



УДК 547.466.1 + 541.69

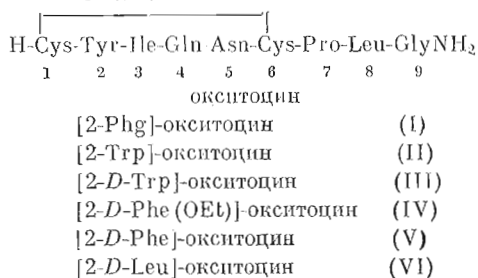
ЗАВИСИМОСТЬ УТЕРОТОНИЧЕСКОЙ АКТИВНОСТИ АНАЛОГОВ ОКСИТОЦИНА, МОДИФИЦИРОВАННЫХ В ПОЛОЖЕНИИ 2, ОТ ИХ СТРОЕНИЯ *

Кауров О. А., Михайлов Ю. Д., Смирнова М. П.

Ленинградский государственный университет им. А. А. Жданова

Показано, что утеротоническая активность аналогов окситоцина, модифицированных в положении 2, коррелирует с величиной $\sigma_{\text{иа}}^{\text{с}}$, отражающей в первом приближении разницу в изменении свободной энергии при образовании комплексов гормон — рецептор и аналог — рецептор. Утеротоническая активность двух новых аналогов окситоцина, модифицированных фенилглицином и триптофаном, подтверждает обнаруженную зависимость. Высказано предположение, что остаток аминокислоты в положении 2 молекулы гормона покидает место своей первоначальной локализации на рецепторе при стимулировании биологического эффекта. Проведен целенаправленный синтез новых аналогов — антагонистов окситоцина ([2-*D*-Trp]-окситоцин и [2-*D*-Phe]-окситоцин). Описан синтез [2-*D*-Phe(OEt)]-окситоцина, который обладает активностью большей, чем аналог с соответствующей *L*-аминокислотой.

В предлагаемом сообщении обсуждаются результаты синтеза и изучения утеротонической активности шести новых аналогов окситоцина, модифицированных в положении 2:



Целесообразность синтеза этих аналогов обоснована в последующем изложении.

Соединение (I) получено методом последовательного наращивания пептидной цепи, начиная с С-конца путем конденсации аминных фрагментов с активированными эфирами *N*-бензилоксикарбониламино кислот. Соединения (II) — (VI) получены по схеме 2 + 7 с использованием азидного метода конденсации фрагментов. Общий для всех случаев гептапептид последовательности 3—9 окситоцина синтезировали по ранее разработанному методу с применением *n*-нитрофениловых и оксифталимидных эфиров *N*-бензилоксикарбониламино кислот [3]. Выходы и константы защищенных пептидов приведены в табл. 1.

Снятие защитных групп с нонапептидов проводилось натрием в жидком аммиаке, сульфгидрильные группы цистеина были окислены кисло-

* Краткие сообщения см. [1, 2]. Принятые сокращения: Aan — амид α -аминоадипиновой кислоты, Phg — фенилглицин, Phe(OMe) — *n*-метоксифенилаланин, Phe(Et) — *n*-этилфенилаланин, Phe(OEt) — *n*-этоксифенилаланин.

Выходы и физико-химические характеристики защищенных пептидов

№ п.п.	Соединение	Метод синтеза	Выход, %	[α] _D ²⁰	Т. пл., °С	Найдено, %		Вычислено, %		Брутто-формула	R [*] f
						С	Н	С	Н		
(VII)	Z-Cys (Bzl)-Trp-OMe	A	94	-16,5 (1,0; ДМФА) -16,2 (1,0; ДМФА)	155-156 155-156	66,08	5,82	66,04	5,74	C ₂₀ H ₃₁ N ₃ O ₅ S	0,63 (2) 0,37 (4)
			92					66,04	5,74		
(VIII)	Z-Cys (Bzl)-D-Trp-OMe	A	74	-28,1 (1,0; ДМФА) -28,6 (1,0; ДМФА)	136-137 136-137	66,16	5,90	66,04	5,74	C ₂₀ H ₃₁ N ₃ O ₅ S	0,73 (2) 0,33 (4)
			78					63,83	5,74		
(IX)	Z-Cys (Bzl)-TrpNHNH ₂	D	93	-8,2 (1,2; ДМФА)	197-199	63,79	5,90	63,83	5,74	C ₂₃ H ₃₁ N ₅ O ₄ S	0,70 (2) 0,37 (4) 0,74 (2)
(X)	Z-Cys (Bzl)-D-TrpNHNH ₂	D	91	-15,0 (1,0; ДМФА)	206-207	63,83	5,80	63,83	5,74	C ₂₃ H ₃₁ N ₅ O ₄ S	0,25 (4)
(XI)	Z-Cys-(Bzl)-Trp-Ile-Cln-Asn-Cys (Bzl)-Pro-Leu-GlyNH ₂	Г	62	-60,0 (1,0; AcOH)	233-235	59,67	6,70	59,74	6,53	C ₆₇ H ₈₇ N ₁₃ O ₁₃ S ₂	0,41 (1) 0,79 (5)
(XII)	Z-Cys (Bzl)-D-Trp-Ile-Gln-Asn-Cys (Bzl)-Pro-Leu-GlyNH ₂	Г	59	-66,0 (1,0; AcOH)	223-225	59,73	6,66	59,74	6,53	C ₆₇ H ₈₇ N ₁₃ O ₁₃ S ₂	0,76 (1) 0,83 (5) 0,27 (2)
(XIII)	Z-Phe-Ile-Gln-Asn-Cys (Bzl)-Pro-Leu-GlyNH ₂	E	76	-39,5 (1,0; AcOH)	239-241	59,03	6,93	58,93	6,70	C ₅₇ H ₇₃ N ₁₁ O ₁₂ S	0,38 (1) 0,87 (5) 0,15 (4)
(XIV)	Z-Cys (Bzl)-Phe-Ile-Gln-Asn-Cys (Bzl)-Pro-Leu-GlyNH ₂	B	87	-59,0 (1,0; AcOH)	243-244	59,24	6,61	59,41	6,56	C ₆₆ H ₈₂ N ₁₂ O ₁₃ S ₂	0,30 (1) 0,85 (5) 0,11 (4)
(XV)	Z-Cys (Bzl)-D-Phe (OEt)OMe	A	68	-35,5 (1,0; EtAc)	117-118						0,88 (1) 0,96 (5) 0,48 (4)
(XVI)	Z-Cys (Bzl)-D-Phe (OEt)NHNH ₂	B	87	-35,7 (1,0; EtAc) -33,0 (1,0; AcOH)	117-118 160-161	65,39	6,49	65,43	6,24	C ₃₀ H ₃₄ N ₂ O ₆ S	0,91 (5) 0,25 (4)
			89					63,40	6,24		
(XXII)	Z-Cys (Bzl)-D-Phe (OEt)-Ile-Gln-Asn-Cys (Bzl)-Pro-Leu-GlyNH ₂	Г	51	-50,0 (1,0; AcOH)	228-231	59,36	6,57	59,64	6,73	C ₆₇ H ₉₀ N ₁₂ O ₁₄ S ₂	0,28 (1) 0,60 (5) 0,36 (2)

Продолжение таблицы 1

№ п.п.	Соединение	Метод синтеза	Выход, %	[α] _D ²⁰	Т. пл., °С	Найдено, %		Вычислено, %		Брутто-формула	R [*] f
						С	Н	С	Н		
(XVIII)	Z-Cys (Bzl)-D-Phe-OMe	B	92	-27,0 (1,0; EtOH)	82-84	66,28	5,81	66,27	5,91	C ₂₈ H ₃₀ N ₂ O ₅ S	0,89 (1) 0,45 (4)
(XIX)	Z-Cys (Bzl)-D-PheNHNH ₂	D	80	-22,8 (1,0; AcOH)	173-174	63,57	5,44	63,90	5,91	C ₂₇ H ₃₀ N ₄ O ₄ S	0,86 (1) 0,31 (4)
(XX)	Z-Cys (Bzl)-D-Phe-Ile-Gln-Asn-Cys (Bzl)-Pro-Leu-GlyNH ₂	Г	61	-52,5 (1,0; AcOH)	226-228	59,42	6,71	59,72	6,58	C ₆₅ H ₈₆ N ₁₂ O ₁₃ S ₂	0,46 (1) 0,31 (3)
(XXI)	Z-Cys (Bzl)-D-Leu-OMe	B	84	-	139	63,74	7,01	63,57	6,78	C ₂₃ H ₃₂ N ₂ O ₃ S	0,85 (1) 0,51 (4)
(XXII)	Z-Cys (Bzl)-D-LeuNHNH ₂	D	72	+13,4 (1,2; ДМФА)	161	61,42	6,98	61,02	6,78	C ₂₄ H ₃₂ N ₄ O ₄ S	0,17 (4)
(XXIII)	Z-Cys (Bzl)-D-Leu-Ile-Gln-Asn-Cys (Bzl)-Pro-Leu-GlyNH ₂	Г	57	-43,0 (0,5; ДМФА)	232-235	58,12	7,18	58,49	6,92	C ₆₂ H ₈₈ N ₁₂ O ₁₃ S ₂	0,18 (1) 0,67 (5)

* В столбцах указаны номера хроматографических систем.

Выделение и характеристика аналогов окситоцина

Соединение	Элюент, АсОН, %	Сефадекс	Электрофоретическая подвижность по глицину	Аминокислотный состав							
				Cys	X	Ile	Glu	Asp	Pro	Leu	Gly
(I)	1) 50 2) 1,2	G-15 »	0,82	1,0	1,0	1,0	1,0	1,1	1,1	1,0	1,0
(II)	1) 50 2) 1,2	» »	0,80	1,0	1,0	0,9	0,9	1,0	1,2	1,0	1,0
(III)	1) 50 2) 20	» »	0,75	1,0	1,0**	1,0	1,0	1,0	1,2	1,1	1,0
(IV)	1) 50 2) 20	» »	0,84	1,0	0,8	1,2	1,0	1,3	1,1	1,2	1,0
(V)	1) 50 2) 25 3) ***	» » G-25	0,98	1,0	1,3	1,1	1,0	1,0	1,0	1,0	1,0
(VI)	1) 50 2) 25 3) ***	G-15 » G-25	0,94	1,3	****	1,0	1,0	0,9	0,9	2,0	1,0

* X — аминокислота во втором положении молекулы соответствующего аналога.

** Определено с помощью УФ-спектроскопии в растворе аналога в воде.

*** Сефадекс набухал в нижней фазе системы бутанол — пропанол — 3,5% уксусная кислота (2:1:3), элюирование проводили верхней фазой этой системы.

**** См. лейцин.

Таблица 3

Утеротоническая активность аналогов окситоцина, модифицированных в положении 2

Соединение	Аминокислота во 2-м положении	Конфигурация	Утеротоническая активность	
			м.е./мг	ρ_{A_2} *
Окситоцин	Tyr	L	450 [13]	—
	»	D	6,6 [6]**	—
(I)	Phg	L	0,01	—
(II)	Trp	L	0,24	—
(III)	»	D	Антагонист	6,87***
	Phe(OEt)	L	0,3 [13]	—
(IV)	»	D	2,59	—
	Phe	L	32 [13]	—
(V)	»	D	Антагонист	6,00
	Leu	L	0,6 [13]	—
(VI)	»	D	Антагонист	5,23

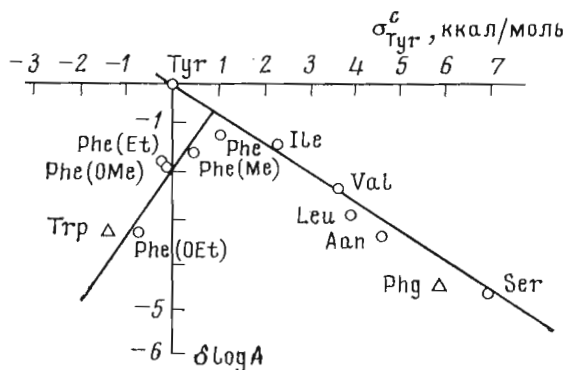
* ρ_{A_2} — отрицательный десятичный логарифм молярной концентрации антагониста, вызывающей уменьшение эффекта, стимулируемого определенной дозой агониста (окситоцин), в 2 раза [6].

** Соединение в условиях, отличных от стандартных, проявляет антагонизм к природному гормону [6].

*** Один из наиболее эффективных антагонистов утеротонического действия окситоцина ([1- β -меркапто- β , β -диэтилпропионовая кислота]-окситоцин) имеет ρ_{A_2} 7,24 [14].

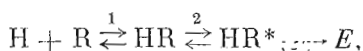
родом воздуха. Очистка аналогов проводилась гель-фильтрацией на колонках с сефадексами G-15 и G-25 в водно-органических системах (табл. 2). Чистота всех полученных соединений контролировалась хроматографией в тонком слое на силикагеле и высоковольтным электрофорезом.

Утеротоническая активность и антагонистические свойства синтезированных аналогов определялись на изолированной матке крысы в стандартных условиях [4, 5]. Результаты биоиспытаний представлены в табл. 3.



Зависимость изменения утеротонической активности ($\delta \log A$) аналогов окситоцина, модифицированных в положении 2, от σ_{Tyr}^c . Треугольниками обозначены точки для соединений, синтезированных в данной работе, кружками — точки для соединений, описанных в литературе

В литературе было отмечено, что при модификации второго положения молекулы окситоцина наблюдается изменение во «внутренней активности» (способности вызывать максимально возможный эффект) [6]. Согласно оккупационной теории Аризэнса, это возможно, когда модифицируемый участок гормона принимает непосредственное участие в превращении первичного гормон-рецепторного комплекса (HR) в активный комплекс (HR*) [7]:



где H — гормон, R — рецептор, E — наблюдаемый биологический эффект.

Если придерживаться этой теории, то изменение в биологической активности (A) при структурной модификации может быть описано уравнением (1):

$$\delta \log A = f(\delta \Delta F_1, \delta \Delta F_2), \quad (1)$$

где $\delta \Delta F_1$ и $\delta \Delta F_2$ — разница в изменении свободной энергии при образовании соответствующих комплексов гормон — рецептор и аналог — рецептор.

Ранее нами был предложен метод оценки величин $\delta \Delta F_1$ [8—11]. Расчетная величина, отражающая в первом приближении величину $\delta \Delta F_1$, была обозначена как $\sigma_{aa}^{l(c)}$ (индекс «aa» показывает, какой аминокислотный остаток модифицируется; индекс «l» или «c» определяет, на каком участке молекулы — линейном (l) или циклическом (c) — произведена модификация; например, при модификации второго положения молекулы окситоцина эта величина будет обозначена как σ_{Tyr}^c).

Из уравнения (1) следует, что, несмотря на изменение внутренней активности, изменение в биологической активности, вызванное модификацией второго положения молекулы окситоцина, должно зависеть от $\delta \Delta F_1$ и, значит, от величин σ_{Tyr}^c . Однако характер зависимости неясен из-за отсутствия знаний о влиянии вклада от $\delta \Delta F_2$.

Чтобы выяснить вид такой зависимости, был построен график изменения $\delta \log A$ от σ_{Tyr}^c . Как следует из графика (рисунок), через экспериментальные точки можно провести две пересекающиеся прямые, имею-

щце противотсложный по знаку наклон:

$$\delta \log A = -(0,0 \pm 0,2) - (0,66 \pm 0,04) \sigma_{\text{Tyr}}^c \quad (2)$$

$n = 7; R = 0,989; s = 0,248;$

$$\delta \log A = -(1,9 \pm 0,2) + (1,5 \pm 0,4) \sigma_{\text{Tyr}}^c \quad (3)$$

$n = 4; R = 0,918; s = 0,350.$

На прямую с обычным отрицательным наклоном (2) попадают аналоги окситоцина, у которых, согласно литературным данным [6], не наблюдается сильного изменения во внутренней активности (Tyr заменен на Phe, Ile, Val, Leu, Aan, Ser).

На прямую с положительным наклоном (3) попадают аналоги окситоцина, у которых внутренняя активность сильно уменьшена [6], причем это уменьшение идет в том же порядке, в котором аналоги располагаются на прямой (Tyr заменен на Phe(Me), Phe(OMe), Phe(Et), Phe(OEt)).

Заметим, что аналог с фенилаланином в положении 2, для которого наблюдается умеренное изменение во внутренней активности [6], может быть отнесен как к одной, так и к другой прямой. Если отнести [2-Phe]-окситоцин к прямой с положительным наклоном, то получим корреляционное уравнение

$$\delta \log A = -(2,2 \pm 0,2) + (1,0 \pm 0,2) \sigma_{\text{Tyr}}^c$$

$n = 5; R = 0,930; s = 0,335.$

Из полученного графика видно, что на прямую с положительным наклоном попадают соединения, для которых расчет дает отрицательные или близкие к нулю значения σ_{Tyr}^c , т. е. родство этих аналогов к рецептору должно быть больше, чем у окситоцина, или близким к нему. Таким образом, усиление интенсивности взаимодействия с рецептором аминокислотного остатка в положении 2 молекулы окситоцина ведет не к увеличению биологической активности, как этого следовало бы ожидать, а к ее падению.

Чтобы проверить, не является ли расположение точек на рисунке случайным, было решено синтезировать два новых аналога окситоцина, значение утеротонической активности которых должно было описываться разными прямыми. Естественно, необходимо было выбрать такие соединения, которые могли быть четко отнесены к той или иной прямой и, следовательно, должны были иметь низкую утеротоническую активность. Для соединений с высокой активностью такое отнесение не всегда однозначно (см., например, положение на графике [2-Phe]-окситоцина).

Для решения вышеупомянутой задачи были выбраны соединения (I) и (II). Предварительный анализ показал, что для триптофана $\sigma_{\text{Tyr}}^c = -1,4$ ккал/моль и, следовательно, активность аналога (II) должна определяться прямой с положительным наклоном. Для фенилглицина $\sigma_{\text{Tyr}}^c = +5,9$ ккал/моль, и активность аналога (I) должна определяться прямой с отрицательным наклоном (величина σ_{Tyr}^c в этом случае вычислена при предположении, что стерический фактор у этой аминокислоты равен стерическому фактору циклогексилглицина).

Как видно из графика, точки, отвечающие экспериментальным значениям $\delta \log A$ синтезированных нами соединений (I) и (II), находятся вблизи соответствующих прямых. Таким образом, и в случае соединения (II) усиление взаимодействия с рецептором (отрицательные значения σ_{Tyr}^c) приводит к уменьшению активности.

Полученный результат можно интерпретировать следующим образом: аминокислотный остаток во втором положении молекулы окситоцина принимает непосредственное участие в образовании гормон-рецепторного комплекса, в то же время при конформационном переходе $\text{HR} \rightarrow \text{HR}^*$

он покидает место своей первоначальной локализации на рецепторе. Чем крепче связан такой аминокислотный остаток с определенным участком на рецепторе, тем трудней ему оторваться при конформационном переходе и, следовательно, тем меньше внутренняя активность аналога и в результате меньше $\delta \log A$.

Предлагаемая интерпретация полученной зависимости между $\delta \log A$ и σ_{Trp}^c открывает возможности для целенаправленного поиска антагонистов природного гормона (антагонисты представляют собой соединения, обладающие относительно высоким сродством к рецептору, но не имеющие внутренней активности). Действительно, если уменьшение активности у аналогов окситоцина, описываемых прямой с положительным наклоном, связано главным образом с затруднениями в образовании активного гормон-рецепторного комплекса (HR*), то усиление этой тенденции должно привести к появлению антагонистических свойств. Таким усиливающим фактором, в частности, может быть обращение конфигурации аминокислот, модифицирующих второе положение молекулы окситоцина. Так, известно, например, что [2-*D*-Trp]-окситоцин обладает уменьшенным сродством к рецептору и меньшей внутренней активностью, чем природный гормон [6].

Следовательно, изменяя конфигурацию аминокислот с *L* на *D* в аналогах, которым соответствуют отрицательные значения σ_{Trp}^c , можно получить соединения, обладающие еще достаточно большим сродством к рецептору, но в то же время сильно уменьшенной способностью стимулировать биологический эффект. Обращение конфигурации аминокислот, которым соответствуют большие положительные значения ($\delta \sigma_{\text{Trp}}^c$), должно привести или к неактивным соединениям, или к менее эффективным антагонистам.

Нами были синтезированы четыре новых аналога окситоцина, модифицированных *D*-аминокислотами, антиподам которых соответствуют самые различные значения σ_{Trp}^c . Соединения (III), (V) и (VI) являются антагонистами природного гормона, причем, как и ожидалось, ингибиторная способность уменьшается в ряду Trp > Phe > Leu (см. табл. 3). Однако соединение (IV) при испытании в стандартных условиях обладает утеротической активностью даже несколько большей, чем [2-Phe(OEt)]-окситоцин. По-видимому, в этом случае обращение конфигурации отражается только на изменении сродства аналога к рецептору.

Таким образом, сопоставление величин $\delta \log A$ и σ_{Trp}^c привело нас в конечном итоге к синтезу новых эффективных антагонистов окситоцина.

Экспериментальная часть

Чистота защищенных пептидов контролировалась хроматографией в тонком слое на силикагеле «Kieselgel Merck» при проявлении парами иода в следующих хроматографических системах: 1) 3% аммиак — *втор*-бутанол, 1 : 3; 2) *n*-бутанол — вода — уксусная кислота, 4 : 1 : 1; 3) бензол — этанол — этилацетат, 3 : 1 : 1; 4) метанол — толуол, 1 : 4; 5) *трет*-бутанол — уксусная кислота — толуол — вода, 6 : 1 : 2 : 1.

Чистота пептидов со свободной аминогруппой проверялась высоковольтным электрофорезом на бумаге «Whatmann Paper N4» (электролит — 2% уксусная кислота, напряжение 1200 В, время 50—90 мин) при проявлении ninгидрином или хлором с последующей обработкой бензидином.

Защищенные пептиды были синтезированы по одному из следующих методов:

A. Карбодимидный метод. К раствору 0,005 М карбобензоксид-*S*-бензилцистеина в 25 мл хлороформа добавляли 0,005 М гидрохлорид метилового эфира соответствующей аминокислоты, смесь охлаждали до -10° и при перемешивании медленно приливали эквимолярное количество триэтиламина, а затем раствор *N,N'*-дициклогексилкарбодимида (0,005 М)

и *N*-оксисукцинимид (0,005 М) в 10 мл хлороформа. Полученную смесь оставляли в холодильнике на ночь, отфильтровывали выпавший осадок и фильтрат упаривали на ротаторном испарителе. Остаток перекристаллизовывали из изопропанола. Синтез соединения (XV) (см. табл. 1) проводили в этилацетате.

Б. Метод N-оксифталымидных эфиров. *N*-Оксифталымидный эфир карбобензоксиг-*S*-бензилцистеина (0,002 М) растворяли в 25 мл хлороформа, добавляли эквимолярное количество аминокомпонента и, охладив реакционную смесь до -10° , медленно приливали по каплям при перемешивании триэтиламин (0,004 М). Через 5—10 мин смеси дали нагреться до комнатной температуры и еще через 10 мин органический слой промывали до обесцвечивания 5% раствором бикарбоната натрия, затем 1 н. соляной кислотой и водой. После высушивания сернокислым магнием раствор фильтровали и удаляли растворитель. Остаток перекристаллизовывали из изопропанола. Синтез соединения (XIV) проводили в диметилформамиде, продукт реакции осаждали водой, выпавший осадок промывали соответственно бикарбонатом, соляной кислотой и водой.

В. Метод n-нитрофениловых эфиров. Гидрохлорид метилового эфира соответствующей аминокислоты (0,005 М) растворяли в 8 мл ДМФА и прибавляли *n*-нитрофениловый эфир карбобензоксиг-*S*-бензилцистеина и 0,7 мл триэтиламина. Реакционную смесь выдерживали 2—4 сут при комнатной температуре, прибавляли 100 мл воды и подкисляли до pH 3. Выпавший продукт экстрагировали этилацетатом. Этилацетатный раствор промывали водой, 5% раствором бикарбоната натрия, снова водой и сушили над сернокислым магнием. Остаток после удаления растворителя перекристаллизовывали из водного метанола. Синтез соединения (XXI) проводили в хлороформе.

Г. Азидный метод. К суспензии гидразида соответствующего карбобензоксидипептида (0,0005 М) в 8 мл абс. тетрагидрофурана добавляли при перемешивании и охлаждении льдом 0,27 мл (0,001 М) 3,7 н. раствора хлористого водорода в тетрагидрофуране. Прозрачный раствор охлаждали до -30° , приливали 0,005 М бутилнитрит и затем после 10—15-минутного перемешивания 0,14 мл триэтиламина и раствор 0,0005 М *N*-Ile-Gln-Asn-Cys(Bzl)-Pro-Leu-GlyNH₂ в 10 мл сухого ДМФА. Перемешивание продолжали при -10° еще 30 мин и оставляли реакционную смесь в холодильнике на 2 сут. Затем к полученному раствору приливали 50 мл воды, выпавший осадок отфильтровывали, промывали на фильтре 1 н. соляной кислотой, водой, спиртом, эфиром и сушили в вакууме. Очистку проводили пересаживанием из системы уксусная кислота — вода.

Д. Гидразинолиз метиловых эфиров карбобензоксидипептидов. Метилвый эфир соответствующего карбобензоксидипептида (0,0015 М) растворяли в 15 мл абс. метанола и, добавив 0,015 М гидразина, оставляли реакционную смесь на 3 сут при комнатной температуре. Затем отгоняли метанол, остаток промывали этилацетатом и пересаживали из системы ДМФА — вода.

Е. Метод пентахлорфениловых эфиров. Пентахлорфениловый эфир карбобензоксиаминокислоты (0,00045 М) и амид соответствующего гептапептида растворяли в 2 мл сухого ДМФА и оставляли на сутки при комнатной температуре. Затем реакционную смесь обрабатывали 50 мл этилацетата, выпавший осадок промывали на фильтре спиртом, этилацетатом, эфиром и сушили в вакууме. Очистку проводили пересаживанием из уксусной кислоты водой.

Снятие защитных групп и замыкание S—S-связей. Соответствующий защищенный нонапептид (0,0002—0,0004 М) растворяли в 300 мл перегнанного над натрием жидкого аммиака и при хорошем перемешивании раствор осторожно обрабатывали металлическим натрием до появления устойчивой в течение 1 мин синей окраски. Окраску уничтожали введением в реакционную смесь нескольких кристалликов ацетата аммония. За-

тем аммиак отгоняли, остаток растворяли в 2—3 л дистиллированной воды, доводили рН до 6,5—7,0 уксусной кислотой и окисляли сульфгидрильные группы цистеина кислородом воздуха, энергично перемешивая раствор в открытом сосуде в течение 2—3 сут. После фильтрования раствор упаривали в вакууме при 35—37° до объема ~150 мл и подвергали лиофильной сушке. Лиофилизированный продукт очищали методом гель-фильтрации на сефадексе G-15 или G-25. Системы, использовавшиеся для очистки препаратов, электрофоретическая подвижность полученных аналогов и данные по аминокислотному анализу их гидролизатов приведены в табл. 2.

ЛИТЕРАТУРА

1. Кауров О. А., Мартынов В. Ф., Михайлов Ю. Д., Ауна З. П. (1972) Ж. общ. химии, 42, 154.
2. Kaurov O. A., Martynov V. F., Mikhaylov Yu. D., Popernaczky O. A., Smirnova M. P. (1973) in Peptide 1972 (Hanson H., Jakubke H.-D., eds.), pp. 450—457, North-Holland Publ. Comp., Amsterdam.
3. Кауров О. А., Мартынов В. Ф., Морозов В. Б. (1970) Ж. общ. химии, 40, 908—911.
4. Holton P. (1948) Brit. J. Pharmacol., 3, 328.
5. Munsick R. A. (1960) Endocrinology, 66, 451.
6. Rudinger J., Krejčí J. (1968) Handbuch der Experimentellen Pharmacologie, Bd 23, S. 748—801, Springer-Verlag, N. Y.
7. Ariens E. (1962) Arch. int. Pharmacodyn., 99, 32—43.
8. Кауров О. А., Мартынов В. Ф. (1970) Вестн. ЛГУ, 16, 137—144.
9. Кауров О. А., Михайлов Ю. Д., Михайлова В. С. (1972) Ж. общ. химии, 42, 2782—2790.
10. Kaurov O. A. (1976) in Symposium on peptide and protein chemistry. USSR — FRG (Dushanbe, March 29 — April 1), pp. 81—82, M.
11. Кауров О. А. (1978) Биоорган. химия, 4, 604—618.
12. Rudinger J., Krejčí J. (1962) Experientia, 18, 585.
13. Шредер Э., Любке К. (1969) Пептиды, т. 2, с. 362, «Мир», М.
14. Vavrek R. J., Ferger M. F., Allen G. A., Rich D. H., Blomquist A. T., Vincent du Vigneaud (1972) J. Med. Chem., 15, 123—126.

Поступила в редакцию
16.II.1977

После доработки
23.VI.1977

STRUCTURE-UTEROTONIC ACTIVITY RELATIONSHIP FOR OXYTOCIN ANALOGS MODIFIED IN POSITION «2»

KAUROV O. A., MIKHAILOV Yu. D., SMIRNOVA M. P.

A. A. Zhdanov State University, Leningrad

A correlation was found between the uterotonic activity of the oxytocin analogs modified in position «2» and the σ_{aa}^c value which reflects the free energy change on the receptor complexation with the hormon or analogs. This dependence was substantiated by the activity observed for phenylglycine- and tryptophan containing analogs. An assumption was made that the side-chain in position «2» firstly bound to the receptor is displaced upon stimulation of the biological effect. The synthesis was performed of new oxytocin antagonists, [2-*D*-Trp]- and [2-*D*-Phe]-oxytocin, as well as of [2-*D*-Phe(OEt)]-oxytocin which displayed higher activity than [2-*L*-Phe(OEt)]-oxytocin.