



УДК 577.175.8'17

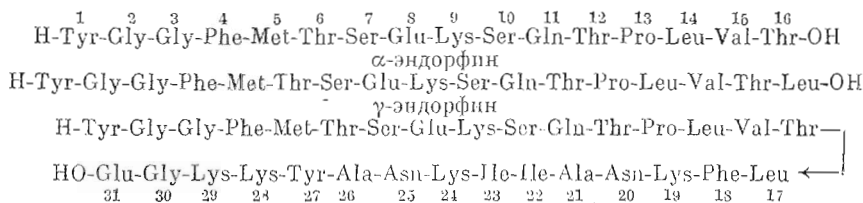
СИНТЕЗ ЭНДОРФИНОВ

*Беспалова Ж. Д., Азьмук А. А., Форнер К., Молокоедов А. С.,
Сенетов Н. Ф., Исакова О. Л., Рууге Э. К., Титов М. И.*

*Всесоюзный кардиологический научный центр
Академии медицинских наук СССР, Москва*

Классическими методами пептидной химии синтезированы α -, γ -, дез-1-тирозин- γ - и β -эндорфины. Оптическая чистота продуктов проверена методами ГЖХ и ¹H-ЯМР. Проведена оценка опиатной активности синтетических эндорфинов.

В 1976 г. Гийомен с сотр. [1] показали, что в гипофизе и гипоталамусе млекопитающих содержится несколько структурно родственных полипептидов, обладающих морфиноподобным действием. Эти пептиды, названные α -, γ - и β -эндорфинами, содержат в своем составе от 16 до 31 аминокислотного остатка:



β -эндорфин человека

Позднее было показано, что одним из главных метаболитов β -эндорфина в мозге является не обладающий опиоидной активностью дез-Тур¹- γ -эндорфин, играющий важную роль в развитии психопатологических состояний [2-4].

Многообразие и важность функций, выполняемых эндорфинами в организме, определили большой интерес к этой группе соединений, поэтому непосредственно за установлением структуры последовал целый ряд синтетических работ, причем основное внимание было уделено синтезу β -эндорфина. Первые синтезы β -эндорфина были выполнены с помощью твердофазного метода [5, 6]. В последующие годы несколько групп исследователей сообщили о синтезе человеческого β -эндорфина классическими методами пептидной химии [7-11].

Настоящая работа посвящена разработке схемы, общей для синтеза α -, γ -, дез-Тур¹- γ -эндорфинов и β -эндорфина человека.

Полная последовательность β -эндорфина была разбита нами на два основных фрагмента: 1-17 (последовательность γ -эндорфина) и 18-31. Кроме того, был предусмотрен синтез фрагментов 2-17 (дез-Тур¹- γ -эндорфин) и 1-16 (α -эндорфин). В свою очередь эти фрагменты были разбиты на более мелкие, которые были синтезированы методом последовательного наращивания аминокислотной цепи по одной аминокислоте, начиная с С-конца. Для защиты боковых функциональных групп глутаминовой кислоты (положения 8 и 31) и лизина (положения 9, 19, 24, 28 и 29) были использованы защиты *tert*-бутильного типа, остальные боко-

Сокращения: Np - 4-нитрофенил, Pcr - пентахлорфенил, HONB - N-гидроксипорборн-5-ен-2,3-дикарбоксимид, DCC - N,N'-дидицилогексилкарбодимид, NMM - N-метилморфолин, BuONO - *n*-бутилнитрит, TFA - трифторуксусная кислота, DMF - диметилформамид.

вые функциональные группы не защищались. Таким образом, были синтезированы следующие защищенные фрагменты:

Boc-Tyr-Gly-Gly-Phe-Met-OH (1 — 5), Boc-Gly-Gly-Phe-Met-OH (2 — 5),
Z-Thr-Ser-OMe (6 — 7), Z-Glu(OBu^t)-Lys(Boc)-Ser-N₂H₃ (8 — 10),
Boc-Gln-Thr-Pro-OH (11 — 13), Boc-Leu-Val-Thr-OH (14 — 16),
Boc-Leu-Val-Thr-Leu-OH (14 — 17), Z-Phe-Lys(Boc)-Asn-Ala-OH (18 — 21),
Z-Phe-Phe-OH (22 — 23), Z-Lys(Boc)-Asn-Ala-OH (24 — 26),
Z-Tyr-Lys(Boc)-Lys(Boc)-Gly-Glu(OBu^t)-OBu^t (27 — 31).

Следует отметить ряд особенностей, которые встретились при синтезе этих фрагментов. Прежде всего, большинство фрагментов было синтезировано со свободной С-терминальной карбоксильной группой (защита на время конденсации солеобразованием). При этом для синтеза фрагментов 11—13, 18—21 и 24—26 оказалось предпочтительнее проводить конденсацию в безводной среде, используя в качестве основания тритон В.

Все попытки провести последовательное присоединение остатков серина-7 и треонина-6 к трипептиду 8—10 оказались безуспешными, поэтому дипептид Z-Thr-Ser-OMe был синтезирован отдельно конденсацией пентахлорфенилового эфира карбобензокситреонина с метиловым эфиром серина.

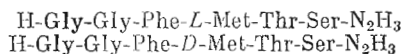
При анализе литературных данных [7—10] были отмечены трудности, связанные с образованием пептидной связи между двумя остатками изолейцина (положения 22 и 23), в связи с чем этот дипептид (Z-Phe-Phe-OH) также был синтезирован отдельно. Фрагмент 27—31 первоначально был синтезирован со свободными карбоксильными группами С-терминальной глутаминовой кислоты. Однако растворимость полученного пентапептида оказалась очень низкой, еще более низкой оказалась растворимость продукта конденсации фрагментов 24—26 и 27—31. В результате фрагмент 27—31 был получен в виде соответствующего ди-*трет*-бутилового эфира. При этом наиболее удобным оказался первоначальный синтез тетрапептида 27—30 со свободной карбоксильной группой глицина с последующим присоединением к нему ди-*трет*-бутилового эфира глутаминовой кислоты.

Для конденсации фрагментов друг с другом был использован метод смешанных ангидридов, а также азидный и карбодимидный методы. Конкретная последовательность конденсаций фрагментов представлена на схемах 1—3. Защищенные пептиды, соответствующие последовательностям эндорфинов, обрабатывали 90% водной трифторуксусной кислотой и подвергали очистке с помощью распределительной хроматографии на колонке с сефадексом G-25 в системе растворителей *n*-бутанол—1% уксусная кислота—пиридин (5:11:3).

Синтезированные α-, γ-, дез-1-тирозин-γ- и β-эндорфины имели корректный аминокислотный состав, были гомогенны при контроле методами тонкослойной и высокоэффективной жидкостной хроматографии (рис. 1), а также охарактеризованы спектрами ЯМР (спектры не приведены).

Оптическая чистота синтезированного β-эндорфина была проверена с помощью ГЖХ на хиральной неподвижной фазе [12]. Полученные данные свидетельствуют об отсутствии рацемизации в пределах чувствительности метода (1%). (Этот анализ был выполнен Е. Е. Максимовым и В. С. Присяжником в Институте белка АН СССР, Пущино.)

Кроме того, было проведено отдельное исследование, позволяющее оценить возможную рацемизацию остатков метионина-5 и серина-10 в процессе их активации и конденсации в составе фрагментов. С этой целью были получены и интерпретированы спектры ЯМР следующих пар специально синтезированных диастереомеров:



(XLIII),
(XLII)

Схема 1

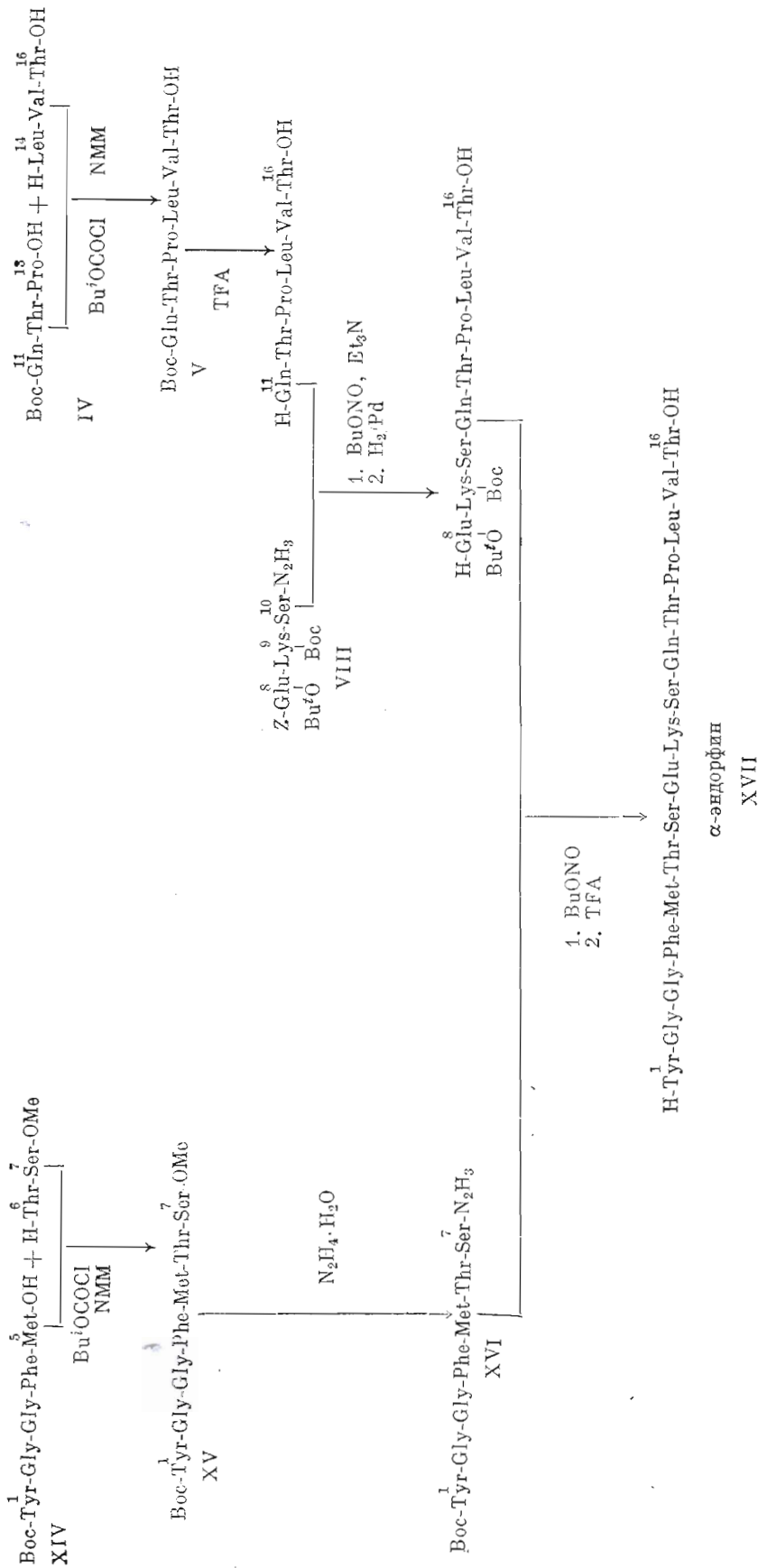


Схема 2

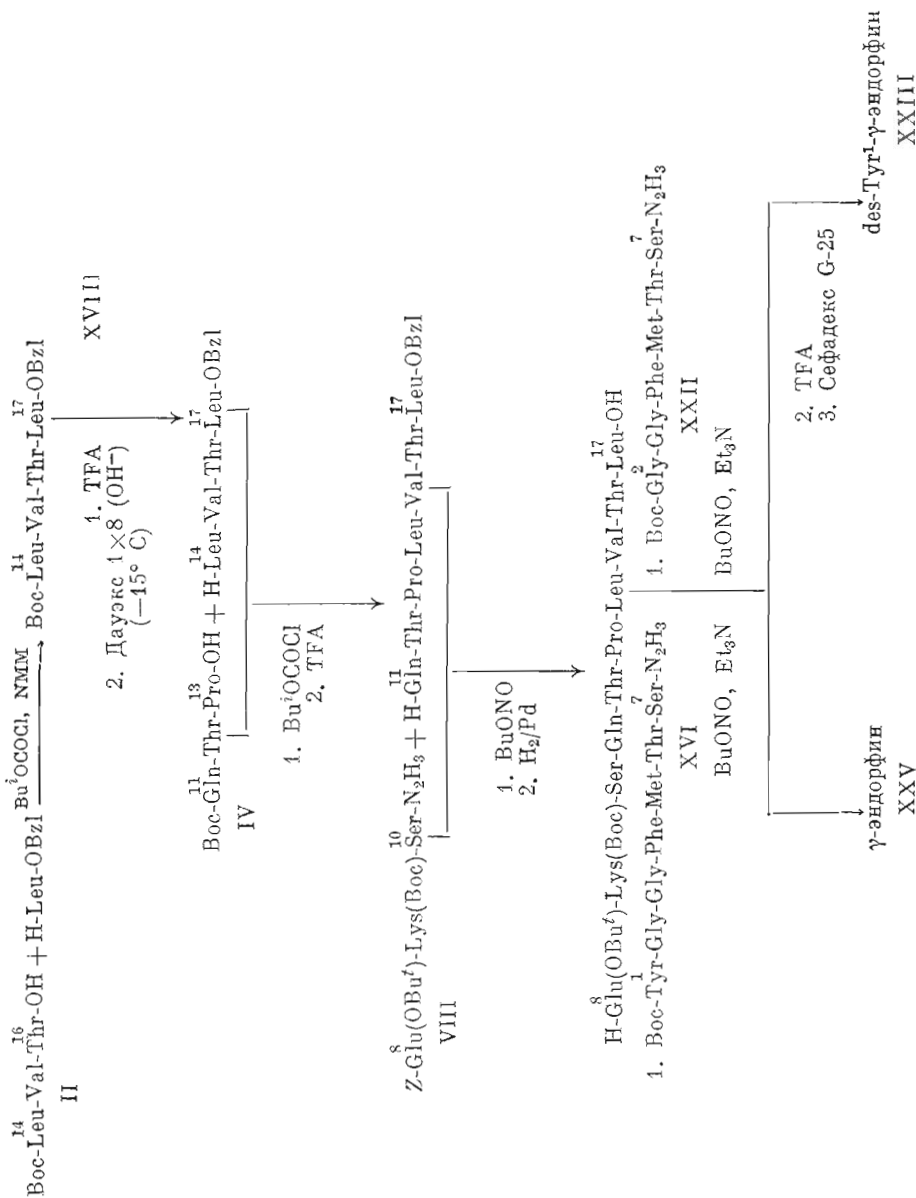
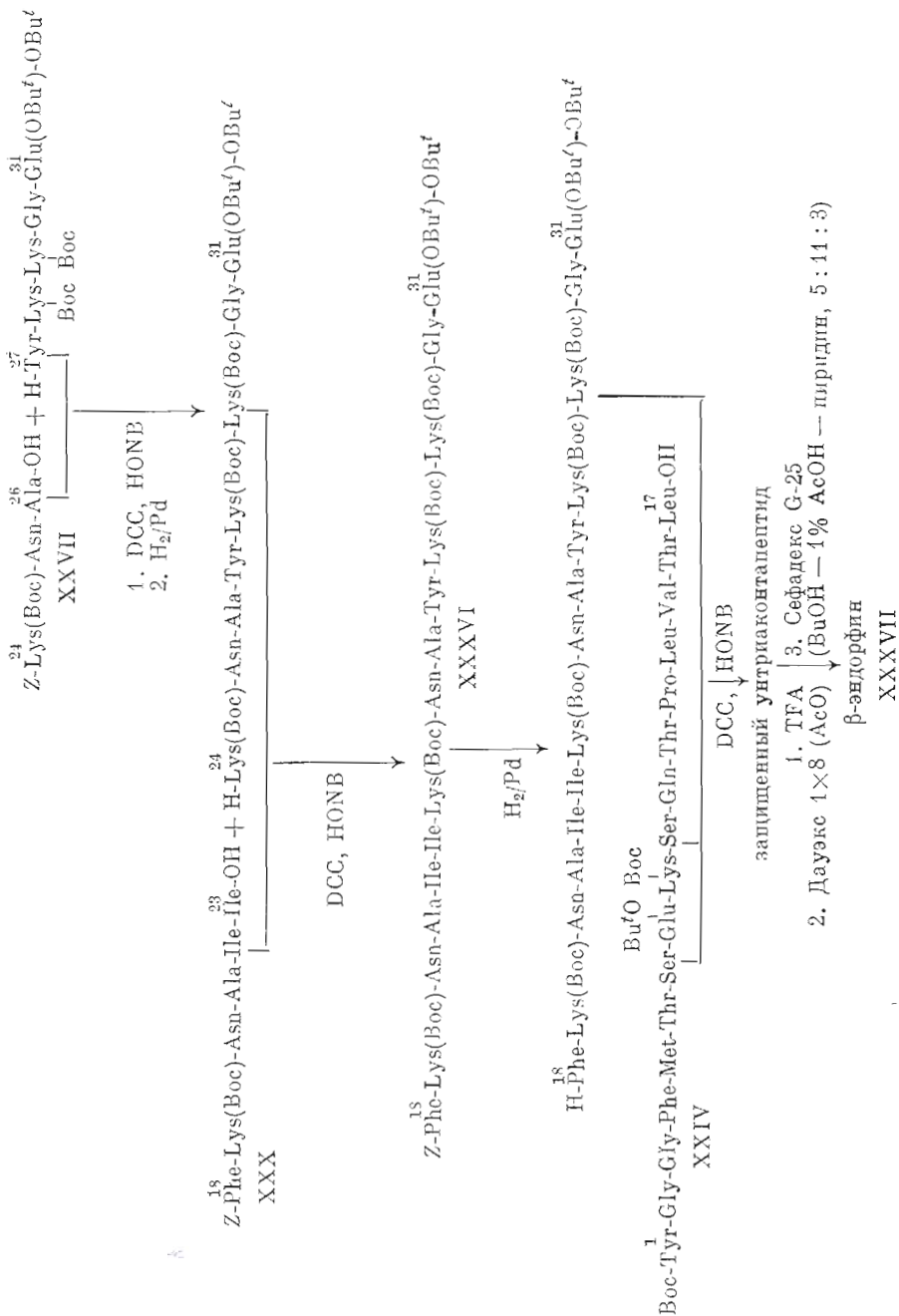


Схема 3



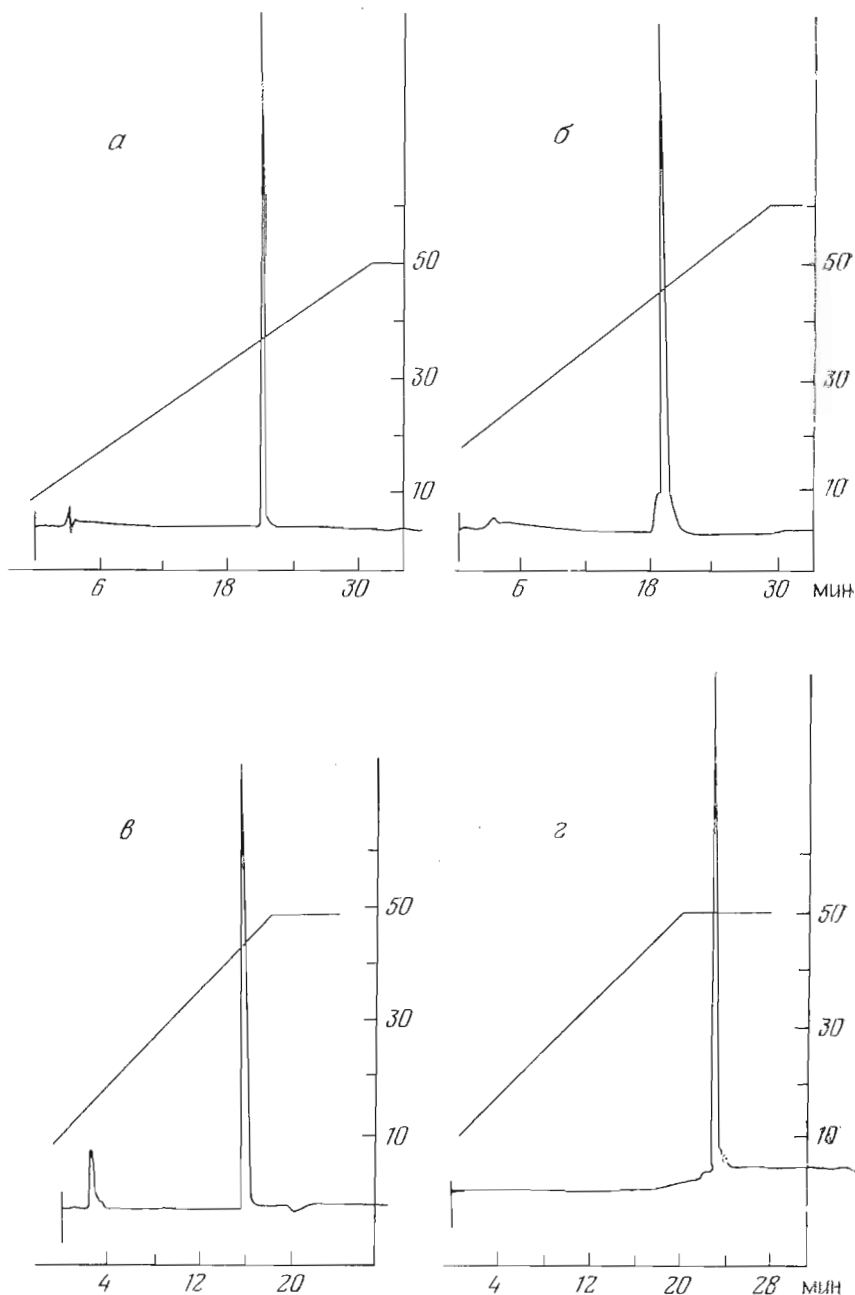
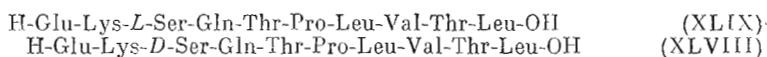


Рис. 1. ВЭЖХ эндорфинов: α (а), β (б), γ (в) и дез-Тур¹- γ (г). Колонка Spherisorb ODS (б), Ultrasphere ODS (а, в, г). Градиент концентрации ацетонитрила в 0,05 М KH_2PO_4 (рН 3,0). ВЭЖХ проводилась на приборе Altex 332 с использованием детектора Altex/Hitachi 155-40 при длине волны 220 нм

(синтезированы конденсацией фрагментов методом смешанных ангидридов, активируемый остаток — метионин)



(азидная конденсация по серпину-10).

Спектры первой пары диастереомеров значительно отличаются друг от друга (рис. 2), при этом заметные изменения химических сдвигов наблюдаются не только для протонов остатка метионина, но и для протонов других аминокислотных остатков. Таким образом, наличие примеси

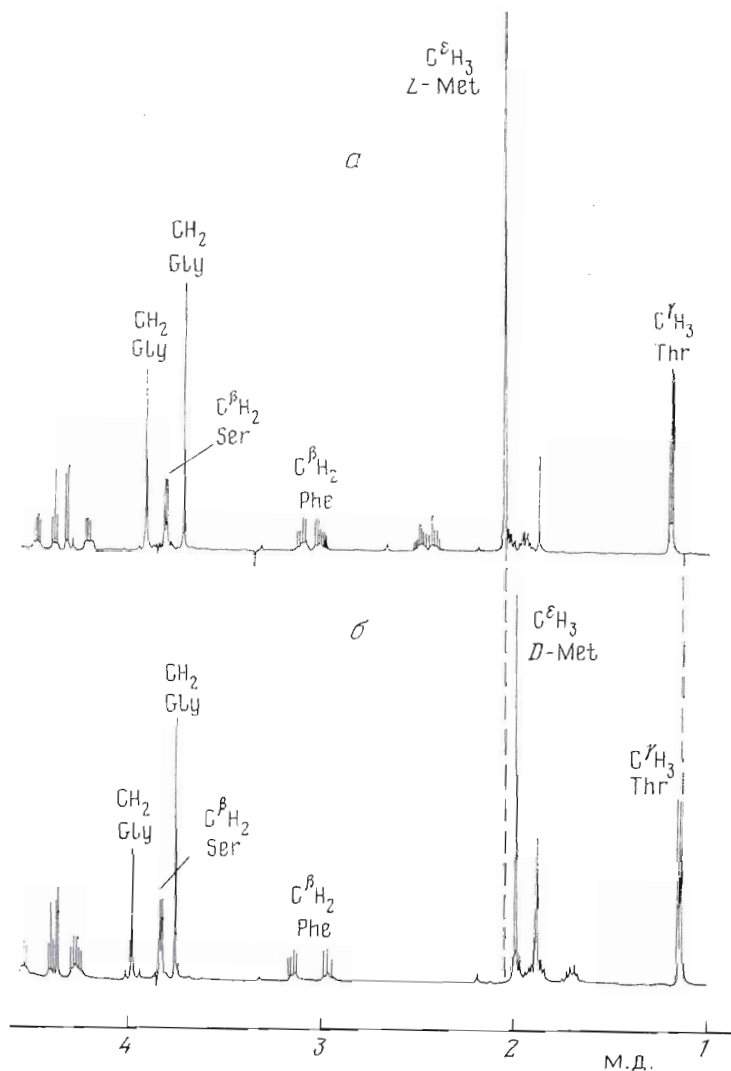


Рис. 2. Спектры ^1H -ЯМР (500 МГц) фрагмента эндорфина Gly-Gly-Phe-L-Met-Thr-Ser- N_2H_3 (XLIII) (а) и его диастереомера Gly-Gly-Phe-D-Met-Thr-Ser- N_2H_3 (XLII) (б)

L-D-L-L-диастереомера в пептиде (XLIII) наиболее удобно оказалось определять по сигналу треонина (1,156 м.д.), а *L-L-L-L*-диастереомера в пептиде (XLII) — по сигналу метионина (2,081 м.д.). При этом для данной пары диастереомеров минимальное количество примеси оптического изомера, которое может быть определено методом ЯМР, составляет доли процента.

Более сложным оказался анализ спектров второй пары диастереомеров (XLIX и XLVIII) из-за большего числа аминокислотных остатков, входящих в состав пептидов, и отсутствия ароматических остатков. На рис. 3а приведена часть спектра ^1H -ЯМР пептида (XLVIII). В верхнюю часть рисунка вынесены сигналы (рис. 3б), анализ которых позволил определить наличие в исследованном пептиде примеси его оптического изомера. Спектр, приведенный на рис. 3в, представляет собой суперпозицию спектров *L-L-L-L-L-L-L-L-L-L*- и *L-L-D-L-L-L-L-L-L-L*-диастереомеров. Численная оценка показывает, что примесь оптического изомера в данном образце составляет ~20%, в то время как подобный синтез пептида с *L*-серином (пептид XLIX) протекал без заметной рацемизации. Это различие связано, очевидно, со структурными особенностями активируемых фрагментов. Для данной пары диастереомеров метод ЯМР

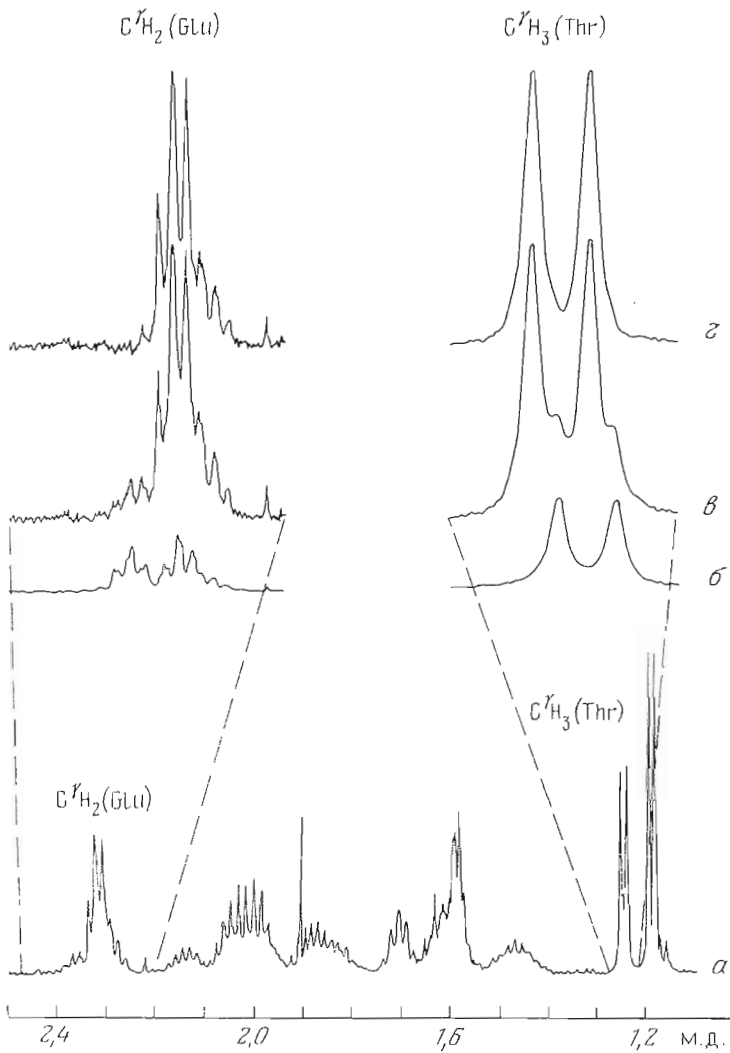


Рис. 3. Часть спектра ^1H -ЯМР (500 МГц) пептида Glu-Lys-D-Ser-Gln-Thr-Pro-Leu-Val-Thr-Leu (XLVIII) (а); а – сигналы $\text{C}^\gamma\text{H}_2(\text{Glu})$ и $\text{C}^\gamma\text{H}_2(\text{Thr})$ из спектра, приведенного на рис. 3а; б, з – сигналы $\text{C}^\gamma\text{H}_2(\text{Glu})$ и $\text{C}^\gamma\text{H}_3(\text{Thr})$ в спектрах ^1H -ЯМР (500 МГц) оптически чистых пептидов Glu-Lys-Ser-Gln-Thr-Pro-Leu-Val-Thr-Leu (XLIX) (б) и Glu-Lys-D-Ser-Gln-Thr-Pro-Leu-Val-Thr-Leu (XLVIII) (з)

не может обеспечить высокой чувствительности определения примеси оптического изомера, однако можно уверенно утверждать, что примесь оптического изомера в пептиде (XLIX) заведомо не превышает 5%.

Опиатная активность синтезированных эндорфинов была проверена по связыванию с гомогенатами мозга крысы (работа была выполнена К. Н. Ярыгиным). Поскольку биологическая активность эндорфинов коррелирует с их способностью конкурировать с радиоактивно мечеными опиоидами за опиоидные рецепторы, в качестве оценки биологической активности может быть использована величина константы ингибирования эндорфином связывания меченого лиганда с опиоидными рецепторами. Константа ингибирования была вычислена по формуле Чепга – Пруссоффа [13]. В качестве меченых лигандов были использованы меченые тритием [$D\text{-Ala}^2$, $D\text{-Leu}^5$] энкефалин (DADLE) и β -эндорфин. Константа ингибирования (K_i) составила: β -эндорфин – 0,49 нМ ($[^3\text{H}]\beta$ -эндорфин), γ -эндорфин – 53,3 нМ ($[^3\text{H}]\text{DADLE}$), α -эндорфин – 43,3 нМ ($[^3\text{H}]\text{DADLE}$). Литературные данные: β -эндорфин [14] – 0,43 нМ ($[^3\text{H}]\beta$ -эндорфин), γ -эндорфин [15] – 10 нМ $< K_i < 100$ нМ ($[^3\text{H}]\text{ди}$ -

гидроморфин), α -эндорфин [16] — $10 \text{ нМ} < K_1 < 100 \text{ нМ}$ (^3H)дигидроморфин).

Следует отметить, что все синтезы эндорфинов были многократно повторены, при этом была показана хорошая воспроизводимость всех без исключения стадий и подтверждено отсутствие рацемизации при конденсации фрагментов.

Экспериментальная часть

В работе использовались аминокислоты и их производные фирм Reanal (Венгрия), Fluka (Швейцария). Индивидуальность полученных соединений проверялась методом ТСХ на хроматографических пластинках Kieselgel 60 (Merck, ФРГ) в системах растворителей: хлороформ — метанол, 3:1 (А); этилацетат — пиридин — уксусная кислота — вода, 90:20:6:11 (Б); *n*-бутанол — уксусная кислота — вода, 3:1:1 (В); хлороформ — метанол — 32% уксусная кислота, 60:45:20 (Г); этилацетат (Д); этилацетат — пиридин — уксусная кислота — вода, 45:20:6:11 (Е); хлороформ — метанол — уксусная кислота, 9:1:0,5 (Ж); этилацетат — *n*-бутанол — уксусная кислота — вода, 1:1:1:1 (З); *n*-бутанол — пиридин — уксусная кислота — вода, 8:3:1:4 (И), хлороформ — метанол — уксусная кислота, 32:2:1 (К); *n*-бутанол — пиридин — уксусная кислота — вода, 10,5:6:1:7,5 (Л); *n*-бутанол — уксусная кислота — вода, 4:1:2 (М); *n*-бутанол — уксусная кислота — вода — пиридин, 15:3:12:2 (Н). Вещества обнаруживали на хроматограммах с помощью нингидрина или хлорбензидина. Гидрирование пептидов проводили в присутствии 10% Pd/C фирмы Fluka или Merck (5–10% по весу).

Удельное оптическое вращение определяли на поляриметре Perkin — Elmer (США). Аминокислотный анализ пептидов, гидролизованных в 6*n*. соляной кислоте с 2% фенола при 110°С в течение 24 ч, проводили на автоматическом анализаторе Labotron Liquimat (ФРГ).

При ВЭЖХ для разделения применяли ацетонитрил фирмы Merck (Lichrosolv), воду и трифторуксусную кислоту, трижды переснятые в стеклянной посуде, KH_2PO_4 фирмы Sigma. Индивидуальность полученных соединений подтверждена спектрами ^1H -ЯМР. Спектры получали на спектрометре WH-500 (Bruker, ФРГ) с рабочей частотой 500 МГц при 37°С. Химические сдвиги в спектрах ^1H -ЯМР измерены относительно внутреннего стандарта — 2,2-диметил-2-силацетат-5-сульфоната натрия. Отнесение сигналов в спектрах сделано с помощью двойного резонанса. Образцы для спектров готовили растворением 1 мг соединения в 0,5 мл фосфатного буфера, pH 7,4, пригодовленного на D_2O .

Растворы упаривали в вакууме при температуре не выше 40°С.

Z-Val-Thr-OH (I). 3,6 г (30,2 ммоль) *L*-треонина растворяли в 30,2 мл 1*n*. NaOH и добавляли к раствору 11,2 г (30,1 ммоль) *Z*-Val-ONp в 100 мл DMF. Смесь выдерживали 24 ч при 20°С, упаривали, остаток растворяли в воде, экстрагировали эфиром. Водный слой подкисляли 0,5*n*. H_2SO_4 , выпавший осадок отфильтровывали, промывали водой, сушили. После кристаллизации из этилацетата получили 8,2 г (77%) соединения (I) с $[\alpha]_{\text{D}}^{20} - 14,7^\circ$ (*c* 1, DMF), R_f 0,37 (А), 0,63 (Б), 0,77 (В).

Voc-Leu-Val-Thr-OH (II). 7,3 г (20,7 ммоль) соединения (I) гидрировали в 70 мл метанола, выпавший осадок растворяли добавлением 20,7 мл 1*n*. NaOH, катализатор отфильтровывали, промывали водой. Фильтрат упаривали до объема 20 мл и добавляли к раствору 6,9 г (21 ммоль) *Voc-Leu-ONSu* в 75 мл DMF. Смесь выдерживали 12 ч при 20°С, упаривали, обрабатывали эфиром. Выпавший осадок отфильтровывали, промывали эфиром, растворяли в воде, подкисляли 0,5*n*. H_2SO_4 , экстрагировали этилацетатом. Органический слой промывали водой, сушили, упаривали. После переосаждения из метанола эфиром получили 8,6 г (96%) соединения (II) с $[\alpha]_{\text{D}}^{20} - 13^\circ$ (*c* 1, DMF), R_f 0,69 (Б), 0,87 (В), 0,82 (Г).

Z-Thr-Pro-OH (III). 2,3 г (20 ммоль) *L*-пролина растворяли в 10 мл 40% тритона В в метаноле (20 ммоль), метанол упаривали, остаток растворяли в 50 мл DMF, охлаждали до 0°С и добавляли к раствору 5,0 г (20 ммоль) *Z*-Thr-OPep. Смесь выдерживали 1 ч при 20°С, упаривали, остаток растворяли в воде, экстрагировали эфиром. Водный слой подкисляли 0,5*n*. H_2SO_4 , экстрагировали этилацетатом. Этилацетатный раствор промывали водой, сушили, упаривали. Остаток растворяли в 100 мл эфира, оставляли на ночь. Выпавший осадок отфильтровывали, промывали эфиром, сушили. Получили 5,64 г (80%) соединения (III) с $[\alpha]_{\text{D}}^{20} - 46^\circ$ (*c* 1, DMF), R_f 0,45 (В), 0,5 (Б), 0,84 (Г).

Voc-Gln-Thr-Pro-OH (IV). 5,8 г (16,6 ммоль) соединения (III) гидрировали в 60 мл метанола, выпавший осадок растворяли добавлением 16,6 мл 1*n*. NaOH, катализатор отфильтровывали, промывали водой, фильтрат упаривали, остаток растворяли в 30 мл воды и добавляли к раствору 6,4 г (17,4 ммоль) *Voc-Gln-ONp* в 90 мл дioxана. Смесь выдерживали 20 ч при 20°С, упаривали, остаток растворяли в 150 мл воды, экстрагировали этилацетатом. Водный слой подкисляли 0,5*n*. H_2SO_4 , экстрагировали *n*-бутанолом. Бутанольный раствор промывали водой, упаривали. Остаток после упаривания кристаллизовали из метанола. Получили 6,2 г (84%) соединения (IV) с $[\alpha]_{\text{D}}^{20} - 45^\circ$ (*c* 1, DMF), R_f 0,40 (Б), 0,50 (В), 0,72 (Г).

Voc-Gln-Thr-Pro-Leu-Val-Thr-OH (V). а) 0,34 г (0,79 ммоль) соединения (II) растворяли в 10 мл трифторуксусной кислоты, выдерживали 1 ч при 20°С, упаривали,

обрабатывали эфиром. Выпавший осадок отфильтровывали, промывали эфиром, растворяли в воде и обрабатывали дауэском 1×8 в OH-форме. Смолу отфильтровывали, фильтрат упаривали, остаток растворяли в 5 мл DMF, добавляли 0,088 мл (0,79 ммоль) N-метилморфолина, охлаждали до -20°С.

б) 0,33 г (0,74 ммоль) соединения (IV) растворяли в 10 мл DMF, охлаждали до -15°С и при перемешивании добавляли 0,082 мл (0,74 ммоль) N-метилморфолина и 0,096 мл (0,74 ммоль) изобутилхлорформата. Смесь выдерживали 2 мин при -15°С, после чего добавляли к ней раствор, полученный по методике «а». Перемешивание продолжали 20 мин при -10°С, затем температуру медленно поднимали до 0°С и реакционную массу оставляли на ночь в холодильнике. Наутро реакционную смесь упаривали, остаток растворяли в воде, подкисляли 0,5 н. H₂SO₄, экстрагировали n-бутанолом. Бутанольный раствор промывали водой, сушили. После пересадки из изопропилового спирта эфиром получили 0,47 г (84%) соединения (V) с $[\alpha]_D^{20} -34^\circ$ (с 1, DMF), R_f 0,63 (B), 0,90 (Г). Аминокислотный анализ: Glu 1,1 (1), Thr 1,92 (2), Leu 1,03 (1), Val 1,15 (1); пролин не определяли.

Z-Lys(Boc)-Ser-OMe (VI). 6,33 г (25 ммоль) Z-Ser-OMe гидрировали в 80 мл метанола при 0°С, катализатор отфильтровывали, фильтрат упаривали, остаток растворяли в 100 мл DMF, охлаждали до -5°С, прибавляли к нему раствор 9,54 г (20 ммоль) Z-Lys(Boc)-ONSu в 50 мл DMF. Смесь выдерживали 2 ч при 20°С, упаривали, остаток растворяли в 200 мл этилацетата и последовательно промывали 0,5 н. H₂SO₄, водой, 5% NaHCO₃, водой, высушивали, упаривали. Оставшееся масло кристаллизовали из эфира. Получили 9,15 г (95%) соединения (VI) с $[\alpha]_D^{20} -26^\circ$ (с 1, DMF), R_f 0,86 (B), 0,58 (Д), 0,64 (Ж).

Z-Glu(OBu^t)-Lys(Boc)-Ser-OMe (VII) получали аналогично соединению (VI). Выход 97%, $[\alpha]_D^{20} -27^\circ$ (с 1, DMF), R_f 0,81 (A), 0,50 (Д), 0,64 (Ж).

Z-Glu(OBu^t)-Lys(Boc)-Ser-N₂H₃ (VIII). К раствору 3,75 г (5,62 ммоль) соединения (VII) в 25 мл метанола прибавляли 4 мл гидразингидрата, смесь выдерживали 12 ч при 20°С. Выпавшие кристаллы отфильтровывали, промывали водой, сушили. После кристаллизации из водного метанола получили 3,40 г (90%) соединения (VIII) с $[\alpha]_D^{20} -27^\circ$ (с 1, DMF), R_f 0,82 (A), 0,05 (Д), 0,51 (Ж).

Z-Glu(OBu^t)-Lys(Boc)-Ser-Gln-Thr-Pro-Leu-Val-Thr-OH (IX). a' 0,23 г (0,30 ммоль) соединения (V) растворяли в 1 мл трифторуксусной кислоты, выдерживали 1 ч при 20°С, разбавляли 30 мл эфира, выпавший осадок отфильтровывали, растворяли в 3 мл DMF, охлаждали до -30°С.

б) К охлажденному до -30°С раствору 0,24 г (0,36 ммоль) соединения (VIII) в 5 мл DMF прибавляли 0,3 мл 10 н. раствора хлористого водорода в тетрагидрофуране и 0,07 мл n-бутилцитрита. Раствор выдерживали 30 мин при -30°С и прибавляли к нему раствор, полученный по методике «а», и триэтиламин до pH 8,5. Смесь выдерживали 24 ч при 0°С, 48 ч при 20°С и упаривали. Остаток обрабатывали 20 мл 0,5 н. H₂SO₄, экстрагировали n-бутанолом. Органический слой промывали водой, сушили и упаривали. После пересадки из изопропилового спирта эфиром получили 0,35 г (90%) соединения (IX) с $[\alpha]_D^{20} -41^\circ$ (с 1, DMF), R_f 0,81 (B). Аминокислотный анализ: Thr 1,98 (2); Ser 0,97 (1); Glu 2,01 (2); Val 1,00 (1); Leu 1,01 (1); Lys 1,03 (1); Pro 1,03 (1).

Z-Thr-Ser-OMe (X) получали аналогично соединению (VI). Выход 80%, $[\alpha]_D^{20} -13^\circ$ (с 1, пиридин), R_f 0,4 (Д).

Boc-Phe-Met-OH (XI) получали аналогично соединению (I). Продукт кристаллизовали из смеси этилацетат-гексан. Выход 86%, $[\alpha]_D^{20} -10,9^\circ$ (с 1, метанол), R_f 0,69 (B), 0,77 (A).

Boc-Gly-Phe-Met-OH (XII). 6,0 г (15,1 ммоль) соединения (XI) обрабатывали 20 мин 30 мл 2 н. раствора хлористого водорода в уксусной кислоте, разбавляли эфиром, выпавший осадок отфильтровывали, промывали эфиром, растворяли в воде и обрабатывали дауэском 1×8 в ацетатной форме до отрицательной реакции на ионы хлора. Смолу отфильтровывали, промывали 10% уксусной кислотой, фильтрат упаривали, воду удаляли отгонкой с изопропиловым спиртом, остаток кристаллизовали под эфиром. Получили 3,7 г (12,5 ммоль) H-Phe-Met-OH, который растворяли в 12,5 мл 1 н. NaOH и прибавляли к раствору 3,4 г (12,5 ммоль) Boc-Gly-ONSu в 30 мл диоксана. Смесь выдерживали 20 ч при 20°С, диоксан упаривали, остаток разбавляли 0,5 н. H₂SO₄, экстрагировали этилацетатом, промывали водой, сушили и упаривали. После кристаллизации остатка из эфира получили 4,3 г (77%) соединения (XII) с $[\alpha]_D^{20} -13,9^\circ$ (с 1, метанол), R_f 0,89 (B), 0,78 (Л).

Boc-Gly-Gly-Phe-Met-OH (XIII) получали аналогично соединению (XII). Выход 76%, $[\alpha]_D^{20} -8,8^\circ$ (с 1, метанол), R_f 0,79 (B), 0,79 (Л).

Boc-Tyr-Gly-Gly-Phe-Met-OH (XIV) получали аналогично соединению (XIII). Выход 69%, $[\alpha]_D^{20} +1,3^\circ$ (с 1, метанол), R_f 0,82 (B), 0,75 (Л).

Boc-Tyr-Gly-Gly-Phe-Met-Thr-Ser-OMe (XV). а) 0,53 г (1,5 ммоль) соединения (X) гидрировали в 10 мл метанола при 0°С, катализатор отфильтровывали, фильтрат упаривали, остаток растворяли в 2 мл DMF, охлаждали до -15°С.

б) К охлажденному до -15°С раствору 0,78 г (1,16 ммоль) Boc-Tyr-Gly-Gly-Phe-Met-OH (XIV) в 5 мл DMF прибавляли 0,128 мл (1,16 ммоль) N-метилморфолина и 0,15 мл (1,16 ммоль) изобутилхлорформата. Раствор выдерживали 2 мин при -15°С

и прибавляли к нему раствор, полученный по методике «а». Смесь выдерживали 1 ч при -5°C , 2 ч при 4°C и упаривали. Остаток растворяли в 100 мл этилацетата и последовательно промывали 0,5 н. H_2SO_4 , водой, 5% NaHCO_3 , водой и сушили. После двукратного пересаживания из метанола эфиром получили 0,8 г (80%) соединения (XV) с R_f 0,54 (B), 0,68 (E).

Boc-Tyr-Gly-Gly-Phe-Met-Thr-Ser-NH_2 (XVI) получали аналогично соединению (VIII). Выход 93%, $[\alpha]_D^{20} - 9,2^{\circ}$ (с 1, DMF), R_f 0,45 (B), 0,28 (K). Аминокислотный анализ: Thr 0,95 (1); Ser 0,98 (1); Gly 2,00 (2); Met 1,05 (1); Tyr 0,97 (1); Phe 1,01 (1).

α -Эндорфин (XVII). а) 0,465 г (0,35 ммоль) соединения (IX) гидрировали в 15 мл метанола, катализатор отфильтровывали, фильтрат упаривали, остаток растворяли в 5 мл DMF и охлаждали до -30°C .

б) К охлажденному до -30°C раствору 0,319 г (0,36 ммоль) соединения (XVI) в 15 мл DMF прибавляли 0,5 мл 7,5 н. раствора хлористого водорода в тетрагидрофуране и 0,08 мл *n*-бутилитрита. Раствор выдерживали 30 мин при -30°C , прибавляли к нему раствор, полученный по методике «а», и триэтиламин до pH 8,5. Реакционную смесь выдерживали 24 ч при 0°C , 12 ч при 20°C и упаривали. Остаток обрабатывали 15 мл 0,5 н. H_2SO_4 , выпавший осадок отфильтровывали, промывали водой, сушили в вакууме над P_2O_5 . Получили 0,70 г (100%) продукта.

0,50 г полученного продукта растворяли в 15 мл 90% водной трифторуксусной кислоты, выдерживали 1 ч при 20°C , упаривали, остаток растирали с эфиром, осадок отделяли фильтрованием, сушили, растворяли в 20 мл воды и обрабатывали дауэком 1×8 в ацетатной форме. Смолу отфильтровывали, промывали 2% уксусной кислотой, объединенные фильтраты упаривали. Остаток после упаривания растворяли в 6 мл верхней фазы системы *n*-бутанол – 1% уксусная кислота – пиридин (5 : 11 : 3) и навесили на колонку с сефадексом G-25 (диаметр колонки 2,5 см, объем геля 500 мл), предварительно промытую нижней фазой и уравновешенную верхней фазой этой же системы, отбирая фракции по 4 мл (скорость элюции 0,25 мл/мин). Содержимое пробирок, соответствующее главному пику, объединяли и лиофилизировали. Получили 0,36 г (83%) соединения (XVII) с $[\alpha]_D^{20} - 73^{\circ}$ (с 1, 1% уксусная кислота). Ср. [17]: $[\alpha]_D^{20} - 76,5^{\circ}$ (с 1, 10% уксусная кислота). R_f 0,63 (З), 0,27 (И). Аминокислотный состав: Thr 2,95 (3); Ser 1,99 (2); Glu 2,00 (2); Pro 0,97 (1); Gly 2,03 (2); Val 1,00 (1); Met 1,01 (1); Leu 1,03 (1); Tyr 0,96 (1); Phe 1,01 (1); Lys 0,99 (1). Содержание пептида 87%*.

Boc-Leu-Val-Thr-Leu-OBzl (XVIII). К охлажденному до -15°C раствору 4,31 г (10 ммоль) соединения (II) в 25 мл DMF прибавляли 1,11 мл (10 ммоль) *N*-метилморфолина и 1,3 мл (10 ммоль) изобутилхлорформата. Смесь выдерживали 3 мин при -15°C и прибавляли к ней охлажденный раствор 5,9 г (15 ммоль) тозилата бензилового эфира лейцина и 1,66 мл (15 ммоль) *N*-метилморфолина в 25 мл DMF. Смесь выдерживали 2 ч при 0°C , упаривали, остаток растворяли в 150 мл этилацетата, последовательно промывали 0,5 н. H_2SO_4 , водой, 5% NaHCO_3 , водой, сушили над Na_2SO_4 и упаривали. Получили 5,4 г (85%) соединения (XVIII) с $[\alpha]_D^{20} - 29^{\circ}$ (с 1, DMF). R_f 0,87 (B), 0,84 (Г). Аминокислотный состав: Thr 1,03 (1); Val 1,00 (1); Leu 1,93 (2).

Boc-Gln-Thr-Pro-Leu-Val-Thr-Leu-OBzl (XIX). а) 3,18 г (5 ммоль) соединения (XVIII) растворяли в 15 мл трифторуксусной кислоты, выдерживали 1 ч при 20°C , упаривали, остаток растирали с эфиром. Выпавший осадок отфильтровывали, промывали эфиром, растворяли в 50 мл метанола, охлаждали до -20°C и обрабатывали дауэком 1×8 в OH-форме. Смолу отфильтровывали, промывали метанолом, объединенные фильтраты упаривали, остаток растворяли в 25 мл DMF.

б) К охлажденному до -10°C раствору 2,23 г (5 ммоль) соединения (IV) в 25 мл DMF при перемешивании прибавляли 0,56 мл (5 ммоль) *N*-метилморфолина и 0,65 мл (5 ммоль) изобутилхлорформата. Смесь выдерживали 2 мин при -10°C , прибавляли к ней раствор, полученный по методике «а», выдерживали 6 ч при 0°C и упаривали. Остаток растворяли в 100 мл этилацетата, последовательно промывали 0,5 н. H_2SO_4 , водой, 5% NaHCO_3 , водой, сушили и упаривали. После кристаллизации из смеси метанол – эфир получили 3,75 г (78%) соединения (XIX) с $[\alpha]_D^{20} - 47^{\circ}$ (с 1, DMF), R_f 0,67 (B), 0,89 (B), 0,92 (Г). Аминокислотный анализ: Thr 1,97 (2); Glu 1,08 (1); Val 0,97 (1); Leu 2,00 (2); Pro 1,00 (1).

Z-Glu(OBu')-Lys(Boc)-Ser-Gln-Thr-Pro-Leu-Val-Thr-Leu-OBzl (XX) получали аналогично соединению (IX). Реакционную смесь после упаривания обрабатывали смесью 25 мл воды и 25 мл этилацетата. Выпавший осадок отфильтровывали, промывали водой, этилацетатом, сушили, растворяли в 100 мл горячего изопропилового спирта и оставляли на ночь. Выпавший осадок отфильтровывали, промывали изопропиловым спиртом, эфиром и сушили. Выход соединения (XX) 83%, $[\alpha]_D^{20} - 37^{\circ}$ (с 1, DMF), R_f 0,70 (B); 0,92 (B), 0,92 (Г). Аминокислотный анализ: Thr 2,01 (2); Ser 1,03 (1); Glu 2,06 (2); Val 1,00 (1); Leu 2,00 (2); Pro 0,98 (1); Lys 0,97 (1).

Boc-Gly-Gly-Phe-Met-Thr-Ser-OMe (XXI) получали аналогично соединению (XV). Из 1,21 г (2,37 ммоль) *Boc-Gly-Gly-Phe-Met-OH*, 0,263 мл (2,37 ммоль) *N*-метилморфолина, 0,308 мл (2,37 ммоль) изобутилхлорформата и 0,88 г (2,5 ммоль) *Z*-Thr-Ser-OMe получили 1,15 г (68%) соединения (XXI) с R_f 0,71 (B), 0,75 (E), 0,64 (K).

* Здесь и далее данные по содержанию пептида получены из количественного аминокислотного анализа, проведенного фирмой Sandoz (Швейцария).

Boc-Gly-Gly-Phe-Met-Thr-Ser-N₂H₃ (XXII) получали аналогично соединению (XVI). Выход 100%. R_f 0,50 (В), 0,30 (К). Аминокислотный анализ: Thr 0,93 (1); Ser 0,92 (1); Gly 2,00 (2); Met 1,12 (1); Phe 0,97 (1).

Дез-1-тирозин-γ-эндорфин (XXIII) получали аналогично соединению (XVII). Выход 68%, $[\alpha]_D^{20} -100^\circ$ (с 0,2; 0,25% уксусная кислота). Ср. [18]: $[\alpha]_D^{20} -104,9^\circ$ (с 0,5; 10% уксусная кислота). R_f 0,41 (В), 0,53 (Г). Аминокислотный анализ: Thr 2,89 (3); Ser 1,95 (2); Glu 2,00 (2); Pro 1,02 (1); Gly 1,98 (2); Val 1,03 (1); Met 1,05 (1); Leu 1,99 (2); Phe 1,00 (1); Lys 1,01 (1). Содержание пептида 91%.

Boc-Tyr-Gly-Phe-Met-Thr-Ser-Glu(OBu^t) - Lys(Boc) - Ser-Gln-Thr-Pro-Leu-Val-Thr-Leu-OH (XXIV). а) 0,85 г (0,59 ммоль) соединения (XX) гидрировали в 10 мл метанола, катализатор отфильтровывали, фильтрат упаривали, остаток растворяли в 5 мл DMF и охлаждали до -30°C .

б) К охлажденному до -30°C раствору 0,50 г (0,59 ммоль) соединения (XVI) в 15 мл DMF прибавляли 0,7 мл 7 н. раствора хлористого водорода в тетрагидрофуране и 0,12 мл *n*-бутилнитрита. Раствор выдерживали 30 мин при -30°C , прибавляли к нему раствор, полученный по методике «а», и триэтиламин до pH 8,5, выдерживали 12 ч при 0°C , упаривали, к остатку добавляли 15 мл 0,5 н. H₂SO₄ и 25 мл этилацетата, выпавший осадок отфильтровывали, промывали водой, сушили, растворяли в смеси 10 мл метанола и 40 мл изопропилового спирта. К полученному раствору добавляли 80 мл этилацетата, выпавший осадок отфильтровывали, промывали этилацетатом и сушили. Получили 0,86 г (70%) соединения (XXIV) с R_f 0,60 (В), 0,50 (Б). Аминокислотный анализ: Thr 2,95 (3); Ser 2,14 (2); Glu 2,13 (2); Val 1,07 (1); Met 1,05 (1); Leu 2,12 (2); Tyr 0,91 (1); Phe 0,95 (1); Lys 1,09 (1); Gly 2,00 (2).

γ-Эндорфин (XXV). 0,80 г соединения (XXIV) растворяли в 20 мл 90% водной трифторуксусной кислоты, выдерживали 1 ч при 20°C , упаривали, остаток растирали с эфиром, осадок отделяли фильтрованием, сушили, растворяли в 30 мл воды и обрабатывали дауэксом 1×8 в ацетатной форме. Смолу отфильтровывали, промывали 2% уксусной кислотой, объединенные фильтраты упаривали. Остаток после упаривания подвергали очистке аналогично описанной для соединения (XVII). Получено 0,57 г (83%), $[\alpha]_D^{20} -71^\circ$ (с 0,5; 10% уксусная кислота). Ср. [17]: $[\alpha]_D^{20} -70,2^\circ$ (с 0,5; 10% уксусная кислота). R_f 0,35 (И), 0,53 (Г), 0,40 (В). Аминокислотный анализ: Thr 2,91 (3); Ser 1,95 (2); Glu 2,02 (2); Pro 0,99 (1); Gly 2,00 (2); Val 0,98 (1); Met 1,02 (1); Leu 2,00 (2); Tyr 0,96 (1); Phe 1,01 (1); Lys 1,05 (1); содержание пептида 84%.

Boc-Asn-Ala-OH (XXVI) получали аналогично соединению (III) из 0,89 г (10 ммоль) аланина, 5 мл тритона В и 3,53 г (10 ммоль) Boc-Asn-ONp. После кристаллизации из этилацетата получили 2,7 г (89%) соединения (XXVI) с $[\alpha]_D^{20} -9,5^\circ$ (с 1, DMF), R_f 0,56 (Б), 0,18 (Ж).

Z-Lys(Boc)-Asn-Ala-OH (XXVII). 2,43 г (8 ммоль) соединения (XXVI) обрабатывали 30 мин 30 мл 2,5 н. HCl в уксусной кислоте. Реакционную смесь разбавляли эфиром, выпавший осадок отфильтровывали, промывали эфиром, сушили, растворяли в воде и обрабатывали дауэксом 1×8 в ацетатной форме. Смолу отфильтровывали, промывали водой, фильтрат упаривали, остаток растворяли в 4 мл 40% раствора тритона В в метаноле, упаривали, растворяли в 5 мл DMF и добавляли к раствору 3,85 г (8 ммоль) Z-Lys(Boc)-ONSu в 50 мл DMF. Реакционную смесь выдерживали 20 ч при 20°C , упаривали, остаток обрабатывали 0,5 н. H₂SO₄, экстрагировали этилацетатом, органический слой промывали водой, сушили, упаривали. После пересадки из метанола эфиром получили 3,7 г (84%) соединения (XXVII) с $[\alpha]_D^{20} -11^\circ$ (с 1, DMF), R_f 0,82 (В), 0,47 (Е).

Z-Phe-Lys(Boc)-Asn-Ala-OH (XXVIII) получали аналогично соединению (XXVII) из 2,2 г (4 ммоль) соединения (XXVII), 2 мл тритона В и 1,7 г (4 ммоль) Z-Phe-ONp. После кристаллизации из метанола получили 2,15 г (95%) соединения (XXVIII) с $[\alpha]_D^{20} -14^\circ$ (с 1, DMF), R_f 0,37 (Б), 0,90 (Р).

Z-Ile-Ile-OH (XXIX) получали аналогично соединению (I) из 1,31 г (10 ммоль) L-изолейцина, 10 мл 1 н. NaOH и 3,87 г (10 ммоль) Z-Ile-ONp. После кристаллизации из этилацетата получили 3,0 г (80%) соединения (XXIX) с $[\alpha]_D^{20} +9^\circ$ (с 1, DMF), R_f 0,73 (Ж), 0,56 (К).

Z-Phe-Lys(Boc)-Asn-Ala-Ile-Ile-OH (XXX). а) 0,76 г (2 ммоль) Z-Ile-Ile-OH гидрировали в 10 мл метанола, катализатор отфильтровывали, фильтрат упаривали, остаток растворяли в 10 мл DMF, охлажденного до -20°C , к раствору добавляли 0,222 мл N-метилморфолина.

б) 1,43 г (2 ммоль) соединения (XXVIII) растворяли в 20 мл DMF, охлаждали до -15°C и последовательно добавляли к раствору 0,222 мл (2 ммоль) N-метилморфолина и 0,26 мл (2 ммоль) изобутилхлорформата. Реакционную смесь выдерживали 2 мин при -15°C , добавляли к раствору, полученному по методике «а», выдерживали 12 ч при 0°C и упаривали. Остаток после упаривания разбавляли 0,5 н. H₂SO₄, выпавший осадок отфильтровывали, промывали водой и сушили. После двукратного пересадки из DMF этилацетатом получили 1,73 г (92%) соединения (XXX) с $[\alpha]_D^{20} -17,5^\circ$ (с 1, DMF), R_f 0,85 (Б), 0,82 (Л). Аминокислотный анализ: Asp 0,95 (1); Ala 1,00 (1); Ile 1,44 (2); Phe 0,97 (1); Lys 1,1 (1).

Z-Lys(Boc)-Gly-OH (XXXI) получали аналогично соединению (I) из 0,82 г (10,1 ммоль) глицина, 10 мл 1 н. NaOH и 4,8 г (10 ммоль) Z-Lys(Boc)-ONSu. После

кристаллизации из эфира получили 3,9 г (91%) соединения (XXXI) с $[\alpha]_D^{20} -5,5^\circ$ (с 1, DMF), R_f 0,87 (B), 0,31 (K).

Z-Lys(Boc)-Lys(Boc)-Gly-OH (XXXII) получали аналогично соединению (II) из 2,0 г (4,6 ммоль) соединения (XXXI), 4,6 мл 1 н. NaOH и 2,56 г (5,1 ммоль) *Z-Lys(Boc)-ONSu*. После кристаллизации из смеси этилацетат — эфир получили 2,64 г (86%) соединения (XXXII) с $[\alpha]_D^{20} -10^\circ$ (с 1, DMF), R_f 0,90 (Г), 0,78 (Е).

Z-Tyr(Bzl)-Lys(Boc)-Lys(Boc)-Gly-OH (XXXIII) получали аналогично соединению (II) из 2,0 г (3 ммоль) соединения (XXXII), 3 мл 1 н. NaOH и 1,63 г (3 ммоль) *Z-Tyr(Bzl)-ONp*. После пересаживания из метанола эфиром получили 2,2 г (89%) соединения (XXXIII) с $[\alpha]_D^{20} -11,5^\circ$ (с 1, DMF), R_f 0,83 (Б), 0,90 (Г).

Z-Tyr(Bzl)-Lys(Boc)-Lys(Boc)-Gly-Glu(OBu')-OBu' (XXXIV). а) 0,7 г (1,7 ммоль) *Z-Glu(OBu')-OBu'* гидрировали в метаноле, катализатор отфильтровывали, фильтрат упаривали. Остаток растворяли в 5 мл DMF и охлаждали до -20°C .

б) 1,22 г (1,5 ммоль) соединения (XXXIII) растворяли в 5 мл DMF, охлаждали до -15°C , к полученному раствору последовательно добавляли 0,166 мл *N*-метилморфолина и 0,195 мл (1,5 ммоль) изобутилхлорформата. Реакционную смесь выдерживали 2 мин при -15°C , добавляли к раствору, полученному по методике «а», выдерживали 12 ч при 0°C и упаривали. Остаток после упаривания разбавляли 0,5 н. H_2SO_4 , выпавший осадок отфильтровывали, промывали водой и сушили. После кристаллизации из этилацетата получили 1,3 г (75%) соединения (XXXIV) с $[\alpha]_D^{20} -12^\circ$ (с 1, DMF), R_f 0,84 (Б), 0,73 (Г). Аминокислотный состав: Glu 0,96 (1); Gly 1,0 (1); Tyr 0,99 (1); Lys 1,99 (2).

Z-Lys(Boc)-Asn-Ala-Tyr-Lys(Boc)-Lys(Boc)-Gly-Glu(OBu')-OBu' (XXXV). 3,55 г (3,3 ммоль) соединения (XXXIV) гидрировали в 25 мл метанола, катализатор отфильтровывали, фильтрат упаривали, остаток растворяли в 30 мл DMF, к раствору прибавляли 1,9 г (3,3 ммоль) соединения (XXVII) и 2,63 г (13,2 ммоль) HONB. Реакционную смесь охлаждали до -10°C и при перемешивании прибавляли к ней 1,38 г (6,7 ммоль) *N,N'*-дициклогексилкарбондимида, выдерживали 24 ч при 0°C , 72 ч при 20°C . Выпавшую *N,N'*-дициклогексилмочевину отфильтровывали, фильтрат упаривали, остаток растворяли в смеси хлороформ — изобутиловый спирт (1 : 1), промывали 0,5 н. H_2SO_4 , 5% NaHCO_3 , водой и упаривали. После кристаллизации из изопропилового спирта получили 3,85 г (81%) соединения (XXXV) с $[\alpha]_D^{20} -27^\circ$ (с 1, DMF), R_f 0,35 (K). Аминокислотный состав: Asp 1,02 (1); Glu 0,99 (1); Gly 1,00 (1); Ala 0,97 (1); Tyr 0,98 (1); Lys 3,12 (3).

Z-Phe-Lys(Boc)-Asn-Ala-Ile-Ile-Lys(Boc) - Asn-Ala-Tyr-Lys(Boc)-Lys(Boc)-Gly-Glu(OBu')-OBu' (XXXVI). 1,48 г (1 ммоль) соединения (XXXV) гидрировали в 50 мл DMF, катализатор отфильтровывали, к фильтрату прибавляли 0,94 г (1 ммоль) соединения (XXX) и 0,72 г (4 ммоль) HONB, охлаждали до -10°C и прибавляли охлажденный раствор 0,42 г (2 ммоль) *N,N'*-дициклогексилкарбондимида в 5 мл DMF. Реакционную смесь выдерживали 24 ч при 0°C и 48 ч при 20°C . Выпавшую *N,N'*-дициклогексилмочевину отфильтровывали, фильтрат разбавляли 200 мл эфира, образовавшийся осадок отфильтровывали, дважды пересаживали из DMF эфиром. Получили 1,8 г (78%) соединения (XXXVI) с $[\alpha]_D^{20} -32^\circ$ (с 1, DMF), R_f 0,56 (B), 0,86 (Б). Аминокислотный состав: Asp 2,15 (2); Glu 0,93 (1); Gly 1,0 (1); Ala 1,96 (2); Ile 0,97 (2); Tyr 0,98 (1); Phe 1,06 (1); Lys 4,36 (4).

β -Эндорфин (XXXVII). 0,27 г (0,18 ммоль) соединения (XXXVI) гидрировали в 10 мл DMF, катализатор отфильтровывали, промывали 5 мл DMF, к фильтрату прибавляли 0,25 г (0,18 ммоль) соединения (XXIV) и 0,09 г HONB, охлаждали до -10°C и добавляли при перемешивании 0,05 г (0,24 ммоль) *N,N'*-дициклогексилкарбондимида. Реакционную смесь выдерживали 24 ч при 0°C , затем 48 ч при 20°C . Выпавший в процессе реакции гель растворяли при нагревании, *N,N'*-дициклогексилмочевину отфильтровывали, фильтрат упаривали до небольшого объема и обрабатывали эфиром. Образовавшийся осадок отфильтровывали, промывали эфиром, сушили, растворяли в 12 мл смеси трифторуксусная кислота — вода (9 : 1) и выдерживали 1 ч. Реакционную смесь разбавляли эфиром, выпавший осадок отфильтровывали, растворяли в воде, обрабатывали амберлитом IRA-410 в ацетатной форме, смолу отфильтровывали, промывали водой, фильтрат лиофилизировали. Полученный продукт очищали с помощью распределительной хроматографии на колонке (32×750 мм) с сепадексом G-25 в системе *n*-бутиловый спирт — 1% уксусная кислота — пиридин (5 : 11 : 3). Содержимое пробирок, соответствующее основному пику, объединяли, упаривали три раза с водой, растворяли в 75 мл 2% уксусной кислоты и лиофилизировали. Получили 0,17 г (43%) соединения (XXXVII) с $[\alpha]_D^{20} -73,2^\circ$ (с 0,2; 10% уксусная кислота). Сп. [11]: $[\alpha]_D^{20} -74^\circ$ (с 0,3; 0,5 н. уксусная кислота). R_f 0,34 (M), 0,21 (H). Аминокислотный анализ: Asp 1,96 (2); Thr 2,20 (2); Ser 1,40 (2); Glu 2,92 (3); Pro 1,07 (1); Gly 2,98 (3); Ala 2,21 (2); Val 1,06 (1); Met 0,95 (1); Ile 2,02 (2); Leu 2,03 (2); Tyr 1,90 (2); Phe 1,86 (2); Lys 5,05 (5). Содержание пептида 82%.

Boc-Phe-D-Met-OH (XXXVIII) получали аналогично соединению (I). Выход 84%, $[\alpha]_D^{20} -27^\circ$ (с 1, DMF), R_f 0,69 (B), 0,77 (A).

Boc-Gly-Phe-D-Met-OH (XXXIX) получали аналогично соединению (XII). Выход 79%, $[\alpha]_D^{20} -14,7^\circ$ (с 1, DMF), R_f 0,89 (B), 0,78 (II).

Boc-Gly-Gly-Phe-D-Met-OH (XL) получали аналогично соединению (XII). Выход 77%, $[\alpha]_D^{20} +1,75^\circ$ (с 0,75, DMF), R_f 0,79 (B), 0,79 (Л).

Boc-Gly-Gly-Phe-D-Met-Thr-Ser-OMe (XLI) получали аналогично соединению (XV). Выход 82%, $[\alpha]_D^{20} +8,2^\circ$ (с 0,3, DMF), R_f 0,54 (B), 0,68 (E).

H-Gly-Gly-Phe-D-Met-Thr-Ser-N₂H₃ (XLII). К раствору 0,36 г (0,5 ммоль) соединения (XLI) в 5 мл метанола прибавляли 0,36 мл гидразингидрата. Смесь выдерживали 12 ч при 20° С, выпавший осадок отфильтровывали, промывали водой, сушили, растворяли в 3 мл ледяной уксусной кислоты, полученный раствор обрабатывали 30 мин 2,5 мл 2 н. раствора хлористого водорода в ледяной уксусной кислоте. Реакционную смесь разбавляли эфиром, выпавший осадок отфильтровывали, промывали эфиром, растворяли в воде и обрабатывали дауэксом 1×8 в ацетатной форме до отрицательной реакции на ионы хлора. Смолу отфильтровывали, промывали водой, объединенные фильтраты упаривали, остаток кристаллизовали из смеси метанол-эфир. Выход 0,22 г (65%), $[\alpha]_D^{20} +4,8^\circ$ (с 0,25, H₂O), R_f 0,21 (E), 0,47 (B), 0,71 (Г).

H-Gly-Gly-Phe-Met-Thr-Ser-N₂H₃ (XLIII) получали аналогично соединению (XLII). Выход 73%, $[\alpha]_D^{20} -38,4^\circ$ (с 0,5, H₂O), R_f 0,22 (E), 0,47 (B), 0,71 (Г).

Z-Lys(Boc)-D-Ser-OMe (XLIV) получали аналогично соединению (VI). Выход 87%, $[\alpha]_D^{20} +4,8^\circ$ (с 1, DMF), R_f 0,86 (B), 0,58 (Д).

Z-Glu(OBu^t)-Lys(Boc)-D-Ser-OMe (XLV) получали аналогично соединению (VII). Выход 87%, $[\alpha]_D^{20} -5,8^\circ$ (с 1, DMF), R_f 0,81 (A), 0,50 (Д), 0,64 (Ж).

Z-Glu(OBu^t)-Lys(Boc)-D-Ser-N₂H₃ (XLVI) получали аналогично соединению (VIII). Выход 93%, $[\alpha]_D^{20} -5,8^\circ$ (с 1, DMF), R_f 0,81 (A), 0,50 (Д), 0,64 (Ж).

Z-Glu(OBu^t)-Lys(Boc)-D-Ser-Gln-Thr-Pro-Leu-Val-Thr-Leu-OBzl (XLVII) получали аналогично соединению (IX). Выход 75%, $[\alpha]_D^{20} -32,5^\circ$ (с 1, DMF), R_f 0,70 (B), 0,92 (B).

H-Glu-Lys-D-Ser-Gln-Thr-Pro-Leu-Val-Thr-Leu-OH (XLVIII). 0,36 г (0,25 ммоль) соединения (XLVII) гидрировали в 20 мл ледяной уксусной кислоты. Катализатор отфильтровывали, фильтрат упаривали, остаток обрабатывали 10 мл трифторуксусной кислоты в течение 1 ч. Реакционную смесь упаривали, остаток обрабатывали эфиром, выпавший осадок отфильтровывали, промывали эфиром, растворяли в 25 мл воды и обрабатывали дауэксом 1×8 в ацетатной форме. Смолу отфильтровывали, промывали водой, объединенные фильтраты упаривали, остаток обрабатывали эфиром, выпавший осадок отфильтровывали, промывали эфиром и сушили. Выход 0,23 г (80%), $[\alpha]_D^{20} -86,3^\circ$ (с 0,5, H₂O), R_f 0,37 (Г), 0,16 (B), 0,28 (Л).

H-Glu-Lys-Ser-Gln-Thr-Pro-Leu-Val-Thr-Leu-OH (XLIX) получали аналогично соединению (XLVIII). Выход 84%, $[\alpha]_D^{20} -116,8^\circ$ (с 0,5, H₂O), R_f 0,37 (Г), 0,16 (B), 0,28 (Л).

ЛИТЕРАТУРА

1. Guillemin R., Ling N., Burgus R. // C. r. Acad. sci. 1976. V. 282. № 8. P. 783-785.
2. Burbach J. P. H., Loeber J. G., Verhoeve J., Kloet E. K., de Wied D. // Biochem. and Biophys. Res. Commun. 1979. V. 86. № 4. P. 1296-1303.
3. Verhoeve J., Loeber J. G., Burbach J. P. H., Gispens W. H., Witter A., de Wied D. // Life Sci. 1980. V. 26. № 11. P. 851-859.
4. De Wied D., Louwerens J. M., Van Ree J. M. // Eight Intern. Congress of Pharmacol. Tokyo. Juli 19-24. Abstracts. 1981. P. 287.
5. Li C., Chung D., Doneen B. // Biochem. and Biophys. Res. Commun. 1976. V. 72. № 4. P. 1542-1547.
6. Li C., Lemaire S., Yamashiro D., Doneen B. // Biochem. and Biophys. Res. Commun. 1976. V. 71. № 1. P. 19-25.
7. Tzougraki C., Makofske R., Gabriel T., Michalewski J., Meienhofer J., Li C. // Int. J. Peptide and Protein Res. 1980. V. 15. № 4. P. 377-398.
8. Tzougraki C., Makofske R., Gabriel T., Wang S.-S., Kutny R., Meienhofer J., Li C. // J. Amer. Chem. Soc. 1978. V. 100. № 19. P. 6248-6249.
9. Kubota M., Hirayama T., Nagase O., Yajima H. // Chem. Pharm. Bull. 1978. V. 26. № 7. P. 2139-2146.
10. Nishimura O., Shinagawa S., Fujino M. // J. Chem. Res. (S). 1979. № 11. P. 352-353.
11. Van Nispen J. W., Bijl W. A. A. J., Groven H. M. // Rec. trav. chim. 1980. V. 99. № 2. P. 57-62.
12. Saeed T., Sandra P., Verzele M. // J. Chromatogr. 1979. V. 186. P. 611-618.
13. Cheng Y. C., Prusoff W. H. // Biochem. Pharmacol. 1973. V. 22. № 24. P. 3099-3108.
14. Blake J., Ferrara P., Chon Hao Li // Int. J. Peptide and Protein Res. 1981. V. 17. № 6. P. 239-242.
15. Smith E. M., Blalock J. E. // Proc. Nat. Acad. Sci. USA. 1981. V. 78. № 12. P. 7530-7534.
16. Guillemin R. // Hosp. Prac. 1978. V. 13. № 11. P. 53-60.

17. *Bijl W. A. A. J., van Nispen J. W., Greven H. M.* // *Rec. trav. chim.* 1979. V. 98. № 12. P. 571-576.
18. *Greven H. M., Bijl W. A. A. J., van Nispen J. W.* // *Rec. trav. chim.* 1980. V. 99. № 2. P. 63-64.

Поступила в редакцию
16.XII.1986
После доработки
31.III.1987

SYNTHESIS OF ENDORPHINS

BESPALOVA J. D., AZMUKO A. A., FORNER K., MOLOKOEDOV A. S.,
SEPETOV N. F., ISAKOVA O. L., RUUGE E. K., TITOV M. I.

*All-Union Research Centre for Cardiology, Academy
of Medical Sciences of the USSR, Moscow*

α -, β -, γ - and (des-Tyr¹)- γ -endorphins were synthesised by classical methods of peptide chemistry. Optical purity of these peptides was controlled by GLC and NMR. Data on the opioid activity of the peptides synthesised are presented.