



УДК 547.962 : 542.91

СИНТЕЗ АНАЛОГОВ БРАДИКИНИНА, МОДИФИЦИРОВАННЫХ  
В ПОЛОЖЕНИИ 8 \**Крит Н. А., Равдель Г. А., Иванов В. Т.]**Институт биоорганической химии им. М. М. Шемякина  
Академии наук СССР, Москва*

В поисках биологически активных аналогов брадикинина, обладающих повышенной устойчивостью к действию кининаз, синтезированы [8-N-метил-L-фенилаланин]-брадикинин, [6-глицин, 8-N-метил-L-фенилаланин]-брадикинин, [6-глицин, 8-β-циклогексил-L-молочная кислота]-брадикинин и лизил-[6-глицин, 8-L-фенилмолочная кислота]-брадикинин. Синтез осуществлен классическими методами, последовательным наращиванием пептидной цепи с незащищенным C-концевым аргинином.

Брадикинин (1) наряду с другими кининами принимает участие в регуляции важнейших физиологических процессов. Изучение метаболизма брадикинина показало, что основными ферментами, ответственными за быстрый распад гормона, являются карбоксипептидаза II (кининаза I), отщепляющая C-концевой аргинин [1], и пептидил-дипептидаза (кининаза II), расщепляющая амидную связь -Pro<sup>7</sup>-Phe<sup>8</sup>- с образованием дипептида Phe-Arg [2]. В последние годы особенно большая роль в инактивации брадикинина отводится кининазе II, которая, как показано недавно, идентична ангиотензинпревращающему ферменту, содержащемуся в плазме крови и тканях различных органов [3, 5].

Быстрая инактивация брадикинина кининазами создаст значительные трудности при изучении механизма действия гормона, а также препятствует его использованию при нарушениях кровообращения. В связи с этим получение аналогов, проявляющих устойчивость к действию ферментов и сохраняющих высокую биологическую активность, может иметь большое научное и практическое значение.

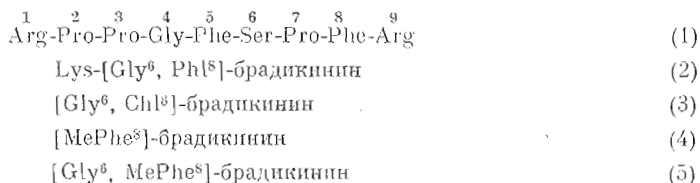
Одним из возможных путей к решению этой задачи является модификация аминокислотного остатка в положении 8, находящегося в центре атаки пептида кининазами I и II. Перспективность этого направления подтверждается результатами, полученными нами при изучении депептидных аналогов брадикинина [6]: гипотензивная активность [6-глицин, 8-фенилмолочная кислота]-брадикинина, содержащего вместо атакующей кининазой II амидной группы сложноэфирную, в опытах на кроликах и крысах соответственно в 2 и 4 раза выше активности брадикинина; длитель-

\* Все амино- и оксикислоты относятся к L-ряду. Сокращения аминокислот даны в соответствии с правилами IUPAC. Кроме того, Phl — β-фенил-L-молочная кислота; Chl — β-циклогексил-L-молочная кислота; MePhe — N-метилфенилаланин; ДЦГК — N,N'-дициклогексилкарбодимид; ТГФ — тетрагидрофуран; ДМФА — диметилформамид.

ность действия также увеличена в 2—3 раза. Повышенную устойчивость к действию дипептидилкарбоксипептидазы и биологическую активность проявляют также аналоги, в которых  $-\text{Phe}^8$ - заменен на остаток эритро- $\alpha$ -амино- $\beta$ -фенилмасляной кислоты [7] или  $\beta$ -гомофенилаланина [8].

Другая возможность получения высокоактивных соединений пролонгированного действия, как следует из изучения скорости ферментативного расщепления лизил-брадикинина, метниллилизил-брадикинина и других высших гомологов брадикинина [9], заключается в удлинении пептидной цепи по N-концу.

В настоящем сообщении описан синтез новых аналогов брадикинина, модифицированных в положении 8. С целью усиления эффекта, достигнутого заменой амидной связи на сложноэфирную, нами синтезированы удлиненный депептидный аналог — лизил-[6-глицин, 8-фенилмолочная кислота]-брадикинин (2), а также [6-глицин, 8- $\beta$ -циклогексилмолочная кислота]-брадикинин (3), в котором ароматическая группировка боковой цепи заменена на алициклическую. Предпринимая синтез аналога (3), мы имели в виду высокую активность [8-циклогексилаланин]-брадикинина, обнаруженную Шенхом с соавт. [10], составляющую 190—260% активности брадикинина. Хотя в более поздних исследованиях эти данные не нашли подтверждения [11, 12], тем не менее представлялось интересным изучить влияние на биологическую активность брадикинина одновременной замены в положении 8 амидной и ароматической групп.



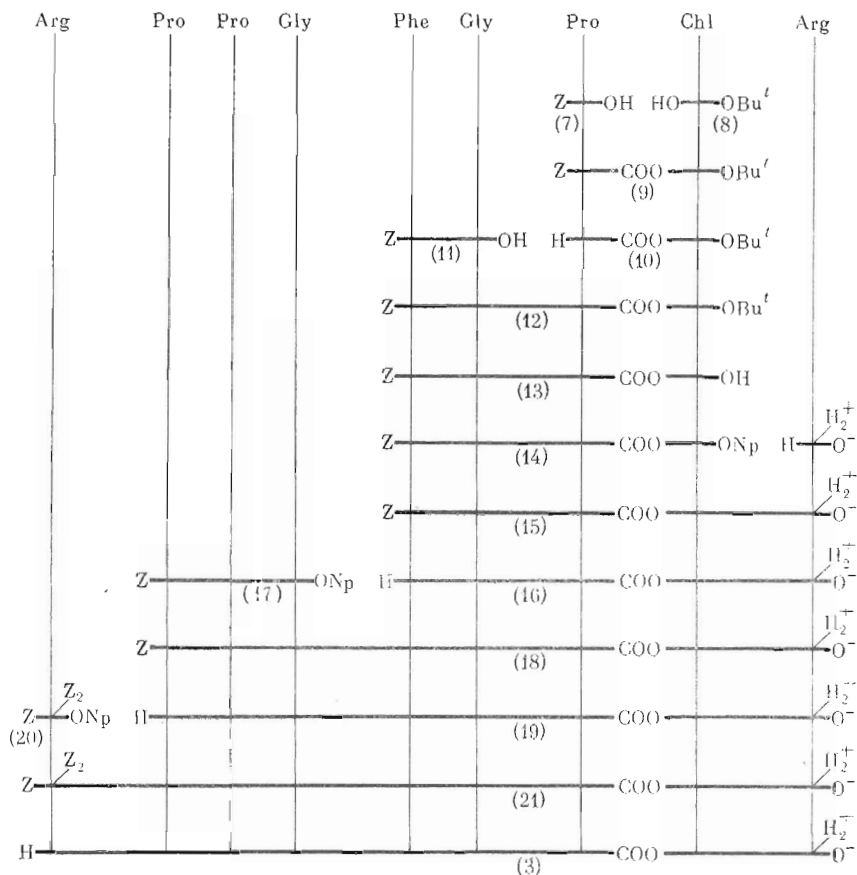
Предполагая, что кининаза II, как кининаза I и многие другие протеазы, обладает эстеролитической активностью, мы предприняли поиски группировки, более устойчивой к ферментативному расщеплению, чем сложноэфирная. К таким группировкам следует, по-видимому, отнести метиламидную группу. На примере синтетического пептапептида, содержащего N-метилфенилаланин, показано, что метиламидная группа не расщепляется трипсином, химотрипсином и лейцинаминопептидазой [13]. С другой стороны, введение N-метиламинокислот в такие биологически активные соединения, как грамицидин S [14] и элдоизин [15], не привело к потере биологической активности. Основываясь на этих данных, мы предприняли синтез [8-N-метилфенилаланин]-брадикинина (4), а также упрощенного аналога [6-глицин, 8-N-метилфенилаланин]-брадикинина (5).

Аналог (2) получен конденсацией хлоргидрата [Gly<sup>6</sup>, Phe<sup>8</sup>]-брадикинина с *n*-нитрофениловым эфиром N <sup>$\alpha$</sup> , N <sup>$\epsilon$</sup> -добензилоксикарбониллизина и последующим гидролизом защищенного декадепептида (6).

Синтез аналога (3) осуществлен по схеме 1. Исходная  $\beta$ -циклогексилмолочная кислота получена гидрированием  $\beta$ -фенилмолочной кислоты в присутствии катализатора Брауна [16].

Попытка использовать для получения аналогов (4) и (5) незащищенный аргинин по схеме, разработанной нами ранее для синтеза брадикинина и аналогов [12], оказалась безуспешной. Как и следовало ожидать, N-метилфенилаланиларгинин не вступал в реакцию с *n*-нитрофениловым эфиром бензилоксикарбонилпролина. Метод смешанных ангидридов и карбодимидный метод также не дали положительных результатов. В связи с этим в качестве исходного соединения был использован *n*-нитробензиловый эфир N <sup>$\epsilon$</sup> -нитроаргинина. После получения защищенного C-концевого трипептида все защитные группы были удалены обработкой HF с последующим гидрированием [17], и дальнейшее наращивание пеп-

Схема 1



тидной цепи осуществлялось с незащищенным С-концевым аргинином (схема 2).

Результаты биохимического изучения синтезированных аналогов (2) — (4) будут приведены в следующей публикации.

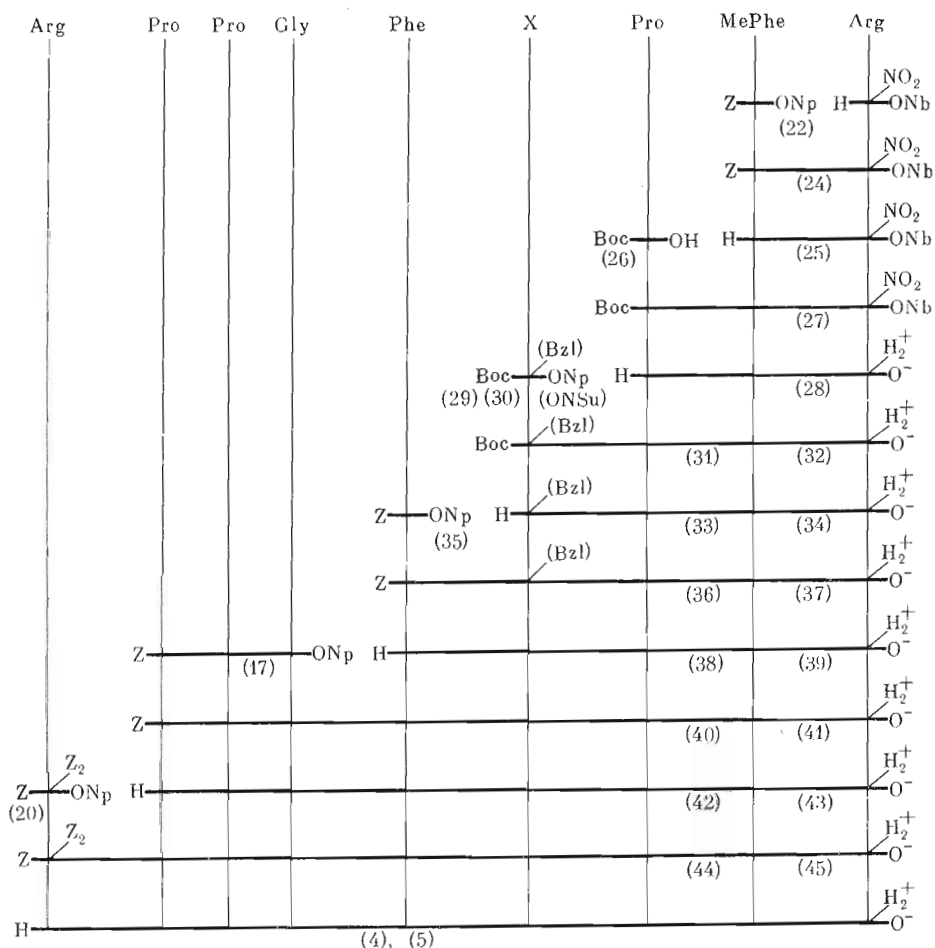
### Экспериментальная часть

Температуры плавления определены на нагревательном столике и приведены без исправления. Индивидуальность полученных соединений проверяли ТСХ на пластинках силуфол в системах *n*-бутанол — аммиак, 7 : 3 (верхний слой) и *n*-бутанол — вода — уксусная кислота, 4 : 5 : 1 (верхний слой), а также электрофорезом на бумаге в вертикальном приборе при 900 В (градиент 28 В·см<sup>-1</sup>) в 1 М ацетатном буфере (рН 2,4).

Растворы веществ в органических растворителях высушивали над MgSO<sub>4</sub> и упаривали в вакууме при температуре не выше 40°. Выходы и константы полученных соединений приведены в таблице. Данные элементного анализа синтезированных соединений соответствовали вычисленным значениям содержания С, Н, N.

**β-Циклогексил-L-молочная кислота.** Раствор 1 г *L*-фенилмолочной кислоты в 23 мл воды гидрировали с 0,3 г платинохлористоводородной кислоты и 0,1 г NaBH<sub>4</sub> в течение 24 ч, прибавляли новую порцию восстанавливающих реагентов и гидрировали еще 24 ч. К реакционной смеси приливали 30 мл этилацетата, фильтровали, этилацетатный слой отделяли, сушили и упаривали. Остаток переосаждали из эфира пестролейным эфиром и полученную кислоту кристаллизовали из воды. Выход 0,72 г (70%). Т. пл. 92—94°, [α]<sub>D</sub><sup>20</sup> —7,1° (с 1, MeOH).

С х е м а 2



X = Ser (4), (30), (32), (34), (37), (39), (41), (43), (45);

X = Gly (5), (29), (31), (33), (36), (38), (40), (42), (44);

*трет-Бутиловый эфир ацетокси-β-циклогексилмолочной кислоты.* 3,85 г β-циклогексил-L-молочной кислоты нагревали 2 ч в 30 мл уксусного ангидрида при 100°, уксусный ангидрид отгоняли, остаток упаривали несколько раз с бензолом, сушили в вакууме и получали 4,75 г (~100%) хроматографически однородного масла (ТСХ, окись алюминия, хлороформ — этилацетат, 3 : 2), которое растворяли в 50 мл хлористого метилена, содержащего 0,33 мл конц. H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>, и насыщали при 0° изобутиленом до удвоения объема. Раствор выдерживали 48 ч при комнатной температуре, продували воздухом, прибавляли 50 мл эфира, промывали 10% Na<sub>2</sub>CO<sub>3</sub> и водой, сушили и упаривали. Получали 5,2 г (86%) трет-бутилового эфира ацетокси-β-циклогексилмолочной кислоты. Найдено: M 270 (определен масс-спектрометрически). C<sub>15</sub>H<sub>26</sub>O<sub>4</sub>. Вычислено: M 270.

*трет-Бутиловый эфир β-циклогексилмолочной кислоты (8).* К раствору 5,2 г трет-бутилового эфира ацетокси-β-циклогексилмолочной кислоты в 8 мл 70% метанола прибавляли при 0° с перемешиванием 6,8 мл 2 н. NaOH. Перемешивание продолжали 4 ч при комнатной температуре, добавляли 4 мл воды и многократно экстрагировали эфиром. Объединенные эфирные экстракты промывали водой, сушили, упаривали и остаток перегоняли. Получали 3,06 г (70%) эфира (8). Т. кип. 85—87°/(3—4)·10<sup>-2</sup> мм, [α]<sub>D</sub><sup>20</sup> + 3,1° (с 1, MeOH).

Соединение	Брутто-формула	Т. пл., °С	$[\alpha]_D^{20}$ (с 1, ДМСО)	Выход, %
(2) Lys-[Gly <sup>6</sup> , Phe <sup>18</sup> ]-брадикинин, тетраацетат	C <sub>64</sub> H <sub>80</sub> N <sub>16</sub> O <sub>12</sub> ·4CH <sub>3</sub> COOH	109—113	—58, 1	95
(3) [Gly <sup>6</sup> , Chl <sup>18</sup> ]-брадикинин, триацетат	C <sub>49</sub> H <sub>76</sub> N <sub>14</sub> O <sub>11</sub> ·3CH <sub>3</sub> COOH	130—140	—49, 4	97
(4) [MePhe <sup>8</sup> ]-брадикинин, триацетат	C <sub>61</sub> H <sub>76</sub> N <sub>15</sub> O <sub>11</sub> ·3CH <sub>3</sub> COOH	170—180	—61, 6	96
(5) [Gly <sup>6</sup> , MePhe <sup>8</sup> ]-брадикинин, триацетат	C <sub>50</sub> H <sub>73</sub> N <sub>15</sub> O <sub>10</sub> ·3CH <sub>3</sub> COOH	220—230	—62, 3	97
(6) Z-Lys(Z)-Arg-Pro-Pro-Gly-Phe-Gly-Pro-Phe-Arg	C <sub>70</sub> H <sub>92</sub> N <sub>16</sub> O <sub>16</sub>	110—120	—45, 7	62
(10) Pro-Chl-OBu <sup>t</sup> , нартар	C <sub>18</sub> H <sub>32</sub> NO <sub>4</sub> ·C <sub>6</sub> H <sub>6</sub> O <sub>4</sub>	145—148	—36, 9	46
(12) Z-Phe-Gly-Pro-Chl-OBu <sup>t</sup>	C <sub>37</sub> H <sub>49</sub> N <sub>3</sub> O <sub>8</sub>	120—123	—66, 3	77
(13) Z-Phe-Gly-Pro-Chl	C <sub>33</sub> H <sub>41</sub> N <sub>3</sub> O <sub>8</sub>	102—104	—71, 3	86
(15) Z-Phe-Gly-Pro-Chl-Arg	C <sub>39</sub> H <sub>53</sub> N <sub>7</sub> O <sub>9</sub>	129—140	—59, 8	98
(16) Phe-Gly-Pro-Chl-Arg	C <sub>31</sub> H <sub>47</sub> N <sub>7</sub> O <sub>7</sub>	130—143	—69, 6	98
(18) Z-Pro-Pro-Gly-Phe-Gly-Pro-Chl-Arg	C <sub>61</sub> H <sub>70</sub> N <sub>10</sub> O <sub>12</sub>	160—167	—69, 0	92
(19) Pro-Pro-Gly-Phe-Gly-Pro-Chl-Arg	C <sub>43</sub> H <sub>64</sub> N <sub>10</sub> O <sub>10</sub>	132—141	—49, 6*	91
(21) Z-Arg(Z <sub>2</sub> )-Pro-Pro-Gly-Phe-Gly-Pro-Chl-Arg	C <sub>73</sub> H <sub>94</sub> N <sub>14</sub> O <sub>17</sub>	110—118	—45, 8	87
(24) Z-MePhe-Arg(NO <sub>2</sub> )-ONb	C <sub>31</sub> H <sub>35</sub> N <sub>7</sub> O <sub>9</sub>	80—84	—17, 4	75
(25) MePhe-Arg(NO <sub>2</sub> )-ONb	C <sub>23</sub> H <sub>29</sub> N <sub>7</sub> O <sub>7</sub>	70—80	—19, 5	79
(27) Boc-Pro-MePhe-Arg(NO <sub>2</sub> )-ONb	C <sub>33</sub> H <sub>44</sub> N <sub>8</sub> O <sub>10</sub>	105—110	—45	69
(28) Pro-MePhe-Arg	C <sub>21</sub> H <sub>32</sub> N <sub>6</sub> O <sub>4</sub>	155—160	—52, 3	73
(31) Boc-Gly-Pro-MePhe-Arg	C <sub>28</sub> H <sub>43</sub> N <sub>7</sub> O <sub>7</sub>	140—151	—57, 8	86
(32) Boc-Ser(Bzl)-Pro-MePhe-Arg	C <sub>38</sub> H <sub>61</sub> N <sub>7</sub> O <sub>8</sub>	128—133	—71, 2	60
(33) Gly-Pro-MePhe-Arg	C <sub>23</sub> H <sub>38</sub> N <sub>7</sub> O <sub>5</sub>	154—160	—54, 1	70
(34) Ser(Bzl)-Pro-MePhe-Arg	C <sub>31</sub> H <sub>48</sub> N <sub>7</sub> O <sub>6</sub>	130—140	—66, 1	75
(36) Z-Phe-Gly-Pro-MePhe-Arg	C <sub>40</sub> H <sub>50</sub> N <sub>8</sub> O <sub>8</sub>	130—137	—67, 5	78
(37) Z-Phe-Ser(Bzl)-Pro-MePhe-Arg	C <sub>48</sub> H <sub>68</sub> N <sub>8</sub> O <sub>9</sub>	124—132	—75, 8	69
(38) Phe-Gly-Pro-MePhe-Arg	C <sub>32</sub> H <sub>44</sub> N <sub>8</sub> O <sub>6</sub>	150—160	—72, 7*	73
(39) Phe-Ser-Pro-MePhe-Arg	C <sub>33</sub> H <sub>46</sub> N <sub>8</sub> O <sub>7</sub>	135—145	—73, 4	100
(40) Z-Pro-Pro-Gly-Phe-Gly-Pro-MePhe-Arg	C <sub>63</sub> H <sub>67</sub> N <sub>11</sub> O <sub>11</sub>	155—165	—86, 2	99
(41) Z-Pro-Pro-Gly-Phe-Ser-Pro-MePhe-Arg	C <sub>53</sub> H <sub>69</sub> N <sub>11</sub> O <sub>12</sub>	144—150	—82, 3	64
(42) Pro-Pro-Gly-Phe-Gly-Pro-MePhe-Arg	C <sub>44</sub> H <sub>61</sub> N <sub>11</sub> O <sub>9</sub>	165—170	—72, 5	100
(43) Pro-Pro-Gly-Phe-Ser-Pro-MePhe-Arg	C <sub>45</sub> H <sub>63</sub> N <sub>11</sub> O <sub>10</sub>	150—156	—70, 2	100
(44) Z-Arg(Z <sub>2</sub> )-Pro-Pro-Gly-Phe-Gly-Pro-MePhe-Arg	C <sub>74</sub> H <sub>91</sub> N <sub>15</sub> O <sub>16</sub>	150—165	—66, 4	73
(45) Z-Arg(Z <sub>2</sub> )-Pro-Pro-Gly-Phe-Ser-Pro-MePhe-Arg	C <sub>73</sub> H <sub>89</sub> N <sub>15</sub> O <sub>17</sub>	135—144	—74, 2	57

\* (с 1, метанол).

*трет-Бутиловый эфир пролил-β-циклогексилмолочной кислоты, тартрат (10).* К раствору 3,7 г бензилоксикарбонилпролина (7) в 14 мл пиридина, охлажденному до 0 ÷ -5°, прикапывали при перемешивании 1,9 мл бензолсульфохлорида, выдерживали 15 мин при 0° и добавляли по каплям охлажденный до 0° раствор 3,06 г эфира (8) в 6 мл пиридина. Реакционную смесь перемешивали 1,5 ч при 0° и 1 ч при комнатной температуре, затем выливали в лед и экстрагировали этилацетатом. Этилацетатный раствор промывали 5% HCl, водой, 4% NaHCO<sub>3</sub>, водой, сушили и получали 4 г (65%) дидепсипептида (9) в виде хроматографически однородного масла (ТСХ, окись алюминия, хлороформ — этилацетат, 3 : 2).

1 г соединения (9) гидрировали 5 ч в метаноле с Pd-чернью в присутствии 0,36 г винной кислоты. Катализатор отфильтровывали, растворитель упаривали и остаток кристаллизовали из эфира.

*трет-Бутиловый эфир бензилоксикарбонилфенилаланил-глицил-пролил-β-циклогексилмолочной кислоты (12).* К охлажденному до 0° раствору 1,2 г N-бензилоксикарбонилфенилаланилглицина (11) [6] и 1,1 г трет-бутилового эфира дидепсипептида (10), выделенного из тартрата действием 8% NaHCO<sub>3</sub> при 0°, в 10 мл ТГФ прибавляли раствор 0,7 ДЦГК в 3 мл ТГФ. Реакционную смесь выдерживали 1 ч при -5—0° и 20 ч при комнатной температуре, фильтровали и фильтрат упаривали. Остаток растворяли в 30 мл этилацетата, раствор промывали, сушили, растворитель отгоняли и защищенный тетрадепсипептид (12) кристаллизовали из эфира.

*N-Бензилоксикарбонилфенилаланил-глицил-пролил-β-циклогексилмолочная кислота (13).* 1,7 г защищенного тетрадепсипептида (12) выдерживали 45 мин в 20 мл свежеперегнанной CF<sub>3</sub>COOH при комнатной температуре, раствор упаривали, остаток растворяли в этилацетате и встряхивали многократно с 8% NaHCO<sub>3</sub>; бикарбонатный раствор подкисляли 10% HCl, экстрагировали кислоту (13) этилацетатом, экстракты промывали водой, сушили и упаривали. Остаток переосаждали из эфира петролейным эфиром.

*Фенилаланил-глицил-пролил-β-циклогексиллактил-аргинин (16).* *n*-Нитрофениловый эфир тетрадепсипептида (14), полученный из 1,39 г кислоты (13) карбодимидным методом, растворяли в 15 мл диоксана и смешивали с раствором 0,3 г аргинина в 6 мл воды; через 2 ч раствор упаривали досуха, остаток растворяли в 2 мл ДМФА и оставляли на 48 ч при 37°. К реакционной смеси приливали 50 мл этилацетата, выпавший осадок защищенного пентадепсипептида (15) отфильтровывали и промывали последовательно этилацетатом, смесью этилацетат — эфир (1 : 1) и эфиром.

N-Бензилоксикарбонилпентадепсипептид (15) гидрировали 5 ч в метаноле над Pd-чернью. Раствор упаривали, остаток переосаждали из метанола эфиром.

*Пролил-пролил-глицил-фенилаланил-глицил-пролил-β-циклогексиллактил-аргинин (19).* Раствор 0,4 г пентадепсипептида (16) и 0,4 г *n*-нитрофенилового эфира N-бензилоксикарбонилпролил-пролил-глицина (17) [18] в 1 мл ДМФА выдерживали 48 ч при 37° и осаждали 50 мл смеси этилацетат — эфир (1 : 1) защищенный октадепсипептид (18), из которого гидрированием аналогично пентадепсипептиду (16) получали свободный октадепсипептид (19).

*три-N-Бензилоксикарбониларгинил-пролил-пролил-глицил-фенилаланил-глицил-пролил-β-циклогексиллактил-аргинин (21)* получали конденсацией *n*-нитрофенилового эфира три-N-бензилоксикарбониларгинина (20) с октадепсипептидом (19) аналогично N-бензилоксикарбонил-октадепсипептиду (18). Защищенный нонадепсипептид (21) очищали хроматографией на колонке с сефадексом LH-20 в метаноле.

*Аргинил-пролил-пролил-глицил-фенилаланил-глицил-пролил-β-циклогексиллактил-аргинин, триацетат (3).* 0,1 г защищенного нонадепсипептида (21) растворяли в 5 мл смеси метанол — уксусная кислота (1 : 1) и

гидрировали над Pd-чернью в течение 6 ч. Раствор упаривали, остаток переосаждали из метанола эфиром.

*N*-Бензилоксикарбонил-*N*-метил-*L*-фенилаланин. К раствору 4 г *N*-бензилоксикарбонилфенилаланина в 40 мл абс. ТГФ приливали 8 мл  $\text{CH}_3\text{I}$ , охлаждали до  $0^\circ$  и при слабом перемешивании прибавляли суспензию 2 г гидроксида натрия в 10 мл ТГФ. Перемешивание продолжали 24 ч при комнатной температуре, приливали 30 мл этилацетата, добавляли по каплям воду до полного разрушения гидроксида натрия и упаривали. Остаток оставляли на несколько часов с 20 мл воды при  $-5-0^\circ$  и отфильтровывали натриевую соль *N*-бензилоксикарбонил-*N*-метилфенилаланина, которую превращали в свободную кислоту встряхиванием в смеси 50 мл 10%  $\text{HCl}$  и 50 мл этилацетата. Этилацетатный экстракт промывали водой, 5%  $\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_3$ , водой, сушили и упаривали. Остаток закристаллизовывали растиранием с петролейным эфиром. Выход 2,18 г (52%), т. пл.  $70-72^\circ$ ,  $[\alpha]_D^{20} = -71,0^\circ$  (с 2,5, этилацетат) (ср. [19]).

*n*-Нитробензиловый эфир *N*-бензилоксикарбонил-*N*-метилфенилаланил-нитроаргинина (24). К раствору 3,92 г бромгидрата *n*-нитробензинового эфира *N*<sup>G</sup>-нитроаргинина (23) в 15 мл ДМФА при  $0^\circ$  приливали 1,92 мл триэтиламина, тщательно перемешивали и прибавляли раствор *n*-нитрофенилового эфира *N*-бензилоксикарбонил-*N*-метилфенилаланина (22), полученного карбодимидным методом из 2,84 г *N*-бензилоксикарбонил-*N*-метилфенилаланина, в 3 мл ДМФА. Реакционную смесь выдерживали 3 сут при  $37^\circ$ , приливали 100 мл этилацетата, раствор промывали 1 н.  $\text{NH}_4\text{OH}$ , водой, 1 н.  $\text{HCl}$ , водой, сушили и упаривали. Остаток растирали с эфиром и отфильтровывали защищенный дипептид (24).

*n*-Нитробензиловый эфир *N*-метилфенилаланил-нитроаргинина (25). 1,67 г защищенного дипептида (24) растворяли в 5 мл лед. уксусной кислоты, приливали 10 мл 30% раствора  $\text{NH}_4\text{Br}$  в лед. уксусной кислоте и через 30 мин упаривали. Остаток растирали с 10 мл эфира и отфильтровывали 1,7 г бромгидрата эфира дипептида (25). Бромгидрат растворяли в 5 мл метанола и пропускали через колонку с 25 мл IRA-410 в  $\text{HCO}_3^-$ -форме. Остаток после упаривания элюата переосаждали из метанола абс. эфиром.

*n*-Нитробензиловый эфир трет-бутилоксикарбонилпролил-*N*-метилфенилаланил-нитроаргинина (27). К раствору 1 г дипептида (25) в 5 мл ТГФ приливали при охлаждении до  $-10 \div -5^\circ$  раствор 0,41 г трет-бутилоксикарбонилпролина в 3 мл ТГФ и раствор 0,4 г ДЦГК в 3 мл ТГФ. Реакционную смесь выдерживали 1 ч при  $0 \div -5^\circ$  и сутки при комнатной температуре. Осадок отфильтровывали, раствор упаривали и в этилацетатном растворе промывали 2%  $\text{HCl}$ , 8%  $\text{NaHCO}_3$  и водой. Высушенный раствор упаривали и остаток растирали с абс. эфиром до образования кристаллического вещества.

Пролил-*N*-метилфенилаланил-аргинин (28). 0,9 г защищенного трипептида (27) выдерживали 40 мин в 10 мл безводного  $\text{HF}$  в присутствии 0,5 мл апизола при  $0^\circ$ .  $\text{HF}$  отгоняли, остаток растворяли в 10 мл метанола и гидрировали 10 ч в присутствии Pd-черни. Раствор упаривали и остаток переосаждали из метанола абс. эфиром. Фторгидрат трипептида (28) растворяли в 5 мл воды, дважды экстрагировали эфиром и пропускали раствор через колонку с 23 мл смолы IRA-410 в  $\text{OH}^-$ -форме. Водный элюат упаривали в вакууме до объема 5—7 мл, промывали эфиром и упаривали, добавляя несколько раз абс. бензол. Остаток переосаждали из метанола абс. эфиром.

трет-Бутилоксикарбонилглицил-пролил-*N*-метилфенилаланил-аргинин (31). Смесь 0,4 г трипептида (28) и 0,36 г *n*-нитрофенилового эфира трет-бутилоксикарбонилглицина (29) растворяли в 1 мл ДМФА и оставляли на сутки при  $37^\circ$ . К реакционной смеси приливали 50 мл этилацетата, выпавший осадок отфильтровывали и промывали этилацетатом, смесью этилацетат — эфир (1 : 1) и эфиром.

*трет-Бутилоксикарбонил-О-бензил-серил-пролил-N-метилфенилаланил-аргинин* (32) получали конденсацией 0,87 г N-оксисукцинимидного эфира *трет*-бутилоксикарбонил-О-бензил-серина (30) и 0,68 г трипептида (28) аналогично соединению (31).

*Глицил-пролил-N-метилфенилаланил-аргинин* (33). К раствору 0,3 г *трет*-бутилоксикарбонилтрипептида (31) в 3 мл метанола приливали 4 мл 3 н. HCl в эфире. Через 30 мин раствор упаривали и остаток переосаждали из метанола эфиром. Полученный хлоргидрат тетрапептида (33) растворяли в 2 мл воды, промывали эфиром и пропускали через колонку с 20 мл смолы IRA-410 в OH<sup>-</sup>-форме. Элюат упаривали, остаток переосаждали из метанола эфиром и получали тетрапептид (33). Аналогично получали соединение (34).

*Фенилаланил-глицил-пролил-N-метилфенилаланил-аргинин* (38). Конденсацией 0,36 г *n*-нитрофенилового эфира N-бензилоксикарбонилфенилаланина (35) с 0,32 г тетрапептида (33) в 1 мл ДМФА аналогично соединению (31) получали защищенный пентапептид (36), который гидрированием превращали в свободный пентапептид (38), как описано для пентадепси-пептида (16).

*Фенилаланил-серил-пролил-N-метилфенилаланил-аргинин* (39). Конденсацией 0,27 г *n*-нитрофенилового эфира (35) и 0,3 г тетрапептида (34), как описано для соединения (31), получали защищенный пентапептид (37), который очищали хроматографией на колонке с сефадексом LH-20 в метаноле. Свободный пентапептид (39) получали гидрированием соединения (37), как описано для пентадепси-пептида (16).

*Пролил-пролил-глицил-фенилаланил-глицил-пролил-N-метилфенилаланил-аргинин* (42). Конденсацией 0,22 г *n*-нитрофенилового эфира N-бензилоксикарбонилпролил-пролил-глицина (17) и 0,2 г пентапептида (38) аналогично соединению (31) получали защищенный октапептид (40), который гидрированием превращали в свободный октапептид (42), как описано для соединения (16).

*Пролил-пролил-глицил-фенилаланил-серил-пролил-N-метилфенилаланил-аргинин* (43). Конденсацией 0,25 г *n*-нитрофенилового эфира трипептида (17) и 0,24 г пентапептида (39) аналогично соединению (31) получали защищенный октапептид (41), который подвергали очистке на колонке с сефадексом LH-20 в метаноле. Свободный октапептид (43) получали гидрированием защищенного пептида (41), как описано для соединения (16).

*Аргинил-пролил-пролил-глицил-фенилаланил-серил-пролил-N-метилфенилаланил-аргинин* (4). Конденсацией 0,22 г *n*-нитрофенилового эфира три-бензилоксикарбонил-аргинина (20) и 0,22 г октапептида (43) аналогично соединению (31) получали защищенный нонапептид (45), который очищали хроматографией на колонке с сефадексом LH-20 в метаноле. Свободный нонапептид (4) получали гидрированием соединения (45), как описано для нонадепси-пептида (3).

*Аргинил-пролил-пролил-глицил-фенилаланил-глицил-пролил-N-метилфенилаланил-аргинин* (5). Конденсацией 0,2 г *n*-нитрофенилового эфира (20) и 0,2 г октапептида (42) аналогично соединению (31) получали защищенный нонапептид (44), который очищали хроматографией на колонке с сефадексом LH-20 в метаноле. Свободный нонапептид (5) получали гидрированием соединения (44), как описано для нонадепси-пептида (3).

*ди-N-Бензилоксикарбониллизил-аргинил-пролил-пролил-глицил-фенилаланил-глицил-пролил-фениллактил-аргинин* (6). К раствору 0,13 г трихлоргидрата [6-глицин, 8-фенилмолочная кислота]-брадикинина [12] и 0,035 мл триэтиламина в 0,5 мл ДМФА прибавляли 0,09 г *n*-нитрофенилового эфира N<sup>α</sup>, N<sup>ε</sup>-добензилоксикарбониллизина и выдерживали 48 ч при 37°. К реакционной смеси приливали 50 мл этилацетата, оставляли на 3—4 ч при 0—5°, выпавший осадок отфильтровывали и в метанольном растворе пропускали через колонку с IRA-410 в HCO<sub>3</sub><sup>-</sup>-форме. Элюат упаривали, остаток переосаждали из метанола эфиром и хроматографировали на колонке с сефадексом LH-20 в метаноле.



*Лизил-аргинил-пролил-пролил-глицил-фенилаланил-глицил-пролил-фениллактил-аргинин, тетраацетат (2) получали гидрированием защищенного октадепептида (6) аналогично нонадепептиду (3).*

#### ЛИТЕРАТУРА

1. Erdős E. G., Sloane E. M. (1962) *Biochem. Pharmacol.*, **11**, 585.
2. Yang H. Y. T., Erdős E. G. (1967) *Nature*, **215**, 1402.
3. Erdős E. G. (1975) *Circulation Res.*, **36**, 247—255.
4. Yang H. Y. T., Erdős E. G., Levin Y. (1970) *Biochim. et biophys. acta*, **214**, 374—376.
5. Gushman D. W., Cheung H. S. (1971) *Biochim. et biophys. acta*, **250**, 251—265.
6. Ravdel G. A., Filatova M. P., Shchukina I. A., Paskhina T. S., Surovikina M. S., Trapeznikova S. S., Egorova T. P. (1967) *J. Med. Chem.*, **10**, 242—246.
7. Reissmann S., Paegelow I., Leisner H., Arold H. (1975) *Exp.*, **31**, 1395—1396.
8. Ondetti M. A., Engel S. L. (1975) *J. Med. Chem.*, **18**, 761—763.
9. Dorer F. E., Ryan J. W., Stewart J. M. (1974) *Biochem. J.*, **141**, 915—917.
10. Schench F., Oberdorf A., Schmidt-Kastner J. (1969) *Ger. Pat.* 1.298.997.
11. Elliott D. F., Moritz R., Wade R. (1972) *J. Chem. Soc. Perkin Trans. I*, 1862—1866.
12. Филатова М. П., Крит Н. А., Сучкова Г. С., Равдель Г. А., Иванов В. Т. (1975) *Биоорган. химия*, **1**, 437—446.
13. Blake J., Li C. H. (1972) *Int. J. Pept. Prot. Res.*, **4**, 343—345.
14. Sugano H., Abe H., Miyoshi M., Kato T., Izumiya N. (1974) *Bull. Chem. Soc. Japan*, **47**, 698—703.
15. Sugano H., Higaki K., Miyoshi M. (1973) *Bull. Chem. Soc. Japan*, **46**, 231—237.
16. Brown H. C., Brown C. A. (1962) *J. Amer. Chem. Soc.*, **84**, 2829—2830.
17. Sakakibara S., Shimonishi J., Kishida J., Okada M., Sugihara H. (1967) *Bull. Chem. Soc. Japan*, **40**, 2164—2167.
18. Щукина Л. А., Равдель Г. А., Филатова М. П., Семкин Е. П., Краснова С. Н. (1966) *Химия природн. соедин.*, 124—130.
19. Ondetti M. A., Thomas P. L. (1965) *J. Amer. Chem. Soc.*, **87**, 4373—4380.

Поступила в редакцию  
6.V.1976

#### SYNTHESIS OF BRADYKININ ANALOGS MODIFIED IN POSITION «8»

KRIT N. A., RAVDEL G. A., IVANOV V. T.

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

In search of biologically active analogs of bradykinin with increased resistance to kininases' action, [8-N-methyl-L-phenylalanine]-bradykinin, [6-glycine, 8-N-methyl-L-phenylalanine]-bradykinin, [6-glycine, 8-β-cyclohexyl-L-lactic acid]-bradykinin and lysyl-[6-glycine, 8-L-phenyllactic acid]-bradykinin have been synthesized. The synthesis was carried out by classical method via stepwise elongation of peptide chain with free C-terminal arginine.