

СИНТЕЗ СТРУКТУРНЫХ АНАЛОГОВ ТИРОЛИБЕРИНА С ОДНОТОЧЕЧНЫМИ ЗАМЕНАМИ АМИНОКИСЛОТНЫХ ОСТАТКОВ

Институт экспериментальной эндокринологии Эндокринологического научного центра РАМН, Москва

В связи с изучением закономерностей связи между химическим строением и биологической активностью пептидных биорегуляторов секреции пролактина мы осуществили синтез неизвестных ранее структурных аналогов тиролиберина [1 – 3], имеющих строение (I) и (II) и отличающихся от природного гормона одноточечными аминокислотными заменами остатка *L*-гистидина на остатки *L*-аланина и *L*-фенилаланина соответственно.



Синтез соединений (I) и (II) проведен твердофазным методом [4]. В качестве нерастворимого носителя использовали хлорметилированный сополимер стирола с *n*-дивинилбензолом.

При синтезе соединения (I) исходными веществами служили *N*-*трет*-бутилоксикарбонил-*L*-пролин (III), *N*^α-*трет*-бутилоксикарбонил-*L*-аланин (IV) и *n*-нитрофениловый эфир *N*^α-*трет*-бутилоксикарбонил-*L*-глутамина (V).

В качестве конденсирующего агента применяли дидициклогексилкарбодиимид.

При синтезе соединения (II) вместо производного аланина (IV) использовали *N*^α-*трет*-бутилоксикарбонил-*L*-фенилаланин (VI).

Пептиды отделяли от нерастворимого полимерного носителя аминлизом.

Глутаминовые производные циклизовали в соответствующие пироглутаминовые производные нагреванием в воде.

Строение целевых соединений (I) и (II) однозначно определяется изложенной схемой синтеза.

Новые структурные аналоги тиролиберина получены в аналитически чистом состоянии. Степень их чистоты подтверждена результатами элементных и аминокислотных анализов.

Синтез *L*-пироглутамил-*L*-аланил-*L*-пролинамида (I) и *L*-пироглутамил-*L*-фенилаланил-*L*-пролинамида (II) обеспечивает препаративное получение этих соединений в количествах, необходимых для изучения их биологической активности.

Экспериментальная часть

Хроматографию проводили на бумаге марки Filtrak FN-11. Соединения на хроматограммах проявляли бензидином [4]. Применяли следующие системы растворителей: 1-бутанол – уксусная кислота – вода, 4 : 1 : 5 (система 1); 1-бутанол – пиридин – уксусная кислота – вода, 15 : 10 : 3 : 12 (система 2); 2-бута-

нол – муравьиная кислота – вода, 15 : 3 : 2 (система 3); 1-бутанол – уксусная кислота – вода, 4 : 1 : 1 (система 4); хлороформ – метанол, 7 : 3 (система 5).

Измерения оптической активности выполняли на поляриметре типа МА-511-0 фирмы Hilger Watts.

Электрофорез проводили на бумаге Filtrak FN-11 при напряжении на электродах 450 В. В качестве электролита применяли пиридин-ацетатный буферный раствор (рН 6,5). Вещества на электрофореграммах обнаруживали тем же способом, что и на хроматограммах. Величины электрофоретической подвижности (ЭП) соединений вычисляли относительно ЭП *L*-гистидина в тех же условиях.

Для аминокислотного анализа пептиды подвергали кислотному гидролизу в стандартных условиях (5,7 н. HCl, 110 °С, 20 ч). Содержание аминокислот в гидролизатах определяли с помощью автоматического аминокислотного анализатора типа TSM фирмы Technicon.

Результаты элементных анализов новых соединений соответствуют теоретически вычисленным.

Присоединение С-концевой аминокислоты к нерастворимому носителю.

К суспензии 20 г хлорметилированного сферического сополимера стирола с 1 % *n*-дивинилбензола (32 экв С₁) в 150 мл безводного этанола прибавляют 8 г (37 ммоль) *N*-*трет*-бутилоксикарбонил-*L*-пролина (III) и 5 мл (37 ммоль) триэтиламина. Смесь выдерживают 48 ч при температуре кипения этанола, после чего твердую фазу отделяют фильтрованием, промывают этанолом (3 × 150 мл), эфиром (3 × 100 мл) и высушивают в вакууме над фосфорным ангидридом. Нагрузка соединения (III): 0,36 ммоль/г полимера.

Твердофазный синтез пептидов.

Применяли стандартную программу [4], включающую стадии промывки, демаскирования и конденсации с использованием в качестве конденсирующего агента *N,N'*-дидициклогексилкарбодиимида, а в качестве карбоксильных компонентов — указанные выше производные *N*^α-защищенных аминокислот (IV – VI).

Отделение пептидов от полимерного носителя.

Полученные пептидил-полимеры подвергали аминлизу насыщенным раствором аммиака в метаноле (72 ч, 5 °С), применяя 10 мл раствора на 1 г полимера. Твердую фазу отделяли фильтрованием, промывали метанолом, объединенный фильтрат упаривали в вакууме, остаток перекристаллизовывали из смеси метанола с диэтиловым эфиром и полученное вещество высушивали в вакууме над фосфорным ангидридом.

L-Пироглутамил-*L*-аланил-*L*-пролинамид (I).

Синтез проводят, исходя из 25 г *трет*-бутилоксикарбонил-*L*-пролил-полимера (7,2 ммоль пролина).

Получают 1,5 г (80 %) соединения (I). R_f 0,47 (система 1); 0,42 (система 2); 0,36 (система 3). $[\alpha]_D^{20} - 90^\circ$ (с 1,0; $\text{CH}_3\text{CO}_2\text{H}$). ЭП: 0,2. $\text{C}_{13}\text{H}_{24}\text{N}_4\text{O}_4$. Аминокислотный анализ: Glu 1,20; Ala 0,90; Pro 1,00.

L-Пироглутамил-L-фенилаланил-L-пролинамид (II).

Синтез проводят аналогично предыдущему. Получают 1,1 г (75 %) соединения (II). R_f 0,80 (система 3); 0,50 (система 4); 0,65 (система 5). $[\alpha]_D^{20} - 49^\circ$ (с 1,0; $\text{CH}_3\text{CO}_2\text{H}$). ЭП: 0,1. $\text{C}_{19}\text{H}_{24}\text{N}_4\text{O}_4$. Аминокислотный анализ: Glu 1,14; Phe 0,95; Pro 1,00.

Исследование выполнено при финансовой поддержке РФФИ (грант 00-03-32829а).

ЛИТЕРАТУРА

1. R. Burgus, T. F. Dunn, D. Desiderio, et al., *Compt. Rend. Hebd. Seanc. Acad. Sci., Ser. D*, **269**(19), 1870 – 1873 (1969).
2. R. M. G. Nair, J. F. Barrett, C. Y. Bowers, et al., *Biochemistry*, **9**(5), 1103 – 1106 (1970).
3. R. Burgus and R. Guillemin, *Ann. Rev. Biochem.*, **39**, 499 – 526 (1970).
4. Дж. Стюарт, Дж. Янг, *Твердофазный синтез пептидов*, Мир, Москва (1971), сс. 71 – 104.

Поступила 25.06.02.