

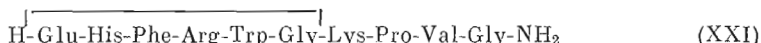


УДК 547.964.4.057:577.175.325.02:577.112.6.017

СИНТЕЗ И БИОЛОГИЧЕСКИЕ СВОЙСТВА ЦИКЛИЧЕСКОГО
АНАЛОГА АСТН-(5—14)-ДЕКАПЕПТИДА*Лиенжаула И. К., Скушман А. А., Романовский П. Я*.,
Поружевич Е. А., Раткевич М. П., Чипенс Г. П.**Институт органического синтеза Академии наук ЛатвССР, Рига;
* Экспериментальный завод ИОС Академии наук ЛатвССР, Рига*

Синтезированы и исследованы циклический и соответствующий ему линейный фрагменты кортикотропина, включающие в свой состав структуры специфического и неспецифического активных центров: АСТН-(5—14)- и $[cyclo(Glu^{1\rightarrow 8}Lys)]$ АСТН-(5—14)-декапептиды. Циклическая структура фиксирована амидной связью между боковыми цепями глутаминовой кислоты и лизина. В синтезе для конденсации фрагментов использованы азидный метод и метод ДСС/НОВТ. Циклизация осуществлена с помощью дифенилфосфорилазида. Циклический аналог проявляет полную стероидогенную активность; меланцитостимулирующая активность его на 3 порядка выше, чем у линейного декапептида.

Ранее нами было показано [1], что фиксация пространственной структуры в районе минимального специфического активного центра кортикотропина — АСТН-(5—10)-гексапептида приводит к образованию аналогов с высокой биологической активностью, большей, чем у линейных предшественников. В молекуле АСТН рядом с минимальным специфически активным участком находится неспецифический, так называемый общий фрагмент, повышающий активность первого на несколько порядков [2]. В настоящей работе осуществлен синтез и исследованы свойства циклического аналога АСТН-(5—14)-декапептида, содержащего в своей полипептидной цепи последовательности обоих активных центров. Пространственная структура пептида фиксирована путем создания амидной связи между боковыми цепями аминокислот, входящих в специфический активный центр АСТН — глутаминовой кислоты и лизина:



Синтез соединения (XXI) осуществлялся согласно схеме. Выбор защитных групп, аналогичный использованному нами ранее в работе [1], предусматривал возможность селективного удаления нитробензильной защитной группы [3]. Синтетический подход основан на первоначальном построении гекса- и тетрапептидных фрагментов, которые далее конденсировали карбодимидным методом. Внутримолекулярную циклизацию проводили с помощью дифенилфосфорилазида [4] после селективного деблокирования боковых групп лизина и глутаминовой кислоты; защитные группы после проведения циклизации отщепляли каталитическим гидрогенолизом. Промежуточные соединения очищали распределительной хроматографией на силикагеле, а целевой продукт (XXI) — методом ВЭЖХ. Линейный декапептид (XXIa) получали из промежуточного продукта (XIX) после отщепления защитных групп каталитическим гидрогенолизом.

Для изучения биологической активности соединения (XXI) и его линейного аналога — АСТН-(5—14)-декапептида (XXIa) использовали две тест-системы. Специфическую биологическую активность исследовали по

Принятые сокращения: АСТН — кортикотропин; DMF — диметилформамид, H₄-furan — тетрагидрофуран, ONb — *n*-нитробензил, ДСС — N,N'-дициклогексилкарбодимид, НОВТ — N-гидроксibenзотриазол, Tsa — *n*-толуолсульфокислота.

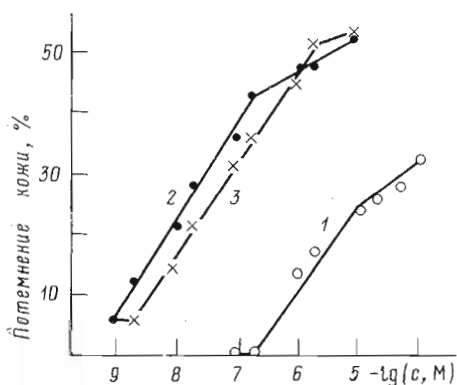
Стероидогенная активность фрагментов кортикотропина на изолированных клетках надпочечников крыс

Пептид	Концентрация, М	Активность *, %
АСТН-(1-24)	10^{-12}	$7,2 \pm 1,4$
	10^{-11}	$30,8 \pm 6,5$
	10^{-10}	$90,1 \pm 1,6$
(XXI)	10^{-9}	$100,0 \pm 1,6$
	10^{-7}	$2,8 \pm 1,4$
	10^{-6}	$15,9 \pm 3,0$
	10^{-5}	$68,6 \pm 6,5$
	10^{-4}	$98,3 \pm 1,6$

* Вычислена в процентах от максимального эффекта АСТН-(1-24)-тетракозапептида, достигаемого при концентрации 10^{-9} М и принятого за 100% ($\pm 1,6\%$).

способности стимулировать синтез кортикостероидов в изолированных пучковых клетках надпочечников крыс [5], меланоцитостимулирующую активность *in vitro* — на изолированной коже лягушки [1]. Результаты исследований показали, что соединение (XXI) обладает полной стероидогенной активностью природного гормона, однако для достижения эффекта, сравнимого с эффектом АСТ-(1-24)-тетракозапептида, требуются концентрации, на 5 порядков превышающие концентрации последнего

(таблица). EC_{50} для АСТН-(1-24)-тетракозапептида и соединения (XXI) составляют соответственно $2,11 \cdot 10^{-11}$ и $4,27 \cdot 10^{-6}$ М. Линейный пептид (XXIa) был исследован в концентрациях 10^{-9} – 10^{-4} М, однако нестабильность данных и их большой разброс не позволили получить статистически достоверных результатов. По-видимому, фиксация пространственной структуры в циклическом аналоге и связанное с этим резкое ограничение количества возможных конформеров облегчает узнавание клеточными рецепторами циклического пептида по сравнению с линейным аналогом.



Меланоцитостимулирующая активность соединения (XXI), как и в случае циклоаналогов АСТН-(5-10)-гексапептида [1], примерно на 3 порядка выше, чем у линейного декапептида (XXIa) (рисунок). Таким образом, и в случае АСТН-(5-14)-декапептида, включающего в свой состав два активных центра, циклизация приводит к различному изменению двух видов специфической активности кортикотропина: стероидогенной и меланоцитостимулирующей.

Проведенные исследования являются еще одним подтверждением выдвинутой нами ранее гипотезы [2] о реализации циклической структуры у активных центров молекул пептидных гормонов при их взаимодействии с клеточными рецепторами.

Экспериментальная часть

Для синтеза использовали производные аминокислот фирмы Reanal (Венгрия). Температуры плавления, определенные в открытых капиллярах, приведены без исправления. Индивидуальность полученных соединений проверяли с помощью ТСХ на пластинках с силикагелем Merck

* EC_{50} — концентрация исследуемого соединения, при которой достигается половина максимального эффекта.

60F₂₅₄ (ФРГ) в системах: хлороформ — метанол — уксусная кислота, 85 : 10 : 5 (А), хлороформ — этанол — *n*-бутанол — этилацетат — вода, 10 : 6 : 4 : 3 : 1 (Б), *n*-бутанол — уксусная кислота — вода, 4 : 1 : 5, верхняя фаза (В), бензол — этилацетат, 1 : 1 (Г), хлороформ — этанол — этилацетат — уксусная кислота — вода, 85 : 5 : 8 : 2 : 0,25 (Д), хлороформ — метанол — уксусная кислота — вода, 120 : 41 : 6 : 6 (Е), этилацетат — *n*-бутанол — пиридин — уксусная кислота — вода, 42 : 24 : 21 : 6 : 10 (Ж), *n*-бутанол — пиридин — уксусная кислота — вода, 4 : 1 : 1 : 2 (З), *n*-бутанол — уксусная кислота — вода, 1 : 2 : 1 (И), этилацетат — пиридин — уксусная кислота — вода, 5 : 3 : 1 : 2 (К), хлороформ — этанол — *n*-бутанол — этилацетат — вода, 10 : 6 : 4 : 3 : 1 (Л).

Электрофоретическую подвижность по отношению к гистидину (E_{HIS}) определяли на бумаге FN-15 (ГДР) в 5 н. уксусной кислоте, pH 1,9. Вещества обнаруживали в УФ-свете, а также с помощью нингидрина, реagens Эрлиха, Сакагучи, Бартона и хлорбензидина. Аминокислотный анализ выполняли на анализаторе Bioscal BC-200 после 24-часового гидролиза пептидов в запаянной ампуле при 110° С. Данные аминокислотного анализа приведены без учета разложения аминокислот. Удельное вращение определяли на поляриметре Perkin — Elmer 141 (США). Элементный анализ (С, Н, N) соединений удовлетворительно совпал с теоретическим.

Boc-Val-Gly-OEt (I). Суспензию 10 г (25 ммоль) дициклогексиламмониевой соли Boc-Val в 50 мл этилацетата встряхивали с 50 мл 10% KHSO_4 . Этилацетатный слой промывали раствором NaCl и водой. Органический слой упаривали, прибавляли 20 мл смеси этанол — бензол, 4 : 1, и упаривали вновь. Остаток растворяли в 50 мл DMF и добавляли 6,57 г (50 ммоль) НОВТ. Раствор охлаждали до 0° С, добавляли 5,15 г (25 ммоль) DCC и раствор 3,84 г (27,5 ммоль) $\text{HCl}\cdot\text{H-Gly-OEt}$ в 10 мл DMF, к которому добавляли 3,79 мл (27,5 ммоль) триэтиламина. Перемешивали 1 ч при 0° С и оставляли на 16 ч при 20° С. Отфильтровывали выпавший осадок и фильтрат упаривали. Остаток растворяли в 10 мл этилацетата, отфильтровывали, к фильтрату добавляли 100 мл этилацетата и промывали 10% KHSO_4 (3×50 мл), водой, 5% NaHCO_3 (3×5 мл) и водой. Органический слой упаривали. К остатку добавляли 40 мл смеси этанол — бензол, 4 : 1, и упаривали вновь. Продукт растирали со смесью эфир — гексан, 1 : 1. Выход 6,04 г (78%). Т. пл. 90° С (разл.). R_f 0,69 (А).

HCl-H-Val-Gly-OEt (II). 6 г (20 ммоль) соединения (I) растворяли в 30 мл уксусной кислоты и добавляли 100 мл 3 М раствора HCl в уксусной кислоте. Оставляли на 20 мин, упаривали, растворяли с эфиром. Сушили в вакуумном эксикаторе над КОН. Выход 3,97 г (83%).

Boc-Pro-Val-Gly-OEt (III). 3,25 г (15,1 ммоль) Boc-Pro-OH растворяли в 20 мл DMF и добавляли 4,08 г (30,2 ммоль) НОВТ. Охлаждали до 0° С, добавляли 3,1 г (15,1 ммоль) DCC и раствор 3,97 г (16,6 ммоль) соединения (II), к которому добавляли 4,58 мл (33,2 ммоль) триэтиламина. Перемешивали 1 ч при 0° С и оставляли на 16 ч при 20° С. Выпавший осадок отфильтровывали, фильтрат упаривали. К остатку добавляли 10 мл этилацетата, выпавший осадок отфильтровывали. К фильтрату добавляли 70 мл этилацетата и промывали 10% KHSO_4 (3×40 мл), водой, 5% NaHCO_3 (3×40 мл), водой. Органический слой упаривали, к остатку добавляли 40 мл смеси этанол — бензол, 4 : 1, и упаривали вновь. Продукт растирали с эфиром. Выход 4,9 г (81%).

HCl-H-Pro-Val-Gly-OEt (IV) получали при обработке 4,9 г (12,3 ммоль) соединения (III) 70 мл 3 М раствора HCl в уксусной кислоте аналогично синтезу соединения (II). Выход 3,6 г (88%).

Z-Lys(Boc)-Pro-Val-Gly-OEt (V) получали из Z-Lys(Boc)-OH и соединения (IV) аналогично синтезу соединения (III). Выход 62%. Т. пл. 104—105° С; $[\alpha]_D^{22}$ —40,8° (с 1, DMF). R_f 0,86 (Б).

Z-Lys(Boc)-Pro-Val-Gly-NH₂ (VI). 5,33 г (8,1 ммоль) соединения (V) растворяли в 50 мл метанола и охлаждали до 5° С. Через полученный раствор пропускали аммиак в течение 30 мин. Раствор выдерживали неделю при 20° С. Упаривали и продукт растирали с эфиром. Выход 4,6 г (90%). Т. пл. 109—112° С; $[\alpha]_D^{22}$ —38,9° (с 1, DMF). R_f 0,74 (Б).

H-Lys(Boc)-Pro-Val-Gly-NH₂ (VII). 4,58 г (7,2 ммоль) соединения (VI) растворяли в 40 мл смеси метанол — уксусная кислота — вода, 6 : 1 : 1, и гидрировали 3 ч над Pd-чернью. Катализатор отфильтровывали, фильтрат упаривали. Продукт растирали с эфиром и выдерживали в пистолете Фишера неделю. Выход 3,4 г (94%). $[\alpha]_D^{22}$ -29° (с 1, DMF). R_f 0,75 (K); E_{HIS} 0,67.

Boc-Trp-Gly-ONb (VIII). К раствору 8,6 г (20 ммоль) Boc-Trp в 25 мл DMF добавляли 7,65 г (20 ммоль) Tsa·H-Gly-ONb и 2,7 мл (25 ммоль) N-метилморфолина. Перемешивали 1 ч и оставляли на 12 ч при 20° С. Реакционную смесь выливали в 200 мл воды, выпавшее масло экстрагировали этилацетатом (3×80 мл). Органический слой промывали 5% NaHCO₃ (2×100 мл), водой, 10% KHSO₄ (2×100 мл), водой. Сушили 12 ч над безводным Na₂SO₄, фильтровали и фильтрат упаривали. Продукт сушили в вакуумном эксикаторе. Выход 8,9 г (73%). Т. пл. 90—95° С; $[\alpha]_D^{22}$ $-12,1^\circ$ (с 1, DMF). R_f 0,91 (B), 0,41 (Г).

HCl·H-Trp-Gly-ONb (IX). К раствору 7,2 г (17,9 ммоль) соединения (VIII) в 30 мл муравьиной кислоты в присутствии дитиотрепта и тиаоанизола добавляли 20 мл 1,6 М раствора HCl в муравьиной кислоте. Перемешивали 20 мин и медленно выливали в 450 мл сухого эфира. Выпавший осадок отфильтровывали, сушили в вакуумном эксикаторе над KOH. Выход 5,9 г (94%). Т. пл. 145—150° С. R_f 0,41 (B); E_{HIS} 0,59 (pH 1,9).

Boc-Arg(NO₂)-Trp-Gly-ONb (X). Раствор 0,83 г (2,7 ммоль) Boc-Arg(NO₂)-OH·^{3/4}N₄-tupan в 10 мл DMF охлаждали до -20° С, добавляли 0,38 мл (2,75 ммоль) триэтиламина и 0,92 г (2,79 ммоль) пентафторфенилового эфира трихлоруксусной кислоты. Перемешивали 5 мин и добавляли раствор 1 г (2,3 ммоль) соединения (IX) и 0,32 мл (2,3 ммоль) триэтиламина в 10 мл DMF. Оставляли при 20° С на 16 ч. Реакционную смесь выливали в 30 мл воды, экстрагировали 30 мл этилацетата. Органический слой промывали 5% NaHCO₃ (3×20 мл), водой, 10% KHSO₄ (3×20 мл), водой. Органический слой частично упаривали, прибавляли 20 мл смеси этанол — бензол, 4 : 1, и упаривали. Остаток растворяли в 30 мл этилацетата и осаждали петролейным эфиром. Растворяли в 5 мл хроматографической системы Д и наносили на колонку Li Chromrep Si60, Lobar, Size С 440-37, элюировали системой Д. Фракции элюата, содержащие чистый трипептид, объединяли, упаривали, остаток растирали с эфиром. Выход 0,4 г (25%). Т. пл. 120° С (разл.). $[\alpha]_D^{22}$ -9° (с 1, DMF). R_f 0,1 (Д).

HCl·H-Arg(NO₂)-Trp-Gly-ONb (XI). К раствору 1 г (1,57 ммоль) соединения (X) в 10 мл муравьиной кислоты в присутствии дитиотрепта и тиаоанизола добавляли 10 мл 0,88 М раствора HCl в муравьиной кислоте. Оставляли на 30 мин при 20° С. Продукт осаждали из реакционной смеси сухим эфиром, сушили в вакуумном эксикаторе над KOH. Выход 0,89 г (98%). Т. пл. 120° С (разл.). $[\alpha]_D^{22}$ $5,4^\circ$ (с 1, DMF). R_f 0,29 (E), 0,67 (Ж), 0,53 (З); E_{HIS} 0,52 (pH 1,9).

Boc-His(Bzl)-Phe-OEt (XII) получали из Boc-His(Bzl)-OH и HCl·H-Phe-OEt аналогично синтезу трипептида (III). Продукт осаждали из смеси эфир — гексан. Выход 73%. Т. пл. 88—92° С, $[\alpha]_D^{22}$ $-3,3^\circ$ (с 1, DMF). R_f 0,92 (E), 0,86 (Л).

Boc-His(Bzl)-Phe-N₂H₃ (XIII). К раствору 4 г (7,7 ммоль) дипептида (XII) в 25 мл метанола добавляли 15 мл гидразингидрата. Перемешивали 24 ч, упаривали, остаток промывали водой, высушивали в вакуумном эксикаторе над P₂O₅ и KOH. Выход 2,65 г (68%). Т. пл. 136° С; $[\alpha]_D^{22}$ $-2,7^\circ$ (с 1, DMF). R_f 0,65 (E), 0,6 (Б).

Boc-His(Bzl)-Phe-Arg(NO₂)-Trp-Gly-ONb (XIV). К охлажденному до -20° С раствору 3,3 г (6,4 ммоль) соединения (XIII) в 25 мл DMF добавляли 10,2 мл 2,5 М раствора HCl в этилацетате, 0,98 мл (7,7 ммоль) трет-бутилнитрита и перемешивали 30 мин при -5° С. Реакционную смесь охлаждали до -40° С и прибавляли охлажденный до -10° С раствор 4,4 мл (26,6 ммоль) N,N-диизопропилэтиламина в 5 мл DMF. Когда температура повышалась до -20° С, к реакционной смеси добавляли раствор 2,7 г (4,3 ммоль) соединения (XI) в 15 мл DMF и 0,73 мл (4,26 ммоль) N,N-ди-

изопропилэтиламина. Выдерживали 24 ч при 4° С. Упаривали до минимального количества DMF и выливали в воду, подкисленную 10% KHSO_4 до pH 5. Отфильтровывали, на фильтре промывали 10% KHSO_4 , 5% NaHCO_3 и водой. Продукт растворяли в этаноле и осаждали эфиром. Выход 4,1 г (89%). Т.пл. 117° С (разл.). $[\alpha]_D^{22} -11,9^\circ$ (с 1, DMF). R_f 0,74(Е), 0,8(Б); E_{His} 0,46.

HCl·H-His(Bzl)-Phe-Arg(NO₂)-Trp-Gly-ONb (XV). К раствору 4 г (3,7 ммоль) соединения (XIV) в 40 мл муравьиной кислоты в присутствии дитиотрепта и тиоанизола добавляли 40 мл 0,88 М раствора HCl в муравьиной кислоте. Оставляли на 30 мин при 20° С. Упаривали, к остатку добавляли метанол и вновь упаривали досуха. Продукт растирали в смеси этанол — эфир и высушивали в вакуумном эксикаторе над КОН. Выход 3,75 г (95%). Т.пл. 95° С (разл.). R_f 0,63(Е), 0,73(Ж); E_{His} 0,68.

Z-Glu(OBu')-His(Bzl)-Phe-Arg(NO₂)-Trp-Gly-ONb (XVI). К раствору 3,73 г (3,6 ммоль) соединения (XV) в 20 мл DMF добавляли 1,23 мл (7,2 ммоль) N,N-диизопропилэтиламина и 1,72 г (3,96 ммоль) Z-Glu××(OBu')-ONSu [6]. Перемешивали 24 ч при 20° С. К реакционной смеси добавляли 0,2 мл N,N-диметиламиноэтиламина и перемешивали 1 ч. Растворитель упаривали до объема 5 мл, остаток выливали в 100 мл воды, которую подкисляли 10% KHSO_4 до pH 5. Выпавший осадок отфильтровывали и на фильтре промывали 5% NaHCO_3 и водой. Продукт растворяли в этаноле и осаждали эфиром. Выход 4,08 г (88%). Т.пл. 87° С (разл.); $[\alpha]_D^{22} -12^\circ$ (с 1, DMF). R_f 0,93(Е), 0,96(Б), 0,79(В).

Z-Glu(OBu')-His(Bzl)-Phe-Arg(NO₂)-Trp-Gly-OH (XVII). 4 г (3,09 ммоль) гексапептида (XVI) растворяли при нагревании до 60° С в 60 мл этанола и при перемешивании добавляли по каплям раствор 4,6 г (26 ммоль) $\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_4$ в 60 мл воды. Перемешивали 1 ч при 60° С. Добавляли K_2CO_3 до pH 7,5—8 и перемешивали 1 ч. Упаривали до 1/3 объема и выливали в 10% KHSO_4 . Отфильтровывали выпавший осадок, на фильтре промывали 10% KHSO_4 и водой. Продукт растворяли в этаноле и осаждали эфиром. Выход 2,49 г (69%). Т.пл. 96° С (разл.); $[\alpha]_D^{22} -15,7^\circ$ (с 1, DMF). R_f 0,69(Е), 0,18(Б).

Z-Glu(OBu')-His(Bzl)-Phe-Arg(NO₂)-Trp-Gly-Lys(Boc)-Pro-Val-Gly-NH₂ (XVIII) получали из соединений (XVII) и (VII) аналогично синтезу соединения (III). Продукт растворяли в этаноле, осаждали эфиром, отфильтровывали и растворяли в 5 мл хроматографической системы. А. Раствор наносили на колонку Li Chromrep Si60, Lobar, Size C 440-37 и элюировали хроматографическими системами А и Б. Фракции элюата, содержащие чистый декапептид (XVIII), объединяли, упаривали, остаток растирали с эфиром. Выход 44%. Т.пл. 154° С (разл.), $[\alpha]_D^{22} -33^\circ$ (с 1, DMF). R_f 0,77(Е), 0,55(Б).

Z-Gly-His(Bzl)-Phe-Arg(NO₂)-Trp-Gly-Lys(HCl)-Pro-Val-Glu-NH₂ (XIX) получали из соединения (XVIII) аналогично синтезу соединения (XV). Выход после очистки на колонке Li Chromrep Si60, Lobar, Size B310-52 в системе Б 63%. Т.пл. 84° С (разл.). R_f 0,28(Е).

Z-Gly-His(Bzl)-Phe-Arg(NO₂)-Trp-Gly-Lys-Pro-Val-Gly-NH₂ (XX). К охлажденному до 0° С раствору 0,28 г (0,18 ммоль) декапептида (XIX) в 25 мл DMF добавляли 0,06 мл (0,36 ммоль) N,N-диизопропилэтиламина. Реакционную смесь охлаждали до -25° С и добавляли 0,05 мл дифенилфосфорилазида. Раствор выдерживали 48 ч при -25° С, 48 ч при 2° С и 72 ч при 20° С. Упаривали до 1/2 первоначального объема, выливали в 50 мл 10% KHSO_4 и экстрагировали 50 мл *n*-бутанола. Органический слой промывали 10% KHSO_4 (3×25 мл), водой, 5% NaHCO_3 (3×25 мл), водой. Упаривали, к остатку добавляли 40 мл смеси этанол — бензол, 4 : 1, и опять упаривали. Продукт растирали с эфиром. Выход 0,22 г (84%). Т.пл. 116° С (разл.); $[\alpha]_D^{22} -24^\circ$ (с 1, DMF). R_f 0,65(Е), 0,29(Б).

H-Glu-His-Phe-Arg-Trp-Gly-Lys-Pro-Val-Gly-NH₂ (XXI). 0,22 г (0,15 ммоль) соединения (XX) растворяли в 5 мл смеси метанол — уксусная кислота — вода, 6 : 1 : 1, и гидрировали 4 сут над Pd-чернью. Pd-чернь

отфильтровывали, раствор упаривали. Остаток растворяли в 1 мл этанола и осаждали эфиром. Выход после хроматографии на колонке Zorbax C₈ (0,46×25 см) в системе 45% CH₃CN — 55% 0,2 М AcONH₄ — 0,088 г (48%). R_f 0,15 (3), 0,32 (K); E_{His} 0,83. Аминокислотный анализ: Glu 1,68 (1), His 1,09 (1), Phe 1,16 (1), Arg 1,17 (1), Gly 2,2 (2), Lys 1,3 (1), Pro 1,00 (1), Val 1,3 (1).

Структуру соединения (XXI) подтверждали данными ¹H-ЯМР-спектроскопии. Спектры регистрировали на приборе Bruker WM-360 (ФРГ) с рабочей частотой 360 МГц; в качестве внутреннего стандарта использовали Na-соль 3-(триметилсилил)пропансульфонокислоты.

Спектры снимали в воде, рН 5,5, при 25° С, концентрация соединения (XXI) составляла 0,047 М. Отнесение сигналов проводили методом двойного резонанса. Сигнал при δ 7,70 м.д. (триплет), имеющий спин-спиновое взаимодействие с H₂C^α-протонами лизина (δ 3,07 м.д.), соответствует NH^α-протону амидной связи лизина.

N-Glu-His-Phe-Arg-Trp-Gly-Lys-Pro-Val-Gly-NH₂ (XXIa) получали гидрогенолизом соединения (XIX) аналогично соединению (XXI). Выход после хроматографии на колонке Zorbax C₈ (2,12×25 см) в системе 17% CH₃CN — 83% 0,2 М AcONH₄ составлял 50%. R_f 0,11 (3); E_{His} 0,98.

Авторы благодарны И. П. Секацису за съемку спектров ЯМР и помощь в их интерпретации.

ЛИТЕРАТУРА

1. Лиенкаула И. К., Романовский П. Я., Скужиньш А. А., Порункевич Е. А., Раткевич М. П., Чипенс Г. И. Биоорг. химия, 1984, т. 10, № 6, с. 807–816.
2. Чипенс Г. И. В кн.: Структура и функции низкомолекулярных пептидов. Рига: Зинатне, 1980, с. 11–124.
3. Романовский П. Я., Хенклейн П., Бендерс Ю. А., Сысков И. В., Чипенс Г. И. В кн.: Всес. симпоз. по химии и физике белков и пептидов. Тез. докл. Баку, 1980, с. 229.
4. Brady S. F., Varga S. L., Freidinger R. H., Schwenk D. A., Mendlowski M., Holly F. W., Veber D. F. J. Org. Chem., 1979, v. 44, № 18, p. 3101–3105.
5. Скужиньш А. А., Раткевич М. П., Кублиц Г. Г., Порункевич Е. А., Сысков И. В., Чипенс Г. И. Биохимия, 1982, т. 47, с. 1108–1112.
6. Wünsch E. Synthese von Peptiden. Teil 2. Stuttgart: Georg Thieme Verlag, 1974, S. 149–160.

Поступила в редакцию
20.III.1984

SYNTHESIS AND BIOLOGICAL PROPERTIES OF ACTH-(5–14)-DECAPEPTIDE CYCLIC ANALOGUE

LIENKAULA I. K., SKUJINS A. A., ROMANOVSKIS P. J.*,
PORUNKEVICH E. A., RATKEVICH M. P., CHIPENS G. I.

*Institute of Organic Synthesis and *Experimental Plant at the
Institute of Organic Synthesis, Academy of Sciences
of the Latvian SSR, Riga*

A cyclic analogue and the corresponding linear segment of the corticotropine molecule, namely ACTH-(5–14)- and [*cyclo*(Glu¹–*Lys)]ACTH-(5–14)-decapeptide, both including the specific and unspecific active centers of the ACTH molecule, have been synthesized and studied. The cyclic structure is fixed by amide bond between the glutamic acid and lysine side chains. Condensation of fragments has been realized by azide or DCC/HOBT methods. Cyclization has been achieved using diphenylphosphorylazide. The cyclic analogue has full steroidogenic activity, while its melanotropic activity is 3 orders of magnitude higher than that of the linear decapeptide.