



УДК 547.964.4.05 : 577.175.325'17

СИНТЕЗ ЗАЩИЩЕННЫХ ОКТАПЕПТИДОВ

Boc-Lys(Z)-[Lys(Z)]₆-Lys(Z)-OBzl,Boc-Lys(Z)-Lys(Z)-[Glu(OBzl)]₅-Glu(OBzl)-OBzl,Boc-Lys(Z)-Lys(Z)-(Gly)₅-Gly-OBzl, Boc-Lys(Z)-Lys(Z)-(Phe)₅-Phe-ONb —

ПОЛУПРОДУКТОВ ПРИ СИНТЕЗЕ

АНАЛОГОВ ВЫСОКОАКТИВНОГО ФРАГМЕНТА

1—24 КОРТИКОТРОПИНА

Сысков И. В., Романовский П. Я.

*Экспериментальный завод Института органического синтеза
Академии наук ЛатвССР, Рига*

Чипене Г. И.

Институт органического синтеза Академии наук ЛатвССР, Рига

Классическими методами пептидной химии синтезированы защищенные октапептиды — Boc-Lys(Z)-[Lys(Z)]₆-Lys(Z)-OBzl, Boc-Lys(Z)-Lys(Z)-[Glu(OBzl)]₅-Glu(OBzl)-OBzl, Boc-Lys(Z)-Lys(Z)-(Gly)₅-Gly-OBzl, Boc-Lys(Z)-Lys(Z)-(Phe)₅-Phe-ONb, которые являются полупродуктами при синтезе аналогов высокоактивного фрагмента 1—24 кортикотропина, модифицированных в положении 17—24.

Известно, что биологическая активность тетракозапептида аминокислотной последовательности 1—24 кортикотропина примерно равна биологической активности интактной молекулы природного гормона [1]. Так, при изучении биологических свойств синтетических аналогов N-концевых фрагментов АСТН показано, что активный центр гормона локализован в N-концевом октадекапептидном участке молекулы [2], поэтому в первоначальных анализах структурно-функциональной организации молекулы АСТН фрагменту 19—24 отведена роль структурного элемента, обеспечивающего транспорт молекулы гормона и предохранение ее от ферментативного расщепления [2].

Однако нами было показано, что в аминокислотной последовательности 11—24 кортикотропина присутствует второй активный центр молекулы [3], который обеспечивает небольшую стероидогенную активность фрагмента 11—18 [4]. Более детальные исследования показали, что слабой стероидогенной активностью обладают также фрагменты АСТН 11—16, 11—19, 17—24 и 11—24 [5]. Таким образом было выявлено, что фрагмент 19—24 АСТН необходим для обеспечения полного спектра биологической активности высокоактивного АСТН-(1—24)-тетракозапептида, однако в чем конкретно заключается роль этой последовательности — в стабилизации определенной конформации, что приводит к улучшению транспортных свойств АСТН-(1—24)-тетракозапептида и защите его от расщепления карбоксипептидазами, или в участии в гормон-рецепторном взаимодействии — до настоящего времени остается не выясненным.

Поэтому с целью уточнения роли последовательности 19—24 АСТН нами предпринят синтез аналогов АСТН-(1—24)-тетракозапептида, содержащих вместо природной аминокислотной последовательности 19—24 АСТН

Сокращения: АСТН — кортикотропин, ONb — *n*-нитробензил, TFA — трифторуксусная кислота, DCC — дициклогексилкарбодимид, DMF — диметилформамид, DCHA — дициклогексиламин, TSA — *n*-толуолсульфокислота, комплекс F — соединение 1 моль DCC и 3 моль пентафторфенола.

Схема 1
Синтез октапептида Вос-Lys(Z)-[Lys(Z)]₆-Lys(Z)-OBzl

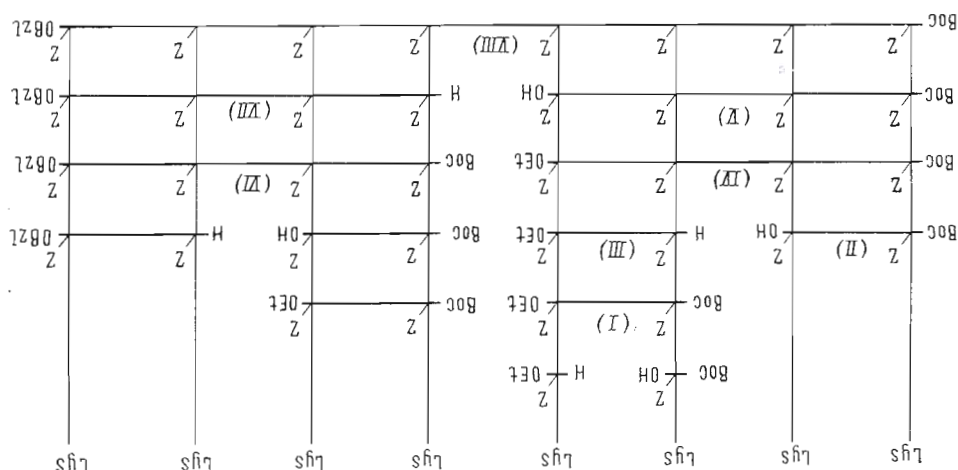
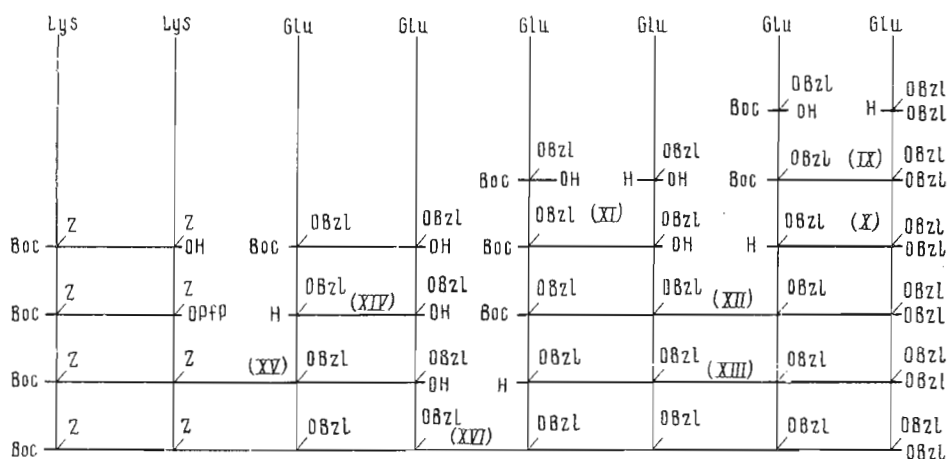


Схема 2
Синтез октапептида Вос-Lys(Z)-Lys(Z)-[Glu(OBzl)]₅-Glu(OBzl)-OBzl



блоки основных, кислых, ароматических, а также не имеющих бокового радикала полиаминокислот: гексализина, гексаглутаминовой кислоты, гексафенилаланина и гексаглицина. Так как замена остатков аргинина в положениях 17 и 18 природного гормона на остатки лизина не приводит к изменению биологической активности [6], но существенно облегчает синтез, в качестве основы для построения модифицированных в положении 19–24 аналогов нами выбраны производные с остатками лизина в положениях 17 и 18.

Для синтеза аналогов АСТН нами выбрана схема конденсации фрагментов по принципу 10+(6+8). Настоящая работа посвящена описанию синтеза С-концевых октапептидных фрагментов, содержащих последовательности вышеперечисленных гексааминокислот.

Синтез октапептидов осуществляли путем конденсации дипептидных фрагментов по схеме (2+2)+(2+2) (схемы 1–4). Стратегию синтеза основывали на применении кислотолабильных Вос- или Nps-групп для защиты α-аминогрупп в сочетании с Z-группой для блокирования ε-аминогрупп остатков лизина. С-Концевые карбоксильные группы и γ-карбоксильные группы остатков глутаминовой кислоты защищали путем их превращения

Схема 3
Синтез октапептида Вос-Lys(Z)-Lys(Z)-(Gly)₅-Gly-OBzl

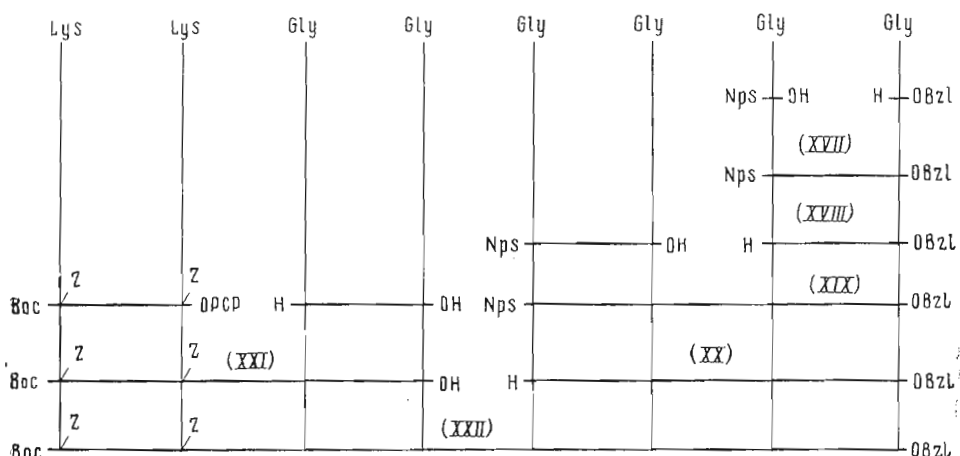
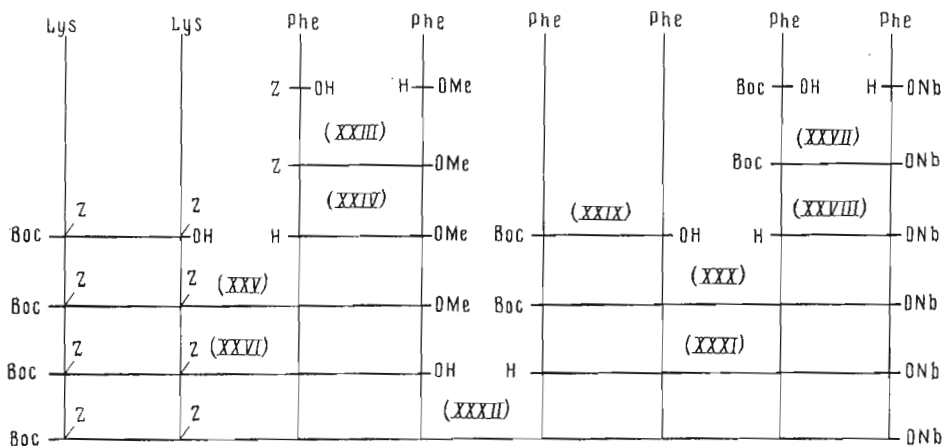


Схема 4
Синтез октапептида Вос-Lys(Z)-Lys(Z)-(Phe)₅-Phe-ONb



в бензиловые или *n*-нитробензиловые эфиры, для временной защиты α -карбокисильных групп использовали метиловые или этиловые эфиры.

Отщепление Вос-группы проводили растворами *n*-толуолсульфокислоты в уксусной кислоте [7] и трифторуксусной кислоты в хлористом метиле [8] или в воде [9]. Отщепление метиловых и этиловых эфиров осуществляли действием эквивалентного количества гидроокиси натрия в водном диоксиде.

Синтез защищенного октализина проводился согласно схеме 1. Дипептид (I), полученный конденсацией Вос-Lys(Z)-OH с H-Lys(Z)-OEt с использованием 1-этоксикарбонил-2-этокси-1,2-дигидрохинолина [10], подвергали щелочному омылению и получали соответствующую кислоту (II). Обработкой дипептида (I) раствором *n*-толуолсульфокислоты получали соединение (III). Конденсацией дипептидов (II) и (III) в присутствии 1-этоксикарбонил-2-этокси-1,2-дигидрохинолина синтезировали защищенный тетрализин (IV), омыление которого давало соединение (V). Аналогично, конденсацией соединения (II) с H-Lys(Z)-Lys(Z)-OBzl [11] синтезировали тетрапептид (VI). Отщепление Вос-защиты с соединения (VI) раствором *n*-толуолсульфокислоты приводило к соединению (VII), загрязненному примесями. После очистки хроматографией на силикагеле его

конденсировали с тетрапептидом (V) с использованием комплекса F [12] и получали защищенный октализин (VIII).

Для синтеза октапептида (XVI) (схема 2) Woc-Glu(OBzl)-OH конденсировали с H-Glu(OBzl)-OBzl карбодимидным методом [13]. Woc- группу с полученного дипептида (IX) отщепляли действием 25% раствора трифторуксусной кислоты в хлористом метиле, получая дипептид (X). Необходимый для синтеза дипептида (XI) $\text{Woc-Glu(OBzl)-OPsr}$ получали в реакции сложного обмена Woc-Glu(OBzl)-OH с пентахлорфениловым эфиром трихлоруксусной кислоты [14]. Конденсацию $\text{Woc-Glu(OBzl)-OPsr}$ с H-Glu(OBzl)-ONa осуществляли в смеси диметилформамид — диоксан — вода, дипептид (XI) выделяли в виде дидициклогексиламмониевой соли. Тетрапептид (XII) получали конденсацией соединений (X) и (XI) карбодимидным методом. Обработкой тетрапептида (XII) раствором трифторуксусной кислоты в хлористом метиле получали тетрапептид (XIII). Аналогичным образом отщепляли Woc- группу с дипептида (XI), что привело к дипептиду (XIV).

Для присоединения $\text{Woc-Lys(Z)-Lys(Z)-OH}$ к дипептиду (XIV) его с помощью комплекса F превращали в пентафторфениловый эфир, а трудно-растворимый дипептид (XIV) с помощью $\text{N,O-бис-триметилсилилацетамида}$ переводили в растворимое производное. Ацилирование дипептида (XIV) проводили в водном диоксане, полученный тетрапептид (XV) с помощью комплекса F конденсировали с тетрапептидом (XIII). Образовавшийся октапептид (XVI) хорошо очищался осаждением из реакционной среды этилацетатом.

Для синтеза октапептида (XXII) (схема 3) Nps-Gly-OH [15] конденсировали с H-Gly-OBzl карбодимидным методом. Обработка полученного дипептида (XVII) раствором хлористого водорода в смеси диоксан — метанол для отщепления Nps- защиты [16] привела к соединению (XVIII). Тетрапептид (XIX) получали конденсацией Nps-Gly-Gly-OH с соединением (XVIII) карбодимидным методом, отщепление Nps- группы с (XIX) осуществляли раствором хлористого водорода в метаноле. Взаимодействием $\text{Woc-Lys(Z)-Lys(Z)-OPfr}$ с натриевой солью диглицила в водном диоксане получали тетрапептид (XXI), конденсация которого с соединением (XX) с помощью комплекса F привела к октапептиду (XXII).

Путь синтеза октапептида (XXXII) — производного гексафенилаланина представлен на схеме 4. Дипептид (XXIII) получали конденсацией Z-Phe-OH с H-Phe-OMe с помощью 1-этоксикарбонил-2-этокси-1,2-дигидрохинолина. Каталитическим гидрогенолизом соединения (XXIII) над палладиевым катализатором в 90% водном метаноле отщепляли бензильную группу и получали дипептид (XXIV). Конденсацией дипептида (II) с соединением (XXIV) карбодимидным методом получали тетрапептид (XXV), омыление которого приводило к соединению (XXVI). Дипептид (XXVII) получали конденсацией Woc-Phe-OH с H-Phe-ONb карбодимидным методом; обработка дипептида раствором хлористого водорода в диоксане привела к соединению (XXVIII), а омыление — к соединению (XXIX), которое выделяли в виде дидициклогексиламмонийной соли. Сочетание дипептидов (XXVIII) и (XXIX) с помощью комплекса F привело к тетрапептиду (XXX). Woc- группу с тетрапептида удаляли 80% водной трифторуксусной кислотой, обработка трифторацетата 5% раствором NaHCO_3 позволила выделить соединение (XXXI) в виде свободного основания. Конденсацией соединения (XXVI) с тетрапептидом (XXXI) с помощью комплекса F был получен октапептид (XXXII).

Следует отметить, что применение различных методов образования пептидной связи: карбодимидного в различных вариантах, метода активированных эфиров, конденсация с помощью 1-этоксикарбонил-2-этокси-1,2-дигидрохинолина — было продиктовано необходимостью разработки наиболее эффективного метода синтеза целевых октапептидов (VIII), (XVI), (XXII) и (XXXII). Так, например, наиболее высокие выходы при синтезах лизинсодержащих пептидов обеспечивал 1-этоксикарбонил-2-этокси-1,2-дигидрохинолин, при синтезах фенилаланинсодержащих пептидов выходы оказались значительно ниже, при попытках получения глутамилпептидов этим

методом наблюдались побочные реакции. Конденсацию лизинсодержащего дипептида (II) с глутамилдипептидом (XIV) из-за соображений растворимости пришлось проводить методом активированных эфиров, несмотря на риск рацемизации.

Аналогично при работе с лизинсодержащими пептидами для отщепления Вос-группы успешным оказалось применение раствора *n*-толуолсульфокислоты в CH_3COOH , в то время как применение этого реактива в случае производных глутаминовой кислоты приводило к образованию неидентифицированных побочных продуктов, поэтому в ходе синтеза для этой цели использовались растворы трифторуксусной кислоты в хлористом метиле или в воде.

Результаты синтеза показали, что выбранные методы конденсации и отщепления защитных групп приводили к однородным продуктам реакции, что исключало необходимость дополнительных очисток полученных соединений. Преимущества выбранных схем отчетливо выявились на стадиях выделения защищенных октапептидов, которые благодаря низкой растворимости осаждались из реакционной смеси этилацетатом в практически гомогенном состоянии.

Экспериментальная часть

В работе использовали аминокислоты *L*-ряда.

Для ТСХ использовали пластинки Silufol UV₂₅₄ (Kavalier, СССР; Merck, ФРГ), применяя следующие системы растворителей: этилацетат — ацетон — вода, 5:5:1 (А), этилацетат — гексан, 1:1 (Б), этилацетат (В), *n*-бутанол — уксусная кислота — вода, 4:1:1 (Г), этилацетат — ацетон, 1:1 (Д), ацетон — бензол, 1:1 (Е), *n*-бутанол — толуол — пиридин, 2:2:1 (Ж), *n*-бутанол — уксусная кислота, 1:1 (З).

Электрофорез соединений проводили на бумаге Ватман № 3 в растворах 1 н. и 30% CH_3COOH при градиенте потенциала 18 В/см. Электрофоретическую подвижность определяли по отношению к His (E_{His}).

Хроматограммы и электрофореграммы проявляли нингидрин-коллидиновым [17] и хлор-бензидиновым реагентами [17].

Температуры плавления определяли в открытых капиллярах без коррекции. Удельное вращение измеряли на поляриметре Perkin Elmer 141 (США).

Выходы и константы синтезированных соединений приведены в таблице.

Woc-Lys(Z)-Lys(Z)-OEt (I). К раствору 5,62 г (10 ммоль) *Woc-Lys(Z)-OH*·DCHA и 3,45 г (10 ммоль) $\text{HCl}\cdot\text{H-Lys(Z)-OEt}$ в 100 мл этилацетата прибавляли 2,7 г (11 ммоль) 1-этоксикарбонил-2-этокси-1,2-дигидрохинолина и перемешивали в течение 40 ч. Выпавший осадок отфильтровывали, этилацетатный раствор экстрагировали последовательно 10% раствором KHSO_4 (3×50 мл), водой (1×50 мл), 5% раствором NaHCO_3 (3×50 мл) и водой (2×50 мл). Органическую фазу упаривали, остатки воды удаляли азеотропной отгонкой с бензолом. Выход соединения (I) 6,45 г (96%). Аналогичным методом получали соединения (IV), (VI) и (XXIII).

Woc-Lys(Z)-Lys(Z)-OH (II). К раствору 0,67 г (1 ммоль) дипептида (I) в 15 мл 80% водного диоксана добавляли 0,375 мл 4 н. раствора NaOH и перемешивали в течение 1 ч. Диоксан упаривали, остаток разбавляли водой до 30 мл и экстрагировали 30 мл смеси этилацетат — гексан (1:1). Водный слой отделяли, подкисляли 10% раствором KHSO_4 до pH 3 и выпавшее маслообразное вещество экстрагировали 50 мл этилацетата. Этилацетатный раствор промывали водой (2×30 мл) и упаривали органическую фазу. Воду отгоняли азеотропной отгонкой с бензолом и продукт кристаллизовали в гексане. Выход соединения (II) 0,62 г (95%). Аналогично получали соединения (V), (XXVI) и (XXIX).

TSA\cdot\text{H-Lys(Z)-Lys(Z)-OEt} (III). К раствору 1,04 г (1,53 ммоль) дипептида (I) в 5 мл ледяной CH_3COOH прибавляли порциями в течение 15 мин при интенсивном перемешивании 0,86 г (4,5 ммоль) $\text{TSA}\cdot\text{H}_2\text{O}$. Далее реакционную смесь выдерживали 30 мин и выливали в 150 мл сухо-

Выходы и физико-химические константы синтезированных соединений

Соединение	Выход, %	Т. пл., °С	$[\alpha]_D^{20}$, град (с 1)	Растворитель	R_f (система)	E_{His} (рН)
(I)	96	82-84	-14,2	DMF + <i>i</i> -C ₃ H ₇ OH (1:1)	0,41 (Б); 0,82 (Е)	
(II)	95	93-95	-9,8	CH ₃ OH	0,87 (А); 0,48 (Е)	
(III)	50	155-157	+3,5	CH ₃ OH	0,57 (А); 0,08 (Д)	0,52 (2,4)
(IV)	82	181-182	-7,3	CH ₃ OH	0,95 (А); 0,79 (Е)	
(V)	97	120-126	-8,0	CH ₃ OH	0,66 (Е)	
(VI)	94	144-146	-18,8	DMF	0,95 (А); 0,63 (Б)	
(VII)	50	120	-11,7	DMF	0,47* (А); 0,88* (Г); 0,53 (Ж)	
(VIII)	86	218-230	-15,6	DMF	0,98 (CHCl ₃ - C ₂ H ₅ OH, 1:1)	
(IX)	72	75-76	-22,7	CH ₃ OH	0,86* (А); 0,86 (Б)	1,33 (2,4) **
(X)	88	Аморфн.	+1,4	CH ₃ OH	0,59* (А)	
(XI)	48	110	+1,6	CH ₃ OH	0,91 (А); 0,13 (Б)	0,65 (1,9)
(XII)	72	97-105	-20,0	CH ₃ OH	0,92 (А); 0,61 (З)	
(XIII)	100	135-136	-2,0	CH ₃ OH	0,13 (Б); 0,68 (Ж)	
(XIV)	68	Аморфн.	+12,9	<i>i</i> -C ₃ H ₇ OH : DMF (1:1)	0,48 (А); 0,26* (А)	0,55 (1,9)
(XV)	84	116-118	-12,7	CH ₃ OH	0,62* (А); 0,75 (Д); 0,74 (Ж)	
(XVI)	65	242-222	-11,0	DMF	0,51 (З)	
(XVII)	52	143-144	-	DMF	0,16 (Б); 0,66 (Б); 0,83 (Д)	
(XVIII)	88	150	-	-	0,23* (А); 0,48* (Г)	0,95 (2,4)
(XIX)	82	182-184	-	-	0,35 (Б)	
(XX)	96	181-182	-	-	0,11 (А); 0,31 (Г)	0,72 (2,4)
(XXI)	94	94-95	+12,9	CH ₃ COOH	0,88 (А); 0,15 (Б); 0,68 (Б); 0,83 (Д)	
(XXII)	76	163-185	-6,9	DMF	0,43* (А); 0,71* (Г); 0,05 (Д)	
(XXIII)	95	140-141	-16,9	CH ₃ OH	0,65* (Б); 0,89 (Б)	0,57 (2,4) **
(XXIV)	41	192-193	+6,3	CH ₃ OH	0,42 (А); 0,56 (Г)	
(XXV)	97	114-117	-49,2	CH ₃ OH	0,89 (А); 0,05 (Б); 0,66 (Б)	0,70 (2,4)
(XXVI)	99	114-117	-42,8	DMF	0,48 (Б); 0,87 (Д); 0,83 (Ж)	
(XXVII)	79	149-122	-5,7	DMF	0,71 (Б); 0,91 (Б)	
(XXVIII)	78	86-90	+18,9	CH ₃ COOH	0,54* (А); 0,76* (Г)	0,64 (2,4)
(XXIX)	81	148-150	+7,1	CH ₃ COOH	0,62 (Б); 0,88 (Б) (без ДСНА)	
(XXX)	85	181-182	-6,1	DMF	0,71 (Б)	
(XXXI)	94	110-112	-35,8	DMF	0,80 (А); 0,25 (Б); 0,90 (В)	0,51 (1,9) **
(XXXII)	83	232	-15,6	DMF	Плохо растворим во всех применяемых системах	

* На пластинках кисельгеля UV-254 (Merck).

** После гидрирования образца.

го эфира. Выпавший осадок отфильтровывали, промывали на фильтре эфиром и сушили в эксикаторе над КОН. Выход соединения (III) 0,92 г (81%).

H-Lys(Z)-Lys(Z)-Lys(Z)-Lys(Z)-OBzl (VII). Снятие Вос-защиты с 2,28 г (1,83 ммоль) тетрапептида (VI) проводили как при получении соединения (III). Сырой продукт очищали хроматографией на колонке с силикагелем, элюцию проводили в системе *n*-бутанол— CH_3COOH — H_2O (4:1:1). Фракции, содержащие основное вещество, объединяли, упаривали и сушили азеотропно с толуолом. Продукт кристаллизовался при растирании в гексане. Выход тетрапептида (VII) 1,05 г (50%).

Вос-Lys(Z)-Lys(Z)-Lys(Z)-Lys(Z)-Lys(Z)-Lys(Z)-Lys(Z)-OBzl (VIII). К охлажденному до -10°C раствору 0,92 г (0,79 ммоль) тетрапептида (V), 0,91 г (0,79 ммоль) тетрапептида (VII) и 0,42 мл (4 ммоль) *N*-метилморфолина в 8 мл DMF прибавляли 1,20 г (1,58 ммоль) комплекса **F** и перемешивали в течение 2 сут при 20°C . Отфильтровывали осадок и фильтрат разбавляли 200 мл этилацетата. Выпавший осадок отфильтровывали и высушивали. Выход октапептида (VIII) 1,57 г (86%). Аналогично получали соединения (XVI), (XXII) и (XXXII).

Вос-Glu(OBzl)-Glu(OBzl)-OBzl (IX). а) Суспензию 5,19 г (10 ммоль) Вос-Glu(OBzl)-ОН·DCHA в 50 мл этилацетата обрабатывали эквивалентным количеством 10% раствора KHSO_4 для удаления DCHA. Органический слой промывали водой (2×50 мл) и упаривали. б) Суспензию 4,85 г (10 ммоль) TSA·H-Glu(OBzl)-OBzl в 100 мл смеси эфир—бензол обрабатывали эквивалентным количеством 5% раствора NaHCO_3 для удаления TSA. Органический слой промывали водой и упаривали досуха. Полученные способами а и б соединения растворяли в 25 мл этилацетата, объединяли и прибавляли 2,02 г (15 ммоль) 1-оксипентотриазола. Смесь охлаждали до -20°C , добавляли 2,27 г (11 ммоль) DCC и перемешивали в течение 30 мин при -20°C и далее 20 ч при 20°C . Отфильтровывали выпавший осадок и упаривали этилацетат. Остаток растворяли в 50 мл этилацетата и экстрагировали последовательно 10% раствором KHSO_4 (3×30 мл), водой (1×30 мл), 5% раствором NaHCO_3 (3×30 мл) и водой. Органический слой упаривали и остаток сушили азеотропно отгонкой с бензолом. Продукт растворяли в 10 мл эфира и осаждали прибавлением 50 мл гексана. Выход соединения (IX) 4,63 г (72%). Аналогично получали соединения (XII), (XVII) и (XIX).

TFA·H-Glu(OBzl)-Glu(OBzl)-OBzl (X). К раствору 2,08 г (3,22 ммоль) дипептида (IX) в 7 мл хлористого метилена прибавляли 3 мл TFA и смесь выдерживали в течение 1 ч. Далее раствор разбавляли 50 мл смеси эфир—гексан (1:1), выпавший маслообразный продукт промывали гексаном (3×30 мл) и закристаллизовали в гексане. Выход 1,89 г (88%). Аналогично получали соединения (XIII) и (XIV).

Вос-Glu(OBzl)-Glu(OBzl)-OH·DCHA (XI). К раствору 4,4 г (10 ммоль) Вос-Glu(OBzl)-ОН и 2,5 мл (20 ммоль) триэтиламина в 60 мл диоксана прибавляли 8,13 г (20 ммоль) пентахлорфенилового эфира трихлоруксусной кислоты и перемешивали в течение 3 ч до завершения реакции. Раствор, содержащий Вос-Glu(OBzl)-OPер, добавляли к суспензии 5,92 г (15 ммоль) TSA·H-Glu(OBzl)-ОН в 30 мл DMF, 30 мл диоксана, 36 мл 5% раствора NaHCO_3 и 2 мл триэтиламина и перемешивали образовавшийся раствор в течение 3 сут. Упаривали диоксан, остаток разбавляли 400 мл воды и экстрагировали эфиром (3×200 мл). Водный слой подкисляли 10% раствором KHSO_4 до pH 3 и экстрагировали этилацетатом (2×200 мл). Этилацетатный раствор промывали 300 мл воды, 5% раствором NaHCO_3 (6×300 мл), 300 мл воды и упаривали этилацетат. Остаток растворяли в 50 мл эфира и добавляли 2,5 мл (10 ммоль) DCHA, раствор охлаждали до 0°C и выдерживали 10 ч при этой температуре. Выпавший осадок отфильтровывали и высушивали. Выход соединения (XI) 3,48 г (48%).

Вос-Lys(Z)-Lys(Z)-Glu(OBzl)-Glu(OBzl)-OH (XV). а) К раствору 0,62 г (1,09 ммоль) дипептида (XIV) в 10 мл диоксана прибавляли 4 мл *N*,*O*-триметилсилилацетампда и смесь перемешивали в течение 20 ч.

б) К охлажденному до -15°C раствору 0,69 г (1,09 ммоль) дипептида (II) в 10 мл этилацетата прибавляли 0,87 г (1,15 ммоль) комплекса F и смесь перемешивали в течение 2 ч. Отфильтровывали осадок, к маточнику прибавляли 0,3 мл (3 ммоль) N-метилморфолина и раствор силилированного производного дипептида (XIV). Смесь перемешивали в течение 3 сут и упаривали. Остаток растирали в смеси этилацетат — гексан (1:1) (2×50 мл), перасторившееся вещество отфильтровывали, растворяли в 5 мл DMF и выливали в 50 мл воды. Образовавшийся осадок отфильтровывали и высушивали. Выход тетрапептида (XV) 0,97 г (84%).

HCl-H-Gly-Gly-OBzl (XVIII). К раствору 0,94 г (2,5 ммоль) дипептида (XVII) в 60 мл смеси метанол — диоксан (1:1) добавляли 3 мл 2,1 н. раствора HCl в диоксане и перемешивали в течение 10 мин. Раствор упаривали, к остатку добавляли по 50 мл воды и эфира, встряхивали, отделяли и упаривали водный слой. Остаток кристаллизовали из смеси эфир — петролейный эфир. Выход дипептида (XVIII) 0,57 г (88%).

Voc-Lys(Z)-Lys(Z)-Gly-Gly-OH (XXI). Из 1,00 г (1,58 ммоль) дипептида (II) получали Voc-Lys(Z)-Lys(Z)-OPir (см. синтез соединения (XV)). Активированный эфир (II) растворяли в диоксане и прибавляли к раствору 0,60 г (4,5 ммоль) H-Gly-Gly-OH в смеси 2,25 мл 2 н. NaOH, 5 мл воды и 1 мл N-метилморфолина. Смесь перемешивали в течение 15 ч и далее обрабатывали как при синтезе соединения (II). Выход соединения (XXI) 1,04 г (87%).

HCl-H-Phe-Phe-OMe (XXIV). Раствор 6,78 г (15 ммоль) дипептида (XXIII) в 100 мл 90% водного метанола, содержащего 5 мл 6 н. HCl, восстанавливали водородом в течение 3 ч в присутствии палладиевого катализатора. Катализатор отфильтровывали, фильтрат упаривали и полученный остаток перекристаллизовывали из изопропанола. Выход соединения (XXIV) 2,23 г (41%).

HCl-H-Phe-Phe-ONb (XXVIII). 1,69 г (3 ммоль) дипептида (XXVII) растворяли в 30 мл 2,1 н. раствора HCl в диоксане и выдерживали 2 ч. Диоксан упаривали и остаток кристаллизовали растиранием в эфире. Перекристаллизовывали из этилацетата. Выход дипептида (XXVIII) 1,13 г (78%).

H-Phe-Phe-Phe-Phe-ONb (XXXI). 0,50 г (0,60 ммоль) тетрапептида (XXX) обрабатывали 7 мл 80% водной TFA в течение 1 ч и раствор выливали в избыток 5% раствора NaHCO_3 . Выпавшее масло экстрагировали 50 мл этилацетата, этилацетатный раствор промывали водой и упаривали. Остаток кристаллизовали растиранием в гексане. Выход тетрапептида (XXXI) 0,42 г (94%).

ЛИТЕРАТУРА

1. Schwyzer R., Kappeler H. *Helv. chim. acta*, 1963, v. 46, № 5, p. 1550–1572.
2. Schwyzer R. *Ann. N. Y. Acad. Sci.*, 1977, v. 297, p. 3–26.
3. Chipens G. I., Krikis A. Y., Romanovskis P. J., Nikiforovich G. V., Mutulis F. K., Porunkевич E. A., Klusha V. E. In: *Biophysical and biochemical information transfer in recognition*. N. Y.—London: Plenum Press, 1977, p. 1–22.
4. Порункевич Е. А., Кублиц Г. Г., Скуиньш А. А., Чипенс Г. И. *Биохимия*, 1977, т. 42, № 2, с. 267–272.
5. Romanovskis P. J., Syskov I. V., Liepkaula I. K., Porunkевич E. A., Ratkevich M. P., Skujins A. A., Chipens G. I. In: *Proc. 7th Amer. Pept. Symp., Abstracts*, Wisconsin, Madison: Wisconsin University Press, 1981, p. 65.
6. Riniker B., Rittel W. *Helv. chim. acta*, 1970, v. 53, № 3, p. 513–519.
7. Булабин А. Ю., Власов Г. П. *Ж. общ. химии*, 1973, № 8, с. 1844–1848.
8. Yamashiro D., Li C. H. *J. Amer. Chem. Soc.*, 1973, v. 95, № 4, p. 1310–1315.
9. van Nispen J. W., Tesser G. I. *Int. J. Pept. Prot. Res.*, 1975, v. 7, p. 57–67.
10. Belleau B., Malek G. J. *Amer. Chem. Soc.*, 1968, v. 90, № 6, p. 1651–1652.
11. Сысков И. В., Ашманис А. А., Романовский П. Я., Чипенс Г. И. *Изв. АН ЛатвССР. Сер. хим.*, 1981, № 3, с. 352–359.
12. Kovacs J., Kisfaludy L., Cerpini M. O. *J. Amer. Chem. Soc.*, 1967, v. 89, № 1, p. 183–184.
13. König W., Geiger R. *Chem. Ber.*, 1970, v. 103, № 3, p. 788–798.
14. Fujino M., Patanaka C. *Chem. Pharm. Bull. (Tokyo)*, 1968, v. 16, № 6, p. 929.
15. Zervas J., Borovas D., Gazis E. *J. Amer. Chem. Soc.*, 1963, v. 85, № 21, p. 3660–3666.

16. Poduska K. Collect. Czech. Chem. Commun, 1968, v. 33, № 11, p. 3779-3789.
17. von Arx E., Neher R. J. Chromatogr., 1963, v. 12, № 2, p. 329-337.

Поступила в редакцию
15.II.1983
После доработки
25.V.1983

THE SYNTHESIS OF PROTECTED OCTAPEPTIDES Boc-Lys(Z)-[Lys(Z)]₆-
Lys(Z)-OBzl, Boc-Lys(Z)-Lys(Z)-[Glu(OBzl)]₅-Glu(OBzl)-OBzl,
Boc-Lys(Z)-Lys(Z)-(Gly)₅-Gly-OBzl, Boc-Lys(Z)-Lys(Z)-(Phe)₅-
Phe-ONb — THE INTERMEDIATES IN THE SYNTHESIS OF ANALOGS OF A
HIGHLY ACTIVE ACTH 1-24 FRAGMENT

SYSKOV I. V., ROMANOVSKIS P. J., CHIPENS G. I.

*Experimental Plant of the Institute of Organic Synthesis and
Institute of Organic Synthesis, Academy of Sciences of the
Latvian SSR, Riga*

The title protected peptides have been prepared by conventional methods of peptide-chemistry as intermediates for the synthesis of ACTH 1-24 analogs substituted at the position 17-24.