

УДК 547.466.1; 547.725; 547.156.2

Марет ПАНК, О. КИРРЕТ

СИНТЕЗ N-3-(2-ФУРИЛ)-АКРИЛОИЛПЕПТИДОВ

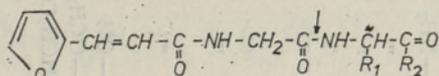
Maret PANK, O. KIRRET. N-3-(2-FURYL)-AKRULOOLPEPTIIDIDE SONTEES

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



(↓ — указывает на расщепляемую связь,
* — оптически активная аминокислота.)

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-NvalNH 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).

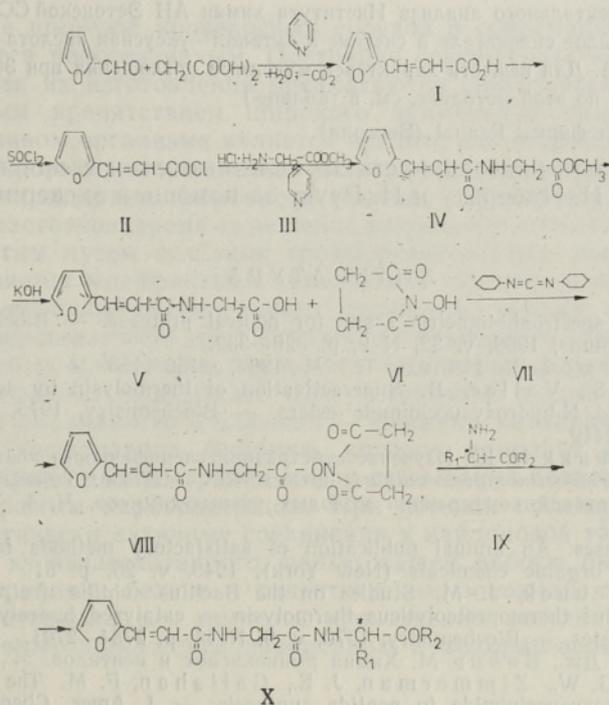
Нами была сделана попытка провести прямую конденсацию двух частей молекулы субстрата при помощи N,N' -дициклогексилкарбодиимида. Однако, несмотря на неоднократное варьирование условий реакции, нами была получена ацилмочевина, которая часто является побочным продуктом при этой реакции [2].

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)-акрилоилглицина, полученный при помощи N,N' -дициклогексилкарбодиимида, вводили в реакцию конденсации с соответствующим аминокомпонентом и получали нужный фурилакрилоловый 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 пропусканьем сухого хлористого водорода через суспензию соответствующей аминокислоты в метаноле [7].

Хлоргидраты амидов аминокислот (IX) получены обработкой хлоргидратов эфиров аминокислот насыщенным при 0 °С 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 роторном 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'-дициклогексилкарбодимид (VII) препарат фирмы Fluka A. G. (Швейцария).

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

3-(2-Фурил)-акрилоловые 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. Панк 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