



БИООРГАНИЧЕСКАЯ ХИМИЯ

том 8 * № 8 * 1982

УДК 615.33+547.963.32.07

ЛИГАНДЫ, ОБЛАДАЮЩИЕ СРОДСТВОМ К ОПРЕДЕЛЕННЫМ ПОСЛЕДОВАТЕЛЬНОСТИЯМ ПАР ОСНОВАНИЙ ДНК

VI. СИНТЕЗ ОЛИГОПЕПТИДНЫХ АНАЛОГОВ ДИСТАМИЦИНА А*

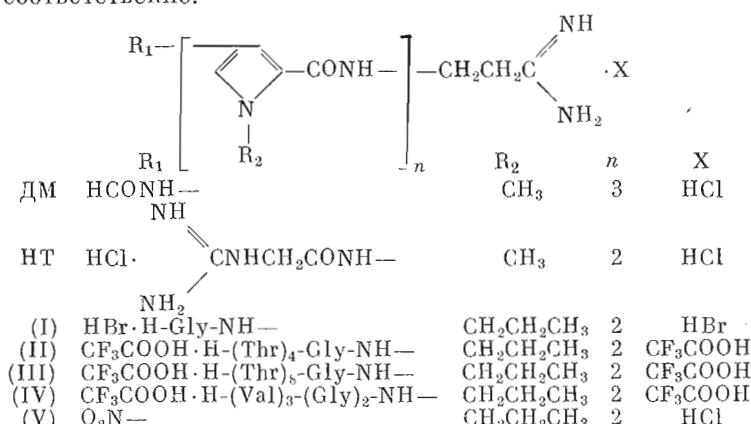
*Хорлин А. А., Греховский С. Л., Жузе А. Л.,
Готтих Б. Н.*

Институт молекулярной биологии наук СССР, Москва

Синтезированы аналоги дистамицина А, состоящие из двух N-пропилпирролкарбоксамидных фрагментов и содержащие вместо формильной группы олиговалиновую или олиготреониновую цепочки, присоединенные через остаток глицина или глицилглицина.

Согласно предложенной ранее модели комплексов антибиотиков дистамицина А и нетропсина с двухцепочечной ДНК [2-4], олигопирролкарбоксамидный остаток молекулы антибиотика локализуется в узкой бороздке ДНК, образуя спираль, изогеометричную В-форме ДНК. А-Т-специфичность связывания достигается благодаря образованию водородных связей между амидными группами антибиотика и атомами О2 тимина и N3 аденина, принадлежащими одной и той же полинуклеотидной цепи. Предполагается, что связывание стереоспецифично в том смысле, что направление CO→NH амидных связей дистамицина или нетропсина совпадает с направлением C5'→C3' соответствующей полинуклеотидной цепи. Описанная молекулярная структура комплекса дистамицина А с ДНК, подтвержденная экспериментально [5, 6], является в настоящее время общеизвестной и наиболее обоснованной структурой комплекса ДНК-лиганд [7]. Знание механизма связывания дистамицина А с ДНК позволило приступить к изучению влияния объемного заместителя на N-конце молекулы антибиотика на характер связывания последнего с ДНК. Ранее было показано, что введение в молекулу ацетильной, бензоильной и 5-диметиламинонафтил-1-сульфонилглицильной групп вместо формильной группы практически не влияет на связывание с ДНК [6, 8, 9].

В настоящей работе описывается синтез аналогов дистамицина А с двумя N-пропилпирролкарбоксамидными фрагментами, соединенными через глицин или диглицин с олиготреониновыми или олиговалиновыми цепочками соответственно.

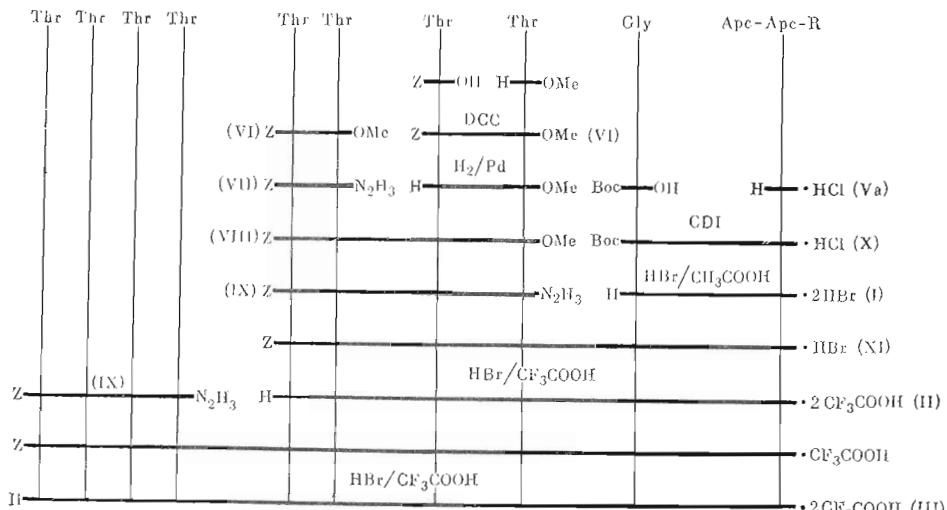


где ДМ – дистамицин А, НТ – нетропсин.

* Сообщение V см. [1].

В работе приняты стандартные сокращения, рекомендованные комиссией по биохимической номенклатуре IUPAC-IUB; кроме того, использованы следующие сокращения: Арс – остаток 1-пропил-4-аминопиррол-2-карбоновой кислоты; DMF – N,N-диметилформамид.

Схема 1



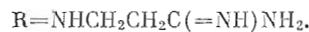
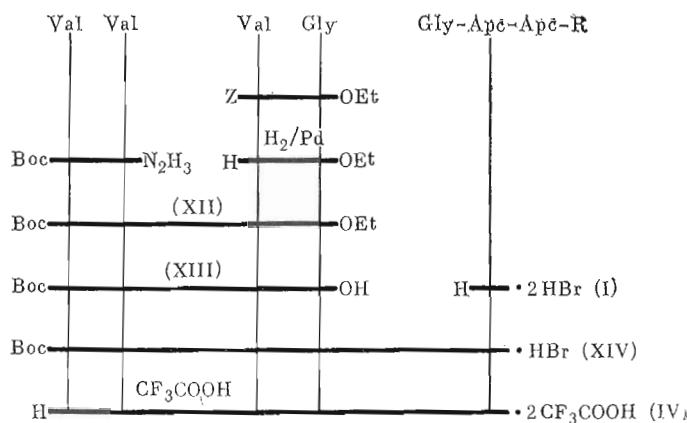
R=NHCH₂CH₂C(=NH)NH₂, DCC=N,N'-дициклогексилкарбодиимид, CDI=N,N'-карбонилдиimidазол.

Постановка данной задачи была обусловлена необходимостью оценки возможного влияния олигопептидного заместителя на характер связывания дистамицина А с ДНК. Остатки валина и треонина в качестве повторяющейся структурной единицы в гомоолигопептидной цепочке были выбраны, исходя из гипотезы белково-нуклеинового узнавания [10, 11], согласно которой эти остатки, находясь в составе пептидов и белков, специфически взаимодействующих с ДНК, могут проявлять G·C- и A·T-специфичность соответственно.

Синтез аналогов (I)–(IV) был осуществлен по схемам 1 и 2. На схеме 1 приведен синтез аналогов, состоящих из двух N-пропиляпирролкарбоксамидных фрагментов и содержащих вместо формильного остатка пептидную цепь из четырех или восьми остатков треонина, присоединенную через остаток глицина. Аналог (I) получали конденсацией соединения (Va) с Boc-Gly-OH с помощью N,N'-карбонилдиimidазола, последующее снятие Boc-защитной группы проводили насыщенным раствором бромистого водорода в уксусной кислоте. Соединения (II) и (III) получали азидным методом по Рудингеру [12], исходя из гидразида тетрапептида (IX) и соединений (I) и (II) соответственно, с последующим удалением защитных групп. Гидразид тетрапептида (IX) получали гидразинолизом метилового эфира тетрапептида (VIII), синтезированного азидным методом, исходя из гидразида дипептида (VII) и HCl·H-Thr-Thr-OMe. Дипептид (VII), служивший исходным соединением для получения пептидов (VII) и HCl·H-Thr-Thr-OMe, был синтезирован азидным методом, исходя из Z-Thr-N₂H₃ и HCl·H-Thr-OMe, и карбодиимидным методом, исходя из Z-Thr-OH и HCl·H-Thr-OMe. Таким образом была подтверждена оптическая чистота дипептида (VII), полученного карбодиимидным методом. На схеме 2 приведен синтез аналога дистамицина А, состоящего из двух N-пропиляпирролкарбоксамидных фрагментов и содержащего вместо формильного остатка олиговалиновую цепочку длиной в три аминокислотных остатка, присоединенную через глицилглицин. Соединение (IV) получали конденсацией тетрапептида (XIII) с соединением (I) с помощью N,N'-карбонилдиimidазола, Boc-защитную группу удалили трифтормуссной кислотой. Тетрапептид (XIII) был получен омылением этилового эфира тетрапептида (XII), синтезированного азидным методом, исходя из Boc-Val-Val-N₂H₃ и HCl·H-Val-Gly-OEt.

Предварительные результаты, полученные при изучении связывания аналогов (II)–(IV) с ДНК, свидетельствуют об образовании устойчивых комплексов.

Схема 2



Экспериментальная часть

Растворы веществ в органических растворителях высушивали над безводным Na_2SO_4 . Растворители упаривали в вакууме при $20\text{--}25^\circ\text{C}$ и 15 или 1 мм рт. ст. (в зависимости от температуры кипения растворителя). Растворители, применявшиеся для проведения реакций конденсации, абсолютизировали обычным способом [13, 14]. Вещества высушивали в вакууме над P_2O_5 и NaOH при 20°C . pH реакционной смеси в органических растворителях контролировали с помощью влажной универсальной индикаторной бумаги («Союзреактив»). Гидрирование проводили при 20°C и атмосферном давлении над катализатором Адамса [15] или Pd-чернило [16]. Гомогенность полученных соединений контролировали с помощью ТСХ на пластинах «Silufol» (ЧССР) в следующих системах: хлороформ — метанол — уксусная кислота, 94 : 6 : 1 (А); бензол — этилацетат — метанол, 50 : 50 : 8 (Б); *n*-бутанол — вода — уксусная кислота, 4 : 1 : 1 (В); 1 М ацетат аммония (pH 7,6) — 96% этиanol, 3 : 7 (Г). Гомогенность соединений, содержащих положительно заряженные группы, контролировали электрофоретически в приборе типа аппарата Даррэма [17]. Электрофорез проводили на бумаге FN-15 (Filtrak, ГДР) в 1 М уксусной кислоте (pH 2,4) в течение 1 ч при градиенте потенциала 20 В/см. Электрофоретическую подвижность (E) измеряли по отношению к глицину (E_{Gly}) и треонину (E_{Thr}). Аминокислотный анализ проводили на анализаторе BiO-Cal BC-201 (США). Образцы для аминокислотного анализа гидролизовали в вакуумированных ампулах 5,7 н. HCl при 105°C в течение 24 ч. Гель-хроматографию проводили на сепадексе LH-20 (Pharmacia, Швеция) в метаноле. Температуры плавления определяли на приборе «Electro-thermal» (Англия) (не исправлены). Величину удельного вращения определяли на поляриметре «Perkin-Elmer 141» (США). Спектры ^1H -ЯМР снимали на спектрометре «Varian XL-100» (США) с рабочей частотой 100 МГц, используя гексаметилдисилоксан в качестве внутреннего стандарта; сокращения: с — спиглет, д — дублет, т — триплет, к — квадруплет, м — мультиплет. При отнесении сигналов в спектрах ЯМР использовали данные работы [18].

Z-Thr-Thr-OMe (VI). а) К суспензии 8,5 г (50 ммоль) HCl·H-Thr-OMe [19] в 60 мл CH_2Cl_2 при -15°C добавляли при перемешивании 7,6 мл (50 ммоль) триэтиламина, затем через 5 мин раствор 12,5 г (50 ммоль) Z-Thr-OH [20] в 50 мл абс. этилацетата и 10,3 г (50 ммоль) N,N' -дициклогексилкарбодиимида. Перемешивали 2 ч при -15°C и выдерживали 12 ч при 4°C . N,N' -Дициклогексилмочевину отфильтровывали и растворитель упаривали. Остаток растворяли в этилацетате и оставляли на 12 ч при 4°C . Повторно отфильтровывали выпавшую N,N' -дициклогексилмочевину, рас-

твр промывали 1 н. HCl, водой, насыщенным раствором NaHCO₃ и снова водой. После высушивания и упаривания остаток дважды кристаллизовали из смеси этилацетат — петролейный эфир (40—70°). Выход соединения (VI) 14,0 г (76%), т. пл. 107—109° С, $[\alpha]_D^{20} -12,43$ (с 1,1, CH₃OH), R_f 0,64 (A), 0,44 (B). Найдено, %: C 55,58; H 6,48; N 7,40. C₁₇H₂₄O₇N₂. Вычислено, %: C 55,43; H 6,56; N 7,61.

б) К раствору 8,1 г (30 ммоль) Z-Thr-N₂H₃ [19] в 30 мл абс. DMF, охлажденного до —30° С, добавляли при перемешивании 17 мл 6 н. раствора HCl в абс. этилацетате и 5 мл (42 ммоль) свежеперегнанного изоамилнитрита. Выдерживали 30 мин при —30° С, после чего понижали температуру до —50° С и, прибавляя триэтиламин, доводили pH до 8—9. Далее к реакционной смеси добавляли раствор 33 ммоль II-Thr-OMe в 30 мл DMF (полученного при обработке раствора 5,6 г (33 ммоль) HCl·H-Thr-OMe в 30 мл DMF 4,7 мл (33 ммоль) триэтиламина). Реакционную смесь выдерживали 72 ч при —5° С. Выпавший хлоргидрат триэтиламина отфильтровывали, DMF упаривали. Остаток растворяли в этилацетате и промывали 1 н. HCl, водой, насыщенным раствором NaHCO₃ и снова водой. После высушивания растворитель упаривали и остаток дважды кристаллизовали из смеси этилацетат — петролейный эфир (40—70°). Выход соединения (VI) 7,9 г (71%), т. пл. 108—110° С, $[\alpha]_D^{20} -12,42^{\circ}$ (с 1,0, CH₃OH), R_f 0,64 (A), 0,44 (B). Найдено, %: C 55,49; H 6,58; N 7,61. C₁₇H₂₄O₇N₂. Вычислено, %: C 55,43; H 6,56; N 7,61.

Z-Thr-Thr-N₂H₃ (VII). 1,50 г (4,1 ммоль) соединения (VI) растворяли в 8 мл метанола, добавляли 1,5 мл (30 ммоль) 99,5% гидразингидрата и оставляли на 72 ч при 20° С. Выпавший осадок отфильтровывали и промывали на фильтре холодным метанолом (2×2 мл) и эфиром (2×5 мл). Перекристаллизовывали из смеси метанол — эфир. Выход соединения (VII) 1,12 г (74%), т. пл. 218° С (с разл.), $[\alpha]_D^{20} -25,00$ (с 0,1, CH₃COOH), R_f 0,10 (A), 0,08 (B). Найдено, %: C 51,97; H 6,73; N 15,26. C₁₆H₂₄O₆N₄. Вычислено, %: C 52,16; H 6,57; N 15,24. ЯМР ((CD₃)₂SO, δ, м.д.): 7,72 д (1 H, NH Thr²), 7,36 с (5 H, C₆H₅CH₂CO), 7,10 д (1 H, NH Thr¹), 5,04 с (2 H, C₆H₅CH₂CO), 4,2—3,8 м (4 H, C²H, C³H Thr), 1,07 д, 1,03 д (6 H, CH₃ Thr).

Z-Thr-Thr-Thr-Thr-OMe (VIII). 368 мг (1,0 ммоль) соединения (VI) растворяли в 5 мл метанола и 1 мл 1 н. HCl и гидрировали в присутствии 30 мг Pd-чери до прекращения выделения CO₂. Катализатор отфильтровывали, раствор упаривали. Остаток растворяли в 5 мл DMF, полученный раствор после добавления к нему 0,14 мл (1 ммоль) триэтиламина далее использовали в качестве аминокомпонента. К раствору 368 мг (1 ммоль) соединения (VII) в 7 мл абс. DMF при —30° С добавляли при перемешивании 0,8 мл (3,2 ммоль) 4 н. раствора HCl в абс. этилацетате и 0,17 мл (1,4 ммоль) свежеперегнанного изоамилнитрита. Выдерживали 30 мин при —30° С, после чего понижали температуру до —50° С и, прибавляя триэтиламин, доводили pH до 8—9. Затем к реакционной смеси добавляли раствор аминокомпонента, приготовленный как описано выше. Выдерживали 72 ч при —5° С. Выпавший хлоргидрат триэтиламина отфильтровывали, DMF упаривали. Остаток растворяли в 8 мл метанола и наносили на колонку (150×2,5 см) с сефадексом LH-20 в метаноле. Элюцию проводили метанолом со скоростью 5 мл/ч. Фракции, содержащие соединение (VIII), объединяли и упаривали, остаток высушивали. Выход соединения (VIII) 490 мг (86%), т. пл. 163—164° С, $[\alpha]_D^{20} +3,66$ (с 0,4, DMF), R_f 0,18 (A), 0,12 (B). Найдено, %: C 52,49; H 6,74; N 9,89. C₂₅H₃₈O₁₁N₄. Вычислено, %: C 52,62; H 6,74; N 9,81. ЯМР ((CD₃)₂SO, δ, м.д.): 7,75 м (3 H, NH Thr², Thr³, Thr⁴), 7,25 с (5 H, C₆H₅CH₂CO), 7,03 д (1 H, NH Thr¹), 5,08 с (2 H, C₆H₅CH₂CO), 3,67 с (3 H, OCH₃), 1,13 м (12 H, CH₃ Thr).

Z-Thr-Thr-Thr-Thr-N₂H₃ (IX). К раствору 1,00 г (1,75 ммоль) соединения (VIII) в 2 мл DMF и 10 мл метанола добавляли 1,0 мл (20 ммоль) 99,5% гидразингидрата и оставляли на 72 ч при 20° С и на 12 ч при 4° С. Выпавший осадок отфильтровывали и промывали на фильтре холодным метанолом (2×2 мл). Полученное вещество кипятили 10 мин в 5 мл ме-

танола, выдерживали 12 ч при 4° С, отфильтровывали и промывали на фильтре холодным метанолом (2×3 мл). Выход соединения (IX) 0,71 г (71%), т. пл. 196° С, $[\alpha]_D^{20} +3,33$ (с 0,2, DMF), R_f 0,00 (Б), 0,27 (В). Найдено, %: N 14,85. $C_{24}H_{38}O_{10}N_6$. Вычислено, %: N 14,73.

H-Gly-Apc-Apc-NHCH₂CH₂C(=NH)NH₂·2HBr (I). 4,00 г (8,9 ммоль) нитросоединения (V) [8] гидрировали над 0,8 г катализатора Адамса в смеси 30 мл этанола и 2,2 мл (13,2 ммоль) 6 н. HCl. Катализатор отфильтровывали, к раствору прибавляли 2,0 мл (14 ммоль) триэтиламина и раствор упаривали. Смесь 1,75 г (10 ммоль) Bos-Gly-OH (Reanal, Венгрия) и 10 ммоль N,N'-карбонилдиимида зола (Ferak, ФРГ) растворяли в 5 мл DMF, через 5 мин раствор прибавляли к аминокомпоненту и оставляли при 20° С на 48 ч. Затем раствор упаривали, а остаток растворяли в метаноле и наносили на колонку (100×5 см) с сефадексом LH-20 в метаноле. Элюцию проводили метанолом при 4° С со скоростью 30 мл/ч. Фракции, содержащие соединение (X), объединяли, упаривали и к оставшемуся маслу приливали 5 мл 36% раствора HBr в ледяной CH₃COOH. Реакционную смесь сразу же упаривали (примерно за 15 мин), оставшееся масло растворяли в метаноле и наносили на колонку с сефадексом LH-20 в метаноле. Элюцию проводили метанолом при 4° С со скоростью 5 мл/ч. Разделение в этих условиях проводили еще один раз. Фракции, содержащие соединение (I), объединяли и упаривали. Остаток лиофилизовали из воды. Выход соединения (I) 2,60 г (47%), R_f 0,14 (В), 0,43 (Г); E_{Gly} 1,38; E_{Thr} 2,39. ЯМР (CD_3OD , δ, м.д.): 7,21 м (2 Н, 5-H Apc); 6,91 д, 6,84 д (2 Н, 3-H Apc); 4,21 т (4 Н, CH₂CH₂CH₃); 3,80 с (2 Н, CH₂ Gly); 3,60 т (2 Н, NHCH₂CH₂); 2,79 т (2 Н, NHCH₂CH₂); 1,70 м (4 Н, CH₂CH₂CH₃); 0,80 т (6 Н, CH₂CH₂CH₃).

H-(Thr)₄-Gly-Apc-Apc-NHCH₂CH₂C(=NH)NH₂·2CF₃COOH (II). К раствору 228 мг (0,4 ммоль) соединения (IX) в 5 мл DMF при -30° С прибавляли при перемешивании 0,32 мл (1,3 ммоль) 4 н. раствора HCl в абс. этилацетате и 0,067 мл (0,5 ммоль) свежеперегнанного изоамилнитрита. Выдерживали 30 мин при -30° С, после чего понижали температуру до -50° С и, добавляя триэтиламин, доводили pH до 8-9. Затем к реакционной смеси добавляли раствор 210 мг (0,4 ммоль) соединения (I) в 2 мл абс. DMF, содержащий 0,4 ммоль триэтиламина. Выдерживали 72 ч при -5° С. Выпавший хлоргидрат триэтиламина отфильтровывали, DMF упаривали. Остаток растворяли в метаноле и наносили на колонку (150×2,5 см) с сефадексом LH-20 в метаноле. Элюцию проводили метанолом со скоростью 5 мл/ч. Фракции, содержащие соединение (XI) *, объединяли и упаривали. Остаток растворяли в 5 мл CF₃COOH и в течение 45 мин при 20° С через этот раствор пропускали сухой HBr. CF₃COOH упаривали при 20° С. Остаток растворяли в метаноле и упаривали, эту операцию повторяли трижды. Далее остаток растворяли в 2 мл метанола и наносили на колонку (150×2,5 см) с сефадексом LH-20 в метаноле. Элюцию проводили метанолом при 20° С со скоростью 5 мл/ч. Разделение в этих условиях проводили еще один раз. Фракции, содержащие соединение (II), объединяли и упаривали. Остаток лиофилизовали из воды. Выход соединения (II) 270 мг (62%), R_f 0,11 (В), 0,58 (Г); E_{Gly} 1,06; E_{Thr} 1,76. Аминокислотный анализ: Thr 4,00 (4), Gly 4,09 (1).

H-(Thr)₈-Gly-Apc-Apc-NHCH₂CH₂C(=NH)NH₂·2CF₃COOH (III). К раствору 35 мг (61 мкмоль) соединения (IX) в 2 мл абс. DMF при перемешивании при -30° С добавляли 0,05 мл (200 мкмоль) 4 н. раствора HCl в этилацетате и 0,01 мл (75 мкмоль) свежеперегнанного изоамилнитрита. Выдерживали 30 мин при -30° С, после чего понижали температуру до -50° С и, прибавляя триэтиламин, доводили pH до 8-9. Затем к реакционной смеси прибавляли раствор 45 мг (46 мкмоль) соединения (II) в 1 мл абс. DMF, содержащем 6,5 мкл (46 мкмоль) триэтиламина. Выдер-

* E_{Gly} 0,53; E_{Thr} 0,87. ЯМР [$(CD_3)_2SO$, δ, м.д.]: 7,84 м (3 Н, NH Thr², Thr³, Thr⁴), 7,38 с (5 Н, C₆H₅CH₂); 7,23 с (2 Н, 5-H Apc); 6,98 с (2 Н, 3-H Apc); 5,07 с (2 Н, C₆H₅CH₂); 2,65 т (2 Н, NHCH₂CH₂); 1,65 м (4 Н, CH₂CH₂CH₃); 1,04 м (12 Н, CH₃ Thr); 0,75 т (6 Н, CH₂CH₂CH₃).

живали 72 ч при -5°C . DMF упаривали, остаток растворяли в 3 мл CF_3COOH и пропускали через раствор в течение 45 мин сухой HBr . CF_3COOH упаривали при 20°C . Остаток растворяли в метаноле и вновь упаривали, эту операцию повторяли трижды. Остаток растворяли в 2 мл метанола и наносили на колонку ($150 \times 2,5$ см) с сепадексом LH-20 в метаноле. Элюцию проводили метанолом со скоростью 3,5 мл/ч. Разделение в этих условиях проводили еще один раз. Фракции, содержащие соединение (III), объединяли и упаривали. Выход соединения (III) 40 мг (58%), R_f , 0,05 (B), 0,65 (Г); E_{Gly} 0,82; E_{Thr} 1,39. Аминокислотный анализ: Thr 7,88 (8), Gly 1,00 (1).

Boc-Val-Val-Val-Gly-OEt (XII). Раствор 3,36 г (10 ммоль) Z-Val-Gly-OEt [21] в смеси 50 мл метанола и 2,5 мл 4 н. раствора HCl в абс. этилацетате гидрировали в присутствии 0,2 г Pd-черни до прекращения выделения CO_2 . Катализатор отфильтровывали и растворитель упаривали. Остаток растворяли в 30 мл абс. DMF; полученный раствор после добавления к нему 1,4 мл (10 ммоль) триэтиламина далее использовали в синтезе в качестве аминокомпонента. К раствору 3,30 г (10 ммоль) Boc-Val-Val-N₂H₃ [22] в 40 мл абс. DMF при -30°C добавляли при перемешивании 8 мл (32 ммоль) 4 н. раствора HCl в абс. этилацетате и 1,7 мл (14 ммоль) свежеперегнанного изоамилпирита. Выдерживали 30 мин при -30°C , после чего понижали температуру до -50°C и, добавляя триэтиламин, доводили pH до 8–9. Затем в реакционную смесь вводили раствор аминокомпонента, полученный как описано выше. Выдерживали 72 ч при -5°C , после чего выливали реакционную смесь в воду, а выпавший осадок отфильтровывали и промывали водой на фильтре. Переосаждали из DMF водой. Выход соединения (XII) 3,88 г (77%), т. пл. 238°C (с разл.), $[\alpha]_D^{20} -70,21$ (*c* 0,9, CH_3COOH), R_f , 0,75 (A), 0,80 (Б). Найдено, %: C 57,49; H 8,78; N 11,18. $\text{C}_{22}\text{H}_{44}\text{O}_7\text{N}_4$. Вычислено, %: C 57,58; H 8,86; N 11,19.

Boc-Val-Val-Val-Gly-OH (XIII). К раствору 2,01 г (4 ммоль) соединения (XII) в 80 мл смеси метанол – дмоксан (1 : 1) добавляли 40 мл 0,1 н. водного раствора NaOH. Через 1 ч раствор упаривали. Остаток растворяли в 20 мл воды и добавляли 4,5 мл 1 М лимонной кислоты. Выпавший осадок отфильтровывали, промывали на фильтре водой и переосаждали из DMF водой. Выход соединения (XIII) 1,51 г (80%), т. разл. $\approx 330^{\circ}\text{C}$, $[\alpha]_D^{20} -64,82$ (*c* 0,6, CH_3COOH), R_f , 0,48 (A), 0,45 (Б). Найдено, %: N 11,88. $\text{C}_{22}\text{H}_{40}\text{O}_7\text{N}_4$. Вычислено, %: N 11,86.

H-(Val)₃-(Gly)₂-Apc-Apc-NHCH₂CH₂C(=NH)NH₂-2CF₃COOH (IV). 0,57 г (1,2 ммоль) соединения (XIII) растворяли при нагревании в 20 мл абс. DMF и после охлаждения до 20°C к раствору добавляли 1,2 ммоль N,N'-карбонилдиимиазола. Через 30 мин к полученному раствору имидазолида прибавляли раствор 0,62 г (1,0 ммоль) соединения (I) в 4 мл абс. DMF, содержащих 0,14 мл (1,0 ммоль) триэтиламина. Реакционную смесь выдерживали 48 ч при 20°C , затем упаривали, а остаток растворяли в метаноле и наносили на колонку (150×3 см) с сепадексом LH-20 в метаноле. Элюцию проводили метанолом со скоростью 10 мл/ч. Фракции, содержащие соединение (IV), объединяли и упаривали. Остаток растворяли в 20 мл CF_3COOH и выдерживали 30 мин при 20°C . CF_3COOH упаривали, масло растворяли в метаноле и снова упаривали. Остаток растворяли в метаноле и дважды подвергали разделению на сепадексе LH-20 в условиях, аналогичных вышеописанным. Фракции, содержащие соединение (IV), объединяли и упаривали, остаток лиофилизовали из воды. Выход соединения (IV) 0,46 г (45%), R_f , 0,13 (В), 0,60 (Г); E_{Thr} 1,68; E_{Gly} 0,96. Аминокислотный анализ: Val 2,81 (3), Gly 2,00 (2). ЯМР (CD_3OD , 6, м.д.): 7,18 м (2 H, 5-Н Apc); 6,84 д (2 H, 3-Н Apc); 4,21 м (4 H, $\text{CH}_2\text{CH}_2\text{CH}_3$); 3,95 м (4 H, CH_2Gly); 3,58 м (2 H, NHCH_2CH_2); 2,67 т (2 H, NHCH_2CH_2); 1,66 м (4 H, $\text{CH}_2\text{CH}_2\text{CH}_3$); 1,23 м (3 H, $\text{C}^{\beta}\text{H Val}$); 0,95 м (6 H, $\text{CH}_2\text{CH}_2\text{CH}_3$); 0,62 м (18 H, CH_3Val).

Авторы выражают благодарность Е. В. Чурдалевой и В. А. Куликову за проведение аминокислотного анализа.

ЛИТЕРАТУРА

1. Никитин С. М., Гроховский С. Л., Жузе А. Л., Михайлова М. В., Заседателев А. С., Гурский Г. В., Готтих Б. П. Биоорганс. химия, 1981, т. 7, № 4, с. 542–551.
2. Заседателев А. С., Жузе А. Л., Циммер К., Гроховский С. Л., Туманян В. Г., Гурский Г. В., Готтих Б. П. Докл. АН СССР, 1976, т. 231, № 4, с. 1006–1009.
3. Zasedatelev A. S., Gursky G. V., Zimmer Ch., Thrum H. Mol. Biol. Rep., 1974, v. 1, № 7, p. 337–342.
4. Gursky G. V., Tumanyan V. G., Zasedatelev A. S., Zhuze A. L., Grokhovsky S. L., Gottikh B. P. In: Nucleic acid – protein recognition / Ed. Vogel H. J. N. Y.– San Francisco – London: Acad. Press, 1977, p. 189–217.
5. Zasedatelev A. S., Zhuze A. L., Zimmer Ch., Grokhovsky S. L., Tumanyan V. G., Gursky G. V., Gottikh B. P. Studia Biophys., 1978, v. 67, p. 47–48.
6. Krylov A. S., Grokhovsky S. L., Zhuze A. L., Zasedatelev A. S., Gursky G. V., Gottikh B. P. Nucleic Acids Res., 1979, v. 6, № 1, p. 289–304.
7. Martin J. C., Wartell R. M., O'Shea D. C. Proc. Nat. Acad. Sci. USA., 1978, v. 75, № 11, p. 5483–5487.
8. Гроховский С. Л., Жузе А. Л., Готтих Б. П. Биоорганс. химия, 1975, т. 1, № 11, с. 1616–1623.
9. Гроховский С. Л., Жузе А. Л., Готтих Б. П. Биоорганс. химия, 1978, т. 4, № 8, с. 1078–1086.
10. Гурский Г. В., Туманян В. Г., Заседателев А. С., Жузе А. Л., Гроховский С. Л., Готтих Б. П. Молекулярн. биология, 1975, т. 9, № 5, с. 635–651.
11. Gursky G. V., Tumanyan V. G., Zasedatelev A. S., Zhuze A. L., Grokhovsky S. L., Gottikh B. P. Mol. Biol. Rep., 1976, v. 2, № 5, p. 413–425.
12. Honzl J., Rudinger J. Coll. Czech. Chem. Commun., 1961, v. 26, № 9, p. 2333–2344.
13. Stewart J. M., Young J. D. Solid Phase Peptide Synthesis. San Francisco: Freeman W. H. and Company, 1969, p. 31–32.
14. Гордон А., Форд Р. Спутник химика. М.: Мир, 1976, с. 438–444.
15. Синтезы органических препаратов. Т. 1. М.: ИЛ, 1949, с. 357–364.
16. Гринштейн Дж., Виниц М. Химия аминокислот и пептидов. М.: Мир, 1965, с. 694.
17. Durrum E. L. J. Amer. Chem. Soc., 1950, v. 72, № 7, p. 2943–2948.
18. Турчин К. Ф., Гроховский С. Л., Жузе А. Л., Готтих Б. П. Биоорганс. химия, 1978, т. 4, № 8, с. 1065–1077.
19. Schröder E., Gibian H. Ann. Chem., 1962, B. 656, S. 190–204.
20. Гринштейн Дж., Виниц М. Химия аминокислот и пептидов. М.: Мир, 1965, с. 397.
21. Grassman W., Wünsh E. Chem. Ber., 1958, v. 91, № 2, p. 449–455.
22. Toniolo C., Bonora G. M., Fontana A. Int. J. Peptide Protein Res., 1974, v. 6, p. 371–380.

Поступила в редакцию
10.III.1982

DNA BASE PAIR SEQUENCE SPECIFIC LIGANDS. VI. SYNTHESIS OF OLIGOPEPTIDE ANALOGS OF DISTAMYCIN A

KHORLIN A. A., GROKHOVSKY S. L., ZHUZE A. L., GOTTIKH B. P.

Institute of Molecular Biology, Academy of Sciences
of the USSR, Moscow

Distamycin A analogs have been synthesized which are built of two N-propylpyrrolcarboxamide fragments and contain, instead of the formyl group, oligovaline or oligothreonine chains linked via the diglycine or glycine residues, respectively.