



УДК 547.962

НОВЫЙ СИНТЕЗ БРАДИКИНИНА И ЕГО АНАЛОГОВ*

*Филатова М. П., Крит Н. А., Сучкова Г. С.,
Равдель Г. А., Иванов В. Т.*

*Институт биоорганической химии им. М. М. Шелыгина
Академии наук СССР, Москва*

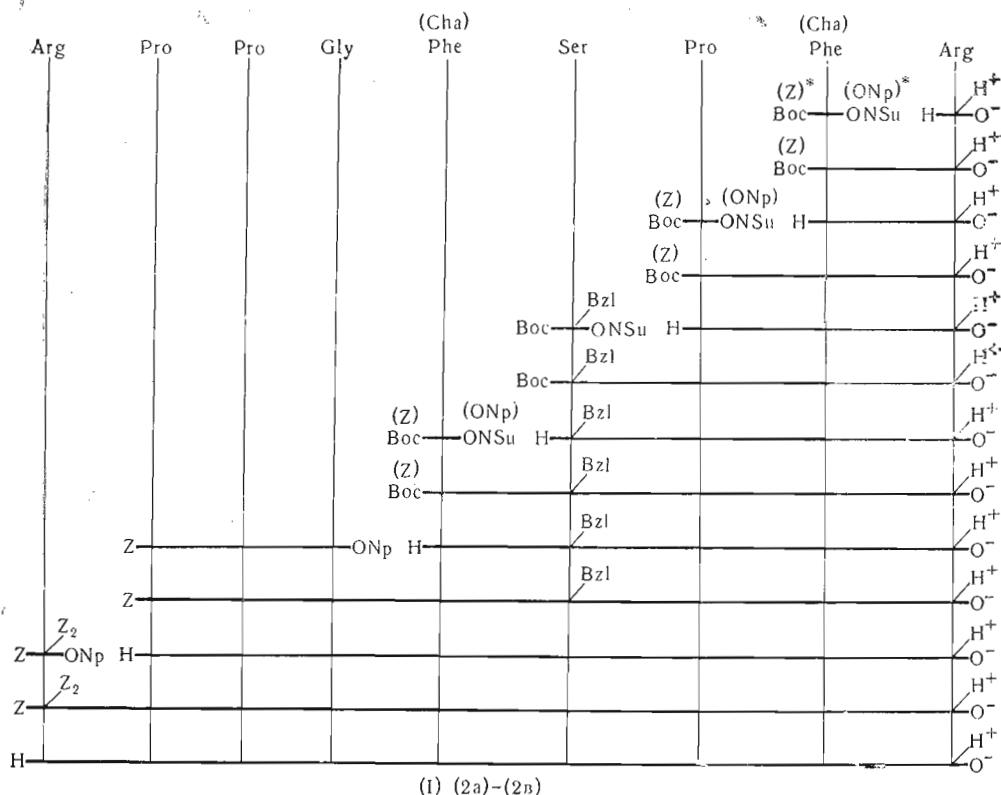
Осуществлен синтез брадикинина и его аналогов — [5- β -циклогексил-*L*-аланин]-брадикинина, [8- β -циклогексил-*L*-аланин]-брадикинина, [5,8- β -циклогексил-*L*-аланин]-брадикинина, [6-глицин, 8-фенилмолочная кислота]-брадикинина и [6-гликолевая кислота]-брадикинина путем последовательного ацилирования свободного аргинина активированными эфирами защищенных аминокислот, пептидов или депсипептидов. Метод отличается простотой выделения промежуточных и конечных продуктов в индивидуальном виде и высокими выходами на каждой стадии. Обнаружена реакция $O \rightarrow N$ ацильного переноса в некоторых депсипептидах; высказано предположение о внутримолекулярном механизме переацилирования. Исследована биологическая активность полученных пептидов и депсипептидов.

Более двадцати лет природный nonapeптид брадикинин (1) является объектом интенсивных и разносторонних исследований биохимиков, физиологов и клиницистов. Все возрастающая потребность в этом препарате объясняет то внимание, которое уделяется поискам эффективного метода синтеза как самого брадикинина, так и его аналогов. В настоящее время описан ряд методов получения брадикинина [1—11], в которых использованы различные приемы классического синтеза пептидов в растворе. Как правило, эти методы дают общий выход брадикинина, не превышающий 2—3%. Исключением составляет метод, предложенный Янгом с соавт. [9], который позволяет получить nonapeптид с выходом 24%, но отличается повышенным расходом ациламино кислот и длительностью синтеза. Значительно более высокий выход (порядка 70—78%) может быть достигнут при использовании твердофазного метода синтеза [12]. Однако получение чистого брадикинина на полимере требует больших избытков реагентов, строгого контроля на каждой стадии и трудоемкой очистки конечного продукта [13—16]. Таким образом, разработка простого и эффективного метода синтеза брадикинина все еще остается актуальной задачей.

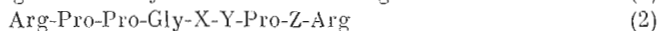
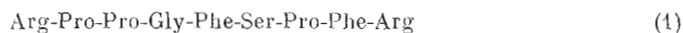
В статье описан синтез брадикинина и ряда его высокоактивных аналогов (2a) — (2d), отличающийся простотой выделения промежуточных

* Принятые сокращения: -ONSu — оксисукцинимидо-, -ONp — *n*-нитрофенокси-, Cha — β -циклогексил-*L*-аланин, Gluc — гликолевая кислота, PhLac — β -фенил-*L*-молочная кислота, DMFA — диметилформамид, ДЦГК — *N,N'*-дициклогексилкарбодимид.

Схема 1



и конечных продуктов, а также высокими выходами на всех стадиях.



- | | |
|-----------------------------|---|
| (2a) X=Cha; Y=Ser; Z=Phe | ([Cha ⁵]-брадикинин) |
| (2б) X=Phe; Y=Ser; Z=Cha | ([Cha ⁸]-брадикинин) |
| (2в) X=Z=Cha; Y=Ser | ([Cha ^{5,8}]-брадикинин) |
| (2г) X=Phe; Y=Glyc; Z=Phe | ([Glyc ⁶]-брадикинин) |
| (2д) X=Phe; Y=Gly; Z=PhLac; | ([Gly ⁶ , PhLac ⁸]-брадикинин) |

Метод основан на использовании незащищенного С-концевого аргинина, ω-аминогруппа и карбоксил которого образуют прочную внутреннюю соль. Такого типа защита впервые применена Фольком и Гладнером [17] при ацилировании оксигруппы аргининовой кислоты бензоилглицином; позднее нами [18], исходя из свободной аргининовой кислоты, была получена бензилоксикарбонил-*L*-фенилаланил-*L*-аргининовая кислота. Возможность применения незащищенного аргинина при синтезе больших пептидов была показана Мартыновым и соавт. [19] на примере синтеза упрощенного аналога брадикинина — [6-глицин]-брадикинина.

Синтез брадикинина осуществлен нами по схеме 1 с общим выходом 64% (без учета выходов при получении трипептида — *n*-нитрофенилового эфира бензилоксикарбонил-*L*-пролил-*L*-пролилглицина [11]). Бензилоксикарбонил- или *трет*-бутилоксикарбонил-аминокислоты или пептиды присоединяли в виде активированных эфиров, взятых с 30%-ным избытком. Бензилоксикарбонильную группу отщепляли действием HBr в ле-

* Аналоги (2а) — (2в), содержащие вместо остатка *L*-фенилаланина остаток β-циклогексил-*L*-аланина, синтезированы с применением *n*-нитрофениловых эфиров бензилоксикарбониламинокислот.

Схема 2

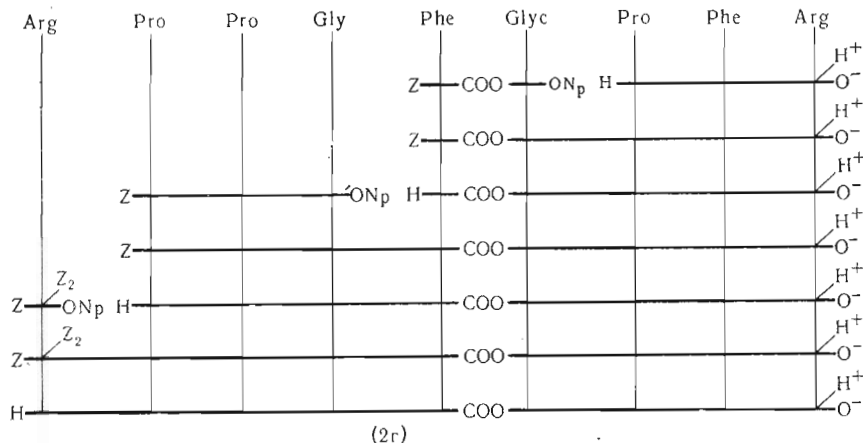
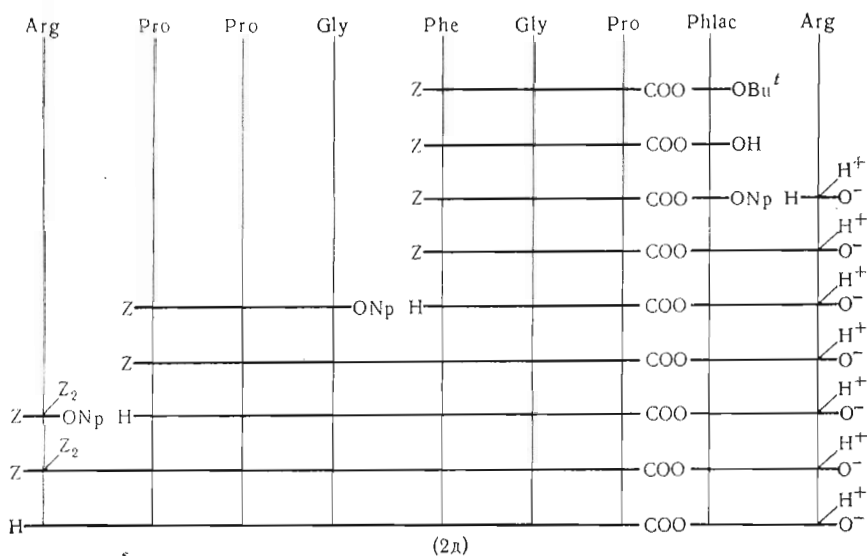


Схема 3



дяной уксусной кислоте или гидрированием над Pd-чернью, а *трет*-бутилоксикарбонильную удаляли обработкой метанольного раствора пептида 2 н. раствором HCl в эфире. Для выделения оснований пептидов из их хлоргидратов или бромгидратов водные или водно-метанольные растворы последних пропускали через колонку с ионообменной смолой IRA-410 в OH⁻-форме. Следует отметить, что при пропускании через колонку хлоргидрата *L*-серил-*L*-пролил-*L*-фенилаланил-*L*-аргинина наблюдали значительное отщепление серина, тогда как использование *o*-бензилсерина позволило получить вполне устойчивый в этих условиях тетрапептид (8) (см. таблицу в «Экспериментальной части»). Отщепление *o*-бензильной группы осуществляли одновременно с деблокированием аминогруппы при каталитическом гидрировании октапептида (11). Хроматографически и электрофоретически индивидуальный триацетат брадикинина, обладающий полной биологической активностью природного гормона, был выделен после гидрирования защищенного нонапептида (13) и очистки полученного продукта переосаждением из метанола эфиром.

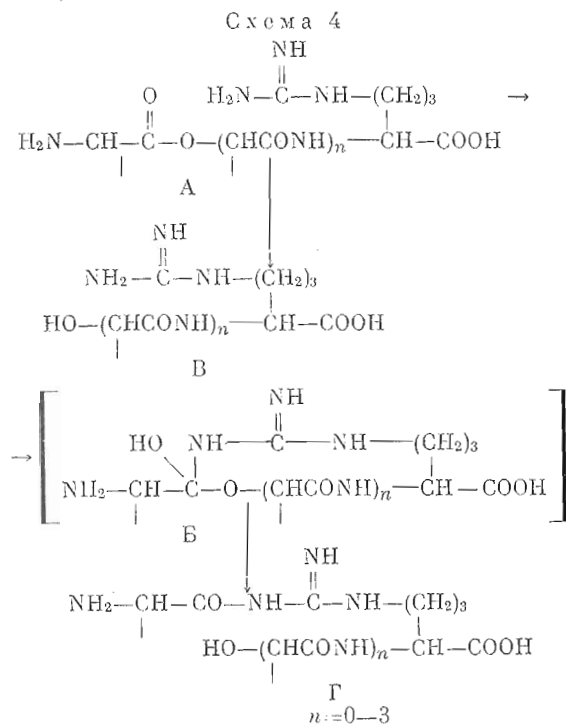
Метод, успешно примененный для синтеза брадикинина, был далее использован нами для получения его пептидных и депептидных ана-

логов (2а) — (2д), необходимых для проведения структурнофункциональных исследований.

Аналоги (2а) — (2в), содержащее остаток β-циклогексил-*L*-аланина вместо остатка *L*-фенилаланина в положениях 5 и (или) 8, синтезированы с высоким выходом (54, 60 и 58% соответственно) аналогично брадикишину; β-циклогексил-*L*-аланин получен гидрированием *L*-фенилаланина над катализатором Брауна [20].

Что касается депсипептидных аналогов (2г) и (2д), то наличие в молекулах этих соединений сложноэфирных групп внесло некоторые осложнения в ход синтеза. В частности, превращение хлоргидратов депсипептидов (36) и (42) в соответствующие основания описанным выше методом сопровождалось значительным гидролизом сложноэфирной связи; это затруднение удалось устранить, применив смолу IRA-410 в HCO₃⁻-форме. Кроме того, было обнаружено, что при гидрировании пентадепсипептида (35) в метаноле или в смеси метанол — уксусная кислота (1 : 1) наряду с депсипептидом нормального строения, дающим положительную реакцию с нингидрином и реактивом Сакагучи, образуется нингидринположительное соединение, не содержащее свободной гуанидинной группировки (отрицательная реакция Сакагучи). Аналогичное явление наблюдалось и при гидрировании тридепсипептида бензилокси-карбонил-*L*-пролил-*L*-фенил-лактил-*L*-аргинина (46), полученного нами в ходе синтеза аналога (2д).

Эти данные позволяют предположить, что в соединениях типа А (схема 4) возможен перенос ацильного остатка с оксигруппы на аминогруппу в результате атаки карбонила сложноэфирной группы ω-аминогруппой остатка аргинина (продукт Г).



O → N миграция ацильного остатка была впервые описана Бергманом [21, 22] для *N*-ацилированных аминоспиртов и им же высказано предположение, что $\text{N} \rightleftharpoons \text{O}$ ацильные переносы носят внутримолекулярный характер и осуществляются с образованием промежуточных циклических соединений. Позднее Иозефсону [23] при изучении изомеризации *O*-ацетилсерина в *N*-ацетилсерин удалось показать, что эта реакция протекает внутримолекулярно.

Нами было проведено гидрирование 1%- и 0,02%-ного растворов защищенного пентадепсипептида (35) и хроматографически установлено, что в пределах исследованных концентраций соотношение пентадепсипептида нормального строения и продукта переацилирования практически не изменяется. Это говорит в пользу внутримолекулярного механизма переацилирования. С другой стороны, устойчивость описанной нами ранее [19] *L*-фенилаланил-*L*-аргининовой кислоты (*A*, *n* = 0) может быть объяснена трудностью образования промежуточного девятичленного цикла [24].

Следует отметить, что *O* → *N* миграция не обнаружена у защищенных три-(46) и пента-(35) депсипептидов, а также у пента-(42) и окта-(38, 44) депсипептидов. Устойчивость этих пептидов объясняется, очевидно, экранированием атакемого карбонила сложноэфирной группы соседними объемистыми группировками.

При гидрировании депсипептидов (35) и (46) в метаноле наряду с предполагаемой миграцией ацильного остатка наблюдался также частичный гидролиз сложноэфирной связи с образованием оксикислотных производных типа *B* (*n* = 1 или 3) и соответствующей аминокислоты. Поскольку количество побочных веществ находится в прямой зависимости от времени пребывания пентадепсипептида (36) в растворе, мы почти полностью избежали нежелательных процессов, используя для деблокирования защищенного пентадепсипептида (35) бромистый водород в ледяной уксусной кислоте и выделяя основание с помощью ионообменной смолы непосредственно перед введением его в конденсацию. Дальнейший синтез аналога (2г) проходил без осложнений.

Для синтеза аналога (2д) мы выбрали схему 3, позволяющую избежать возможности образования побочного продукта типа *Г*. Нопадепсипептиды (2г) и (2д) выделены в виде триацетатов с общим выходом 63 и 52%.

Биологическую активность синтезированных соединений изучали по сжиганию кровяного давления у кошек и крыс и по сокращению рога матки и отрезка тонкой кишки морской свинки. Образцы брадикинина (1) и его аналогов (2г) и (2д) по активности не отличались от описанных ранее синтетических соединений [25, 26]. Что касается аналогов (2а) — (2в), то в отличие от данных Эллиота [27], согласно которым все три аналога по фармакологическому действию почти эквипотенциальны природному гормону, нами найдено, что только [8-β-циклогексил-*L*-аланин]-брадикинин по своей активности близок к брадикинину. Два других аналога существенно менее активны. (Подробно результаты биологического изучения будут изложены в следующей публикации.) Таким образом, вывод авторов [27] о том, что ароматические свойства боковых цепей фенилаланина не играют значительной роли в связывании или действии брадикинина, требует уточнения, поскольку, по нашим данным, остатки фенилаланина в молекуле брадикинина неравноценны.

Следует добавить, что ни в одном из опытов [8-β-циклогексил-*L*-аланин]-брадикинин не превосходил по активности брадикинин, тогда как, по данным Шенха и соавт. [28], этот аналог на 190—260% активнее брадикинина. Такое расхождение в результатах, возможно, связано с различием в объектах и методах биологических испытаний, подробности которых авторами [28] не обсуждаются.

Экспериментальная часть

Температуры плавления определяли на нагревательном столике «Bötius» ГДР и приведены без исправления. Индивидуальность полученных соединений проверяли ТСХ на «Silufol» в системах *n*-бутанол — аммиак, 7 : 3 (верхний слой) и *n*-бутанол — вода — уксусная кислота (4 : 1 : 1), а также электрофорезом на бумаге в вертикальном приборе при 900 В (градиент 28 В·см⁻¹) в 1 М ацетатном буфере (рН 2,4). Электрофоре-

Соединение	Брутто-формула	Т. пл., °С	$[\alpha]_D^{20}$	Выход, %
(1) Брадикинин*	$C_{50}H_{78}N_{15}O_{11}$	150—160	-82,8 (с 1, 1, вода)	97
(2a) [Cha ⁵]-брадикинин*	$C_{50}H_{78}N_{15}O_{11}$	170—185	-40,0 (с 1, ДМФА)	92
(2б) [Cha ⁵]-брадикинин*	$C_{50}H_{78}N_{15}O_{11}$	170—180	-89,5 (с 1, вода)	96
(2в) [Cha ⁵]-брадикинин*	$C_{50}H_{78}N_{15}O_{11}$	183—194	-44,7 (с 1, ДМФА)	98
(2г) [Cha ⁵]-брадикинин*	$C_{50}H_{78}N_{15}O_{11}$	205—207,5	-79,7 (с 0,5, вода)	97
(2д) [Gly ⁶]-брадикинин*	$C_{49}H_{70}N_{14}O_{11}$	179—182	-70,1 (с 1, ДМФА)	96
(2e) [Gly ⁶ , PhLac ⁷]-брадикинин*	$C_{49}H_{70}N_{14}O_{11}$	131—139	-85,1 (с 0,5, вода)	97
(3) Boc-Phe-Arg	$C_{30}H_{31}N_5O_5$	138—155	-68,0 (с 1, ДМФА)	96
(4) Phe-Arg	$C_{15}H_{23}N_5O_3$	152—157	-73,0 (с 0,5, вода)	~100
(5) Boc-Pro-Phe-Arg	$C_{25}H_{38}N_6O_6$	151—157	-31,7 (с 1, 1M CH ₂ COOH)	98
(6) Pro-Phe-Arg	$C_{20}H_{30}N_6O_4$	131—137	-33,3 (с 1, ДМФА)	96
(7) Boc-Ser(Bzl)-Pro-Phe-Arg	$C_{35}H_{49}N_7O_8$	132—139	-15,0 (с 1, ДМФА)	95
(8) Ser(Bzl)-Pro-Phe-Arg	$C_{30}H_{41}N_7O_6$	126—134	-38,6 (с 1, ДМФА)	97
(9) Boc-Phe-Ser(Bzl)-Pro-Phe-Arg	$C_{44}H_{58}N_8O_9$	128—137	-29,5 (с 1, ДМФА)	96
(10) Phe-Ser(Bzl)-Pro-Phe-Arg	$C_{30}H_{30}N_6O_7$	145—154	-28,3 (с 1, ДМФА)	94
(11) Z-Pro-Pro-Gly-Phe-Ser(Bzl)-Pro-Phe-Arg	$C_{59}H_{78}N_{11}O_{12}$	172—178	-47,0 (с 1, ДМФА)	94
(12) Pro-Pro-Gly-Phe-Ser-Pro-Phe-Arg	$C_{44}H_{61}N_{11}O_{10}$	148—155	-58,5 (с 1, ДМФА)	96
(13) 3Z-Arg-Pro-Pro-Gly-Phe-Ser-Pro-Phe-Arg	$C_{71}H_{91}N_{15}O_{17}$	135—139	-59,5 (с 1, ДМФА)	98
(14) Z-Cha-Ser(Bzl)-Pro-Phe-Arg	$C_{47}H_{62}N_8O_9$	145—148	-53,3 (с 1, ДМФА)	96
(15) Cha-Ser-Pro-Phe-Arg	$C_{32}H_{50}N_8O_7$	153—158	-36,8 (с 1, ДМФА)	90
(16) Z-Pro-Pro-Gly-Cha-Ser-Pro-Phe-Arg	$C_{52}H_{78}N_{11}O_{12}$	165—172	-16,8 (с 1, ДМФА)	98
(17) Pro-Pro-Gly-Cha-Ser-Pro-Phe-Arg	$C_{44}H_{67}N_{11}O_{10}$	107—112	-68,0 (с 1, ДМФА)	88
(18) 3Z-Arg-Pro-Pro-Gly-Cha-Ser-Pro-Phe-Arg	$C_{71}H_{97}N_{15}O_{17}$	136—146	-44,9 (с 1, ДМФА)	93
(19) Z-Cha-Arg	$C_{23}H_{35}N_5O_5$	152—160	-58,5 (с 1, ДМФА)	98
(20) Cha-Arg	$C_{15}H_{29}N_5O_3$	143—152	-3,3 (с 1, этанол)	99
(21) Z-Pro-Cha-Arg	$C_{33}H_{42}N_6O_6$		-5,1 (с 1, этанол)	97
			-21,9 (с 1, этанол)	98

* Трипепта.

Соединение	Брутто-формула	Т. пл., °С	$[\alpha]_D^{20}$	Выход, %
(22) Pro-Cha-Arg	$C_{20}H_{36}N_6O_4$	141—152	-5,6 (с 1, этанол)	90
(23) Boc-Ser(Bzl)-Pro-Cha-Arg	$C_{33}H_{53}N_7O_8$	132—139	-26,2 (с 1, этанол)	98
(24) Ser(Bzl)-Pro-Cha-Arg	$C_{30}H_{47}N_7O_6$	120—132	-22,3 (с 1, этанол)	90
(25) Z-Phe-Ser(Bzl)-Pro-Cha-Arg	$C_{47}H_{62}N_8O_9$	127—133	-35,2 (с 1, ДМФА)	98
(26) Phe-Ser-Pro-Cha-Arg	$C_{33}H_{50}N_8O_7$	138—146	-33,4 (с 1, ДМФА)	96
(27) Z-Pro-Pro-Gly-Phe-Ser-Pro-Cha-Arg	$C_{65}H_{73}N_{11}O_{12}$	127—138	-57,9 (с 1, ДМФА)	98
(28) Pro-Pro-Gly-Phe-Ser-Pro-Cha-Arg	$C_{44}H_{67}N_{11}O_{10}$	144—152	-52,5 (с 1, ДМФА)	95
(29) 3Z-Arg-Pro-Pro-Gly-Phe-Ser-Pro-Cha-Arg	$C_{74}H_{97}N_{15}O_{17}$	135—146	-46,3 (с 1, ДМФА)	98
(30) Z-Cha-Ser(Bzl)-Pro-Cha-Arg	$C_{47}H_{68}N_8O_9$	126—136	-40,4 (с 1, ДМФА)	94
(31) Cha-Ser-Pro-Cha-Arg	$C_{33}H_{56}N_8O_7$	148—158	-38,1 (с 1, ДМФА)	98
(32) Z-Pro-Pro-Gly-Cha-Ser-Pro-Cha-Arg	$C_{52}H_{79}N_{11}O_{12}$	135—144	-58,5 (с 1, ДМФА)	98
(33) Pro-Pro-Gly-Cha-Ser-Pro-Cha-Arg	$C_{44}H_{73}N_{11}O_{10}$	147—154	-54,3 (с 1, ДМФА)	99
(34) 3Z-Arg-Pro-Pro-Gly-Cha-Ser-Pro-Cha-Arg	$C_{74}H_{103}N_{15}O_{17}$	121—130	-54,3 (с 1, ДМФА)	89
(35) Z-Phe-Glyc-Pro-Phe-Arg	$C_{30}H_{47}N_7O_9$	137—146	-53,3 (с 2, ДМФА)	93
(36) Phe-Glyc-Pro-Phe-Arg	$C_{31}H_{41}N_7O_7$	141—153	-65,3 (с 2, ДМФА)	97
(37) Z-Pro-Pro-Gly-Phe-Clyc-Pro-Phe-Arg	$C_{51}H_{64}N_{10}O_{12}$	141—153	-65,3 (с 2, ДМФА)	92
(38) Pro-Pro-Gly-Phe-Glyc-Pro-Phe-Arg	$C_{43}H_{58}N_{10}O_{10}$	124—137	-61,2 (с 1, вода)	95
(39) 3Z-Arg-Pro-Pro-Gly-Phe-Glyc-Pro-Phe-Arg	$C_{73}H_{88}N_{14}O_{17}$	146—152	-48,4 (с 2, ДМФА)	92
(40) Z-Phe-Gly-Pro-PhLac-ONP	$C_{39}H_{53}N_4O_{10}$	108—115	-37,6 (с 1, ДМФА)	80
(41) Z Phe-Gly-Pro-PhLac-Arg	$C_{39}H_{47}N_7O_9$	128—133	-51,0 (с 1, ДМФА)	83
(42) Phe-Cly-Pro-PhLac-Arg	$C_{31}H_{41}N_7O_7$	133—140	-52,0 (с 1, ДМФА)	97
(43) Z-Pro-Pro-Gly-Phe-Gly-Pro-PhLac-Arg	$C_{51}H_{64}N_{10}O_{12}$	142—156	-54,8 (с 1, ДМФА)	96
(44) Pro-Pro-Gly-Phe-Gly-Pro-PhLac-Arg	$C_{43}H_{58}N_{10}O_{10}$	129—137	-44,9 (с 1, ДМФА)	93
(45) 3Z-Arg-Pro-Pro-Gly-Phe-Gly-Pro-PhLac-Arg	$C_{73}H_{88}N_{14}O_{17}$	143—148	-48,0 (с 1, ДМФА)	95
(46) Z Pro-PhLac-Arg	$C_{23}H_{35}N_3O_7$	121—132	-20,2 (с 1, ДМФА)	96

граммы проявляли нингидрином, реактивом Сакагучи и хлор-йодом, пла-
стинки — йодом, хлор-йодом, нингидрином. Данные элементного анали-
за соединений, приведенных в таблице, соответствовали вычисленным
значениям содержания С, Н, N.

Растворы веществ в органических растворителях высушивали над
MgSO₄ и упаривали в вакууме при температуре не выше 40°. Выходы и
константы полученных соединений приведены в таблице.

трет-Бутилоксикарбонил-L-фенилаланил-L-аргинин (3). К раствору
0,35 г L-аргинина в 1,5 мл воды добавляли раствор 0,84 г N-оксисук-
цинимидного эфира Вос-L-фенилаланина в 2,5 мл диоксана; реакцию
смесь выдерживали 2 ч, упаривали досуха, растворяли в 3 мл ДМФА и
оставляли на 18 ч при комнатной температуре. К реакционному раствору
приливали 50 мл этилацетата, выпавший осадок отфильтровывали, про-
мывали этилацетатом, смесью этилацетат — эфир (1 : 1) и затем эфиром.
Получали 0,75 г дипептида (3).

L-Фенилаланил-L-аргинин (4). К раствору 0,72 г защищенного ди-
пептида (3) в 5 мл метанола приливали 4 мл 2,8 н. HCl в эфире; реакцион-
ную смесь оставляли на 40 мин при 20°, упаривали досуха, затем 3 раза
упаривали с абс. бензолом. Остаток растворяли в 10 мл воды и пропускали
через колонку с 10 мл ионообменной смолы IRA-410 в OH⁻ форме. Раствор
фильтровали, растворитель отгоняли в вакууме и полученный дипептид
переосаждали из 2 мл метанола избытком абс. эфира. Получали 0,5 г
соединения (4) в виде белого порошка.

β-Циклогексил-L-аланин. К раствору 2 г L-фенилаланина в 30 мл 2 н.
HCl приливали раствор 0,5 г платинохлористоводородной кислоты в 5 мл
воды, прибавляли порциями 0,1 г NaBH₄ и гидрировали 60 ч. По оконча-
нии гидрирования реакционную смесь нагревали с 15 мл воды до растворе-
ния осадка, отфильтровывали катализатор и фильтр упаривали до на-
чала кристаллизации. Выдерживали сутки при 0° и отфильтровывали
0,98 г (47%) хлоргидрата β-циклогексил-L-аланина. После упаривания
маточника получали еще 0,8 г (38%) хлоргидрата β-циклогексил-L-ала-
нина, т. пл. 234°, [α]_D²⁰ + 41,2° (с 3,1 н. HCl) (ср. [29]).

n-Нитрофениловый эфир бензилоксикарбонил-β-циклогексил-L-аланина.
Получен конденсацией бензилоксикарбонил-β-циклогексил-L-аланина
[28] с n-нитрофенолом карбодимидным методом. Выход 80%, т. пл.
109—111° (из этанола), [α]_D²⁰ — 28,1° (с 1, этанол). Найдено, %: С 64,52;
Н 6,02; N 6,62. C₂₃H₂₆N₂O₆. Вычислено, %: С 64,78; Н 6,14; N 6,57.

Бензилоксикарбонил-β-циклогексил-L-аланил-L-аргинин (18). К рас-
твору 0,52 г L-аргинина в 2 мл воды добавляли раствор 1,5 г n-нитрофени-
лового эфира бензилоксикарбонил-β-циклогексил-L-аланина в 5 мл диок-
сана; реакционную смесь выдерживали 2 ч, упаривали досуха, растворя-
ли в 2 мл ДМФА и оставляли на 20 ч при комнатной температуре. К ре-
акционному раствору приливали 60 мл этилацетата, выдерживали не-
сколько часов при 0° и отфильтровывали выпавший осадок. Получали 1,19 г
дипептида (18).

β-Циклогексил-L-аланил-L-аргинин (19). К раствору 1 г защищенного
дипептида (18) в 3 мл ледяной уксусной кислоты приливали 6 мл 34%-ного
раствора HBr в ледяной уксусной кислоте, и реакционную смесь остав-
ляли на 45 мин при 20°; упаривали в вакууме, к остатку приливали
50 мл абс. эфира и отфильтровывали 1,2 г бромгидрата дипептида (19).
Полученный бромгидрат растворяли в 10 мл смеси метанол — вода (1 : 1)
и пропускали через колонку с 16 мл ионообменной смолы IRA-410 в OH⁻
форме. Растворитель отгоняли в вакууме, и полученный дипептид пере-
осаждали из 2 мл метанола избытком абс. эфира. Получали 0,72 г соеди-
нения (19).

трет-Бутилоксикарбонил-L-пролил-L-фенилаланил-L-аргинин (5). Смесь
0,48 г L-фенилаланил-L-аргинина и 0,6 г N-оксисукцинимидного эфира
трет-бутилоксикарбонил-L-пролина растворяли в 1,5 мл ДМФА и ос-

тавлили на 20 ч при 30°, затем приливали 50 мл этилацетата, выпавший осадок отфильтровывали и промывали этилацетатом, смесью этилацетат—эфир (1 : 1) и эфиром. Получали 0,7 г защищенного трипептида (5) в виде белого порошка.

Свободные пептиды (6), (8) *, (10) * и (24) * получали аналогично соединению (4), а пептид (22) — аналогично соединению (20).

N-Защищенные пептиды (7), (9), (11), (13), (14), (16), (18), (21), (23), (25), (27), (29), (30), (32), (34), (35), (37), (39), (41), (43) и (45) получали аналогично соединению (5).

L-Пролил-L-пролилглицил-L-фенилаланил-L-серил-L-пролил-L-фенилаланил-L-аргинин (12). 0,8 г защищенного октапептида (11), растворенного в 5 мл метанола, гидрировали над Pd-чернью в течение 18 ч; катализатор отфильтровывали, остаток переосаждали из 1 мл метанола 20 мл абс. эфира. Получили 0,7 г свободного октапептида в виде белого аморфного порошка.

Свободные пептиды (15), (17), (26), (28), (31) и (33) получали аналогично соединению (12).

L-Аргинил-L-пролил-L-пролилглицил-L-фенилаланил-L-серил-L-пролил-L-фенилаланил-L-аргинин (1). Раствор 0,3 г защищенного нонапептида (13) в 5 мл смеси метанол—уксусная кислота (1 : 1) гидрировали над Pd-чернью в течение 32 ч. Катализатор отфильтровывали, промывали смесью метанол—уксусная кислота (1 : 1), раствор упаривали, твердый остаток переосаждали из 1 мл метанола 20 мл абс. эфира. Получали 0,25 г триацетата тригидрата брадикинина (1). Аналогично получали соединения (2а) — (2в).

L-Фенилаланилгликолил-L-пролил-L-фенилаланил-L-аргинин (36). К раствору 0,5 г пентадекапептида (35) в 4 мл ледяной уксусной кислоты добавляли 6 мл 34%-ного раствора НВг в ледяной уксусной кислоте; через 40 мин реакционную смесь упаривали, и полученное масло растирали с эфиром до порошкообразного состояния. Получали 0,62 г бромгидрата пентадекапептида (36), который растворяли в 5 мл воды, быстро пропускали через колонку с 4 мл IRA-410 в HCO_3^- -форме. Раствор упаривали, остаток переосаждали из 1 мл метанола избытком эфира и получали 0,4 г пентадекапептида (36), который сразу вводили в дальнейший синтез. Аналогично получены соединения (38), (42) и (44). Эти соединения получают также каталитическим гидрированием соответствующих бензилоксикарбонилпроизводных аналогично пептиду (12).

n-Нитрофениловый эфир бензилоксикарбонил-L-фенилаланилглицил-L-пролил-L-фенилмолочной кислоты (40). 2,73 г бензилоксикарбонил-L-фенилаланилглицил-L-пролил-L-фенилмолочной кислоты [26] и 0,64 г *n*-нитрофенола растворяли в 9 мл этилацетата, при 0° прибавляли раствор 0,94 г ДЦГЖ в 1 мл этилацетата и оставляли при 4° на 12 ч. Дидиклогексилмочевину отфильтровывали, раствор упаривали, и остаток кристаллизовали из 4 мл смеси этанол—эфир (1 : 1). Получали 2,3 г защищенного тетрадекапептида (40). Бензилоксикарбонил-L-фенилаланилглицил-L-пролил-L-фениллактил-L-аргинин (41) получали аналогично соединению (3).

Бензилоксикарбонил-L-пролил-L-фениллактил-L-аргинин (46) получали исходя из *n*-нитрофенилового эфира бензилоксикарбонил-L-пролил-L-фенилмолочной кислоты и *L*-аргина аналогично дипептиду (3).

ЛИТЕРАТУРА

1. Boissonnas R. A., Guttman S., Jaquenoud P. A., Konzelt H., Sturmer E. (1960) *Experientia*, 16, 326.
2. Boissonnas R. A., Guttman S., Jaquenoud P. A. (1960) *Helv. chim. acta*, 43, 1349—1358.
3. Nicolaides E. D., De Wald H. A. (1961) *J. Org. Chem.*, 26, 3872—3876.

* Вследствие низкой растворимости оснований в воде их хлоргидраты пропускали через колонку с ионообменной смолой в водно-метанольном растворе (1 : 1).

4. Guttman S. T., Pless J., Boissonnas R. A. (1962) *Hely. chim. acta*, **45**, 170—177.
5. Siemion J. (1964) *Roczn. Chem.*, **38**, 133—134.
6. Sakakibara S., Nakamizo N., Kishido Y., Yoshimura S. (1968) *Bull. Chem. Soc. Jap.*, **41**, 1477—1479.
7. Suzuki K., Aliko T., Asaka M. (1966) *Chem. Pharm. Bull.*, **14**, 217—225.
8. Mazur R. H., Plume G. (1968) *Experientia*, **24**, 7, 661.
9. Schafer D. J., Young G. T., Elliot D. F., Wade R. (1971) *J. Chem. Soc. (C)*, 46—49.
10. Fujino M., Shinagawa S. (1972) *Chem. Pharm. Bull.*, **20**, 1021—1025.
11. Щукина Л. А., Равдель Г. А., Филатова М. П., Семкин Е. П., Краснова С. Н. (1966) *Химия природн. соедин.*, 124—130.
12. Najjar V. A., Merrifield R. B. (1966) *Biochemistry*, **5**, 3765—3770.
13. Lauren D. R., Williams R. E. (1972) *Tetr. Lett.*, 2665—2668.
14. Brumfeldt K., Christensen T. (1972) *FEBS Lett.*, **19**, 345—348.
15. Beyerman H. C., de Leer E. W. B., van Wossen W. (1972) *J. Chem. Soc., Chem. Comm.*, No. 16, 929—930.
16. Losse G., Ulbrich R. (1971) *Z. Chem.*, **11**, 346—347.
17. Folk J. E., Gladner J. A. (1959) *Biochim. et biophys. acta*, **33**, 570—572.
18. Филатова М. П. (1968) Десипептидные аналоги брадикинина, канд. дисс., М.
19. Вировец С. И., Мартынов В. Ф., Титов М. И. (1968) *Ж. общ. химии*, **38**, 2337.
20. Brown H. C., Brown C. A. (1962) *J. Amer. Chem. Soc.*, **84**, 2829—2830.
21. Bergmann M., Brand E., Dreyer F. (1921) *Ber.*, **54**, 936—947.
22. Bergmann M., Mickleley F. (1925) *Z. Physiol. Chem.*, **146**, 247—255.
23. Josefson L. (1963) *Biochim. et biophys. acta*, **74**, 774—775.
24. Edward I. T. (1955) *Research*, **8**, S 38—40.
25. Щукина Л. А., Равдель Г. А., Филатова М. П. (1966) *Химия природн. соедин.*, 265—271.
26. Ravdel G. A., Filatova M. P., Shchukina L. A., Pashkina T. S., Surovikina M. S., Trapeznikova S. S., Egorova T. P. (1967) *J. Med. Chem.*, **10**, 242—246.
27. Elliott D. F., Moritz R., Wade R., (1972) *J. Chem. Soc. Perkin Transactions, I*, 1862—1866.
28. Schench F., Oberdorf A., Schmidt-Kastner J. (1969) *Ger. Pat.*, 1.298.997.
29. Sela M., Arnen R. (1960) *J. Amer. Chem. Soc.*, **82**, 2625—2628.

Поступило в редакцию
16.X.1974

A NEW SYNTHESIS OF BRADYKININ AND ITS ANALOGS

FILATOVA M. P., KRIT N. A., SUCHKOVA G. S.,
RAVDEL G. A., IVANOV V. T.

*M. M. Shemyakin Institute of Bioorganic Chemistry,
Academy of Sciences of the USSR, Moscow*

A new synthetic route was worked out for bradykinin and its analogs-[5- β -cyclohexyl-*L*-alanine]-bradykinin, [8- β -cyclohexyl-*L*-alanine]-bradykinin, [5,8- β -cyclohexyl-*L*-alanine]-bradykinin, [6-glycolic acid]-bradykinin, [6-glycine, 8-phenyllactic acid]-bradykinin-via stepwise acylation of free arginine with activated esters of appropriate protected amino acids, peptides and desipeptides. The isolation of intermediate and end products is quite simple and the yields at every stage are sufficiently high. An O \rightarrow N acyl migration was found in several cases and a mechanism for intramolecular transacylation proposed. The prepared peptides were assayed for biological activity.