



## ПИСЬМА РЕДАКТОРУ

УДК 577.175.722'17

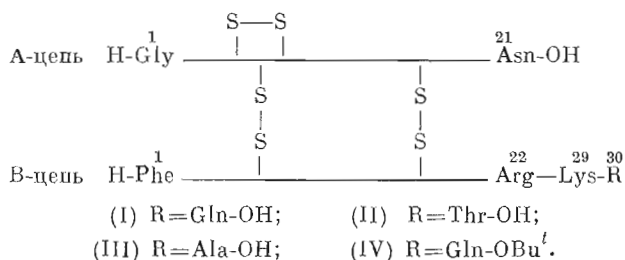
### НОВЫЙ СТРУКТУРНЫЙ АНАЛОГ ИНСУЛИНА ЧЕЛОВЕКА — [ГЛУТАМИН-В<sup>30</sup>] ИНСУЛИН

*Швачкин Ю. П., Краснощечкова С. П., Никитина А. М.,  
Волюйская Е. Н., Федотов В. П., Иванова А. И.*

*Институт экспериментальной эндокринологии и химии гормонов  
Академии медицинских наук СССР, Москва*

Изучая закономерности структурно-функциональной организации инсулина, мы получили не известный ранее структурный аналог (I) инсулина человека, отличающийся от природного гормона (II) замещением остатка *L*-треонина в положении 30 В-цепи на остаток *L*-глутамина.

Получение [глутамин-В<sup>30</sup>]инсулина (I) осуществлено по двустадийной схеме ферментативно-химическим способом, использованным ранее Морихарой [1] для превращения инсулина свиньи в инсулин человека. Первая стадия заключается в катализируемом трипсином трансамидировании свиного инсулина (III). Реакция протекает при взаимодействии последнего с *трет*-бутиловым эфиром *L*-глутамина в водно-органической среде (вода — диметилформамид) при 25°С и pH 6,3. В указанных условиях реакция ферментативного трансамидирования осуществляется только по остатку Lys<sup>B29</sup>, а нежелательной побочной реакции по остатку Arg<sup>B22</sup> не происходит.



Вторая стадия процесса заключается в химическом деблокировании образовавшегося на первой стадии сложноэфирного производного инсулина (IV) и имеет целью исчерпывающее удаление С-защитной *трет*-бутильной группировки из остатка Gln<sup>B30</sup>.

Соединение (IV) предварительно очищают ионообменной хроматографией на DEAE-сефадексе А-25, а затем обрабатывают трифторуксусной кислотой при 20°С в присутствии анизола. Образовавшийся [глутамин-В<sup>30</sup>]инсулин (I) выделяют из реакционной смеси с помощью гель-фильтрации на сефадексе G-25. Ход и степень очистки контролируют посредством хроматографии в тонком слое силикагеля, электрофореза на целлюлозе и диск-электрофореза в полиакриламидном геле.

После лиофилизации элюата получают [глутамин-В<sup>30</sup>]инсулин (I) в аналитически чистом виде.

[Глутамин-В<sup>30</sup>]инсулин (I). ТСХ осуществляли на пластинках «Silufol UV-254», проявление — реактивом Паули [2];  $R_f$  0,48 (пиридин — *n*-бутанол — уксусная кислота — H<sub>2</sub>O, 10 : 15 : 3 : 12), 0,65 (изопропанол — 25% NH<sub>4</sub>OH, 7 : 4), 0,80 (пиридин — ацетон — H<sub>2</sub>O, 2 : 1 : 1), 0,93 (изопропанол — 25% NH<sub>4</sub>OH — H<sub>2</sub>O, 7 : 4 : 6). Электрофоретическая подвижность относительно бис-*S*-сульфоната В-цепи инсулина человека равна 1,35

(Вагман № 1, рН 1,9, 450 В, 7 мА). Аминокислотный анализ: Asp 3,00(3), Thr 1,76(2), Ser 2,80(3), Glu 8,10(8), Pro 0,99(1), Gly 3,90(4), Ala 1,02(1), Gys 5,40(6), Val 3,80(4), Ile 1,66(2), Leu 6,00(6), Tyr 3,20(4), Phe 2,80(3), His 2,00(2), Lys 1,01(1), Arg 1,00(1). Результаты определения С-концевых аминокислот: Asn 0,98(1), Gln 0,97(1).

При тестировании по судорожному эффекту у мышей [3] биологическая активность соединения (I) составляет 100% (сравнение с активностью международного стандарта инсулина).

#### ЛИТЕРАТУРА

1. *Moriyama K., Oka T., Tsuzuki H.* Nature, 1979, v. 280, № 5721, p. 412-413.
2. *Стюарт Дж., Янг Дж.* Твердофазный синтез пептидов. М.: Мир, 1971, с. 130.
3. *Smith K. L.* Methods in Hormone Research, 1962, v. 2, p. 439.

Поступило в редакцию  
12.XII.1983

### A NOVEL STRUCTURAL ANALOGUE OF HUMAN INSULIN: [GLUTAMINE-B<sup>30</sup>] INSULIN

SHVACHKIN Yu. P., KRASNOSHCHKOVA S. P., NIKITINA A. M.,  
VOLUISKAYA E. N., FEDOTOV V. P., IVANOVA A. I.

*Institute of Experimental Endocrinology and Hormone Chemistry,  
Academy of Medical Sciences of the USSR, Moscow*

A new structural analogue of human insulin, [glutamine-B<sup>30</sup>]insulin, has been prepared by enzymatic-chemical means. This analogue differs from natural hormone by substitution of the Thr<sup>B<sup>30</sup></sup> residue. Biological activity of the [glutamine-B<sup>30</sup>]insulin is 100% in the mouse convulsion assay.