

III. АМИДИ НА АМИНОКИСЕЛИНИ И ПЕПТИДИ С 2-АМИНО-2-(4-МЕТОКСИФЕНИЛ)-1Н-ИНДЕН-1,3(2Н)-ДИОН

Недялко Софрониев

Минно-геоложки университет „Св. Иван Рилски“, 1700 София

РЕЗЮМЕ. Синтезирани са амиди на N-защитени природни аминокиселини и пептиди с 2-амино-2-(4-метоксифенил)-1Н-инден-1,3(2Н)-дион по метода на активирани естери, като активиращата компонента е 2-фенил-1Н-инден-1,3(2Н)-дион. При отстраняване на защитната N-бензилоксикарбонилна група са получени съответните дихидробромиди на аминокиселини и пептиди съдържащи 2-амино-2-(4-метоксифенил)-1Н-инден-1,3(2Н)-дион. Тези дихидробромиди притежават антикоагулантно действие върху кръвта.

Ключови думи: 2-Амино-2-(4-метоксифенил)-1Н-инден-1,3(2Н)-дион; цветни активирани естери: 3-0-(N-бензилоксикарбонилглицил)-2-фенил-1-инденон, 3-0-(N-бензилоксикарбонил-L-аланил)-2-фенил-1-инденон и 3-0-(N^o,N^o-дибензилоксикарбонил-L-лизил)-2-фенил-1-инденон; амиди на N-защитени аминокиселини и пептиди с 2-амино-2-(4-метоксифенил)-1Н-инден-1,3(2Н)-дион и техните дихидробромиди.

III. AMIDES OF AMINO ACIDS AND PEPTIDES WITH 2-(4-METHOXYPHENYL)-1H-INDENE-1,3(2H)-DIONE

Nedyalko Sofroniev

University of Mining and Geology "St. Ivan Rilski", 1700 Sofia

ABSTRACT. Amides of N-protected natural amino acids and peptides with 2-amino-2-(4-methoxyphenyl)-1H-indene-1,3(2H)-dione are obtained. They are synthesized by the method of activated esters with activating component 2-phenyl-1H-indene-1,3(2H)-dione. By removing of N-protected benzyloxycarbonyl group respective dihydrobromides of amino acids and peptides containing 2-amino-2-(4-methoxyphenyl)-1H-indene-1,3(2H)-dione are obtained. These dihydrobromides possess anticoagulating activity on the blood.

Key words: 2-Amino-2-(4-methoxyphenyl)-1H-indene-1,3(2H)-dione, coloured activated esters: 3-0-(N-benzyloxycarbonyl)glycyl)-2-phenyl-1-indenone, 3-0-(N-benzyloxycarbonyl-L-alanyl)-2-phenyl-1-indenone and 3-0-(N^o,N^o-dibenzyloxycarbonyl-L-lysyl)-2-phenyl-1-indenone; amides of N-protected amino acids and peptides with 2-amino-2-(4-methoxyphenyl)-1H-indene-1,3(2H)-dione and their dihydrobromides.

Въведение

При синтезата на биологичноактивните вещества съществуват два подхода – получаването на тези вещества става или по чисто емпиричен път, или се осъществява чрез целенасочен синтез. Целенасоченият синтез предполага да се знае механизма на действието на биологичноактивното вещество на молекулярно ниво. В повечето случаи този механизъм е неизвестен или има само ориентировъчни данни в това отношение. Ето защо модифицирането на вече известни биологичноактивни вещества може да доведе от една страна до получаването на нови биологичноактивни съединения, а от друга страна при синтеза на голям брой малко различаващи се в структурно отношение вещества могат да се направят по-определени изводи относно връзката химически строеж – биологично действие. Особено подходящи в това отношение са 2,2-дизаместените 1Н-инден-1,3(2Н)-диони. Някои от тях притежават антикоагулантно действие върху кръвта, например 2-амино-2-фенил-1Н-инден-1,3(2Н)-дион, който има антикоагулантно действие съизмеримо с това на клиничния препарат „фенилин“ (2-фенил-1Н-инден-1,3(2Н)-дион) (Lombardino and Wiseman, 1968).

Модифицирането на 2-амино-2-фенил-1Н-инден-1,3(2Н)-диона може да се осъществи в две направления:

- да се синтезират 2-амино-2-арил-1Н-инден-1,3(2Н)-диони, които да се различават в структурно отношение – в арилния остатък да съдържат електронодонорни или електроноакцепторни групи

- да се получат амиди на 2-амино-2-арил-1Н-инден-1,3(2Н)-дионите с различен набор от аминокиселини и пептиди. От литературата е известно, че някои амиди на 2-амино-2-фенил-1Н-инден-1,3(2Н)-диона с природни аминокиселини и пептиди притежават антикоагулантно действие (Sofroniev and Minchev, 2002, а. Н. Софрониев, 2011, б. Н. Софрониев, 2011), а други амиди на 2-амино-2-(4-метоксифенил)-1Н-инден-1,3(2Н)-диона с цистинсъдържащи пептиди проявяват стимулиращ ефект върху функциите на дихателната верига в изолирани митохондрии от черен дроб на плъх (Sofroniev, 2002).

Основен недостатък на клиничните препарати с антикоагулантно действие, каквито са „фенилин“ и „омефин“ (2-β-хидроксиетил-2-фенил-1Н-инден-1,3(2Н)-дион) е малката им разтворимост във вода и оттам бързото им отстраняване от организма с помощта на отделителната система (Машковский, 1984). Когато за

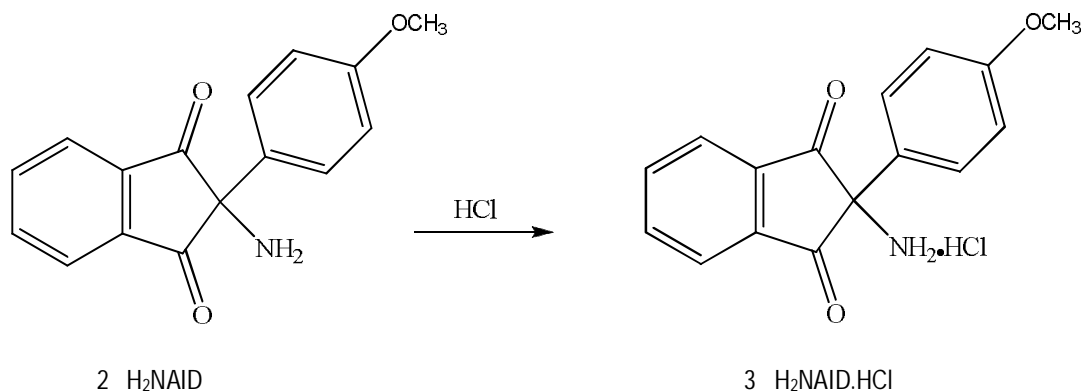
синтезата на амиди на 2-амино-2-арил-1Н-инден-1,3(2Н)-дионите се използват базични аминокиселини и пептиди, се получават водоразтворими продукти и се осъществява т.н. „депоефект“, т.е. с по-малко количество от биологично-активното вещество се постига максимален ефект за по-дълъг период от време (а. Н. Софрониев, 2011, б. Н. Софрониев, 2011). По-добра разтворимост на тези амиди във вода се получава, когато се синтезират техните хидрохлориди (а. Н. Софрониев, 2011, б. Н. Софрониев, 2011). Предполага се, че поради сродството на природните аминокиселини и пептиди с живия организъм, под формата на амиди с 2-амино-2-арил-1Н-инден-1,3(2Н)-дионите, те ще се задържат по-дълго време в кръвта. Попадайки в организма, под действието на ензими пептидази е възможно да настъпи разкъсване на пептидните връзки на тези амиди, като накрая може да остане само свободният 2-амино-2-арил-1Н-инден-1,3(2Н)-дион, който да прояви самостоятелно антикоагулантното си действие.

Получаването на амиди на 2-амино-2-(4-метоксифенил)-1Н-инден-1,3(2Н)-диона с базични аминокиселини и пептиди, което е целта на настоящата работа, ще хвърли допълнителна светлина върху връзката химически строеж

– биологично действие (антикоагулантно действие върху кръвта).

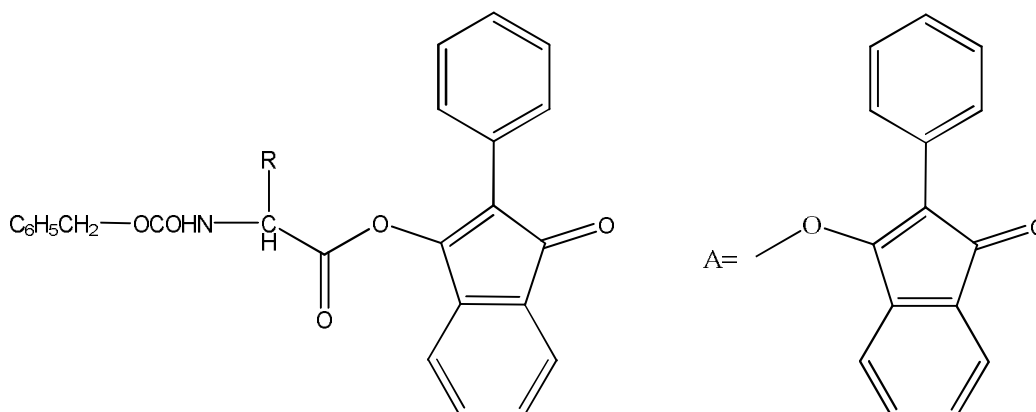
Обсъждане

Изходният 2-амино-2-(4-метоксифенил)-1Н-инден-1,3(2Н)-дион (H_2NAID) (2) получихме по Aren and Wanag (1963) като жълта маслообразна течност, от която из диетилов етер/петролев етер кристализира част от крайния продукт под формата на фини жълти иглици, но с много нисък добив. Всички опити за намиране на подходящ разтворител за прекристализиране на съединение 2 завършиха неуспешно. По тази причина решихме да превърнем съединение 2 в съответния хидрохлорид. Хидрохлоридът на 2-амино-2-(4-метоксифенил)-1Н-инден-1,3(2Н)-дион ($H_2NAID.HCl$) (3) получихме след като разтворихме съединение 2 в сух диетилов етер и наситихме получения разтвор със сух газообразен хлороводород. След изпаряването на разтворителя остава твърд бледожълт остатък, който кристализирахме из абс. етанол/петролев етер, при което се получават безцветни кристали от съединение 3 с добър добив (71%) и с т.т 216-217°C, изч. N = 4,61%, нам. N = 4,74%.



Цветните активирани естери N^α -Z- N^ϵ -Z-Lys-OA (3-O- $(N^\alpha, N^\epsilon$ – дибензилоксикарбонил-L-лизил)-2-фенил-1-инденон) (1), Z-Gly-OA (3-O-(N-бензилоксикарбонил-глицил)-2-фенил-1-инденон) (6) и Z-Ala-OA (3-O-(N-бензилоксикарбонил-L-

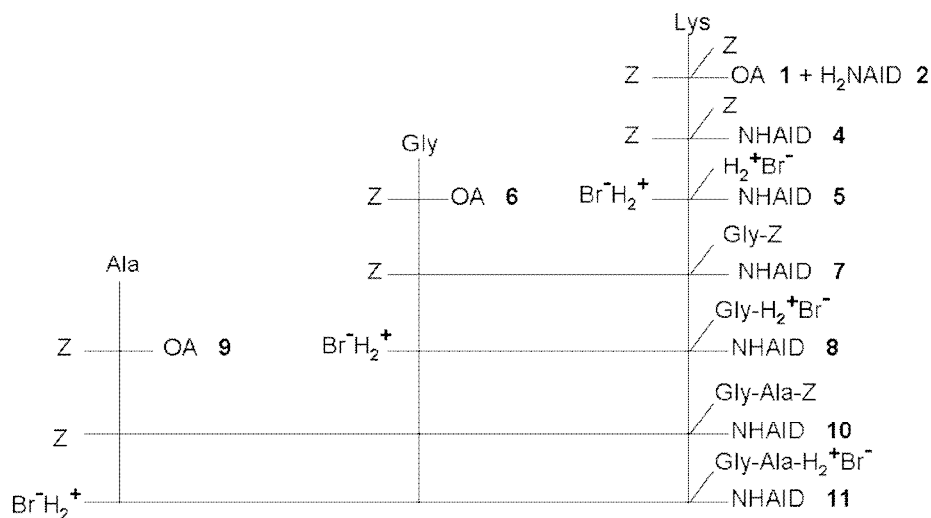
аланил)-2-фенил-1-инденон) (9) получихме по познати методи. Активирани естери 1, 6 и 9 са жълтооранжево оцветени кристални съединения (Minchev, 1979, Minchev et al, 1980).



- 1: $R=(CH_2)_4NHOC(=O)CH_2C_6H_5$
 6: $R=H$
 9: $R=CH_3$

Хидрохлоридът на 2-амино-2-(4-метоксифенил)-1Н-инден-1,3(2Н)-диона (3) се суспендира в сух тетраhydroфуран и се деблокира аминогрупата с триетиламин до получаване на 2-амино-2-(4-метоксифенил)-1Н-инден-1,3(2Н)-дион (2). При аминолизата на активирания естер N^α-Z-N^ε-Z-Lys-OA (1) с 2-амино-2-(4-метоксифенил)-1Н-инден-1,3(2Н)-дион (H₂NAID) (2) получихме с добър добив 2-N^α, N^ε – дибензилоксикарбонил-L-лизиламино-2-(4-метоксифенил)-1Н-инден-1,3(2Н)-дион (4). В инфрачервения спектър на съединение 4 в областта 1740 см⁻¹ и 1710 см⁻¹ се наблюдават ивици на абсорбция дължащи се на симетрични и асиметрични валентни трептения на цикличните карбонилни групи от β-дикарбонилната система. Има и ивица на абсорбция при 1760 см⁻¹, дължаща се на валентни трептения от –OC(O)NH – връзката. Налице е ивица на абсорбция, дължаща се на валентните трептения от amidна карбонилна група в областта 1650 см⁻¹. При 3300 – 3100 см⁻¹ са налице ивици на абсорбция от валентните трептения на N – H amidна връзка, а при 1510 см⁻¹ от деформационните трептения на N – H amidната връзка. При 1250 см⁻¹ и 1060 см⁻¹ се наблюдават ивици на абсорбция дължащи се на валентните трептения от C-O-C връзка. При деблокиране на N-бензилоксикарбонилните групи на съединение 4 с бромоводород наситен в ледена оцетна киселина получихме дихидробромидите на 2-N^α, N^ε-L-лизиламино-2-(4-метоксифенил)-1Н-инден-1,3(2Н)-диона (5). Разликата в инфрачервените спектри на дихидробромидите 5 и съединение 4 е в това, че при съединение 5 изчезва

ивицата на абсорбция при 1760 см⁻¹ от валентните трептения на –OC(O)NH – връзката, а се появява широка ивица на абсорбция в областта 3050 см⁻¹, дължаща се на наличието на амониева група. При аминолиза на активирания естер Z-Gly-OA 6 с дихидробромидите на 2-N^α, N^ε-L-лизиламино-2-(4-метоксифенил)-1Н-инден-1,3(2Н)-диона (5) и на Z-Ala-OA (9) с дихидробромидите на 2-(N^α-глицил-N^ε-глицин)-L-лизиламино-2-(4-метоксифенил)-1Н-инден-1,3(2Н)-дион (8) се получават с добри добиви съответно защитените с бензилоксикарбонилна група трипептид 2-(N^α-бензилоксикарбонилглицил-N^ε-бензилоксикарбонил-глицин)-L-лизиламино-2-(4-метоксифенил)-1Н-инден-1,3(2Н)-дион (7) и пентапептид 2-(N^α-бензилокси-карбонил-L-аланилглицил-N^ε-глицилбензилоксикарбонил-L-аланин)-L-лизиламино-2-(4-метоксифенил)-1Н-инден-1,3(2Н)-дион (10). Инфрачервените спектри на съединения 7 и 10 са аналогични с инфрачервения спектър на съединение 4. При деблокирането на бензилоксикарбонилните групи на трипептида 7 и пентапептида 10 с бромоводород наситен в ледена оцетна киселина получихме дихидробромидите на трипептида 2-(N^α-глицил-N^ε-глицин)-L-лизиламино-2-(4-метоксифенил)-1Н-инден-1,3(2Н)-дион (8) и пентапептида 2-(N^α-L-аланилглицил-N^ε-глицил-L-аланин)-L-лизиламино-2-(4-метоксифенил)-1Н-инден-1,3(2Н)-дион (11). Съединенията 8 и 11 са твърди хигроскопични вещества, които пречистихме колоннохроматографски и съхранявахме във вакуумексикатор. Инфрачервените спектри на дихидробромидите 8 и 11 са аналогични с инфрачервения спектър на дихидробромидите 5.



От литературата е известно, че 2-амино-2-фенил-1Н-инден-1,3(2Н)-дионът притежава антикоагулантно действие върху кръвта съизмеримо с антикоагулантното действие на клиничния препарат „фенилин“ (2-фенил-1Н-инден-1,3(2Н)-дион (Lombardino and Wiseman, 1968). Съединението 2-амино-2-(4-метоксифенил)-1Н-инден-1,3(2Н)-дион (2) не е изследвано за антикоагулантна активност. С въвеждането на електроноакцепторна група каквато е метокси групата, ще може да се отчете електронното влияние на заместителя върху антикоагулантното действие на (H₂NAID) 2. За антикоагулантно действие върху кръвта бяха изследвани H₂NAID.HCl 3 и дихидробромидите на съединенията 5 и 8,

които имат добра разтворимост във вода. Тяхната антикоагулантна активност беше сравнявана с тази на клиничния препарат „фенилин“. Беше изследвана острата токсичност на „фенилина“ и на съединенията 3, 5 и 8 след въвеждането им перорално с помощта на катетър на безпородни мишки в концентрации 150, 300, 600 и 2400 мг/кг живо тегло. Към съединенията 3, 5 и 8 се добавя физиологичен разтвор до пълното им разтваряне, а при препарата „фенилин“ се получава суспензия поради причината, че „фенилинът“ е водонеразтворим. Леталната доза LD₅₀ за „фенилина“ е 840 мг/кг, докато за съединение 3 е 835 мг/кг, за съединение 5 е 840 мг/кг, за съединение 8 е 845 мг/кг. Антикоагулантното действие на „фенилина“ и

съединения 3, 5 и 8 се определя чрез измерване на времето на кървене („Клинична лаборатория“, 1985), като горепосочените вещества се въвеждат перорално с помощта на катетър в дози 1/3 от LD₅₀. На 30, 90 и 180 мин след въвеждането на 3, 5 и 8 се взема кръв след отрязване на върха на опашката на всяка мишка. Прави впечатление, че антикоагулантното действие на хидрохлорида на 2-амино-2-(4-метоксифенил)-1Н-инден-1,3(2Н)-диона 3 е по-слабо изразено в сравнение с антикоагулантното действие на клиничния препарат „фенилин“ (вж. таблицата). От литературата е известно, че 2-амино-2-фенил-1Н-инден-1,3(2Н)-дионът има съизмеримо антикоагулантното действие на препарата „фенилин“ (Lombardino and Wiseman, 1968). Следователно въвеждането на електрооакцепторната метокси група в молекулата на съединение 3 води до понижаване на антикоагулантната му активност както спрямо клиничния препарат „фенилин“, така и спрямо 2-амино-2-фенил-1Н-инден-1,3(2Н)-диона. От таблица-та е видно, че антикоагулантното действие на съединенията 5 и 8 при отчитане на 30 и 90 мин е по-слабо изразено в сравнение с това на клиничния препарат „фенилин“ за същия период от време, докато съединение 8 поради това, че е трипептид и е водоразтворимо вещество, се задържа по-дълго време и поддържа по-голяма концентрация в кръвта на 180 мин след въвеждането му в организма на опитните животни. Видно е, че с увеличаване на броя на аминокиселините остатъци в молекулата на изследвания трипептид 8, се засилва антикоагулантното им действие на 180 мин в сравнение с антикоагулантното действие на „фенилин“ за същия период от време (таблица).

Таблица

Вещество	Доза, мг/кг	Време за кървене, мин		
		30	90	108
Контрола	0	12,5	12,4	12,5
„Фенилин“	280	15,7	17,7	19,3
Съед. 3	278	15,1	16,3	16,6
Съед. 5	280	15,1	16,6	16,9
Съед. 8	282	15,4	17,1	20,4

Материали и методи

Всички новосинтезирани съединения са охарактеризирани чрез елементарен анализ за азот и чрез тотален хидролиз. Получените при тоталния киселинен хидролиз свободни аминокиселини и 2-амино-2-(4-метоксифенил)-1Н-инден-1,3(2Н)-дион са под формата на хидрохлориди и са идентифицирани тънкослойнохроматографски чрез детекция с разтвор на нинхидрин в етанол или с йодни пари в присъствието на свидетели. Органичните разтворители са изпарявани при остатъчно налягане 14 mm Hg стълб. Температурите на топене са определяни в открит капиларна без корекция. Инфрачервените спектри на новосинтезираните съединения са снети в нуйол на спектрофотометър Carl Zeiss Specord 75 IR. Чистотата на новополучените съединения е проследявана тънкослойнохроматографски на DC-Alufolien Plates, Kieselgel 60 F₂₅₄, 0,2 mm в следните хроматографски системи: А, етилацетат-петролев етер(1:2); Б, бензен-

метанол-оцетна киселина (15:2:1); В, пиридин-п-бутанол-оцетна киселина-вода (10:15:3:12); Г, п-бутанол-пиридин-оцетна киселина-вода (20:12:3:15); Д, хлороформ-оцетна киселина (19:1), Е, п-бутанол-оцетна киселина-вода (2:1:1). Специфичните ъгли на въртене $[\alpha]_D^{25}$ на оптически активните аминокиселини и пептиди са определяни с поляриметър Polamat А.

Използваните съкращения са според номенклатурата на IUPAC-IUB (IUPAC-IUB Recommendations, 1984). Използвани допълнителни съкращения: Z = C₆H₅CH₂OCO- (бензилоксикарбонил); А= остатък от 3-хидрокси-2-фенил-1-инденон (енолната форма на 2-фенил-1Н-инден-1,3(2Н)-дион), NHAID = остатък от 2-амино-2-(4-метоксифенил)-1Н-инден-1,3(2Н)-дион.

Исходните съединения синтезирахме по познати методи: 2-фенил-1Н-инден-1,3(2Н)-дион („фенилин“) по Nathanson (1893) и по Godfrey and Barnes (1958), 2-амино-2-(4-метоксифенил)-1Н-инден-1,3(2Н)-дион (H₂NAID) (2) по Aren and Wang (1959), N^α-Z-N^ε-Z-Lys-OA (3-0-(N^α, N^ε – дибензилоксикарбонил-L-лизил)-2-фенил-1-инденон) (1), Z-Ala-OA (3-0-(N-бензилоксикарбонил-L-аланил)-2-фенил-1-инденон) (9) по Minchev et al (1980) и Z-Gly-OA (3-0-(N-бензилоксикарбонилглицил)-2-фенил-1-инденон) (6) по Minchev et al (1979).

Резултати

1. Получаване на дихидробромида на 2-(N^α-L-аланилглицил-N^ε-глицил-L-аланин)-L-лизиламино-2-(4-метоксифенил)-1Н-инден-1,3(2Н)-дион

1.1. 2-N^α, N^ε – дибензилоксикарбонил-L-лизиламино-2-(4-метоксифенил)-1Н-инден-1,3(2Н)-дион (4)

0,006 мол (1.82 г) от хидрохлорида на 2-амино-2-(4-метоксифенил)-1Н-инден-1,3(2Н)-дион (3) се суспендират в 30 мл сух тетраhydroфуран и се прибавят на капки 0,006 мол (0,69 мл) триетиламин при разбъркване на магнитна бъркалка. Филтрува се падналата утайка от триетиламин хидрохлорид и към филтратата се прибавят 0,006 мол (3,6 г) от активирания естер N^α-Z-N^ε-Z-Lys-OA 1 разтворен в 40 мл сух етилацетат. Реакционната среда бързо добива тъмночервен цвят, който се дължи на отделения при аминолизата 3-хидрокси-2-фенил-1-инденон (енолната форма на 2-фенил-1Н-инден-1,3(2Н)-диона). 3-Хидрокси-2-фенил-1-инденон се отстранява чрез неколккратно екстрахиране на етилацетатния разтвор с 10%-ен разтвор на натриев бикарбонат до избледняване на цвета на органичния слой. Етилацетатният разтвор се обработва с активен въглен и се суши над безводен натриев сулфат, след което се изпарява до сухо при понижено налягане. Твърдият остатък се кристализира из хлороформ/петролев етер, при което се получават жълтозелени кристали с т.т. 99-101°C, добив 3,14 г (73 %), $[\alpha]_D^{25} = -16,4^\circ$ (c=1, етилацетат), Rf(A)=0,26, Rf(B)=0,77, C₃₈H₃₇N₃O₈ (663,7), изч. N: 6,33 %, нам. N: 6,25 %.

1.2. **Дихидробромид на 2-N^α, N^ε-L-лизиламино-2-(4-метоксифенил)-1H-инден-1,3(2H)-диона (5)**

Към 0,005 мол (3,32 г) от съединение 4 се прибавят 9 мл 40 %-ен разтвор на бромоводород в ледена киселина. Реакционната колба се защитава от влагата на въздуха с хлоркалциева тръбичка. Така получената реакционна смес се оставя да престои 40 мин при стайна температура и към нея се прибавят 120 мл сух диетилов етер при интензивно разбъркване. Течността над получената утайка се отделя и остатъкът се мие неколкострано със сух диетилов етер, който бързо се отфильтрува. Полученият остатък се суши във вакуумексикатор. Безцветният дихидробромид 5 се пречиства чрез колонна хроматография на Silica gel MN-Kieselgel 60 при използван елуент хлороформ/метанол (5:1). Добив 2,20 г (79 %), т.т. 141-143°C, $[\alpha]_D^{22} = -14,9^\circ$ (c=1, метанол), Rf(B)=0,32, Rf(Г)=0,74, C₂₂H₂₇Br₂N₃O₄ (557,3), изч. N: 7,54 %, нам. N: 7,71 %.

1.3. **2-(N^α-бензилоксикарбонилглицил-N^ε-бензилоксикарбонилглицин)-L-лизил-амино-2-(4-метоксифенил)-1H-инден-1,3(2H)-дион (7)**

Към 0,03 мол (1,67 г) от дихидробромида 5 се прибавят 25 мл наситен разтвор на газообразен амоняк в сух хлороформ при температура 0°C. След еднотчасово престояване при 0°C, падналата утайка от амониев бромид се отфильтрува и се мие неколкострано със сух хлороформ. Обединените хлороформени извлечени се изпаряват при понижено налягане до сухо, при което се получава жълтозелен аморфен продукт, който се разтваря в 20 мл сух етилацетат. Към получения разтвор се прибавят 0,006 мол (2,48 г) Z-Gly-OA 6 разтворени в 25 мл сух етилацетат. След това се работи по процедурата описана в 1.1. Съединение 7 се получава като жълтозелен аморфен продукт с добив 1,61 г (69 %), $[\alpha]_D^{20} = -17,4^\circ$ (c=1, етилацетат), Rf(Д)=0,46, Rf(Е)=0,77, C₄₂H₄₃N₅O₁₀ (777,8), изч. N: 9,00 %, нам. N: 9,21 %.

1.4. **Дихидробромид на 2-(N^α-глицил-N^ε-глицин)-L-лизиламино-2-(4-метоксифенил)-1H-инден-1,3(2H)-дион (8)**

Към 0,003 мол (2,33 г) от трипептида 7 се прибавят 5 мл 40 %-ен разтвор на бромоводород в ледена оцетна киселина и се работи по-нататък както в 1.2. Полученият безцветен дихидробромид 8 се пречиства колоннохроматографски на Silica gel MN-Kieselgel 60, а като елуент се използва хлороформ/метанол (5:1). Добив 1,73 г (86 %), т.т. 150-152°C, $[\alpha]_D^{21} = -14,7^\circ$ (c=1, метанол), Rf(B)=0,32, Rf(Г)=0,79, C₂₆H₃₃Br₂N₅O₆ (671,4), изч. N: 10,43 %, нам. N: 10,21 %.

1.5. **2-(N^α-бензилоксикарбонил-L-аланилглицил-N^ε-глицилбензилоксикарбонил-L-аланин)-L-лизиламино-2-(4-метоксифенил)-1H-инден-1,3(2H)-дион (10)**

Към 0,002 мол (1,34 г) от дихидробромида 8 се прибавят 20 мл наситен разтвор на газообразен амоняк в сух хлороформ при температура 0°C и след това се следва методиката описана в 1.3. Полученият светложълт аморфен продукт се разтваря в 15 мл сух етилацетат и към разтвора се прибавят 0,004 мол (1,7 г) Z-Ala-OA 9 разтворен в 20 мл сух етилацетат. След това се работи по процедурата описана в 1.1. Накрая етилацетатният разтвор се изпарява до сухо при понижено налягане, при което остава светложълт аморфен пентапептид 10 с добив 1,35 г (70 %), $[\alpha]_D^{21} = -18,0^\circ$ (c=1, етилацетат), Rf(Д)=0,38, Rf(Е)=0,79, C₅₂H₅₃N₇O₁₂ (968,0), изч. N: 10,13 %, нам. N: 10,37 %.

1.6. **Дихидробромид на 2-(N^α-L-аланилглицил-N^ε-глицил-L-аланин)-L-лизиламино-2-(4-метоксифенил)-1H-инден-1,3(2H)-дион (11)**

Към 0,001 мол (0,97 г) от пентапептида 10 се прибавят 3 мл 40 %-ен разтвор на бромоводород в ледена оцетна киселина, като се следва процедурата описана в 1.2. Новополученият безцветен дихидро-бромид 11 се пречиства колоннохроматографски на Silica gel MN-Kieselgel 60, а като елуент се използва хлороформ/метанол (5:1). Добив 0,62 г (76 %), т.т. 119-121°C, $[\alpha]_D^{19} = -18,3^\circ$ (c=1, метанол), Rf(B)=0,37, Rf(Г)=0,86, C₃₂H₄₃Br₂N₇O₈ (813,5), изч. N: 12,05 %, нам. N: 12,27 %.

Литература

- „Клинична лаборатория“. 1985. София, стр. 135.
Машковский, М. 1984. „Лекарственные средства“, Медицина, Москва, часть I, стр. 494.
а. Софрониев, Н. 2011. Год. МГУ, 54, св. II, с. 161.
б. Софрониев, Н. 2011. Год. МГУ, 54, св. I м с. 166.
Aren, A., Wanag, G. 1959. Uch. Zap. RP I, 2, 23; according to C. A. 1963. 58, 3365.
Godfrey, J., R. Barnes. 1958. J. Am. Chem. Soc., 80, 3902.
IUPAC-IUB Recommendations 1983 on "Nomenclature and Symbolism for Amino acids and Peptides". 1984. Pure Appl. Chem., 56, 595.
Lombardino, J., E. Wieman. 1968. J. Med. Chem., 11, 342.
Minchev, S. 1979. Compt. Rend. Acad. Bulg. Sci., 32, 623.
Minchev, S., I. Derdowska, G. Kupryszewski. 1980. Pol. J. Chem., 54, 443.
Nathanson, F. 1893. Ber. Deut. Chem. Ges., 26, 2576.
Sofroniev, N., S. Minchev. 2002. Bulg. Chem. Ind., 73, 45.
Sofroniev, N. 2002. Ann. Univ. Min. and Geol., part II, 119.