



УДК 577.175.325'17:544.69:547.964.4.057

СТРУКТУРНО-ФУНКЦИОНАЛЬНАЯ ОРГАНИЗАЦИЯ АСТН:
СИНТЕЗ И СВОЙСТВА АНАЛОГОВ АСТН-(11—24)-ТЕТРАДЕКА-
И АСТН-(1—24)-ТЕТРАКОЗАПЕПТИДОВ, СОДЕРЖАЩИХ
ГЕКСААМИНОКИСЛОТЫ ВМЕСТО ПРИРОДНОЙ
ПОСЛЕДОВАТЕЛЬНОСТИ АМИНОКИСЛОТ АСТН 19—24

Сысков И. В., Романовский П. Я.

*Экспериментальный завод Института органического синтеза
Академии наук ЛатвССР, Рига*

*Восекалма И. А., Скуиньш А. А., Раткевич М. Ш.,
Катаев В. С., Порункевич Е. А., Чипенс Г. И.*

Институт органического синтеза Академии наук ЛатвССР, Рига

Для исследования влияния аминокислотной последовательности АСТН 19—24 на структуру и стероидогенную активность молекулы кортикотропина классическими методами пептидной химии синтезированы аналоги АСТН-(11—24)-тетрадека- и АСТН-(1—24)-тетракозапептида, содержащие вместо природной последовательности 19—24 гексаглицин, гексафенилаланин, гексаглутаминовую кислоту и гексализин. Спектры КД всех соединений в воде характерны для конформации «неупорядоченного клубка», спектры КД аналогов АСТН-(1—24)-тетракозапептида и гексализинсодержащего аналога АСТН-(11—24)-тетрадекапептида в трифторэтаноле являются типичными спектрами α -спирали. Изучена стероидогенная активность соединений на изолированных клетках надпочечников крыс. Найдено, что замена последовательности 19—24 в природном АСТН-(11—24)-тетрадекапептиде на гексализин не сопровождается снижением стероидогенной активности. Замены на другие гексааминокислоты приводят к малоактивным или неактивным аналогам АСТН-(11—24)-тетрадека- и АСТН-(1—24)-тетракозапептида.

Известно, что N-концевой фрагмент 1—24 молекулы кортикотропина обладает стероидогенной активностью целой молекулы [1]; высокую стероидогенную активность проявляет также фрагмент 1—18 [2]. Анализ взаимосвязи между структурой и функцией в молекуле кортикотропина, проведенный Швицером [3], показал, что фрагмент 11—18 кортикотропина участвует в процессах узнавания/связывания молекулы гормона рецептором. В работе [4] фрагменту АСТН 11—24 отводится важная роль в стимулировании биоэффекта, в то время как за специфичность связывания отвечает главным образом фрагмент 5—10. Относительно функционального значения фрагмента 19—24 кортикотропина отсутствует однозначное мнение, однако известно, что эта последовательность необходима для проявления полной стероидогенной активности гормона.

Ранее нами было показано, что фрагменты кортикотропина последовательностей 11—16, 11—19, 17—24 и 11—24 обладают собственной стероидогенной активностью [5]. Обнаруженное нами сходство в первичной структуре и в ряде биологических свойств фрагмента 17—24 кортикотропина и ангиотензина II [6] позволило сделать предположение о важном значении фрагмента 19—24 кортикотропина. Для более полного выяснения роли фрагмента 19—24 в стабилизации конформации АСТН-(1—24)-тетракозапептида и в проявлении им стероидогенной активности мы провели синтез и изучение свойств аналогов АСТН-(11—24)-тетрадекапептида и

Принятые сокращения: АСТН — кортикотропин, TFA — трифторуксусная кислота, комплекс F — соединение 1 моль DCC и 3 моль пентафторфенола, ONb — *n*-нитробензилокси, DMF — диметилформамид, DMSO — диметилсульфоксид.

АСТН-(1—24)-тетракозапептида, в которых природная последовательность 19—24 заменена на гексаглицин, гексафенилаланин, гексаглутаминовую кислоту и гексализин.

Использование гексализина и гексаглутаминовой кислоты было обусловлено тем, что их высокомолекулярные аналоги в определенных условиях принимают конформации α -спирали или β -структуры [7, 8]. Гексаглицин использовался как аминокислотная цепь, обладающая большой конформационной свободой, а гексафенилаланин — как аминокислотная цепь с частично затрудненной конформационной подвижностью.

Как известно [9], замена последовательности Arg¹⁷-Arg¹⁸ на Lys¹⁷-Lys¹⁸ не изменяет биологической активности гормона, но облегчает синтез его аналогов. Поэтому при синтезе модифицированных фрагментов кортикотропина нами использована такая замена аминокислот.

Синтез аналогов тетрадека- и тетракозапептида проводили согласно схемам 1 и 2 соответственно; методы конденсации и защитные группы были аналогичны использованным нами ранее при синтезе аналогов октапептида последовательности 17—24 кортикотропина [10].

Аналоги АСТН-(11—24)-тетрадекапептида получали конденсацией соответственно защищенных АСТН-(11—16)-гексапептида и аналогов АСТН-(17—24)-октапептида, содержащих последовательности вышеперечисленных гексааминокислот; конденсацию проводили с помощью комплекса F.

Вос-группы с окта- и тетрадекапептидов отщепляли водной трифторуксусной кислотой. Свободные тетрадекапептиды (IV), (VIII), (XII) и (XVI) получали каталитическим гидрогенолизом; соединения (IV) и (XVI) выделяли в индивидуальном состоянии, соединения (VIII) и (XII) очищали распределительной хроматографией на силикагеле.

Защищенные аналоги АСТН-(1—24)-тетракозапептида (соединения (XVII), (XIX), (XXI) и (XXIII)) получали из защищенного АСТН-(1—10)-декапептида и соответствующих тетрадекапептидов (III), (VII), (XI) и (XV) с помощью комплекса F. Защитные группы с тетракозапептидов отщепляли обработкой жидким фтористым водородом, полученные соединения (XVIII), (XX), (XXII) и (XXIV) очищали распределительной хроматографией на силикагеле.

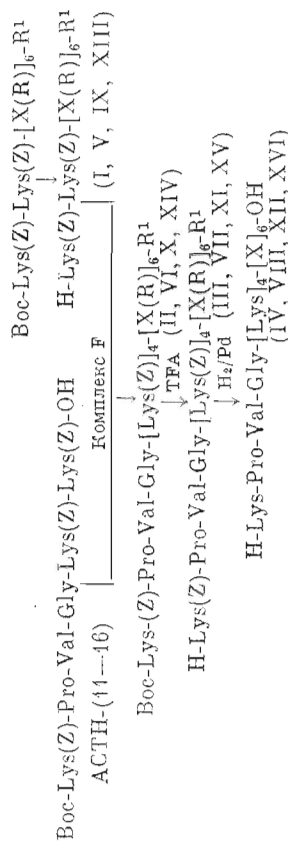
Конформационное состояние кортикотропина и его фрагментов неоднократно изучалось методом спектроскопии КД [11—15]. Было найдено, что кортикотропин и его N-концевые фрагменты в воде принимают структуру «неупорядоченного клубка» [16], а в трифторэтаноле — α -спиральную конформацию. С-Концевые пептиды гормона имеют «неупорядоченную» конформацию в обоих растворителях [12].

Нами изучено конформационное состояние аналогов АСТН-(11—24)-тетрадека- и АСТН-(1—24)-тетракозапептида в воде и трифторэтаноле. Все изученные аналоги в водных растворах имеют спектры КД, характерные для конформации «неупорядоченного клубка» (рис. 1а, 2а). Их спектры имеют широкую отрицательную полосу при 195—200 нм (у соединения (XX) наблюдается положительный хироптический эффект при 198 нм из-за влияния ¹В-перехода ароматических хромофоров остатков Phe [17]) и слабую положительную полосу в районе ~220 нм (не наблюдается у АСТН-(11—24)-тетракозапептида и соединения (XII)). Соединения (XII), (XVIII), (XX) и (XXII) имеют небольшой минимум при 230—240 нм, у соединений (IV), (VIII), (XVII) и (XXIV) такого минимума не наблюдается. Общий вид кривых КД свидетельствует о сходстве пространственного строения в ряду аналогов АСТН-(11—24)-тетрадекапептида и в ряду аналогов АСТН-(1—24)-тетракозапептида.

В трифторэтаноле, растворителе, способствующем образованию упорядоченных структур у пептидов и белков, тетракозапептиды (соединения (XX), (XXII) и (XXIV)) и лизинсодержащий тетрадекапептид (XVI) обладают типичными спектрами α -спирали (рис. 1, 2б). Они характеризуются положительным максимумом при 190 нм (у соединения (XX) максимум сдвинут на 5 нм в сторону длинных волн из-за ¹В-перехода ароматических остатков Phe) и двумя минимумами в районах 202—208 и 222—

Схема 1

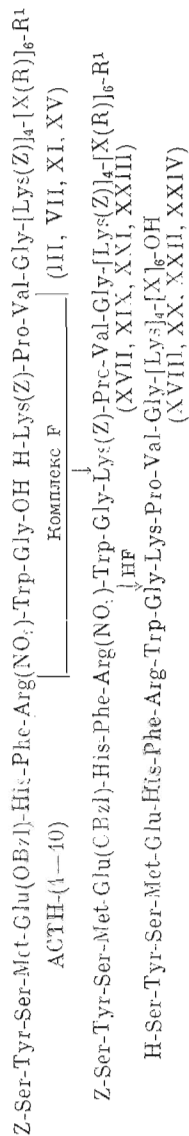
Синтез аналогов АСТН-(11—24)-тетрадекапептида



| Соединение | X | R | R ¹ | Соединение | X | R | R ¹ |
|--------------------|------------|---|----------------|------------------------|------------|-----------|----------------|
| (I—IV) (V—VIII) | Gly Phe | — | OBzl ONb | (IX—XII) (XIII—XVI) | Glu Lys | OBzl Z | OBzl OBzl |

Схема 2

Синтез аналогов АСТН-(1—24)-тетракозапептида



| Соединение | X | R | R ¹ | Соединение | X | R | R ¹ |
|--|------------|---|----------------|--|------------|-----------|----------------|
| (III), (XVII), (VIII), (XVIII), (V), (XIX), (XX) | Gly Phe | — | OBzl ONb | (XI), (XXI), (XV), (XXII), (XXIII), (XXIV) | Glu Lys | OBzl Z | OBzl OBzl |

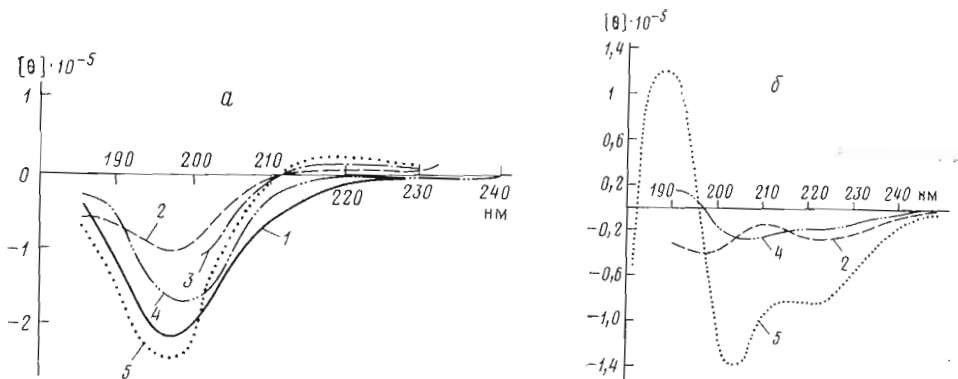


Рис. 1. Спектры КД АСТН-(11-24)-тетрадекапептида (1) и его аналогов — соединений (IV) — 2, (VIII) — 3, (XII) — 4, (XVI) — 5 в воде (а) и трифторэтаноле (б)

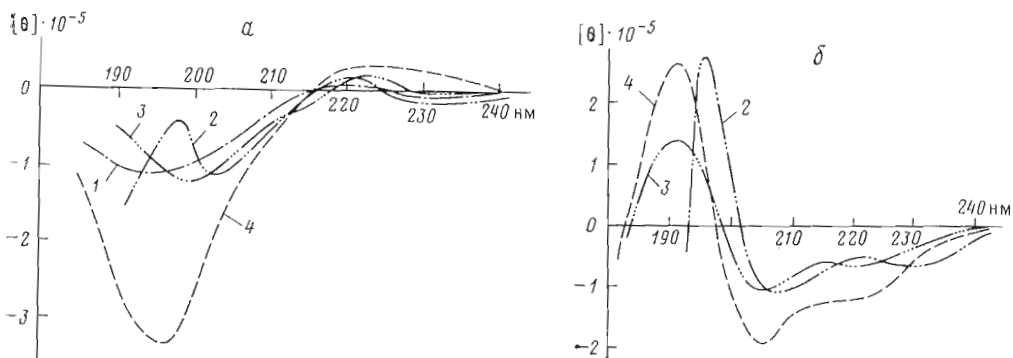


Рис. 2. Спектры КД аналогов АСТН-(1-24)-тетракозапептида — соединений (XVIII) — 1, (XX) — 2, (XXII) — 3, (XXIV) — 4 в воде (а) и трифторэтаноле (б)

230 нм [16, 18]. Тетрадекапептиды (IV) и (XII) проявляют незначительную тенденцию к образованию упорядоченных структур.

Спектры КД аналогов АСТН-(11-24)-тетрадекапептида в воде существенно не отличаются от спектра АСТН-(11-24)-тетрадекапептида. В трифторэтаноле лишь аналог (XVI) имеет типичный спектр α -спирали. Спектры КД аналогов АСТН-(1-24)-тетракозапептида в воде и трифторэтанолу существенно не отличаются от спектра АСТН-(1-24)-тетракозапептида в этих растворителях, что говорит об отсутствии значительных различий в их конформационных состояниях.

Стероидогенную активность аналогов *in vitro* определяли на изолированных клетках надпочечников крыс. Для удобства сравнения активности аналогов с активностью АСТН-(1-24)-тетракозапептида рассчитывали сродство к рецепторам (K) и внутреннюю активность (α) исследованных соединений* (табл. 1).

Замещение природной последовательности 19-24 в АСТН-(11-24)-тетрадекапептида на гексаглицин, гексафенилаланин и гексаглутаминовую кислоту сопровождается полной потерей стероидогенной активности. Так, соединения (IV), (VIII) и (XIX) оказались неактивными в пределах концентраций 10^{-5} — 10^2 мкг/мл. Лишь замещение фрагмента 19-24 на гексализин приводит к более активному, чем природная последовательность 11-24, соединению (XVI) (табл. 1).

При замене природной последовательности 19-24 в АСТН-(1-24)-тетракозапептиде на гексафенилаланин, гексаглутаминовую кислоту и

* K — отношение концентрации АСТН-(1-24)-тетракозапептида, при которой достигается половина максимального эффекта, к аналогичной концентрации испытуемого соединения; α — отношение максимального количества кортикостерона, образовавшегося при действии исследуемого соединения, к максимальному количеству кортикостерона, образовавшемуся под действием АСТН-(1-24)-тетракозапептида.

Сродство к рецепторам (K) и внутренняя активность (α) аналогов АСТН-(11-24)-тетрадекапептида и АСТН-(1-24)-тетракозапептида

| Характеристики стероидогенной активности | АСТН-(11-24)-тетрадекапептид [15] | (XVI) | (XX) | (XXII) | (XXIV) | АСТН-(1-24)-тетракозапептид |
|--|-----------------------------------|---------------------|---------------------|---------------------|---------------------|-----------------------------|
| K | $(1-3,9) \cdot 10^{-5}$ | $3,8 \cdot 10^{-4}$ | $1,7 \cdot 10^{-3}$ | $2,2 \cdot 10^{-3}$ | $3,4 \cdot 10^{-4}$ | 1 |
| α | 0,64 | 0,69 | 0,94 | 0,79 | 0,76 | 1 |

гексализин получают малоактивные соединения. Это проявляется как в уменьшении сродства к рецепторам ($K < 1$), так и в снижении внутренней активности соединений (XX), (XXII) и (XXIV) ($\alpha < 1$) (табл. 1). Аналог (XVIII), в котором фрагмент 19-24 замещен на гексализин, не проявляет биологической активности при концентрациях 10^{-5} - 10^2 мкг/мл.

Таким образом, несмотря на сходство конформационных параметров исследованных аналогов и природных фрагментов 11-24 и 1-24 кортикотропина, замещение природной последовательности 19-24 кортикотропина на гексааминокислоты различной природы приводит либо к существенно-му снижению стероидогенной активности, либо к ее полной потере. Полученные в данной работе результаты выявили существенное значение природной последовательности 19-24 кортикотропина в процессах связывания АСТН-(1-24)-тетракозапептида с рецепторами клеток надпочечников, участвующими в регуляции биосинтеза стероидов. Роль фрагмента 19-24 в процессах стимуляции рецепторов, возможно, менее значительна.

Экспериментальная часть

В работе использованы полученные ранее аналоги АСТН-(17-24)-октапептида [10], гексапептид *Woc-Lys(Z)-Pro-Val-Cly-Lys(Z)-Lys(Z)-OH* [19] и декапептид *Z-Ser-Tyr-Ser-Met-Clu(OBzl)-His-Phe-Arg(NO₂)-Trp-Cly-OH* (предоставлен П. Я. Романовским).

Растворы упаривали при температуре $\leq 35^\circ \text{C}$.

Для ТСХ использовали пластинки Silufol UV-254 (ЧССР) и Merck (ФРГ). Электрофорез соединений проводили на бумаге «Ватман» № 3 в растворах 30% CH_3COOH и 1 н. CH_3COOH при градиенте потенциала 18 В/см. Электрофоретическую подвижность соединений выражали по отношению к His (E_{His}).

Анализ фракций, полученных при хроматографировании пептидов через колонку (120×3,0 см) с силикагелем Silicagel 40/100 μm (ЧССР), проводили с помощью ТСХ и аминокислотного анализа.

Хроматограммы и электрофореграммы проявляли нингидрин-коллидным и хлор-бензидиновым реагентами, а также реактивами Паули, Сакагучи и Эрлиха.

Аминокислотный анализ соединений проводился на приборе Liquimat III (ФРГ). Удельное вращение определяли на спектрополяриметре Perkin-Elmer 141 (США). Спектры КД записывали на дихрографе Jobin-Yvon III (Франция). Молекулярную эллиптичность $[\theta]$ измеряли в град·см²/дмоль.

Определение стероидогенной активности проводили согласно работе [20] (табл. 1). В качестве стандарта использовали АСТН-(1-24)-тетракозапептид (Synacthen, Швейцария).

Выходы и физико-химические константы полученных соединений приведены в табл. 2.

H-Lys(Z)-Lys(Z)-(Gly)₆-OBzl (I). 0,70 г (0,65 ммоль) *Woc*-(I) обрабатывали 1 ч 8 мл 75% водной TFA. Раствор разбавляли 200 мл воды и образовавшуюся суспензию нейтрализовали добавлением кристаллического NaHCO_3 до pH 7 при интенсивном перемешивании. Образовавшийся осадок отфильтровывали и промывали на фильтре водой. Вещество сушили в эксикаторе над КОН и P_2O_5 . Выход соединения (I) 0,65 г (99%). Аналогично получали соединения (III), (V), (VII), (IX), (XI), (XIII) и (XV).

Выходы и физико-химические константы промежуточных и конечных соединений

| Соединение | Выход, % | [α] _D ²⁰ (с1) | | Система * | E _{His} ^{**} | |
|------------|----------|--|----------------------------|------------------------------------|--------------------------------|--------------------------|
| | | град. | растворитель | | 1 н. CH ₃ COOH | 30% CH ₃ COOH |
| (I) | 99 | -5,1 | DMF | 0,32 (К); 0,62 (Г) | 1,04 | — |
| (II) | 84 | — | | 0,615 (А); 0,07 (Д); 0,17 (Е) | 1,00 | 0,97 |
| (III) | 84 | — | | 0,33 (А) | 1,23 | 1,06 |
| (IV) | 99 | -28,5 | H ₂ O | 0,22 (А); 0 (Д); 0 (Е) | — | 1,22 |
| (V) | 95 | -12,4 | DMF | 0,94 (А); 0,70 (Д); 0,85 (Е) | 0,62 | 0,79 |
| (VI) | 72 | — | | 0,55 (Д) | 0,86 | 0,84 |
| (VII) | 99 | — | | 0,34 (А) | — | — |
| (VIII) | 15 | -61,0 | 50% CH ₃ COOH | 0,40 (А); 0,06 (Ж) | — | — |
| (IX) | 96 | -5,3 | DMF | 0,77 (CH ₃ COOH) | 0,84 | 0,80 |
| (X) | 94 | — | | 0,03 (Д); 0,17 (Е) | 0,90 | 0,92 |
| (XI) | — | — | | Вещество неоднородно | — | — |
| (XII) | 15,5 | -55,4 | H ₂ O | 0,35 (А); 0,06 (Д); 0 (Е) | — | 1,02 |
| (XIII) | 99 | -6,5 | DMF | 0,21 (А); 0,61 (Б) | 1,42 | 1,27 |
| (XIV) | 83 | — | | 0,15 (А); 0,95 (В) | 1,28 | 1,18 |
| (XV) | 99 | — | | 0,56 (В) | 1,32 | 1,18 |
| (XVI) | 99 | -53,6 | H ₂ O | 0,11 (А); 0,49 (Б) | 1,44 | — |
| (XVII) | 69 | — | | 0,65 (З); 0,68 (И) | — | — |
| (XVIII) | 32 | -5 | H ₂ O (с 0,085) | 0,81 (А); 0,05 (Д) | — | 0,86 |
| (XIX) | 93 | — | | 0,68 (З); 0,74 (И) | — | — |
| (XX) | 48 | -7,5 | H ₂ O (с 0,133) | 0,50 (Д); 0,75 (Е) | — | 0,86 |
| (XXI) | 58 | — | | 0,59 (А); 0 (Д); 0,13 (Е) | — | — |
| (XXII) | 30 | -6 | H ₂ O (с 0,08) | 0,53 (А); 0,08 (Е) | — | 0,69 |
| (XXIII) | 72 | — | | — | — | — |
| (XXIV) | 33 | -44,5 | H ₂ O | 0,20 (А); 0,64 (Б); 0,06 (А+Е 1:1) | — | 1,44 |

* ТСХ на пластинках Merk (Kieselgel 60 F₂₅₄) в системах: пиридин — CH₃COOH — H₂O, 10 : 6 : 3 (А), *n*-бутанол — пиридин — CH₃COOH — H₂O, 10 : 6 : 5 (Б), пиридин — CH₃COOH — H₂O, 10 : 6 : 6 (В), *n*-бутанол — CH₃COOH — H₂O, 4 : 1 : 1 (Г), *n*-бутанол — пиридин — CH₃COOH — H₂O, 15 : 12 : 3 : 10 (Д), 5 : 10 : 6 : 4 (Е), 30 : 10 : 3 : 12 (Ж), 4 : 1 : 1 : 2 (З), 5 : 3 : 1 : 2 (И), этилацетат — ацетон — H₂O, 5 : 5 : 1 (К).

** Для соединений (I) — (XVI) приведены данные после их каталитического восстановления.

Boc-Lys(Z)-Pro-Val-Gly-(Lys(Z))₄-(Gly)₆-OBzl(II). К охлажденному до -5° С раствору 0,535 г (0,465 ммоль) *Boc-Lys(Z)-Pro-Val-Gly-Lys(Z)-Lys(Z)OH*, 0,455 г (0,465 ммоль) октапептида (I) и 0,3 мл (3 ммоль) *N*-метилморфолина в смеси 20 мл DMSO и 5 мл этилацетата добавляли 0,483 г (0,70 ммоль) комплекса F и перемешивали 70 ч при 20° С. К реакционной смеси прибавляли 1 мл CH₃COOH и перемешивали 1 ч. Отфильтровывали осадок дициклогексилмочевины и маточный раствор разбавляли 400 мл этилацетата и 10 мл эфира. Выпавший осадок отфильтровывали и высушивали. Выход соединения (II) 0,82 г (84%). Аналогично получали соединения (VI), (X), (XIV), (XVII), (XIX), (XXI) и (XXIII).

H-Lys(Z)-Pro-Val-Gly-(Lys)₄-(Gly)₆-OH · 5CH₃COOH (IV). 110 мг (0,054 ммоль) соединения (III) суспендировали в 10 мл CH₃COOH, добавляли палладиевую чернь и восстанавливали в токе водорода в течение 12 ч. Катализатор отфильтровывали и упаривали CH₃COOH. Остаток растворяли в воде и лиофилизировали. Выход соединения (IV) 85 мг (99%). Аминокислотный анализ: Val 0,92 (1), Gly 7,53 (7), Lys 5,0 (5), Pro 1,04 (1).

H-Lys-Pro-Val-Gly-(Lys)₄-(Phe)₆-OH · 5CH₃COOH (VIII). 55 мг (0,025 ммоль) соединения (VII) восстанавливали аналогично соединению (III). После упаривания CH₃COOH остаток растворяли в 10 мл системы Д и хроматографировали на колонке с силикагелем первоначально в системе *n*-бутанол — пиридин — CH₃COOH — H₂O, 30 : 10 : 3 : 12, а после выхода примеси с R_f 0,64 (в системе Д) — в системе Д. Фракции, содержащие соединение (VIII), объединяли и упаривали. Получали 7,9 мг (15%) соединения (VIII). Аминокислотный анализ: Lys 4,28 (5), Pro 0,92 (1), Val 1,0 (1), Gly 0,88 (1), Phe 6,32 (6).

H-Lys-Pro-Val-Gly-(Lys)₄-(Glu)₆-OH (XII). 0,38 г (0,131 ммоль) соединения (XI) восстанавливали аналогично соединению (III). После упаривания CH_3COOH остаток растворяли в 6 мл системы А и хроматографировали на колонке с силикагелем в этой же системе. Фракции, содержащие соединение (XII), объединяли и упаривали. Выход 34 мг (15,5%). Аминокислотный анализ: Lys 4,69 (5), Pro 1,09 (1), Val 0,96 (1), Gly 1,09 (1), Glu 6,24 (6).

H-Lys-Pro-Val-Gly-(Lys)₁₀-OH · 11CH₃COOH (XVI). 37 мг (0,03 ммоль) соединения (XV) восстанавливали аналогично соединению (III). Выход 73 мг (99%). Аминокислотный анализ: Lys 11,73 (11), Pro 1,09 (1), Val 1,0 (1), Gly 0,96 (1).

H-Ser-Tyr-Ser-Met-Glu-His-Phe-Arg-Trp-Gly-Lys-Pro-Val-Gly-(Lys)₄-(Gly)₆-OH · 5CH₃COOH (XVIII). Смесь 0,29 г (0,084 ммоль) соединения (XVII), 4 мг анизол и 0,1 г дитиотрепта обрабатывали 1 ч 10 мл жидкого HF при 20° С. HF отгоняли в вакууме и остаток распределяли между 30 мл воды и 30 мл этилацетата. Водный раствор обрабатывали 40 мл ионообменной смолы АВ 17×8 (в ацетатной форме, ионообменная емкость 0,28–0,32 мг-экв./мл), смолу отфильтровывали и промывали 30 мл 5% CH_3COOH . Водный и уксуснокислый растворы объединяли и лиофилизировали. Остаток растворяли в 10 мл системы Е и хроматографировали на колонке с силикагелем в этой же системе. Выход соединения (XVIII) 112 мг (32%). Аминокислотный анализ: Ser 1,43 (2), Glu 1,05 (1), Pro 1,20 (1), Gly 8,47 (8), Val 0,94 (1), Met 0,24 (1), Tyr 0,61 (1), Phe 0,66 (1), Lys 4,77 (5), His 0,65 (1), Arg 1,59 (1).

H-Ser-Tyr-Ser-Met-Glu-His-Phe-Arg-Trp-Gly-Lys-Pro-Val-Gly-(Lys)₄-(Phe)₆-OH · 5CH₃COOH (XX). 0,55 г (0,113 ммоль) соединения (XIX) обрабатывали HF аналогично соединению (XVII). После лиофилизации остаток растворяли в 12 мл системы Е и хроматографировали на колонке с силикагелем первоначально в системе *n*-бутанол – пиридин – CH_3COOH – H_2O , 30 : 10 : 3 : 9, а после выхода примесей – в системе Е. Фракции, содержащие соединение (XX), объединяли и упаривали. Выход 142 мг (48%). Аминокислотный анализ: Ser 1,72 (2), Glu 0,96 (1), Pro 1,04 (1), Gly 2,0 (2), Val 0,88 (1), Met 0,73 (1), Tyr 0,90 (1), Phe 7,20 (7), Lys 4,66 (5), His 0,71 (1), Arg 0,73 (1).

H-Ser-Tyr-Ser-Met-Glu-His-Phe-Arg-Trp-Gly-Lys-Pro-Val-Gly-(Lys)₄-(Glu)₆-OH (XXII). 0,27 г (0,06 ммоль) соединения (XXI) обрабатывали HF аналогично соединению (XVII). После лиофилизации остаток растворяли в 10 мл смеси систем А и Д (1 : 1) и хроматографировали на колонке с силикагелем в системе Д. Фракции, содержащие соединение (XXII), объединяли и упаривали. Выход 53 мг (30%). Аминокислотный анализ: Ser 2,25 (2), Glu 6,72 (7), Pro 1,23 (1), Gly 1,92 (2), Val 1,01 (1), Met 0,54 (1), Tyr 0,95 (1), Phe 0,82 (1), Lys 5,95 (5), His 0,90 (1), Arg 0,93 (1).

H-Ser-Tyr-Ser-Met-Glu-His-Phe-Arg-Trp-Gly-Lys-Pro-Val-Gly-(Lys)₁₀-OH · 11 CH₃COOH (XXIV). 0,24 г (0,114 ммоль) соединения (XXIII) обрабатывали HF аналогично соединению (XVII). После лиофилизации остаток растворяли в 10 мл системы А и хроматографировали на колонке с силикагелем первоначально в системе Д, а после выхода примесей – в системе А. Фракции, содержащие соединение (XXIV), объединяли и упаривали. Выход 137 мг (33%). Аминокислотный анализ: Ser 1,45 (2), Glu 1,12 (1), Pro 0,87 (1), Gly 2,04 (2), Val 1,11 (1), Met 0,74 (1), Tyr 0,94 (1), Lys 12,6 (11), His 0,95 (1), Arg 1,09 (1), Phe 1,35 (1).

ЛИТЕРАТУРА

1. Шредер Э., Любке К. Пептиды. Т. 2. М.: Мир, 1969, с. 259–325.
2. Ramachandran J., Chung D., Li C. H. J. Amer. Chem. Soc., 1965, v. 87, № 12, p. 2691–2708.
3. Schwyzer R. Ann. N. Y. Acad. Sci., 1977, v. 297, p. 3–26.
4. Чипенс Г. И. В сб.: Структура и функции низкомолекулярных пептидов. Рига: Зинатне, 1980, с. 11–124.
5. Скуиньш А. А., Раткевич М. П., Кублиц Г. Г., Поруникевич Е. А., Сысков И. В., Чипенс Г. И. Биохимия, 1982, № 7, с. 1108–1112.
6. Сысков И. В., Кублиц Г. Г., Скуиньш А. А., Раткевич М. П., Катаев Б. С., Поруникевич Е. А., Афанасьева Г. А., Пудане З. П., Романовский П. Я., Чипенс Г. И.

- Всес. симпозиум «Перспективы биоорганической химии в создании новых лекарственных веществ». Тез. докл. Рига: Зинатне, 1982, с. 83.
7. Davidson B., Fasman G. D. *Biochemistry*, 1967, v. 6, № 6, p. 1616–1629.
 8. Jirgensons B. J. *Biol. Chem.*, 1965, v. 240, № 3, p. 1064–1071.
 9. Riniker B., Rittel W. *Helv. chim. acta*, 1970, B. 53, S. 513–519.
 10. Сысков И. В., Романовский П. Я., Чипенс Г. И. *Биоорганическая химия*, 1983, т. 9, № 11, с. 1483–1492.
 11. Holliday L. A., Puett D. *Biopolymers*, 1976, v. 15, p. 43–59.
 12. Greff D., Toma F., Femandijan S., Low M., Kisfaludy L. *Biochim. et biophys. acta*, 1976, v. 439, p. 219–231.
 13. Gibson M. D., Li C. H. *Int. J. Peptide and Prot. Res.*, 1979, v. 14, p. 113–122.
 14. Toma F., Dive V., Lam-Thank, Pirion F., Lintner K., Femandijan S., Low M., Kisfaludy L. *Biochimie*, 1981, B. 63, № 12, S. 907–910.
 15. Сысков И. В., Катаев Б. С., Раткевич М. П., Скуиньш А. А., Романовский П. Я., Порункевич Е. А., Чипенс Г. И. *Изв. АН ЛатвССР. Сер. хим.*, 1982, № 6, с. 728–731.
 16. Greenfield N., Fasman G. D. *Biochemistry*, 1969, v. 8, p. 4108–4116.
 17. Jaffe H. H., Orchin M. *Theory and Application of Ultraviolet Spectroscopy*. N. Y.—London: John Wiley and Sons. Inc., 1964, p. 299.
 18. Timasheff S. N., Gorbunoff M. J. *Ann. Rev. Biochem.*, 1967, v. 36, p. 13–21.
 19. Сысков И. В., Ашманис А. А., Романовский П. Я., Чипенс Г. И. *Изв. АН ЛатвССР. Сер. хим.*, 1981, № 3, с. 352–359.
 20. Порункевич Е. А., Кубаис Г. Г., Скуиньш А. А., Чипенс Г. И. *Биохимия*, 1977, т. 42, № 2, с. 267–272.

Поступила в редакцию
15.II.1983
После доработки
31.X.1983

**ACTH STRUCTURE-FUNCTION ORGANIZATION: SYNTHESIS AND PROPERTIES
OF ACTH-(11–24)-TETRADECA- AND ACTH-(1–24)-TETRACOSAPEPTIDES
CONTAINING HEXAAMINO-ACIDS INSTEAD OF THE NATURAL SEQUENCE
ACTH 19–24**

SYSKOV I. V., ROMANOVSKIS P. J., VOSEKALNA I. A.,
SKUJINS A. A., RATKEVICH M. P., KATAEV B. S.,
PORUNKEVICH E. A., CHIPENS G. I.

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

To assess the role of amino acid sequence ACTH 19–24 in the corticotropin structure and steroidogenic activity, the analogues of ACTH-(11–24)-tetradeca- and ACTH-(1–24)-tetracosapeptides containing hexaglycine, hexaphenylalanine, hexaglutamic acid or hexalysine instead of the natural 19–24 sequence have been synthesized by conventional methods. All these compounds in water have the CD curves characteristic of random coil, CD spectra of analogue ACTH-(1–24)-tetracosapeptide and hexalysine-containing analogue ACTH-(11–24)-tetradecapeptide in trifluoroethanol indicate the presence of α -helices. The latter compound manifested higher steroidogenic activity than ACTH-(11–24)-tetradecapeptide. All the other analogues were either less active than ACTH-(1–24)-tetracosapeptide or inactive over the concentration range 10^{-5} – 10^2 mg/ml, thereby testifying to functional importance of the 19–24 sequence for manifesting full steroidogenic activity.