

ՀԱՅԱՍՏԱՆԻ ՀԱՆՐԱՊԵՏՈՒԹՅԱՆ ԳԻՏՈՒԹՅՈՒՆՆԵՐԻ
ԱԶԳԱՅԻՆ ԱԿԱԴԵՄԻԱ
НАЦИОНАЛЬНАЯ АКАДЕМИЯ НАУК РЕСПУБЛИКИ
АРМЕНИЯ

Հայաստանի քիմիական հանդես 65, №4, 2012 Химический журнал Армении

УДК 547.466

СИНТЕЗ N-ФОРМИЛЬНЫХ ДИ- И ТРИПЕПТИДОВ
С ИСПОЛЬЗОВАНИЕМ ГЕТЕРОЦИКЛИЧЕСКИ ЗАМЕЩЕННЫХ
НЕБЕЛКОВЫХ АМИНОКИСЛОТ И ИЗУЧЕНИЕ ИХ ВЛИЯНИЯ
НА АКТИВНОСТЬ СЕРИНОВЫХ ПРОТЕАЗ

В. Т. ДАНГЯН^а, Т. О. САРГСЯН^а, С. М. ДЖАМГАРЯН^а, Э. А. ГЮЛУМЯН^а, Н. А.
ОГАНЕСЯН^а, А. М. ОГАНЕСЯН^а, Г. А. ПАНОСЯН^б,
Ю. М. ДАНГЯН^а и А. С. САГИЯН^а

^а Научно-производственный центр «Армбиотехнология»

НАН Республики Армения

Армения, 0056, Ереван, ул. Гюрджяна, 14

Факс: (374-10)654183, E-mail: armbiotech@gmail.com

^б Центр исследования молекул НАН Республики Армения

Армения, 0014, Ереван, пр. Азатутян, 26

Поступило 24 X 2012

Методом активированных эфиров синтезированы аналоги хемотактических ди- и трипептидов с использованием N-формил-(S)-метионина и оптически чистых небелковых аминокислот – (S)-β-[4-(фуран-2-ил-метил)-3-бутил-5-тиоксо-1,2,4-триазол-1-ил]-, (S)-β-[4-аллил-3-пропил-5-тиоксо-1,2,4-триазол-1-ил]-, (S)-β-[4-аллил-3-(фуран-2-ил)-5-тиоксо-1,2,4-триазол-1-ил]- и (S)-β-[4-аллил-3-бензил-5-тиоксо-1,2,4-триазол-1-ил]-(-аланинов. Исследовано влияние полученных пептидов и соответствующих небелковых аминокислот на активность трипсина и протеиназы К. Показано, что и гетероциклически замещенные аминокислоты, и полученные ди- и трипептиды имеют как ингибирующее, так и активирующее влияние на активность протеиназы К и трипсина.

Табл. 1, библиографических ссылок 12.

В настоящее время в мире широко проводятся разработки лекарственных средств на основе пептидов и их производных. Ряд формильных пептидов – (N-формил-(S)-метионил-(S)-лейцил-, N-формил-(S)-метионил-(S)-метионил-, N-формил-(S)-метионил-(S)-фенилаланины и др. способствуют миграции *полиморфонуклеарных* (PMNs) лейкоцитов и *мононуклеарных* (MNs) фагоцитов [1,2]. Данная миграция обеспечивается за счет специфических *формил пептид рецепторов* (FPR), расположенных на

мембранах лейкоцитов и фагоцитов [3,4]. В последние годы были синтезированы хемотактические пептиды, обладающие более высокой биологической активностью, чем природные. К их числу относятся N-формил-(S)-норлейцил-(S)-фенилаланил-(S)-норлейцил-(S)-лейцин, N-формил-(S)-норлейцил-(S)-лейцил-(S)-фенилаланил-(S)-норлейцил-(S)-тирозил-(S)-лейцин и др.

Преимущество таких пептидов заключается не только в том, что они обладают свойством связываться с рецепторами, но и благодаря низкому молекулярному весу легко проникают через мембрану любой клетки. Остаток небелковой аминокислоты продлевает сам процесс узнавания фермент-субстрат, что, в свою очередь, приводит к замедлению разрушения пептидной связи, а в случае радиофармпрепаратов замедляет процесс дегалогенирования [5,6]. Эти и другие свойства пептидов, содержащих фрагмент небелковой аминокислоты, обуславливают возможность создания на их основе физиологически и фармакологически активных препаратов, которые содержат небелковые аминокислоты.

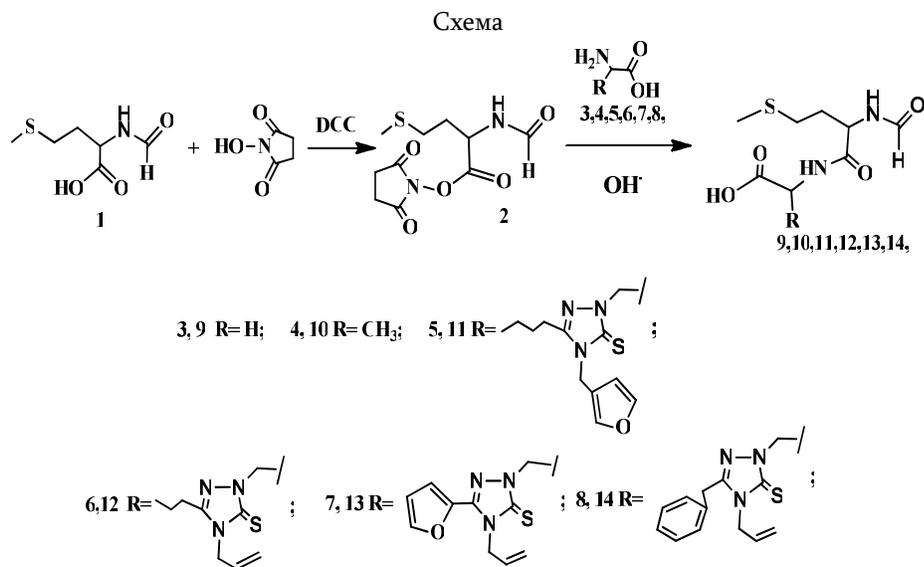
Мы сочли актуальным изучить возможность синтеза ряда пептидов, содержащих N-формил-(S)-метионильный фрагмент и остаток 5-тиоксо-триазолил- α -аланина с различными заместителями у триазольного кольца. Исходные небелковые аминокислоты обладают высокой оптической чистотой (более 98%), что, в свою очередь, предоставляет возможность отследить наличие или отсутствие рацемизации при получении конкретного пептида [7,8].

Важной задачей является выбор объектов, с помощью которых осуществляется изучение биологической активности пептидов. Известно, что в организме многие патологические нарушения вызваны расстройством механизмов регуляции ферментов, которые могут быть рассмотрены как мишени лекарственных препаратов [9].

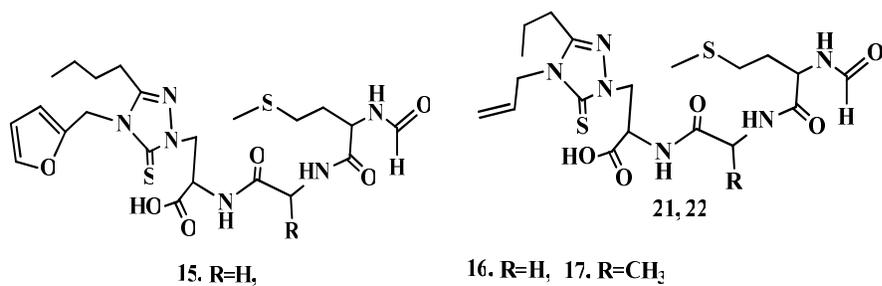
В настоящей работе описан синтез пептидов с использованием оптически чистых небелковых гетероциклически замещенных аминокислот и изучено влияние синтезированных пептидов на энзимы – трипсин и протеиназу К.

Синтез пептидов осуществлен методом активированных эфиров в растворе [10,11].

На первой стадии с помощью дициклогексилкарбодимида (DCC) из N-формил-(S)-метионина был получен его N-оксисукцинимидный (OSu) эфир (**2**), который далее без выделения, конденсацией в щелочной водно-органической среде с аминокислотами был переведен в соответствующие дипептиды **9-14** (схема).



Трипептиды **15-17** также были получены согласно вышеуказанной схеме без выделения промежуточного N-оксисукцинимидного эфира. Эта методика оказалась не только более удобной, но и более выгодной с точки зрения выхода целевого продукта.



Активность протеиназы К и трипсина в присутствии пептидов определяли по известной методике, путем измерения количества свободных аминогрупп с помощью орто-фталальдегида (ОФА) [12]. Результаты показаны в таблице.

**Действие синтезированных пептидов на активность
протеиназы К и трипсина**

Соединение (5 мм)	Протеиназа, К	Трипсин
Контроль	1	1
(S)-β-[4-(фуран-2-ил-метил)-3-бутил-5-тиоксо-1,2,4-триазол-1-ил]-(-аланин) (5)	0.338	1.408
(S)-β-[4-аллил-3-пропил-5-тиоксо-1,2,4-триазол-1-ил]-(-аланин) (6)	0.680	1.001
(S)-метионил-(S)-β-[4-аллил-3-(фуран-2-ил)-5-тиоксо-1,2,4-триазол-1-ил]-(-аланин) (7)	0.544	1.469
(S)-β-[4-аллил-3-бензил-5-тиоксо-1,2,4-триазол-1-ил]-(-аланин) (8)	0.399	0.948
N-формил-(S)-метионил-(S)-β-[4-(фуран-2-ил-метил)-3-бутил-5-тиоксо-1,2,4-триазол-1-ил]-(-аланин) (11)	0.676	0.987
N-формил-(S)-метионил-(S)-β-[4-аллил-3-пропил-5-тиоксо-1,2,4-триазол-1-ил]-(-аланин) (12)	0.649	1.021
N-формил-(S)-метионил-(S)-β-[4-аллил-3-(фуран-2-ил)-5-тиоксо-1,2,4-триазол-1-ил]-(-аланин) (13)	1.521	1.073
N-формил-(S)-метионил-(S)-β-[4-аллил-3-бензил-5-тиоксо-1,2,4-триазол-1-ил]-(-аланин) (14)	1.272	0.870
N-формил-(S)-метионилглицил-(S)-β-[4-(фуран-2-ил-метил)-3-бутил-5-тиоксо-1,2,4-триазол-1-ил]-α-аланин (15)	0.869	1.792
N-формил-(S)-метионилглицил-(S)-β-[4-аллил-3-пропил-5-тиоксо-1,2,4-триазол-1-ил]-α-аланин (16)	0.980	0.951
N-формил-(S)-метионил-(S)-аланил-(S)-β-[4-аллил-3-пропил-5-тиоксо-1,2,4-триазол-1-ил]-α-аланин (17)	1.110	0.840

Из данных таблицы видно, что из синтезированных соединений наибольшее влияние на активность протеиназы К оказывают небелковые аминокислоты **5** и **8** и дипептиды **13** и **14**. При этом видно, что аминокислоты ингибируют активность протеиназы К, а дипептиды, наоборот, повышают.

Заметим, что из полученных веществ одни и те же соединения (**5,7,14,15**) могут иметь как ингибирующее, так и активирующее влияние в зависимости от фермента. Почти все синтезированные соединения имеют активирующее влияние на трипсин. В частности, аминокислоты **5,7** и трипептид **15** в 1,5 раза повышают активность трипсина.

Таким образом, можно констатировать, что большинство исследованных небелковых аминокислот и полученных на их базе пептидов оказывает специфическое влияние на ферменты трипсин и протеиназу К.

Экспериментальная часть

Спектры ЯМР ^1H регистрировались на приборе “Varian Mercury 300 VX” с рабочей частотой 300.08 МГц в растворе ДМСО- D_6/CCl_4 , 1:3 с использованием метода двойного резонанса. Оптическое вращение $[\alpha]_D^{20}$ измеряли на поляриметре “Perkin Elmer-341”. ТСХ проводили на пластинках “Silufol UV-254” в системе хлороформ–этилацетат–метанол (4:4:1), проявитель – хлор-толуидин.

Общая методика синтеза дипептидов 10-14. В плоскодонную колбу с магнитной мешалкой помещали 0.177 г (1 ммоль) N-формил-(S)-метионина и 0.115 г (1 ммоль) N-гидроксисукцинимид, растворенных в 2 мл смеси диоксан-метилен хлористый в соотношении 2:1. Содержимое колбы охлаждали до -5°C и двумя порциями к нему добавляли 0.227 г (1.1 ммоль) дициклогексилкарбодиимида, растворенного предварительно в 0.4 мл диоксана. Реакционную смесь перемешивали 2 ч, постепенно поднимая температуру до 20°C , и оставляли на ночь в холодильнике при $+5^\circ\text{C}$. Образовавшуюся дициклогексилмочевину отфильтровывали на фильтре Шота, промывали осадок сухим этилацетатом (1 мл) и удаляли из фильтрата основную часть легкокипящей фракции (метилен хлористый) под вакуумом при температуре не выше $+30^\circ\text{C}$. Полученный таким образом в растворе сукцинимидный эфир прибавляли к 1 ммоль соответствующей аминокислоты, предварительно растворенной в 1.5 мл раствора 0.5 М NaOH, содержащего 0.063 г NaHCO_3 . Реакцию проводили при температуре $+15^\circ\text{C}$ при перемешивании. Через 2 ч к содержимому колбы добавляли 4 мл этилацетата, 1.5 мл 10% раствора лимонной кислоты, 0.2 г NaCl и смесь интенсивно перемешивали.

Выделение дипептидов 10, 12 и 14. После нейтрализации реакционной смеси органический слой отделяли, а водный экстрагировали этилацетатом (два раза по 4 мл). Объединенные органические фракции сушили безводным сульфатом натрия, декантировали и упаривали в вакууме при температуре 50°C . Остаток кристаллизовали из смеси этилацетат-гексан.

Выделение дипептидов 11 и 13. После нейтрализации реакционной смеси в течение 15 мин наблюдалось выпадение белого осадка. Реакционную смесь оставляли на ночь при температуре 5°C . Выпавший белый осадок отфильтровывали на нутч-фильтре, промывали последовательно 2 мл дистиллированной воды и 2 мл этилацетата, после чего пептид сушили под вакуумом при температуре 65°C .

N-Формил-(S)-метионилглицин (9) получен по методу [8].

N-Формил-(S)-метионил-(S)-аланин (10). Выход дипептида 68%, т.пл. 138-140°C. $[\alpha]_D^{20} = -18,01^\circ$ (с = 0.5; MeOH). Найдено, %: С 43.61; Н 6.52; N 11.35. $C_9H_{16}N_2O_4S$. Вычислено, %: С 43.55; Н 6.45; N11.29. Спектр ЯМР 1H (DMSO, δ , м.д., Гц): 1.05 (д, 3H, $^3J=6.9$, $\underline{CH_3CH}$); 1.78 (м, 1H); 1.86 (м, 1H, $\underline{CH_2-CH}$); 2.02 (с, 3H, SCH₃); 2.44 (т, 2H, $^3J=8.0$, SCH₂); 4.06 (дд, 1H, $^3J=11.0$, $^3J=8.0$, $\underline{HNCHCH_3}$); 4.45 (дт, 1H, $^3J=7.7$, $^3J=7.4$, $\underline{HNCHCH_2}$); 8.01 (с, 1H, CHO); 8.02 (д, 1H, $^3J=11.0$, $\underline{HNCHCH_3}$); 8.25 (д, 1H, $^3J=8.0$, $\underline{HNCHCH_2}$); 11.20 ш (1H, COOH).

N-Формил-(S)-метионил-(S)- β -[4-(фуран-2-ил-метил)-3-бутил-5-тиоксо-1,2,4-триазол-1-ил]-(-аланин (11). Выход дипептида 65%, т.пл. 156-157°C. Найдено, %: С 49.72; Н 6.05; N 14.51. $C_{20}H_{29}N_5O_5S_2$. Вычислено, %: С 49.68; Н 16.01; N 14.49. $[(\alpha)_D^{20} = -29,77^\circ$ (с 0.44, CH₃OH). Спектр ЯМР 1H (DMSO, δ , м.д., Гц): 0.94 т (3H, $J=7.3$, $\underline{CH_2CH_2CH_2CH_3}$); 1.40 м (2H, $\underline{CH_2CH_2CH_2CH_3}$); 1.62 м (2H, $\underline{CH_2CH_2CH_2CH_3}$); 1.80 м (1H) и 1.93 м (1H, $\underline{CH_2CH_2S}$); 2.05 с (3H, SCH₃); 2.43 м (2H, $\underline{CH_2CH_2CH_2CH_3}$); 2.67 дд (2H, $J_1=8.3$, $J_2=7.1$, $\underline{CH_2CH_2S}$); 4.37 дд (1H, $J_1=13.7$, $J_2=8,5$, $\underline{NHCHCH_2}$); 4.43 м (1H, \underline{NHCH}); 4.56 дд (1H, $J_1=13.7$, $J_2=5.1$, $\underline{NHCHCH_2}$); 4.75 м (1H, \underline{NHCH}); 5.22 с (2H, CH₂-Fur); 6.35 дд (1H, $J_1=3,2$, $J_2=1,8$, 4-Н Fur); 6.38 д (1H, $J=3,2$, 3-Н Fur); 7.43 д (1H, 1.8, 5-Н Fur); 7.96 д (1H, $J=1.4$, CHO); 8.00 дд (1H, $J_1=8.7$, $J_2=1.4$, \underline{NHCHO}); 8.13 д (1H, $J=8.0$, \underline{NHCH}).

N-Формил-(S)-метионил-(S)- β -[4-аллил-3-пропил-5-тиоксо-1,2,4-триазол-1-ил]-(-аланин (12). Выход дипептида 52%, т.пл. 140-141°C. Найдено, %: С 47.61; Н 6.35; N 16.39. $C_{17}H_{27}N_5O_4S_2$. Вычислено, %: С 47.55; Н 6.29; N 16.32. $[(\alpha)_D^{20} = -44,74^\circ$ (с 0.413, CH₃OH). Спектр ЯМР 1H (DMSO, δ , м.д., Гц): 1.00 т (3H, $J=7.4$, $\underline{CH_2CH_2CH_3}$); 1.73 скс (2H, $J=7.4$, $\underline{CH_2CH_2CH_3}$); 1.77 м и 1.92 м (2H, $\underline{CH_2CH_2S}$); 2.05 с (3H, SCH₃); 2.43 м (2H, $\underline{CH_2CH_2S}$); 2.58 м (2H, $\underline{CH_2CH_2CH_3}$); 4.36 дд (1H, $J_1=13.7$, $J_2=8.6$, $=\underline{NNCH_2}$); 4.42 ддд (1H, $J_1=8.6$, $J_2=7.8$, $J_3=5.2$, $\underline{CHONHCH}$); 4.57 дд (1H, $J_1=13.7$, $J_2=5.2$, $=\underline{NNCH_2}$); 4.63 м (2H, $\underline{NCH_2CH=CH_2}$); 4.76 ддд (1H, $J_1=8.6$, $J_2=8.0$, $J_3=5.1$, $\underline{NHCHCOOH}$); 5.08 дк (1H, $J_1=17.2$, $J_2=1.4$, $=\underline{CH_2}$); 5.20 дк (1H, $J_1=10.4$, $J_2=1.4$, $=\underline{CH_2}$); 5.86 ддт (1H, 1H, $J_1=17.2$, $J_2=10.4$, $J_3=5.1$, $=\underline{CH}$); 7.97 д (1H, $J=1.4$, CHO); 8.00 д (1H, $J_1=8.6$, \underline{NHCHO}); 8.13 д (1H, $J=8.0$, $\underline{NHCHCOOH}$); 12.63 ш (1H, COOH).

N-Формил-(S)-метионил-(S)- β -[4-аллил-3-(фуран-2-ил)-5-тиоксо-1,2,4-триазол-1-ил]-(-аланин (13). Выход дипептида 50%, т.пл. 181-183°C. Найдено, %: С 47.22; Н 6.25; N 15.37. $C_{18}H_{28}N_5O_4S_2$. Вычислено, %: С 47.16; Н 6.11; N 15.28. $[(\alpha)_D^{20} = -25,098^\circ$ (с 0.051, CH₃OH). Спектр ЯМР 1H (DMSO, δ , м.д., Гц): 1.79 м и 1.92 м (2H, $\underline{CH_2CH_2S}$); 2.01 с (3H, SCH₃); 2.41 м (2H, $\underline{CH_2CH_2S}$); 4.43 дд (1H, $J_1=13.6$, $J_2=8.5$, $=\underline{NNCH_2}$); 4.44 м (1H, $\underline{CHONHCH}$); 4.70 дд (1H, $J_1=13.6$, $J_2=5.1$, $=\underline{NNCH_2}$); 4.80 ддд (1H, $J_1=8.5$, $J_2=8.0$, $J_3=5.1$, $\underline{NHCHCOOH}$); 4.91 дт (2H, $J_1=5.1$, $J_2=1.5$, CH₂ allyl); 5.10 дк (1H, $J_1=17.2$, $J_2=1.5$, $=\underline{CH_2}$ allyl); 5.17 дк (1H, $J_1=10.4$,

$J_2=1.5$, =CH₂ allyl); 5.90 ддт (1H, $J_1=17.2$, $J_2=10.4$, $J_3=5.1$, =CH allyl); 6.62 дд (1H, $J_1=3.5$, $J_2=1.8$, 4-H Fur); 7.06 дд (1H, $J_1=3.5$, $J_2=0.8$, 3-H Fur); 7.76 дд (1H, $J_1=1.8$, $J_2=0.8$, 5-H Fur); 7.94 д (1H, $J=1.5$, CHO); 8.00 дд (1H, $J_1=8.5$, $J_2=1.5$, NHCHO); 8.23 д (1H, $J=8.0$, NHCHCOOH); 12.60 ш (1H, COOH).

N-Формил-(S)-метионил-(S)-β-[4-аллил-3-бензил-5-тиоксо-1,2,4-триазол-1-ил]-(-аланин (14). Выход дипептида 42%, т.пл. 131-132°C. Найдено, %: С 52.81; Н 5.94; N 14.71. C₂₁H₂₈N₅O₄S₂. Вычислено, %: С 52.72; Н 5.86; N 14.64. $[(\]_D^{20} = -25.098^\circ$ (с 0.051, CH₃OH). Спектр ЯМР ¹H (DMSO, δ, м.д., Гц): 1.80 м и 1.94 м (2H, CH₂CH₂S); 2.04 с (3H, SCH₃); 2.43 м (2H, CH₂CH₂S); 4.02 d (1H, $J=16.5$, CH₂-Ph); 4.05 д (1H, $J=16.5$, CH₂-Ph); 4.39 дд (1H, $J_1=13.7$, $J_2=8.7$, =NNCH₂); 4.47 м (1H, CHONHCH); 4.47 м (2H, CH₂ allyl); 4.61 дд (1H, $J_1=13.7$, $J_2=5.1$, =NNCH₂); 4.81 ддд (1H, $J_1=8.5$, $J_2=8.0$, $J_3=5.1$ NHCHCOOH); 5.0 д (1H, $J=17.2$, =CH₂ allyl); 5.10 д (1H, $J=10.4$, =CH₂ allyl); 5.69 ддт (1H, $J_1=17.2$, $J_2=10.4$, $J_3=5.4$, =CH allyl); 7.19-7.34 м (5H, Ph); 7.98 д (1H, $J=1.8$, CHO); 8.03 дд (1H, $J_1=8.7$, $J_2=1.8$, NHCHO); 8.21 д (1H, $J=7.9$, NHCHCOOH); 12.50 ш (1H, COOH).

N-Формил-(S)-метионилглицил-(S)-β-[4-фуран-2-ил-метил]-3-бутил-5-тиоксо-1,2,4-триазол-1-ил]-α-аланин (15). Синтез и выделение проводили аналогично соединениям **11** и **13** с использованием в качестве исходных субстратов N-формил-(S)-метионилглицина и (S)-β-[4-фуран-2-ил-метил]-3-бутил-5-тиоксо-1,2,4-триазол-1-ил]-α-аланина. Выход 60%, т.пл. 185-186°C. Найдено, %: С 48.91; Н 5.95; N 15.59. C₂₂H₃₂N₆O₅S₂. Вычислено, %: С 48.88; Н 5.92; N 15.55. $[(\]_D^{20} = -6,6$ (с 0,5 CH₃OH). Спектр ЯМР ¹H (DMSO, δ, м.д., Гц): 0.94 т (3H, $J=7.3$, CH₂CH₂CH₂CH₃); 1.41 м (2H, CH₂CH₂CH₂CH₃); 1.64 м (2H, CH₂CH₂CH₂CH₃); 1.82 м (1H) и 1.97 м (1H, CH₂CH₂S); 2.07 с (3H, SCH₃); 2.46 м (2H, SCH₂); 2.68 т (2H, $J=7.5$, CH₂CH₂CH₂CH₃); 3.67 дд (1H, $J_1=16.6$, $J_2=5.6$, NCH₂ Gly); 3.74 дд (1H, $J_1=16.6$, $J_2=5.6$, NCH₂ Gly); 4.33 дд (1H, $J_1=13.7$, $J_2=8,3$, NHCHCH₂); 4.43 тд (1H, $J_1=8.2$, $J_2=5.2$ NHCH); 4.53 дд (1H, $J_1=13.7$, $J_2=5.3$, NHCHCH₂); 4.78 тд (1H, $J_1=8,2$, $J_2=5.2$, NHCH); 5.23 с (2H, CH₂-Fur); 6.35 дд (1H, $J_1=3,2$, $J_2=1,8$, 4-H Fur); 6.38 дд (1H, $J_1=3,2$, $J_2=0,9$, 3-H Fur); 7.44 дд (1H, $J_1=1,8$, $J_2=0,9$, 5-H Fur); 7.95 д (1H, $J=8,2$, NHCH); 7.98 т (1H, $J=5,6$ NHCH₂); 8.02 д (1H, $J=1,4$, CHO); 8.14 дд (1H, $J_1=8,2$, $J_2=1,4$, NHCHO); 12.71 ш (1H, COOH).

N-Формил-(S)-метионилглицил-(S)-β-[4-аллил-3-пропил-5-тиоксо-1,2,4-триазол-1-ил]-α-аланин (16). Синтез проводили аналогично синтезу дипептидов **9-13**. В качестве исходных субстратов использовались N-формил-(S)-метионилглицин и (S)-β-[4-аллил-3-пропил-5-тиоксо-1,2,4-триазол-1-ил]-α-аланин. Выход 52%, т.пл. 162-164°C. Найдено, %: С 46.95; Н 6.41; N 17.31. C₁₉H₃₀N₆O₅S₂. Вычислено, %: С 46.82; Н 6.36; N 17.2. Спектр ЯМР ¹H (DMSO, δ, м.д., Гц): 1.01 т (3H, $J=7.4$, CH₂CH₂CH₃); 1.74 ск (2H,

J=7.4, CH₂CH₂CH₃); 1.83 м и 1.97 м (2H, CH₂CH₂S); 2.07 с (3H, SCH₃); 2.38-2.50 м (2H, CH₂CH₂CH₃); 2.58 т (2H, J=7.5, CH₂CH₂S); 3.67 дд (1H, J₁=16.7, J₂=5.6, NHCH₂CO); 3.75 дд (1H, J₁=16.7, J₂=5.6, NHCH₂CO); 4.31 дд (1H, J₁=13.6, J₂=8.3, =NNCH₂); 4.45 тд (1H, J₁=8.2, J₂=5.2, CHONHCH); 4.56 дд (1H, J₁=13.6, J₂=5.4, =NNCH₂); 4.64 дт (2H, J₁=5.1, J₂=1.6, CH₂ allyl); 4.79 тд (1H, J₁=8.2, J₂=5.4, NHCHCOOH); 5.08 дк (1H, J₁=17.2, J₂=1.6, =CH₂ allyl); 5.20 дк (1H, J₁=10.4, J₂=1.6, =CH₂ allyl); 5.86 ддт (1H, 1H, J₁=17.2, J₂=10.4, J₃=5.1, =CH allyl); 7.96 д (1H, J=8.2, NHCHCOOH); 8.01 т (1H, J=5.6, NHCH₂); 8.02 д (1H, J=1.4, CHO); 8.16 дд (1H, J₁=8.2, J₂=1.4, NHCHO); 12.40 ш (1H, COOH).

N-Формил-(S)-метионил-(S)-аланил-(S)-β-[4-аллил-3-пропил-5-тиоксо-1,2,4-триазол-1-ил]-α-аланин (17). Синтез проводили аналогично предыдущему. Выход 52%, т.пл. 166-168°C. Найдено, %: С 48.51; Н 6.48; N 16.91. С₂₀H₃₂N₆O₅S₂. Вычислено, %: С 48.11; Н 6.41; N 16.82. Спектр ЯМР ¹H (DMSO, δ, м.д., Гц): 1.01 т (3H, J=7.3, CH₃ Pr); 1.25 д (3H, J=7.1, CH₃CH); 1.73 м (2H, CH₂ Pr); 1.80 и 1.96 м (2H, CH₂CH₂S); 2.07 с (3H, SCH₃); 2.45 м (2H, CH₂ Pr); 2.58 т (2H, J=7.4, CH₂CH₂S); 4.26 дк (1H, J₁=7.5, J₂=7.1, CHCH₃); 4.34 дд (1H, J₁=13.7, J₂=8.6, =NNCH₂); 4.43 ддд (1H, J₁=9.0, J₂=8.4, J₃=5.1, CHONHCH); 4.54 дд (1H, J₁=13.7, J₂=5.3 =NNCH₂); 4.64 дт (2H, J₁=5.1, J₂=1.5, CH₂ allyl); 4.75 ддд (1H, J₁=8.6, J₂=7.9, J₃=5.3, NHCHCOOH); 5.08 дк (1H, J₁=17.2, J₂=1.5, =CH₂ allyl); 5.20 дк (1H, J₁=10.4, J₂=1.5, =CH₂ allyl); 5.86 ддт (1H, J₁=17.2, J₂=10.4, J₃=5.1, =CH allyl); 7.81 д (1H, J=7.5, NHCHCH₃); 7.92 д (1H, J=7.9, NHCHCOOH); 8.02 д (1H, J=1.5, CHO); 8.11 дд (1H, J₁=8.4, J₂=1.5, NHCHO); 12.66 ш (1H, COOH).

**ՀԵՏԵՐՈՑԻԿԼԻԿ ՏԵՂԱԿԱԼՎԱԾ ՈՉ ՍՊԵՏԱԿՈՒՅԱՅԻՆ
ԱՄԻՆԱԹՅՈՒՆԵՐԻ ԿԻՐԱՌՍԱՄԲ N-ՖՈՐՄԻԼ ԴԻ- ԵՎ
ՏՐԻՊԵՊՏԻԴՆԵՐԻ ՍԻՆԹԵԶԸ ԵՎ ՆՐԱՆՑ ԱԶԳԵՑՈՒԹՅԱՆ
ՈՒՍՈՒՄՆԱՍԻՐՈՒՄԸ ՍԵՐԻՆԱՅԻՆ ՊՐՈՏԵԱԶՆԵՐԻ ԱԿՏԻՎՈՒԹՅԱՆ
ՎՐԱ**

**Վ. Տ. ԴԱՆՂՅԱՆ, Տ. Հ. ՍԱՐԳՍՅԱՆ, Ս. Մ. ԺԱՄՀԱՐՅԱՆ, Է. Ա. ԳՅՈՒԼՈՒՄՅԱՆ,
Ն. Ա. ՀՈՎՀԱՆՆԻՍՅԱՆ, Ա. Մ. ՀՈՎՀԱՆՆԻՍՅԱՆ, Հ. Ա. ՓԱՆՈՍՅԱՆ,
ՅՈՒ. Մ. ԴԱՆՂՅԱՆ – Ա. Ս. ՍԱՂՅԱՆ**

Սինթեզվել են նոր քեմոտակտիկ դի- և տրիպեպտիդների նմանակները N-ֆորմիլ-(S)-մեթիոնինի և օպտիկապես մաքուր ոչ սպիրտակուցային ամինաթթուների (S)-β-[4-(ֆուրան-2-իլ-մեթիլ)-3-բուտիլ-5-թիոքսո-1,2,4-տրիազոլ-1-իլ]-α-ալանինի (S)-β-[4-ալլիլ-3-պրոպիլ-5-թիոքսո-1,2,4-տրիազոլ-1-իլ]-α-ալանինի, (S)-β-[4-ալլիլ-3-(ֆուրան-2-իլ)-5-թիոքսո-1,2,4-տրիազոլ-1-իլ]-α-ալանինի, (S)-β-[4-ալլիլ-3-բենզիլ-5-թիոքսո-1,2,4-տրիազոլ-1-իլ]-α-ալանինի կիրառմամբ: Պեպտիդների սինթեզը իրականացվել է ակտիվացված էսթերների եղանակով:

Ուսումնասիրվել է սինթեզված պեպտիդների և Համապատասխան ամինաթթուների ազդեցությունը տրիպտինի և պրոտեինազ K-ի ակտիվության վրա: Ցույց է տրվել, որ Հետերոցիկլիկ տեղակալված ամինաթթուները և նրանցից ստացված դի- և տրիպեպտիդները ունեն ինչպես ինհիբացյունոդ, այնպես էլ ակտիվացնող ազդեցություն տրիպտինի և պրոտեինազ K-ի ակտիվության վրա:

**SYNTHESIS OF N-FORMYL DI- AND TRIPEPTIDES USING HETEROCYCLE
SUBSTITUTED NONPROTEIN AMINO ACIDS AND STUDY OF THEIR
EFFECT ON THE ACTIVITY OF SERINE PROTEASES**

**V. T. DANGHYAN, T. H. SARGSYAN, S. M. JAMGARYAN, E. A. GYULUMYAN,
N. A. HOVHANNISYAN, A. M. HOVHANNISYAN, G. A. PANOSYAN,
Yu. M. DANGHYAN and A. S. SAGHYAN**

Scientific and Production Centre "Armbiotechnology" NAS RA
14, Gyurjyan Str., Yerevan, 0056, Armenia
Fax: (37410) 654183 E-mail: sagysu@netsys.am

The synthesis of analogs of chemotactic di- and tripeptides using N-formyl-(S)-methionine and optically pure non-protein amino acids - (S)- β -[4-(furan-2-yl-methyl)-3-butyl-5-thioxo-1,2,4-triazol-1-yl]-, (S)- β -[4-allyl-3-propyl-5-thioxo-1,2,4-triazol-1-yl]-, (S)- β -[4-allyl-3-(furan 2-yl)-5-thioxo-1,2,4-triazol-1-yl]-, (S)- β -[4-allyl-3-benzyl-5-thioxo-1,2,4-triazol-1-yl]- α -alanines was performed. The effect of peptides and corresponding nonprotein amino acids on the activity of trypsin and proteinase K was investigated. It was shown that heterocycle substituted amino acids and resulting di- and tripeptides have both inhibitory and activating effects on the activity of proteinase K and trypsin.

ЛИТЕРАТУРА

- [1] *Poole T.J., Zetter B.R.* // Cancer Research, 1983, v. 43, issue 12, p. 5857.
- [2] *Anwer A.R., McKean J., Smithers S., Kay A.* // J. Immunology, 1980, v. 124, №3, p. 1122.
- [3] *Le Y., Yang Y., Cui Y., Yazawa H., Gong W., Qiu C., Wang J.M.* // Int. Immunopharmacol, 2002, v. 2, №1, p. 1.
- [4] *Le Y., Wang J.M., Liu X., Kong Y., Hou X., Ruan L.* // Protein Pept. Lett., 2007, v. 14, p. 433.
- [5] *Emiko M., Filho C., Souza J., Sempel C., Goncalves C.P., Bortoletti A.* // Alasbimn Journal, 2003, v. 6, №22, p. 22.
- [6] *Vaidyanathan G., Zalutsky M.* // Nuc. Med. and Biol., 1995, v. 22, №6, p. 759.
- [7] *Saghiyan A.S., Geolchanyan A.V., Petrosyan S.G., Ghochikyan T.V., Haroutyunyan V.S., Avetisyan A.A., Belokon' Yu.N., Fisher K.* // Tetrahedron: Asymmetry, 2004, v. 15, p. 705.
- [8] *Дангян Ю., Саргсян Т., Джамгарян С., Гюлумян Э., Паносян Г., Сагян А.* // Хим. ж. Армении, 2010, т. 63, №3, с. 385.
- [9] *Rinderknecht H.* Pancreatic secretory enzymes. In: "The Pancreas: Biology, Pathobiology and Diseases" // Vay Liang W. New York: Raven., 1993, p. 219.
- [10] *Anderson G.W., Zimmerman J.E., Callahan F.M.* // Ibid., 1963, v. 85, №19, p. 3039.
- [11] *Anderson G.W., Zimmerman J.E., Callahan F.M.* // J. Amer. Chem. Soc., 1964, v. 86, №9, p. 1839.
- [12] *Gaade W., Brown J.* // Biochemica and Biophysica Acta, 1981, v. 13, №1, p. 86.