



УДК 547.964.4.057 : 577.112.4

СИНТЕЗ ТАФЦИНА И РЯДА N^ε-ЛИЗИНЗАМЕЩЕННЫХ
ПЕПТИДОВ КАК МОДЕЛЬНЫХ СОЕДИНЕНИЙ
ДЛЯ ИССЛЕДОВАНИЯ ФЕРМЕНТАТИВНОГО ГИДРОЛИЗА
МОДИФИЦИРОВАННЫХ БЕЛКОВ

Андреев С. М., Галкин О. М., Рогожин С. В.,
Сажойлова Н. А.

*Институт элементоорганических соединений им. А. Н. Несмеянова
Академии наук СССР, Москва*

В качестве модельных соединений для исследования ферментативного гидролиза модифицированных белков осуществлен синтез тафцина и его N^ε-ацетильного производного, а также ряда N^ε-лизинзамещенных дипептидов. Тафцин получали с помощью N-оксисукцинимидных эфиров в водной среде при pH 7,5—8,0 с поэтапным выходом 70—95%. Модельные дипептиды синтезировали в среде органического растворителя с использованием триметилсилильной защиты. Полученные пептиды после введения N^ε-ацильной группы подвергались гидролитическому расщеплению под действием тканевых ферментных препаратов и протеолитических ферментов.

Химическая модификация белков пищевого назначения является одним из перспективных способов регулирования их функциональных свойств [1]. В случае ацилирования белков возникают новые необычные связи, в которых участвуют ε-аминогруппы остатков лизина, входящих в состав белка. Появление таких модифицированных аминокислот в белке ставит вопрос об их пищевой ценности и путях метаболизма. При изучении протеолитического расщепления соответствующих пептидных моделей *in vitro* можно получить ценную информацию о биодоступности модифицированных аминокислот и содержащих их белков.

В настоящей работе осуществлен синтез тафцина, его ε-ацетильного производного, а также ряда модельных N^ε-лизинзамещенных дипептидов. Тафцин Thr-Lys-Pro-Arg — фрагмент тяжелой цепи иммуноглобулина IgG, обладающий широким спектром биологического действия [2], является удобным субстратом для вышеуказанных исследований, поскольку содержит три функциональные аминокислоты, которые могут подвергаться химической модификации. Кроме того, представляет интерес изучение устойчивости этого пептида к действию пищеварительных ферментов и возможности всасывания его в кишечно-пищеварительном тракте. Синтез тафцина осуществляли в водной среде. Синтез пептидов в водных средах обладает рядом преимуществ перед синтезом в органических растворителях [3]. Наиболее привлекательной является возможность проведения синтеза в ряде случаев без защиты боковых функциональных групп аминокомпонента, что способствует увеличению растворимости пептида и упрощает выделение целевых соединений. Контроль pH важен, поскольку одновременно с образованием амидной связи протекает нежелательный гидролиз активированного эфира, причем обе реакции являются pH-зависимыми. Согласно литературным данным, скорость аминолиза преобладает над скоростью гидролиза в щелочной среде, что связано с более полным депротонированием аминогруппы, а значит, и с большей реакционной способностью аминокомпонента в такой среде [4, 5]. Наиболее удобным объектом для применения этого подхода к синтезу пептидов и являются пептиды, содержащие C-концевой аргинин, который в этом случае используется в свободном виде.

Сокращения: DMF — диметилформамид.

**Действие тканевых препаратов на лизинсодержащие субстраты
(в растворе Рингера, рН 7,4) ***

№	Субстрат	Гомогенат **		
		тонкой кишки	печени	почек
I	N-[α , γ -(Ac-Glu)-Lys 1 ↓ 2 ↓	—	—	—
II	Gly-(N ^ε -Ac)-Lys	1+, 2-		
VI	Pro-Arg ↓	+	+	+
VII	Thr-Lys 1 ↓ 2 ↓ 3 ↓	+	+	+
X	Thr-Lys-Pro-Arg 1 ↓ 4 ↓ 2 ↓ 3 ↓	1+, 2+, 3+	1+, 2+, 3+	1+, 2+, 3+
XI	Thr-(N ^ε -Ac)-Lys-Pro-Arg	1+, 2+, 3+, 4-	1+, 2+, 3+, 4-	1+, 2+, 3+, 4-

* Эксперименты проведены совместно с Р. И. Кушаком, И. Л. Тарвид, Н. А. Басовой (Институт биологии АН ЛатвССР).

** Здесь и в табл. 2 плюс означает, что связь, указанная стрелкой, расщепляется, минус — что связь не расщепляется.

Действие протеолитических ферментов на лизинсодержащие субстраты

№	Субстрат	Протеолитический фермент **		
		панкреатин	лейцинаминопептидаза	карбокси-пептидаза В
I	N-[α , γ -(Ac-Glu)-Lys 1 ↓ 2 ↓	—	—	—
II	Gly-(N ^ε -Ac)-Lys	1+, 2-	1+, 2-	—
III	Phe-Lys 1 ↓ 2 ↓	+	+	+
IV	Phe-(N ^ε -Ac)-Lys 1 ↓ 2 ↓	1+, 2-	1+, 2-	—
V	Phe-(N ^ε -Suc)-Lys ↓	1+, 2-	1+, 2-	1-, 2-
VI	Pro-Arg ↓	+	—	+
VII	Thr-Lys 1 ↓ 2 ↓ 3 ↓	+	+	+
X	Thr-Lys-Pro-Arg 1 ↓ 4 ↓ 2 ↓ 3 ↓	1-, 2-, 3+		1-, 2-, 3+
XI	Thr-(N ^ε -Ac)-Lys-Pro-Arg	1-, 2-, 3+, 4-	1+, 2-, 3-, 4-	1-, 2-, 3+, 4-

при этом аминокруппа сохраняет свою реакционную способность. Выходы на стадии аминолиза составляли 81—97%. По окончании реакции триметилсилильную защитную группу отщепляли в процессе выделения продукта конденсации в водной или спиртовой среде. N-Концевую Вос-группу и N^ε-Z-группу удаляли в стандартных условиях. В полученные таким путем дипептиды вводили по N^ε-аминогруппе лизина различные ацильные остатки. Введение N^ε-ацетильной и сукцинильной групп осуществляли в водно-щелочной среде с использованием соответствующих симметричных ангидридов. Ранее нами было описано применение ангидрида N-ацетилглутаминовой кислоты для химической модификации миофибриллярных и дрожжевых белков [7]. При взаимодействии этого реагента с ϵ -аминогруппой лизина реакция протекает с образованием смеси α - и γ -ацилизомеров.

Гидролитическое расщепление полученных пептидных субстратов под действием тканевых ферментных препаратов животных (тонкой кишки, печени и почек) изучали в Институте биологии АН ЛатвССР (табл. 1). Кроме того, был исследован гидролиз этих пептидов протеолитическими ферментами (табл. 2).

Полученные данные позволяют сделать вывод, что изопептидная связь во всех случаях устойчива и не подвергается расщеплению. Все α -амидные связи в синтезированных субстратах расщепляются в присутствии использованных тканевых препаратов. Индивидуальные протеолитические ферменты гидролизovali субстраты в соответствии со своей специфичностью. Следует отметить, что α -амидная связь, примыкающая к модифицированной аминокислоте, также расщепляется — особенно наглядно это проявлялось при использовании в качестве субстрата свободного дипептида Phe-Lys и его модифицированного аналога Phe-(N^ε-Ac)-Lys.

На основании проведенных исследований можно предположить, что белковые молекулы, подвергнутые химической модификации путем ацилирования, подвергаются расщеплению в пищеварительном тракте по связям, примыкающим к модифицированному лизину.

Более подробно механизм расщепления и дальнейшего биохимического превращения описываемых в данной публикации субстратов будет обсуждаться в дальнейших публикациях.

Экспериментальная часть

Для синтеза использовали аминокислоты и их производные фирмы Reanal (Венгрия). N-Оксисукцинимидные эфиры N-защищенных аминокислот получали согласно [8], пентафторфениловые эфиры — согласно [9]. Температуры плавления определяли на приборе Кофлера (ГДР). Оптическое вращение измеряли на поляриметре Perkin — Elmer 141 (США). Аминокислотный анализ пептидов после гидролиза 6 н. HCl (110° С, 24 ч) проводили в стандартных условиях на аминокислотном анализаторе Hitachi-835 (Япония). ТСХ проводили на пластинках Merck DC-Fertigplatten Kieselgel 60 F₂₅₄ в хроматографических системах: изопропанол — пиридин — уксусная кислота — вода, 10 : 5 : 4 : 4 (А); пропанол — 25% водный аммиак, 7 : 3 (Б); изопропанол — пиридин — вода, 4 : 1 : 1 (В); *n*-бутанол — изопропанол — вода — хлоруксусная кислота, 65 : 15 : 20 : 3 (Г); фенол — вода, 3 : 1 (Д). Вещества на пластинках детектировали с помощью нингидрина. Растворители упаривали в вакууме при 30—40° С. Оценку действия тканевых препаратов и индивидуальных ферментов на пептидные субстраты проводили с помощью ТСХ.

N^ε-[α , γ -(N-Ацетилглутамил)]-L-лизин (I). К 10 г (28,0 ммоль) медного комплекса L-лизина в 50 мл воды при перемешивании и рН 8,0—9,0 порциями прибавляли 10,6 г (62,0 ммоль) ангидрида N-ацетилглутаминовой кислоты [10]. Реакционную смесь перемешивали 1 ч, подкисляли до рН 3,0 разбавленной HCl и прибавляли 100 мл метанола. Выпавший осадок отфильтровывали, фильтрат упаривали и остаток растворяли в 100 мл воды. Через полученный раствор пропускали ток сероводорода до исчезновения голубой окраски, осадок сульфида меди отфильтровывали, фильтрат упаривали, остаток перекристаллизовывали из этанола. Выход 3,40 г (38,2%). Т. пл. 201—205° С, R_f 0,20 (А), 0,28 (Б). Аминокислотный анализ: Glu 0,93 (1); Lys 1,00 (1).

Глицил-(N^ε-ацетил)-L-лизин (II). К суспензии 7,84 г (28 ммоль) N^ε-бензилоксикарбонил-L-лизина в 30 мл DMF прибавляли 11,84 г (56,4 ммоль) N,O-бистриметилсилацетамида, перемешивали реакционную смесь до полного растворения осадка и затем прибавляли 8,0 г (23,4 ммоль) пентафторфенилового эфира *трет*-бутилоксикарбонилглицина. Через 2 ч к реакционной смеси добавляли 150 мл этилацетата и раствор промывали 10% водным раствором лимонной кислоты (3 × 50 мл) и водой (3 × 50 мл). Органическую фазу сушили над Na₂SO₄ и упаривали. Остаток растворяли в эфире и продукт осаждали добавлением гексана. Выпавшее масло промывали смесью гексан — эфир (1 : 1) и высушивали в вакууме. В итоге получали 10,1 г (97%) *трет*-бутилоксикарбонилглицил-N^ε-бензилоксикарбонил-L-лизина, R_f 0,60 (В). Полученный продукт подвергали каталитическому гидрогенолизу в присутствии Pd-черни в течение 6 ч в смеси метанол — уксусная кислота (20 : 1). Затем катализа-

тор отфильтровывали, промывали метанолом, фильтрат упаривали в вакууме и к остатку добавляли эфир, выпавший осадок отфильтровывали, промывали эфиром и этилацетатом. В итоге получали 8,16 г (98,5%) *трет*-бутилоксикарбонилглицил-*L*-лизина ацетата, R_f 0,32 (Г).

2,50 г (6,89 ммоль) ацетата *трет*-бутилоксикарбонилглицил-*L*-лизина растворяли в 40 мл воды и к полученному раствору постепенно добавляли 4,85 г (47,5 ммоль) уксусного ангидрида, поддерживая pH 9,5. Затем реакционную смесь подкисляли до pH 3,0 и добавляли твердый NaCl до насыщения. Вышавшее масло экстрагировали этилацетатом (3 × 50 мл), экстракт промывали насыщенным раствором NaCl, сушили над Na₂SO₄ и упаривали. Остаток растворяли в 5 мл трифторуксусной кислоты, через 30 мин к раствору прибавляли 100 мл эфира, выпавшее масло отделяли декантацией, промывали эфиром и высушивали в вакууме. Полученный продукт растворяли в 15 мл изопропанола и к раствору добавляли 0,5 мл насыщенного водного раствора аммиака. Выпавший осадок отфильтровывали, промывали изопропанолом и эфиром. Выход 1,34 г (79,5%), R_f 0,50 (Б), $[\alpha]_D^{20}$ —13,6° (*c* 1, H₂O). Аминокислотный анализ: Gly 1,00 (1), Lys 0,95 (1).

L-Фенилаланил-*L*-лизин (III). К раствору 2,92 г (8,0 ммоль) *N*-оксисукцинимидного эфира *трет*-бутилоксикарбонил-*L*-фенилаланина в 40 мл DMF прибавляли 2,38 г (8,5 ммоль) *N*^ε-бензилоксикарбонил-*L*-лизина и 3,45 г (17 ммоль) *N*,*O*-бистриметилсилацетамида. Реакционную смесь перемешивали 12 ч, добавляли 100 мл этилацетата, промывали 10% лимонной кислотой (3 × 20 мл), водой (3 × 20 мл), сушили над Na₂SO₄ и упаривали в вакууме. В итоге получили бесцветное масло. Выход 4,10 г (97%), R_f 0,81 (Г).

3,85 г (7,30 ммоль) полученного защищенного дипептида подвергали каталитическому гидрогенолизу в присутствии Pd-черни в течение 10 ч в смеси метанол — вода — уксусная кислота (4 : 2 : 1). Катализатор отфильтровывали, промывали метанолом, объединенный фильтрат упаривали. Остаток растирали с изопропанолом, образовавшийся осадок отфильтровывали, промывали эфиром и высушивали в вакууме над P₂O₅. Выход *N*-*трет*-бутилоксикарбонил-*L*-фенилаланил-*L*-лизина ацетата 2,51 г (87,8%), т. пл. 208—210° С, R_f 0,41 (Б).

0,60 г (1,6 ммоль) *N*-*трет*-бутилоксикарбонил-*L*-фенилаланил-*L*-лизина ацетата растворяли в 2 мл трифторуксусной кислоты, через 30 мин прибавляли эфир, выпавший осадок отфильтровывали, промывали эфиром, высушивали в вакууме над P₂O₅, растворяли в смеси изопропанол — 25% водный аммиак (7 : 3). Полученный раствор наносили на колонку (35 × 120 мм) с силикагелем (Merck) и элюировали вышеуказанной смесью. Фракции элюата, содержащие чистый дипептид, объединяли и упаривали до объема 10 мл, добавляли 80 мл эфира, образовавшийся осадок отделяли и высушивали в вакууме над КОН. Выход (III) 0,42 г (93%), R_f 0,39 (Б). Аминокислотный анализ: Phe 0,97 (1); Lys 1,00 (1).

L-Фенилаланил-*N*^ε-ацетил-*L*-лизин (IV). К раствору 1,0 г (2,11 ммоль) *N*-*трет*-бутилоксикарбонил-*L*-фенилаланил-*L*-лизина ацетата в 20 мл воды постепенно прибавляли 1,15 мл (12,2 ммоль) уксусного ангидрида, поддерживая pH 8,5—9,5 добавлением 1 н. NaOH. Затем реакционную смесь подкисляли до pH 3,0, экстрагировали этилацетатом (3 × 30 мл). Экстракт промывали водой, сушили над Na₂SO₄ и упаривали. Остаток растирали с эфиром, образовавшийся осадок отфильтровывали и высушивали в вакууме. Выход *N*-*трет*-бутилоксикарбонил-*L*-фенилаланил-*N*^ε-ацетил-*L*-лизина 0,94 г (98%). Т. пл. 128—130° С, R_f 0,61 (Г), 0,52 (Б).

0,80 г (1,76 ммоль) *N*-*трет*-бутилоксикарбонил-*L*-фенилаланил-*N*^ε-ацетил-*L*-лизина растворяли в 5 мл трифторуксусной кислоты, через 30 мин к раствору добавляли 50 мл эфира. Выпавший осадок отфильтровывали, промывали эфиром, высушивали в вакууме, растворяли в метаноле и к полученному раствору добавляли анионит IRA-402 (CH₃COO⁻-форма). Через 1 ч смолу отфильтровывали, промывали метанолом, объединенный фильтрат упаривали. Остаток растирали с эфиром, выпавший осадок отфильтровывали и высушивали в вакууме над P₂O₅. Выход (IV)

0,39 г (90%), R_f 0,67 (Б). Аминокислотный анализ: Phe 0,93 (1); Lys 1,00 (1).

L-Фенилаланил-N^ε-сукцинил-L-лизин (V). К раствору 1,70 г (3,77 ммоль) *N-трет*-бутилоксикарбонил-*L*-фенилаланил-*L*-лизина ацетата в 50 мл воды прибавляли порциями 1,88 г (18,8 ммоль) янтарного ангидрида, поддерживая pH 8,5—9,5 добавлением *N*-метилморфолина. Затем реакцию смесь подкисляли до pH 2,0 H_2SO_4 , добавляли твердый NaCl до насыщения и выпавшее масло экстрагировали этилацетатом (3×50 мл). Экстракт промывали 10% лимонной кислотой (3×100 мл) и насыщенным водным раствором NaCl (3×50 мл), высушивали над Na_2SO_4 и упаривали. Остаток растворяли в 5 мл трифторуксусной кислоты, через 30 мин добавляли 50 мл эфира. Выпавший осадок отфильтровывали, промывали эфиром и высушивали в вакууме. Полученный продукт растворяли в 50 мл изопропанола. К раствору прибавляли 0,3 мл 25% водного аммиака, выпавший осадок отфильтровывали, промывали изопропанолом и высушивали в вакууме над P_2O_5 . Выход (V) 1,14 г (77%), R_f 0,39 (Б). Аминокислотный анализ: Phe 1,04 (1); Lys 1,00 (1).

L-Пролил-L-аргинин (VI). К 5,75 г (33,0 ммоль) *L*-аргинина в 40 мл воды при перемешивании и pH 8,0 прибавляли 11,0 г (34,8 ммоль) оксисукцинимидного эфира *N-трет*-бутилоксикарбонил-*L*-пролина. Реакционную смесь перемешивали 3 ч, поддерживая pH 7,8—8,0 добавлением *N*-метилморфолина. Затем реакцию смесь подкисляли до pH 5,0, осадок отфильтровывали, промывали изопропанолом, этилацетатом и высушивали в вакууме над P_2O_5 . Выход *N-трет*-бутилоксикарбонил-*L*-пролил-*L*-аргинина 11,0 г (90%). Т. пл. 178—183° С, $[\alpha]_D^{20}$ —48,2° (с 1,0, метанол), R_f 0,78 (А), 0,43 (Г).

3,0 г (8,1 ммоль) *N-трет*-бутилоксикарбонил-*L*-пролил-*L*-аргинина растворяли в 10 мл трифторуксусной кислоты, через 30 мин к раствору прибавляли 100 мл эфира. Выпавший осадок отфильтровывали, промывали эфиром, высушивали в вакууме и растворяли в метаноле. Раствор обрабатывали анионитом IRA-402 (CH_3COO^- -форма), анионит отфильтровывали, промывали метанолом, объединенный фильтрат упаривали. К остатку добавляли эфир, образовавшийся осадок отфильтровывали и высушивали. Выход (VI) 2,70 г (~100%, ацетат), R_f 0,61 (А), 0,27 (В), 0,17 (Г). Аминокислотный анализ: Pro 0,97 (1); Arg 1,00 (1).

L-Треонил-L-лизин (VII). К суспензии 3,60 г (14,6 ммоль) *N^ε-трет*-бутилоксикарбонил-*L*-лизина в 15 мл DMF прибавляли 6,93 г (34,1 ммоль) *N,O*-бистриметилсилацетамида. Реакционную смесь перемешивали до полного растворения осадка, добавляли 3,0 г (9,5 ммоль) *N*-оксисукцинимидного эфира *N-трет*-бутилоксикарбонил-*L*-треонина и перемешивали 10 ч. Затем к реакционной смеси добавляли 120 мл этилацетата и полученный раствор промывали 10% лимонной кислотой (3×25 мл), водой (3×25 мл), высушивали над Na_2SO_4 и упаривали. Остаток растворяли в 10 мл трифторуксусной кислоты, через 30 мин к раствору прибавляли 100 мл эфира. Выпавший осадок отфильтровывали, промывали эфиром, высушивали в вакууме и растворяли в метаноле. К раствору прибавляли анионит IRA-402 (CH_3COO^- -форма), перемешивали 30 мин, отфильтровывали анионит, промывали его метанолом. Объединенный фильтрат упаривали. К остатку добавляли 100 мл эфира, образовавшийся осадок отфильтровывали, промывали эфиром и высушивали в вакууме над P_2O_5 . Выход (VII) 3,32 г (81,4%). Т. пл. 150—153° С, R_f 0,17 (Б), $[\alpha]_D^{20}$ —6,3° (с 1,0, H_2O).

N-трет-Бутилоксикарбонил-*N^ε*-бензилоксикарбонил-*L*-лизил-*L*-пролил-*L*-аргинин (VIII). 5,0 г (13,9 ммоль) *N-трет*-бутилоксикарбонил-*L*-пролил-*L*-аргинина растворяли в 25 мл трифторуксусной кислоты, через 25 мин раствор упаривали. Остаток растирали с эфиром, образовавшийся осадок отфильтровывали, промывали эфиром, высушивали в вакууме и растворяли в смеси диоксан — вода (1 : 2). К полученному раствору при pH 7,5 прибавляли порциями при перемешивании 6,75 г (14,1 ммоль) *N*-оксисукцинимидного эфира *N-трет*-бутилоксикарбонил-*N^ε*-бензилоксикарбонил-*L*-лизина. Реакционную смесь перемешивали 40 ч при pH

7,5, экстрагировали этилацетатом (3 × 30 мл). Водную фазу подкисляли 2 н. HCl до pH 3,3, выпавшее масло отделяли, пересаждали из этанола эфиром и высушивали в вакууме. Выход (VIII) 4,05 г (76,6%). Т. пл. 110—114° С, R_f 0,59 (Г), $[\alpha]_D^{20}$ —36,7° (с 1, метанол).

N-трет-Бутилоксикарбонил-*L*-треонил-*N*^ε-бензилоксикарбонил-*L*-лизил-*L*-пролил-*L*-аргинин (IX). 3,0 г (4,60 ммоль) соединения (VIII) растворяли в 10 мл трифторуксусной кислоты, через 30 мин к раствору прибавляли 100 мл эфира. Выпавший осадок отфильтровывали, промывали эфиром, высушивали в вакууме и растворяли в 20 мл воды. К полученному раствору при pH 7,5 прибавляли 1,90 г (6,01 ммоль) *N*-оксисульфанимидного эфира *N*-трет-бутилоксикарбонил-*L*-треонина, перемешивали 2 ч, поддерживая pH 7,5 добавлением *N*-метилморфолина. Реакционную смесь экстрагировали этилацетатом (2 × 50 мл) и водную фазу упаривали в вакууме. Остаток растворяли в изопропаноле, добавляли эфир, выпавший осадок отфильтровывали, промывали эфиром и высушивали в вакууме над P₂O₅. Выход (IX) 2,89 г (83,1%), R_f 0,85 (А), 0,35 (Г) $[\alpha]_D^{20}$ —41,7° (с 1,0, метанол).

L-Треонил-*L*-лизил-*L*-пролил-*L*-аргинин (X). 2,20 г (2,90 ммоль) соединения (IX) подвергали каталитическому гидрогенолизу в присутствии 5% Pd/C в течение 6 ч в смеси метанол — уксусная кислота (4 : 1). Катализатор отфильтровывали, фильтрат упаривали, остаток растирали с этилацетатом. Образовавшийся осадок отфильтровывали, промывали этилацетатом и высушивали в вакууме. Выход 1,78 г, R_f 0,69 (А).

1,0 г полученного продукта растворяли в 5 мл трифторуксусной кислоты, через 40 мин к раствору прибавляли 50 мл эфира, выпавший осадок отфильтровывали, промывали эфиром, высушивали в вакууме над P₂O₅ и растворяли в 10 мл воды. Полученный раствор наносили на колонку с CM-сефадексом С-25 (200—400 меш), уравновешенную 0,1 М ацетатом аммония, и элюировали в градиенте концентрации 0,1—0,25 М ацетата аммония. Фракции, содержащие тетрапептид, объединяли и лиофилизировали. Остаток высушивали в вакууме при 40° С. Выход (X) 0,72 г, R_f 0,29 (А), $[\alpha]_D^{20}$ —60,5° (с 0,4; 5% уксусная кислота). Аминокислотный анализ: Thr 0,94 (1); Lys 1,00 (1); Pro 0,96 (1); Arg 1,02 (1).

L-Треонил-*N*^ε-ацетил-*L*-лизил-*L*-пролил-*L*-аргинин (XI). К раствору 0,68 г *N*-трет-бутилоксикарбонил-*L*-треонил-*L*-лизил-*L*-пролил-*L*-аргинина в 5 мл воды прибавляли постепенно 1,0 мл уксусного ангидрида, поддерживая pH 8,0—8,5 добавлением *N*-метилморфолина. Затем реакционную смесь упаривали в вакууме, остаток растворяли в 10 мл метанола. К раствору прибавляли 10 мл эфира, выпавший осадок отфильтровывали, промывали эфиром и высушивали в вакууме. Остаток растворяли в 5 мл трифторуксусной кислоты, через 30 мин прибавляли 50 мл эфира, выпавший осадок отфильтровывали, промывали эфиром, высушивали в вакууме и растворяли в 30 мл метанола. К раствору прибавляли анионит IRA-402 (CH₃COO⁻-форма), перемешивали 30 мин, анионит отфильтровывали, фильтрат упаривали. К остатку прибавляли этилацетат, образовавшийся осадок отфильтровывали, промывали этилацетатом и высушивали в вакууме над P₂O₅. Выход (XI) 0,47 г, R_f 0,40 (Б), 0,80 (Д). Аминокислотный анализ: Thr 0,94 (1); Lys 1,00 (1); Pro 0,92 (1); Arg 1,04 (1).

ЛИТЕРАТУРА

1. Schwenke K. D. *Nahrung*, 1978, v. 22, № 1, p. 101—120.
2. Чипенс Г. И., Веретенникова Н. И. В кн.: Структура и функции низкомолекулярных пептидов. Рига: Зиватне, 1980, с. 178—226.
3. Самойлова Н. А., Давидович Ю. А., Рогожин С. В. *Биоорганическая химия*, 1984, т. 10, № 6, с. 725—750.
4. Самойлова Н. А., Давидович Ю. А., Рогожин С. В. *Биоорганическая химия*, 1983, т. 9, № 3, с. 358—364.
5. Klausner J. S., Meiri T. H. In: *Peptides*. Proc. of the 5th Amer. Pept. Symp./Eds Goodman M., Meienhofer J. N. Y.: Helsted Press, J. Willey and Sons, 1977, p. 536—538.
6. Андреев С. М., Козюков В. П., Миронова Н. В. Использование силильной защиты в пептидном синтезе. Обзор. информация. М.: НИИТЭХИМ, 1980.

7. А. с. 856426 (СССР). Способ химической модификации пищевых белков/Андреев С. М., Галкин О. М., Евдокименко С. Г., Вайнерман Е. С., Рогожин С. В. Оpubл. Б. И., 1981, № 31.
8. Anderson G. W., Zimmerman J. E., Callahan F. M. J. Amer. Chem. Soc., 1964, v. 86, № 9, p. 1839—1842.
9. Kisfaludy L., Löw M., Nyeki O., Szirtes R., Schön I. Lieb. Ann., 1973, № 9, p. 1421—1429.
10. Butas A., Egnell C. Ann. chim. (France), 1965, v. 10, p. 313—317.

Поступила в редакцию
12.XI.1985

SYNTHESIS OF TUFTSIN AND N^ε-LYSINE-SUBSTITUTED PEPTIDES AS
MODEL COMPOUNDS FOR STUDYING THE ENZYMATIC HYDROLYSIS OF
MODIFIED PROTEINS

ANDREEV S. M., GALKIN O. M., ROGOZHIN S. V., SAMOILOVA N. A.

*A. N. Nesmeyanov Institute of Organo-Element Compounds Academy
of Sciences of the USSR, Moscow*

Tuftsins and N^ε-Ac-tuftsins were obtained using the respective N-hydroxysuccinimide esters in aqueous medium at pH 7,5-8,0. Model N^ε-acyllysine-containing peptides were synthesized in organic solvents using the trimethylsilyl protection. The obtained N^ε-acyl peptides were susceptible to the attack by proteolytic enzymes and enzymatically active tissue preparations.