 ml metanol	3 perc
40 ml diklórmetán	3 perc

Kaiser-teszt a szabad aminos csoport bizonyítására.  
Kapcsolás a BOC védett aminosavval 1 nap átlagban  
a gyanta mosása

40 ml diklórmetán	2-szer	3 perc
40 ml metanol	2-szer	3 perc
40 ml diklórmetán	2-szer	3 perc

Kaiser-teszt a védett aminos csoport bizonyítására.

A szomatosztatin fragmensek szintézise

A védett és szabad di-, tetra- és hexapeptideket hagyományos peptidkémiai módszerekkel szintetizáltuk. Az N- $\alpha$ -amino csoport védelmére benziloxikarbonil (Z) és terc-butiloxikarbonil (BOC) csoportokat, a Lys  $\epsilon$ -amino esetében BOC-t alkalmaztunk. A C-terminális karboxilokat metil-észter, a Cys szulfhidril csoportokat terc-butil ( $Bu^t$ ) formában védtük. A peptidek összekapcsolására aktív észteres /BOC-Cys( $Bu^t$ )-O-szukcinimid és Z-Asn-O-p-nitrofenil/, azidos /BOC-Cys( $Bu^t$ )-Lys(BOC)-N<sub>3</sub>, Z-Asn-Phe-N<sub>3</sub>, BOC-Phe-Trp-N<sub>3</sub>, Z-Lys(BOC)-Thr-N<sub>3</sub>, Z-Phe-N<sub>3</sub>, Z-Phe-Thr-N<sub>3</sub>, Z-Ser-N<sub>3</sub> és Z-Asn-Phe-Phe-Trp-N<sub>3</sub>/ és vegyes anhidrides módszert választottunk. Vegyes an-



hidrideket klórhangyasav-izobutilészter segítségével több aminosavszármazékból állítottunk elő /BOC-Phe-OH, Z-Lys(BOC)-OH és Z-Phe-OH/.

A metil csoportokat, a C-terminális karboxil csoportok védőcsoportjait a peptidekről /Z-Lys(BOC)-Thr-OMe, Z-Phe-Thr-OMe, BOC-Phe-Trp-OMe/ NaOH-s lúgos hidrolízissel távolítottuk el dioxán és víz 1:1 arányú elegyében. A peptidekről /Z-Asn-Phe-OH, Z-Phe-Trp-OMe, Z-Lys(BOC)-Thr-OH, Z-Phe-Thr-OH, Z-Asn-Phe-Phe-Trp-OH és Z-Asn-Phe-Phe-Trp-Lys(BOC)-Thr-OH/ a Z védőcsoportot palládium segítségével távolítottuk el katalitikus hidrogénezés során.

A Z-Lys(BOC)-Thr-Phe-Thr-OH és Z-Phe-Thr-Ser-Cys-OH tetrapeptid származékokat 30 percen át  $0^{\circ}\text{C}$ -os hidrogén-fluorid oldatban inkubáltuk, és így állítottuk elő a szabad peptideket /H-Lys-Thr-Phe-Thr-OH, H-Phe-Thr-Ser-Cys-OH/.

A BOC védőcsoport eltávolítására trifluorecetsavat alkalmaztunk 30 percen át,  $20^{\circ}\text{C}$ -on /BOC-Phe-Trp-OH, BOC-Phe-Trp-Lys(BOC)-Thr-OH és H-Asn-Phe-Phe-Trp-Lys(BOC)-Thr-OH/. H-Lys(BOC)-Thr-OH esetében  $0^{\circ}\text{C}$ -on 30 perc alatt hidrogén-fluorid segítségével távolítottuk el a BOC védőcsoportot. A  $\text{Bu}^t$  védelem megszüntetésére /H-Ser-Cys( $\text{Bu}^t$ )-OH, Z-Phe-Thr-Ser-Cys( $\text{Bu}^t$ )-OH/ trifluorecetsavban oldott ekvivalens mennyiségű higany(II)-acetátot tartalmazó oldatot alkalmaztunk. Ugyanezen reagenssel távolítottuk el egyes peptidekről /BOC-Cys( $\text{Bu}^t$ )-Lys(BOC)-OH és BOC-Cys( $\text{Bu}^t$ )-Lys(BOC)-Asn-Phe-OH/ mind a BOC, mind pedig a  $\text{Bu}^t$  védőcsoportokat.

## ÖSSZEFOGLALÁS

- I. Szilárdfázisú szintézissel előállítottunk 5 szomatostatin analógot.
- II. Klasszikus peptidkémiai módszerekkel szintetizáltuk a tetradekapeptid szomatostatin 6 dipeptid, 5 tetrapeptid és egy hexapeptid fragmensét.
- III. Folyamatban lévő állatkísérletes eredményeink az alábbiakban foglalhatók össze:
  1. A tetradekapeptid szomatostatin kis fragmensei is rendelkeznek a teljes hormonra jellemző hatások némelyikével.
  2. Az effektivitáshoz nem feltétlen szükséges a ciklikus struktúra, noha az az ismert esetekben a hatékonyságot jelentősen megnöveli.
  3. A 7-10. és a 11-14. aminosavakat tartalmazó szomatostatin frekvencia alkohol indukálta patkány gyomornyálkahártya erózió kivédésében a szomatostatinnál hatásosabb.

A TÉMAKÖRBEN ELHANGZOTT ELŐADÁSOK, KÖZLEMÉNY

1. Pávó Imre, Karsai Kornélia, Szendrényi Vilmos  
Szomatosztatin fragmensek szintézise biológiai  
vizsgálatok céljára  
SZOTE TDK Konferencia 1982. február 3-5. Szeged
- 2/a. Imre Pávó, Kornélia Karsai, Vilmos Szendrényi  
Synthese von Somatostatin Fragmenten und Analogen  
Zusammenhang zwischen der chemischen Struktur und  
biologischen Aktivität  
SZOTE TDK Konferencia 1983. február 2-4. Szeged
- 2/b. Imre Pávó, Kornélia Karsai, Vilmos Szendrényi  
Synthese von Somatostatin Fragmenten und Analogen  
Zusammenhang zwischen der chemischen Struktur und  
biologischen Aktivität  
XVI. OTDK Orvostudományi Szekciója 1983. március 29-31.  
Szeged
3. Takács T., Pap Á., Penke B., Pávó I., Varró V.  
Somatostatin hatás vizsgálata éber patkány exocrin  
pancreas működésére  
Magyar Gastroenterológiai Társaság Nagygyűlése  
1984. május 16-19. Balatonaliga
4. Pávó I., Penke B., Varga R. J., Kovács K.  
Somatostatin, somatostatin fragmensek és analógok  
szintézise  
Magyar Kémikusok Egyesülete Vegyészkonferencia  
1985. július 4. Pécs

5. László F., Szabó S., Penke B., Zarándi M., Pávó I., Balásperi L.  
Tetragasztrin, szomatosztatin, AVP és oxytocin analógok és fragmensek hatása az abszolút ethanol indukálta gyomor mucosa laesiora a patkányban  
Egészségügyi Ifjúsági Napok. Újabb eredmények a neuroendokrinológiában. 1985. szeptember 7-8. Szeged
6. Pávó I., László F., Penke B.  
Szomatosztatin fragmensek és analógok szintézise  
Egészségügyi Ifjúsági Napok. Újabb eredmények a neuroendokrinológiában. 1985. szeptember 7-8. Szeged
7. Pávó Imre, László Ferenc, Penke Botond  
Citoprotektív hatású szomatosztatin fragmensek és fragmens analógok  
Peptidkémiai Munkabizottság ülése 1985. december 15-16.  
Budapest
8. László F., Pávó I., Penke B., Bálint G. A., Varró V.  
A somatostatin és fragmensei hatása abszolút alkohol kiváltotta patkány acut fekélymodellben  
Magyar Gastroenterológiai Társaság Nagygyűlése  
1987. május 14-17. Balatonaliga
9. László F., Pávó I., Penke B., Bálint G. A.  
A szomatosztatin, gasztrin és a cimetidin hatása abszolút alkohol kiváltotta gyomor erózióra patkányban

Magyar Élettani Társaság LII. Vándorgyűlése  
1987. július 5-8. Pécs

Közlemény

Imre Pávó, Botond Penke, János R. Varga, László Vécsei,  
Kálmán Kovács

A new synthesis of somatostatin and some potential  
metabolites

Acta Chimica Hungarica 122, 261-272 (1986)

IRODALOMJEGYZÉK

- /1/ Krulich L., Dhariwal A. P. S., McCann S. M.:  
Endocrinology 1968, 83, 783-790.
- /2/ Schally A. V.: Hypothalamic Hypophysiotropic Hormonos  
(ed.: E. Rosenberg, Amsterdam, 1973)
- /3/ Brazeau P., Vale W. L., Burgus R., Ling N., Butcher  
M., Rivier J., Guillemin R.: Science 1973, 179, 77-79.
- /4/ Rivier J.: J. Am. Chem. Soc. 1974, 96, 2986-2992.
- /5/ Sarantakis D., McKinley W. A.: Biochem. Biophys. Res.  
Commun. 1973, 54, 234-238.
- /6/ Arimura A.: Endocrinology 1974, 94, A-153.
- /7/ Hökfelt T., Johansson O., Efendic S., Luft R.,  
Arimura A.: Experientia 1975, 31, 852-854.
- /8/ Pelletier G.: Am. J. Anat. 1974, 140, 445-450.
- /9/ Brownstein M.: Endocrinology 1975, 96, 1456-1461.
- /10/ Reichlin S. N.: Engl. J. Med. 1983, 309, 1495-1501,  
1556-1563.
- /11/ Tyrrel J. B.: Endocrinology 1975, 96, A-350.
- /12/ Kayasseh L., Gyr N., Keller V., Stalder G. A., Wall  
M.: Lancet 1980, 1, 844-846.
- /13/ Ferri G-L., Adrian T. E., Ghatei M. A., O'Shaughnessy  
D. J., Propert L., Lee Y. C., Buchan A. M. J., Polak  
J. M., Bloom S. R.: Gastroenterology 1983, 84, 777-786.
- /14/ Larsson L. I., Goltermann N. R., de Magistis L.,  
Rehfeld J. F., Scheartz T. W.: Science, 1979, 205,  
1393-1394.



- /15/ Larsson L. I.: Histochemistry 1984, 80, 323-326.
- /16/ Stein A., Buchan A. M. J., Morris J., Polak J. M.:  
J. Histochem. Cytochem. 1983, 31, 1117-1125.
- /17/ Costa M., Furness J. B., Llewellyn-Smith I. L.,  
Davis B., Oliver J.: Neuroscience 1980, 5, 841-852.
- /18/ Costa M., Furness J. B.: Neuroscience 1984, 13,  
911-919.
- /19/ Schultzberg M., Hökfelt T., Nilsson G., Terenius L.,  
Rehfeld J. F., Brown M., Elde R., Goldstein M., Said  
S. I.: Neuroscience 1980, 5, 687-744.
- /20/ Creutzfeldt W., Scand J.: Gastroenterol. 1982, 17, 7-20.
- /21/ Saffouri B., Duval J. W., Makhlof G. M.: Gastro-  
enterology 1984, 87, 557-561.
- /22/ Schubert M. L., Pritchett D. B., Arimura A.,  
Makhlof G. M.: Gastroenterology 1985, 88, 1576-1570.
- /23/ Colturi T. J., Unger R. H., Feldmann M.: J. Clin.  
Invest. 1984, 74, 417-423.
- /24/ Schiller K. F., Truelove S. C., Williams D. G.:  
Br. Med. J. 1970, 2, 7-14.
- /25/ Leading Article. Br. Med. J. 1981, 283, 456-457.
- /26/ Bloom S. R., Mortimer C. H., Thorner M. O., Besser  
G. M., Hall R., Gomez-Pan A., Roy V. M., Russel R.  
C., Coy D. H., Wastin A. J., Schally A. V.: Lancet  
1974, 2, 1106-1109.

- /27/ Kontarek S. L.: Gastroenterology 1976, 70,  
737-741.
- /28/ Wahren J., Felig P.: Lancet 1976, 2, 1213-1216.
- /29/ Jenkins S. A., Baxter J. N., Corbett W., Devitt P.,  
Ware J., Shields R.: Br. Med. J. 1985, 290, 275-278.
- /30/ Magnusson I., Ihre T., Johansson C., Seligson U.,  
Toerngren S., Ivnas-Moberg K.: Gut 1985, 26, 221-226.
- /31/ Baskin D. G., Ensinnck J. W.: Peptides 1974, 5, 615-621.
- /32/ Evensen D., Henssen K. F., Berstad A.: Scand.J.  
Gastroenterol.1978, 13, 449-451.
- /33/ Berelowitz M., Coleman D. L., Frohman L. A.:  
Diabetes 1980, 29, 717-723.
- /34/ Taborsky G. J.: Jr. Am. J. Physiol.1983, 245,  
E598-E605.
- /35/ Schusdziarra V., Zyznar E., Rouiller D., Boden G.,  
Brown J. C., Arimura A., Unger R. H.: Science 1980,  
207, 530-532.
- /36/ Penman E., Wass J. A. H., Wedbak S., Morgan L.,  
Lewis J. M., Besser G. M., Rees L. H.: Gastroenterology  
1981, 81, 692-699.
- /37/ Rouiller D., Schusdziarra V., Harris V., Unger R. H.:  
Endocrinology 1980, 107, 524-529.
- /38/ Schusdziarra V., Rouiller D., Harris V., Unger R. H.:  
Regul. Pept. 1981. 2, 353-363.



- /39/ Schusdziarra V., Stapelfeldt W., Klier K., Maier V., Pfeiffer E. F.: Res. Exp. Med. 1982, 253-257.
- /40/ Schusdziarra V., Rouiller D., Harris V., Wasada T., Unger L. H.: Life Sci. 1981, 28, 2099-2102.
- /41/ Schusdziarra V., Rewes B., Lenz N., Maier V., Pfeiffer E. F.: Regul. Pept. 1983, 243-252.
- /42/ Gerber P. G., Tribble E. R., Wollheim G. C., Renold A. E.: Endocrinology 1981, 109, 279-284.
- /43/ Holladay L. A., Puett D.: Procl. Nat. Acad. Sci. USA 1979, 73, 1199-1202.
- /44/ Veber D. F., Freidinger R. M., Perlow D. S., Paleveda W. jr., Holly F. W., Strachan R. G., Nutt R. F., Arison B. H., Homnick C., Randall W. C., Glitzer M. S., Saperstein R., Hirschmann R.: Nature 1981, 292, 55-58.
- /45/ Bauer W., Briner U., Doepfner W., Haller R., Huguemin R., Marbach P., Petcher T. J., Pless J.: Life Sci. 1982, 31, 1133-1140.
- /46/ Schonbrunn A., Tashjian A. H. jr.: J. Biol. Chem. 1978, 253, 6473-6483.
- /47/ Richardson U. I., Schonbrunn A.: Endocrinology 1981, 108, 281-290.
- /48/ Reubi J. C., Landolt A. M.: J. Clin. Endocrinol. Metab. 1984, 59, 1148-1151.

- /49/ Reyl F., Silve C., Lewin M. J. M. In: Rosselin G., Fromageot P., Bonfils S. eds. Hormone-receptors in digestion and nutrition. Elsevier/North Holland, Amsterdam, 1979, 391-400.
- /50/ Reyl F., Lewin M. J. M.: Proc. Natl. Acad. Sci. USA 1982, 79, 978-982.
- /51/ Koch B. D., Schonbrunn A.: Endocrinology 1984, 114, 1784-1790.
- /52/ Meissner C.: Diabetes 1975, 24, 988-996.
- /53/ Hall R.: Lancet 1973, 2, 581-584.
- /54/ Usadel K. H.: Engl. J. Med. 1980, 303, 999-1002.
- /55/ Rivier J., Brazeau P., Vale W., Guillemin R.: J. Med. Chem. 1975, 18, 123-126.
- /56/ Immer H.: Hypothalamus and Endocrine Functions (Plenum Press, New York, 1976).
- /57/ Sarantakis D., McKinley W. A.: Biochem. Biophys. Res. Commun. 1973, 55, 538-542.
- /58/ Vale W., Rivier J., Ling N., Brown M.: Metabolism 1978, 27, 1391-1401.
- /59/ Marks N., Stern F.: FEBBS Lett. 1975, 55, 220-224.
- /60/ Garsky V.: Biochem. Biophys. Res. Commun. 1976, 73, 911-916.
- /61/ Pless J., Bauer W., Briner U., Doepfner W., Marbach P., Maurer R., Petcher T. J., Reubi J-C., Vonderscher J.: Scand. J. Gastroenterol. 1986, 21 (suppl. 119) 54-64.

- /62/ Tran V. T., Uhl G. R., Perry D. C., Manning D. C.,  
Vale W. W., Perrin M. H., Rivier J. E., Martin J.  
B., Snyder S. H.: Eur. J. Pharmacol. 1984, 101, 307-309.
- /63/ Kutz K., Nüesch E., Rosenthaler J.: Scand. J. Gastro-  
enterol. 1986, 21 (suppl. 119) 65-72.
- /64/ Whitehouse U., Begliner C. H., Fried M., Gyr K.:  
Hepatogastroenterology 1984, 31, 227-229.
- /65/ Wahren J., Eriksson L. S.: Scand. J. Gastroenterol.  
1986, 21 (suppl. 119) 103-108.
- /66/ Cai R. Z., Szöke B., Lu R., Fu D., Redding T. W.,  
Schally A. V.: Proc. Natl. Acad. Sci. USA 1986  
83/6, 1896-1900.
- /67/ Medzihradszky Kálmán: A természetes peptidek szinté-  
zisének legújabb eredményei (A kémia újabb eredményei  
3, Akadémiai Kiadó, Budapest, 1970)
- /68/ Bajusz Sándor. Peptidszintézis (A kémia újabb  
eredményei 47, Akadémiai Kiadó, Budapest 1980)
- /69/ Birr C.: Aspect of the Merrifield Synthesis  
(Springer Verlag, 1978)
- /70/ Beyermann H. C.: Chem. Commun. 1968, 1668-1672.
- /71/ Mazur R. H., Schlatter J. M., Goldkamp A. H.: J.  
Am. Chem. Soc. 1969, 91, 2684-2687.
- /72/ Hass W. L., Krumkalns E. V., Gerzon K.: J. Am.  
Chem. Soc. 1966, 88, 1988-1992.

- /73/ Gawne G., Kenner G. W., Sheppard R. C.: J. Am. Chem. Soc. 1969, 91, 5669-5674.
- /74/ Schioiri T., Ninoiya K., Yamada S. I.: J. Am. Chem. Soc. 1972, 94, 6203-6204.
- /75/ Wilchek M., Parchornik A.: J. Org. Chem. 1963, 28, 1974-1976.
- /76/ Moroder L., Gemeiner M., Geohring M., Jaeger E., Thamm P., Wunsch E.: Biopolimers 1981, 20, 17-23.
- /77/ Titov M. I., Leont'eva L. I., Bespalove ZH. D.: J. Gen. Chem. USSR 1971, 40, 218-235.
- /78/ Corbellini A., Chillemi F., Pietta P. G.: Gazz. Chim. Ital. 1967, 97, 514-518.

## Köszönetnyilvánítás

Köszönetemet fejezem ki dr. Kovács Kálmán tanszékvezető egyetemi tanárnak a kísérletek elvégzéséhez nyújtott segítségéért, dr. Penke Botond egyetemi docensnek pótolhatatlanul hasznos elméleti és gyakorlati segítségéért.

