

**СИНТЕЗ ПЕПТИДОВ, СОДЕРЖАЩИХ β -ГЕТЕРОЦИКЛИЧЕСКИ
ЗАМЕЩЕННЫЕ ПРОИЗВОДНЫЕ (S)-АЛАНИНА**

**В. Т. ДАНГЯН^а, Т. О. САРГСЯН^а, С. М. ДЖАМГАРЯН^а, Э. А. ГЮЛУМЯН^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 молекулы НАН Республики Армения
Армения, 0014, Ереван, пр. Азатутян, 26

Поступило 17 II 2014

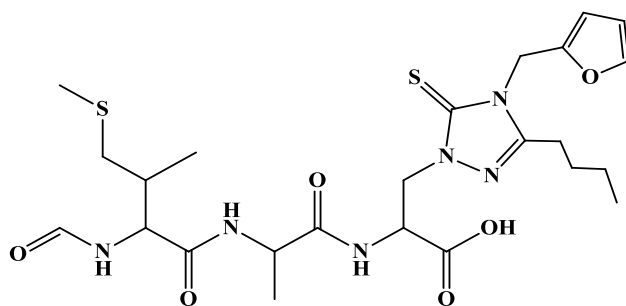
Синтезированы ди- и трипептиды с использованием N-формил-(S)-метионина, N-трет-бутилоксикарбонил-(S)-аланина и ряда энантиомерно чистых небелковых аминокислот – (S)- β -[4-аллил-3-изобутил-5-тиоксо-1,2,4-триазол-1-ил]- α -аланина, (S)- β -[4-пропил-3-изобутил-5-тиоксо-1,2,4-триазол-1-ил]- α -аланина, (S)- β -[4-аллил-3-(2'-метоксифенил)-5-тиоксо-1,2,4-триазол-1-ил]- α -аланина, (S)- β -[4-(фуран-2-илметил)-3-бутил-5-тиоксо-1,2,4-триазол-1-ил]- α -аланина и (S)- β -[4-фенил-3-пропил-5-тиоксо-1,2,4-триазол-1-ил]- α -аланина.

С помощью программы “Пасс-онлайн” проведен скрининг синтезированных пептидов для предсказания спектра их биологической активности. Показано, что они могут проявлять различную биологическую активность в зависимости от конкретной структуры молекулы. Например, все синтезированные пептиды имеют вероятность быть агонистами фактора роста фибробластов и ингибиторами протеасом аденозинтрифосфатазы. При этом наибольшая вероятность активности ожидается для N-f-(S)-метионил-(S)- β -[4-пропил-3-изобутил-5-тиоксо-1,2,4-триазол-1-ил]- α -аланина, N-f-(S)-метионил-(S)- β -[4-аллил-3-изобутил-5-тиоксо-1,2,4-триазол-1-ил]- α -аланина и (S)-аланил-(S)- β -[4-(фуран-2-илметил)-3-бутил-5-тиоксо-1,2,4-триазол-1-ил]- α -аланина.

Рис. 2, табл. 1, библиографические ссылки 12.

Широкий спектр биологического действия природных пептидов и их синтетических производных послужил основой для создания новых соединений этого ряда. В настоящее время большой интерес представляют пептиды, в состав которых входят также небелковые аминокислоты [1-4]. Поэтому мы сочли актуальным изучить возможность синтеза

N-Формил-(S)-метионилтрипептид (7) был получен аналогично из соответствующего дипептида (рис. 2).



7

Рис. 2. N-Формил-(S)-метионил-(S)-аланил-(S)-β-[4-(фуран-2-илметил)-3-бутил-5-тиоксо-1,2,4-триазол-1-ил]-α-аланин.

Большой интерес представляет рассмотрение уже синтезированных пептидов как потенциальных соединений фармакологического действия. В настоящее время широко используются различные компьютерные программы, которые делают возможным как моделирование биологически активных молекул, так и прогнозирование свойств многочисленных органических молекул известной структуры. Одной из таких программ является программа "Пасс-онлайн", которая использовалась нами для выявления спектра вероятной биологической активности синтезированных пептидов.

ПАСС (англ. PASS – Prediction of Activity Spectra for Substances) — это компьютерная программа, являющаяся вспомогательным инструментом для оценивания общего биологического потенциала органических лекарствовоподобных молекул [7].

Программа ПАСС-онлайн дает возможность прогнозировать более чем 3500 видов активностей, включая фармакологические эффекты, механизмы воздействия, токсические и побочные эффекты, взаимодействие с метаболическими ферментами и транспортерами, воздействие на экспрессию генов и т.д. Для получения спектра биологической активности данного вещества достаточно иметь только структурную формулу; таким образом предсказание возможно и для соединений, которые еще не синтезированы [8].

Предсказание свойств основано на анализе взаимосвязи структура — активность более чем 250.000 биологически активных веществ, включая лекарства, соединения, являющиеся потенциальными медикаментами, токсические вещества и т.д.

Результаты прогноза выдаются в виде списка названий вероятных видов активностей с расчетными оценками вероятностей наличия (Pa) и отсутствия (Pi) со значением от 0 до 1.

Некоторые вероятные биологические активности синтезированных пептидов

Соединение	Лечение атеросклероза	Иммуностимулятор	Агонист фактора роста фибробластов	Белково-аргинин Деиминаз ингибитор	Ингибитор протеасом АТФазы	Лечение мукозита	N-типа блокаторы кальциевых каналов
	Pa	Pa	Pa	Pa	Pa	Pa	Pa
N-f-(S)-метионил-(S)- β -[4-аллил-3-(2'-метоксифенил)-5-тиоксо-1,2,4-триазол-1-ил]- α -аланин (1)	—	—	0.552	0.527	0.448	0.433	—
N-f-(S)-метионил-(S)- β -[4-пропил-3-изобутил-5-тиоксо-1,2,4-триазол-1-ил]- α -аланин (3)	—	—	0.685	0.631	0.633	0.605	—
N-f-(S)-метионил-(S)- β -[4-аллил-3-изобутил-5-тиоксо-1,2,4-триазол-1-ил]- α -аланин (2)	—	0.504	0.645	0.596	0.607	0.491	—
N-f-(S)-метионил-(S)- β -[4-(фуран-2-илметил)-3-бутил-5-тиоксо-1,2,4-триазол-1-ил]- α -аланин(4)	—	—	0.631	0.536	0.490	0.524	—
N-BOC-(S)-аланил-(S)- β -[4-фенил-3-пропил-5-тиоксо-1,2,4-триазол-1-ил]- α -аланин (5)	0.592	—	0.456	—	0.538	0.391	0.649
N-BOC-(S)-аланил-(S)- β -[4-(фуран-2-илметил)-3-бутил-5-тиоксо-1,2,4-триазол-1-ил]- α -аланин (6)	—	—	0.388	—	0.468	0.245	—
(S)-аланил-(S)- β -[4-(фуран-2-илметил)-3-бутил-5-тиоксо-1,2,4-триазол-1-ил]- α -аланин (7)	0.564	—	0.640	—	0.603	0.747	0.631

— не проявляет активность.

Pa (probability "to be active") оценивает вероятность принадлежности изучаемого соединения к субклассу активных соединений на основе схожести структуры с теми молекулами, которые являются наиболее типичными в данном субнаборе «активные».

Pi (probability "to be inactive") оценивает вероятность принадлежности изучаемого соединения к субклассу неактивных соединений.

Эти вероятности рассчитываются независимо — по субнаборам активных и неактивных соединений, и поэтому их сумма не равна единице. Чем больше для конкретной активности величина Pa и чем меньше величина Pi, тем больше шанс обнаружить данную активность в эксперименте. Активность считается вероятной, если значения $Pa > 0.5 > Pi$.

Как видно из приведенной таблицы, для некоторых биологических активностей пептидов имеются близкие значения вероятностей активности. Так, теоретически все пептиды, приведенные в таблице, имеют вероятность быть агонистами фактора роста фибробластов и ингибиторами протеасом АТФазы, при этом наибольшая активность ожидается для пептидов — N-f-(S)-метионил-(S)- β -[4-пропил-3-изобутил-5-тиоксо-1,2,4-триазол-1-ил]- α -аланина (**3**), N-f-(S)-метионил-(S)- β -[4-аллил-3-изобутил-5-тиоксо-1,2,4-триазол-1-ил]- α -аланина (**2**) и (S)-аланил-(S)- β -[4-(фуран-2-илметил)-3-бутил-5-тиоксо-1,2,4-триазол-1-ил]- α -аланина (**7**).

Из таблицы видно, что в случае N-формилпептидов замена ароматического заместителя у триазольного кольца на алифатическую группу приводит к повышению вышеуказанных свойств. Эта закономерность повторяется в случае N-ВОС-пептидов, при этом, когда деблокируем N-ВОС группу, происходит дополнительное повышение активности.

Результаты скрининга указывают направление биологических исследований полученных пептидов и в случае удовлетворительных результатов могут послужить основой для моделирования новых пептидов и их дальнейшего целевого синтеза.

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. ТСХ проводили на пластинках "Silufol UV-254" в системе хлороформ – этилацетат – метанол (4:4:1), проявитель – хлор-толуидин.

Синтез N-формил-(S)-метионина, N-формил-(S)-метионил-(S)-аланина, N-трет-бутилоксикарбонил-(S)-аланина и соответствующих сукцинимидных эфиров проведен по методикам [9-11]. Оптически чистые небелковые аминокислоты были предоставлены исследователями лаборатории асимметрического синтеза НПЦ «Армбиотехнология» НАН Республики Армения [12].

Получение N-формил-(S)-метионил-(S)- β -[4-аллил-3-изобутил-5-тиоксо-1,2,4-триазол-1-ил]- α -аланина (2**).** В плоскодонную колбу с магнитной мешалкой помещают 0.153 г (0.55 ммоль) (S)- β -[4-аллил-3-изобутил-5-тиоксо-1,2,4-триазол-1-ил]- α -аланина, 1.0 мл 0.5М раствора едкого натра и 0.03 г (0.33 ммоль) пищевой соды. При комнатной температуре добавляют 0.16 г (0.6 ммоль) сукцинимидного эфира N-формил-(S)-метионила в 3 мл диоксана, перемешивают реакционную смесь в течение 2 ч и оставляют на ночь в холодильнике при температуре 5°C. На следующий день в содержимое колбы добавляют 4 мл этилацетата, 2 мл 10% лимонной кислоты и 0.5 г хлористого натрия. После интенсивного перемешивания в течение 15 мин органический слой отделяют и упаривают растворитель в

вакууме при 50°C. Дипептид выделяют кристаллизацией из этилацетата. Выход 52%, т.пл. 166-167°C. Спектр ЯМР ¹H (DMSO, δ, м.д., Гц): 0.98 (д, 6H, ³J=6.6, CH₃ i-Bu); 1.78 и 1.92 (м, м, 2H, CH₂CH₂S); 2.05 (с, 3H, SCH₃); 2.10 (м, 1H, CH i-Bu); 2.43 (м, 2H, CH₂CH₂S); 2.48 (д, 2H, ³J = 7.0, CH₂ i-Bu); 4.36 (дд, 1H, ²J=13.7, ³J=8.6, =NNCH₂); 4.42 (ддд, 1H, ³J₁=8.1, ³J₂=5.3, ³J 5.5, CHONHCH); 4.57 (дд, 1H, ²J=13.7, ³J=5.3, =NNCH₂); 4.63 (дт, 2H, ³J=5.1, ⁴J=1.4, CH₂ allyl); 4.77 (ддд, 1H, ³J=8.4, ³J=7.8, ³J=5.5 NHCHCOOH); 5.07 (дк, 1H, ³J=17.2, ²J=⁴J~1.4, =CH₂ allyl); 5.20 (дк, 1H, ³J=10.4, ²J=⁴J~1.4, =CH₂ allyl); 5.86 (ддт, 1H, ³J=17.2, ³J=10.4, ³J=5.1, =CH allyl); 7.97 (д, 1H, ³J=1.5, CHO); 8.01 (дд, 1H, ³J₁=8.1, ³J₂=1.5, NHCHO); 8.15 (д, 1H, ³J=8.0, NHCHCOOH); 12.66 (ш, 1H, COOH).

N-Формил-(S)-метионил-(S)-β-[4-пропил-3-изобутил-5-тиоксо-1,2,4-триазол-1-ил]-α-аланин (3). Синтез дипептида **3** проводят аналогично синтезу дипептида **2**. Конечный продукт выделяют кристаллизацией из смеси этилацетат-гексан. Выход 58%, т.пл. 162-163°C. Спектр ЯМР ¹H (DMSO, δ, м.д., Гц): 0.97 (т, 3H, ³J=7.5, CH₃ Pr); 1.00 (д, 6H, ³J=6.6, CH₃ i-Bu); 1.72 (м, 2H, CH₂ Pr); 1.82 и 1.91 (м, м, 2H, CH₂CH₂S); 2.05 (с, 3H, SCH₃); 2.11 (м, 1H, CH i-Bu); 2.43 (м, 2H, CH₂CH₂S); 2.52 (м, 2H, CH₂ i-Bu); 3.87 (м, 2H, CH₂CH₂CH₃ Pr); 4.35 (дд, 1H, ²J=13.8, ³J=8.2, =NNCH₂); 4.42 (ддд, 1H, ³J₁=8.5, ³J₂=8.1, ³J 5.3, CHONHCH); 4.55 (дд, 1H, ²J=13.8, ³J=5.2, =NNCH₂); 4.75 (ддд, 1H, ³J=8.2, ³J=8.1, ³J=5.2 NHCHCOOH); 7.96 (д, 1H, ³J=1.5, CHO); 8.01 (дд, 1H, ³J₁=8.5, ³J₂=1.5, NHCHO); 8.12 (д, 1H, ³J=8.0, NHCHCOOH); 12.67 (ш, 1H, COOH).

N-Формил-(S)-метионил-(S)-β-[4-аллил-3-(2'-метоксифенил)-5-тиоксо-1,2,4-триазол-1-ил]-α-аланин (1). Синтез дипептида **1** проводят аналогично синтезу дипептида **2**. Пептид выделяют кристаллизацией из этилацетата. Выход 48%, т.пл. 161-162°C. Спектр ЯМР ¹H (DMSO, δ, м.д., Гц): 1.80 м и 1.94 (м, 2H, CH₂CH₂S); 2.01 (с, 3H, SCH₃); 2.43 (м, 2H, CH₂CH₂S); 3.86 (с, 3H, OCH₃); 4.45 (дд, 1H, J₁=13.7, J₂=8.6, =NNCH₂); 4.45 (м, 1H, CHONHCH); 4.50 (м, 2H, allyl); 4.67 (дд, 1H, J₁=13.7, J₂=5.1, =NNCH₂); 4.80 (д, 1H, J=17.0, =CH₂ allyl); 4.85 (тд, 1H, J₁=8.4, J₂=5.1, NHCHCOOH); 4.99 (д, 1H, J=10.3, =CH₂ allyl); 5.66 (ддт, 1H, J₁=17.0, J₂=10.3, J₃=5.5, =CH); 7.05 (м, 1H, Ph); 7.09 (м, 1H, Ph); 7.36 (дд, 1H, J₁=7.5, J₂=1.6, Ph); 7.52 (ддд, 1H, J₁=8.6, J₂=7.5, J₃=1.6, Ph); 7.98 (д, 1H, J=1.3, CHO); 8.05 (дд, 1H, J₁=8.5, J₂=1.3, NHCHO); 8.25 (д, 1H, J=7.9, NHCHCOOH); 12.54 (ш, 1H, COOH).

Получение N-формил-(S)-метионил-(S)-аланил-(S)-β-[4-(фуран-2-илметил)-3-бутил-5-тиоксо-1,2,4-триазол-1-ил]-α-аланина (8). В плоскодонную колбу с магнитной мешалкой помещают 0.18 г (0.55 ммоль) (S)-β-[4-(фуран-2-илметил)-3-бутил-5-тиоксо-1,2,4-триазол-1-ил]-α-аланина, 1.0 мл 0.5 М раствора едкого натра и 0.03 г (0.33 ммоль) пищевой соды. При комнатной температуре добавляют 0.20 г (0.6 ммоль) сукцинимидного

эфира N-формил-(S)-метионил-(S)-аланина в 3 мл диоксана, перемешивают реакционную смесь в течение 2 ч и оставляют на ночь в холодильнике при температуре 5°C. На следующий день в содержимое колбы добавляют 6 мл этилацетата и 2 мл 10% лимонной кислоты. После интенсивного перемешивания в течение 15 мин наблюдается выпадение белого осадка. Реакционную смесь оставляют на ночь при температуре 5°C. Выпавший белый осадок отфильтровывают на нутч-филтре, промывают последовательно 5 мл дистиллированной воды и 5 мл этиацетата. После этого трипептид сушат под вакуумом при температуре 65°C. Выход 60%, т.пл. 224-225°C. Спектр ЯМР ¹H (DMSO, δ, м.д., Гц): 0.94 (т, 3H, J=7.3, CH₃ Bu); 1.23 (д, 3H, J=7.1, CH₃ Ala); 1.41 (м, 2H, CH₂CH₂CH₂CH₃); 1.63 (м, 2H, CH₂CH₂CH₂CH₃); 1.81 (м, 1H, CH₂CH₂S); 1.96 (м, 1H, CH₂CH₂S); 2.07 (с, 3H, SCH₃); 2.45 (м, 2H, SCH₂); 2.68 (т, 2H, J=7.6, CH₂CH₂CH₂CH₃); 4.25 (дк, 1H, J₁=7.5, J₂=7.1, CHCH₃ Ala); 4.36 (дд, 1H, J₁=13.7, J₂=8.6, =NNCH₂); 4.43 (ддд, 1H, J₁=9.0, J₂=8.4, J₃=5.0, CHONHCH); 4.51 (дд, 1H, J₁=13.7, J₂=5.1, =NNCH₂); 4.74 (ддд, 1H, J₁=8.6, J₂=7.8, J₃=5.1 NHCHCOOH); 5.23 (с, 2H, CH₂-Fur); 6.35 (дд, 1H, J₁=3.3, J₂=1.8, 4-H Fur); 6.38 (д, 1H, J₁=3.3, 3-H Fur); 7.44 (д, 1H, J₁=1.8, 5-H Fur); 7.80 (д, 1H, J=7.5, NH Ala); 7.90 (д, 1H, J=7.8, NHCHCOOH); 8.02 (д, 1H, J=1.5, CHO); 8.11 (дд, 1H, J₁=8.4, J₂=1.5, NHCHO); 12.70 (ш, 1H, COOH).

Получение N-трет-бутилоксикарбонил-(S)-аланил-(S)-β-[4-(фуран-2-илметил)-3-бутил-5-тиоксо-1,2,4-триазол-1-ил]-α-аланина (5). В плоскодонную колбу с магнитной мешалкой помещают 0.18 г (0,55 ммоль) (S)-β-[4-(фуран-2-илметил)-3-бутил-5-тиоксо-1,2,4-триазол-1-ил]-α-аланина, 1 мл 0.5 М раствора едкого натра и 0.03 г (0.33 ммоль) пищевой соды. При комнатной температуре добавляют 0.17 г (0.6 ммоль) сукцинимидного эфира ВОС-(S)-аланина в 2 мл диоксана, затем перемешивают реакционную смесь в течение 4 ч и оставляют на ночь. На следующий день в содержимое колбы добавляют 4 мл этилацетата, 2 мл 10% лимонной кислоты и 0.2 г хлористого натрия. После интенсивного перемешивания органический слой отделяют, а водный два раза экстрагируют этилацетатом (по 4 мл). Органический слой сушат безводным сульфатом натрия, затем растворитель упаривают в вакууме при температуре 50°C. Образовавшиеся кристаллы перекристаллизовывают из смеси этилацетат-метанол (10:1). Анализ с помощью ТСХ (SiO₂, CHCl₃/этилацетат/CH₃OH (2/4/1), проявитель – хлор-толуидин). Выход продукта в расчете на сукцинимидный эфир 55%, т.пл. 112-113°C. Спектр ЯМР ¹H (DMSO, δ, м.д., Гц): 0.93 (т, 3H, J=7.3, CH₂CH₂CH₂CH₃); 1.17 (д, 3H, J=7.0, CH₃CH); 1.40 (м, 2H, CH₂CH₂CH₂CH₃); 1.41 (с, 9H, t-Bu); 1.63 (м, 2H, CH₂CH₂CH₂CH₃); 2.65 (дд, 2H, J₁=8.0, J₂=7.1, CH₂CH₂CH₂CH₃); 3.93 (дк, 1H, J₁=7.6, J₂=7.0, CH₃CH); 4.26 (дд, 1H, J₁=13.4, J₂=9.5, NHCHCH₂); 4.51 (дд, 1H, J₁=13.4, J₂=4.0, NHCHCH₂); 4.59 (ддд, 1H, J₁=9.5, J₂=7.6, J₃=4.0,

NHCH); 5.21 (с, 2Н, CH₂-Fur); 6.09 (д, 1Н, J=7.6, NHCHCH₃); 6.33 (дд, 1Н, J₁=3.2, J₂=1.8, 4-Н Fur); 6.39 (д, 1Н, J=3.2, 3-Н Fur); 7.41 (д, 1Н, 1.8, 5-Н Fur); 7.55 (д, 1Н, J=7.6, NHCHCH₂).

Деблокирование пептида 5. а) Гидрохлорид (S)-аланил-(S)-β-[4-(фуран-2-илметил)-3-бутил-5-тиоксо-1,2,4-триазол-1-ил]-α-аланина. 0.023 г (0.046 ммоль) ВОС-(S)-аланил-(S)-β-[4-(фуран-2-илметил)-3-бутил-5-тиоксо-1,2,4-триазол-1-ил]-α-аланина помещают в плоскодонную колбу, добавляют 0.5 мл 4 н НСl в диоксане и перемешивают при 20°С в течение 1 ч, затем растворитель отгоняют в вакууме при температуре 50°С. Остаток кристаллизуют из этилацетата. Выход 70%, т.пл. 185°С. Спектр ЯМР ¹Н (DMSO, δ, м.д., Гц): 0.94 (т, 3Н, J=7.1, CH₂CH₂CH₂CH₃); 1.39 (д, 3Н, J=7.0, CH₃CH); 1.41 (м, 2Н, CH₂CH₂CH₂CH₃); 1.63 (м, 2Н, CH₂CH₂CH₂CH₃); 2.70 (дд, 2Н, J₁=8.0, J₂=7.1, CH₂CH₂CH₂CH₃); 3.78 (к, 1Н, J₁=7.0, CH₃CH); 4.44 (дд, 1Н, J₁=13.8, J₂=8.1, NHCHCH₂); 4.55 (дд, 1Н, J₁=13.8, J₂=5.5, NHCHCH₂); 4.70 (дд, 1Н, J₁=8.1, J₂=5.5, NHCH); 5.22 (с, 2 Н, CH₂-Fur); 6.33 (дд, 1Н, J₁=3.3, J₂=1.8, 4-Н Fur); 6.39 (д, 1Н, J=3.3, 3-Н Fur); 7.42 (д, 1Н, 1.8, 5-Н Fur); 8.63 (ш, 1Н, NHCHCH₂). Сигналы NH₂ и COOH проявляются вместе с ОН воды в DMSO.

б) (S)-Аланил-(S)-β-[4-(фуран-2-илметил)-3-бутил-5-тиоксо-1,2,4-триазол-1-ил]-α-аланина (6). В плоскодонную колбу помещают 0.012 г гидрохлорида (S)-аланил-(S)-β-[4-(фуран-2-ил-метил)-3-бутил-5-тиоксо-1,2,4-триазол-1-ил]-α-аланина, растворенного 1 мл воды, и перемешивают с анионитом АВ-17 (в ОН-форме), который брался в трехкратном избытке. Затем содержимое колбы фильтруют, смолу на фильтре промывают 1 мл воды и фильтрат упаривают в вакууме. Продукт кристаллизуют из смеси метанол-эфир. Выход 60%, т.пл. 180-181°С. Спектр ЯМР ¹Н (DMSO, δ, м.д., Гц): 0.93 (т, 3Н, J=7.1, CH₂CH₂CH₂CH₃); 1.06 (д, 3Н, J=7.0, CH₃CH); 1.41 (м, 2Н, CH₂CH₂CH₂CH₃); 1.64 (м, 2Н, CH₂CH₂CH₂CH₃); 2.65 (дд, 2Н, J₁=8.0, J₂=7.1, CH₂CH₂CH₂CH₃); 3.34 (к, 1Н, J₁=7.0, CH₃CH); 4.29 (дд, 1Н, J₁=13.8, J₂=8.1, NHCHCH₂); 4.44 (дд, 1Н, J₁=13.8, J₂=5.5, NHCHCH₂); 4.48 (дд, 1Н, J₁=8.1, J₂=5.5, NHCH); 5.20 (с, 2Н, CH₂-Fur); 6.33 (дд, 1Н, J₁=3.3, J₂=1.8, 4-Н Fur); 6.41 (д, 1Н, J=3.3, 3-Н Fur); 7.42 (д, 1Н, 1.8, 5-Н Fur); 7.74 (ш, 1Н, NHCHCH₂). Сигналы NH₂ и COOH – 3.00-3.80.

Синтез N-трет-бутилоксикарбонил-(S)-аланил-(S)-β-[4-фенил-3-пропил-5-тиоксо-1,2,4-триазол-1-ил]-α-аланина (4). Синтез дипептида 4 проводят аналогично синтезу пептида 5. Полученный дипептид выделяют растиранием в гексане. Выход 65%, т.пл. 135-137°С. Спектр ЯМР ¹Н (DMSO, δ, м.д., Гц): 0.89 (т, 3Н, J₃=7.4, CH₃ Pr); 1.23 (д, 3Н, J=7.1, CH₃ ala); 1.40 (с, 9Н, CH₃ t-Bu); 1.55 (скс, 2Н, J=7.4, CH₂ Pr); 2.39 (м, 2Н, CH₂ Pr); 3.96 (дк, 1Н, J=7.8, J=7.1, CH ala); 4.27 (дд, 1Н, J₂ =14.0, J₃ 11.0, NHCHCH₂); 4.53-4.63 (м, 2Н, NHCHCH₂ и NHCHCH₂); 6.15 (д, 1Н, J=7.8, NH ala); 7.33 (м, 2Н, H – 2, 6 Ph); 7.43 (д, 1Н, J=7.6, NHCHCH₂); 7.48-7.56 (3Н, м H – 3, 4, 5 Ph); 10.00 (ш, 1Н, COOH).

**ՅԵՏԵՐՈՑԻԿԻԿ ՏԵՂԿԱԿԱՎԱԾ (S)-ԱԼԱՆԻՆԻ ԱԾԱՆՅՅԱԼՆԵՐ
ՊԱՐՈՒՆԱԿՈՂ ՊԵՊՏԻԴՆԵՐԻ ՄԻՆԹԵԶԸ**

**Վ. Տ. ԴԱՆՂՅԱՆ, Տ. Վ. ՍԱՐԳՍՅԱՆ, Ս. Մ. ԺԱՄՆԱՐՅԱՆ, Է. Ա. ԳՅՈՒԼՈՒՄՅԱՆ,
Վ. Ա. ՓԱՆՈՍՅԱՆ, ՅՈՒ. Մ. ԴԱՆՂՅԱՆ և Ա. Ս. ՍԱԳՅԱՆ**

N-Ֆորմիլ-(S)-մեթիոնին և N-տրեա-բուտիլօքսիկարբոնիլ-(S)-ալանին պաշտպանված ամինաթթուների հիման վրա սինթեզվել են դի- և տրիպեպտիդներ, որոնք պարունակում են ոչ սպիտակուցային ամինաթթուներ՝ (S)-β-[4-ալիլ-3-իզոբուտիլ-5-թիօքսո-1,2,4-տրիազոլ-1-իլ]-α-ալանին, (S)-β-[4-պրոպիլ-3-իզոբուտիլ-5-թիօքսո-1,2,4-տրիազոլ-1-իլ]-α-ալանին, (S)-β-[4-ալիլ-(2'-մեթօքսիֆենիլ)-5-թիօքսո-1,2,4-տրիազոլ-1-իլ]-α-ալանին, (S)-β-[4-(ֆուրան-2-իլմեթիլ)-3-բուտիլ-5-թիօքսո-1,2,4-տրիազոլ-1-իլ]-α-ալանին, (S)-β-[4-ֆենիլ-3-պրոպիլ-5-թիօքսո-1,2,4-տրիազոլ-1-իլ]-α-ալանին:

Սինթեզված պեպտիդների կենսաբանական հատկությունների բացահայտման նպատակով իրականացվել է սկրինինգ՝ «Պասս-օնլայն» համակարգչային ծրագրի օգնությամբ: Պարզվել է, որ սինթեզված պեպտիդները կարող են ցուցաբերել տարբեր կենսաբանական ակտիվություններ: Օրինակ՝ սինթեզված բոլոր պեպտիդները տեսականորեն կարող են հանդես գալ որպես ֆերրոքսատների աճի գործոնի ազոնիստներ և ադենոզին-տրիֆոսֆատազ ֆերմենտի ինհիբիտորներ: Միևնույն ժամանակ առավել բարձր ակտիվություններ սպասվում են N-ֆորմիլ-(S)-մեթիոնիլ-(S)-β-[4-պրոպիլ-3-իզոբուտիլ-5-թիօքսո-1,2,4-տրիազոլ-1-իլ]-α-ալանին, N-ֆորմիլ-(S)-մեթիոնիլ-(S)-β-[4-ալիլ-3-իզոբուտիլ-5-թիօքսո-1,2,4-տրիազոլ-1-իլ]-α-ալանին և (S)-ալանիլ-(S)-β-[4-(ֆուրան-2-իլմեթիլ)-3-բուտիլ-5-թիօքսո-1,2,4-տրիազոլ-1-իլ]-α-ալանին դիպեպտիդներից:

**SYNTHESIS OF PEPTIDES CONTAINING β-HETEROCYCLE SUBSTITUTED
DERIVATIVES OF (S)-ALANINE**

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

Scientific and Production Center "Armbiotechnology" NAS RA
14, Gyurjyan Str., Yerevan, 0056, Armenia
Fax: (37410) 654183 E-mail: sagysu@netsys.am
Molecule Structure Research Centre NAS RA
26, Azatutyan Str., Yerevan, 0014, Armenia
E-mail: armbiotech@gmail.com

Di- and tripeptides were synthesized using N-For-(S)-methionine, BOC-(S)-alanine and a number of non-protein amino acids – (S)-β-[4-allyl-3-isobutyl-5-thioxo-1,2,4-triazol-1-yl]-α-alanine, (S)-β-[4-propyl-3-isobutyl-5-thioxo-1,2,4-triazol-1-yl]-α-alanine, (S)-β-[4-allyl-3-(2'-methoxyphenyl)-5-thioxo-1,2,4-triazol-1-yl]-α-alanine, (S)-β-[4-furan-2-ylmethyl-3-butyl-5-thioxo-1,2,4-triazol-1-yl]-α-alanine, (S)-β-[4-phenyl-3-propyl-5-thioxo-1,2,4-triazol-1-yl]-α-alanine. The synthesized peptides were screened by Pass-Online program to predict spectrum of their biological activity.

The synthesized peptides were shown to exhibit different biological activity depending on the specific structure of a molecule. Thus, theoretically, all synthesized peptides are likely to be agonists of fibroblasts growth factor and inhibitors of ATP proteasomes; the greatest probability of activity being anticipated with N-f-(S)-methionyl-(S)-β-[4-propyl-3-isobutyl-5-thioxo-1,2,4-triazol-1-yl]-α-alanine, N-f-(S)-

methionyl-(S)- β -[4-allyl-3-isobutyl-5-thioxo-1,2,4-triazol-1-yl]- α -alanine and (S)-alanyl-(S)- β -[4-(furan-2-ylmethyl)-3-butyl-5-thioxo-1,2,4-triazol-1-yl]- α -alanine.

ЛИТЕРАТУРА

- [1] Hovhannisyan N., Harutyunyan Sh., Hovhannisyan A., Hambarzumyan A., Chitchyan M., Melkumyan M., Oganosova G., Avetisyan N. // *Amino Acids*, 2009, v. 37, №3, p. 531.
- [2] Puniti Mathur, Jagannathan N.R., Chauhan V.S. // *Journal of peptide Science*, 2007, v.13, №4, p. 253.
- [3] Boldyrev A.A., Johnson P. / In: P Johnson, A Boldyrev, eds., *Oxidative Stress at Molecular, Cellular and Organ Levels*, 2002, p. 101.
- [4] Werner Hartwig, Edward A. Carter, Ramon E. Jimenez I, Jens Werner, Alan J. Fischman, Carlos Fernandez-Del Castillo, Andrew L. Warshaw // *J. Appl. Physiol*, 1999, v. 87, №2, p. 743.
- [5] Гершкович А., Кибирев В. Синтез пептидов. Реагенты и методы. Киев, Наукова думка, 1987, с. 263.
- [6] Anderson G.W., Zimmerman J.E., Callahan F.W. // *J. Am. Chem. Soc.*, 1964, v. 86, №9, p. 1839.
- [7] Veselovsky A.V., Ivanov A.S. // *Design. Current Drug Targets-Infectious Disorders.*, 2003, v. 3, issue 1, p. 33.
- [8] Bernard Pirard // *Combinatorial Chemistry & High Throughput Screening.*, 2004, v. 7, issue 4, p. 271.
- [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] Дангян В.Т., Саргсян Т.О., Джамгарян С.М., Гюлумян Э.А., Оганесян, А.М., Оганесян Н.О., Паносян Г.А., Дангян Ю.М., Сагиян А.С. // *Хим. ж. Армении*, 2012, т. 65, №4, с. 491.
- [11] 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.
- [12] Saghyan A.S., Simonyan H.M., Stepanyan L.A., Ghazaryan S.G., Geolchanyan A.V., Manasyan L.L., Ghochikyan V.T., Ghochikyan T.V., Hovhannisyan N.A., Gevorgyan A., Iaroshenko V.O., Langer P. // *Tetrahedron: Asymmetry*, 2012, v. 23, p. 891.