

ՀԱՅԱՍՏԱՆԻ ՀԱՆՐԱՊԵՏՈՒԹՅԱՆ ԳԻՏՈՒԹՅՈՒՆՆԵՐԻ
ԱԶԳԱՅԻՆ ԱԿԱԴԵՄԻԱ
НАЦИОНАЛЬНАЯ АКАДЕМИЯ НАУК РЕСПУБЛИКИ
АРМЕНИЯ

Հայաստանի քիմիական հանդես 66, №3, 2013 Химический журнал Армении

УДК 547.466

СИНТЕЗ ПЕПТИДОВ, СОДЕРЖАЩИХ β -ГЕТЕРОЦИКЛИЧЕСКИ
ЗАМЕЩЕННЫЕ ПРОИЗВОДНЫЕ (S)-АЛАНИНА, И ИЗУЧЕНИЕ ИХ
ВЛИЯНИЯ НА АКТИВНОСТЬ СЕРИНОВЫХ ПРОТЕАЗ

В. Т. ДАНГЯН^а, А. С. САРГСЯН^а, Т. О. САРГСЯН^а, С. М. ДЖАМГАРЯН^а,
Э. А. ГЮЛУМЯН^а, Н. А. ОГАНЕСЯН^а, Г. А. ПАНОСЯН^б,
Ю. М. ДАНГЯН^а и А. С. САГИАН^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 молекулы НАН Республики Армения
Армения, 0014, Ереван, пр. Азатутян, 26

Поступило 10 VI 2013

Методом активированных эфиров синтезированы ди- и трипептиды с использованием N-формил-(S)-метионина, ВОС-(S)-аланина и энантиомерно чистых небелковых аминокислот – (S)- β -[4-пропил-3-бутил-5-тиоксо-1,2,4-триазол-1-ил]- и (S)- β -[4-аллил-3-(2'-хлорфенил)-5-тиоксо-1,2,4-триазол-1-ил]- α -аланинов. Для некоторых синтезированных N-формилпептидов и соответствующих небелковых аминокислот с помощью докинг-анализа проведено моделирование возможных фермент-пептид комплексов, а также исследовано влияние пептидов и аминокислот на активность трипсина и протеиназы К. Показано, что и гетероциклически замещенные аминокислоты и полученные N-формилпептиды оказывают как ингибирующее, так и активирующее влияние на активность протеиназы К и трипсина.

Табл. 2, библи. ссылок 12.

В последние годы интерес к целенаправленному синтезу коротких пептидов обусловлен их широким применением в различных областях медицины. Пептидные препараты, содержащие небелковые аминокислоты с нестандартными заместителями, не узнаваемы со стороны ферментов, что приводит к ингибированию протеолиза и пролонгированию действия лекарств [1,2].

В настоящее время в литературе имеются данные о том, что пептиды, содержащие небелковые аминокислоты, обладают высокой биологической актив-

ностью – ферментингибирующей, антимикробной, антиоксидантной, хемотактической и др. [3-6].

Мы сочли актуальным осуществить синтез ряда пептидов, содержащих N-формил-(*S*)-метионильный и N-третбутоксикарбонил-(*S*)-аланильный фрагменты, а также остаток 5-тиоксотриазолил- α -аланина с различными заместителями у триазольного кольца. Поскольку исходные небелковые аминокислоты обладают высокой энантиомерной чистотой (более 98%), нам удалось отследить наличие или отсутствие рацемизации при получении конкретного пептида.

Синтез пептидов осуществлен методом активированных эфиров в растворе [7,8].

На первой стадии с помощью дициклогексилкарбодиимида (DCC) из N-формил-(*S*)-метионина и N-третбутоксикарбонил-(*S*)-аланина были получены их сукцинимидные (OSu) эфиры [9], которые конденсацией с небелковыми аминокислотами в щелочной водно-органической среде были переведены в соответствующие дипептиды **1-7** (рис. 1).

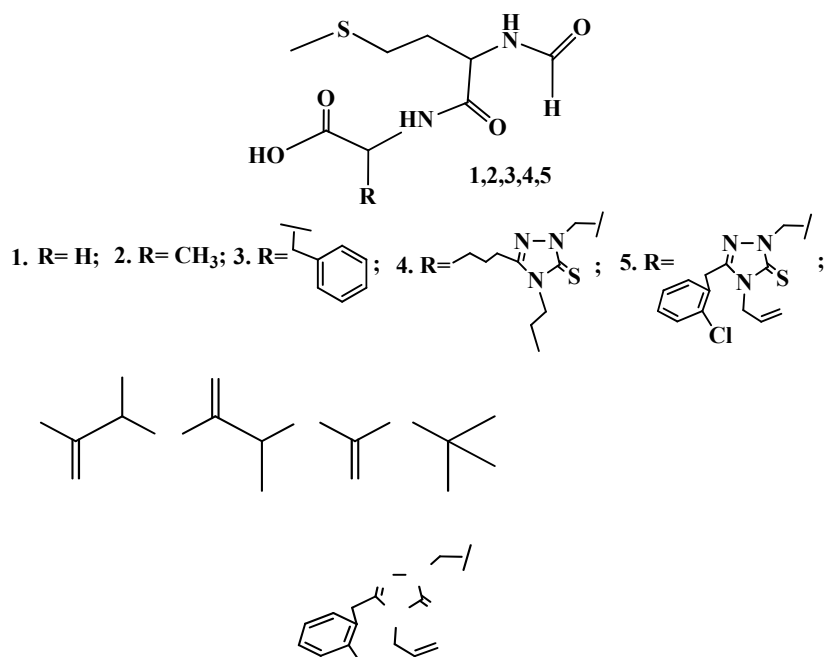


Рис. 1. N-Формил-(*S*)-метионил- и N-третбутоксикарбонил-(*S*)-аланилдипептиды.

N-Формил-(*S*)-метионил- и N-третбутоксикарбонил-(*S*)-аланилтрипептиды (**8-12**) были получены аналогичным способом (рис. 2).

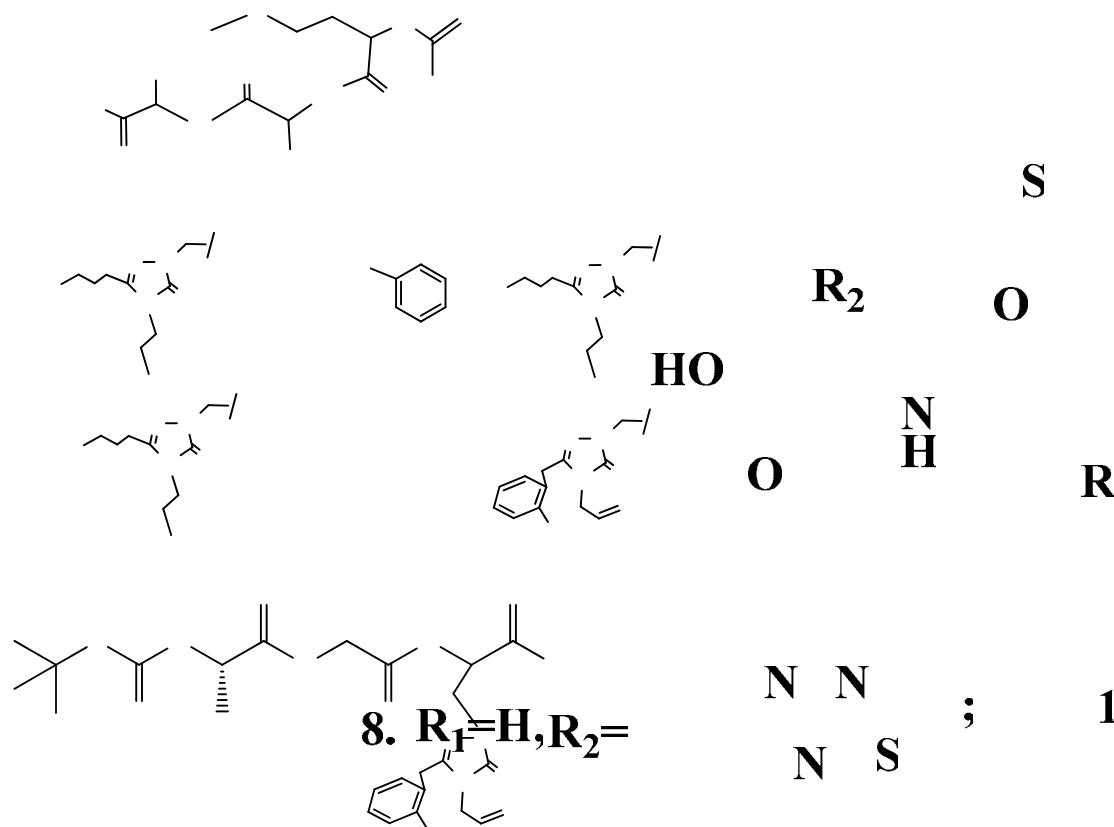


Рис. 2. N-Формил-(S)-метионил- и N-третбутоксикарбонил-(S)-аланилтрипептиды.

Исследования по величине воздействия пептидов на активность сериновых протеаз (трипсина и протеиназы К) были проведены для N-формилпептидов в двух направлениях: а) моделирование взаимодействия пептидов с ферментами с помощью программы докинг; б) определение величины воздействия пептидов на активность ферментов орто-фталальдегидным методом.

С помощью программы докинг рассчитывались свободная энергия по Гиббсу (ΔG) и соответствующие константы диссоциации (K_D). На основании полученных данных оценивалась возможность образования комплексов исследуемых пептидов с ферментами. Результаты анализов приведены в табл. 1, из которой видно, что большинство из исследованных соединений образует комплекс с трипсином, но не с протеиназой К.

Таблица 1

Результаты моделирования взаимодействия фермент-пептид с помощью программ AutoDock и AutoGrid4

Соединение	Трипсин		Протеиназа К	
	свободная энергия по Гиббсу (ΔG) (ккал/моль)	константы диссоциации (K_D)	свободная энергия по Гиббсу (ΔG) (ккал/моль)	константы диссоциации (K_D)
(S)- β -[4-пропил-3-бутил-5-тиоксо-1,2,4-триазол-1-ил]- α -аланин	-5.63	74.54 мкмол	+122.87	–
(S)- β -[4-аллил-3-(2'-хлорфенил)-5-тиоксо-1,2,4-триазол-1-ил]- α -аланин	-5.50	93.57 мкмол	+317.04	–
N-формил-(S)-метионил-(S)- β -[4-пропил-3-бутил-5-тиоксо-1,2,4-триазол-1-ил]- α -аланин (4)	-3.18	820.35 мкмол	+150.13	–
N-формил-(S)-метионил-(S)- β -[4-аллил-3-(2'-хлорфенил)-5-тиоксо-1,2,4-триазол-1-ил]- α -аланин (5)	-5.50	93.57 мкмол	+356.89	–
N-формил-(S)-метионилглицил-(S)- β -[4-пропил-3-бутил-5-тиоксо-1,2,4-триазол-1-ил]- α -аланин (8)	-0.08	870.26 мкмол	+149.15	–
N-формил-(S)-метионил-(S)-аланил-(S)- β -[4-пропил-3-бутил-5-тиоксо-1,2,4-триазол-1-ил]- α -аланин (9)	+10.21	–	+126.50	–
N-формил-(S)-метионил-(S)-фенилаланил-(S)- β -[4-пропил-3-бутил-5-тиоксо-1,2,4-триазол-1-ил]- α -аланин (10)	-3.04	5.98 ммол	+257.85	–

Далее изучено влияние исходных аминокислот и пептидов на активность протеиназы К и трипсина. Активность протеиназы К и трипсина определяли по известной методике, путем измерения количества свободных аминогрупп с помощью орто-фталальдегида (ОФА) [10]. Результаты приведены в табл. 2.

Из приведенных в таблице соединений наибольшее влияние на активность протеиназы К оказывают небелковая аминокислота (S)- β -[4-пропил-3-бутил-5-тиоксо-1,2,4-триазол-1-ил]- α -аланин, дипептиды **4** и **5** и трипептид **9**. При этом видно, что аминокислота, дипептид **4** и трипептид **9** повышают активность протеиназы К, а дипептид **5**, наоборот, ингибирует.

Таблица 2

Действие исходных аминокислот и синтезированных пептидов на активность протеиназы К и трипсина

Соединение (5мМ)	Протеиназа, К	Трипсин
Контроль	1	1
(S)-β-[4-пропил-3-бутил-5-тиоксо-1,2,4-триазол-1-ил]-α-аланин	1.35	1.23
(S)-β-[4-аллил-3-(2'-хлорфенил)-5-тиоксо-1,2,4-триазол-1-ил]-α-аланин	0.81	0.99
N-формил-(S)-метионил-(S)-β-[4-пропил-3-бутил-5-тиоксо-1,2,4-триазол-1-ил]-α-аланин (4)	1.56	0.81
N-формил-(S)-метионил-(S)-β-[4-аллил-3-(2'-хлорфенил)-5-тиоксо-1,2,4-триазол-1-ил]-α-аланин (5)	0.65	0.67
N-формил-(S)-метионилглицил-(S)-β-[4-пропил-3-бутил-5-тиоксо-1,2,4-триазол-1-ил]-α-аланин (8)	1.02	0.95
N-формил-(S)-метионил-(S)-аланил-(S)-β-[4-пропил-3-бутил-5-тиоксо-1,2,4-триазол-1-ил]-α-аланин (9)	1.35	0.78
N-формил-(S)-метионил-(S)-фенилаланил-(S)-β-[4-пропил-3-бутил-5-тиоксо-1,2,4-триазол-1-ил]-α-аланин (10)	1.14	1.03

Экспериментальная часть

Спектры ЯМР ^1H регистрировались на приборе “Varian Mercury 300VX” 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 – хлортолуидин.

Синтез N-формил-(S)-метионилглицина (1), N-формил-(S)-метионил-(S)-аланина (2), N-третбутоксикарбонил-(S)-аланилглицина (6) и соответствующих сукцинимидных эфиров проведен по методикам [9, 11, 12].

Общая методика синтеза N-формилдипептидов 3-7. В плоскодонную колбу с магнитной мешалкой помещали 1 ммоль N-формил-(S)-метионина и 1 ммоль N-гидроксисукцинимид, растворенные в 2 мл смеси диоксан-метиленхлорид в соотношении 2/1. Содержимое колбы охлаждали до -5°C и двумя порциями к нему добавляли 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 (метиленхлорид) под вакуумом при температуре

не выше +30°C. Полученный таким образом в растворе сукцинимидный эфир прибавляли к 1 ммолью соответствующей аминокислоты, предварительно растворенной в 1.5 мл раствора 0.5 М NaOH, содержащего 0.5 ммоль NaHCO₃. Реакцию проводили при температуре +15°C и перемешивании. Через 2 ч к содержимому колбы добавляли 4 мл этилацетата, 1.5 мл 10% раствора лимонной кислоты, 0.2 г NaCl, после чего смесь интенсивно перемешивали.

Выделение дипептидов 3-5. 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.

N-Формил-(S)-метионил-(S)-фенилаланин (3). Выход 62%, т.пл. 193°C. Найдено, %: С 55.62; Н 6.25; N 8.72: C₁₅H₂₀N₂O₄S. Вычислено, %: С 55.55; Н 6.25; N 8.72. Спектр ЯМР ¹H (DMSO, δ, м.д., Гц): 1.74 (м, 1H) и 1.83 (м, 1H, CH₂-CH); 2.02 (с, 3H, SCH₃); 2.38 (т, 2H, ³J=8.0, SCH₂); 2.95 (м, 1H, CH₂Ph); 3.03 (м, 1H, CH₂Ph); 4.45 (м, 2H, NHCH Phe и NHCH Met); 7.96 (д, 1H, ³J=7.0, NHCH Met); 7.98 (с, 1H, CHO); 8.03 (д, 1H, ³J=6.2, NHCH Phe); 11.00 (ш, 1H, COOH).

N-Формил-(S)-метионил-(S)-β-[4-пропил-3-бутил-5-тиоксо-1,2,4-триазол-1-ил]-α-аланин (4). Выход 55 %, т.пл. 165-167°C. Найдено, %: С 48.65; Н 7.09; N 16.01: C₁₈H₃₁N₅O₄S₂. Вычислено, %: С 48.54; Н 6.97; N 15.73: Спектр ЯМР ¹H (DMSO, δ, м.д., Гц): 0.97 (т, 3H, J=7.3, CH₃ Bu); 0.97 (т, 3H, J=7.3, CH₃ Pr); 1.43 (м, 2H, CH₂CH₃ Bu); 1.69 (м, 2H, CH₂CH₂CH₃ Bu); 1.66-1.96 (м, 4H, CH₂CH₂CH₃ Pr и CH₂CH₂S); 2.05 (с, 3H, SCH₃); 2.43 (м, 2H, CH₂CH₂S); 2.63 (тд, 2H, J₁=8.8, ²J=2.0, CH₂CH₂CH₂CH₃ Bu); 3.87 (м, 2H, CH₂CH₂CH₃ Pr); 4.34 (дд, 1H, J₁=13.8, ²J=8.7, =NNCH₂); 4.42 (тд, 1H, J₁=8.1, ²J=5.3, CHONHCH); 4.54 (дд, 1H, J₁=13.8, ²J=5.1, =NNCH₂); 4.74 (ддд, 1H, J₁=8.7, ²J=7.9, ³J=5.1 NHCHCOOH); 7.97 (д, 1H, J=1.6, CHO); 8.00 (дд, 1H, J₁=8.1, ²J=1.6, NHCHO); 8.09 (д, 1H, J=7.9, NHCHCOOH); 12.46 (ш, 1H, COOH).

N-Формил-(S)-метионил-(S)-β-[4-аллил-3-(2'-хлорфенил)-5-тиоксо-1,2,4-триазол-1-ил]-α-аланин (5). Выход 44%, т.пл. 139-140°C: Найдено, %: С 48.21; Н 5.12; N 14.11: C₂₀H₂₅ N₅O₄S₂Cl: Вычислено, %: С 48.14; Н 5.01; N 14.04: Спектр ЯМР ¹H (DMSO, δ, м.д., Гц): 1.80 (м, 1H) и 1.94 (м, 2H, CH₂CH₂S); 2.02 (с, 3H, SCH₃); 2.43 (м, 2H, CH₂CH₂S); 4.45 (м, 1H, CHONHCH); 4.46 (дд, 1H, J₁=13.7, ²J=8.7, =NNCH₂); 4.51 (м, 2H, CH₂ allyl); 4.71 (дд, 1H, J₁=13.7, ²J=5.1, =NNCH₂); 4.81 (д, 1H, J=16.9, =CH₂ аллил); 4.88 (тд, 1H, J₁=8.4, ²J=5.1, NHCHCOOH); 5.01 (д, 1H, J=10.43, =CH₂ allyl); 5.67 (ддт, 1H, J₁=16.9, ²J=10.4, ³J=5.5, =CH аллил); 7.47 (м, 1H, Ph); 7.54-7.59 (м, 3H, Ph); 7.97 (д, 1H, J=1.3, CHO); 8.07 (дд, 1H, J₁=8.5, ²J=1.3, NHCHO); 8.24 (д, 1H, J=8.1, NHCHCOOH); 12.74 (ш1H, COOH).

Получение N-формилтрипептидов (8-11). Синтез трипептидов проведен аналогично синтезу дипептидов.

N-Формил-(S)-метионилглицил-(S)-β-[4-пропил-3-бутил-5-тиоксо-1,2,4-триазол-1-ил]-α-аланин (8). Выход 54%, т.пл. 149-150°C. Найдено, %: С 48.92; Н 6.91; N 16.97: C₂₀H₃₄N₆O₅S₂. Вычислено, %: С 48.81; Н 6.77; N 16.73. Спектр ЯМР ¹H (DMSO, δ, м.д., *Γ*_H): 0.97 (т, 3H, J=7.3, CH₃ Bu); 0.97 (т, 3H, J=7.3, CH₃ Pr); 1.44 (м, 2H, CH₂CH₃ Bu); 1.64-1.77 (м, 4H, CH₂CH₂CH₃ Bu и CH₂CH₃ Pr); 1.82 и 1.96 (м, м, 2H, CH₂CH₂S); 2.06 (с, 3H, SCH₃); 2.42-2.48 (м, 2H, CH₂CH₂S); 2.64 (м, 2H, CH₂CH₂CH₂CH₃ Bu); 3.67 (дд, 1H, J₁=16.7, ²J=5.6, NHCH₂CO); 3.74 (дд, 1H, J₁=16.7, ²J=5.6, NHCH₂CO); 3.87 (д, 2H, CH₂CH₂CH₃ Pr); 4.29 (дд, 1H, J₁=13.7, ²J=8.3, =NNCH₂); 4.45 (тд, 1H, J₁=8.3, ²J=5.3, CHONHCH); 4.52 (дд, 1H, J₁=13.7, ²J=5.4, =NNCH₂); 4.76 (тд, 1H, J₁=8.1, ²J=5.4, NHCHCOOH); 7.94 (д, 1H, J=8.3, NHCHCOOH); 7.98 (т, 1H, J=5.6, NHCH₂CO); 8.01 (д, 1H, J=1.3, CHO); 8.13 (дд, 1H, J₁=8.1, ²J=1.3, NHCHO); 12.65 (ш, 1H, COOH).

N-Формил-(S)-метионил-(S)-аланил-(S)-β-[4-пропил-3-бутил-5-тиоксо-1,2,4-триазол-1-ил]-α-аланин (9). Выход 54%, т.пл. 180-181°C. Найдено, %: С 47.95; Н 6.91; N 16.85: C₂₀H₃₄N₆O₅S₂. Вычислено, %: С 47.81; Н 6.77; N 16.73: Спектр ЯМР ¹H (DMSO, δ, м.д., *Γ*_H): 0.97 (т, 3H, ³J=7.3, CH₃ Bu); 0.97 (т, 3H, ³J=7.3, CH₃ Pr); 1.24 (д, 3H, ³J=7.0, CH₃ Ala); 1.44 (м, 2H, CH₂CH₃ Bu); 1.64-1.76 (м, 4H, CH₂CH₃ Pr; CH₂CH₂CH₃ Bu); 1.81 (м, 1H, CH₂CH₂S); 1.95 (м, 1H, CH₂CH₂S); 2.06 (с, 3H, SCH₃); 2.44 (м, 2H, SCH₂); 2.63 (м, 2H, CH₂CH₂CH₂CH₃ Bu); 3.88 (м, 2H, CH₂CH₂CH₃ Pr); 4.25 (дкв, 1H, ³J=7.6, ³J=7.0, CHCH₃ Ala); 4.32 (дд, 1H, ²J=13.7, ³J=8.7, =NNCH₂); 4.43 (ддд, 1H, ³J=8.4, ³J=8.4, ³J 5.0, CHONHCH); 4.51 (дд, 1H, ²J=13.7, ³J=5.2, =NNCH₂); 4.72 (ддд, 1H, ³J=8.7, ³J=8.1, ³J=5.2 NHCHCOOH); 7.81 (д, 1H, ³J=7.5, NH Ala); 7.91 (д, 1H, ³J=8.1, NHCHCOOH); 8.02 (д, 1H, ³J=1.5, CHO); 8.12 (дд, 1H, ³J=8.4, ³J=1.5, NHCHO); 12.70 (br, 1H, COOH):

N-Формил-(S)-метионил-(S)-фенилаланил-(S)-β-[4-пропил-3-бутил-5-тиоксо-1,2,4-триазол-1-ил]-α-аланин (10). Выход 51%, т.пл. 134-135°C. Спектр ЯМР ¹H: (DMSO, δ, м.д., *Γ*_H): 0.94 (т, 3H, ³J=7.3, CH₃ Bu); 0.96 (т, 3H, ³J=7.3, CH₃ Pr); 1.42 (м, 2H, CH₂CH₃ Bu); 1.63-1.76 (м, 4H, CH₂CH₃ Pr и CH₂CH₂CH₃ Bu); 1.70-1.90 (м, 2H, CH₂CH₂S); 2.03 (с, 3H, SCH₃); 2.33 (м, 2H, SCH₂); 2.62 (м, 2H, CH₂CH₂CH₂CH₃ Bu); 2.80 (дд, 1H, ²J= 14.0, ³J= 9.1, CH₂ Ph); 3.06 (дд, 1H, ²J= 14.0, ³J=4.3, CH₂ Ph); 3.87 (м, 2H, CH₂CH₂CH₃ Pr); 4.31 (дд, 1H, ²J=13.7, ³J=8.8, =NNCH₂); 4.35 (м, 1H, CHCH₂ Ph); 4.50 (м, 1H, CHONHCH); 4.54 (дд, 1H, ²J=13.7, ³J=5.3, =NNCH₂); 4.76 (м, 1H, NHCHCOOH); 7.11-7.21 (м, 5H, Ph); 7.70 (д, 1H, ³J=8.4, NH); 7.97 (д, 1H, ³J=1.5, CHO); 8.03 (дд, 1H, ³J=8.4, ³J=1.5, NHCHO); 8.14 (м, 1H, NH); 12.90 (ш, 1H, COOH).

N-Формил-(S)-метионил-(S)-аланил-(S)-β-[4-аллил-3-(2'-хлорфенил)-5-тиоксо-1,2,4-триазол-1-ил]-α-аланин (11). Выход 54%, т.пл. 207-209°C. Спектр ЯМР ¹H: (DMSO, δ, м.д., *Γ*_H): 1.25 (д, 3H, ³J 7.1 CH₃ ala); 1.80 и 1.96 (м, 2H, CH₂CH₂S); 2.05 (с, 3H, SCH₃); 2.44 (м, 2H, CH₂CH₂S); 4.29 (дкв, 1H, ³J=7.5, ³J=7.1 CH ala); 4.44 (дд, 1H, ²J=13.6, ³J=7.6, =NNCH₂); 4.45 (м, 1H, CHONHCH); 4.51 (м, 2H, CH₂ all); 4.67 (дд, 1H, ²J=13.6, ³J=5.3, =NNCH₂); 4.82 (д, 1H, ³J=16.2, =CH₂ all); 4.84 (ддд, 1H, ³J=8.2, ³J₂=7.6, ³J=5.3, NHCHCOOH); 5.02 (д, 1H, ³J=10.4, =CH₂ all); 5.67 (ддт, 1H, ³J₁=16.2, ³J=10.4, ³J₃=5.4, =CH all); 7.45-7.59 (м, 4H, Ph); 7.86 (д, 1H, ³J=7.5, NH); 8.01 (д, 1H, ³J=8.2, NHCOOH); 8.02 (д, 1H, ³J=1.5, CHO); 8.12 (дд, 1H, ³J=8.6, ³J=1.5, NHCHO); 12.76 (ш, 1H, COOH).

Синтез N-третбутоксикарбонил-(S)-аланил-(S)-β-[4-аллил-3-(2'-хлорфенил)-5-тиоксо-1,2,4-триазол-1-ил]-α-аланина (7). К раствору 1.5 ммоль (S)-β-[4-аллил-3-(2'-хлорфенил)-5-тиоксо-1,2,4-триазол-1-ил]-α-аланина в 2 мл раствора 0.5 М NaOH добавляли 1 ммоль NaHCO₃ и далее прибавляли 1.6 ммоль соответствующего N-сукцинимидного эфира BOC-(S)-аланина в 4 мл диоксана. Реакционную смесь перемешивали 6 ч при комнатной температуре, затем переносили в делительную воронку и добавляли 6 мл этилацетата, 3 мл 10% раствора лимонной кислоты и 3.4 г NaCl. После интенсивного перемешивания органический слой отделяли, сушили безводным сульфатом натрия, затем упаривали в вакууме досуха при 50°C. Остаток кристаллизовали из смеси этилацетат-гексан, 1/3. Выход 58%, т.пл. 85-90°C. Спектр ЯМР ¹H: (DMSO, δ, м.д., *Γ*_H): 1.22 (д, 3H, ³J=7.1, CH₃ ala); 1.41 (с, 9H, CH₃ t-Bu); 3.98 (дкв, 1H, ³J=8.1, ³J=7.1, CH ala); 4.42 (дд, 1H, ²J=13.6, ³J=8.8, NHCHCH₂); 4.50 (дт, 2H, ³J=5.4, ⁴J=1.5, CH₂ all); 4.67 (дд, 1H, ²J=13.6, ³J=4.9, NHCHCH₂); 4.81 (м, 1H, NHCHCH₂); 4.82 (дкв, 1H, ³J=17.1, ⁴J~²J 1.5, =CH₂ all); 5.00 (дкв, 1H, ³J=10.4, ⁴J~²J=1.5, =CH₂ all); 5.66 (ддт, 1H, ³J 17.1, ³J 10.4, ³J 5.4, =CH all); 6.16 (д, 1H, ³J=7.8, NH ala); 7.42-7.61 (м, 4H, C₆H₄); 7.89 (д, 1H, ³J=8.1, NHCHCH₂); 10.2 (ш, 1H, COOH).

Синтез BOC-(S)-аланилглицил-(S)-β-[4-аллил-3-(2'-хлорфенил)-5-тиоксо-1,2,4-триазол-1-ил]-α-аланина (12). Синтез трипептида проведен аналогично синтезу дипептида 7. Выход 75%, т.пл. 118-120°C. Спектр ЯМР ¹H: (DMSO, δ, м.д., *Γ*_H): 1.23 (д, 3H, ³J=7.1, CH₃ Ala); 1.41 (с, 9H, CH₃ t-Bu); 3.71 (дд, 1H, ²J=17.0, ³J=5.3, NHCH₂ Gly); 3.75 (дд, 1H, ²J=17.0, ³J=5.3, NHCH₂ Gly); 3.98 (дкв, 1H, ³J=7.5, ³J=7.1, CH Ala); 4.40 (дд, 1H, ²J=13.6, ³J=8.7, NHCHCH₂); 4.50 (бр, 2H, CH₂ all); 4.69 (дд, 1H, ²J=13.6, ³J=5.1, NHCHCH₂); 4.83 (д, 1H, ³J=17.3, =CH₂ all); 4.91 (ддд, 1H, ³J=8.7, ³J=8.4, ³J=5.1, NHCHCH₂); 5.01 (д, 1H, ³J=10.3, =CH₂ all); 5.66 (ддт, 1H, ³J=17.3, ³J=10.3, ³J=5.3, =CH all); 6.42 (д, 1H, ³J=7.5, NH ala); 7.45-7.58 (м, 4H, C₆H₄); 7.76 (т, 1H, ³J=5.3, NH Gly); 8.06 (д, 1H, ³J=8.4, NHCHCH₂); 10.2 (ш, 1H, COOH).

**β-ՀԵՏԵՐՈՑԻԿԼԻԿ ՏԵՂԱԿԱԼՎԱԾ (S)-ԱԼԱՆԻՆԻ ԱԾԱՆՑՑԱԼՆԵՐ
ՊԱՐՈՒՆԱԿՈՂ ՊԵՊՏԻԴՆԵՐԻ ՄԻՆԹԵԶԸ ԵՎ ԴՐԱՆՑ ԱԶԴԵՑՈՒԹՅԱՆ
ՈՒՍՈՒՄՆԱՍԻՐՈՒՄԸ ՖԵՐՄԵՆՏՆԵՐԻ ԱԿՏԻՎՈՒԹՅԱՆ ՎՐԱ**

**Վ. Տ. ԴԱՆԴՅԱՆ, Ա. Ս. ՍԱՐԳՍՅԱՆ, Տ. Հ. ՍԱՐԳՍՅԱՆ, Ս.Մ. ԺԱՄՅԱՐՅԱՆ,
Է. Ա. ԳՅՈՒԼՈՒՄՅԱՆ, Ն. Ա. ՀՈՎՀԱՆՆԻՍՅԱՆ, Հ. Ա. ՓԱՆՈՍՅԱՆ,
ՅՈՒ. Մ. ԴԱՆԴՅԱՆ և Ա. Ս. ՍԱՐԳՅԱՆ**

Ակտիվացված էսթերների եղանակով սինթեզվել են դի- և տրիպեպտիդներ N-ֆորմիլ-(S)-մեթիոնին, N-տրեպտուոքսիկարբոնիլ-(S)-ալանին պաշտպանված ամինաթթուների և էնանթիոմերապես մաքուր ոչ սպիտակուցային ամինաթթուներ (S)-β-[4-պրոպիլ-3-բուտիլ-5-թիօքս-1,2,4-տրիազոլ-1-իլ]- և (S)-β-[4-ալիլ-3-(2'-քլորֆենիլ)-5-թիօքս-1,2,4-տրիազոլ-1-իլ]-α-ալանինների կիրառմամբ:

Ելային ոչ սպիտակուցային ամինաթթուների և սինթեզված ֆորմիլպեպտիդների համար՝ իրականացվել է հնարավոր ֆերմենտ-պեպտիդ կոմպլեքսների մոդելավորում դոքինգ անալիզի եղանակի օգնությամբ, ինչպես նաև հետազոտվել է սինթեզված պեպտիդների և համապատասխան ամինաթթուների ազդեցությունը տրիպսինի և պրոտեինազ K-ի ակտիվության վրա: Ցույց է տրվել, որ հետերոցիկլիկ տեղակալված ամինաթթուները և դրանցից կազմված ֆորմիլդի- և տրիպեպտիդներն ունեն ինչպես արգելակիչ, այնպես էլ խթանիչ ազդեցություն տրիպսինի և պրոտեինազ K-ի ակտիվության վրա:

**SYNTHESIS OF PEPTIDES CONTAINING β-HETEROCYCLE SUBSTITUTED
DERIVATIVES OF (S)-ALANINE AND STUDY OF THEIR INFLUENCE ON
THE ACTIVITY OF SERINE PROTEASES**

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

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

By the method of activated esters di- and tripeptides with the use of N-formyl-(S)-methionine, BOC-(S)-alanine and enantiomerically pure non-protein amino acids – (S)-β-[4-propyl-3-butyl-5-thioxo-1,2,4-triazol-1-yl]-α-alanine and (S)-β-[4-allyl-3-(2'-chlorophenyl)-5-thioxo-1,2,4-triazol-1-yl]-α-alanine were synthesized. For some synthesized N-formylpeptides and corresponding non-protein amino acids, modeling of possible enzyme-peptide complexes by docking analysis was carried out and the effect of peptides and amino acids on activity of trypsin and proteinase K was studied. Heterocycle substituted amino acids and the obtained N-formyl-peptides were shown to have both inhibiting and activating effects on activity of proteinase K and trypsin.

ЛИТЕРАТУРА

- [1] Rivier J., Brown M., Vale W. // Biochem. Biophys. Res. Comm., 1976, v. 65, issue. 2, p. 746.
- [2] Затевахин И.И., Щегалов А.А., Аль-Сабунч О.А., Волков П.Ю. Применение октеротиды в гастроэнтерологии. М., Медицина, 2000, с. 28.

- [3] *Hovhannisyan N.A., Harutyunyan Sh.S., Hovhannisyan A.M., Hambardzumyan A.A., Chitchyan M.B., Melkumyan M.A., Oganeseva G.G., Avetisyan N.S.* // Amino Acid., 2009, v. 37, №3, p. 531.
- [4] *Mathur P., Jagannathan N.R., Chauhan V.S.* // Journal of peptide Science, 2007, v.13, №4, p. 253.
- [5] *Boldyrev A., Johnson P.* / In: P Johnson, A Boldyrev, eds., Oxidative Stress at Molecular, Cellular and Organ Levels, 2002, p. 101.
- [6] *Hartwig W., Carter E., Jimenez R., Werner J., Fischman A., Fernandez-Del Castillo C., Warshaw A.* // J. Appl. Physiol., 1999, v. 87, №2, p. 743.
- [7] *Nefkens G., Tesser G.* // J. Amar. Chem. Soc., 1961, v. 83, issue. 5, p. 1263.
- [8] *Anderson G.W., Zimmerman J.E., Callahan F.M.* // J.Am. Chem. Soc., 1964, v. 86, №9, p. 1839.
- [9] *Дангян Ю.М., Саргсян Т.О., Джамгарян С.М., Гюлумян Э.А., Паносян Г.А., Сагиян А.С.* // Хим. ж. Армении, 2010, т. 63, №3, с. 385.
- [10] *Gaade W., Brown J.* // Biochemica and Biophysica Acta, 1981, v. 13, №1, p. 86.
- [11] *Дангян В.Т., Саргсян Т.О., Джамгарян С.М., Гюлумян Э.А., Оганесян Н.А., Оганесян А.М., Паносян Г.А., Дангян Ю.М., Сагиян А.С.* // Хим. ж. Армении, 2012, т. 65, №4, с. 491.
- [12] *Дангян Ю.М., Саргсян Т.О., Джамгарян С.М., Гюлумян Э.А., Паносян Г.А., Сагиян А.С.* // Хим. ж. Армении, 2010, т. 63, №1, с. 95.