

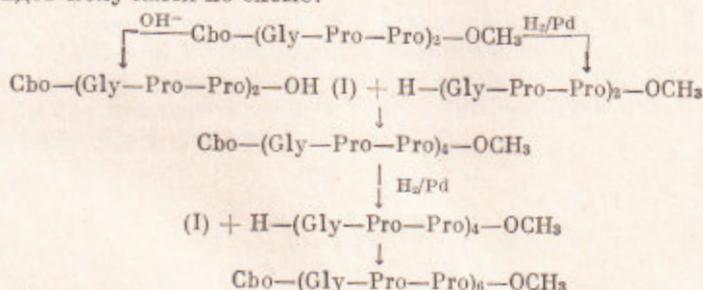
В. А. ШИБНЕВ, академик АН ТаджССР К. Т. ПОРОШИН,
В. С. ГРЕЧИШКО

**СИНТЕЗ ЗАЩИЩЕННЫХ ОЛИГОПЕПТИДОВ
С ПОСЛЕДОВАТЕЛЬНОСТЬЮ — Gly — Pro — Pro —
И ВОЗНИКНОВЕНИЕ В НИХ СТРУКТУРЫ КОЛЛАГЕНОВОГО ТИПА**

В работах (1-3), посвященных изучению формирования и стабилизации структуры коллагенового типа с помощью синтетических полипептидов регулярного строения, была отмечена удивительная способность некоторых из них к спонтанному образованию такой структуры. Так, политрипептиды типа $(-Gly-I-I)_n$, где I — остаток пролина или оксипролина, образуют устойчивую коллагеновую структуру уже при среднем молекулярном весе 3000 (около 10 трипептидных единиц). Было интересно определить минимальное число последних, при котором может существовать структура коллагенового типа. Для этого следовало получить ряд олигопептидов, отличающихся друг от друга на одну трипептидную единицу. Реализация постадийного синтеза требовала разработки рациональной схемы.

Уже сообщалось о синтезе соединений подобного типа: карбобензоксиды $(Cbo-)(Gly-Pro-Pro)_2-(Gly-Pro-Hyp)_2-OCH_3$ (4) и $H-(Gly-Pro-Gly)_4-OH$, $H-(Gly-Pro-Ala)_4-OH$ (5). Однако наиболее интересной последовательностью в олигопептидах подобного рода является $-Gly-Pro-Pro-$. Это связано с тем, что с помощью олигопептидов с такой последовательностью можно исследовать зависимость между структурой, возникающей в олигопептиде-субстрате, и специфичностью действия на него таких ферментов, как клеточные и бактериальные коллагеназы и гидроксилаза проколлагена. Получение такой серии олигопептидов стало возможным лишь после синтеза кристаллического $Cbo-(Gly-Pro-Pro)_3-OCH_3$ (6) и нахождения условий омыления алкоксильной сложноэфирной группы без нарушения пептидных связей $-Gly-I-$, лабильных в щелочной среде.

В определенных условиях удается получать хроматографически чистый $Cbo-(Gly-Pro-Pro)_2-OH$ и $Cbo-(Gly-Pro-Pro)_3-OH$. Однако последний хорошо растворим в воде, что затрудняет его выделение. В качестве N- и C-защитных групп применялись карбобензоксид- и метоксильная группы соответственно. Для образования пептидной связи между соответствующими Cbo-пептидами и метиловыми эфирами пептидов применялся метод смешанных ангидридов. Он обеспечивал хороший выход и достаточную чистоту олигопептидов. Четный ряд защищенных олигопептидов получался по схеме:



Нечетный ряд получен аналогично, исходя из $H-(Gly-Pro-Pro)_3-OCH_3$. При и.к. спектроскопическом изучении полученных оли-

гопептидов сдвиг полосы NH-валентных колебаний, типичный для структуры коллагенового типа 3355 см^{-1} (рис. 1*ε* — *δ*), обнаружен, начиная с $n = 4$. В олигопептидах с $n = 2$ и 3 (рис. 1*а*, *б*) он отсутствует. Рентгеноструктурные исследования показали, что структура коллагенового типа с характерными для нее рефлексами $\sim 2,82$ и $\sim 11 \text{ \AA}$ возникает в олигопептидах, начиная с $n = 5$ (рис. 2*а*, *б*). При определенных условиях коллагеновая структура, вероятно, может быть обнаружена методом

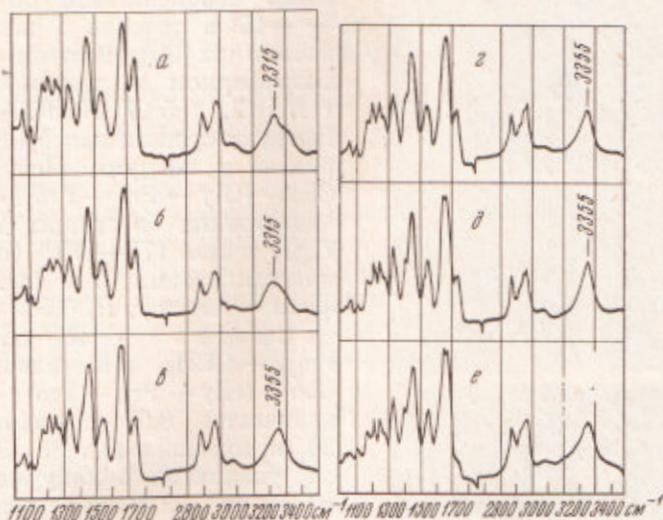


Рис. 1. И.-к. спектры $\text{C}_6\text{O}-(\text{Gly}-\text{Pro}-\text{Pro})_n-\text{OCH}_3$ при величине n равной: *а* — 2; *б* — 3; *в* — 4; *г* — 5; *д* — 6; *е* — политрипептид, состоящий из фракции с молекулярным весом 100 000 (20%) и 6000 (80%) и иллюстрирующие смещение полосы поглощения NH-валентных колебаний при переходе от олигопептида с $n = 3$ к $n = 4$

рентгеноструктурного анализа и в олигопептиде с $n = 4$, так как и.-к. спектр указывает на ее наличие (рис. 1*г*). Рентгенограммы олигопептидов с $n = 5$ и 6 демонстрируют высокую кристалличность образцов по сравнению с политрипептидом $\text{H}-(\text{Gly}-\text{Pro}-\text{Pro})_n-\text{OH}$, содержащем 20% полипептида с молекулярным весом 100 000 (^{7, 8}) и коллагеном (рис. 2*а*, *б*, *в*, *г*). Сочетание кристалличности олигопептидов с наличием в них структуры коллагенового типа открывает интересные перспективы ее изучения методом рентгено-структурного анализа, о чем будет сообщено особо.

Экспериментальная часть

В синтезе использованы I-аминокислоты. Тонкослойная хроматография проводилась на закрепленном слое силикагеля (250 меш., пластинки $76 \times 26 \text{ мм}$) в системе втор.-бутанол — 3% NH_4OH (100 : 44).

Синтез $\text{C}_6\text{O}-(\text{Gly}-\text{Pro}-\text{Pro})_2-\text{OH}$. Растворяли 0,5 г $\text{C}_6\text{O}-(\text{Gly}-\text{Pro}-\text{Pro})_2-\text{OCH}_3$ (⁶) в 8,3 мл ацетона и добавляли 8,3 мл 0,1 *N* NaOH . Выдерживали 30 мин. при 20° , разбавляли в 4 раза водой и экстрагировали хлороформом. Водную часть подкисляли концентрированной HCl до слабокислой реакции по конго-рот и вновь экстрагировали хлороформом. Хлороформенные вытяжки промывали водой и сушили над Na_2SO_4 . Получено 0,645 г $\text{C}_6\text{O}-(\text{Gly}-\text{Pro}-\text{Pro})_2-\text{OH}$ (выход 74%) в виде хроматографически чистого аморфного порошка. R_f 0,46.

Синтез $\text{C}_6\text{O}-(\text{Gly}-\text{Pro}-\text{Pro})_4-\text{OCH}_3$. К 1,4 г $\text{C}_6\text{O}-(\text{Gly}-\text{Pro}-\text{Pro})_2-\text{OH}$ в 10 мл хлороформа, содержащего 0,3 мл триэтил-

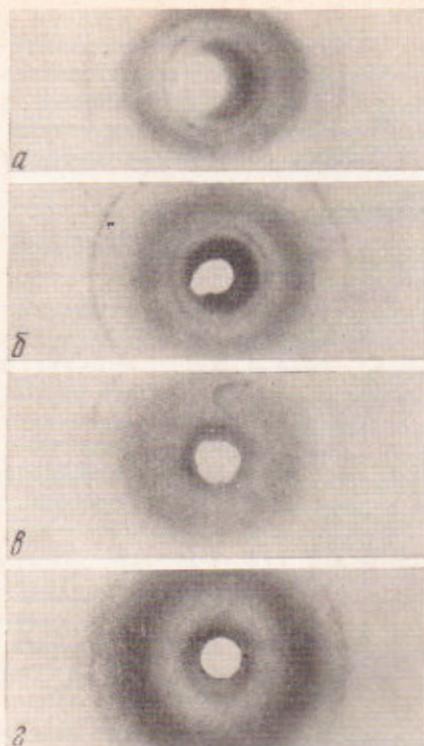


Рис. 2. Дебаграммы: а — карбобензоксид — $(\text{Gly}-\text{Pro}-\text{Pro})_5-\text{OCH}_3$; б — карбобензоксид — $(\text{Gly}-\text{Pro}-\text{Pro})_6-\text{OCH}_3$; в — политрипептид $(\text{Gly}-\text{Pro}-\text{Pro})_n$ (смесь фракции с молекулярным весом: а — 100 000 (20%) и б — 6000 (80%))

гидрично додекапептиду из 0,5 г $\text{Cbo}-(\text{Gly}-\text{Pro}-\text{Pro})_2-\text{OH}$ и 0,62 г метилового эфира $\text{H}-(\text{Gly}-\text{Pro}-\text{Pro})_3$. Пентадекапептид получен в виде блестящих игл, выход 0,5 г (70%), т. пл. 197—200° (после перекристаллизации из смеси хлороформ — гексан); R_f 0,49.

Синтез $\text{Cbo}-(\text{Gly}-\text{Pro}-\text{Pro})_6-\text{OCH}_3$. Получали аналогично додекапептиду исходя из 0,62 г $\text{Cbo}-(\text{Gly}-\text{Pro}-\text{Pro})_2-\text{OH}$ и 0,98 г метилового эфира $\text{H}-(\text{Gly}-\text{Pro}-\text{Pro})_4$ в диметилформамиде. Октадекапептид получен в виде блестящих игл, выход 0,85 г (76%), т. пл. 216—218° (после перекристаллизации из смеси хлороформ — гексан); R_f 0,48.

Авторы благодарны Н. Г. Есиповой и В. В. Кобякову за получение рентгенограмм и и.-к. спектров.

Институт молекулярной биологии
Академии наук СССР
Москва

Институт химии
Академии наук ТаджССР
Душанбе

Поступило
23 XII 1970

ЦИТИРОВАННАЯ ЛИТЕРАТУРА

- ¹ N. S. Andreeva, N. G. Esipova et al., Conformation of Biopolymers, Madras, 1967, p. 469. ² Н. С. Андреева, Н. Г. Есипова и др., Биофизика, 15, в. 2, 198 (1970). ³ В. А. Шибнев, А. В. Лазарева, Изв. АН СССР, сер. хим., 1969, 398. ⁴ К. Т. Порошин, В. А. Шибнев и др., Высокмолек. соед., 3, в. 1, 122 (1961). ⁵ S. M. Bloom, S. K. Dasgupta et al., J. Am. Chem. Soc., 88, 2035 (1966). ⁶ В. А. Шибнев, А. В. Лисовенко, Изв. АН СССР, сер. хим., 1966, 2033. ⁷ В. А. Шибнев, Т. П. Чуваева, К. Т. Порошин, Изв. АН СССР, сер. хим., 1968, 1825. ⁸ В. А. Шибнев, М. П. Финюгина, К. Т. Порошин, ДАН, 198, № 4 (1971).

амина, при -10° прибавляли 0,27 мл изобутилхлорформата. Перемешивали 15 мин. при -10° , 15 мин. при $-3 \div -5^\circ$. Охлаждали до -15° и прибавляли раствор 1,14 г $\text{H}-(\text{Gly}-\text{Pro}-\text{Pro})_3-\text{OCH}_3$ (⁶) в 15 мл хлороформа. Реакционную смесь перемешивали 30 мин. при $\sim -15^\circ$ в течение 1 час. при 0° и 4 часа при 20° . Раствор разбавляли хлороформом и промывали водой, 1 N HCl, 0,5 N NaHCO_3 , и водой. Продукт сушили над Na_2SO_4 и упаривали в вакууме. Получено 1,8 г $\text{Cbo}-(\text{Gly}-\text{Pro}-\text{Pro})_4-\text{OCH}_3$ в виде тонких блестящих игл. Выход 72%, т. пл. 175—178° (после перекристаллизации из смеси хлороформ — гексан); R_f 0,50.

Синтез $\text{H}-(\text{Gly}-\text{Pro}-\text{Pro})_4-\text{OCH}_3$. Метилловый эфир $\text{Cbo}-(\text{Gly}-\text{Pro}-\text{Pro})_4-\text{OCH}_3$ в количестве 0,57 г гидрировали в 20 мл метанола над Pd. Затем раствор упаривали в вакууме при 40—50 мм рт. ст. Выход аморфного вещества 0,48 г (97%); R_f 0,27.

Синтез $\text{H}-(\text{Gly}-\text{Pro}-\text{Pro})_3-\text{OCH}_3$. Гидрировали 0,76 г метилового эфира $\text{Cbo}-(\text{Gly}-\text{Pro}-\text{Pro})_3-\text{OCH}_3$ аналогично описанному выше. Выход аморфного вещества 0,64 г (96%). R_f 0,40.

Синтез $\text{Cbo}-(\text{Gly}-\text{Pro}-\text{Pro})_5-\text{OCH}_3$. Получали аналогично