

УДК 547.466.1; 547.725; 547.156.2

Марет ПАНК, О. КИРРЕТ

СИНТЕЗ N-3-(2-ФУРИЛ)-АКРИЛОИЛПЕПТИДОВ

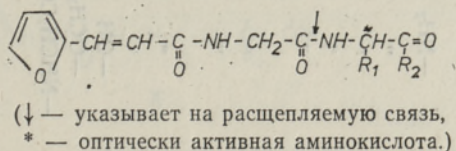
Maret PANK, O. KIRRET. N-3-(2-FURYL)-AKRYLOYLPEPTIDIDE SONTEES

Maret PANK, O. KIRRET. SYNTHESIS OF N-3-(2-FURYL)-ACRYLOYLPEPTIDES

N-3-(2-фурил)-акрилоиловые пептиды представляют интерес в качестве субстратов протеолитических ферментов, прежде всего термолизина и других нейтральных металлоэндопептидаз [1]. Преимущество субстратов этого типа состоит в том, что наличие вблизи расщепляемой пептидной связи остатка 3-(2-фурил)-акриловой кислоты, обладающего характерным ультрафиолетовым спектром, позволяет следить за ходом ферментативной реакции спектрофотометрически.

Целью нашей работы был синтез ряда фурилакрилоиловых пептидов для изучения субстратной специфичности нейтральных металлопротеаз, продуцируемых термофильным актиномицетом *Thermoactinomyces vulgaris*.

Известно, что специфичность металлоэндопептидаз термолизинового типа определяется прежде всего природой аминокислотного остатка, которому принадлежит аминная группа расщепляемой пептидной связи. Поэтому для нас представляло интерес синтезировать ряд пептидов с общей формулой



В этих пептидах первая аминокислота (глицин) была одинаковой для всех членов ряда, а вторая аминокислота менялась.

Таким образом, надо было синтезировать общую для всех пептидов часть N-3-(2-фурил)-акрилоилглицин и найти подходящий метод конденсации со второй половиной молекулы — аминокислотами, их эфирами, амидами или дипептидами.

R ₁	R ₂	Название	Выход, %	R _f **	Т. пл., °C	Элементный состав, %					
						C		H		N	
						Теорет.	Опред.	Теорет.	Опред.	Теорет.	Опред.
CH ₃ —*	—NH ₂	FAGly—L—AlaNH ₂	60	0,66	194—196	54,33	54,07	5,69	5,80	15,83	15,94
CH ₃ —CH ₂ —*	"	FAGly—L—AbuNH ₂	58	0,71	195—196	55,90	55,69	6,12	6,09	15,04	14,80
(CH ₃) ₂ —CH—*	"	FAGly—L—ValNH ₂	58	0,68	169—170	57,32	57,24	6,55	6,70	14,32	14,10
CH ₃ —(CH ₂) ₂ —*	"	FAGly—L—ValNH ₂	42	0,71	172—175	57,32	57,08	6,55	6,75	14,32	14,12
(CH ₃) ₂ —CH—CH ₂ —	"	FAGly—L—LeuNH ₂	41	0,75	174—176 (175—176 ^[6])	58,61	58,37	6,86	7,04	13,67	13,38
CH ₃ —(CH ₂) ₃ —*	"	FAGly—L—NleuNH ₂	40	0,70	178—179	58,61	58,31	6,86	6,93	13,67	13,30
C ₆ H ₅ —CH ₂ —	"	FAGly—L—PheNH ₂	56	0,71	210—213 (211,5—213 ^[6])	63,34	63,46	5,62	5,90	12,30	12,05
C ₆ H ₅ —CH ₂ —*	"	FAGly—D—PheNH ₂	55	0,71	—	63,34	63,08	5,62	5,50	12,30	12,09
OH—C ₆ H ₄ —CH ₂ —*	"	FAGly—L—TyrNH ₂	55	0,66	185—188	60,34	60,08	5,63	5,55	11,72	11,40
(CH ₃) ₂ —CH—CH ₂ —*	—OH	FAGly—L—LeuOH	50	0,67	184—185	59,23	59,02	6,41	6,53	8,91	8,67
C ₆ H ₅ —CH ₂ —*	—OCH ₃	FAGly—L—PheOCH ₃	55	0,86	147—148	64,03	63,80	5,67	5,67	7,86	7,53
(CH ₃) ₂ —CH—CH ₂ —	—NHCH ₂ COOH	FAGly—L—Leu—Gly	60	0,66	180—181 (180—181 ^[3])	55,88	55,84	6,35	6,42	11,50	11,15

* Соединения, синтезированные впервые.

** R_f в системе *n*-бутанол—уксусная кислота—вода—пиридин (15:3:12:10).

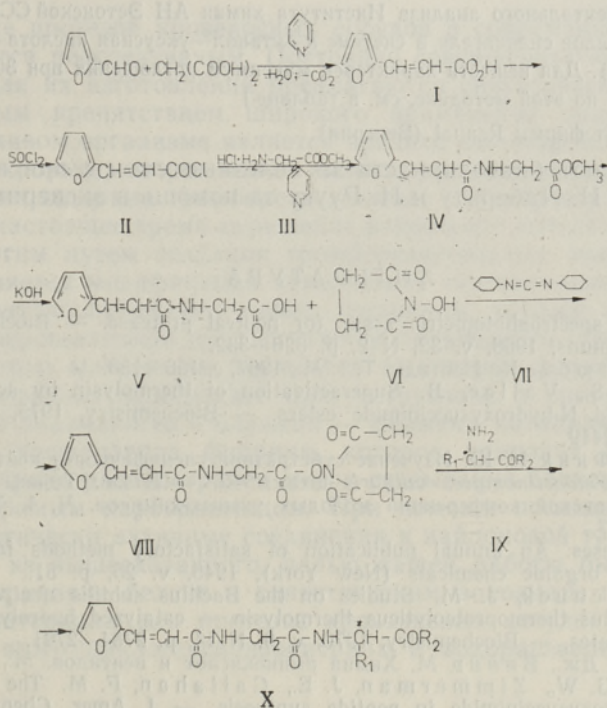
Нами была сделана попытка провести прямую конденсацию двух частей молекулы субстрата при помощи N,N'-дициклогексилкарбодиимида. Однако, несмотря на неоднократное варьирование условий реакции, нами была получена ацилмочевина, которая часто является побочным продуктом при этой реакции [2].

Сравнительно недавно был описан [3] синтез некоторых фурилакрилоловых пептидов методом активированных N-оксисукцинимидных эфиров. Предложенная в [3] методика была с успехом использована и в настоящей работе. N-оксисукцинимидный эфир N-3-(2-фурил)-акрилоил-глицина, полученный при помощи N,N'-дициклогексилкарбодиимида, вводили в реакцию конденсации с соответствующим аминокомпонентом и получали нужный фурилакрилоиловый пептид с выходом 40—60%.

Соединения, полученные по этой методике конденсации, перечислены в таблице.

Предварительное изучение показало, что большинство из синтезированных соединений действительно являются субстратами нейтральной металлопротеазы *Thermoactinomyces vulgaris* штамм 42, причем скорость гидролиза зависит от гидрофобности остатка [4].

Общая схема синтеза следующая:



Экспериментальная часть

3-(2-Фурил)-акриловая кислота (I) была синтезирована из фурфурола и малоновой кислоты по известной методике [5].

Хлорангидрид 3-(2-Фурил)-акриловой кислоты (II) синтезирован при помощи хлористого тионила по методике [6].

Хлоргидраты метиловых эфиров аминокислот (III) синтезированы пропусканием сухого хлористого водорода через суспензию соответствующей аминокислоты в метаноле [7].

Хлоргидраты амидов аминокислот (IX) получены обработкой хлоргидратов эфиров аминокислот насыщенным при 0 °C метанольным раствором аммиака [7]. Если полученные хлоргидраты амидов содержали хлористый аммоний, то их переводили в свободные амиды обработкой насыщенным при -5° раствором аммиака в хлороформе, отделяли хлористый аммоний фильтрованием и отгоняли растворитель на ротормном испарителе.

3-(2-Фурил)-акрилоилглицин (V) получен из хлорангидрида 3-(2-фурил)-акриловой кислоты и хлоргидрата метилового эфира глицина с последующим омылением [6].

N-Гидроксисукцинимид (VI) получен по методике [8] из ангидрида янтарной кислоты и гидрохлорида гидроксилamina.

N,N'-дициклогексилкарбодиимид (VII) препарат фирмы Fluka A. G. (Швейцария).

N-оксисукцинимидный эфир 3-(2-фурил)-акрилоилглицина (VIII) получен при помощи N,N'-дициклогексилкарбодиимида из 3-(2-фурил)-акрилоилглицина и N-гидроксисукцинимид по методике [3].

3-(2-Фурил)-акрилоилловые дипептиды, их эфиры, амиды или трипептиды (X) получены по общей методике [3] из N-оксисукцинимидного эфира 3-(2-фурил)-акрилоилглицина и соответствующего аминок компонента. Продукты реакции очищали переосаждением из этанола эфиром или водой. Выходы 40—60%. Чистоту полученных веществ проверяли элементарным анализом (анализ был проведен на анализаторе фирмы Hewlett—Packard в секторе инструментального анализа Института химии АН Эстонской ССР) и хроматографией в тонком слое силикагеля в системе *n*-бутанол—уксусная кислота—вода—пиридин (15:3:12:10). Для веществ характерен максимум поглощения при 302 нм. (Соединения, полученные по этой методике, см. в таблице.)

L-Leu-Gly препарат фирмы Reanal (Венгрия).

Авторы выражают благодарность за полезные советы при выполнении данной работы Н. Пабериту и И. Руусу за помощь в экспериментальной работе.

ЛИТЕРАТУРА

1. Feder, J. A spectrophotometric assay for neutral protease. — Biochem. Biophys. Res. Commun., 1968, v. 32, N 2, p. 326—332.
2. Шредер Э., Любке К. Пептиды. Т. I. М., 1967, с. 156—158.
3. Blumberg, S., Vallee, B. Superactivation of thermolysin by acrylation with amino acid N-hydroxysuccinimide esters. — Biochemistry, 1975, v. 14, N 11, p. 2410—2419.
4. Паяк М. С., Финк Н. Ю. Изучение субстратной специфичности нейтральной протеазы *Thermoactinomyces vulgaris* штамм 42. — В кн.: Тезисы докладов II Республиканской конференции молодых ученых-химиков. Ч. I. Таллин, 1977, с. 116—117.
5. Organic syntheses. An annual publication of satisfactory methods for the preparation of organic chemicals (New York), 1945, v. 25, p. 51.
6. Feder, J., Schuck, J. M. Studies on the *Bacillus subtilis* neutral-protease — and *Bacillus thermoproteolyticus* thermolysin — catalyzed hydrolysis of dipeptide substrates. — Biochemistry, 1970, v. 9, N 14, p. 2784—2791.
7. Гринштейн Дж., Виниц М. Химия аминокислот и пептидов. М., 1965.
8. Anderson, G. W., Zimmerman, J. E., Callahan, F. M. The use of esters of N-hydroxysuccinimide in peptide synthesis. — J. Amer. Chem. Soc., 1964, v. 86, p. 1839—1842.

Институт химии
Академии наук Эстонской ССР

Поступила в редакцию
6/IV 1979