



УДК 547.962.07

ИССЛЕДОВАНИЕ ПО СИНТЕЗУ α -БУНГАРОТОКСИНА II*. СИНТЕЗ ЗАЩИЩЕННЫХ ПОЛИПЕПТИДОВ ПОСЛЕДОВАТЕЛЬНОСТИ

1—43 α -БУНГАРОТОКСИНА **

*Вольпина О. М., Дейгин В. И., Михалева И. И.,
Иванов В. Т.*

*Институт биоорганической химии им. М. М. Шемякина
Академии наук СССР, Москва*

Описан синтез защищенных полипептидов — нонадекапептида 1—19 и октадекапептида 20—37 последовательности α -бунгаротоксина. Синтез осуществлен блочной конденсацией небольших пептидов, полученных последовательным наращиванием цепи с С-конца. С использованием синтезированного ранее фрагмента 38—43 получены защищенные пептиды, отвечающие последовательностям 33—43 и 28—43 α -бунгаротоксина.

В соответствии с общим планом синтеза α -бунгаротоксина [1] целью данной работы был синтез ряда фрагментов N-концевой последовательности 1—37 (синтез пептида 38—43 описан в сообщении [1]) токсина и их конденсация в более крупные пептидные блоки, которые предполагалось использовать в ходе поиска оптимального пути конденсации всех пептидных блоков в защищенный полипептид 1—74, соответствующий полной последовательности молекулы токсина.

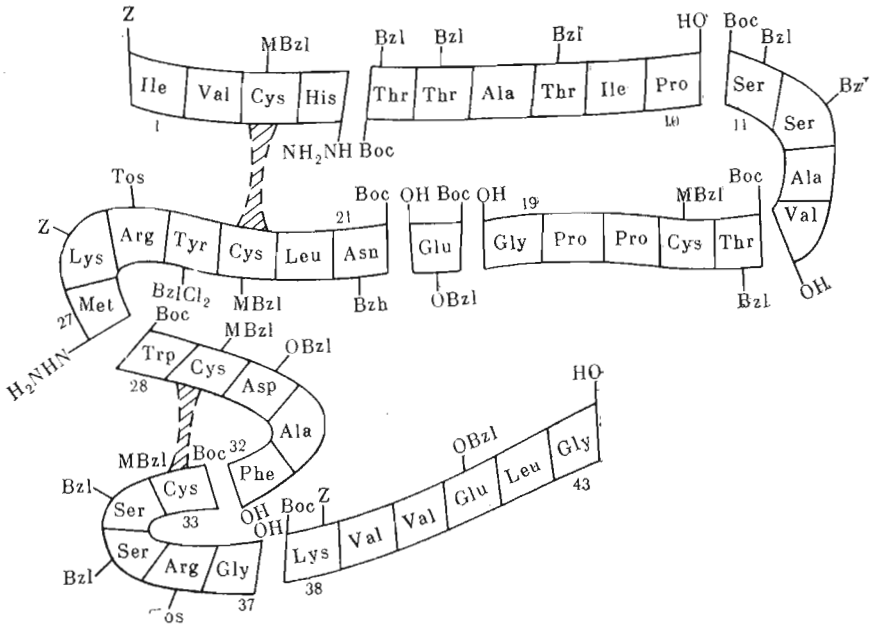
Согласно схеме синтеза N-концевой последовательности α -бунгаротоксина, участок 1—19 был разбит на фрагменты 1—10 и 11—19, содержащие на С-конце остатки пролина и глицина. Вследствие отсутствия таких остатков во фрагменте 20—37 его деление на блоки пришлось провести по остаткам оптически активных аминокислот (схема 1). Первоначальный план синтеза пептида 20—37 предусматривал проведение блочной конденсации азидным методом (наиболее безопасным с точки зрения рацемизации) между гидразидом 21—27 и пентапептидом 28—32 или декапептидом 28—37 с последующим присоединением остатка глутаминовой кислоты-20. С-Концевым остатком карбоксильного компонента был выбран метионин, с успехом использованный при проведении азидной конденсации фрагментов кортикотропина и меланотропинов [2, 3].

При выборе методов синтеза описанных ниже пептидов предварительно проводилась проверка различных конденсирующих агентов и отрабатывались условия проведения реакций, с тем чтобы обеспечить максимальный выход желаемого продукта и облегчить его выделение в чистом виде. Очистку коротких (ди — гекса) пептидов проводили перекристаллизацией или

* Сообщение 1 см. [1].

** Принятые сокращения: DCC — дициклогексилкарбодимид, НОВТ — 1-оксибензотриазол, ДМФА — диметилформамид. Остальные сокращения см. в сообщении [1].

Схема 1



Первоначальная схема деления на блоки последовательности 1-43 α -бунгаротоксина

колоночной хроматографией на силикагеле, непрореагировавший аминокомпонент в ряде случаев удавалось отделить фильтрованием через макропористую ионообменную смолу амберлит ХЕ-89.

Индивидуальность коротких пептидов контролировали хроматографией в тонком слое. При этом хроматографические системы подбирали таким образом, чтобы продукты реакции максимально отличались по подвижности от исходных веществ и вероятных побочных продуктов. Как и в предыдущем сообщении, все синтезированные пептиды были охарактеризованы данными аминокислотного анализа, короткие (ди-тетра) пептиды — данными элементного анализа, которые соответствовали вычисленным; константы всех полученных соединений приведены в табл. 1.

Рассмотрим вначале синтез N-концевого нонадекапептида 1-19 (схема 2). Декапептид 1-10 получали азидной конденсацией пептидов 1-4 и 5-10, которые синтезированы последовательным удлинением цепи с C-конца. Дипептид Z-Ile-Pro-OBzl (I) синтезирован карбодимидным методом из бензилоксикарбонилизолейцина и бензилового эфира пролина; дальнейшее наращивание цепи до гексапептида 5-10 осуществлялось методом N-оксисулфинимидных эфиров. Для защиты карбоксильной группы аминокомпонента использовали солеобразование с N-метилморфолином. Тетрапептид 1-4 получали, исходя из метилового эфира гистидина N-оксисулфинимидным и DCC/НОВТ-методами. Гидразид тетрапептида (IX) получен обычным образом, азидную конденсацию гексапептида (Va) и тетрапептида (IX) проводили с помощью *tert*-бутилнитрита. Декапептид 1-10 выделяли и анализировали гель-хроматографией на колонке с сефадексом LH-20 в ДМФА (рис. 1). По данным определения N-концевых остатков капиллярным методом (после обработки декапептида раствором бромистого водорода в уксусной кислоте), полученный продукт не содержал примеси аминокомпонента, результаты аминокислотного анализа соответствовали вычисленным значениям.

Для получения нонапептида 11-19 была использована схема 4+5, т. е. конденсация тетрапептида 11-14 с пентапептидом 15-19. Синтез

Константы синтезированных соединений

Пептид	Т. пл., °С	$[\alpha]_D^{20}$, град	R_f^* (система)
(I)	Масло	-30,0 (с 1; диоксан)	0,81 (5) 0,79 (20)
(II)	128-130	-46,0 (с 0,5; диоксан)	0,62 (7)
(III)	92-94	-44,8 (с 0,5; диоксан)	0,60 (8) 0,54 (9)
(IV) **	104-107	-27,2 (с 0,5; диоксан)	0,62 (10) 0,70 (8)
(V)	132-135	-10,7 (с 0,5; диоксан)	0,38 (11)
(VI)	85-88	-5,0 (с 0,5; диоксан)	0,72 (5)
(VII)	145-147	-11,3 (с 0,5; диоксан)	0,89 (30) 0,53 (33)
(VIII)	178-181	-20,2 (с 0,25; ДМФА)	0,75 (12)
(IX)	194-196	-9,1 (с 0,5; ДМФА)	0,50 (5)
(X)	188-190	-46,8 (с 0,1; CF_3CH_2OH)	-
(XI)	89-91	-16,4 (с 1; ДМФА)	0,80 (1) 0,51 (2)
(XII)	Масло	-18,7 (с 1; ДМФА)	0,72 (1) 0,30 (2)
(XIII)	68-78	-55,7 (с 1; ДМФА)	0,83 (3) 0,89 (4)
(XIV) **	112-115	-67,7 (с 1; ДМФА)	0,58 (3) 0,91 (4)
(XV)	158-160	-11,5 (с 1; ДМФА)	0,82 (3) 0,49 (2)
(XVI)	154-156	-7,5 (с 1; ДМФА)	0,60 (3) 0,29 (2)
(XVII)	170-172	-7,1 (с 1; ДМФА)	0,71 (3) 0,40 (1)
(XVIII)	169-178	-32,0 (с 0,1; ДМФА)	-
(XIX)	>250 разл.	-	-
(XX)	95-95,5	-7,4 (с 0,4; этилацетат)	0,57 (5) 0,81 (13)
(XXI)	Аморфн.	-14,8 (с 0,5; ДМФА)	0,58 (13) 0,67 (5)
(XXII)	83-84	-1,8 (с 0,5; ДМФА)	0,48 (14) 0,56 (15)
(XXIII)	82-82,5	-13,4 (с 0,5; ДМФА)	0,41 (18) 0,80 (19)
(XXIIIб)	137-138	-10 (с 0,1; ДМФА)	0,49 (26) 0,84 (27)
(XXIIIв)	123-124	+27 (с 0,5; ДМФА)	0,77 (17) 0,74 (27)
(XXIV)	149-150	-15,0 (с 0,5; ДМФА)	0,70 (19) 0,78 (14)
(XXV)	208-210	-3,6 (с 1; ДМФА)	0,79 (21) 0,82 (16)
(XXVa)	204-205	-4,3 (с 1; ДМФА)	0,51 (16) 0,84 (17)
(XXVб)	125-127	+15,0 (с 0,5; ДМФА)	0,22 (22) 0,60 (23)
(XXVI)	Аморфн.	-11,0 (с 0,7; диоксан)	0,45 (24) 0,89 (16)
(XXVII) ***	112-114	-6,9 (с 1; метанол)	0,27 (15) 0,18 (16)

* Условия ТСХ приведены в табл. 2. ** ДСНА-соль. *** СНА-соль.

Т а б л и ц а 1 (окончание)

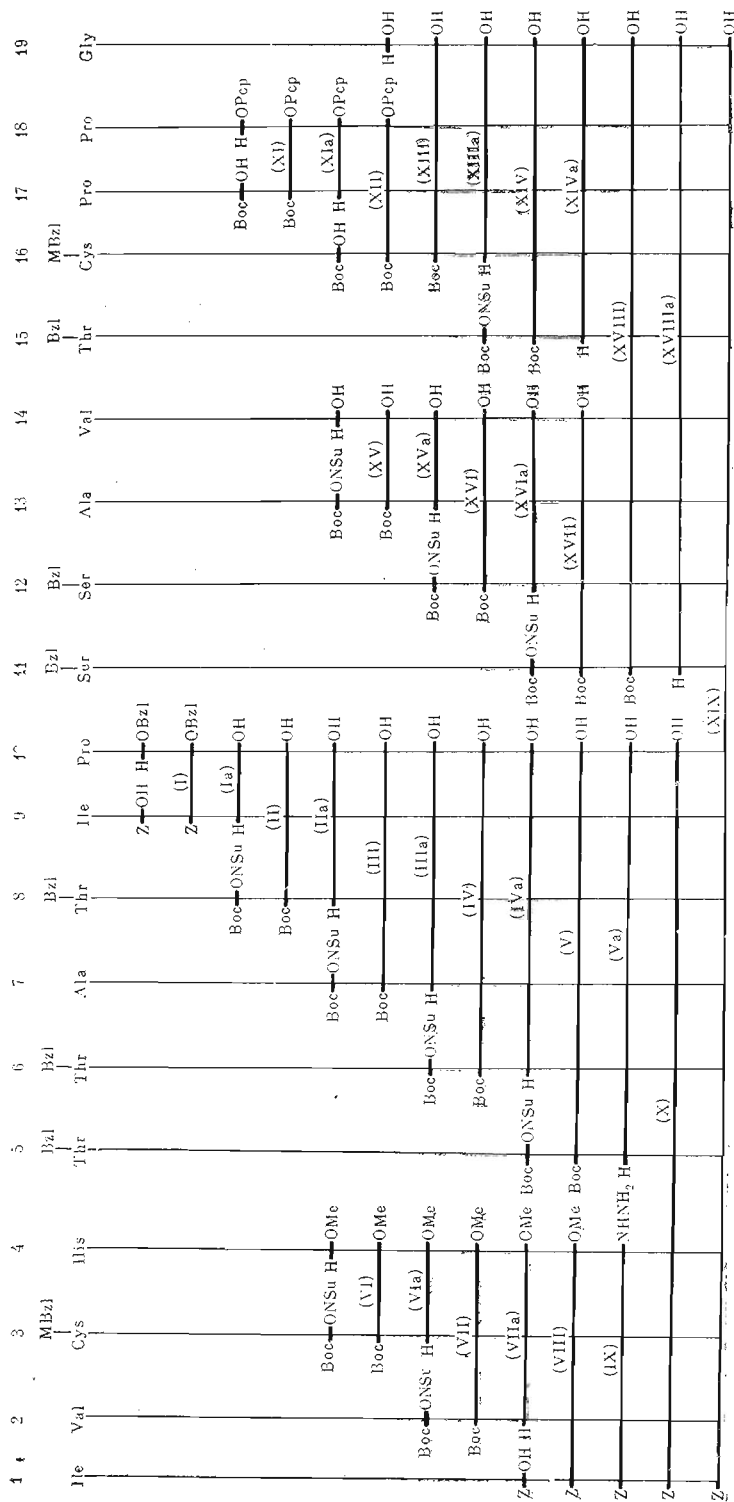
Пептид	Т. пл., °С	$[\alpha]_D^{20}$, град	n_D^{20} (система)
(XXVIII)	139–141	–24,2 (с 0,7; диоксан)	0,77 (16) 0,48 (25)
(XXIX)	157–159	–27,2 (с 0,2; диоксан)	0,62 (26) 0,38 (22)
(XXX)	Масло	–4,1 (с 1; диоксан)	0,45 (16) 0,83 (25)
(XXXI)	Аморфн.	–6,1 (с 0,5; диоксан)	0,71 (26) 0,82 (15)
(XXXII)	Аморфн.	–1,2 (с 0,5; диоксан)	0,77 (16) 0,89 (4)
(XXXIII)	95–96	+44,5 (с 0,3; диоксан)	0,20 (16) 0,40 (27)
(XXXIV)	115–117	28,4 (с 0,5; ДМФА)	0,42 (26) 0,30 (22)
(XXXV)	228–229	–27,5 (с 0,1; диоксан)	0,83 (28) 0,54 (29)
(XXXVII)	>250 разл.	–50 (с 0,5; ДМФА)	0,63 (31)
(XXXVIII)	>260 разл.	–	–
(XXXIX)	179–182	–28,6 (с 0,5; ДМФА)	0,79 (22) 0,59 (27)
(XL)	180–181	–4,4 (с 0,5; ДМФА)	0,47 (16) 0,81 (27)
(XLI)	135–136	+7,6 (с 0,5; ДМФА)	0,40 (16) 0,76 (27)
(XLII)	90–92	+10,0 (с 0,5; ДМФА)	0,79 (16) 0,85 (17)
(XLIII)	217–218	–5,0 (с 0,2; ДМФА)	0,78 (17) 0,87 (32)
(XLIV)	>240 разл.	–13,4 (с 0,4; ДМФА)	0,31 (16) 0,56 (27)
(XLV)	>240 разл.	–	–

тетрапептида проводили последовательным присоединением остатков к С-концевому валину методом N-оксисукцинимидных эфиров. Таким способом первоначально планировалось осуществить и синтез пентапептида 15–19. Однако при удалении N-защитной Boc-группы пептиды H-Pro-Gly-OBu^t и H-Pro-Pro-Gly-OBu^t не удалось выделить в чистом виде. Аналогичные трудности при работе с пролилглициновыми пептидами наблюдались ранее [4]. В связи с этим пришлось использовать обходный путь (см. схему 2) с применением пентахлорфениловых эфиров одновременно в качестве и защитной и активирующей группы. Пентахлорфениловые эфиры (XI) и (XII) синтезированы карбодимидным методом (0–5° С, хлороформ). Заметного аминолиза этих активированных эфиров при этом не наблюдалось. Тетрапептид (XIII) получен конденсацией пентахлорфенилового эфира (XII) с глицином, далее методом N-оксисукцинимидных эфиров получали пентапептид (XIV).

Конденсацию тетрапептида (XVII) и пентапептида (XIV) с получением соответствующего нонапептида (XVIII) осуществляли DCC/НОВТ-методом, очистка нонапептида (XVIII) затруднений не вызвала. Степень рацемизации С-концевого остатка валина-14, определенная методом ГЖХ [5], не превышала 0,5%.

Синтез нонадекапептида 1–19 из декапептида 1–10 и нонапептида 11–19 проводили DCC/НОВТ-методом. Очистка полученного нонадекапептида (XIX) достигалась двукратной гель-хроматографией на сефадексе LH-20 в ДМФА. В связи с трудностью гель-хроматографического отделения ко-

Схема 2



Синтез фрагмента 1-19

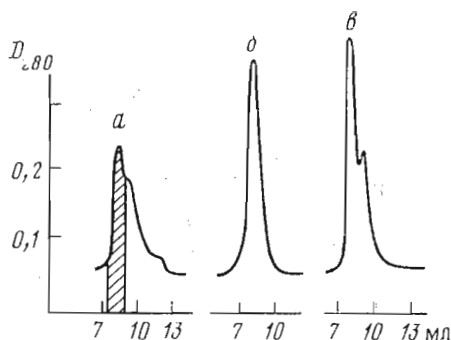


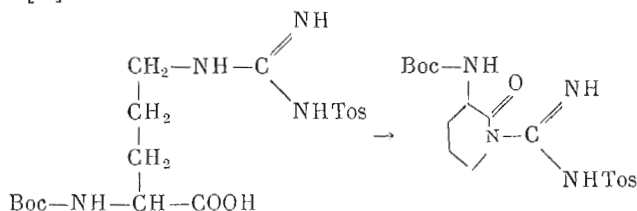
Рис. 1. Хроматографический анализ фрагмента 1–10 (X) на сефадексе LH-20 в ДМФА (колонка 170×10 мм): *a* – реакционной смеси (заштрихованная область соответствует фракции, отбираемой для рехроматографии); *b* – вещества, полученного после трехкратной хроматографии; *v* – смеси выделенного вещества с ~15% аминокомпонента (Va)

нечного продукта от карбоксильного компонента (X) при синтезе использовали 20%-ный избыток аминокомпонента (XVIIIa). Анализ кривых элюции при делении реакционной смеси и контрольных смесей выделенного продукта с ~10% аминокомпонента, а также данные определения N-концевых аминогрупп дансильным методом и данные аминокислотного анализа свидетельствовали о чистоте пептида (XIX).

Рассмотрим синтез октадекапептида 20–37, который, согласно первоначальному плану, был разбит на фрагменты в соответствии со схемой 1. Начиная с метилового эфира метионина, ступенчатым наращиванием цепи с C-конца получали гептапептид 21–27, используя в основном метод N-оксисукцинимидных эфиров (схема 3). Наилучшие результаты при введении в цепь Вос-тозиларгинина были получены при использовании модифицированного метода смешанных ангидридов [6], при этом не наблюдалось образования лактама. При конденсации Вос-Asn(Bzh)-OH с гексапептидом (XXIVa) оптимальным оказался DCC/НОВТ-метод. При выделении гептапептида 21–27 (XXV) для удаления остатков аминокомпонента использовали ионообменную хроматографию на сефадексе CM-25 (H⁺) в 90% водном ДМФА.

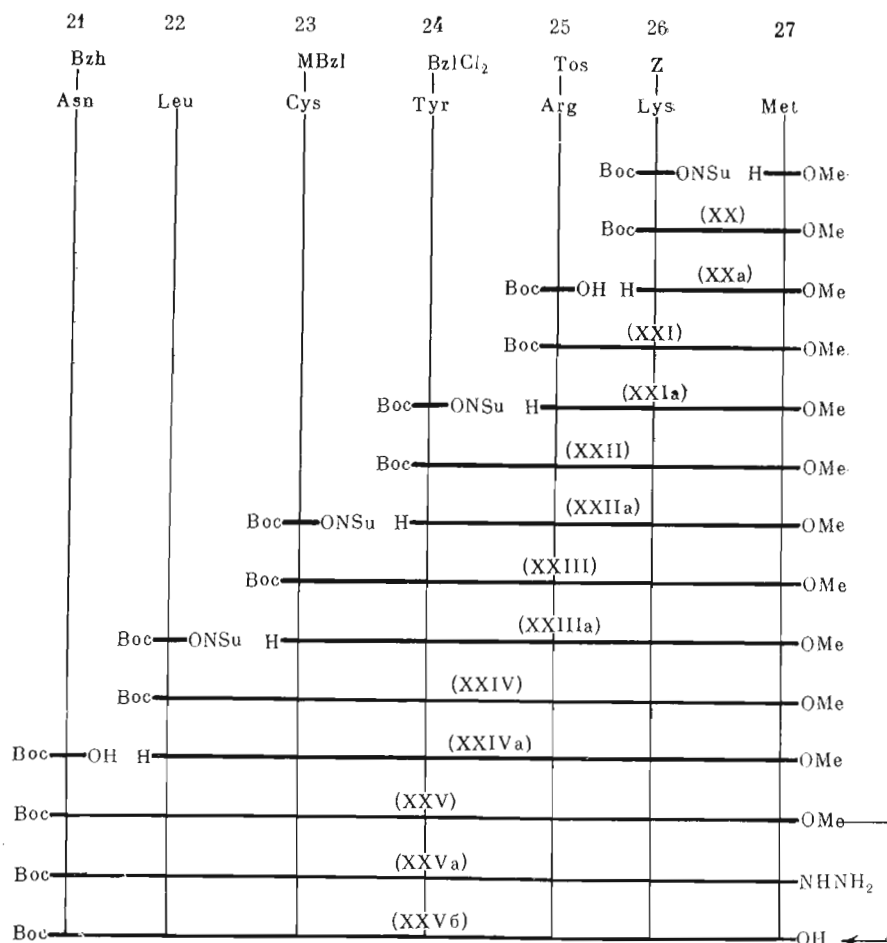
Синтез пентапептида 28–32 осуществляли по схеме 4. Дипептид (XXVI) получали модифицированным методом смешанных ангидридов, далее остатки аминокислот вводились методом N-оксисукцинимидных эфиров (C-концевой карбоксил защищали солеобразованием). Стадию присоединения триптофана контролировали спектрофотометрически.

На схеме 4 приведен также синтез пентапептида 33–37. Первоначально в качестве исходного соединения был выбран *tert*-бутиловый эфир глицина, поскольку при использовании свободного глицина в слабощелочных условиях, необходимых для блокирования его карбоксильной группы солеобразованием, Вос-Arg(Tos)-OH склонен к образованию соответствующего лактама [7]:



Дипептид Вос-Arg(Tos)-Gly-OBu^t был получен модифицированным методом смешанных ангидридов, причем в реакционной среде не было заме-

Схема 3

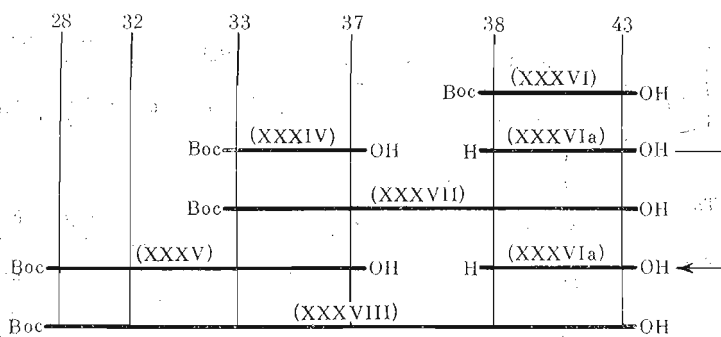


Синтез фрагмента 21–27

чено присутствие лактама тозиларгинина. Остаток Boc-O-бензилсерина вводили методом N-оксисукцинимидных эфиров, далее N- и C-защитные группы удаляли трифторуксусной кислотой и полученный продукт вводили в конденсацию с Boc-Ser(Bzl)-ONSu. На последней стадии было обнаружено, что реакционная смесь содержала значительное количество (50–70%) побочного продукта, обладавшего более высокой хроматографической подвижностью по сравнению с ожидаемым тетрапептидом Boc-Ser(Bzl)-Ser(Bzl)-Arg(Tos)-Gly-OH. Аминокислотный анализ обоих продуктов давал близкие значения, но, по данным титрования, побочный продукт не содержал свободной карбоксильной группы. Более детально этот продукт не исследовался, однако можно предположить, что он представляет собой лактам, образованный гуанидиновой группой аргинина и карбоксильной группой C-концевого глицина. В связи с возникшими осложнениями схема синтеза пентапептида (XXXIV) была изменена так, что в качестве исходного продукта использовался метиловый эфир глицина (схема 4). Декапептид 28–37 получали DCC/НОВТ-методом из соответствующих пентапептидов, и его выделение в чистом виде протекало без осложнений.

В ходе поиска оптимального пути соединения фрагментов в полную последовательность α -бунгаротоксина в расчете на конденсацию с ранее полученным пептидом 44–74 [1] нами были получены пептиды 33–43 и

Схема 5

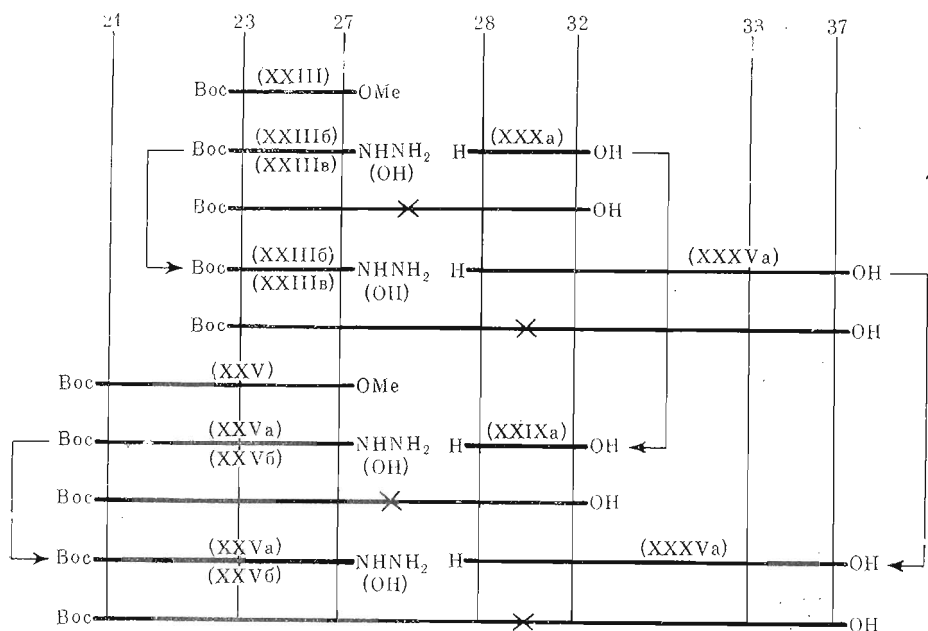


Синтез фрагментов 28—37 и 28—43 блочной конденсацией

новому способу его деления на фрагменты (схема 7); путь синтеза приведен на схеме 8. Трипептид 20—22 (схема 8) синтезирован методом активированных эфиров. При получении нонапептида (XLIII) стояла задача количественного проведения реакции конденсации, так как аминокомпонент (XXIXa), близкий по свойствам к продуктам реакции, не удалось удалить ни гель-фильтрацией, ни ионообменной хроматографией в диметилформамиде на амберлите XE-89 (H^+) и биорексе 63 (H^+) (высокая гидрофобность пептида не позволила использовать водноорганические растворы). Наилучшие результаты при синтезе нонапептида (XLIII) были получены при использовании 3-кратного избытка N-оксисукцинимидного эфира трипептида (XLII). Степень рацемизации лейцина-22 при этом не превышала 0,5%.

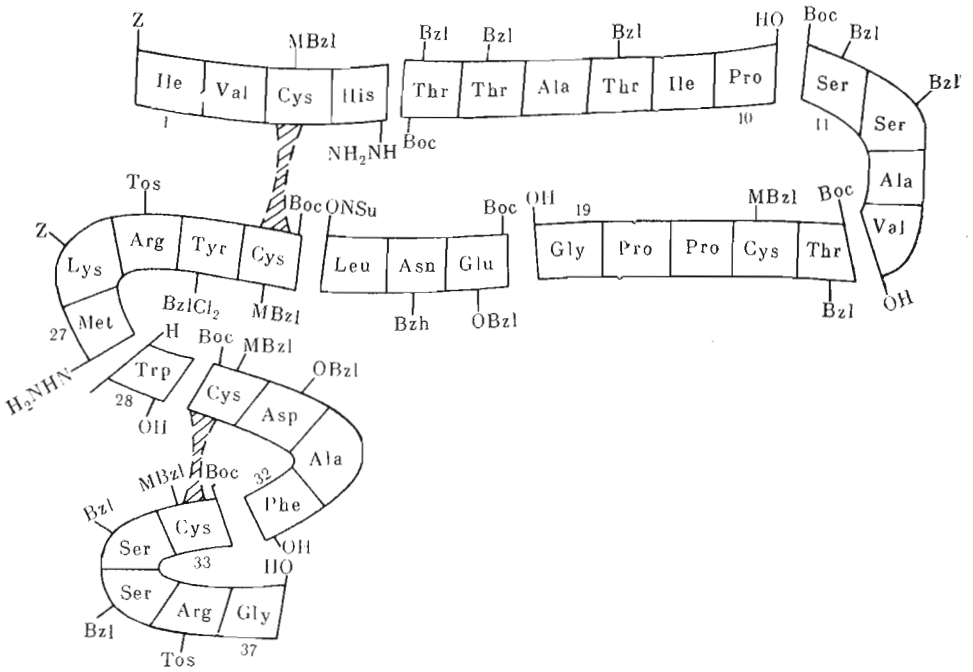
Нонапептид (XLIV) получен из соответствующих тетра- и пентапептидов без осложнений DCC/НОВТ-методом. Октадекапептид 20—37 (XLV) был получен конденсацией двух нонапептидов, причем с наибольшим вы-

Схема 6



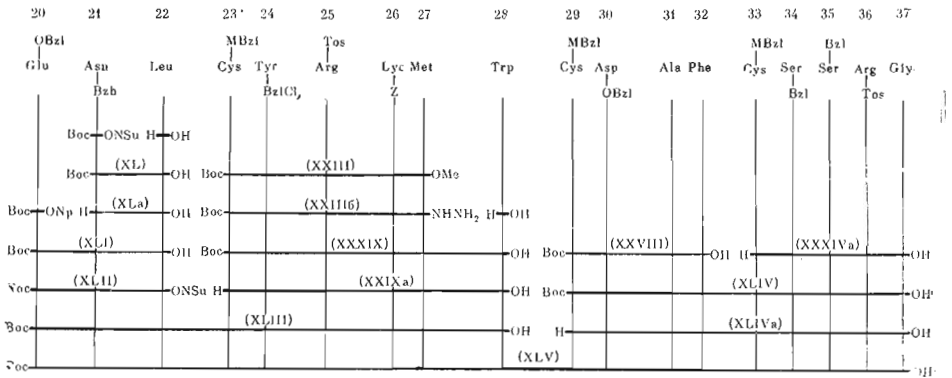
Неудачные попытки синтеза фрагментов 23—32, 23—37 и 21—37

Схема 7



Окончательная схема деления на блоки последовательности 1-37 α -бунгаротоксина

Схема 8



Синтез фрагмента 20-37

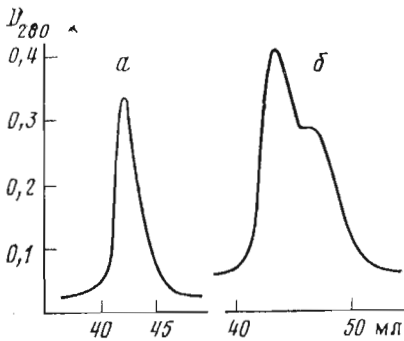


Рис. 2. Хроматографический анализ фрагмента 20-37 (XLV) на сефадексе LH-20 в ДМФА (колонка 20×490 мм): а — выделенного продукта; б — смеси выделенного продукта с 30% аминокомпонента (XLIVa)

ходом (82%) протекала конденсация модифицированным методом смешанных ангидридов, при этом не было необходимости использовать для очистки гель-хроматографию.

Чистоту конечного октадекапептида (XLV), как и других пептидов, полученных блочной конденсацией, проверяли гель-хроматографически на сефадексе LH-20 в диметилформамиде (рис. 2). Анализ этих данных, определение N-концевых аминокислот дансильным методом и данные аминокислотного анализа свидетельствовали о чистоте пептида (XLV).

Полученный октадекапептид 20—37 и нонадекапептид 1—19 были использованы в синтезе 74-членного защищенного пептида с полной аминокислотной последовательностью α -бугаротоксина [8].

Экспериментальная часть

Материалы и методы, использованные в работе, описаны в сообщении [1]. Условия аналитической хроматографии в тонком слое приведены в табл. 2.

1. *Z-Ile-Pro-OBzl (I)*. К охлажденному раствору 2,65 г (10,0 ммоль) *Z-Ile-OH* в 15 мл диоксана добавляли раствор 2,05 г (10,0 ммоль) бензильного эфира пролина в 10 мл диоксана и 2,26 г (11,0 ммоль) DCC. Реакционную смесь перемешивали при охлаждении ($\sim 5^\circ\text{C}$) в течение 2 и 24 ч при 20°C . Затем осадок отфильтровывали, фильтрат упаривали, остаток растворяли в этилацетате и полученный раствор промывали 10% лимонной кислотой, 5% NaHCO_3 , водой, высушивали над MgSO_4 и упаривали. Полученный продукт хроматографировали на силикагеле при использовании градиентного элюирования системой растворителей хлороформ — этилацетат. Дипептид (I) выделен в виде масла с выходом 3,05 г (66%). Аминокислотный анализ Ile 1,00(1), Pro 1,00(1).

2. *Woc-Thr(Bzl)-Ile-Pro-OH (II)*. а) 0,90 г (2,0 ммоль) дипептида (I) растворяли в 5 мл 40% $\text{NBr/CH}_3\text{COOH}$. Через 1 ч раствор упаривали, остаток многократно промывали петролейным эфиром и сухим эфиром. Получен белый кристаллический порошок бромгидрата пептида (Ia) с выходом 0,44 г (70%), R_f 0,65(6) *.

б) К 3,27 г (10,0 ммоль) бромгидрата дипептида (Ia) и 2,20 мл (20,0 ммоль) *N*-метилморфолина в 10 мл ДМФА при охлаждении до 0°C прибавляли раствор 4,03 (10,0 ммоль) *Woc-Thr(Bzl)-ONSu* в 10 мл диоксана, полученную смесь перемешивали 2 ч при 5°C и 20 ч при 20°C . Затем раствор подкисляли уксусной кислотой до pH 5, упаривали, добавляли к остатку этилацетат, раствор промывали 10% лимонной кислотой, водой, высушивали над Na_2SO_4 и упаривали. Пептид кристаллизовали из смеси этилацетат — эфир — гептан, кристаллический пептид отфильтровывали, маточник упаривали и хроматографировали на колонке с силикагелем, уравновешенным CHCl_3 , при использовании градиентного элюирования системой растворителей этилацетат — метанол, 2:1. Выход трипептида (II) 3,89 г (75%). Аминокислотный анализ: Thr 0,93(1), Ile 1,00(1), Pro 1,00(1).

3. *Woc-Ala-Thr(Bzl)-Ile-Pro-OH (III)*. а) 2,00 г (3,83 ммоль) трипептида (II) растворяли в 50% растворе CF_3COOH в CH_2Cl_2 . Через 40 мин раствор упаривали, остаток многократно промывали сухим эфиром. Получен трифторацетат пептида (IIa) с выходом 1,84 г (90%), R_f 0,25(8).

б) Конденсацию 1,72 г (3,2 ммоль) трифторацетата (IIa) и 0,91 г (3,2 ммоль) *Woc-Ala-ONSu* в присутствии 0,70 мл (6,4 ммоль) *N*-метилморфолина проводили в условиях опыта 2б. Раствор упаривали, остаток рас-

* Здесь и далее в скобках приведен номер системы растворителей согласно табл. 2.

Условия хроматографии в тонком слое *

Растворитель	Объемные соотношения компонентов в системах										
	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11
Хлороформ	6	2	20	---	5	---	15	---	2	5	---
Этилацетат	---	1	---	---	5	2	10	---	2	5	---
Метанол	2	---	10	---	1	---	10	---	1	5	---
<i>n</i> -Бутанол	---	---	---	4	---	---	---	---	---	---	---
Ацетон	---	---	---	---	---	---	1	---	---	1	---
Пиридин	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---
Уксусная кислота	---	---	---	1	---	---	---	---	---	---	---
Диоксап	---	---	---	---	---	4	---	---	---	---	---
Муравьиная кислота	---	---	---	---	---	---	1	---	---	1	10
Гептан	3	1	---	---	---	---	---	---	---	---	---
Вода	---	---	---	---	---	2	1	3	---	1	---
25% NH ₄ OH	---	---	1	---	---	1	---	---	---	---	1
Изобутанол	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---
Метилэтилкетон	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---
Изопропанол	---	---	---	---	---	---	---	7	---	---	10

Растворитель	Объемные соотношения компонентов в системах											
	12	13	14	15	16	17	18	19	20	21	22	
Хлороформ	10	10	1	20	2	1	10	5	8	---	2	
Этилацетат	10	5	---	10	1	1	5	5	---	1	2	
Метанол	5	2	---	3	1	1	2	2	1	---	1	
<i>n</i> -Бутанол	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	
Ацетон	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	
Пиридин	---	---	---	---	---	---	---	---	---	4	---	
Уксусная кислота	---	---	---	---	---	---	---	---	---	3	---	
Диоксап	---	---	1	---	---	---	---	---	---	---	2	
Муравьиная кислота	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	
Гептан	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	
Вода	1	---	---	---	---	---	---	---	---	3	---	
25% NH ₄ OH	---	---	---	1	---	---	---	---	---	---	---	
Изобутанол	---	---	---	---	---	---	---	---	5	---	1	
Метилэтилкетон	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	
Изопропанол	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	

Растворитель	Объемные соотношения компонентов в системах											
	23	24	25	26	27	28	29	30	31	32	33	
Хлороформ	2	---	4	20	10	---	---	---	---	---	28	
Этилацетат	2	4	---	10	10	---	---	---	22	---	---	
Метанол	1	1	1	10	7	---	---	2	---	---	4	
<i>n</i> -Бутанол	---	---	---	---	---	---	4	---	---	---	---	
Ацетон	---	---	---	---	---	1	---	---	---	---	---	
Пиридин	---	---	---	---	---	---	---	---	3	---	---	
Уксусная кислота	---	---	---	---	2	---	---	---	3	1	---	
Диоксап	2	---	---	---	---	---	4	1	---	50	---	
Муравьиная кислота	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	1	
Гептан	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	
Вода	---	---	---	---	---	---	2	---	2	1	---	
25% NH ₄ OH	2	---	---	1	---	1	1	1	---	---	---	
Изобутанол	---	---	---	---	---	---	---	10	---	10	---	
Метилэтилкетон	---	---	---	---	---	1	---	---	14	10	---	
Изопропанол	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	

* Для хроматографических систем 15, 17, 18, 24—26 использовались пластинки с закрепленным слоем силикагеля фирмы Eastman — Kodak Company, в остальных — фирмы Merck.

творяли в этилацетате, промывали раствор 10% лимонной кислотой, водой, экстрагировали пептид 5% KHCO_3 . Экстракт промывали этилацетатом, подкисляли лимонной кислотой и пептид экстрагировали этилацетатом. Полученный раствор высушивали над Na_2SO_4 и упаривали, остаток растворяли в смеси метанол — эфир, добавляли эквивалентное количество дициклогексиламина в эфире. Выпавшую соль отфильтровывали, разлагали в этилацетате раствором лимонной кислоты, этилацетатный раствор промывали водой, высушивали, упаривали. Тетрапептид перекристаллизовывали из смеси этилацетата с гептаном. Пептид (III) получен с выходом 1,13 г (60%). Аминокислотный анализ: Ala 1,00(1), Thr 0,92(1), Ile 1,01(1), Pro 1,00(1).

4. *Boc-Thr(Bzl)-Ala-Thr(Bzl)-Ile-Pro-OH (IV)*. а) В условиях опыта 3а из 5,80 г (10,0 ммоль) тетрапептида (III) получен трифторацетат (IIIa) с выходом 5,74 г (95%), R_f 0,31(8).

б) Из 4,99 г (8,25 ммоль) трифторацетата (IIIa) и 3,32 г (8,25 ммоль) *Boc-Thr(Bzl)-ONSu* в присутствии 1,81 мл (16,5 ммоль) *N*-метилморфолина в условиях опыта 2б получали пентапептид (IV) и выделяли его в виде дициклогексиламмониевой (DCHA) соли. Выход 4,52 г (57%). Аминокислотный анализ: Thr 1,89(2), Ala 1,03(1), Ile 1,00(1), Pro 1,00(1).

5. *Boc-Thr(Bzl)-Thr(Bzl)-Ala-Thr(Bzl)-Ile-Pro-OH (V)*. а) 8,66 г (9,00 ммоль) DCHA-соли (IV) разрушали 10% лимонной кислотой, а затем обрабатывали CF_3COOH , как описано в опыте 3а, и получали 6,82 г (95%) трифторацетата (IVa). R_f 0,52(8).

б) Из 6,10 г (7,65 ммоль) соединения (IVa), 3,08 г (7,65 ммоль) *Boc-Thr(Bzl)-ONSu* в присутствии 1,68 мл (15,30 ммоль) *N*-метилморфолина в условиях опыта 2б получали и перекристаллизацией из смеси этилацетат — гексан выделяли 5,50 г (63%) гексапептида (V). Аминокислотный анализ: Thr 2,82(3), Ala 1,00(1), Ile 1,00(1), Pro 1,00(1).

6. *Boc-Cys(MBzl)-His-OMe (VI)*. К охлажденному до 0°С раствору 11,52 г (33,8 ммоль) *Boc-Cys(MBzl)-OH* в 25 мл диоксана прибавляли 4,55 г (33,8 ммоль) НОВТ и раствор 7,00 г (33,99 ммоль) DCC в 10 мл диоксана. Раствор перемешивали при охлаждении в течение 1 ч и затем к нему прибавляли 13,95 г (33,80 ммоль) трифторацетата *H-His-OMe* и 7,44 мл (67,60 ммоль) *N*-метилморфолина. Реакционную смесь перемешивали 1 ч при 0°С и 15 ч при 20°С и обрабатывали, как описано в опыте 4, пептид кристаллизовали из смеси этилацетата с эфиром. Получено 11,02 г (65%) дипептида (VI). Аминокислотный анализ: Cys 0,65(1), His 1,00(1).

7. *Boc-Val-Cys(MBzl)-His-OMe (VII)*. а) 8,35 г (16,5 ммоль) дипептида (VI) обрабатывали, как описано в опыте 3а, и получили трифторацетат дипептида (VIIa) с количественным выходом.

б) К раствору 3,69 г (17,0 ммоль) *Boc-Val-OH* в 20 мл диоксана при охлаждении до 0°С прибавляли 2,30 г (17,0 ммоль) НОВТ и 3,50 г (17,0 ммоль) DCC, затем добавляли 8,60 г (17,0 ммоль) соединения (VIIa) и 1,87 мл (17,0 ммоль) *N*-метилморфолина. Реакцию проводили и обрабатывали в условиях предыдущего опыта, трипептид (VII) получен с выходом 7,00 г (70%). Аминокислотный анализ: Val 1,00(1), His 0,93(1), Cys 0,62(1).

8. *Z-Ile-Val-Cys(MBzl)-His-OMe (VIII)*. а) Из 5,51 г (9,30 ммоль) пептида (VII), как описано в опыте 3а, получили 5,30 г (95%) трифторацетата трипептида (VIIIa).

б) Конденсацию 2,65 г (10,0 ммоль) *Z-Ile-OH* и 5,12 г (10,0 ммоль) соединения (VIIIa) в присутствии 1,35 г (10,0 ммоль) НОВТ, 2,06 г (10,0 ммоль) DCC и 1,1 мл (10,0 ммоль) *N*-метилморфолина проводили как описано в опыте 6. Реакционную смесь обрабатывали как в опыте 4, выделенный пептид перекристаллизовывали из смеси этилацетат — хлороформ — эфир. Получено 5,03 г (68%) тетрапептида (VIII). Аминокислотный анализ: Ile 1,00(1), Val 1,00(1), Cys 0,61(1), His 1,01(1) (значения для Ile и Val получены в результате 100-часового гидролиза).

9. *Z-Ile-Val-Cys(MBzl)-His-NHNH₂ (IX)*. 350 мг (0,44 ммоль) пептида (VIII) растворяли в 15 мл ДМФА, добавляли 0,25 мл (5,0 ммоль) гидразингидрата, полученный раствор перемешивали 72 ч, затем добавляли 250 мл эфира, осадок отфильтровывали, промывали эфиром. Получено 280 мг (83%) гидразида (IX).

10. *Z-Ile-Val-Cys(MBzl)-His-Thr(Bzl)-Thr(Bzl)-Ala-Thr(Brl)-Ile-Pro-OH-(X)*. а) Из 370 мл (0,33 ммоль) гексапептида (V) аналогично опыту 3а получали 350 мг (95%) трифторацетата гексапептида (Va).

б) К охлажденному до -20°C раствору 280 мг (0,37 ммоль) гидразида (IX) в 20 мл ДМФА прибавляли 0,37 мл 2,85 н. раствора HCl в диоксане и 0,045 мл (0,37 ммоль) *трет*-бутилнитрита. Через 40 мин раствор охлаждали до -40 — -50°C и добавляли *N*-метилморфолин до pH 7–7,5. К полученному раствору прибавляли охлажденный раствор 360 мг (0,32 ммоль) соли гексапептида (Va) с 0,07 мл (0,64 ммоль) *N*-метилморфолина в 15 мл ДМФА, раствор перемешивали 4 ч при -20°C , 48 ч при 2°C и 48 ч при 20°C . Затем раствор подкисляли уксусной кислотой до pH 5, добавляли эфир до полного осаждения, осадок отфильтровывали, промывали эфиром, этилацетатом и снова эфиром. Полученный продукт подвергали трехкратной гель-хроматографии на сефадексе LH-20 в ДМФА (колодка 49×1520 мм). Выделено 410 мг (65%) декапептида (X). Аминокислотный анализ: Ile 2,00 (2), Val 0,98 (1), Cys 0,65 (1), His 0,92 (1), Thr 2,70 (3), Ala 1,00 (1), Pro 1,10 (1).

11. *Woc-Pro-Pro-OPcp (XI)*. а) 9,28 г (20,0 ммоль) пентахлорфенилового эфира *Woc-Pro-OH* обрабатывали, как описано в опыте 3а, и кристаллизацией из смеси этанол — эфир выделяли трифторацетат *N-Pro-OPcp* с выходом 9,37 г (98%). R_f 0,72 (3), R_f 0,91 (4).

б) 7,17 г (15,0 ммоль) трифторацетата *N-Pro-OPcp* и 3,23 г (15,0 ммоль) *Woc-Pro-OH* растворяли в хлороформе и при 0°C добавляли 1,65 мл (15,0 ммоль) *N*-метилморфолина и 3,09 г (15,0 ммоль) DCC. Реакционную смесь перемешивали 2 ч при 0°C и 12 ч при 20°C , а затем обрабатывали так, как описано в опыте 1. Получен дипептид (XI) с выходом 7,21 г (83%).

12. *Woc-Cys(MBzl)-Pro-Pro-OPcp (XII)*. а) 3,76 г (6,5 ммоль) соединения (XI) обрабатывали, как описано в опыте 3а, и кристаллизацией из смеси этанол — эфир получали с выходом 3,79 г (99%) трифторацетат (XIa). R_f 0,35 (1), R_f 0,62 (4).

б) 3,79 г (6,4 ммоль) трифторацетата (XIa) растворяли в хлороформе и добавляли 2,49 г (7,3 ммоль) *Woc-Cys(MBzl)-OH*. Раствор охлаждали до -15°C и добавляли 1,50 г (7,3 ммоль) DCC и 0,70 мг (6,4 ммоль) *N*-метилморфолина. Реакционную смесь перемешивали 24 ч при -15°C , затем обрабатывали, как описано в опыте 6, и получали трипептид (XII) в виде масла. Выход 2,94 г (56%).

13. *Woc-Cys(MBzl)-Pro-Pro-Gly-OH (XIII)*. 7,82 г (10,0 ммоль) пептида (XII) растворяли в 10 мл 80% водного ДМФА и добавляли 1,13 г (15,0 ммоль) глицина и 1,50 г (15,0 ммоль) *N*-метилморфолина. Суспензию перемешивали 3 сут до полного растворения. К гомогенному раствору добавляли 5% NaHCO_3 , промывали этилацетатом, водный слой подкисляли сухой лимонной кислотой до pH 3, экстрагировали этилацетатом, органический слой промывали 10% раствором лимонной кислоты, водой, сушили над Na_2SO_4 , этилацетат упаривали. Остаток кристаллизовали из эфира и получали тетрапептид (XIII) с выходом 6,34 г (74%). Аминокислотный анализ: Cys 0,65 (1), Pro 1,89 (2), Gly 1,00 (1).

14. *Woc-Thr(Bzl)-Cys(MBzl)-Pro-Pro-Gly-OH (XIV)*. а) Трифторацетат (XIIIa) получали с выходом 3,03 г (84%), как описано в опыт 3а, исходя из 3,61 г (5,95 ммоль) тетрапептида (XIII). R_f 0,62 (4), R_f 0,45 (3).

б) Реакцию 3,03 г (5,0 ммоль) трифторацетата (XIIIa), 2,23 г (5,50 ммоль) *Woc-Thr(Bzl)-ONSu* и 1,10 мл (10,0 ммоль) *N*-метилморфолина в ДМФА проводили и реакционную смесь обрабатывали в условиях

опыта 26. Пентапептид (XIV) выделяли в виде DCHA-соли, выход 7,32 г (76%). Аминокислотный анализ: Thr 0,92 (1), Pro 1,91 (2), Gly 1,00 (1), Cys 0,63 (1).

15. *Voc-Ala-Val-OH* (XV). К охлажденной до 0°С суспензии 11,7 г (100,0 ммоль) валина и 8,40 г (100,0 ммоль) NaHCO₃ в 100 мл 50% водного диоксана добавляли 18,59 г (65,0 ммоль) Voc-Ala-ONSu. Реакцию проводили как описано в опыте 26, реакционную смесь обрабатывали как описано в опыте 13. Кристаллизацией из эфира выделили дипептид (XV) с выходом 14,41 г (77%). Аминокислотный анализ: Ala 1,00 (1), Val 1,01 (1).

16. *Voc-Ser(Bzl)-Ala-Val-OH* (XVI). а) 12,0 г (41,6 ммоль) дипептида (XV) обрабатывали как описано в опыте 3а и получали трифторацетат (XVa) с выходом 12,07 г (96%). R_f 0,12 (3), R_f 0,55 (4).

б) Конденсацию 12,0 г (39,74 ммоль) трифторацетата (XVa) и 14,76 г (39,76 ммоль) Voc-Ser(Bzl)-ONSu в присутствии 8,8 мл (80,0 ммоль) N-метилморфолина в ДМФА проводили в условиях опыта 26, реакционную смесь обрабатывали как описано в опыте 13. Получали трипептид (XVI) с выходом 9,97 г (54%). Аминокислотный анализ: Ser 0,90 (1), Ala 1,00 (1), Val 1,00 (1).

17. *Voc-Ser(Bzl)-Ser(Bzl)-Ala-Val-OH* (XVII). а) Трифторацетат (XVIa) получали аналогично трифторацетату (IIa), исходя из 8,88 г (19,11 ммоль) трипептида (XVI). Выход 8,7 г (95%). R_f 0,42 (4), R_f 0,25 (3).

б) Реакцию 8,7 г (18,16 ммоль) трифторацетата (XVIa) и 7,84 г (20,0 ммоль) Voc-Ser(Bzl)-ONSu в присутствии 3,99 мл (39,32 ммоль) N-метилморфолина в ДМФА проводили в условиях опыта 26. Через 72 ч раствор упаривали и обрабатывали как описано в опыте 13. Кристаллизацией из смеси эфир — гексан получали тетрапептид (XVII) с выходом 6,76 г (58%). Аминокислотный анализ: Ser 1,82 (2), Ala 1,00 (1), Val 1,00 (1).

18. *Voc-Ser(Bzl)-Ser(Bzl)-Ala-Val-Thr(Bzl)-Cys-(MBzl)-Pro-Pro-Gly-OH* (XVIII). а) 9,64 г (10,0 ммоль) DCHA-соли пептида (XIV) разрушали 10% лимонной кислотой, а затем обрабатывали как описано в опыте 3а. Получили 6,77 г (85%) трифторацетата пентапептида (XIVa).

б) 3,85 г (6,0 ммоль) пептида (XVII), 1,35 г (10,0 ммоль) НОВТ и 1,24 г (6,00 ммоль) DCC растворяли в 20 мл ДМФА при 0°С и перемешивали 1 ч при 0°С и 1 ч при 20°С. К раствору добавляли 4,78 г (6,0 ммоль) трифторацетата (XIVa) и 1,32 мл (12,0 ммоль) N-метилморфолина. Реакционную смесь перемешивали 72 ч, отфильтровывали дидицилогексилмочевину, упаривали ДМФА, к полученному маслу добавляли 10% раствор лимонной кислоты. Выпавший гель отфильтровывали, промывали водой, метанолом, эфиром и переосаждали из ДМФА метанолом. Выход нонапептида (XVIII) 5,72 г (73%). Аминокислотный анализ: Ser 1,87 (2), Ala 1,03 (1), Val 1,00 (1), Thr 1,20 (2), Cys 0,60 (1), Pro 1,60 (2), Gly 1,10 (1).

19. *Z-Ile-Val-Cys(MBzl)-His-Thr(Bzl)-Thr(Bzl)-Ala-Thr(Bzl)-Ile-Pro-Ser(Bzl)-Ser(Bzl)-Ala-Val-Thr(Bzl)-Cys(MBzl)-Pro-Pro-Gly-OH* (XIX). а) 248 мг (0,19 ммоль) нонапептида (XVIII) обрабатывали как описано в опыте 3а и получали трифторацетат (XVIIIa) с выходом 239 мг (96%).

б) Конденсацию 250 мг (0,158 ммоль) декапептида (X) и 239 мг (0,18 ммоль) нонапептида (XVIIIa) в присутствии 23 мг (0,17 ммоль) НОВТ, 32,6 мг (0,158 ммоль) DCC и 0,04 мл (0,362 ммоль) N-метилморфолина проводили аналогично синтезу соединения (XVIII). Затем реакционную смесь подкисляли уксусной кислотой до pH 5, к раствору приливали метанол и осадок отфильтровывали. Гель-хроматографией на колонке (49×1520 мм) с сепадексом LH-20 с последующей рехроматографией выделен нонадекапептид (XIX). Выход 234 мг (53%). Аминокислотный анализ: Thr 3,90 (4), Ser 1,91 (2), Pro 3,00 (3), Gly 1,11 (1), Ala 2,15 (2), Cys 1,55 (2), Val 2,00 (2), Ile 1,88 (2), His 1,10 (1).

20. *Boc-Lys(Z)-Met-OMe* (XX). К суспензии 6,07 г (28,0 ммоль) $\text{HCl} \cdot \text{H-Met-OMe}$ в 40 мл эфира добавляли 5 мл триэтиламина, выпавший осадок отфильтровывали и фильтрат упаривали. К остатку добавляли 10,02 г (21,0 ммоль) *Boc-Lys(Z)-OMe* в 40 мл диоксана и реакцию проводили в условиях опыта 2б. Реакционную массу обрабатывали как описано в опыте 1 и кристаллизацией из смеси этилацетат — петролейный эфир выделяли дипептид (XX) с выходом 9,93 г (90%). Аминокислотный анализ: Lys 1,00 (1), Met 0,91 (1).

21. *Boc-Arg(Tos)-Lys(Z)-Met-OMe* (XXI). а) Раствор 11,18 г (69,0 ммоль) натриевой соли меркаптоэтансульфокислоты в 50% этаноле пропускали через колонку (30×100 мм) со смолой дауэкс 50×1 (H^+), полученный раствор меркаптоэтансульфокислоты упаривали при 20°С, растворяли в 30 мл уксусной кислоты, к раствору прибавляли 6,77 г (12,9 ммоль) дипептида (XX). Через 40 мин смесь выливали в 5% CH_3COONa , экстрагировали этилацетатом, органический слой промывали водой, высушивали над MgSO_4 , упаривали и получали 6,13 г (98%) соединения (XXa). R_f 0,14 (5), R_f 0,70 (4).

б) 6,82 г (16,0 ммоль) *Boc-Arg(Tos)-OH* и 1,76 мл (16,0 ммоль) *N*-метилморфолина растворяли в 50 мл ДМФА, охлаждали до -15°С, добавляли 1,95 мл (15,0 ммоль) изобутилхлорформината и через 3 мин приливали раствор 6,13 г (12,64 ммоль) соединения (XXa) и 1,34 мл (12,64 ммоль) *N*-метилморфолина в 35 мл ДМФА. Реакционную массу перемешивали 2 ч при -15°С и 18 ч при 20°С, затем ДМФА упаривали, остаток обрабатывали как описано в опыте 1. Хроматографией на колонке (40×950 мм) с силикагелем, используя градиентную элюцию смесью этилацетат — метанол (3:1) в хлороформе, выделяли трипептид (XXI) с выходом 7,18 г (68%). Аминокислотный анализ: Arg 0,90 (1), Lys 1,05 (1), Met 0,93 (1).

22. *Boc-Tyr(BzlCl₂)-Arg(Tos)-Lys(Z)-Met-OMe* (XXII). а) 5,68 г (6,8 ммоль) трипептида (XXI) обрабатывали 35 мл 70% CF_3COOH в воде в течение 30 мин, затем раствор упаривали, остаток многократно промывали эфиром и получали трифторацетат (XXIa). Выход 5,71 г (99%). R_f 0,40 (13), R_f 0,76 (4).

б) Раствор 5,69 г (6,7 ммоль) трифторацетата (XXIa) в 25 мл диоксана нейтрализовали 0,74 мл (6,7 ммоль) *N*-метилморфолина, охлаждали до 0°С и приливали раствор 3,6 г (6,7 ммоль) *Boc-Tyr(BzlCl₂)-ONSu* в 15 мл диоксана. Реакцию проводили в условиях опыта 2б, реакционную смесь обрабатывали аналогично опыту 1. Полученный продукт хроматографировали на колонке (40×950 мм) с силикагелем, используя градиентную элюцию смесью этилацетат — метанол (2:1) в хлороформе. Тетрапептид (XXII) получили с выходом 3,88 г (50%). Аминокислотный анализ: Tyr 0,71 (1), Arg 1,10 (1), Lys 1,00 (1), Met 0,96 (1).

23. *Boc-Cys(MBzl)-Tyr(BzlCl₂)-Arg(Tos)-Lys(Z)-Met-OMe* (XXIII). а) 11,57 г (10,0 ммоль) тетрапептида (XXII) обрабатывали, как описано в опыте 21а, меркаптоэтансульфокислотой, полученной из 8,10 г (50,0 ммоль) натриевой соли меркаптоэтансульфокислоты. Кристаллизацией из смеси этилацетат — эфир выделяли ацетат пептида с выходом 10,05 г (90%). R_f 0,56 (16), R_f 0,69 (17).

б) Конденсацией 10,05 г (9,0 ммоль) пептида (XXIIa) и 5,23 г (12,0 ммоль) *Boc-Cys(MBzl)-ONSu* в 45 мл тетрагидрофурана в присутствии 0,99 мл (9,0 ммоль) *N*-метилморфолина аналогично опыту 2б получен пентапептид (XXIII). Выделение осуществляли как описано для соединения (XXII) в опыте 22б. Выход 9,26 г (75%). Аминокислотный анализ: Cys 0,52 (1), Tyr 0,71 (1), Arg 1,00 (1), Lys 1,00 (1), Met 0,85 (1).

24. *Boc-Cys(MBzl)-Tyr(BzlCl₂)-Arg(Tos)-Lys(Z)-Met-NHNH₂* (XXIIIb). К раствору 1,06 г (0,77 ммоль) пентапептида (XXIII) в смеси 10 мл метанола и 5 мл ДМФА добавляли 3,73 мл (77,0 ммоль) гидразингидрата, перемешивали 48 ч, упаривали на $\frac{2}{3}$ растворитель, прибавляли воду, выпав-

ший осадок отфильтровывали, промывали водой. Выход гидразида (XXIIIб) 1,01 г (95%).

25. *Boc-Cys(MBzl)-Tyr(BzlCl₂)-Arg(Tos)-Lys(Z)-Met-OH* (XXIIIe). 1,06 г (0,77 ммоль) пептида (XXIII) омыляли 20 мл 0,4 н. NaOH в метаноле в течение 1 ч, затем к смеси добавляли CH₃COOH до pH 7, метанол упаривали, пептид (XXIIIв) высаживали водой и отфильтровывали, выход 0,95 г (91%).

26. *Boc-Leu-Cys(MBzl)-Tyr(BzlCl₂)-Arg(Tos)-Lys(Z)-Met-OMe* (XXIV). а) 1,78 г (1,3 ммоль) пептида (XXIII) обрабатывали как описано в опыте 21а меркаптоэтансульфонокислотой, полученной из 1,05 г (6,5 ммоль) натриевой соли меркаптоэтансульфонокислоты, и получали ацетат пептида (XXIIIа). Выход 1,59 г (92%). *R_f* 0,49 (19), *R_f* 0,79 (16).

б) Реакцию 1,59 г (1,2 ммоль) ацетата (XXIIIа) и 0,59 г (1,8 ммоль) *Boc-Leu-ONSu* в присутствии 0,13 мл (1,2 ммоль) *N*-метилморфолина проводили как описано в опыте 26. Затем к реакционной смеси приливали воду, осадок отфильтровывали, промывали этилацетатом и эфиром. Ионообменной хроматографией на колонке (30×100 мм) с амберлитом XE-89 (H⁺) в смеси ДМФА — вода (95 : 5) выделяли соединение (XXIII) с выходом 0,92 г (51%). Аминокислотный анализ: Leu 1,00 (1), Cys 0,53 (1), Tyr 0,64 (1), Arg 0,95 (1), Lys 1,00 (1), Met 0,87 (1).

27. *Boc-Asn(Bzh)-Leu-Cys(MBzl)-Tyr(BzlCl₂)-Arg(Tos)-Lys(Z)-Met-OMe* (XXV). а) 2,67 г (1,8 ммоль) пептида (XXIV) обрабатывали, как описано в опыте 21а, меркаптоэтансульфонокислотой, полученной из 1,43 г (8,9 ммоль) натриевой соли меркаптоэтансульфонокислоты, в течение 1,5 ч. Получали ацетат гептапептида (XXIVа), выход 2,5 г (96%). *R_f* 0,73 (20), *R_f* 0,24 (24), *R_f* 0,79 (32).

б) Конденсацию 0,98 г (2,3 ммоль) *Boc-Asn(Bzh)-OH* и 2,45 г (1,7 ммоль) соединения (XXIVа) в присутствии 0,31 г (2,3 ммоль) НОВТ, 0,47 г (2,3 ммоль) DCC и 0,187 мл (1,7 ммоль) *N*-метилморфолина в 10 мл смеси диоксан — ДМФА (4 : 1) проводили как описано в опыте 6. Диоксан упаривали, к остатку приливали воду, выпавший осадок отфильтровывали и промывали смесью метанол — эфир, этилацетатом, хлороформом, эфиром и получали гептапептид (XXV) с выходом 2,55 г (84%). Аминокислотный анализ: Asp 1,10 (1), Leu 1,00 (1), Cys 0,62 (1), Lys 1,00 (1), Met 0,98 (1), Tyr 0,75 (1).

28. *Boc-Asn(Bzh)-Leu-Cys(MBzl)-Tyr(BzlCl₂)-Arg(Tos)-Lys(Z)-Met-NHNH₂* (XXVa). 0,28 г (0,16 ммоль) гептапептида (XXV) растворяли в 12 мл ДМФА, приливали 8,24 мл (16,0 ммоль) гидразингидрата, раствор перемешивали 2 сут. Гидразид (XXVa) осаждали водой, выход 0,27 г (97%).

29. *Boc-Asn(Bzh)-Leu-Cys(MBzl)-Tyr(BzlCl₂)-Arg(Tos)-Lys(Z)-Met-OH* (XXVб). 0,47 г (0,26 ммоль) соединения (XXV) обрабатывали 1 ч 10 мл 0,4 н. NaOH в ДМФА, затем раствор нейтрализовали уксусной кислотой, приливали воду и отфильтровывали пептид (XXVб). Выход 0,45 г (97%).

30. *X-Ala-Phe-OBzl* (XXVI). Из 19,94 г (89,0 ммоль) *Z-Ala-OH*, 9,79 мл (89,0 ммоль) *N*-метилморфолина, 12,19 мл (89,0 ммоль) изобутилхлорформиата и 20,4 г (80,0 ммоль) *H-Phe-OBzl* в условиях опыта 21б получали дипептид (XXVI) и очищали перекристаллизацией из смеси эфир — гептан. Выход дипептида (XXVI) 34,67 г (94%). Аминокислотный анализ: Ala 1,00 (1), Phe 1,00 (1).

31. *Boc-Asp(OBzl)-Ala-Phe-OH* (XXVII). а) 15,67 г (34,0 ммоль) дипептида (XXVI) растворяли в 100 мл метанола, добавляли 2,5 мл уксусной кислоты, Pd-чернь и гидрировали в течение 6 ч, затем катализатор отфильтровывали, растворитель упаривали и получали ацетат свободного дипептида (XXVIIа). Выход 8,05 г (80%). *R_f* 0,24 (24), *R_f* 0,37 (25).

б) 8,11 г (27,4 ммоль) ацетата (XXVIIа) растворяли в 40 мл смеси диоксан — вода (2 : 1), добавляли 5% NaHCO₃ до pH 8, раствор охлаждали до 0° и добавляли 11,57 г (27,4 ммоль) *Boc-Asp(OBzl)-ONSu*. Реакцию про-

водили и реакционную смесь обрабатывали как описано в опыте 2б. Полученный трипептид (XXVII) очищали перекристаллизацией в виде циклогексиламмонийной (СНА) соли из смеси ацетон — эфир. СНА-соль трипептида растворяли в этилацетате, раствор промывали 5% H_2SO_4 , водой, органический слой высушивали над $MgSO_4$, упаривали и получали трипептид (XXVII) с выходом 11,94 г (80%). Аминокислотный анализ: Asp 0,90 (1), Ala 1,00 (1), Phe 1,00 (1).

32. *Вос-Cys(MBzl)-Asp(OBzl)-Ala-Phe-OH* (XXVIII). а) 15,26 г (28,0 ммоль) трипептида (XXVII) обрабатывали как описано в опыте 3а. Получали трифторацетат трипептида (XXVIIa). Выход 14,55 г (93%). R_f 0,61 (4), R_f 0,43 (16).

б) Реакцией 14,53 г (26,0 ммоль) соединения (XXVIIa) и 14,02 г (32,0 ммоль) *Вос-Cys(MBzl)-ONSu* в присутствии 5,72 мл (52,0 ммоль) *N*-метилморфолина в диоксане аналогично опыту 2б получен и выделен кристаллизацией из смеси этилацетат — гексан пептид (XXVIII). Выход 11,08 г (60%). Аминокислотный анализ: Cys 0,65 (1), Asp 1,11 (1), Ala 1,00 (1), Phe 1,00 (1).

33. *Вос-Trp-Cys(MBzl)-Asp(OBzl)-Ala-Phe-OH* (XXIX). а) К 10,60 г (13,8 ммоль) соединения (XXVIII) приливали 50 мл уксусной кислоты и 3,34 мл (42,3 ммоль) $BF_3 \cdot (C_2H_5)_2O$. Через 30 мин растворитель упаривали, остаток многократно промывали эфиром и высушивали. Получали ацетат тетрапептида (XXIXa) с выходом 9,93 г (92%). R_f 0,53 (26), R_f 0,65 (4).

б) 9,54 г (12,2 ммоль) соединения (XXIXa), 2,68 мл (24,4 ммоль) *N*-метилморфолина и 6,02 г (15,0 ммоль) *Вос-Trp-ONSu* растворяли в 100 мл смеси диоксан — ДМФА (2 : 1) при 0° С. Смесь перемешивали 1 ч при 0° С и 15 ч при 20° С. К реакционной смеси приливали этилацетат, полученный раствор промывали 10% лимонной кислотой, водой, затем добавляли 5% $NaHCO_3$. Выпавшую соль пентапептида (XXIX) отфильтровывали, разлагали 10% лимонной кислотой и экстрагировали этилацетатом. Этилацетатный раствор высушивали над $MgSO_4$, упаривали и кристаллизацией из смеси этилацетат — петролейный эфир выделяли пептид (XXIX) с выходом 7,45 г (64%). Аминокислотный анализ: Cys 0,49 (1), Asp 1,00 (1), Ala 1,10 (1), Phe 1,00 (1).

34. *Z-Arg(Tos)-Gly-OMe* (XXX). Из 25,04 г (58,5 ммоль) *Z-Arg(Tos)-OH* и 6,25 г (50,0 ммоль) хлоргидрата метилового эфира глицина, нейтрализованного 5,5 мл (50,0 ммоль) *N*-метилморфолина, в присутствии 6,45 мл (58,5 ммоль) *N*-метилморфолина и 7,15 мл (54,0 ммоль) изобутилхлорформата аналогично опыту 21б получали дипептид (XXX) с выходом 26,17 г (98%). Аминокислотный анализ: Arg 1,00 (1), Gly 1,00 (1).

35. *Вос-Ser(Bzl)-Arg-Gly-OMe* (XXXI). а) 31,77 г (59,5 ммоль) соединения (XXX) обрабатывали как описано в опыте 2а и получали бромгидрат дипептида (XXXa). Выход 27,99 г (98%), R_f 0,22 (16), R_f 0,22 (27).

б) Конденсацию 17,20 г (58,3 ммоль) *Вос-Ser(Bzl)-OH* и 27,98 г (58,3 ммоль) соединения (XXXa), нейтрализованного 6,41 мл (58,3 ммоль) *N*-метилморфолина, в присутствии 7,87 г (58,3 ммоль) НОВТ и 12,01 г (58,3 ммоль) ДСС в смеси диоксан — ДМФА (1 : 1) проводили аналогично опыту 6. Реакционную смесь обрабатывали как описано в опыте 2б и пептид кристаллизовали из смеси этилацетат — эфир — гексан. Трипептид (XXXI) получали с выходом 27,59 г (70%). Аминокислотный анализ: Ser 0,90 (1), Arg 1,02 (1), Gly 1,00 (1).

36. *Вос-Ser(Bzl)-Ser(Bzl)-Arg(Tos)-Gly-OMe* (XXXII). а) 24,34 г (36,0 ммоль) пептида (XXXI) обрабатывали 13,7 мл (108,6 ммоль) $BF_3 \cdot (C_2H_5)_2O$, как описано в опыте 33а. Получали ацетат (XXXIIa) с выходом 22,21 г (97%). R_f 0,57 (16), R_f 0,39 (27).

б) Из 22,36 г (35,0 ммоль) ацетата (XXXIIa) и 13,72 г (35,0 ммоль) *Вос-Ser(Bzl)-ONSu* в присутствии 3,85 мл (35,0 ммоль) *N*-метилморфолина аналогично опыту 2б получали тетрапептид. Продукт очищали хроматографией на колонке (60×1500 мм) с силикагелем, используя градиент-

ную элюцию смесью этилацетат — метанол (3 : 2) в хлороформе. Выход тетрапептида (XXXII) 19,41 г (65%). Аминокислотный анализ: Ser 1,75 (2), Arg 1,00 (1), Gly 1,00 (1).

37. *Boc-Ser(Bzl)-Ser(Bzl)-Arg(Tos)-Gly-OH* (XXXIII). 9,78 г (11,46 ммоль) пептида (XXXII) обрабатывали 40 мл 0,3 н. NaOH в этаноле в течение 30 мин. Раствор нейтрализовали уксусной кислотой, растворитель упаривали, остаток обрабатывали как описано в опыте 1. Кристаллизацией из смеси этилацетат — гексан получали кислоту (XXXIII), выход 8,66 г (90%).

38. *Boc-Cys(MBzl)-Ser(Bzl)-Ser(Bzl)-Arg(Tos)-Gly-OH* (XXXIV). а) 8,80 г (11,0 ммоль) соединения (XXXIII) обрабатывали 3,79 мл (30 ммоль) $\text{BF}_3 \cdot (\text{C}_2\text{H}_5)_2\text{O}$ аналогично опыту 33а и получали ацетат тетрапептида (XXXIIIa) с выходом 8,01 г (91%). R_f 0,61 (4).

б) Пентапептид (XXXIV) получали из 8,0 г (10,0 ммоль) тетрапептида (XXXIIIa) и 4,38 г (10,0 ммоль) Boc-Cys(MBzl)-ONSu в присутствии 2,2 мл (20,0 ммоль) N-метилморфолина как в опыте 2б. Кристаллизацией из этилацетата с гептаном получали 9,57 г (90%) пентапептида (XXXIV). Аминокислотный анализ: Cys 0,58 (1), Ser 1,35 (2), Arg 1,10 (1), Gly 1,20 (1).

39. *Boc-Trp-Cys(MBzl)-Asp(OBzl)-Ala-Phe-Cys(MBzl)-Ser(Bzl)-Ser(Bzl)-Arg(Tos)-Gly-OH* (XXXV). а) 1,17 г (1,1 ммоль) пентапептида (XXXIV) обрабатывали как описано в опыте 3а и получали трифторацетат пентапептида (XXXIVa), выход 1,07 г (90%). R_f 0,20 (22), R_f 0,33 (28).

б) Конденсацию 0,95 г (1,0 ммоль) пептида (XXIX) и 1,08 г (1,0 ммоль) трифторацетата пентапептида (XXXIVa), нейтрализованного 0,22 мл (2,0 ммоль) N-метилморфолина, в присутствии 0,15 г (1,00 ммоль) НОВТ и 0,21 г (1,0 ммоль) DCC проводили в условиях опыта 18б. Затем реакционную смесь подкисляли уксусной кислотой, приливали эфир, осадок отфильтровывали, промывали горячим метанолом. Получали декапептид (XXXV) с выходом 1,35 г (74%). Аминокислотный анализ: Cys 1,25 (2), Asp 1,00 (1), Ala 1,00 (1), Phe 1,00 (1), Ser 1,42 (2), Arg 1,10 (1), Gly 1,11 (1).

40. *Boc-Cys(MBzl)-Ser(Bzl)-Ser(Bzl)-Arg(Tos)-Gly-Lys(Z)-Val-Val-Glu(OBzl)-Leu-Gly-OH* (XXXVII). а) 107 мг (0,11 ммоль) гексапептида (XXXVI) обрабатывали, как описано в опыте 33а, 0,042 мл (0,33 ммоль) эфирата трифторида бора. Ацетат гексапептида (XXXVIa) выделяли с выходом 92,8 мг (90%). R_f 0,35 (4), R_f 0,63 (30).

б) Реакцию 159 мг (0,15 ммоль) соединения (XXXIV) и 84 мг (0,09 ммоль) аминокомпонента (XXXIVa), нейтрализованного 0,02 мл (0,18 ммоль) N-метилморфолина, в присутствии 0,017 мл (0,15 ммоль) N-метилморфолина и 0,021 мл (0,15 ммоль) изобутилхлорформиата проводили в условиях опыта 21б. Реакционную смесь подкисляли уксусной кислотой до pH 6, добавляли воду, осадок отфильтровывали и промывали диоксаном. Ионообменной хроматографией на амберлите XE-89 (H^+) в 96% водном ДМФА выделяли 93 мг (54%) ундекапептида (XXXVII). Аминокислотный анализ: Ser 1,25 (2), Gly 1,00 (1), Cys 0,45 (1), Gly 1,91 (2), Val 1,98 (2), Leu 1,00 (1), Lys 1,07 (1), Arg 0,78 (1) (значение для Val получено из результатов 100-часового гидролиза).

41. *Boc-Trp-Cys(MBzl)-Asp(OBzl)-Ala-Phe-Cys(MBzl)-Ser(Bzl)-Ser(Bzl)-Arg(Tos)-Gly-Lys(Z)-Val-Val-Glu(OBzl)-Leu-Gly-OH* (XXXVIII). Конденсацию 95 мг (0,05 ммоль) декапептида (XXXV) и 42,2 мг (0,045 ммоль) пептида (XXXVIa), нейтрализованного 0,01 мл (0,09 ммоль) N-метилморфолина, в присутствии 10,8 мг (0,08 ммоль) НОВТ и 10 мг (0,05 ммоль) DCC проводили как в опыте 18б. Реакционную смесь подкисляли уксусной кислотой до pH 5–6, затем добавляли смесь этилацетат — эфир (1 : 1). Выпавший осадок отфильтровывали, гель-фильтрацией на колонке (90×850 мм) с сефадексом LH-20 в тетраметилмочевине выделяли гексадекапептид (XXXVIII) с выходом 62 мг (50%). Аминокислотный

анализ: Asp 1,15 (1), Ser 1,20 (2), Glu 1,00 (1), Gly 1,89 (2), Ala 1,00 (1), Cys 0,90 (2), Val 1,85 (2), Leu 0,83 (1), Phe 1,00 (1), Lys 1,00 (1), Arg 0,87 (1).

42. *Boc-Asn(Bzh)-Leu-Cys(MBzl) - Tyr(BzlCl₂) - Arg(Tos) - Lys(Z)-Met-Trp-Cys(MBzl) - Asp(OBzl)-Ala-Phe-Cys(MBzl) - Ser(Bzl) - Ser(Bzl)-Arg(Tos)-Gly-OH (21-37)*. а) 304 мг (0,16 ммоль) декапептида (XXXV) растворяли в 10 мл 0,1 н. HCl/HCOOH, перемешивали 1 ч, упаривали, прибавляли воду, осадок отфильтровывали и промывали метанолом и эфиром. Получали хлоридат пептида (XXXVa) с выходом 282 мг (96%). *R_f* 0,32 (29), *R_f* 0,60 (22).

б) Конденсацию азида, полученного из 237 мг (0,15 ммоль) гидразида гептапептида (XXVa) обработкой 0,16 мл (0,46 ммоль) 2,05 н. HCl в диоксане и 0,019 мл (0,15 ммоль) *tert*-бутилнитрата, и 280 мг (0,15 ммоль) декапептида (XXXVa), нейтрализованного 0,03 мл (0,30 ммоль) *N*-метилморфолина, проводили по методике, описанной в опыте 10б. Реакционную смесь подкисляли, выливали в воду, осадок отфильтровывали и промывали диоксаном и эфиром. Осадок, по данным аминокислотного анализа, соответствовал в основном исходному декапептиду; содержимое маточного раствора хроматографически и по аминокислотному анализу соответствовало карбоксильному компоненту.

в) Конденсацию 179 мг (0,1 ммоль) гептапептида (XXVб) и 18 мг (0,1 ммоль) декапептида (XXXVa), нейтрализованного 0,022 мл (0,2 ммоль) *N*-метилморфолина, в присутствии 15 мг (0,11 ммоль) НОВТ или 14 мг (0,1 ммоль) *N*-оксисукцинимиды и 21 мг (0,1 ммоль) DCC проводили как описано в опыте 18б. Через 48 ч реакционную массу подкисляли уксусной кислотой до pH 5-6, приливали эфир, осадок отфильтровывали и тщательно промывали диоксаном, ДМФА и эфиром. Результаты анализа осадка и маточного раствора такие же, как в опыте 42б.

43. *Boc - Asn(Bzh)-Leu-Cys(MBzl) - Tyr(BzlCl₂) - Arg(Tos)-Lys(Z)-Met-Trp-Cys(MBzl)-Asp(OBzl)-Ala-Phe-OH (21-32)*. а) 105 мг (0,11 ммоль) пептида (XXIX) обрабатывали как в опыте 42а, получали хлоридат пентапептида (XXIXа), выход 89 мг (91%). *R_f* 0,37 (26), *R_f* 0,35 (29).

б) Конденсацию 180 мг (0,1 ммоль) гидразида гептапептида (XXVa) и 89 мг (0,1 ммоль) пентапептида (XXIXа) проводили аналогично опыту 10б. При гель-хроматографии полученного продукта на сефадексе LH-20 в ДМФА были выделены исходные пента- и гептапептиды. Продукт конденсации в чистом виде выделен не был.

в) Конденсацию 888 мг (0,5 ммоль) гептапептида (XXVб) и 447 мг (0,5 ммоль) пентапептида (XXIXа) в присутствии 103 мг (0,5 ммоль) DCC и 68 мг (0,5 ммоль) НОВТ проводили так же, как в опыте 18б. При гель-хроматографии реакционной смеси, как и в предыдущем опыте, с выходом 90% были выделены исходные продукты.

44. *Boc - Cys(MBzl) - Tyr(BzlCl₂) - Arg(Tos) - Lys(Z) - Met - Trp - Cys(MBzl) - Asp(OBzl)-Ala-Phe-Cys(MBzl) - Ser(Bzl) - Ser(Bzl)-Arg(Tos)-Gly-OH (23-37)*. Конденсацию 136 мг (0,1 ммоль) пентапептида (XXIIIб) и 190 мг (0,1 ммоль) декапептида (XXXVa) DCC/НОВТ-методом проводили аналогично опыту 18б. После подкисления реакционной смеси к раствору приливали эфир, выпавший осадок отфильтровывали, промывали этилацетатом, диоксаном и метанолом. По данным аминокислотного анализа, осадок представлял собой исходный декапептид, а в растворе сохранился пентапептид (~92%).

45. *Boc - Cys(MBzl) - Tyr(BzlCl₂) - Arg(Tos) - Lys(Z) - Met-Trp-ONa (XXXIX)*. Конденсацию азиды, полученного из 4,91 г (3,62 ммоль) гидразида пентапептида (XXIIIб) обработкой 4,05 мл (12,8 ммоль) 2,85 н. раствора HCl в диоксане и 0,51 мл (4,3 ммоль) *tert*-бутилнитрата, с 2,22 г (10,86 ммоль) триптофана в присутствии 1,1 мл (10,86 ммоль) *N*-метилморфолина проводили в смеси ДМФА - вода, 1 : 1, как описано в опыте 10б. Затем реакционную смесь подкисляли уксусной кислотой, упаривали.

остаток растворяли в хлороформе, полученный раствор промывали 10% лимонной кислотой, 5% раствором NaHCO_3 , органический слой упаривали на $\frac{1}{2}$ и кристаллизацией из хлороформа выделяли натриевую соль гексапептида (XXXIX) с выходом 5,13 г (90%). Аминокислотный анализ: Cys 0,50 (1), Tyr 0,62 (1), Arg 1,00 (1), Lys 1,10 (1), Met 0,85 (1).

46. *Woc-Asn(Bzh)-Leu-OH (XL)*. Синтез дипептида из 1,0 г (7,6 ммоль) лейцина и 2,18 г (4,4 ммоль) *Woc-Asn(Bzh)-ONSu* в присутствии 0,64 г (7,6 ммоль) NaHCO_3 в смеси ДМФА — диоксан — вода (1 : 2 : 0,5) проводили аналогично опыту 2б. Дипептид (XL) выделяли кристаллизацией из этилацетата, выход 1,51 г (67%). Аминокислотный анализ: Asp 1,00 (1), Leu 1,00 (1).

47. *Woc-Glu(OBzl)-Asn(Bzh)-Leu-OH (XLI)*. а) *Woc*-группу с 1,48 г (2,9 ммоль) пептида (XL) удаляли как описано в опыте 3а. Трифторацетат дипептида (XLа) выделяли с выходом 1,48 г (97%). R_f 0,62 (17), R_i 0,69 (25).

б) К раствору 1,47 г (2,8 ммоль) пептида (XLа) в 20 мл ДМФА, нейтрализованному 62 мл (5,6 ммоль) *N*-метилморфолина, добавляли 1,25 г (2,7 ммоль) *Woc-Glu(OBzl)-ONr* и перемешивали в течение 7 сут. Реакционную массу обрабатывали как описано в опыте 1 и кристаллизацией из эфира выделяли пептид (XLI). Выход 2,04 г (98%). Аминокислотный анализ: Glu 1,00 (1), Asp 1,10 (1), Leu 1,00 (1).

48. *Woc-Glu(OBzl)-Asn(Bzh)-Leu-ONSu (XLII)*. К раствору 1,0 г (1,36 ммоль) соединения (XLI) в 15 мл диоксана при 0° С добавляли 0,28 г (1,36 ммоль) DCC и 0,16 г (1,36 ммоль) *N*-оксисукцинимид, перемешивали 2 ч при 0° С и 1 сут при 20° С. Осадок отфильтровывали, фильтрат упаривали, полученное масло растворяли в этилацетате, промывали 5% NaHCO_3 , этилацетатный раствор высушивали над MgSO_4 и упаривали. Остаток кристаллизовали из смеси этилацетат — эфир — гексан. Сукцинимидный эфир (XLII) получен с выходом 0,80 г (71%).

49. *Woc-Glu(OBzl) - Asn(Bzh)-Leu-Cys(MBzl) - Tyr(BzlCl₂)-Arg(Tos)-Lys(Z)-Met-Trp-OH (XLIII)*. а) 2,36 г (1,53 ммоль) пептида (XXXIX) обрабатывали 30 мин 30 мл 25% раствора CF_3COOH в CH_2Cl_2 , содержащего 1% меркаптоэтанола, затем раствор упаривали, к остатку приливали эфир и отфильтровывали трифторацетат гексапептида (XXXIXа). Выход 2,19 г (92%). R_f 0,52 (7), R_i 0,58 (32).

б) К раствору 2,19 г (1,41 ммоль) пептида (XXXIXа) в 30 мл ДМФА, нейтрализованного 0,31 мл (2,82 ммоль) *N*-метилморфолина, добавляли 1,15 г (1,39 ммоль) сукцинимидного эфира трипептида (XLII), перемешивали 1 сут, а затем добавляли еще 1,15 г (1,39 ммоль) пептида (XLII) и перемешивали 4 ч при 50° С и 3 сут при 20° С. Реакционную смесь подкисляли уксусной кислотой до pH 5, приливали эфир и отфильтровывали выпавший пептид (XLIII). Выход 2,54 г (82%). Аминокислотный анализ: Glu 1,00 (1), Asp 0,95 (1), Leu 0,92 (1), Cys 0,53 (1), Tyr 0,68 (1), Arg 1,03 (1), Lys 1,00 (1), Met 0,82 (1).

50. *Woc-Cys(MBzl) - Asp(OBzl)-Ala-Phe-Cys(MBzl) - Ser(Bzl)-Ser(Bzl)-Arg(Tos)-Gly-OH (XLIV)*. Реакцию 1,43 г (1,88 ммоль) пептида (XXVIII) и 1,93 г (1,88 ммоль) пентапептида (XXXIVа), нейтрализованного 0,30 мл (2,76 ммоль) *N*-метилморфолина, в присутствии 0,39 г (1,88 ммоль) DCC и 0,25 г (1,88 ммоль) НОВТ проводили в условиях опыта 18б. Реакционную смесь подкисляли уксусной кислотой до pH 5—6, добавляли эфир, осадок отфильтровывали, промывали эфиром, смесью диоксан — метанол (1 : 1), метанолом и эфиром. Выделяли нонапептид (XLIV) с выходом 2,48 г (73%). Аминокислотный анализ: Cys 1,32 (2), Asp 1,00 (1), Ala 1,00 (1), Phe 1,10 (1), Ser 1,55 (2), Arg 0,98 (1), Gly 0,95 (1).

51. *Woc-Glu(OBzl) - Asn(Bzh) - Leu-Cys(MBzl) - Tyr(BzlCl₂)-Arg(Tos)-Lys(Z)-Met-Trp-Cys(MBzl) - Asp(OBzl) - Ala-Phe - Cys(MBzl) - Ser(Bzl)-Ser(Bzl)-Arg(Tos)-Gly-OH (XLV)*. а) 1,90 г (1,11 ммоль) пептида (XLIV) обрабатывали как описано в опыте 3а и получали трифторацетат нонапептида (XLIVа), выход 1,71 г (90%).

б) Конденсацию 2,86 г (1,32 ммоль) пептида (XLIII) и 1,71 г (1,0 ммоль) аминокомпонента (XLIVa), нейтрализованного 0,22 мл (2,00 ммоль) N-метилморфолина, в присутствии 0,14 мл (1,32 ммоль) N-метилморфолина и 0,18 мл (1,32 ммоль) изобутилхлорформата проводили как описано в опыте 21б. Реакционную массу подкисляли уксусной кислотой до pH 5 и добавляли эфир. Выпавший осадок отфильтровывали, промывали метанолом, этилацетатом, эфиром и получали октадекапептид (XLV), выход 3,24 г (82%). Аминокислотный анализ: Glu 0,95 (1), Asp 1,98 (2), Leu 0,90 (1), Cys 1,82 (3), Tyr 0,68 (1), Arg 1,75 (2), Lys 1,00 (1), Met 0,75 (1), Ala 1,10 (1), Phe 1,00 (1), Ser 1,73 (2), Gly 1,00 (1).

ЛИТЕРАТУРА

1. Михалева И. И., Мягкова М. А., Жукова Г. Ф., Иванов В. Т. (1980) *Биоорганик. химия*, 6, 982–1007.
2. Li C. H., Meinhofer J., Schnabel E., Chung D., Lo T. B., Ramachandran J. (1961) *J. Amer. Chem. Soc.*, 83, 4449–4457.
3. Schwyzer R., Iselin B., Rittel W., Zuber H. (1962) *Helv. chim. acta*, 45, 2473–2479.
4. Schröder E., Lübke K. (1965) *The Peptides*, p. 147, Acad. Press, N. Y.–London.
5. Витт С. В., Мягкова М. А., Сапоровская М. Б., Никитина С. Б., Беликов В. М. (1978) *Биоорганик. химия*, 4, 154–157.
6. Beyerman H. C., DeLeer E. W. B., Floor J. (1973) *Recueil*, 92, 481–492.
7. Bell J. R., Jones J. H., Register D. M., Webb T. C. (1974) *J. Chem. Soc. Perkin*, 1961–1964.
8. Вольпина О. М., Дешко Т. Н., Михалева И. И., Иванов В. Т. (1980) *Биоорганик. химия*, 6, 1155–1162.

Поступила в редакцию
26.XII.1979

SYNTHETIC STUDY OF α -BUNGAROTOXIN. II. SYNTHESIS OF PROTECTED PEPTIDES CORRESPONDING TO THE SEQUENCE 1-43 OF α -BUNGAROTOXIN

VOL'PINA O. M., DEIGIN V. I., MIKHALEVA I. I.,
IVANOV V. T.

*M. M. Shemyakin Institute of Bioorganic Chemistry, Academy
of Sciences of the USSR, Moscow*

The synthesis of the protected nonadeca- and octadecapeptides corresponding to the α -bungarotoxin amino acid sequences 1-19 and 20-37 was described. It was achieved by the fragment condensation of peptides prepared by stepwise chain elongation from the C-termini. The protected peptides with the sequences 33-43 and 28-43 of α -bungarotoxin were synthesized using earlier prepared heptapeptide 38-43.