



УДК 547.964.4.057 : 577.175.829'17.017

СИНТЕЗ И БИОЛОГИЧЕСКАЯ АКТИВНОСТЬ ЦИКЛИЧЕСКИХ
И ЛИНЕЙНЫХ АНАЛОГОВ С-КОНЦЕВЫХ ФРАГМЕНТОВ
НЕЙРОТЕНЗИНА

*Гринштейне И. В., Мисня И. П., Вегнер Р. Э.,
Восекална И. А., Гайлите Э. А., Григорьева В. Д.,
Чипенс Г. И.*

Институт органического синтеза Академии наук ЛатвССР, Рига

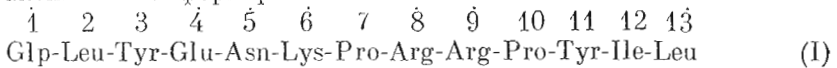
Твердофазным методом синтезированы новые циклические и линейные аналоги С-концевых фрагментов нейротензина и исследована их вазодепрессорная и миотропная активность. Циклические структуры фиксированы пептидной связью между ε-аминогруппой N-концевого лизина и С-концевой карбоксильной группой. Циклизация осуществлена с использованием пентафторфениловых эфиров или дифенилфосфорилзида. Показано, что [Phe⁵]cyclo(13→6*)NT-(5-13) обладает высокой депрессорной активностью и некоторой избирательностью действия на вазальную гладкую мускулатуру. Анализ кривых спектров КД водных растворов линейных и циклических пента- и октапептидных аналогов нейротензина показывает, что в водном растворе линейный пентапептид имеет свернутую, а фрагмент нейротензина NT-(6-13) — неупорядоченную структуру. Циклизация этого фрагмента приводит к резкому ограничению его конформационной подвижности с образованием относительно жесткой структуры.

Селективность лиганд-рецепторного взаимодействия определяется комплементарностью стереоспецифических структур активных участков лиганда и рецепторной системы. Согласно модели лиганд-рецепторного взаимодействия [1], биологически активные конформации линейных пептидов, часто являющиеся квазициклическими, фиксируются ионными и/или водородными связями при переходе молекулы из водного окружения к менее полярной среде в биофазе рецептора или при непосредственном взаимодействии молекул лиганда и рецептора, когда дегидратируются контактные поверхности. В формировании квазициклических структур во многих случаях участвуют так называемые общие фрагменты, характерными структурными элементами которых являются основная аминокислота и расположенный рядом остаток пролина или валина, образующие ядро общего фрагмента [1]. Первые данные, подтверждающие возможность образования таких квазициклических структур для пептидов, были получены при исследовании брадикинина [2], циклические аналоги которого обладают высокой биологической активностью [1]. Фиксация пространственной структуры достигалась синтезом циклопептидов, в которых боковые цепи или концы молекулы соединены ковалентной связью.

Аналогичный подход мы использовали для изучения аналогов еще одного вазоактивного пептида — нейротензина. Этот тридекапептид, впервые выделенный из гипоталамуса быка в 1973 г. Каравей и Лиманой [3], обладает широким спектром биологического действия и участвует в регуляции функциональной активности центральной нервной, кишечно-желудочной, сердечно-сосудистой и других систем [4-7]. Аминокислотная последовательность нейротензина (I) содержит ядра общих фрагментов (подчеркнуты) и другие центры квазициклизации (отмечены точками), которые могут участвовать в фиксации пространственных структур био-

Принятые сокращения: NT — нейротензин, DMF — диметилформамид, Pfr — пентафторфенил, DCC — N,N'-дихлорогексилкарбодимид, ВЭЖХ — высокоэффективная жидкостная хроматография, аббревиатурное обозначение аналога приведено в соответствии с рекомендациями номенклатурного комитета IUPAC — IUB (Eur. J. Biochem., 1984, v. 138, p. 9-37).

логически активных конформеров

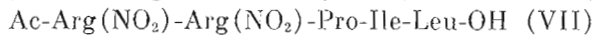
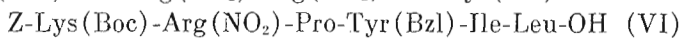
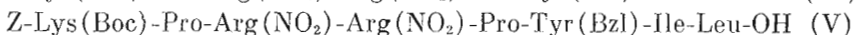
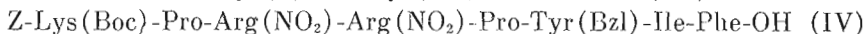
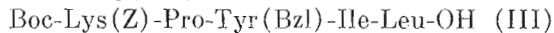
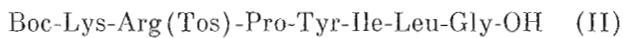


Для исследования возможности образования биологически активных квазициклических структур и дальнейшего изучения структурно-функциональной организации молекулы нейротензина нами предпринят целенаправленный синтез его циклических и линейных аналогов.

Известно, что для проявления биологической активности нейротензина наиболее важна С-концевая часть молекулы [8—11]. Поэтому в качестве модельных соединений мы выбрали С-концевые пента-, гекса- и октапептидные фрагменты и синтезировали их циклические (соединения X, XIII, XVI, XXVIII) и линейные (соединения VIII, XIV, XVIII, XXX) аналоги. Цикл замыкали через ε-аминогруппу лизина и С-концевую карбоксильную группу, для чего в пента- и гексапептидах N-концевой остаток аргинина заменили на лизин.

Чтобы исследовать структурно-функциональные отношения при модификации С-концевых участков фрагментов нейротензина и оценить влияние размеров цикла, мы синтезировали также линейные и циклические аналоги фрагментов, содержащие остатки глицина, фенилаланина и аспарагиновой кислоты (соединения VIII, X, XXI, XXII, XXVIII, XXXIV) (табл. 1).

Исходными соединениями для синтеза С-концевых фрагментов нейротензина и их аналогов служили защищенные пептиды (II) — (VII), которые синтезировали твердофазным методом на автоматическом пептидном синтезаторе Beckman 990 В на хлорметилированном полимерном носителе методом симметричных ангидридов [12] с использованием Вос-аминокислот (см. табл. 2).



Для блокирования функциональных групп боковых цепей аминокислотных остатков применяли бензильную защитную группу для тирозина, тозильную или нитрогруппу для аргинина, N-бензилоксикарбонильную или Вос-группу для лизина. Вос-группу отщепляли обработкой 50% раствором трифторуксусной кислоты (TFA) в хлористом метиле. Для сохранения защитных групп боковых цепей пептиды, подверженные циклизации, отщепляли от полимерного носителя щелочным омылением [13] или каталитическим гидрогенолизом [14]. При синтезе линейного аналога (VIII) отщепление от полимера и снятие защитных групп осуществляли одновременно обработкой пептидил-полимера безводным фтористым водородом [15].

Циклизацию линейных пептидов после отщепления от полимера проводили в растворе методом пентафторфениловых эфиров [16] или с помощью дифенилфосфорилазида [17]. Промежуточные продукты после отщепления от полимера, а также после циклизации очищали распределительной хроматографией на силикагеле.

При синтезе Z-Arg(Z)₂-Lys-Pro-Tyr-Ile-Leu- (XV) Z-Arg(Z)₂ присоединяли к циклопентапептиду (XIII) с использованием DCC и 1-оксибензотриазола.

Woc-Phe-Lys-Pro-Arg-Arg-Pro-Tyr-Ile-Leu- (XXVII) получали конденсацией Woc-Phe с циклооктапептидом (XXVI) методом пентафторфениловых эфиров. Ac-Arg(NO₂)-Arg(NO₂)-Pro-Ile-Leu-Asp(OBu^t)-Phe-NH₂ (XXXII) получали конденсацией двух фрагментов (5+2) методом пента-

Депрессорный эффект аналогов и фрагментов нейротензина на артериальное давление (мм рт. ст.) крыс, наркотизированных этилалом натрия (а) или уретаном (б)

Соединение	Номер	Доза, нмоль/кг				
		0,5	5,0	25	50	500
а) Glp-Leu-Tyr-Glu-Asn-Lys-Pro-Arg-Arg-Pro-Tyr-Ile-Leu-OH H-Lys-Arg-Pro-Tyr-Ile-Leu-OH H-Phe-Pro-Arg-Arg-Pro-Tyr-Ile-Phe — H-Lys-Pro-Arg-Arg-Pro-Tyr-Ile-Phe-OH H-Phe-Lys-Pro-Arg-Arg-Pro-Tyr-Ile-Leu — H-Lys-Pro-Arg-Arg-Pro-Tyr-Ile-Leu-OH	(I) (XVIII)	35±3 7±2	50±1 64±2	*	60±11 *	*
	(XXI) (XXII)	0 0	5±2 20±2	28±3 *	42±2 72±13	* 50±11
	(XXVIII) (XXX)	26±2 26±7	41±5 49±1	63±3 *	* 53±1	* 52±2
	(I) (VIII)	0 0	5±1 0	25±1 0	44±3 0	* 0
	(X)	0	0	0	0	0
	(XIII) (XIV)	0 0	0 0	0 0	0 0	0 21±2
	(XVI) (XVIII)	0 0	0 25±2	0 *	0 41±1	0 51±8
	(XXI)	*	*	0	0	26±4
	(XXVIII) (XXX) (XXXIV)	* * 0	8±2 24±1 0	25±1 * 0	38±2 33±3 0	52±1 51±1 0

* В указанных дозах вещества не исследовались.

Программа (№ 1) для твердофазного синтеза пептидов (IV) – (VI)

№ линии	Операция	Используемый реагент	Объем реагента, мл	Время перемешивания, мин
1	Промывка	CH ₂ Cl ₂	80×2	1,5
2	»	50% TFA/CH ₂ Cl ₂	80	5,0
3	Деблокирование	50% TFA/CH ₂ Cl ₂	80	40,0
4	Промывка	CH ₂ Cl ₂	80×6	1,5
5	Нейтрализация	20% Et ₃ N/CH ₂ Cl ₂	80×2	1,5
6	Промывка	CH ₂ Cl ₂	80×8	1,5
7	Внесение симметричного ангидрида Вос-аминокислоты	Симметричный ангидрид Вос-аминокислоты в CH ₂ Cl ₂	50	
8	Реакция конденсации			120,0
9	Промывка	CH ₂ Cl ₂	80×3	1,5
10	Переход к первой линии программы № 2			

Таблица 3

Программа (№ 2) ацетилирования для твердофазного синтеза пептидов

№ линии	Операция	Используемый реагент	Объем реагента, мл	Время перемешивания, мин
1	Промывка	CH ₂ Cl ₂	80×2	1,5
2	Внесение Ac ₂ O	10% Ac ₂ O/CH ₂ Cl ₂	70	5,0
3	Внесение Et ₃ N	Et ₃ N	8	10,0
4	Промывка	CH ₂ Cl ₂	80×8	1,5
5	Переход к первой линии программы № 1			

фторфениловых эфиров. Пентапептидный фрагмент Ac-Arg(NO₂)-Arg(NO₂)-Pro-Ile-Leu-OH (VII) синтезировали твердофазным методом, ацетилирование на последней стадии проводили по программе № 2 (табл. 3), а Asp(OBu^t)-Phe-NH₂ получали по известной методике [18] методом активированных эфиров. Конечные продукты очищали ВЭЖХ или ионообменной хроматографией на СМ-целлюлозе.

Для первичной оценки биологической активности синтезированных соединений изучали их депрессорную активность у наркотизированных крыс в опытах *in vivo* и миотропную активность (сокращение гладкой мускулатуры подвздошной кишки морской свинки) в экспериментах *in vitro*.

Результаты биологических исследований показали, что вазодепрессорным действием как в условиях этиминал-натриевого, так и уретанового наркоза обладали соединения (XIV), (XVIII), (XXI), (XXII), (XXVIII), (XXX). Из липейных пептидов наибольшую депрессорную активность проявили немодифицированный октапептид NT-(6–13) (XXX) и аналоги фрагментов нейротензина: NT-(8–13) (XVIII) и NT-(6–13) (XXII) (табл. 1). Пороговая доза, при которой наблюдали депрессорный эффект аналога (XVIII) и нейротензина при уретановом наркозе, на порядок выше, чем при этиминал-натриевом наркозе*. Линейный пентапептид (XIV) при уретановом наркозе вызывал понижение артериального давления на 21 мм рт. ст. в дозе 500 имоль/кг, которая в 20 раз выше дозы нейротензина, необходимой для достижения такого же депрессорного эффекта, т. е. депрессорная активность этого аналога составляла ~5% активности нейротензина. Депрессорная активность соответствующего немодифицированного фрагмента NT-(9–13), по данным [10], составляет 0,5% активности нейротензина. Соединения (XIV), (XVIII), (XXI), (XXII), (XXVIII), (XXX) подобно нейротензину [20] вызывали тахифилаксию при обоих видах наркоза.

* Этиминал-натриевый наркоз также был использован в ранее опубликованной работе [19], где в качестве наркотизирующего вещества ошибочно указан уретан, за что авторы приносят свои извинения.

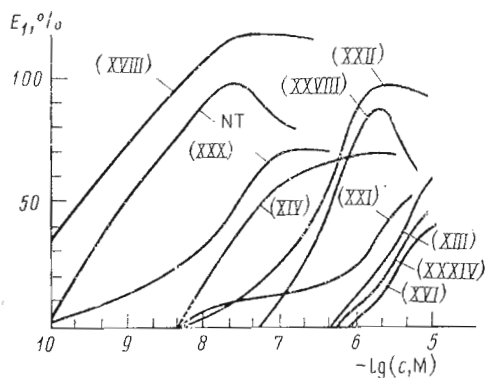


Рис. 1

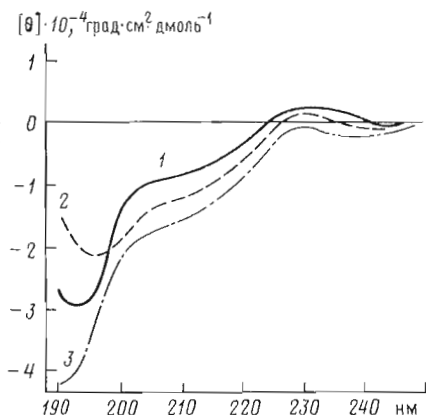


Рис. 2

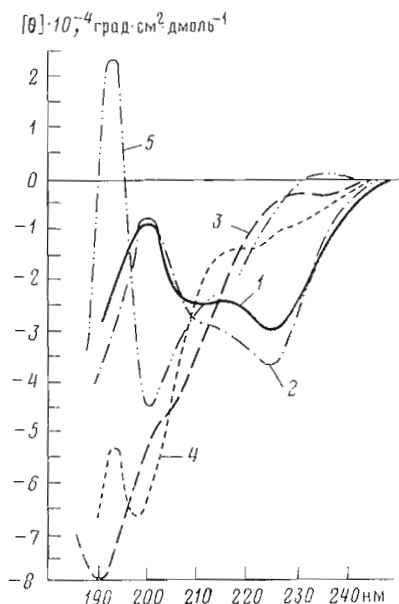


Рис. 3

Рис. 1. Миотропная активность (подвздошная кишка морской свинки *in vitro*) фрагментов и аналогов нейротензина (указаны шифры соединений). Приведены кумулятивные кривые «концентрация – эффект»

Рис. 2. Спектры КД соединений (XIV) (1), (XIII) (2) и (XVIII) (3) в воде

Рис. 3. Спектры КД соединения (XXVIII) в воде (1) и трифторэтаноле (2), соединения (XXX) в воде (3) и соединения (XXXIV) в воде (4) и трифторэтаноле (5)

В ряду циклоаналогов особого внимания заслуживает высокая депрессорная активность, которую проявляет циклоаналог (XXVIII) (~78% активности нейротензина), несмотря на отсутствие у этого соединения свободной карбоксильной группы на С-конце. По литературным данным, модификация С-концевого карбоксила нейротензина, например образование метиламида, снижает депрессорную активность соединения на 2 порядка [21]. Это наряду с высокой депрессорной активностью циклоаналога (XXVIII) дает возможность предполагать, что основная функция свободной С-концевой карбоксильной группы нейротензина сводится главным образом к стабилизации квазициклической структуры молекулы. То же самое, по-видимому, можно сказать о функциях остатка лизина в положении 6. Другой циклоаналог октапептида (XXI), в котором Leu¹³ заменен на Phe, показал эквидепрессорный эффект с нейротензином в дозах, в 100 (наркоз этиамналом натрия) и 20 раз (наркоз уретаном) превышающих таковые для нейротензина (табл. 1).

Наибольшей миотропной активностью в ряду линейных аналогов обладали соединения (XIV) и (XVIII), отличающиеся от природных фрагментов нейротензина NT-(9–13) и NT-(8–13) заменой N-концевого Arg на Lys, и NT-(6–13). Миотропная активность циклоаналогов (XIII), (XXI), (XXVIII) по сравнению с нейротензином понижена на 2–3 порядка (рис. 1). Соединения (VIII) и (X) миотропной активностью не

обладали. Сравнив соотношение депрессорной и миотропной активностей (выраженных в процентах от активности нейротензина) для циклических и линейных аналогов, мы обнаружили, что для циклоаналогов это соотношение значительно больше. Так, если для линейного октапептида NT-(6—13) этот показатель равен 8, то для циклопептида (XXVIII) — 80, что указывает на некоторую избирательность действия на артериальное давление, а также на различия в структурах рецепторов вазальной и экстравазальной гладкой мускулатуры.

При оценке влияния циклизации на биологическую активность фрагментов нейротензина, например пентапептида NT-(9—13), активность циклопептида (XIII), по-видимому, следует сопоставлять не с активностью линейного пентапептида (XIV), а с активностью тетрапептида NT-(10—13), так как при циклизации ϵ -аминогруппа лизина, образуя ковалентную связь с С-концевым карбоксилем, теряет свой положительный заряд и, возможно, функциональную активность. В циклоаналоге (XIII), таким образом, остаток лизина моделирует лишь возможную структурообразующую функцию остатка аргинина в молекуле нейротензина. Согласно данным [8], С-концевой тетрапептид нейротензина, как и синтезированный нами циклопептид (XIII), депрессорной активностью не обладал. Известно, что положительно заряженные боковые цепи аргинина и лизина в пептидах часто выполняют функции якорей, обеспечивая первичное взаимодействие лигандов с клеточными рецепторами. Поэтому для восстановления положительного заряда на N-конце молекулы циклического аналога (XIII) мы синтезировали его N-аргинилпроизводное (XVI). Однако исследования показали, что биологические свойства этого соединения не отличаются от свойств циклопептида (XIII). Таким образом, накопленный к настоящему времени материал по взаимосвязи между величиной цикла и биологической активностью в рядах циклоаналогов брадикинина, кортикотропина, тафцина и других пептидов свидетельствует, что иногда можно значительно варьировать величину цикла без существенного изменения биологической активности циклоаналогов [1]. Однако известны примеры, когда изменение размера цикла приводит к неактивным соединениям или антагонистам линейных пептидов [22, 23]. В случае нейротензина циклический пентапептид (XIII) в отличие от циклического октапептида (XXVIII) миотропной и депрессорной активности не проявляет.

Аналоги фрагментов нейротензина с удлиненной пептидной цепью, содержащие на С-конце остаток глицина, (VIII) и (X), в биологических исследованиях на депрессорную и миотропную активность оказались неактивными. Инактивация вазоактивных пептидов после присоединения глицина отмечена также другими авторами [24]. Модификация С-конца фрагментов нейротензина заменой Leu в положении 13 на Phe вызвала понижение биологической активности (соединения XXI, XXII) и потерю активности в случае соединения (XXXIV). Гранье и др. [25] также отмечают, что модификация положения 13 во фрагменте NT-(8—13) приводит к резкому падению активности.

Чтобы выяснить влияние вышеупомянутых структурных модификаций на пространственную организацию аналогов фрагментов нейротензина, мы исследовали спектры кругового дихроизма некоторых соединений. В литературе имеется лишь косвенное указание на то, что молекула нейротензина обладает неупорядоченной конформацией как в воде, так и в растворе додецилсульфата натрия [26]. Нами были сняты спектры КД соединений (XIII), (XIV), (XVIII) в воде (рис. 2). Спектры первых двух соединений (кривые 1 и 2) являются однотипными в дальней ультрафиолетовой области и характеризуются отрицательным максимумом при 195—197 нм с плечом при 205 нм, обусловленным $\pi \rightarrow \pi^*$ -переходом амидных хромофоров, а также влиянием ${}^1\text{B}$ -перехода ароматического хромофора тирозинового остатка (${}^1\text{B}$ — переход ароматических хромофоров по номенклатуре Платта [27]). Небольшой положительный максимум при 230 нм и отрицательный при 240 нм соответствует $n \rightarrow \pi^*$ -переходу амидных хромофоров, который перекрывается 1L_a -переходом ароматического хро-

мофора. Включение остатка аргинина между Lus и Pro (соединение XVIII) существенно не влияет на общий вид спектра КД (рис. 3, 3). 1L_b -переход ароматического хромофора тирозина у соединений (XIV) и (XIII) проявляется в виде дихроических полос с противоположными знаками. Это свидетельствует о различном окружении ароматического хромофора тирозина или о наличии разных ротамеров боковой цепи тирозинового остатка у линейного и циклического пептидов.

Совсем другой характер имеют спектры КД соединения (XXVIII) (рис. 3, 1 и 2, соответственно в воде и трифторэтаноле). Конформация циклоаналога (XXVIII) относительно жесткая, так как спектр КД не меняется при переходе от водного раствора к трифторэтанолю — растворителю, хорошо имитирующему среду взаимодействия пептидов с клеточными рецепторами [28] и способствующему спирализации. Фрагмент 6—13 нейротензина (соединение XXX) в водной среде имеет неупорядоченную структуру (рис. 3, 3). Таким образом, циклизация этого фрагмента в соединении (XXVIII), как видно из спектров КД, приводит к существенному изменению пространственного строения С-концевого октапептида нейротензина. Соединение (XXXIV) в воде имеет неупорядоченную конформацию (рис. 3, 4), которая сильно зависит от полярности среды (в трифторэтаноле — рис. 3, 5).

Получение активных циклоаналогов С-концевых фрагментов нейротензина подтверждает возможность образования квазициклической конформации у С-концевого октапептидного фрагмента молекулы при взаимодействии с рецепторами вазальной гладкой мускулатуры, а также решающую роль С-концевого пептида для депрессорной активности.

Экспериментальная часть

Для синтеза использовали производные L-аминокислот (Reanal, Венгрия), хлорметилированный полимерный носитель (2% сшивки) той же фирмы, содержащий 1,0—1,1 мэкв Cl/g (при синтезе соединений II, III, VII, VIII) и полимер фирмы Bio-Rad (США) Bio-Beads™ S-X 1, содержащий 4,2 мэкв Cl/g (при синтезе соединений IV—VI).

Индивидуальность полученных соединений контролировали с помощью ТСХ на пластинках DC-Fertigplatten Kieselgel 60 F₂₅₄ и высоковольтным электрофорезом на бумаге. Электрофоретическую подвижность по отношению к гистидину (E_{HIS}) определяли на бумаге FN-17 и FN-15 (ГДР) в 5 н. уксусной кислоте, pH 1,9. Вещества обнаруживали в УФ-свете, а также с помощью реагентов Паули, Сакагучи, нингидрина и хлорбензида. Для очистки и характеристики хроматографической подвижности (R_f) пептидов применяли системы: хлороформ — этанол — уксусная кислота, 9:0,5:0,5 (А), хлороформ — этанол — этилацетат — уксусная кислота — вода — изопропанол, 340:20:32:8:1:1 (Б), хлороформ — метанол — уксусная кислота — вода, 60:18:2:3 (В), хлороформ — метанол — уксусная кислота — вода, 30:20:4:6 (Г), этилацетат — уксусная кислота — *n*-бутанол — вода, 2:1:1:1 (Д), *n*-бутанол — этанол — вода — уксусная кислота, 80:10:30:5 (Е), хлороформ — вода — этанол, 5:0,5:4,7 (Ж), хлороформ — этанол — *n*-бутанол — этилацетат — вода, 10:6:4:3:1 (З), *n*-бутанол — пиридин — уксусная кислота — вода, 30:20:6:24 (И), хлороформ — этанол — этилацетат — уксусная кислота — вода, 85:5:8:2:0,25 (К), хлороформ — метанол — вода, 45:10:1 (Л), пиридин — уксусная кислота — вода — этилацетат, 5:1,5:2,75:30 (Н), 20:6:11:30 (М).

Аминокислотный анализ проводили на анализаторе Biocal BC-200 (ФРГ) после 24 ч гидролиза пептидов в запаянной ампуле при 110°С в 6 н. HCl с добавлением 1% фенола.

Удельное вращение $[\alpha]_D^{20}$ определяли на поляриметре Perkin — Elmer 141 (США).

ВЭЖХ осуществляли на приборе Du Pont (США). Для ионообменной хроматографии использовали СМ-целлюлозу CM-32 (Whatman). Контроль элюирования при препаративном хроматографическом разделении осу-

ществляли по изменению оптической плотности элюата, которую регистрировали с помощью проточного абсорбтиметра Uvicord (LKB, Швеция) при 254 нм.

Упаривание растворителей проводили на вакуумном ротационном испарителе при температуре не выше 40° С. Масс-спектры получали на приборе Varian MAT CM-5 DF с приставкой EI-FD (США).

Спектры КД записывали на дихрографе Mark III (Jobin-Ivon, Франция). Дихрограф калибровали по стандартам аниандростерона и 10-камфорсульфоновой кислоты. Для записи спектров использовали кварцевые кюветы фирмы Hellma с длиной оптического пути 1 см в спектральном диапазоне 250–300 нм, 0,1–0,01 см — в области 180–250 нм. Концентрации растворов составляли 10^{-3} – 10^{-4} М. Полученные спектры обрабатывали на ЭВМ Wang 2200 VP (США) с устройством ввода графической информации с помощью специально разработанного пакета программ [29]. Молекулярную эллиптичность $[\theta]$ измеряли в град·см²/дмоль.

Присоединение первой Вос-аминокислоты к полимерному носителю осуществляли по методике Гизина [30]. 15,5 г (42 ммоль) цезевой соли Вос-Leu, которую получали титрованием раствора 10 г (43 ммоль) Вос-Leu в 600 мл C₂H₅ОН и 30 мл воды 0,1 н. водным раствором Cs₂CO₃ до рН 7, 10 г полимера фирмы Bio-Rad, 300 мл DMF перемешивали 12 ч при 50° С. После этого полимер отфильтровывали, на фильтре промывали этанолом, эфиром и высушивали в эксикаторе в присутствии P₂O₅ и КОН. Остальные Вос-аминокислоты присоединяли аналогичным образом. Содержание Вос-аминокислот, определенное по привесу, составляло 4,0 ммоль Вос-Leu, 3,6 ммоль Вос-Phe на 1 г полимера (фирма Bio-Rad), 0,7 ммоль Вос-Gly и 0,6 ммоль Вос-Leu на 1 г полимера (полимер фирмы Reanal).

Твердофазный синтез пептидов (II) — (VIII) проводили по стандартной программе № 1 (табл. 2), рассчитанной на 5 г аминокцилополимера с емкостью 4,2 ммоль/г. Симметричные ангидриды Вос-аминокислот получали непосредственно перед введением в реакцию. При синтезе соединений (IV) — (VI) 20 ммоль (2-кратный избыток) Вос-аминокислоты растворяли в 30 мл хлористого метилена (Вос-Arg(NO₂), Вос-Arg(Tos), Z-Lys(Вос), Вос-Lys(Z) растворяли в смеси CH₂Cl₂ и DMF, 5 : 1), охлаждали до 0° С, добавляли 20 мл CH₂Cl₂, содержащего 2,0 г (10 ммоль) DCC, и выдерживали 30 мин при 2° С. Раствор фильтровали и вводили в реакционный сосуд пептидного синтезатора. Синтез соединений (II), (III), (VII), (VIII) проводили аналогично синтезу соединений (IV) — (VI), исходя из 10 г аминокцилополимера и применяя 3,5-кратный избыток Вос-аминокислот (объем растворителей 40 мл). На каждой стадии синтеза при наличии нитридинположительной реакции по Кайзеру [31] непрореагировавшие аминокислоты пептидил-полимера ацетилировали уксусным ангидридом в присутствии триэтиламина (табл. 3).

Отщепление от полимера. Для отщепления от полимерного носителя и одновременного удаления Z- и Bzl-защитных групп при получении соединения (II) 5 г пептидил-полимера суспендировали в 50 мл DMF, добавляли 2,8 г (3,2 ммоль) ацетата палладия и гидрировали 24 ч при 50° С. Полимер отфильтровывали, фильтрат упаривали и остаток растирали с эфиром.

Соединения (III) — (VII) отщепляли от полимера щелочным омылением. 5 г пептидил-полимера суспендировали в 50 мл раствора, состоящего из 40,5 мл этанола и 4,5 мл 2 н. NaOH, перемешивали 2 ч при 20° С. Полимер отфильтровывали, фильтрат подкисляли 1 М водным раствором H₂SO₄ до рН 3. Растворитель упаривали, остаток растворяли в *n*-бутаноле и фильтровали. Фильтрат упаривали и продукт осаждали безводным эфиром.

В случае соединения (VIII) для отщепления от полимера и одновременного снятия защитных групп 2 г пептидил-полимера обрабатывали смесью 20 мл безводного HF (тефлоновая аппаратура) и 1 мл анизолу 1 ч при 0° С. После упаривания HF в вакууме тефлонового водоструйного насоса при 0° С вещество растворяли в 50 мл 0,2 М уксусной кислоты, раствор фильтровали, промывали этилацетатом и лиофилизовали.

Характеристика промежуточных продуктов после отщепления от полимерного носителя и распределительной хроматографии на силикагеле

Номер соединения	Выход, рассчитанный на первую аминокислоту, %	R_f	Номер соединения	Выход, рассчитанный на первую аминокислоту, %	R_f
(II)	10	0,44 (Ж) 0,62 (К)	(V)	46	0,45 (А) 0,85 (Д)
(III)	21	0,62 (А) 0,61 (Б) 0,71 (В)	(VI)	18	0,33 (Н) 0,34 (А) 0,51 (Б)
(IV)	41	0,60 (Д)	(VII)	32	0,54 (М) 0,37 (Д)

Очистка промежуточных защищенных пептидов после отщепления от полимера. Соединения (II) — (VII) очищали жидкостной хроматографией на колонках с силикагелем фирмы Merck. Соединения (II), (VII) растворяли в 5 мл хроматографической системы Ж, наносили на колонку (фирма Merck, Size B 310-25, Li Chromrep™ Si 60, Lobar) и элюировали системой Ж. Фракции, содержащие соответствующий пептид, объединяли, упаривали и растирали с безводным эфиром. Аналогично очищали соединение (III) (колонка фирмы Merck, Size B 310-25, Li Chromrep™ Si 60, Lobar) в системе Б и соединения (IV), (V), (VI) (колонка фирмы Merck, Size C 440-37, Li Chromrep™ Si 60, Lobar) в системе А. Выходы после очистки и хроматографические подвижности (R_f) приведены в табл. 4.

Соединение (VIII) очищали хроматографией на СМ-целлюлозе в линейном градиенте ацетата аммония 0,01 н. $\text{AcONH}_4 \rightarrow 0,25$ н. AcONH_4 . Для создания градиента применяли градиентный смеситель Ultrogard 11 300 (ЛКВ, Швеция). Фракции, содержащие гептапептид (VIII), объединяли, упаривали и лиофилизовали. Выход 5 мг (52%), R_f 0,25 (Д), E_{HIS} 0,89.

Вос-Lys-Arg(Tos)-Pro-Tyr-Ile-Leu-Gly (IX). К раствору 200 мг (0,48 ммоль) гептапептида (II) в 500 мл смеси DMF и диоксана (1:1), охлажденному до 0°С, при перемешивании добавляли 305 мг (0,4 ммоль) F-комплекса (DCC/пентафторфенол, 1:3), выдерживали 2 ч при 0°С. Потом по каплям добавляли 185 мг (1,4 ммоль) диизопропилэтиламина в 20 мл DMF, температуру поднимали до 20°С и выдерживали еще 4 сут. Раствор фильтровали, фильтрат упаривали и остаток растирали с безводным эфиром. Полученный продукт растворяли в 5 мл хроматографической системы З, наносили на колонку (фирмы Merck, Size B 310-25, Li Chromrep™ Si 60, Lobar) и элюировали системой З. Фракции, содержащие циклопептид, объединяли, упаривали, остаток растирали с безводным эфиром. Выход 10 мг (5%), R_f 0,61 (З), 0,37 (И).

H-Lys-Arg-Pro-Tyr-Ile-Leu-Gly (X) получали из циклопептида (IX) обработкой его безводным фтористым водородом (2 мл HF и 0,1 мл анизола на 10 мг пептида) аналогично методике, использованной при синтезе соединения (VIII). Полученный продукт очищали хроматографией на СМ-целлюлозе в линейном градиенте 0,01 н. $\text{AcONH}_4 \rightarrow 0,25$ н. AcONH_4 . Фракции, содержащие циклопептид (X), объединяли, упаривали и лиофилизовали. Выход 3 мг (45%), R_f 0,60 (Д), E_{HIS} 0,84. Аминокислотный анализ: Pro 1,01 (1), Ile 1,08 (1), Gly 1,24 (1), Leu 1,15 (1), Tyr 1,02 (1), Arg 0,88 (1), Lys 1,21 (1). Циклопептид (X) к действию карбоксипептидазы В в 0,2 М буферном растворе ацетата N-метилморфолина при pH 8,5 и 37°С устойчив.

Вос-Lys-Pro-Tyr-Ile-Leu-OH (XI). 1 г пептапептида (III), полученного после отщепления от полимера, растворяли в 100 мл смеси метанол — уксусная кислота — вода (10:1:1) и гидрировали над палладиевой чернью 4 сут. Катализатор отфильтровывали, раствор упаривали, остаток

растворяли в 5 мл метанола и продукт осаждали безводным эфиром. Выход 700 мг (96%), R_f 0,49 (E).

$\overline{\text{Boc-Lys-Pro-Tyr-Ile-Leu}}$ (XII) получали из соединения (XI) аналогично соединению (IX). Полученный продукт растворяли в 5 мл хроматографической системы К, наносили на колонку (фирма Merck, Size B 310-25, Li ChroprepTM Si 60, Lobar) и элюировали системой К. Выход 30 мг (5%), R_f 0,92 (E). Молекулярный вес, определенный методом масс-спектрометрии, 714 (вычислено 714,91).

$\overline{\text{H-Lys-Pro-Tyr-Ile-Leu}} \cdot \text{HCl}$ (XIII). 30 мг (0,35 ммоль) циклопептида (XII) растворяли в 10 мл уксусной кислоты и добавляли 1,0 мл 3 М раствора хлористого водорода в уксусной кислоте. Через 30 мин продукт осаждали безводным эфиром, отфильтровывали и высушивали в эксикаторе в присутствии P_2O_5 и КОН. Выход 20 мг (76%), R_f 0,33 (Г), 0,52 (Д), 0,48 (E), E_{HIS} 0,67, $[\alpha]_D^{20}$ $-5,0$ (с 0,5, метанол). Аминокислотный анализ: Pro 1,01 (1), Ile 1,13 (1), Leu 1,00 (1), Tyr 1,18 (1), Lys 1,22 (1).

$\overline{\text{H-Lys-Pro-Tyr-Ile-Leu-OH}}$ (XIV) получали из соединения (XI) по аналогии с синтезом (XIII). Выход 120 мг (70%), R_f 0,28 (Д), E_{HIS} 0,86.

$\overline{\text{Z-Arg(Z)}_2\text{-Lys-Pro-Tyr-Ile-Leu}}$ (XV). К раствору 18,5 мг (0,03 ммоль) циклопептида (XIII) в 20 мл DMF, охлажденному до 0° С, добавляли охлажденный до 0° С раствор 18 мг (0,03 ммоль) Z-Arg(Z)₂, 5 мг (0,04 ммоль) 1-оксисбензтриазола и 6 мг (0,03 ммоль) DCC в 10 мл DMF, выдерживали 12 ч при 2° С и 12 ч при 20° С. Раствор фильтровали, фильтрат упаривали и остаток растирали с безводным эфиром. Полученный продукт растворяли в 2 мл хроматографической системы К, наносили на колонку (фирма Merck, Size A 240-10, Li ChroprepTM Si 60, Lobar), элюировали системой К. Выход 28 мг (76%), R_f 0,53 (B).

$\overline{\text{H-Arg-Lys-Pro-Tyr-Ile-Leu}}$ (XVI) получали из соединения (XV) аналогично синтезу (XI). Выход 6,5 мг (28%), R_f 0,31 (Д), E_{HIS} 0,74, $[\alpha]_D^{20}$ -54° (с 0,2, метанол). Аминокислотный анализ: Pro 1,00 (1), Ile 1,15 (1), Leu 1,07 (1), Tyr 1,02 (1), Lys 1,18 (1), Arg 1,10 (1).

$\overline{\text{Z-Lys-Arg(NO}_2\text{)-Pro-Tyr(Bzl)-Ile-Leu-OH}} \cdot \text{HCl}$ (XVII) получали из соединения (VI) по аналогии с синтезом (XIII). Выход 186 мг (98%), R_f 0,31 (Д).

$\overline{\text{H-Lys-Arg-Pro-Tyr-Ile-Leu-OH}}$ (XVIII) получали из соединения (XVII) аналогично синтезу (XI). Полученный продукт очищали ВЭЖХ на колонке (2,12×25 см) Zorbax C₈. Элюировали смесью этанола и 0,2 М водного раствора ацетата аммония (содержание этанола — 25, затем 90%). Выход 45 мг (36%), R_f 0,17 (Д), E_{HIS} 0,70. Аминокислотный анализ: Pro 1,00 (1), Ile 1,01 (1), Leu 1,03 (1), Tyr 1,00 (1), Lys 1,15 (1), Arg 0,93 (1).

$\overline{\text{Z-Lys-Pro-Arg(NO}_2\text{)-Arg(NO}_2\text{)-Pro-Tyr(Bzl)-Ile-Phe-OH}} \cdot \text{TFA}$ (XIX). 1,0 г (1 ммоль) октапептида (IV) растворяли в 30 мл раствора 50% трифторуксусной кислоты в хлористом метиле и перемешивали 40 мин при 20° С. После упаривания растворителя продукт растирали с безводным эфиром, отфильтровывали и сушили в эксикаторе над КОН. Выход 950 мг (97%), R_f 0,27 (Д), 0,16 (И).

$\overline{\text{Z-Lys-Pro-Arg(NO}_2\text{)-Arg(NO}_2\text{)-Pro-Tyr(Bzl)-Ile-Phe}}$ (XX). 800 мг (0,5 ммоль) октапептида (XIX) растворяли в 40 мл DMF, добавляли 0,2 мл (1,2 ммоль) диизопропилэтиламина, охлаждали до -25° С, добавляли 0,15 мл (0,6 ммоль) дифенилфосфорилазида и выдерживали 48 ч при -10° С, 48 ч при 2° С и 48 ч при 20° С. Растворитель упаривали, остаток растворяли в *n*-бутаноле и продукт осаждали эфиром. Выход после хроматографической очистки на колонке (фирма Merck, Size B310-25, Li ChroprepTM Si 60, Lobar) в системе Д 200 мг (27%), R_f 0,68 (Л).

$\overline{\text{H-Lys-Pro-Arg-Arg-Pro-Tyr-Ile-Phe}}$ (XXI) получали из соеди-

нения (XX) по аналогии с синтезом (XI). Выход после очистки ВЭЖХ на колонке (2,12×25 см) Zorbax C₈ в системе CH₃CN—0,2 М AcONH₄ (33:67) 16 мг (11%), R_f 0,4 (И), 0,29 (Г), E_{nis} 0,62. Аминокислотный анализ: Pro 2,55 (2), Ile 1,07 (1), Leu 1,10 (1), Tyr 1,00 (1), Lys 1,66 (1), Phe 1,19 (1), Arg 2,55 (2). Циклопептид (XXI) в 0,2 М буферном растворе ацетата N-метилморфолина при pH 8,5 и 37° С к действию карбоксипептидазы В устойчив.

H-Lys-Pro-Arg-Arg-Pro-Tyr-Ile-Phe-OH (XXII) получали из соединения (XIX) аналогично синтезу соединения (XI). Выход после очистки ВЭЖХ на колонке (2,12×25 см) Zorbax C₈ в системе 25% CH₃CN—75% 0,2 М AcONH₄ 16,4 мг (14%), R_f 0,32 (И), 0,15 (Г), E_{nis} 0,75, [α]_D²⁰ -38,4° (с 0,25, метанол).

Z-Lys(Boc)-Pro-Arg(NO₂)-Arg(NO₂)-Pro-Tyr(Bzl)-Ile-Leu-OPfp (XXIII). 1,0 г (0,62 ммоль) пептида (V) растворяли в 30 мл смеси диоксана—DMF (1:1), охлаждали до 0° С, добавляли 590 мг (0,55 ммоль) F-комплекса и перемешивали 12 ч при 20° С. Раствор фильтровали, фильтрат упаривали и остаток растирали с безводным эфиром. Выход 1,0 г (91%), R_f 0,59 (И).

Z-Lys-Pro-Arg(NO₂)-Arg(NO₂)-Pro-Tyr(Bzl)-Ile-Leu-OPfp-HCl (XXIV) получали из соединения (XXIII) по аналогии с синтезом (XIII). Выход 800 мг (84%), R_f 0,1 (И).

Z-Lys-Pro-Arg(NO₂)-Arg(NO₂)-Pro-Tyr(Bzl)-Ile-Leu- (XXV). 0,8 г (0,46 ммоль) соединения (XXIV) растворяли в смеси 800 мл диоксана и 40 мл DMF, медленно, по каплям, добавляли раствор 0,2 мл диизопротиламина в 20 мл диоксана и, перемешивая, выдерживали 64 ч. Растворитель упаривали, остаток растворяли в 20 мл этилацетата, фильтровали. Фильтрат упаривали и остаток растирали с эфиром. Выход после хроматографической очистки на колонке (фирма Merck, Size B 310-25, Li Chromper™ Si 60, Lobar) в системе В 220 мг (30%), R_f 0,62 (И), 0,56 (В).

H-Lys-Pro-Arg-Arg-Pro-Tyr-Ile-Leu- (XXVI) получали из соединения (XXV) по аналогии с синтезом (XI). Выход 130 мг (74%), R_f 0,38 (Г), E_{nis} 0,86, [α]_D²⁰ -67,5° (с 0,2, метанол).

Boc-Phe-Lys-Pro-Arg-Arg-Pro-Tyr-Ile-Leu- (XXVII). 130 мг (0,13 ммоль) соединения (XXVI) растворяли в 25 мл DMF, добавляли 70 мг (0,13 ммоль) Boc-Phe-OPfp и 0,04 мл (0,2 ммоль) диизопротиламина. Реакционную смесь перемешивали 3 сут при 20° С. Растворитель упаривали, остаток растирали с безводным эфиром. Выход сырого продукта 110 мг (67%), R_f 0,41 (Д).

H-Phe-Lys-Pro-Arg-Arg-Pro-Tyr-Ile-Leu-. TFA (XXVIII) получали из соединения (XXVII) аналогично синтезу соединения (XVIII). Продукт очищали ВЭЖХ на колонке (2,12×25 см) Zorbax C₈ в системе 40% C₂H₅OH—60% 0,25 М AcONH₄. Выход 15 мг (13%), R_f 0,47 (Д), 0,65 (Г), E_{nis} 0,87, [α]_D²⁰ -56,2° (с 0,1, метанол). Молекулярный вес, определенный методом масс-спектрометрии, 1170 (вычислено 1171,5). Аминокислотный анализ: Pro 2,51 (2), Ile 0,96 (1), Leu 1,15 (1), Tyr 0,85 (1), Phe 0,85 (1), Lys 1,19 (1), Arg 2,01 (2).

Z-Lys-Pro-Arg(NO₂)-Arg(NO₂)-Pro-Tyr(Bzl)-Ile-Leu-OH-TFA (XXIX) получали из соединения (V) аналогично синтезу соединения (XVIII). Выход 196 мг (97%), R_f 0,34 (Д), 0,37 (И).

H-Lys-Pro-Arg-Arg-Pro-Tyr-Ile-Leu-OH (XXX) получали из соединения (XXIX) аналогично синтезу соединения (XI). Продукт очищали ВЭЖХ на колонке (2,12×25 см) Zorbax C₈ в системе 25% C₂H₅OH—75% 0,25 М AcONH₄. Выход 23 мг (15%), R_f 0,1 (Г), [α]_D²⁰ -59° (с 0,2, метанол). Аминокислотный анализ: Leu 1,00 (1), Ile 1,21 (1), Tyr 0,74 (1), Pro 2,10 (2), Arg 2,30 (2), Lys 1,11 (1).

Ac-Arg(NO₂)-Arg(NO₂)-Pro-Ile-Leu-OPfp (XXXI). К раствору 1 г (1,2 ммоль) пентапептида (VII) в 30 мл DMF, охлажденному до 0° С,

добавляли 250 мг (1,2 ммоль) DCC, 650 мг (3,5 ммоль) пентафторфенола и выдерживали 2 ч при 0°С и 12 ч при 2°С. Растворитель упаривали, остаток растирали с безводным эфиром. Выход 1 г (86%), R_f 0,8 (М).

Ac-Arg(NO₂)-Arg(NO₂)-Pro-Ile-Leu-Asp(OBu¹)-Phe-NH₂ (XXXII). К раствору 1 г (1 ммоль) соединения (XXXI) в 40 мл DMF добавляли 380 мг (1,1 ммоль) *N*-Asp(OBu¹)-Phe-NH₂, полученного по известной методике [17], и перемешивали 12 ч при 20°С. Растворитель упаривали, остаток растирали с безводным эфиром. Продукт растворяли в 5 мл хроматографической системы Д, наносили на колонку (фирма Merck, Size B 340-25, Li ChromrepTM Si 60, Lobar), элюировали системой Д. Выход 860 мг (36%), R_f 0,61 (Д).

Ac-Arg(NO₂)-Arg(NO₂)-Pro-Ile-Leu-Asp-Phe-NH₂ (XXXIII). *трет*-Бутильную группу с соединения (XXXII) удаляли обработкой HCl в уксусной кислоте как описано для соединения (XIII). Выход 370 мг (95%), R_f 0,55 (Д).

Ac-Arg-Arg-Pro-Ile-Leu-Asp-Phe-NH₂ (XXXIV) получали из соединения (XXXIII) аналогично синтезу соединения (XI). Продукт очищали ВЭЖХ на колонке (2,12×25 см) Zorbax C₈ в системе 30% C₂H₅OH – 70% 0,2 М AcONH₄. Выход 89 мг (31%), R_f 0,35 (Д), E_{HIS} 0,63, $[\alpha]_D^{20}$ –54,5° (с 0,2, метанол). Аминокислотный анализ: Pro 1,53 (1), Asp 1,23 (1), Ile 1,00 (1), Leu 1,20 (1), Phe 0,93 (1), Arg 2,06 (2). Молекулярная масса, определенная масс-спектрометрическим методом, 956 (вычислено 957,2).

Определение депрессорной активности. Влияние синтезированных соединений на артериальное давление изучали по общепринятой методике на крысах-самцах массой 180–220 г, наркотизированных уретаном (1250 мг/кг) или этаминалом натрия (50 мг/кг). В эксперименте использовали только тех крыс, артериальное давление которых при уретановом наркозе было 75–95, а при этаминал-натриевом – 120–140 мм рт. ст. Исследуемое вещество вводили в виде отдельных инъекций в бедренную вену. Артериальное давление измеряли в общей сонной артерии и регистрировали при помощи датчика (Bentley Trantec Physiological Pressure Transducer) на двухканальном самописце (Gemini, Италия). Эффект выражали в мм рт. ст. В качестве стандартного соединения использовали синтетический препарат нейротензина (Sigma, США).

Миотропный эффект исследуемых соединений определяли на изолированной подвздошной кишке (ileum) морских свинок по методике, описанной ранее [19]. Результаты обрабатывали статистически с вычислением стандартной ошибки средней арифметической [32].

ЛИТЕРАТУРА

1. Чупенс Г. И., Полевая Л. К., Веретенникова Н. И., Крикис А. Ю. В кн.: Структура и функции низкомолекулярных пептидов. Рига: Зинатне, 1980, с. 11–124.
2. Ivanov V. T., Filatova M. P., Reissman S., Reutova T. O., Efremov E. S., Pashkov V. S., Galaktionov S. G., Grigorian G., Ovchinnikov Yu. A. In: Peptides. Chemistry, structure and biology / Eds Walter R., Meienhofer J. Ann. Arbor: Ann. Arbor Science, 1975, p. 151–157.
3. Carraway R. E., Leeman S. E. J. Biol. Chem., 1973, v. 248, № 19, p. 6854–6861.
4. Bisette G., Manberg P., Nemeroff C. B., Prange A. J. Life Sci., 1978, v. 23, № 22, p. 2173–2182.
5. Quiron R., Riox F., Regoli D. Can. J. Physiol. and Pharmacol., 1978, v. 56, № 4, p. 671–673.
6. Quiron R., Riox F., Regoli D., St-Pierre S. Eur. J. Pharmacol., 1979, v. 55, № 2, p. 221–223.
7. Osami Y., Nagasaka Y., Fu W. L. H., Fujiwara M. Life Sci., 1978, v. 23, № 23, p. 2275–2280.
8. St-Pierre S., Lalonde J. M., Gendreau M., Quiron R., Regoli D., Riox F. J. Med. Chem., 1981, v. 24, № 4, p. 370–376.
9. Rivier J. E., Lazarus L. H., Perrin M. H., Brown M. R. J. Med. Chem., 1977, v. 20, № 11, p. 1409–1412.
10. Carraway R. E., Leeman S. E. In: Peptides. Chemistry, structure and biology / Eds. Walter R., Meienhofer J. Ann. Arbor: Ann. Arbor Science, 1975, p. 679–687.
11. Segawa T., Hosokawa M., Kitagawa K., Yajima H. J. Pharm. and Pharmacol., 1977, v. 29, № 1, p. 57–58.

12. Hagenmaier H., Frank H. Hoppe-Seylers Z. Physiol. Chem., 1972, B. 353, S. 1973-1976.
13. Merrifield R. B. J. Amer. Chem. Soc., 1963, v. 85, № 14, p. 2149-2152.
14. Schlatter J. M., Matur R. H. Tetrahedron Lett., 1977, № 33, p. 2851-2852.
15. Стюарт Дж., Янг Дж. В кн.: Твердофазный синтез пептидов. М.: Мир, 1971, с. 95-102.
16. Matulis F. K., Chipens G. I., Mutule I. E., Maurups G. H. Int. J. Peptide and Protein Res., in press.
17. Brady S. F., Varga S. L., Freidinger R. H., Schwenk D. A., Mendlowski M., Holy F. W., Veber D. F. J. Org. Chem., 1979, v. 44, № 18, p. 3101-3105.
18. Смирнов О. В., Полевая Л. К., Чуненс Г. И. Химия природ. соедин., 1971, № 1, с. 94-97.
19. Биев В. В., Мирошников А. И., Клауша В. Е., Мусина И. П. Биооргани. химия, 1980, т. 6, № 3, с. 379-385.
20. Chahe L. A., Walker S. B. Life Sci., 1981, v. 29, № 19, p. 2009-2015.
21. Lazarus L. H., Brown M. R., Perrin M. H. Neuropharmacology, 1977, v. 16, № 9, p. 625-629.
22. Chipens G. I., Veretennikova N. I., Atare Z. A., Roze G. A., Avotina G. Ya. In: Peptides 1980, Proc. of the 16th Eur. Pept. Symp./Ed. Brunfeldt K. Scriptor, Copenhagen, 1981, p. 445-450.
23. Romanovskis P. J., Siskov I. V., Liepkaula I. K., Porunkevich E. A., Ratkevich M. P., Skuins A. A., Chipens G. I. In: Peptides. Chemistry, structure and function. Proc. of the 7th Amer. Pept. Symp./Eds Rich D. H., Gross E. Rockford: Pierce Chem. Company, 1981, p. 229-232.
24. Stewart J. Nature, 1965, v. 207, № 5002, p. 1160-1161.
25. Granier C., Rietchopten I., Kitabgi P., Ponsliv C., Freychet P. Eur. J. Biochem., 1982, v. 124, № 1, p. 117-125.
26. Wu Ch.-Ch. C., Ikeda K., Yang J. Ts. Biochemistry, 1981, v. 20, № 3, p. 566-570.
27. Klevens H. B., Platt J. R. J. Chem. Phys., 1949, v. 17, p. 460-465.
28. Urry D. W., Masotti L., Krivacic J. R. Biochim. et biophys. acta, 1971, v. 241, № 2, p. 600-612.
29. Катаев Б. С., Голендер В. Е., Сулис Я. Я. Применение ЭВМ в спектроскопии кругового дихроизма. IV Международная конференция по применению ЭВМ в химии, 1978, Новосибирск, с. 1-29.
30. Gisin B. F. Helv. chim. acta, 1975, v. 56, № 5, p. 1476-1482.
31. Sarin V. K., Kent S. B. H., Tam E. P., Merrifield R. B. In: Peptides. Chemistry, structure and function. Proc. of the 7th Amer. Pept. Symp./Eds Rich D. H., Gross E. Rockford: Pierce Chem. Company, 1981, p. 221-224.
32. Бельский М. Л. В кн.: Элементы количественной оценки фармакологического эффекта. Рига: Изд. АН ЛатвССР, 1959, с. 17-18.

Поступила в редакцию
3.I.1985
После доработки
8.IV.1985

SYNTHESIS AND BIOLOGICAL ACTIVITY OF CYCLIC AND LINEAR ANALOGUES OF C-TERMINAL NEUROTENSIN FRAGMENTS

GRINSTEINE I. V., MISINA I. P., VEGNERS R. E., VOSEKALNA I. A.,
GAILITE E. A., GRIGORIEVA V. D., CHIPENS G. I.

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

Using solid-phase approach, new cyclic and linear analogues of C-terminal neurotensin (NT) fragments were synthesized and their vasodepressor and mitotropic activities were assayed. The cyclic structures were fixed by a peptide bond linking the lysine ϵ -amino group with the C-terminal carboxyl. Cyclization was performed by using pentafluorophenyl esters or diphenylphosphorylazide. [Phe⁵]-cyclo(13→6^{*})NT-(5-13) was found to possess high depressor activity showing certain selectivity with respect to smooth vasal muscles. Circular dichroism spectra of aqueous solutions of linear and cyclic penta- and octapeptide analogues of neurotensin indicate that the linear pentapeptide in solution adopts a folded structure, while the neurotensin fragment NT-(6-13) has an unordered structure. Cyclization of the latter fragment leads to dramatic restriction of its conformational mobility resulting in a relatively rigid structure.