

УДК 547.466.1

СИНТЕЗ БИОЛОГИЧЕСКИ АКТИВНЫХ ПЕПТИДОВ *

И. Мейенхофер

ОГЛАВЛЕНИЕ

I. Введение	1465
II. Схема пептидного синтеза	1474
III. Наиболее употребительные защитные группы	1479
IV. Рациональные методы образования пептидной связи	1486
V. Примеры синтеза пептидов	1492

Статья И. Мейенхофера представляет собой расширенное изложение докладов, сделанных автором в ряде научных учреждений различных стран. Среди опубликованных за последние годы обзорных статей, посвященных синтезу пептидов, эта статья выгодно отличается тем, что в ней в критической и ясной форме (в частности в виде наглядных таблиц и схем) излагается современная тактика и стратегия пептидного синтеза. Успехи последнего делают в настоящее время возможным получение синтетическим путем самых разнообразных биологически активных пептидов (в статье суммировано около 200 синтезов), создавая предпосылки и к синтезу простейших белков (Прим. редактора).

В связи с исключительным интересом темы обзора, редакция сочла возможным поместить его в полном объеме и несколько отступить от правил оформления статей, принятых в нашем журнале (Прим. редакции).

I. ВВЕДЕНИЕ **

Со времени первого синтеза гормона гипофиза — окситоцина, осуществленного Дю Виньо в 1954 г.¹, было синтезировано много высших пептидов***, в которых последовательность аминокислотных остатков в цепи, в большинстве случаев, аналогична или сходна с встречающейся в гормонах, антибиотиках и других биологически активных соединениях (см. табл. 1).

* *Chimia*, **16**, 385 (1962). Перевод с нем. Г. А. Равдель под ред. М. М. Шемякина.

** Принятые сокращения: символы аминокислот по E. W. C. D. J. T. Edsall, *Ann. Rev. Biochem.*, **16**, 224 (1947) и согласно решению 5 Европейского пептидного симпозиума в Оксфорде в сентябре 1962 г. (Cit=цитруллин; Ile=изолейцин, Sar=саркозин); кроме того Ac=ацетил (HOAc=уксусная кислота), Et=этил (OEt=этиловый эфир кислоты, EtOH=этанол, Et₃N=триэтиламин), Alk=алкил, BOC=трет.-бутилокси-карбонил, BZL=бензил (OBZL=бензиловый эфир кислоты, BZL·Cl=бензилхлорид), ONB=*p*-нитробензиловый эфир кислоты, Bu=бутил (OBu^t=трет.-бутиловый эфир кислоты, *n*-BuOH=*n*-бутанол), DCC=дициклогексилкарбодимид, DCH=N,N'-дициклогексимочевина, Me=метил (OMe=метилловый эфир кислоты), ONP=*p*-нитрофениловый эфир кислоты, Tos=*p*-толуолсульфонил, TRI=трифенилметил, Z=карбобензокси, A=ангиотензин, AKTG=адренокортикотропный гормон, (AB=аргинин-вазопрессин, Br=брадикинин, ДМФ=диметилформамид, И. Е.=интернациональные единицы, ЛАП=лейцинаминопептидаза, ЛВ=лизин-вазопрессин, МСГ=меланофорестимулирующий гормон, О=окситоцин, ТГФ=тетрагидрофуран, Ф. Е.=фармакопейная единица США. (Сокращения см. также Информационный бюллетень Интернационального общества чистой и прикладной химии, № 20, 1963 г., *Ред.*).

*** Под высшими пептидами следует понимать пептиды, содержащие в определенной последовательности не менее шести аминокислотных остатков. Э. Фишер синтезировал еще в 1907 г. октадекапептид с последовательностью H—Leu—(Gly)₉—Leu—(Gly)₃—Leu—(Gly)₉—OH (3L), который, однако, наполовину состоял из полиглицина².

Полный и частичный синтез биологически активных пептидов

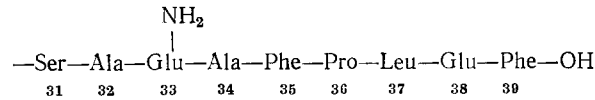
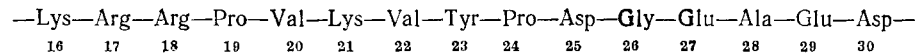
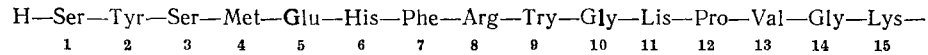
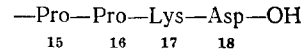
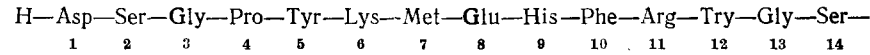
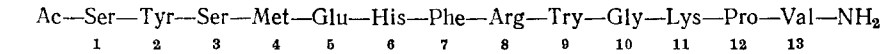
Название	Структура	Первый синтез (год)	Ссылки на литературу
Окситоцин	$ \begin{array}{ccccccccccc} & & & \text{NH}_2 & \text{NH}_2 & & & & & & \\ & & & & & & & & & & \\ \text{H} & - & \text{Cys} & - & \text{Tyr} & - & \text{Ile} & - & \text{Glu} & - & \text{Asp} & - & \text{Cys} & - & \text{Pro} & - & \text{Leu} & - & \text{Gly} & - & \text{NH}_2 \\ 1 & & 2 & & 3 & & 4 & & 5 & & 6 & & 7 & & 8 & & 9 \end{array} $	1954	1, 3—9
Вазопрессин	$ \begin{array}{ccccccccccc} & & & \text{NH}_2 & \text{NH}_2 & & & & & & \\ & & & & & & & & & & \\ \text{H} & - & \text{Cys} & - & \text{Tyr} & - & \text{Phe} & - & \text{Glu} & - & \text{Asp} & - & \text{Cys} & - & \text{Pro} & - & \text{Lys} & - & \text{Gly} & - & \text{NH}_2 \\ 1 & & 2 & & 3 & & 4 & & 5 & & 6 & & 7 & & 8 & & 9 \\ & (\text{Arg}) \end{array} $	1957	10—15
Ангиотензин II	$ \begin{array}{ccccccccccc} & & & (\text{OH}) & & & & & & & \\ & & & & & & & & & & \\ \text{H} & - & \text{Asp} & - & \text{Arg} & - & \text{Val} & - & \text{Tyr} & - & \text{Val} & - & \text{His} & - & \text{Pro} & - & \text{Phe} & - & \text{OH} \\ & (\text{Ile}) \\ 1 & & 2 & & 3 & & 4 & & 5 & & 6 & & 7 & & 8 \end{array} $	1957	16—21
Ангиотензин I	$ \begin{array}{cccccccccccc} & & & (\text{OH}) & & & & & & & & & & & \\ & & & & & & & & & & & & & \\ \text{H} & - & \text{Asp} & - & \text{Arg} & - & \text{Val} & - & \text{Tyr} & - & \text{Val} & - & \text{His} & - & \text{Pro} & - & \text{Phe} & - & \text{His} & - & \text{Leu} & - & \text{OH} \\ 1 & & 2 & & 3 & & 4 & & 5 & & 6 & & 7 & & 8 & & 9 & & 10 \end{array} $	1958	22—24
Ангиотензиноген (субстрат ренина)	$ \begin{array}{cccccccccccccccc} \text{H} & - & \text{Asp} & - & \text{Arg} & - & \text{Val} & - & \text{Tyr} & - & \text{Ile} & - & \text{His} & - & \text{Pro} & - & \text{Phe} & - & \text{His} & - & \text{Leu} & - & \text{Leu} & - & \text{Val} & - & \text{Tyr} & - & \text{Ser} & - & \text{OH} \\ 1 & & 2 & & 3 & & 4 & & 5 & & 6 & & 7 & & 8 & & 9 & & 10 & & 11 & & 12 & & 13 & & 14 \end{array} $	1958	25
Брадикинин	$ \begin{array}{ccccccccccc} \text{H} & - & \text{Arg} & - & \text{Pro} & - & \text{Pro} & - & \text{Gly} & - & \text{Phe} & - & \text{Ser} & - & \text{Pro} & - & \text{Phe} & - & \text{Arg} & - & \text{OH} \\ 1 & & 2 & & 3 & & 4 & & 5 & & 6 & & 7 & & 8 & & 9 \end{array} $	1960	26—28
Каллидин	$ \begin{array}{ccccccccccc} \text{H} & - & \text{Lys} & - & \text{Arg} & - & \text{Pro} & - & \text{Pro} & - & \text{Gly} & - & \text{Phe} & - & \text{Ser} & - & \text{Pro} & - & \text{Phe} & - & \text{Arg} & - & \text{OH} \\ 1 & & 2 & & 3 & & 4 & & 5 & & 6 & & 7 & & 8 & & 9 & & 10 \end{array} $	1961	29, 30
Эледоизин	$ \begin{array}{cccccccccccc} \boxed{\rightarrow} & \text{Glu} & - & \text{Pro} & - & \text{Ser} & - & \text{Lys} & - & \text{Asp} & - & \text{Ala} & - & \text{Phe} & - & \text{Ile} & - & \text{Gly} & - & \text{Leu} & - & \text{Met} & - & \text{NH}_2 \\ 1 & & 2 & & 3 & & 4 & & 5 & & 6 & & 7 & & 8 & & 9 & & 10 & & 11 \end{array} $	1962	31

α-МСГ
(производное)

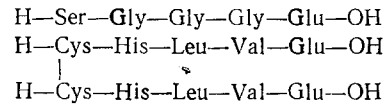
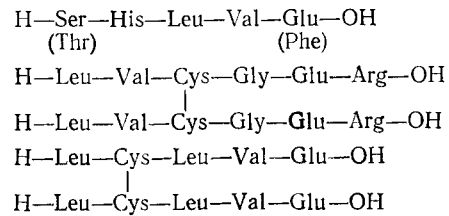
β-МСГ

β-Кортикотропин

АКТГ
частичный синтез



Пептиды, обладающие стрепогениновой активностью



1958

32—39

1959

40—43

Фрагменты

1—20, 10—20

44, 45

1—19

46, 47, 47a

1—19, 1—24

48—50

1—23, 1—13, 10—23, 1—20

51—54

1—9, 10—21, 22—28

54a

12—22

55

19—24

56

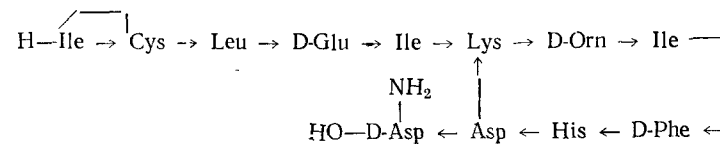
33—39

57

1956

58—61
62

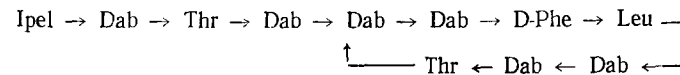
Бацитрацин А, частичный синтез



89

Полимиксин В

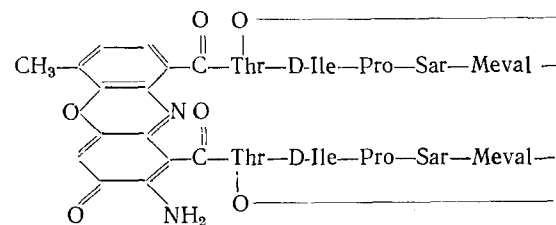
Аналоги



IpeI = изопеларгоновая кислота

Dab — диаминомасляная кислота

90—93

АКТИНОМИЦИН С₃

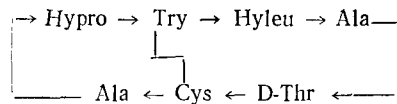
(Sar=саркозин, N-метилглицин)

(Meval=N-метилвалин)

1960

94

Фаллоидин частичный синтез



Нуклео=γ-окси- или
γ, δ-диокси-L-лейцин

95, 96

ТАБЛИЦА 2

Синтетические аналоги, гомологи и производные окситоцина

Изменение в положе- ние	Обозначение Окситоцин	<div><div>123456789</div><div>H — Cys — Tyr — Ile — Glu — Asp — Cys — Pro — Leu — Gly — NH₂</div><div><div>NH₂</div><div>NH₂</div></div></div>									Ссылки на литературу
1	Деамино-О (1-β-меркаптопропионил-О)	β-Prop									98
	1-Меркаптоацетил-О	Ac									99
	D-Цистин-О	H—D-Cys									100, 101
	N-Метил-О	CH ₃ —Cys									101
	Глицил-О	H—Gly—Cys									101, 102
	Саркозил-О	H—Sar—Cys									101
	Лейцилглицилглицил-О	H—Leu—Gly—Gly—Cys									101
	1-(Геми-гомо-цистин)-О	H—homo-Cys									103
2	Гистидилсерил-О	H—His—Ser—Cys									104
	Серилгистидил-О	H—Ser—His—Cys									104
	Тирозилтирозин ² -О		Tyr—Tyr								105, 106
	Фенилаланин ² -О		Phe								107, 108
	Серин ² -О		Ser								109
	Лейцин ² -О		Leu								101
	O-Метил-О		OMe								101, 110
			Tyr								111
	p-Фторфенилаланин ² -О		F								101
			Phe								
			Me								
	N-Метилтирозин ² -О		Tyr								101, 112

3	Фенилаланин ³ -O (Оксипрессин)			Phe							113, 114
	Лейцин ³ -O			Leu							113
	Валин ³ -O			Val							115
	Тирозин ³ -O			Tyr							116
	Триптофан ³ -O			Try							109
2+3	(Фенилаланин ² -фенилаланин ³)-O		Phe	Phe							116
	(Фенилаланин ² -тирозин ³)-O		Phe	Tyr							116
	(Серин ² -гистидин ³)-O		Ser	His							109
	(Гистидин ² -фенилаланин ³)-O		His	Phe							109
4	Изоглутамин ⁴ -O				(iso) —Glu—NH ₂						117, 118
5	Глутамин ⁵ -O					HN ₂ Glu (iso) —Asp—NH ₂					113
	Изоаспарагин ⁵ -O										119
7+8+9	Циклические изомеры						Cys—NH ₂	—	—	—	120, 121
8	Валин ⁸ -O								Val		122
	Изолейцин ⁸ -O								Ile		122
	Тритий-лейцин ⁸ -O								Leu*		123
	Цитруллин ⁸ -O								Cit		124
9	Саркозин ⁹ -O									Sar—NH ₂	125

* Меченый тритием.

ТАБЛИЦА 3

Синтетические аналоги и производные вазопрессина

Изменение в положении	Обозначение Лизин-вазопрессин (ЛВ) Аргинин-вазопрессин (АВ)	<div><div>123456789</div><div><div></div><div></div><div></div><div>NH₂</div><div>NH₂</div><div></div><div></div><div></div><div></div><div></div><div></div><div></div></div><div>H—Cys—Tyr—Phe—Glu—Asp—Cys—Pro—Lys—Gly—NH₂</div><div>(Arg)</div></div>									Ссылки на литературу
1	Ацетилсерилтирозилсерил-ЛВ	Ac—Ser—Tyr—Ser—Cys								104	
	Ацетилсерилтирозил-ЛВ	Ac—Ser—Tyr—Cys								104	
	Гистидилсерил-ЛВ	H—His—Ser—Cys								104	
	Серилгистидил-ЛВ	H—Ser—His—Cys								104	
	Ацетил-АВ	Ac—Cys								127	
	1-β-Меркаптопропионил-ЛВ (деамино-ЛВ)	β-prop								128	
2	Фенилаланин ² -ЛВ		Phe							116, 129	
	Гистидин ² -ЛВ		His							109	
3	Изолейцин ³ -ЛВ (Лизин-вазотоцин)			Ile				Lys		15, 130	
	Изолейцин ³ -АВ (Аргинин-вазотоцин)			Ile				Arg		131, 132	
	(Тирозил-тирозин) ³ -ЛВ			Tyr—Tyr						133	
	Тирозин ³ -ЛВ			Tyr						116	
	Серин ³ -ЛВ			Ser						109	
	Триптофан ³ -ЛВ			Try						109	
2+3	(Фенилаланин ² -тирозин ³)-ЛВ		Phe	Tyr						116	
	(Серин ² -изолейцин ³)-ЛВ		Ser	Ile						109	
	(Серин ² -гистидин ³)-ЛВ		Ser	His						109	
	(Гистидин ² -серин ³)-ЛВ		His	Ser						109	
8	Гистидин ⁸ -вазопрессин							His		132	
	Цитруллин ⁸ -вазопрессин							Cit		124	
9	Саркозин ⁹ -ЛВ								Sar—NH ₂	134	

Биологические активности ср. Буассона и др. 1961¹²⁶

ТАБЛИЦА 4

Синтетические аналоги брадикинина

Изменение в положении	Обозначение Брадикинин (Бр)	1	2	3	4	5	6	7	8	9	Ссылки на литературу
		H—Arg—Pro—Pro—Gly—Phe—Ser—Pro—Phe—Arg—OH									
1	Lys-брадикинин=каллидин Cit ¹ -Бр	H—Lys—Arg H—Cit									29, 30 124
1+9	(Dab ¹ —Dab ⁹)-Бр	H—Dab Dab—OH									136
2+4+ 6+8	(Phe ² —Ser ⁴ —Gly ⁶ —Pro ⁸)-Бр (обратное чередование)	Phe Ser Gly Pro									137
3	(des-Pro ³)-Бр	—									138, 139
3+7	(des-Pro ³ —Pro ⁷)-Бр	— —									138, 139
3+4+7	(Gly ³ —Pro ⁴ —des-Pro ⁷)-Бр	Gly Pro —									138, 139
4+5+7	(Phe ⁴ —Gly ⁵ —des-Pro ⁷)-Бр	Phe Gly —									138, 139
7	(des-Pro ⁷)-Бр	—									138, 140—142

В 1958 г. был опубликован обзор Швицера (Базель)⁹⁷, посвященный синтезу биологически активных полипептидов. С тех пор различные причины и цели послужили поводом для синтеза многих других пептидов.

1. Для подтверждения строения, установленного путем определения последовательности аминокислотных остатков, были синтезированы окситоцин, лизин-вазопрессин, ангиотензин I и II, α -МСГ, брадикинин, каллидин, элдеоизин и грамицидин С, обладающие биологической активностью природных соединений (см. табл. 1).

2. С целью выяснения зависимости между строением, биологической активностью и специфичностью Дю Виньо, например, синтезировал многочисленные аналоги, гомологи и производные окситоцина и вазопрессина (см. табл. 2 и 3).

3. Фармакологически интересным направлением явилось изменение активности или специфичности природных пептидов путем варьирования их строения; например, Буассона¹²⁶ синтезировал модифицированные окситоцины (см. табл. 2), вазопрессины (см. табл. 3) и кинины¹³⁵ (см. табл. 4), а Швицер — измененные ангиотензины (см. табл. 5).

4. Соображения экономического характера также послужили поводом для синтеза некоторых биологически активных пептидов. Так, например, фармацевтической промышленности уже в настоящее время выгоднее получать окситоцин синтетическим путем, а не выделять его из природных объектов.

5. Наконец, целью будущего является синтез белков. Так, сейчас в трех институтах ведутся работы по осуществлению синтеза инсулина (Кацюянином с сотрудниками, Питсбург, США; Мейенхофером Шнабелем и Цаном, Аахен, ФРГ; Тсоу, Хуангом с сотрудниками, Шанхай, КНР)*.

В дальнейшем обсуждаются только те синтетические методы, которые к настоящему времени оказались достаточно эффективными. При-

* В настоящее время группой Цана³⁹⁴, а также Кацюянином с сотрудниками³⁹⁵ осуществлен полный синтез инсулина. (Прим. редактора).

менение этих методов будет показано на примере трех синтезов пептидов, представленных в виде наглядных схем. Для детального ознакомления с этими методами см. обзоры 97, 126, 344, 384, 386—393.

II. СХЕМА ПЕПТИДНОГО СИНТЕЗА

Образование пептидных связей осуществляется в три стадии (см. схему 1).

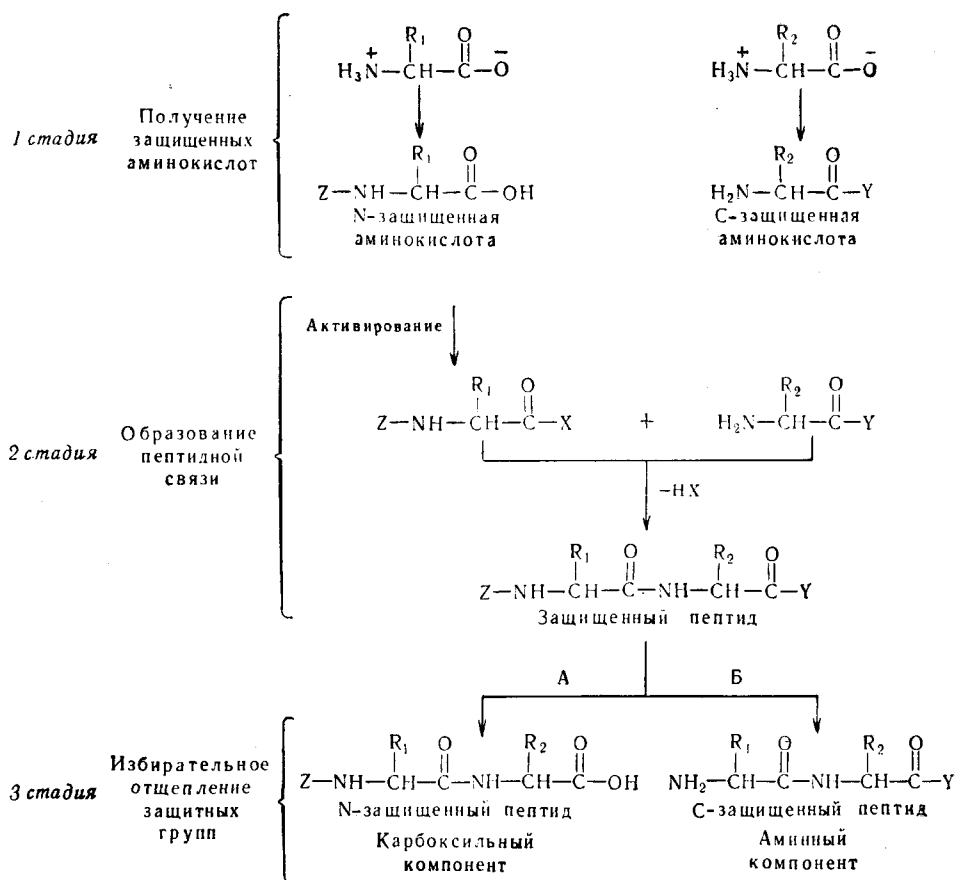


Схема 1. Общий путь синтеза пептидов

1 стадия: получение защищенных аминокислот. Временная защита аминных и карбоксильных групп так называемыми защитными группами позволяет, с одной стороны, соединять аминокислотные остатки в желаемой последовательности*, а с другой — лишает аминокислоты амфотерных свойств. Для кислых аминокислот, таких, как глутаминовая и аспарагиновая необходима дополнительная защита карбоксильной группы, для основных (например лизина и аргинина) — дополнительная защита амино-группы¹⁵⁶, а для таких полифункциональных аминокислот, как цистеин, тирозин или серин — специальные защитные группы. При этом защитные группы должны удовлетворять следующим

* В особых случаях синтез низших пептидов со специфической последовательностью удастся осуществить без применения аминокислот, содержащих селективно снимаемые защитные группы, например, из карбоксиангидридов; ср. ¹⁵⁵.

ТАБЛИЦА 5

Синтетические аналоги, гомологи и производные ангиотензина I и II

Измене- ние в по- ложении	Обозначение	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	Ссылки на литературу
	Ангиотензин I (AI)	$\begin{array}{c} \text{(OH)} \\ \\ \text{H-Asp} \end{array}$ —Arg—Val—Tyr—Val—His—Pro—Phe—His—Leu—OH										
	Val ⁵ } Ангиотензин II (AII) Ile ⁵ } (Val ⁵ -AII, Ile ⁵ -AII)	$\begin{array}{c} \text{(OH)} \\ \\ \text{H-Asp} \end{array}$ —Arg—Val—Tyr— $\begin{array}{c} \text{(Val)} \\ \text{Ile} \end{array}$ —His—Pro—Phe—OH— — —										
1	Gly ¹ —Val ⁵ -AII	H—Gly				Val				—	—	143
	Arg ¹ —Ile ⁵ -AII	H—Arg				Ile				—	—	144
	β-Asp ¹ —Val ⁵ -AII	$\begin{array}{c} \text{OH} \\ \\ \beta\text{-Asp} \end{array}$										
	(des-Asp ¹)—Val ⁵ -AII	—				Val				—	—	145
	(des-Asp ¹)—Ile ⁵ -AII	—				Val Ile				—	—	146 144
2	O ₂ N-Arg ² —Val ⁵ -AII	$\begin{array}{c} \text{NH}_2 \\ \\ \text{H-Asp} \end{array}$	$\begin{array}{c} \text{NO}_2 \\ \\ \text{Arg} \end{array}$			Val				—	—	147
	Orn ² —Val ⁵ -AII	$\begin{array}{c} \text{(OH)} \\ \\ \text{H-Asp} \end{array}$										
	His ² —Ile ⁵ -AII	$\begin{array}{c} \text{OH} \\ \\ \text{H-Asp} \end{array}$	Orn			Val				—	—	143
		H—Asp	His			Ile				—	—	148
1+2	des-(Asp ¹ —Arg ²)—Val ⁵ -AII	—	—			Val				—	—	146
	des-(Asp ¹ —Arg ²)—Ile ⁵ -AII	—	—			Ile				—	—	144
	[(des-Asp ¹)—His ²]—Ile ⁵ -AII	—	H—His			Ile				—	—	149
3	Leu ³ —Val ⁵ -AII	$\begin{array}{c} \text{NH}_2 \\ \\ \text{H-Asp} \end{array}$		Leu		Val				—	—	150
		$\begin{array}{c} \text{(OH)} \\ \\ \text{H-Asp} \end{array}$										
	Leu ³ —Ile ⁵ -AII	$\begin{array}{c} \text{(NH}_2\text{)} \\ \\ \text{H-Asp} \end{array}$		Leu		Ile				—	—	97, 151

ТАБЛИЦА 5 (продолжение)

Изменение в положе- нии	Обозначение Ангиотензин I (AI)	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	Ссылки на литературу
		$\begin{array}{c} \text{(OH)} \\ \\ \text{(NH}_2\text{)} \\ \\ \text{H—Asp—} \end{array}$	Arg—	Val—	Tyr—	Val—	His—	Pro—	Phe—	His—	Leu—OH	
	Val ⁵ } Ангиотензин II (AII) Ile ⁶ } (Val ⁵ -AII, Ile ⁵ -AII)	$\begin{array}{c} \text{(OH)} \\ \\ \text{(NH}_2\text{)} \\ \\ \text{H—Asp—} \end{array}$	Arg—	Val—	Tyr—	(Val) Ile—	His—	Pro—	Phe—OH	—	—	
1+2+3	des-(Asp ¹ —Arg ² —Val ³)—Ile ⁵ -AII [(des-Asp ¹)—Val ² —Tyr ³]—Ile ⁵ -AII	— —	— H—Val	— Tyr		Ile Ile				— —	— —	144 152
4	Phe ⁴ —Val ⁵ -AII	$\begin{array}{c} \text{(OH)} \\ \\ \text{(NH}_2\text{)} \\ \\ \text{H—Asp—} \end{array}$			Phe	Val				—	—	143
	(Tyr—Tyr) ⁴ —Val ⁵ -AII	$\begin{array}{c} \text{(OH)} \\ \\ \text{(NH}_2\text{)} \\ \\ \text{H—Asp—} \end{array}$			Tyr—Tyr	Val				—	—	146
1+2+4	[des-(Asp ¹ —Arg ²)—Phe ⁴]—Ile ⁵ -AII	—	—		Phe	Ile				—	—	144
	[des-(Asp ¹ —Arg ²)—Ala ⁴]—Ile ⁵ -AII	—	—		Ala	Ile				—	—	144
5	Leu ⁵ -AII	$\begin{array}{c} \text{(OH)} \\ \\ \text{(NH}_2\text{)} \\ \\ \text{H—Asp—} \end{array}$				Leu				—	—	97, 150, 151
2+5	Lys ² —Leu ⁵ -AII	$\begin{array}{c} \text{NH}_2 \\ \\ \text{H—Asp—} \end{array}$	Lys			Leu				—	—	97, 150, 151

8	(Phe ⁸ —OMe)—Val ⁵ -AlI	NH ₂ H—Asp				Val		Phe—OMe	—	—	147
	(Phe ⁸ —NH ₂)—Val ⁵ -AlI	NH ₂ H—Asp				Val		Phe—NH ₂	—	—	147
	(p-Br-Phe ⁸)—Val ⁵ -AlI	(OH) (NH ₂) H—Asp				Val		Br Phe	—	—	150
	(des-Phe ⁸)—Val ⁵ -AlI	NH ₂ H—Asp				Val	Pro— —OH	—	—	—	146
	D-Phe ⁸ —Val ⁵ -Al	OH H—Asp				Val		Phe-D	His	Leu	24
	Ala ⁸ —Ile ⁵ -AlI	OH H—Asp				Ile		Ala	—	—	144
1+8	[(des-Asp ¹)—D-Phe ⁸]-Ile ⁵ -AlI	—				Ile		D-Phe	—	—	150
1+2+6 +8	(Z-OBZL-Asp ¹ —O ₂ N-Arg ² — imBZL-His ⁶ —Phe ⁸ —OMe)—Ile ⁵ -AlI	OBZL Z—Asp	NO ₂ Arg			Ile	BZL His	Phe—OMe	—	—	153
9+10	(Pro ⁹ —Phe ¹⁰)—Val ⁵ -Al	(OH) (NH ₂) H—Asp				Val			Pro	Phe	150
10	(Leu ¹⁰ —NH ₂)—Val ⁵ -Al	NH ₂ H—Asp				Val				Leu—NH ₂	150

Примечание: Биологические активности см. Швицер 1961¹⁵⁰ и Пейдж и др. 1961¹⁴⁴.

требованиям: 1) введение их в молекулу аминокислоты не должно вызывать рацемизации; 2) они должны быть устойчивыми в условиях пептидного синтеза.

2 стадия: образование пептидной связи. Для этой цели карбоксильные группы N-замещенных аминокислот или пептидов активируют превращением в эфиры или смешанные ангидриды*. Во время реакции присоединения-отщепления аминокислотный компонент атакует C-атом карбонила¹⁵⁸, имеющий пониженную электронную плотность. При оценке пригодности метода активирования руководствуются пятью критериями:

1. *Отсутствие рацемизации у α -C-атома аминокислоты, участвующей в образовании пептидной связи.* Механизм рацемизации такого рода еще не выяснен однозначно¹⁵⁹⁻¹⁶¹. Рацемизация является постоянной проблемой пептидного синтеза. При всех методах активирования, кроме азидного, активируемые аминокислоты могут рацемизоваться; исключение составляет пролин¹⁶²⁻¹⁶⁵. Для выяснения склонности к рацемизации было предложено много реакций¹⁶⁵⁻¹⁶⁸, однако пока еще нет ни одного прямого метода, позволяющего констатировать частичную рацемизацию при образовании любой пептидной связи в ходе сложного пептидного синтеза. Вместо этого рекомендуются косвенные методы, требующие большой затраты времени, как например, получение данного пептида различными путями, ферментатическое расщепление пептида после удаления защитных групп^{18, 163, 169-171}, исследование продуктов полного гидролиза при помощи аминокислотных оксидаз^{18, 172, 173} или специфических бактерий. Удаление нежелательных диастереомеров часто бывает затруднительно, так как разница в их растворимости с удлинением цепи резко снижается.

2. *Отсутствие побочных реакций.*

3. *Простота процесса выделения пептидов и отделения их от других продуктов реакции.* Это обстоятельство существенно потому, что обычно отсутствуют точные критерии чистоты высших пептидов, для характеристики которых температура плавления, элементарный анализ, оптическое вращение или спектры имеют лишь относительно небольшое значение¹⁶⁹. Вместо этого приходится применять длительные методы определения аминокислотного состава¹⁷⁴ или концевых аминокислот¹⁷⁵. Использование такого точного критерия чистоты как биологическая активность, ограничивается, естественно, лишь активными пептидами; в этом случае полное соответствие активности по силе и специфичности действия у синтетического и природного соединений является однозначным доказательством успешности проведенного синтеза^{1, 138, 141, 142}. Очистка производных высших пептидов также очень затруднена из-за отсутствия точных критериев чистоты и, как правило, плохой растворимости. Для аморфных веществ рекомендуются такие многоступенчатые методы очистки как противоточное распределение или хроматография.

Однако необходимо приложить все усилия, чтобы добиться получения кристаллического соединения. Многократная перекристаллизация до приблизительно постоянной величины оптического вращения по своей простоте и эффективности в большинстве случаев превосходит хроматографию и противоточное распределение. Для успешного выполнения синтеза конечного пептида имеет большое значение перекристаллизация возможно большего числа промежуточных соединений [пример (I) см. раздел V]. За последние годы, многие производные высших пептидов выделены в кристаллическом виде^{4, 8, 13, 14, 24, 28, 41, 45, 49, 65, 67, 83-85, 152}.

4. *Выход* должен быть высоким, так как в противном случае для многостадийного синтеза понадобятся слишком большие количества дорогостоящих аминокислот.

* Относительно методов так называемого N-активирования, см.¹⁵⁷.

5. *Длительность* отдельных стадий синтеза не должна превышать 2—3 дней.

Как следствие таких высоких требований, достаточно пригодными для построения высших пептидов оказались до настоящего времени только 4 метода, а именно: азидный, карбодимидный, метод смешанных ангидридов и метод нитрофениловых эфиров (см. раздел IV).

3 *стадия*: удаление защитных групп. Методы селективного отщепления защитных групп должны удовлетворять следующим требованиям: 1) защитные группы, подлежащие удалению, должны отщепляться количественно, а остальные полностью сохраняться; 2) чувствительные пептидные связи не должны затрагиваться*; 3) не должна иметь места рацемизация. Широко используется лишь небольшое число защитных групп (см. раздел III).

Высшие пептиды получают многократным повторением стадий 2 и 3. При этом используют два метода: метод последовательного удлинения цепи⁴ (см. схему 2) и метод конденсации фрагментов⁷¹ (см. схему 3). При последовательном удлинении цепи к пептиду присоединяют с одного конца (чаще всего с С-конца) каждый раз только одну аминокислоту. В последнее время этот метод был с успехом применен при синтезе окситоцина⁴, лизин-вазопрессина¹⁴ [см. пример (I)] и брадикинина²⁸. В случае лизин-вазопрессина¹⁴ при восьмикратном образовании пептидных связей, выход достиг 55%, т. е. в среднем 92,5% на каждую пептидную связь**. Таким образом, например, при синтезе рибонуклеазы, содержащей 124 аминокислотных остатка, общий выход составил бы только 0,01% теоретического. Для получения оптимальных выходов при синтезе таких больших молекул следует комбинировать оба метода, используя метод постепенного удлинения цепи для построения отдельных фрагментов, а метод конденсации — для соединения полученных частей между собой¹⁷⁸. Однако при современном состоянии методов синтеза пептидов нельзя подходить к составлению схемы синтеза высшего пептида и, в частности, к разделению молекулы на фрагменты с точки зрения получения оптимальных выходов. Главное внимание должно быть обращено на выбор подходящих защитных групп (см. раздел III) и наиболее целесообразных методов активирования, а также на устранение возможности рацемизации (см. раздел IV).

III. НАИБОЛЕЕ УПОТРЕБИТЕЛЬНЫЕ ЗАЩИТНЫЕ ГРУППЫ

А. Защита amino-группы

Для обратимого блокирования amino-группы наиболее пригодными оказались четыре защитных группировки, а именно, карбобензоксигруппа¹⁷⁹, *p*-толуолсульфонильная (тозилъная)¹⁸⁰, грифенилметильная (трительная)¹⁸¹ и трет.-бутилоксикарбонильная^{182, 183} группы. В табл. 6 указаны реагенты, применяемые для введения защитных групп, и условия их отщепления.

а. *Карбобензоксигруппа*¹⁷⁹ применяется чаще всего. Эта группа, находясь в Na-положении аминокислоты, значительно повышает устойчивость последней к рацемизации²²³. Отщепление карбобензоксигруппы каталитическим гидрированием (1, в) над палладиевой чернью¹⁸⁸ в спирте, ледяной уксусной кислоте или диметилформамиде^{148, 224, 225} можно значительно ускорить применением вибромешалки.

При гидрировании эфиров карбобензоксидипептидов необходимо добавление минеральной кислоты (HCl), чтобы избежать замыкания.

* Устойчивость пептидных связей зависит от природы аминокислот, участвующих в их образовании, см. ^{176, 177}.

** Общий выход обычно рассчитывают на С-концевую аминокислоту.

ТАБЛИЦА 6

Защита amino-группы; методы введения и отщепления защитных групп

Защитная группа; формула и тип соединения	Сокращенное обозначение	Условия введения в аминокислоты и пептиды	Ссылки на литературу	Условия отщепления	Ссылки на литературу
Карбобензоксинная $\text{C}_6\text{H}_5\text{CH}_2\overset{\text{O}}{\parallel}\text{C}\text{NHR}$ (уретан)	Z	1. Карбобензоксидхлорид (по Шоттен — Бауману) 2. Бензил- <i>p</i> -нитрофенилкарбонат * 3. Бензиловый спирт + эфир изоцианжирной кислоты *	179, 184, 185 186 186	1. Каталитическое гидрирование 2. Бромистый водород а) в лед. уксусной кислоте при 20° (10 мин. — 2 часа) б) в нитрометане в) в четыреххлористом углероде г) в диоксане д) в трифторуксусной кислоте е) жидкий HBr при —67° 3. Натрий в жидком аммиаке 4. Концентрированная соляная кислота при 37° или 60° 5. Йодистый фосфоний + йодистый водород в ледяной уксусной кислоте 6. Спиртовой раствор HCl 7. <i>p</i> -Толуолсульфокислота в ледяной уксусной кислоте, бензоле или толуоле 8. Кипящая трифторуксусная кислота, 20—40 мин. 9. Хлористый и бромистый водород в хлороформе 10. Триэтилсилан + PdCl ₂ , 3 часа при 108°	179, 187—189 35, 190—194 195 196 191, 197 35, 36, 194 198 199 58, 200 201, 202 203—205 62 206 207, 208 209
<i>p</i> -Толуолсульфонильная $p\text{-CH}_3\text{C}_6\text{H}_4\text{SO}_2\text{NHR}$ (сульфонамид)	Tos	Тозилхлорид	210	1. Натрий в жидком аммиаке 2. Йодистый фосфоний + йодистый водород 3. Бромистый водород + фенол в ледяной уксусной кислоте	211 180 212
Трифенилметильная $(\text{C}_6\text{H}_5)_3\text{C—NHR}$ (алкиламин)	TRI	1. Аминокислота + +TRICl + Et ₃ NH 2. Алкиловый эфир аминокислоты или пептида + +TRICl + Et ₃ N, затем омыление 3. Бензиловый эфир аминокислоты + TRICl + Et ₃ N, затем частичное восстановление	213 170, 181, 214, 215, 216, 217 218	1. Каталитическое гидрирование 2. Соляная кислота а) 1—2 <i>N</i> в спирте или ацетоне, 1 мин. при 100° или продолжительнее при 20° б) 0,2 <i>N</i> в ледяной уксусной кислоте, 5 мин. при 50° или 100° 3. Разбавленная уксусная кислота а) 50%, 2 мин. при 100° б) 75%, 30 мин. при 30°	213 213, 215, 219 43, 215 213, 214 217

ТАБЛИЦА 6 (продолжение)

Защитная группа; формула и тип соединения	Сокращенное обозначение	Условия введения в аминокислоты и пептиды	Ссылки на литературу	Условия отщепления	Ссылки на литературу
трет.-Бутилоксикарбонильная $\text{(CH}_3\text{)}_3\text{C}-\text{O}-\overset{\text{O}}{\parallel}\text{C}-\text{NHR}$ (уретан)	BOC	1. трет.-Бутил- <i>p</i> -нитрофенилкарбонат 2. трет.-Бутилоксикарбонилазид 3. трет.-Бутанол + эфир изоциан-жирной кислоты	183, 217 220, 221 182, 183, 194	1. Трифторуксусная кислота (безводная), 1 час при 25° 2. Соляная кислота а) 2 <i>N</i> , 30 мин. при 25° б) концентрированная, несколько сек. при 25° в) 1,33 <i>N</i> в ледяной уксусной кислоте, 20 мин. при 30° г) в ледяной уксусной кислоте д) 2—3 <i>N</i> HCl в диоксане, 45 мин. при 20° е) 1,8 <i>N</i> в метаноле, 1 час при 20° 3. Бромистый водород а) в диэтилфосфите, 1 мин. при 30° б) в ледяной уксусной кислоте, несколько секунд	41, 217 217 217 182 222 24 219 183 183

* Практически мало применяется.

образующегося соединения в дикетопиперазин; в других случаях достаточно одной капли ледяной уксусной кислоты. В случае цистин- и цистеинсодержащих пептидов гидролиз не применим²⁰⁰. Ацидолиз проводят обычно бромистым водородом в ледяной уксусной кислоте^{190–193} (1, г). Варьируя условия, можно устранить нежелательные побочные реакции (см. табл. 7). Рекомендуется применять только совершенно чистый и бесцветный бромистый водород в очищенной ледяной уксусной кислоте²²⁹, причем производное пептида следует сначала растворить в ледяной уксусной кислоте, а затем к прозрачному раствору добавить 4 *N* раствор HBr в ледяной уксусной кислоте до получения 2 *N* раствора.

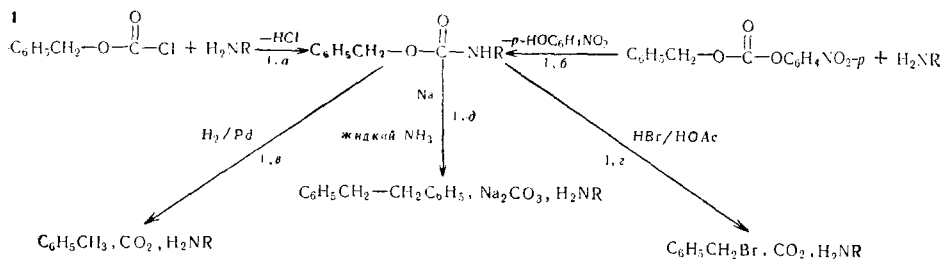
Отщепление натрия в жидком аммиаке^{199, 230} (1, д) проводят при температуре кипения (–33,4°), медленно добавляя небольшие количества натрия, причем конец реакции определяют по исчезающей в течение 5 минут синей окраске. Аммиак удаляют лиофильной сушкой (водоструйный насос) и получают продукт реакции в виде рыхлого порошка¹³. Необходимо обратить внимание на следующие побочные реакции:

ТАБЛИЦА 7

Побочные реакции при отщеплении карбобензокси-группы с помощью HBr в HOAc и их устранение

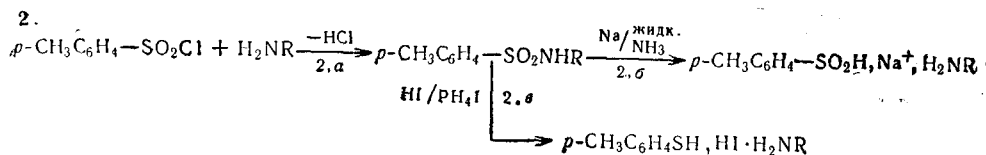
Пептид содержит	Побочная реакция	Устранение побочной реакции	Ссылки на литературу
Серин Триптофан Метионин	О-Ацетилирование Расщепление S-Бензилирование	HBr в трифторуксусной кислоте Добавление диэтилфосфита Добавление метилэтилсульфида; HBr в трифторуксусной кислоте Жидкий HBr (–67°)	35, 36, 194 35, 170 35, 195 226 198
Нитроаргинин	Частичное отщепление нитро-группы		227, 228
Эфирные группы	Частичное омыление		

метионин деметилируется^{35, 231–233}; треонин претерпевает лишь незначительные изменения после 4-часового воздействия²³⁴; наблюдается расщепление связи Lys—Pro^{52, 71}.



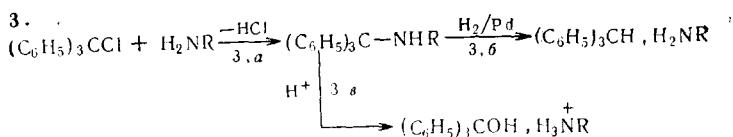
R=остаток аминокислоты или пептида

б. *p*-Толуолсульфонильную группу¹⁸⁰ обычно отщепляют восстановлением натрием в жидком аммиаке²¹¹, что сопровождается образованием сульфеновой кислоты²³⁵ (расходуется 2 экв. Na^{13, 211}) (2, б). Для α-тозиламинокислот самым подходящим методом создания пептидной связи является карбодиимидный метод. Вследствие индуктивного эффекта тозильной группы хлорангидриды и азиды α-тозиламинокислот, особенно лейцина и валина, легко разлагаются щелочью²³⁶; метод смешанных ангидридов применим только с хлорангидридом пивалиновой кислоты в присутствии пиридина^{237, 238}; кристаллические нитрофениловые эфиры α-тозиламинокислот до сих пор получить не удалось²³⁹. Можно применять пептиды или аминокислоты с тозилрованными заместителями в радикале, как например, N_ε-тозиллизин²⁴⁰ или N_g-тозиларгинин^{38, 241} [см. пример (II)].



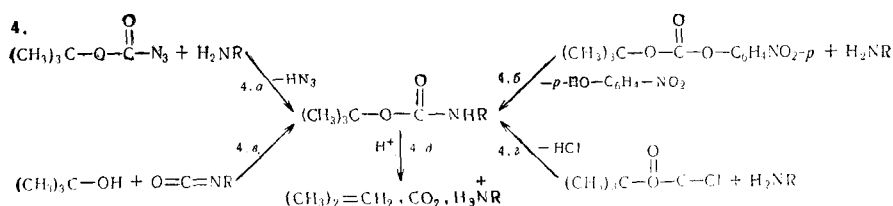
R=остаток аминокислоты или пептида

в. Трифенилметильная группа^{181, 214, 216} хорошо себя оправдала благодаря легкой отщепляемости разбавленными кислотами (3, в) или каталитическим гидрированием (3, б). Реакционная способность карбоксильной группы α-тритиламинокислот понижена из-за стерических препятствий и поэтому, например, в случае смешанных ангидридов взаимодействие с аминным компонентом приводит к образованию уретана²¹³. Наиболее эффективен карбодиимидный метод²¹⁸. В случае тритилпептидов или аминокислот, содержащих тригильные группы в боковой цепи, никаких стерических затруднений не наблюдается^{170, 213, 218, 242}. Окситоцин был синтезирован с применением для защиты amino- и меркапто-групп только тригильной группировки⁸.



R=остаток аминокислоты или пептида

г. Трет.-бутилоксикарбонильная группа^{182, 183} может быть удалена в мягких условиях кислотного катализа (4, д) с образованием только летучих продуктов (изобутилен, CO₂). Введение этой защитной группы в молекулу аминокислоты или пептида при помощи трет.-бутилоксикарбонилазида^{220, 221} (4, а) пока еще проходит недостаточно удовлетворительно, но все же успешнее, чем с применением неустойчивого трет.-бутилоксикарбонилхлорида^{183, 243} (4, з), а также трет.-бутил-*p*-нитрофенил-(или фенил)карбоната¹⁸³ (4, б) или соответствующих эфиров, получаемых из изоцианжирных кислот^{244–246} и трет.-бутанола^{182, 194} (4, в).



R=остаток аминокислоты или пептида

Б. Защита карбоксильной группы

Применяют следующие производные аминокислот: метиловый или этиловый эфиры²⁴⁷, бензиловый²⁴⁸ или *p*-нитробензиловый эфиры²⁴⁹, трет.-бутиловый эфир^{250, 251}, замещенные гидразиды, а также амиды (см. табл. 8).

а. Метиловые и этиловые эфиры всех аминокислот и многих пептидов известны²⁴⁷. С удлинением пептидной цепи щелочное омыление может оказаться неосуществимым⁴⁴ или сопровождаться расщеплением пептидных связей, как например, в случае пептидов, содержащих серин^{194, 290}.

б. При получении бензиловых эфиров аминокислот следует удалять воду азеотропной перегонкой с бензолом или четыреххлористым углеродом; в качестве катализатора применяют, в большинстве случаев, бензол- или *p*-толуолсульфокислоту (см. табл. 8). Пептиды этерифицируются^{270, 271} легче, и реакция с бензиловым спиртом и HCl²⁹¹ иногда протекает количественно. Бензиловые и *p*-нитробензиловые эфиры способны расщепляться при каталитическом гидрировании, а также натрием в жидком аммиаке или щелочным омылением. Нитробензиловые эфиры устойчивы к действию бромистого водорода в ледяной уксусной кислоте²⁴⁹ и иногда предпочитают пользоваться ими, а не бензиловыми эфирами^{192, 227, 228, 280, 292}, которые при ацидолизе частично разлагаются.

в. Трет.-бутиловые эфиры расщепляются в очень мягких условиях кислотного катализа²⁹³, например, трифторуксусной кислотой при 20° в течение нескольких минут^{49, 50}. Они достаточно устойчивы к омылению щелочью, что дает возможность избирательного гидролиза или гидразиолиза присутствующих одновременно с ними метиловых, этиловых^{49, 50} или бензиловых эфиров²⁹⁴. Трет.-бутиловые эфиры получают действием изобутилена под давлением в присутствии серной кислоты или перэтерификацией с трет.-бутилацетатом и хлорной кислотой (см. табл. 8).

г. Замещенные гидразиды после отщепления заместителя применяют для синтеза пептидов азидным методом. Для этой цели используют карбобензокси-²⁸⁷, тритил-^{288, 289} и трет.-бутилоксикарбонилгидразиды^{26, 88}; последний получают из трет.-бутилкарбазата²²¹.

д. Амидная группа глутамина, аспарагина и пептидов с C-концевой амидной группой (окситоцин, вазопрессин, α-МСГ и эледионин) служит одновременно защитной группой карбоксила этих соединений.

ТАБЛИЦА 8

Защита карбоксильной группы; методы введения и отщепления защитных групп

Защитная группа	Принятое сокращенное обозначение	Условия введения в аминокислоты и пептиды	Ссылки на литературу	Условия отщепления	Ссылки на литературу
Метиловый эфир Этиловый эфир	OMe OEt	1. Спирт+соляная кислота 2. Спирт+SOCl ₂ 3. Диазометан * 4. Спирт+дициклогексилкарбодимид+пиридин * 5. Диалкилсульфит+ <i>p</i> -толуолсульфокислота	247, 252—255 246, 256 34, 257—260 261, 262 263	1. Омыление щелочью (NaOH в ацетоне, диоксане, метаноле, диметилформамиде) 2. Омыление кислотой (HCl в диоксане) 3. Гидролиз химотрипсином (энзим-субстрат 1:10000) 4. Образование амида (сухой аммиак в абс. спирте)	247, 255 72, 264 265 266—268
Бензиловый эфир	OBZL	1. Бензиловый спирт+кислота, азеотропная перегонка: а) Бензолсульфокислота/бензол б) Соляная кислота/бензол в) Полифосфорная кислота г) <i>p</i> -Толуолсульфокислота/бензол д) Бензолсульфокислота/CCl ₄ е) Сульфурилхлорид/тетрахлорэтан * 2. Диазотолуол * 3. Дибензилсульфит+ <i>p</i> -толуолсульфокислота	248 269—271 272 273, 274 63, 275 276 277 263	1. Каталитическое гидрирование 2. Бромистый водород в ледяной уксусной кислоте, 2 часа при 50—70° 3. Натрий в жидком аммиаке 4. Омыление щелочью 5. Образование амида	278, 279 191, 280 281 201, 249, 282 266, 267
<i>p</i> -Нитробензиловый эфир	ONB	1. <i>p</i> -Нитробензилхлорид (бромид)+триэтиламин * 2. <i>p</i> -Нитробензиловый спирт+бензолсульфокислота в CCl ₄	87, 249, 283 275	1. Каталитическое гидрирование 2. Омыление щелочью	87, 249, 284 87
Трет.Бутиловый эфир	OBu ^t	1. Изобутилен+H ₂ SO ₄ а) Аминокислоты б) Ациламинокислоты 2. трет.-Бутилацетат+HClO ₄ а) Аминокислоты б) Ациламинокислоты	250 251 285 286	1. Безводная трифторуксусная кислота, несколько минут при 20° 2. Бромистый водород в ледяной уксусной кислоте 3. <i>p</i> -Толуолсульфокислота	49, 50 250, 251 251

ТАБЛИЦА 8 (продолжение)

Защитная группа	Принятое сокращенное обозначение	Условия введения в аминокислоты и пептиды	Ссылки на литературу	Условия отщепления	Ссылки на литературу
Замещенные гидразиды		Общие методы образования пептидной связи при помощи: карбобензоксигидразина *		См. отщепление N-защитных групп, табл. 6	
а) Карбобензоксигидразид	$-N_2H_2-Z$		287		
б) Трет.-бутил-оксикарбонил-гидразид	$-N_2H_2-BOC$	трет.-бутилкарбазата *	26, 88		
в) Тритилгидразид	$-N_2H_2-TRJ$	тритилгидразина *	288, 289		
Амид	$-NH_2$	1. Аминолиз эфиров 2. Общие методы образования пептидной связи + амиак	266—268	Не отщепляется	

* Только с N-замещенными производными аминокислот или пептидов.

В. Специальные защитные группы для заместителей в боковых цепях

До сих пор самым лучшим способом защиты меркапто-группы в пептиде, содержащем цистеин, является введение S-бензильной группы^{119, 296, 297}, легко отщепляемой натрием в жидком аммиаке¹⁹⁹. S-Тритильная группа²⁹⁸ была использована в одном из синтезов окситоцина⁸. Цистин нашел лишь ограниченное применение в синтезе пептидов^{200, 201, 270, 299—301}. Для осуществления синтеза инсулина необходимы дополнительные селективно снимаемые HS-защитные группы³⁰². Разработаны условия пептидного синтеза, при которых нет необходимости

ТАБЛИЦА 9

Устойчивость защитных групп и их отщепление в стандартных условиях

Защитные группы	Реакция отщепления					Омыле- ние NaOH
	катали- тичес- кое гидри- рование H ₂ /Pd	восстанов- ление Na NH ₃ жидк.	Ацидолиз			
			HBr лед. HOAc	CF ₃ COOH	Разбав- ленная HOAc	
N-защитные группы:						
N-Карбобензокси	+	+	+	—	—	—
N- <i>p</i> -Толуолсульфонил	—	+	—	—	—	—
N-Трифенилметил	+	+	+	+	+	—
N-Трет.-бутилоксикарбонил	—	—	+	+	—	—
S-защитные группы:						
Метилловый и этиловый эфиры	—	×	—	—	—	+
Бензильовый эфир	+	+	+	—	—	+
<i>p</i> -Нитробензильовый эфир	+	—	—	—	—	+
Трет.-бутиловый эфир	—	—	+	+	—	—
Амид	—	—	—	—	—	×
Другие защитные группы:						
S-Бензильная группа	×	+	—	—	—	—
O-Бензильовый эфир	+	+	+	—	—	—

⊕ расщепляется; — устойчива; × побочные реакции.

в защите функциональных групп боковых цепей гистидина³⁰³, серина и треонина³⁰⁴, а также тирозина³⁰⁴. Иногда применяют N_{im}-бензил-^{211, 305}, N_{im}-тримил-^{214, 215} или N_{im}-карбобензоксипроизводные гистидина^{307, 308}, О-бензилсерин^{197, 308, 309} и О-бензил-³¹⁰, О-тримил-²¹⁸ или О-карбобензоксипроизводные тирозина³¹¹. Гуанидиновую группу аргинина, кроме уже рассмотренных блокирующих групп (Z³¹², Tos^{38, 241}), можно защищать нитро-группой^{313, 314} или протонированием³¹⁵.

Г. Выбор наиболее подходящих защитных групп

При составлении схемы синтеза высших пептидов для защиты функциональных групп выбирают методы, позволяющие получать требуемые фрагменты с унифицированными защитными группами. В идеальном случае конечный продукт должен содержать такие защитные группы, которые могут быть удалены одновременно в достаточно мягких условиях. Для облегчения выбора в табл. 9 сопоставлена устойчивость рассмотренных защитных групп к расщеплению общепринятыми методами в стандартных условиях.

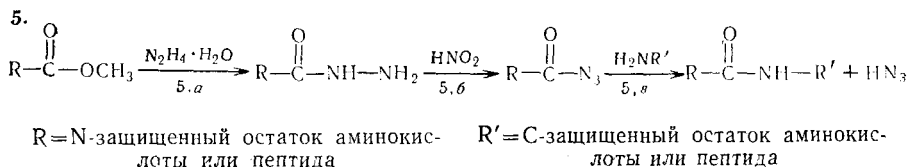
IV. РАЦИОНАЛЬНЫЕ МЕТОДЫ ОБРАЗОВАНИЯ ПЕПТИДНОЙ СВЯЗИ

Четыре метода, наиболее оправдавшие себя при синтезе высших пептидов, обсуждаются ниже с точки зрения следующих пяти критериев: рацемизации, побочных реакций, легкости выделения, выхода и продолжительности процесса.

А. Азидный метод³¹⁶ состоит из двух стадий.

Первая стадия: получение (в большинстве случаев кристаллических) гидразидов N-замещенных аминокислот или пептидов взаимодействием соответствующих эфиров с гидразингидратом в спирте^{63, 316} или диметилформамиде⁶⁹ (5, а).

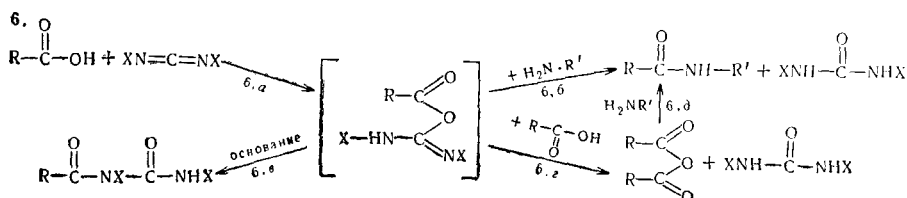
Вторая стадия: превращение растворенного в разбавленной соляной кислоте гидразида действием нитрита в азид (5, б) и затем взаимодействие азидов с аминокислотами (5, в); для последней реакции применяют полученный этилацетатный раствор азидов или выделяют твердый азид^{12, 25, 34, 50, 88, 317} и проводят реакцию в диметилформамиде



Обсуждение метода. Азидный метод является единственным, при котором до сих пор не отмечено случаев рацемизации^{162, 164, 165}. Однако наблюдаются многочисленные побочные реакции^{318, 319}, например образование амидов^{63, 320, 321}, расщепление по Курциусу до изоцианатов с последующим превращением в производные мочевины³²²⁻³²⁴ или уретаны^{325, 326}, образование бисгидразидов^{290, 303, 327}, нитрование бензольного ядра тирозина³²⁸, разложение азидов α-тозиламинокислот²³⁶, окисление производных S-бензилцистеина до сульфоксидов³¹⁸. При проведении реакции при низких температурах (от -10 до +5°) многие побочные процессы в значительной степени устраняются. Обработка реакционной смеси была бы очень проста, если бы реакция протекала количественно, так как в этом случае единственным побочным продуктом является азотистоводородная кислота. Продукты реакции растворяют в

этилацетате и раствор промывают разбавленной соляной кислотой и раствором бикарбоната для удаления исходных компонентов. Отделение побочных продуктов реакции часто сопряжено с большими трудностями³¹⁷. *Выходы* получаются, в большинстве случаев, в пределах 30—70%; *продолжительность* от 4 до 6 дней, включая получение гидразида (1—3 дня).

Б. *Карбодиимидный метод*³²⁹ был впервые использован для синтеза пептидов Шиханом и Гессом^{330, 331}. Применяют почти исключительно дициклогексилкарбодиимид (ДСС). Полединий прибавляют к охлажденному до 0°¹⁶⁷ максимально концентрированному³³² раствору карбоксильного и аминного компонентов (6, а, б), применяя в качестве растворителя тетрагидрофуран, ацетонитрил, дихлорметан, этилацетат, диметилформамид или диоксан. Можно пользоваться и водосодержащими растворителями^{10, 13, 133, 330}. Это дает большие преимущества при получении высших пептидов, которые часто очень плохо растворяются в безводных органических растворителях. Предложено несколько механизмов реакции (например, последовательность превращений 6, а, б^{332, 333} или 6, а, г, д^{334, 335}).



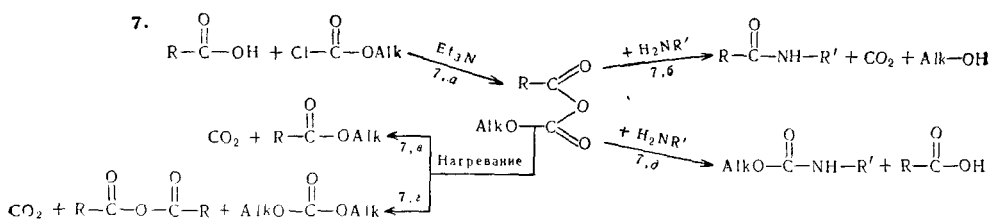
R = N-защищенный остаток аминокислоты или пептида
R' = C-защищенный остаток аминокислоты или пептида
X = циклогексил (или другие радикалы)

Обсуждение метода. Охлаждение до 0° перед добавлением карбодиимида и применение по возможности неполярных растворителей^{164, 165, 167} создает такие условия конденсации, при которых *рацемизация*, в большинстве случаев, составляет лишь ~1%, хотя иногда она достигает 30¹⁸ и даже 50%²⁷¹.

Одной из очень нежелательных побочных реакций часто является образование N-ацилдициклогексилмочевины (6, в)^{58, 165, 331, 336—338}, которая не способна к дальнейшему ацилированию³³³ и к тому же трудно отделима. В ацетонитриле эта побочная реакция, по-видимому, тормозится^{194, 331}. При активировании производных аспарагина и глутамина наблюдалась частичная дегидратация амидных групп с образованием соответствующих нитрилов^{339, 340}. *Обработка* реакционной смеси в случае растворимых низших пептидов очень проста, так как труднорастворимая дициклогексилмочевина (ДСН) чаще всего почти количественно выкристаллизовывается. Высшие пептиды очищают многократной экстракцией кипящим метиловым спиртом. Полное удаление дициклогексилмочевины обычно затруднительно, но эту трудность удается обойти использованием других карбодиимидов^{16, 78, 341—343}, образующих растворимые производные мочевины. *Выходы* получаются в пределах 30—80%; *продолжительность* от 2 до 4 дней.

В. *Метод смешанных ангидридов*³⁴⁴. Из различных вспомогательных кислот (карбоновые^{345, 346}, серная кислота^{166, 347}, диэфир фосфорной кислоты^{196, 348—350}), испытанных при изыскании подходящих смешанных ангидридов аминокислот, наиболее применимыми оказались моноэфиры угольной кислоты^{351—353}. Раствор N-замещенной аминокислоты или пептида (в тетрагидрофуране, диоксане, толуоле, хлороформе или диметилформамиде) вводят в реакцию с изобутиловым³⁵³ или этиловым³⁵² эфиром хлормуравьиной кислоты в присутствии триэтиламина при —5 до

—10° (7, а) и затем через 10—15 минут прибавляют аминокомпонент (7, б).



Alk=изобутил, этил (в, г: n-бутил)

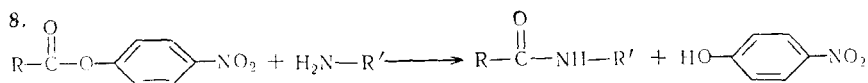
R=N-защищенный остаток аминокислоты или пептида

R'=свободный или C-защищенный остаток аминокислоты или пептида

Обсуждение метода. При активировании пептидов часто наблюдается значительная, а иногда даже полная *рацемизация*^{83, 164, 165, 354}. Поэтому при синтезе высших пептидов метод смешанных ангидридов применяют, по возможности, только к фрагментам с C-концевым пролином или глицином. Опасность рацемизации в тетрагидрофуране наименьшая. **Побочная реакция** образования уретанов (7, д) в результате взаимодействия аминокомпонента с остатком вспомогательной кислоты^{237, 355} смешанного ангидрида наблюдалась в случае α-тритил-²¹⁸ и α-тозиламино-кислот²³⁸. Кинетика реакции термического разложения смешанных ангидридов угольной и карбоновых кислот, приводящей частично к сложному эфиру (7, в) и частично — к смеси симметричного ангидрида аминокислоты и диалкилового эфира угольной кислоты (7, г), была изучена на примере смешанного ангидрида n-бутилового эфира угольной кислоты и бензойной кислоты³⁵⁶. Показано, что в случае глицина имеет место образование N-ацеламида³⁵⁷. **Обработка** реакционной смеси очень проста, так как все сопутствующие продукты летучи (CO₂, изобутанол или этанол). **Выходы** составляют 40—95%; **продолжительность** 1 день. Таким образом, метод смешанных ангидридов требует наименьшей затраты времени.

Г. Метод нитрофениловых эфиров. Из многочисленных активированных эфиров^{260, 283, 358—367} наилучшими оказались p-нитрофениловые эфиры³⁵⁹ по следующим соображениям. 1. Они могут быть получены с хорошим выходом путем взаимодействия карбобензоксиаминокислот^{4, 262, 368, 369} или карбобензоксипептидов^{47, 365, 370} с p-нитрофенолом в присутствии дициклогексилкарбодиимида*. 2. p-Нитрофениловые эфиры карбобензоксиаминокислот представляют собой хорошо образованные кристаллы; эти эфиры могут неограниченно долго сохраняться в темноте при комнатной температуре. 3. Использование их для синтеза пептидов не требует дополнительной обработки.

Известные в настоящее время p-нитрофениловые эфиры замещенных α-аминокислот приведены в табл. 10.



R'=C-защищенный остаток аминокислоты или пептида

R'=свободный или C-защищенный остаток аминокислоты или пептида

* Получение из Z-аминокислоты и ди-p-нитрофенилсульфита в присутствии пиридина см.³⁶³; получение действием три-p-нитрофенилфосфита и пиридина на Z-аминокислоту см.³⁷¹, а на Z-дипептид см.³⁸².

p-Нитрофениловые эфиры замещенных *L*-аминокислот

Замещенная аминокислота	Сокращенное обозначение эфира	Т. пл., °C	Оптическ. вращ. (α) _D		Растворитель и концентрация	Ссылки на литературу
			(α °)	<i>T</i> °C		
Карбобензоксид- <i>L</i> -аланин	Z-Ala-ONP	79—79,5	—38,0	25	1,4, Этилацетат	372
Карбобензоксид-β-циан- <i>L</i> -аланин	CN (3) Z-Ala-ONP	136—137	—81,8	20	2, Ацетон	373
Ацетил-β-аланин	Ac-β-Ala-ONP	111—113				374
Бензоил-β-аланин	Bz-β-Ala-ONP	163—164				374
Фталоил-β-аланин	Phth-β-Ala-ONP	210—212				374
Фталоил-γ-амино-масляная кислота		131—132				374
Трикарбобензоксид- <i>L</i> -аргинин	(Z) ₂ Z-Arg-ONP	126—127				142
N _α -Карбобензоксид-N _g -тозил- <i>L</i> -аргинин	Tos Z-Arg-ONP	50—60	—13,5	23	1,2, ДМФ	27
Карбобензоксид- <i>L</i> -аспарагин	NH ₂ Z-Asp-ONP	165—166	—31,5	20	2, ДМФ	4
N-Карбобензоксид-β-О-бензил- <i>L</i> -аспарагиновая кислота	OBZL Z-Asp-ONP	76	—16,6	22	1, ДМФ	24
N _α -Карбобензоксид- <i>L</i> -цитруллин	Z-Cit-ONP	163—165	—19	20	1, ДМФ	124
N-Карбобензоксид-S-бензил- <i>L</i> -цистеин	BZL Z-Cys-ONP	93—94	—43	20	2, ДМФ	4, 360, 364, 372
N-Карбобензоксид-S- <i>p</i> -нитробензил- <i>L</i> -цистеин	NBZL Z-Cys-ONP	105—107	—39,8	28	1,03, ДМФ	73
Карбобензоксид- <i>L</i> -глутамин	NH ₂ Z-Glu-ONP	155—156	—24	20	2, ДМФ	4
Карбобензоксид-γ-О-бензил- <i>L</i> -глутаминовая кислота	OBZL Z-Glu-ONP	111	—20,4	25	3,2, Этилацетат	372
Карбобензоксид-γ-О-метил- <i>L</i> -глутаминовая кислота	OMe Z-Glu-ONP	108	—33,8	25,5	2, ДМФ	375, 376
Карбобензоксид-α-О-бензил- <i>L</i> -глутаминовая кислота	ONP Z-Glu-BZL	66—67	—28,2	22	0,55, EtOH	376
Карбобензоксид-α-S-этил- <i>L</i> -глутаминовая кислота	ONP Z-Glu-SEt	98—99	—22,4	25	1,02, 95% HOAc	377
Карбобензоксиглицин	Z-Gly-ONP	124—125				364
Дикарбобензоксид- <i>L</i> -гистидин	Z Z-His-ONP	109—110				378
Карбобензоксид-S-бензил- <i>L</i> -гомоцистеин	BZL Z-гомо-Cys-ONP	74,5—75,5	—35,8	20,5	1,23, MeOH	103
Карбобензоксид- <i>L</i> -изолейцин	Z-Ile-ONP	60—62	—15,5	20	2, ДМФ	4
Карбобензоксид- <i>L</i> -лейцин	Z-Leu-ONP	95	—33,5	20	2, ДМФ	4, 364

ТАБЛИЦА 10 (продолжение)

Замещенная аминокислота	Сокращенное обозначение эфира	Т. пл., °С	Оптический вращ. (α) _D		Растворитель и концентрация	Ссылки на литературу
			(α) ^o	T° C		
N _α -Карбобензоксиг-N _ε -тозил-L-лизин	Tos Z-Lys-ONP	109—110	—16,5	20	2, ДМФ	14
N _α -Карбобензоксиг-N _ε -трет.-бутилоксикарбонил-L-лизин	BOC Z-Lys-ONP	88—91	—14,8	26	1, 13, Ацетон	217
Дикарбобензоксиг-L-лизин	Z Z-Lys-ONP	63	—19	21	1, ДМФ	30
Карбобензоксиг-L-фенилаланин	Z-Phe-ONP	126—126,5	—24,7	20	2, ДМФ	107, 372
Карбобензоксиг-L-пролин	Z-Pro-ONP	94—96	—68	20	2, ДМФ	4, 372
Карбобензоксиг-О-бензил-L-серин	BZL Z-Ser-ONP	55—57	—12	20	2, ДМФ	124
Карбобензоксиг-L-триптофан	Z-Trp-ONP	103—105	—4,3	25	2, ДМФ	378
N-Карбобензоксиг-L-тирозин	Z-Tyr-ONP	158—159	—16,3 —8,1	27	1, Ацетон 1, Ацетон	379 365
N-Карбобензоксиг-О-бензил-L-тирозин	BZL Z-Tyr-ONP	148—150	—9	20	2, ДМФ	4
N, O-Дикарбобензоксиг-L-тирозин	Z Z-Tyr-ONP	135—137	—10,5	26	2, Ацетон	365
Карбобензоксиг-L-валин	Z-Val-ONP	63	—24,4	20	2, ДМФ	364

Образование пептидов аминолизом эфиров (8) при комнатной температуре катализируется ледяной уксусной кислотой (5—10 мол. %) ^{362, 380}. Реакция проводится в растворе этилацетата, ацетонитрила, диметилформамида или хлороформа.

Обсуждение метода. При синтезе пептидов методом постепенного удлинения цепи заметной *рацемизации* *p*-нитрофениловых эфиров карбобензоксиаминокислот пока не обнаружено ^{4, 14, 28, 375}. Однако в 2%-ном растворе диметилформамида при 20° в присутствии 1% триэтиламина они могут рацемизоваться ³⁸¹. Это является одной из причин, по которой при синтезе пептидов методом нитрофениловых эфиров рекомендуется прибавлять каталитические количества ледяной уксусной кислоты. При получении *p*-нитрофениловых эфиров N-замещенных пептидов отмечена частичная или полная рацемизация ^{365, 370, 382}. *Побочные превращения* *p*-нитрофениловых эфиров карбобензоксиаминокислот до сих пор не наблюдались, тогда как некоторые *p*-нитрофениловые эфиры карбобензоксидипептидов в результате меж- или внутримолекулярного ацилирования могут превращаться в дикетопиперазины ³⁸³. При *очистке* полученных пептидов часто бывает трудно нацело освободиться от *p*-нитрофенола. Отделить остатки *p*-нитрофенола от полностью защищенных пептидов можно хроматографированием на нейтральной окиси алюминия. *Выходы* очень хорошие (50—100%), *продолжительность* синтеза 2—3 дня.

Сопоставление и оценка рассмотренных методов образования пептидной связи с точки зрения указанных выше пяти критериев приведены в табл. 11.

Д. Область применения, преимущества и ограничения четырех методов. При получении высших пептидов не ограничиваются обычно при-

Критерии для оценки методов синтеза пептидов

Критерий	Азидный метод	Дициклогексилкарбодимидный метод	Метод смешанных ангидридов	Метод нитрофениловых эфиров
Рацемизация	Отсутствует	До 50% (следует работать при 0° и по возможности с неполярными растворителями)	До 100% (следует работать в тетрагидрофуране)	Незначительная (следует избегать избытка триэтиламина)
Побочные реакции	Образование амидов, изоцианатов (расщепление по Курциусу), мочевины, уретанов, бис-гидразидов, нитрование, окисление тиоэфира, разложение азидов, тозиламинокислоты	<i>N</i> -Ацилмочевина, образование нитрилов из амидов	Разложение ангидрида при температуре выше +5°. Взаимодействие аминокompонента с остатком вспомогательной кислоты; образование <i>N</i> -ациламидов (глицин)	Отсутствуют (в случае нитрофениловых эфиров <i>Z</i> -аминокислот)
Обработка	Выделяется газообразная HN_3 .	Трудно растворимая дициклогексилмочевина выкристаллизовывается. Плохо растворимые пептиды экстрагируют кипящим метанолом	Выделяется газообразная CO_2 и летучий этанол (изобутанол)	Для удаления нитрофенола промывают пептид бикарбонатом или аммиаком; пересаждают из ДМФ/эфир или ДМФ/вода, экстрагируют горячим эфиром, хроматографируют на Al_2O_3
Выход в %	30—70	30—80	40—95	50—100
Длительность в днях	4—6	2—4	1	2—3

менением какого-нибудь одного метода. Для успешного осуществления синтеза требуется детальное обсуждение схемы, в которой применяются наиболее целесообразные защитные группы и методы. Выбор фрагментов производится предпочтительно с таким расчетом, чтобы *C*-концевой аминокислотой оказался глицин или пролин, так как в этом случае устраняется опасность рацемизации при последующей конденсации. Если предусмотренная реакция не идет, то следует без больших потерь вещества и времени провести синтез пептида другим путем. Руководством для выбора схемы синтеза может служить приведенная в табл. 12 сравнительная оценка методов, данная в соответствии с принятыми критериями (см. табл. 11).

Азидный и карбодимидный методы особенно эффективны при конденсации фрагментов, а метод нитрофениловых эфиров или смешанных ангидридов — для постепенного удлинения цепи. Наиболее применимой для защиты α -амино-группы является карбобензоксигруппа, так как при этом опасность рацемизации минимальна. Азидный метод и методы смешанных ангидридов и нитрофениловых эфиров дают возможность вводить аминокompоненты со свободной карбоксильной группой. Рацемизации не наблюдается только при азидном методе и поэтому он очень ценен для получения оптически чистых высших пептидов. Большими недостатками этого метода являются низкие выходы и трудность в выборе растворителя. Удлинение пептидной цепи методом нитрофени-

Сравнительная оценка методов синтеза пептидов

Критерий	Азидный метод	Карбодимидный метод	Метод смешанных ангидридов	Метод нитрофениловых эфиров
Оптическая чистота	++	—	—	+
Побочные реакции	—	—	+	++
Обработка	++	—	+	—
Выход	—	—	+	++
Длительность	—	—	++	+

Хорошо ++, удовлетворительно +, недостаточно удовлетворительно —, неудовлетворительно — —.

ловых эфиров протекает, по-видимому, без побочных реакций и дает максимальный выход. Наибольшие затруднения при выделении продуктов реакции возникают обычно при синтезах через нитрофениловые эфиры или при помощи карбодимидного метода, но зато само проведение реакции очень просто. Синтез с применением метода смешанных ангидридов требует наименьшей затраты времени, но этот метод ведет к значительной рацемизации и, кроме того, он связан с трудностями, вызываемыми плохой растворимостью.

До сих пор еще не найдено совершенного метода синтеза пептидов, и поиски новых методов активирования (ср. ³⁸⁴) и защиты функциональных групп (ср. ³⁸⁵) остаются и впредь актуальными.

V. ПРИМЕРЫ СИНТЕЗА ПЕПТИДОВ

Широкие возможности комбинирования методов конденсации и защитных групп показаны на примере трех синтезов. Изображение путей синтезов в виде наглядных схем ^{44, 78} оказалось очень целесообразным. На схемах 2—4, выполненных по Швицеру ^{48, 78} (кристаллические продукты подчеркнуты жирной чертой), указаны условия реакции, растворитель (в квадратных скобках) и выходы. Путь синтеза отчетливо представлен на этих схемах. В приведенных синтезах отражены следующие особенности:

Пример (I), схема. 2. Синтез *лизин-вазопрессина* ¹⁴ был осуществлен постепенным удлинением пептидной цепи путем присоединения каждый раз по одной аминокислоте с применением только метода нитрофениловых эфиров. Для предотвращения рацемизации α -амино-группа защищалась карбобензоксигруппой. Выход на каждую пептидную связь достиг в среднем 92,8%, что является наивысшим выходом, полученным до сих пор при построении пептидной цепи такой длины. Все промежуточные продукты удалось выделить в кристаллическом виде. Из перекристаллизованного защищенного нонапептида был получен после отщепления защитных групп высокоактивный препарат (83%-ной чистоты), из которого хроматографированием на катионообменной смоле (Amberlite IRC-50) был выделен совершенно чистый гормон, в количестве порядка граммов.

Примерами (II) и (III) показано, как при одной и той же аминокислотной последовательности по разному был использован метод конденсации фрагментов.

Пример (II), схема 3. Для предотвращения рацемизации при конденсации фрагментов синтез пептида с последовательностью аминокислот 1—19 АКТИГ ^{46, 47} осуществлялся таким образом, что два раза имело место образование пептидных связей с участием С-концевого глицина (10/11 и 14/15), а N-концевой фрагмент 1—4 присоединялся при помощи азидного метода. В качестве избирательно снимаемых защитных групп

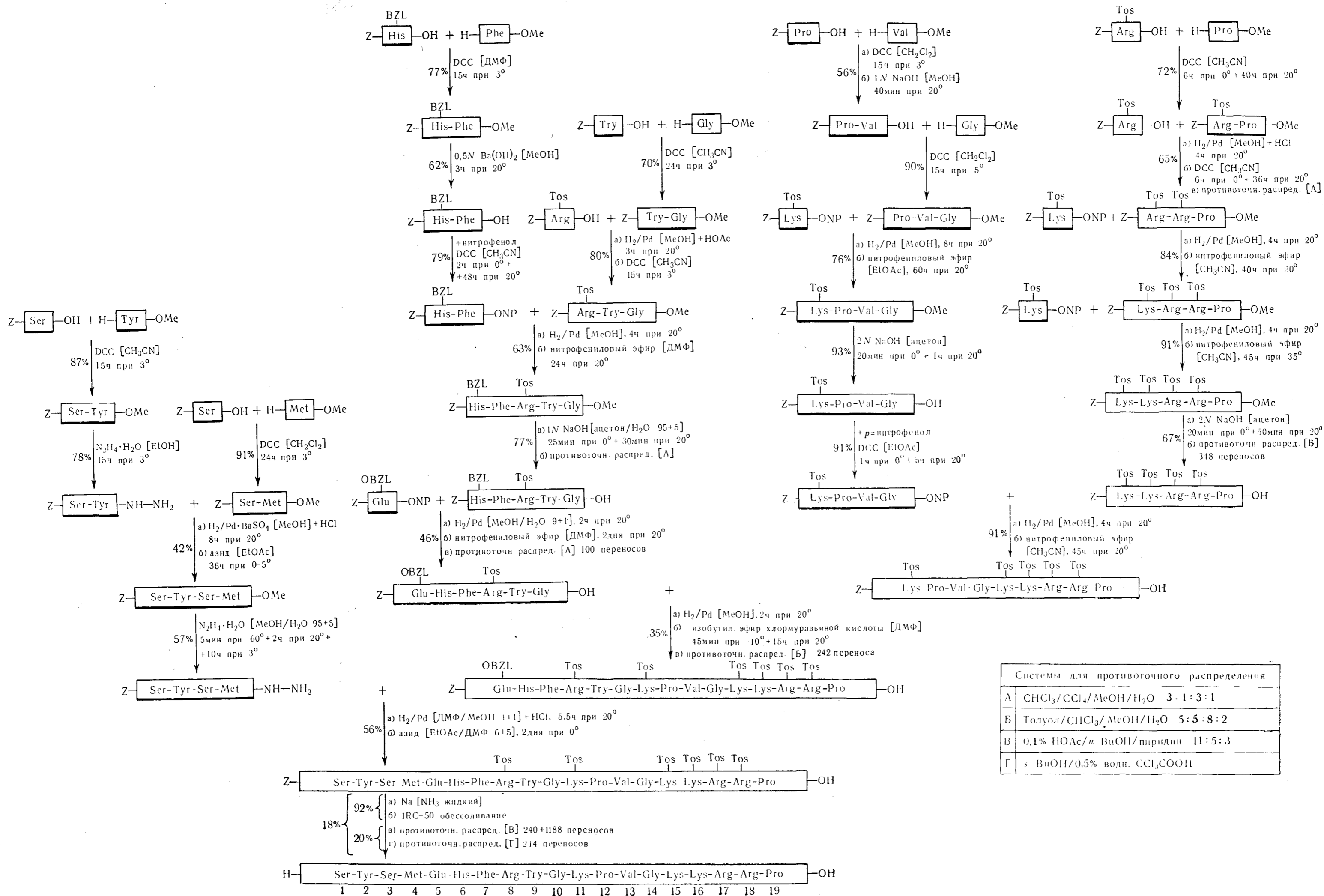


Схема 3. АКГГ; фрагмент I-19⁴⁷
 Характеристика вещества: однородно при противоточном распределении [B], аминокислотном анализе, энзиматическом расщеплении. Биологическая активность: АКГГ (Saifron — Schally) 39, 8ф. Е. Выделение аскорбиновой кислоты: внутривенно 34,6 Ф. Е., подкожно 74 Ф. Е.

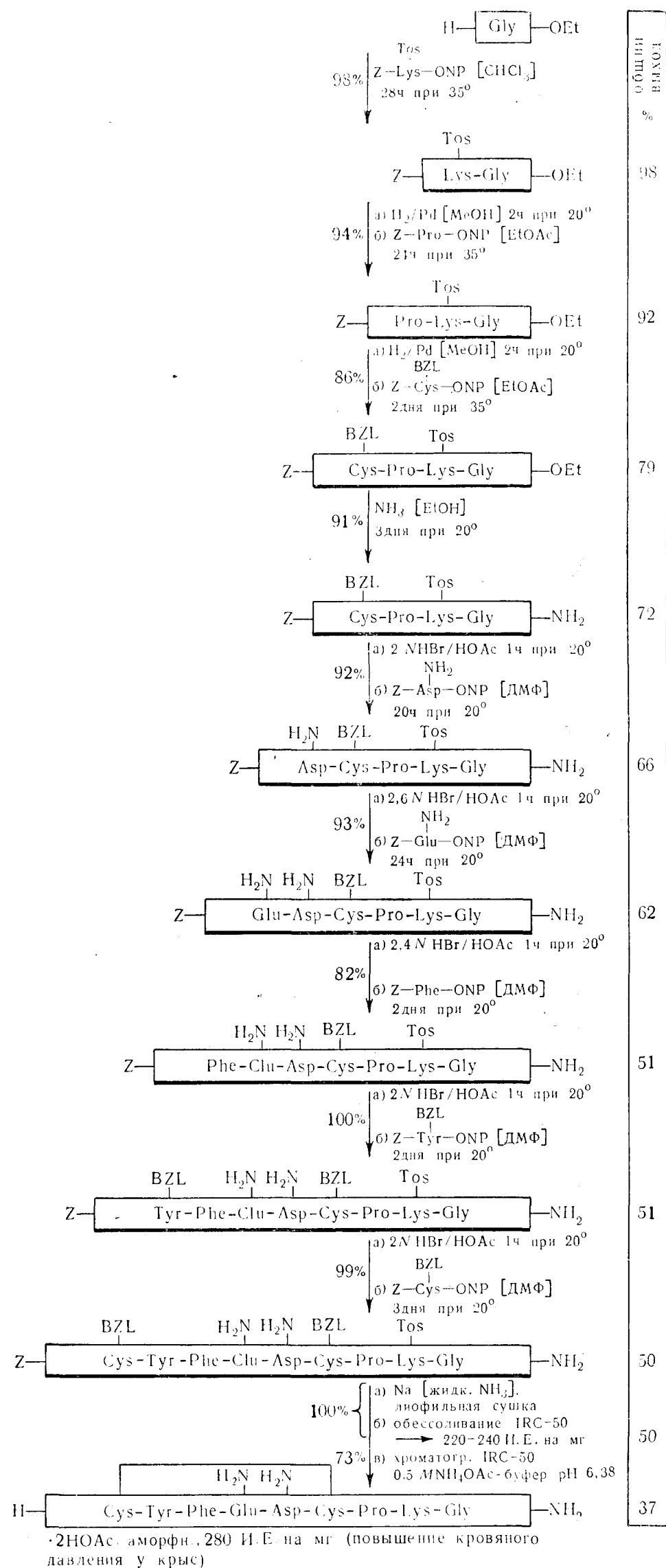


Схема 2. Лизин — возопрессин¹⁴

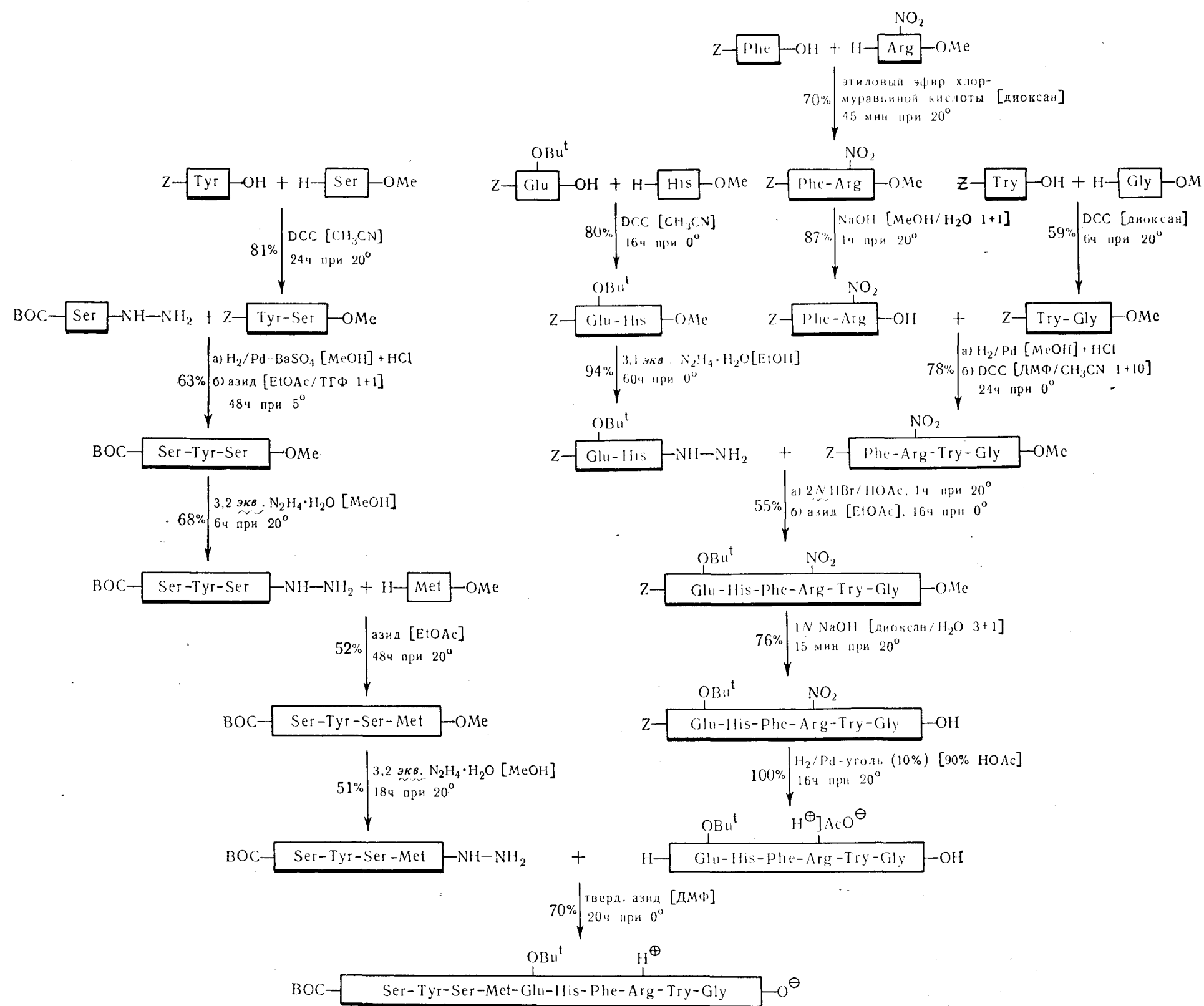


Схема 4. АКГГ; фрагмент I—10

После отщепления защитных групп CF_3COOH (5 мин. при 20°) — кристаллический декапептид (т. пл. 210°), однородный при электрофорезе на бумаге и по аминокислотному анализу; полностью расщепляется ЛАП.

были использованы карбобензоксигруппа для α -аминогрупп, тозилъная защита — для ϵ -аминогруппы лизина и гуанидиновой группы аргинина и бензильная группа для имидазольного кольца гистидина. Все четыре рассмотренных выше синтетических метода нашли свое применение. Аморфные промежуточные соединения были очищены при помощи противоточного распределения. В результате этого синтеза впервые удалось получить препарат, обладающий адренокортикотропной активностью (около 40% активности АКТГ).

Пример (III), схема 4. Этот синтез участка молекулы АКТГ с последовательностью аминокислот 1—10⁵⁰ представляет собой часть изящного синтеза тетракосапептида АКТГ-1—24^{49, 385}, самого большого из синтезированных до сих пор пептидов*. Кроме карбобензоксигруппы, выбранной для защиты α -аминогрупп, нитрогруппы — для гуанидиновой группировки аргинина и метилового эфира — для карбоксильной группы, здесь нашли применение трет.-бутилоксикарбонильная группа и трет.-бутиловый эфир, легко отщепляемые в мягких условиях кислотного катализа. Защищенный декапептид был выделен в кристаллическом виде и благодаря содержащемуся в нем С-концевому глицину он очень удобен для последующей конденсации с фрагментом АКТГ 11—19 или 11—24³⁸⁵.

Эти примеры приведены для того, чтобы дать представление о проблемах и возможностях современных исследований в области синтеза пептидов. Несмотря на сложности, сильно возрастающие по мере удлинения цепи, все же при наличии современных методов можно надеяться на дальнейшее успешное осуществление синтеза активных пептидов, а возможно и простейших белковых молекул.

ЛИТЕРАТУРА

1. V. du Vigneaud, C. Ressler, J. M. Swan, C. W. Roberts, P. G. Katsoyannis, J. Am. Chem. Soc., **76**, 3115 (1954); ср. также V. Du Vigneaud, Ann. N. Y. Acad. Sci., **88**, 537 (1960).
2. E. Fischer, Ber., **40**, 1754 (1907).
3. M. Bodanszky, V. du Vigneaud, J. Am. Chem. Soc., **81**, 2504 (1959).
4. M. Bodanszky, V. du Vigneaud, Там же, **81**, 5688 (1959).
5. R. A. Boissonnas, S. Guttman, P.-A. Jaquenoud, J. P. Waller, Helv. Chim. Acta, **38**, 1491 (1955).
6. M. Bodanszky, M. Szelke, E. Tömörkeny, E. Weisz, Неопубликованные данные, ср. L. Gymermek, G. Fekete, Experientia, **11**, 238 (1955).
7. J. Rudinger, J. Honzl, M. Zaoral, Coll. Czech. Chem. Comm., **21**, 202 (1956).
8. L. Velluz, G. Amiard, J. Bartos, B. Goffinet, R. Heymès, Bull. Soc. chim. France, **1956**, 1464.
9. C. H. Beyerman, J. S. Bontekoe, A. C. Koch, Rec. Trav. Chim. Pays-Bas, **78**, 935 (1959).
10. V. du Vigneaud, M. F. Bartlett, A. Jöhl, J. Am. Chem. Soc., **79**, 5572 (1957).
11. V. du Vigneaud, D. T. Gish, P. G. Katsoyannis, G. P. Hess, Там же, **80**, 3355 (1958).
12. R. O. Studer, V. du Vigneaud, Там же, **82**, 1499 (1960).
13. J. Meienhofer, V. du Vigneaud, Там же, **82**, 2279 (1960).
14. M. Bodanszky, J. Meienhofer, V. du Vigneaud, Там же, **82**, 3195 (1960).
15. R. A. Boissonnas, R. L. Huguenin, Helv. Chim. Acta, **43**, 182 (1960).
16. W. Rittel, B. Iselin, H. Kappeler, B. Riniker, B. Schwyzer, Там же, **40**, 614 (1957).
17. R. Schwyzer, B. Iselin, H. Kappeler, B. Riniker, W. Rittel, H. Zuber, Там же, **41**, 1287 (1958).
18. B. Riniker, R. Schwyzer, Там же, **44**, 658 (1961).
19. H. Schwarz, F. M. Bumpus, I. H. Page, J. Am. Chem. Soc., **79**, 5697 (1957); ср. также ²⁶⁵.
20. K. Arakawa, F. M. Bumpus, Там же, **83**, 728 (1961).
21. R. Paul, G. W. Anderson, Ann. N. Y. Acad. Sci., **88**, 676 (1960); J. Org. Chem., **27**, 2094 (1962).

* В 1963 г. Швицером с сотрудниками был осуществлен синтез β -кортикотропина, содержащего 39 аминокислотных остатков (Прим. редактора).

22. R. Schwyzer, B. Iselin, H. Kappeler, B. Riniker, W. Rittel, H. Zuber, *Helv. Chim. Acta*, **41**, 1273 (1958).
23. E. Wünsch, *Angew. Chem.*, **71**, 743 (1959).
24. S. Guttman, *Helv. Chim. Acta*, **44**, 721 (1961).
25. L. T. Skeggs мл., K. E. Lentz, J. R. Kahn, N. P. Shumway, *J. Exper. Med.*, **108**, 283 (1958).
26. R. A. Boissonnas, S. Guttman, P.-A. Jaquenoud, *Helv. Chim. Acta*, **43**, 1349 (1960).
27. S. Guttman, J. Pless, R. A. Boissonnas, *Там же*, **45**, 170 (1962).
28. E. D. Nicolaides, H. A. De Wald, *J. Org. Chem.*, **26**, 3872 (1961).
29. E. D. Nicolaides, H. A. De Wald, *Biochim. Biophys. Res. Comm.*, **6**, 210 (1961).
30. J. Pless, E. Stürmer, S. Guttman, R. A. Boissonnas, *Helv. Chim. Acta*, **45**, 394 (1962).
31. E. Sandrin, R. A. Boissonnas, *Experientia*, **18**, 59 (1962).
32. K. Hoffmann, M. E. Woolner, H. Yajima, G. Spühler, T. A. Thompson, E. T. Schwartz, *J. Am. Chem. Soc.*, **80**, 6458 (1958).
33. K. Hoffmann, H. Yajima, E. T. Schwartz, *Biochim. Biophys. Acta*, **36**, 252 (1959).
34. K. Hoffmann, H. Yajima, E. T. Schwartz, *J. Am. Chem. Soc.*, **82**, 3732 (1960).
35. S. Guttman, R. A. Boissonnas, *Helv. Chim. Acta*, **42**, 1257 (1959).
36. S. Guttman, R. A. Boissonnas, *Experientia*, **17**, 265 (1961).
37. C. H. Li, E. Schnabel, D. Chung, *J. Am. Chem. Soc.*, **82**, 2062 (1960).
38. E. Schnabel, C. H. Li, *Там же*, **82**, 4576 (1960).
39. C. H. Li, E. Schnabel, D. Chung, T.-B. Lo, *Nature*, **189**, 143 (1961).
40. R. Schwyzer, H. Kappeler, B. Iselin, W. Rittel, H. Zuber, *Helv. Chim. Acta*, **42**, 1702 (1959).
41. H. Kappeler, R. Schwyzer, *Там же*, **43**, 1453 (1960).
42. H. Kappeler, R. Schwyzer, *Experientia*, **16**, 415 (1960).
43. H. Kappeler, *Helv. Chim. Acta*, **44**, 476 (1961).
44. R. A. Boissonnas, S. Guttman, J.-P. Waller, P.-A. Jaquenoud, *Experientia*, **12**, 446 (1956).
45. R. A. Boissonnas, S. Guttman, P.-A. Jaquenoud, E. Sandrin, J.-P. Waller, *Helv. Chim. Acta*, **44**, 123 (1961).
46. C. H. Li, J. Meienhofer, E. Schnabel, D. Chung, T.-B. Lo, J. Ramachandran, *J. Am. Chem. Soc.*, **82**, 5760 (1960).
47. C. H. Li, J. Meienhofer, E. Schnabel, D. Chung, T.-B. Lo, J. Ramachandran, *Там же*, **83**, 4449 (1961).
- 47a. C. H. Li, D. Chung, J. Ramachandran, B. Gorup, *Там же*, **84**, 2460 (1962).
48. R. Schwyzer, W. Rittel, H. Kappeler, B. Iselin, *Angew. Chem.*, **72**, 915 (1960).
49. H. Kappeler, R. Schwyzer, *Helv. Chim. Acta*, **44**, 1136 (1961).
50. R. Schwyzer, H. Kappeler, *Там же*, **44**, 1991 (1961).
51. K. Hoffmann, H. Yajima, N. Yanaihara, T.-Y. Liu, S. Lande, *J. Am. Chem. Soc.*, **83**, 487 (1961).
52. K. Hoffmann, H. Yajima, *Там же*, **83**, 2289 (1961).
53. K. Hoffmann, T.-Y. Liu, H. Yajima, N. Yanaihara, S. Lande, *Там же*, **83**, 2294 (1961).
54. K. Hoffmann, T.-Y. Liu, H. Yajima, N. Yanaihara, C. Yanaihara, J. L. Humes, *Там же*, **84**, 1054 (1962).
- 54a. K. Medzihradsky и др., *Acta Chim. Acad. Sci. Hung.*, **30**, 105, 239, 473 (1962).
55. E. Schröder, H. Gibian, *Ann.*, **649**, 168 (1961); *Naturforsch.*, **15b**, 814 (1960).
56. H. J. Panneman, A. F. Marx, J. F. Arens, *Rec. Trav. Chim. Pays-Bas*, **78**, 487 (1959).
57. G. W. Oertel, *Angew. Chem.*, **70**, 51 (1958).
58. R. B. Merrifield, D. W. Woolley, *J. Am. Chem. Soc.*, **78**, 4646 (1956).
59. R. B. Merrifield, D. W. Woolley, *Там же*, **80**, 6635 (1958).
60. R. B. Merrifield, *J. Biol. Chem.*, **232**, 43 (1958).
61. G. L. Trites, D. W. Woolley, *J. Am. Chem. Soc.*, **82**, 2787 (1960).
62. K. Okawa, *Bull. Chem. Soc. Jap.*, **31**, 88 (1958).
63. J. A. MacLaren, W. E. Savige, J. M. Swan, *Austral. J. Chem.*, **11**, 345 (1958).
64. G. F. Holland, L. A. Cohen, *J. Am. Chem. Soc.*, **80**, 3765 (1958).
65. J. E. Shields, F. H. Carpenter, *Там же*, **83**, 3066 (1961).
66. H. Zahn, N. H. La France, *Ann.*, **630**, 37 (1960).
67. J. Kunde, H. Zahn, *Там же*, **646**, 137 (1961).
68. H. Zahn, R. Zabel, *Там же*, **659**, 163 (1962).
69. D. Gillesen, E. Schnabel, J. Meienhofer, *Там же*, **667**, 164 (1963).
70. E. Schnabel, *Там же*, **667**, 171 (1963).
71. P. G. Katsoyannis, *J. Polymer Sci.*, **49**, 51 (1961).
72. P. G. Katsoyannis, *J. Am. Chem. Soc.*, **83**, 4053 (1961).
73. P. G. Katsoyannis, K. Suzuki, *Там же*, **83**, 4057 (1961).
74. P. G. Katsoyannis, K. Suzuki, *Там же*, **84**, 1420 (1962).
75. P. G. Katsoyannis, *Chem. Eng. News*, **40/27**, 37 (1962).

76. L. Ke, Y. Kung, W. Huang, K. Chi, C. Niu, *Scientia Sinica*, **11**, 337 (1962).
77. W. Huang, C. Yang, K. Wang, C. Niu, Там же, **11**, 499 (1962).
78. R. Schwyzer, P. Sieber, *Helv. Chim. Acta*, **40**, 624 (1957).
79. R. Schwyzer, P. Sieber, Там же, **41**, 1582 (1958).
80. R. Schwyzer, P. Sieber, Там же, **41**, 2186 (1958).
81. R. Schwyzer, P. Sieber, Там же, **43**, 1910 (1960).
82. J. I. Harris, T. S. Work, *Biochem. J.*, **46**, 196, 582 (1950).
83. B. F. Erlanger, W. V. Curran, N. Kokowsky, *J. Am. Chem. Soc.*, **80**, 1128 (1958).
85. B. F. Erlanger, W. V. Curran, N. Kokowsky, Там же, **81**, 3051 (1959).
86. B. F. Erlanger, W. V. Curran, N. Kokowsky, Там же, **81**, 3055 (1959).
87. R. Schwyzer, P. Sieber, *Helv. Chim. Acta*, **42**, 972 (1959).
88. R. Schwyzer, E. Surbeck-Wegmann H., *Dietrich*Chimia*, **14**, 366 (1960).
89. W. Stoffel, L. C. Craig, *J. Am. Chem. Soc.*, **83**, 145 (1961).
90. K. Vogler, R. O. Studer, W. Lergier, P. Lanz, *Helv. Chim. Acta*, **43**, 1751 (1960).
91. K. Vogler, R. O. Studer, P. Lanz, W. Lergier, E. Böhni, *Experientia*, **17**, 223 (1961).
92. R. O. Studer, K. Vogler, W. Lergier, *Helv. Chim. Acta*, **44**, 131 (1961).
93. R. O. Studer, K. Vogler, Там же, **45**, 819 (1962).
94. H. Brockmann, H. Lackner, *Naturwiss.*, **10**, 230 (1960).
95. T. Wieland, K. Freter, E. Gross, *Ann.*, **626**, 154 (1959).
96. T. Wieland, *Helv. Chim. Acta*, **44**, 919 (1961).
97. R. Schwyzer, *Chimia*, **12**, 53 (1958).
98. V. du Vigneaud и др., *J. Biol. Chem.*, **235**, PC64 (1960); **237**, 1563 (1962).
99. D. Jarvis, V. du Vigneaud (опубликованные данные).
100. G. Winestock, V. du Vigneaud (неопубликованные данные).
101. K. Jost, J. Rudinger, F. Sorm, *Coll. Czech. Chem. Comm.*, **26**, 2496 (1961).
102. V. du Vigneaud, P. S. Fitt, M. Bodanszky, M. O'Connell, *Proc. Soc. Exper. Biol. Med.*, **104**, 653 (1960).
103. D. Jarvis, M. Bodanszky, V. du Vigneaud, *J. Am. Chem. Soc.*, **83**, 4780 (1961).
104. S. Guttman, R. A. Boissonnas, *Chimia*, **15**, 575 (1961).
105. S. Guttman, P.-A. Jaquenoud, R. A. Boissonnas, *Naturwiss.*, **44**, 632 (1957).
106. H. C. Beyerman, J. S. Bontekoe, A. C. Koch, *Rec. Trav. Chim. Pays-Bas*, **79**, 105 (1960).
107. M. Bodanszky, V. du Vigneaud, *J. Am. Chem. Soc.*, **81**, 6072 (1959).
108. P.-A. Jaquenoud, R. A. Boissonnas, *Helv. Chim. Acta*, **42**, 788 (1959).
109. S. Guttman, R. A. Boissonnas, Там же, **43**, 200 (1960).
110. H. D. Law, V. du Vigneaud, *J. Am. Chem. Soc.*, **82**, 4579 (1960).
111. H. C. Beyerman, J. S. Bontekoe, A. C. Koch, *Rec. Trav. Chim. Pays-Bas*, **79**, 1034, 1039, 1044, 1050 (1960).
112. R. L. Huguenin, R. A. Boissonnas, *Helv. Chim. Acta*, **44**, 213 (1961).
113. R. A. Boissonnas, S. Guttman, P.-A. Jaquenoud, J.-P. Waller, Там же, **39**, 1421 (1956).
114. P. G. Katsoyannis, *J. Am. Chem. Soc.*, **79**, 109 (1957).
115. J. Rudinger, J. Honzl, M. Zaoral, *Chem. Listy*, **50**, 825 (1956); *Coll. Czech. Chem. Comm.*, **21**, 770 (1956).
116. R. A. Boissonnas, S. Guttman, *Helv. Chim. Acta*, **43**, 190 (1960); B. Berde, H. Weidmann, A. Cerletti, *Helv. Physiol. Acta*, **19**, 285 (1961).
117. C. Ressler, V. du Vigneaud, *J. Am. Chem. Soc.*, **79**, 4511 (1957).
118. C. Ressler, J. R. Rachele, *Proc. Soc. Exper. Biol. Med.*, **98**, 170 (1958).
119. W. B. Lutz, C. Ressler, D. E. Nettleton мл., V. du Vigneaud, *J. Am. Chem. Soc.*, **81**, 167 (1959).
120. C. Ressler, *Proc. Soc. Exper. Biol. Med.*, **92**, 725 (1956).
121. B. Iselin, M. Feurer, *ср.*⁹⁷.
122. P.-A. Jaquenoud, R. A. Boissonnas, *Helv. Chim. Acta*, **44**, 113 (1961).
123. V. du Vigneaud, C. H. Schneider, J. E. Stouffer, V. V. S. Murti, J. P. Aroskar, G. Winestock, *J. Am. Chem. Soc.*, **84**, 409 (1962).
124. M. Bodanszky, M. A. Odetti, B. Rubin, J. J. Piala, J. T. Sheehan, C. A. Birkhimer, *Nature*, **194**, 485 (1962).
125. W. D. Cash, L. M. Mahaffey, A. S. Buck, D. E. Nettleton мл., C. Roman, V. du Vigneaud, *J. Med. Pharmaceut. Chem.*, **5**, 413 (1962).
126. R. A. Boissonnas, S. Guttman, B. Berde, H. Konzett, *Experientia*, **17**, 377 (1961).
127. W. D. Cash, R. O. Studer, V. du Vigneaud (неопубликованные данные), *ср.*¹¹⁸.
128. V. du Vigneaud (неопубликованные данные), *ср.*⁹⁸.
129. J. Meienhofer, V. du Vigneaud, *J. Am. Chem. Soc.*, **82**, 6336 (1960).
130. R. D. Kimbrough мл., V. du Vigneaud, *J. Biol. Chem.*, **236**, 778 (1961).

131. P. G. Katsoyannis, V. du Vigneaud, Там же, **233**, 1352 (1958).
132. P. G. Katsoyannis, V. du Vigneaud, Arch. Biochem. Biophysics, **78**, 555. (1958).
133. H. C. Beyerman, J. S. Bontekoe, Rec. Trav. Chim. Pays-Bas, **79**, 1165 (1960).
134. J. Meienhofer, V. du Vigneaud, J. Am. Chem. Soc., **83**, 142 (1961).
135. E. Werle, Angew. Chem., **73**, 689 (1961); H. O. J. Collier, Actualités Pharmacol., **14**, 53 (1961).
136. K. Vogler, R. O. Studer, W. Lergier, Helv. Chim. Acta, **44**, 1495 (1961).
137. K. Vogler, P. Lanz, W. Lergier, Там же, **45**, 561 (1962).
138. R. A. Boissonnas, S. Guttman, P.-A. Jaquenoud, H. Konzett, E. Stürmer, Experientia, **16**, 326 (1960).
139. S. Guttman, R. A. Boissonnas, Helv. Chim. Acta, **44**, 1713 (1961).
140. R. A. Boissonnas, S. Guttman, P.-A. Jaquenoud, Там же, **43**, 1481 (1960).
141. R. Schwyzer, W. Rittel, P. Sieber, H. Kappeler, H. Zuber, Там же, **43**, 1130 (1960).
142. E. D. Nicolaides, H. A. De Wald, P. G. Shorley, H. O. J. Collier, Nature, **187**, 773 (1960).
143. B. Riniker, R. Schwyzer, Helv. Chim. Acta, **44**, 677 (1961).
144. F. M. Bumpus и др., Biochim. Biophys. Acta, **46**, 38 (1961); Physiol. Rev., **41**, 331 (1961).
145. R. Schwyzer и др., Angew. Chem., **74**, 469 (1962); Circulation, **25**, 175 (1962).
146. B. Riniker, R. Schwyzer, Helv. Chim. Acta, **44**, 685 (1961).
147. B. Riniker, R. Schwyzer, Там же, **44**, 674 (1961).
148. D. Theodoropoulos, Nature, **194**, 283 (1962).
149. D. Theodoropoulos, J. Gazopoulos, J. Chem. Soc., **1960**, 3861.
150. R. Schwyzer, Helv. Chim. Acta, **44**, 667 (1961).
151. R. Schwyzer, B. Iselin, H. Kappeler, B. Riniker, W. Rittel, H. Zuber, Chimia, **11**, 335 (1957).
152. E. Walton, J. O. Rodin, C. H. Stammer, F. W. Holly, J. Org. Chem., **26**, 1657 (1961).
153. R. H. Mazur, Canad. J. Chem., **40**, 1098 (1962).
154. P. G. Katsoyannis и др., J. Am. Chem. Soc., **85**, 1139 (1963); **85**, 1679 (1963); **85**, 1681 (1963).
155. E. Katchalski, M. Sela, Adv. Prot. Chem., **13**, 244 (1958).
156. J. Rudinger, Record Chem. Progr., **23**, 3 (1962).
157. S. Goldschmidt, Coll. Czech. Chem. Comm., **24**, 15 (1959).
158. M. L. Bender, Chem. Rev., **60**, 53 (1960).
159. V. du Vigneaud, C. E. Meyer, J. Biol. Chem., **99**, 143 (1932).
160. R. Schwyzer, Record. Chem. Progr., **20**, 147 (1959).
161. M. Brenner, Coll. Czech. Chem. Comm., **24**, 47 (1959).
162. M. B. North, G. T. Young, Chem. a. Ind., **1955**, 1597.
163. H. Schwarz, F. M. Bumpus, J. Am. Chem. Soc., **81**, 890 (1959).
164. G. T. Young, Coll. Czech. Chem. Comm., **24**, 39 (1959).
165. N. A. Smart, G. T. Young, M. W. Williams, J. Chem. Soc., **1960**, 3902.
166. D. W. Clayton, J. A. Farrington, G. W. Kenner, J. M. Turner, Там же, **1951**, 1398.
167. G. W. Anderson, F. M. Callahan, J. Am. Chem. Soc., **80**, 2902 (1958).
168. F. Weygand, Chimia **14**, 378 (1960); F. Weygand, A. Prox, L. Schidhammer, W. König, Angew. Chem., **75**, 282 (1963).
169. K. Hofmann, Ann. N. Y. Acad. Sci., **88**, 689 (1960).
170. R. A. Boissonnas, S. Guttman, R. C. Huguenin, P. A. Jaquenoud, E. Sandrin, Helv. Chim. Acta, **41**, 1867 (1958).
171. H. Zuber, Chimia, **14**, 405 (1960).
172. D. S. Robinson, S. M. Birnbaum, J. P. Greenstein, J. Biol. Chem., **202**, 1 (1953).
173. J. P. Greenstein, M. Winitz, The Chemistry of the Amino Acids, J. Wiley & Sons, Inc, New York/London, 1960, Vol. **2**, стр. 1254 и след.
174. S. Moore, D. H. Spackman, W. H. Stein, Anal. Chem., **30**, 1185 (1958).
175. F. Sanger, Adv. Prot. Chem., **7**, 1 (1952); G. Braunitzer, Angew. Chem., **69**, 189 (1957).
176. M. Rawitscher, I. Wadsö, J. M. Sturtevant, J. Am. Chem. Soc., **83**, 3180 (1961).
177. В. А. Шибнев, Т. Д. Козаренко, К. Т. Порошин, Изв. АН СССР, ОХН, **1960**, 1500.
178. B. Gastambide, Bull. Soc. Chim. France, **1959**, 1180.
179. M. Bergmann, L. Zervas, Ber., **65B**, 1192 (1932).
180. R. Schönheimer, Ztschr. physiol. Chem., **154**, 203 (1926).
181. B. Heflerich, L. Moog, A. Jünger, Ber., **58**, 872 (1925).
182. F. C. McKay, N. F. Albertson, J. Am. Chem. Soc., **79**, 4686 (1957).
183. G. W. Anderson, A. C. McGregor, Там же, **79**, 6180 (1957).
184. B. F. Erlanger, E. Brand, Там же, **73**, 3508 (1951).

185. См.¹⁷³, стр. 887 и след.
186. H. Zahn, F. Schmidt, Makromolek. Chem., **36**, 1 (1960); см. также ²⁹¹.
187. См.¹⁷³, стр. 1189 и след.
188. R. Willstätter, E. Waldschmidt-Leitz, Ber., **54**, 128 (1921).
189. R. Kuhn, H. J. Haas, Angew. Chem., **67**, 785 (1955).
190. G. W. Anderson, J. Blodinger, A. D. Welcher, J. Am. Chem. Soc., **74**, 5309 (1952).
191. D. Ben-Ishai, A. Berger, J. Org. Chem., **17**, 1564 (1952).
192. D. Ben-Ishai, Там же, **19**, 62 (1954).
193. R. A. Boissonnas, G. Preitner, Helv. Chim. Acta, **36**, 875 (1953).
194. S. Guttman, R. A. Boissonnas, Там же, **41**, 1852 (1958).
195. N. F. Albertson, F. G. McKay, J. Am. Chem. Soc., **75**, 5323 (1953).
196. A. Katchalski, M. Paecht, Там же, **76**, 6042 (1954).
197. K. Okawa, Bull. Chem. Soc. Japan, **30**, 976 (1957).
198. H. Zahn, R. Fahrenstich, Ann., **663**, 184 (1963); W. Haas, Диссертация. Аахен, 1960.
199. R. H. Sifferd, V. du Vigneaud, J. Biol. Chem., **108**, 753 (1935).
200. J. White, Там же, **106**, 141 (1934).
201. C. R. Harington, T. H. Mead, Biochem. J., **29**, 1602 (1935).
202. E. Waldschmidt-Leitz, K. Kühn, Ber., **84**, 381 (1951).
203. A. W. Barkdoll, F. W. Ross, J. Am. Chem. Soc., **66**, 951 (1944).
204. S. Goldschmidt, C. Jutz, Ber., **86**, 1116 (1953).
205. O. Gawron, F. Draus, J. Org. Chem., **23**, 1040 (1958).
206. F. Weygand, W. Steglich, Naturforsch., **14b**, 472 (1959).
207. G. D. Fasman, M. Idelson, E. R. Blout, J. Am. Chem. Soc., **83**, 709 (1961).
208. G. Harris, J. C. MacWilliam, J. Chem. Soc., **1961**, 2053.
209. L. Birkofer, E. Bierwirth, A. Ritter, Ber., **94**, 821 (1961).
210. E. Fischer, Ber., **48**, 93 (1915).
211. V. du Vigneaud, O. K. Behrens, J. Biol. Chem., **117**, 27 (1937).
212. K. Poduska, J. Rudinger, F. Šorm, Coll. Czech. Chem. Comm., **20**, 1174 (1955).
213. L. Zervas и др., J. Am. Chem. Soc., **78**, 1359 (1956); **83**, 719 (1961).
214. G. Amiard, R. Heymès, L. Velluz, Bull. Soc. Chim. France, **1955**, 191, 1283, 1464; **1956**, , 698; Rec. Trav. Chim. Pays-Bas, **78**, 523 (1959).
215. G. Amiard, B. Goffinet, Bul. Soc. Chim. France, **1957**, 1133.
216. A. Hillmann-Elies, G. Hillmann, H. Jatzkewitz, Naturforsch., **8b**, 445 (1953).
217. R. Schwyzer, W. Rittel, Helv. Chim. Acta, **44**, 159 (1961).
218. G. C. Stelakatos, D. M. Theodoropoulos, L. Zervas, J. Am. Chem. Soc., **81**, 2884 (1959).
219. E. Klieger, H. Gibian, Ann., **649**, 183 (1961).
220. R. Schwyzer, P. Sieber, H. Kappeler, Helv. Chim. Acta, **42**, 2622 (1959).
221. L. A. Carpino, J. Am. Chem. Soc., **79**, 98, 4427 (1957); **81**, 955 (1959); **82**, 2725 (1960).
222. B. Iselin, R. Schwyzer, Helv. Chim. Acta, **44**, 1690 (1961).
223. G. C. Stelakatos, J. Am. Chem. Soc., **83**, 4222 (1961).
224. D. Theodoropoulos, Acta Chem. Scand., **12**, 2043 (1958); J. Org. Chem., **21**, 1550 (1956).
225. E. Brand, B. F. Erlanger, H. Sachs, J. Am. Chem. Soc., **74**, 1849 (1952).
226. C. Dekker, J. S. Fruton, J. Biol. Chem., **173**, 471 (1948).
227. L. Kisfaludy, S. Dualszky, J. Bayer, Chimia, **14**, 368 (1960).
228. J. Bayer, S. Dualszky, L. Kisfaludy, J. Chromatogr., **6**, 155 (1961).
229. См.⁹, стр. 941.
230. V. du Vigneaud, W. I. Patterson, J. Biol. Chem., **109**, 97 (1935).
231. J. A. Stekol, J. Biol. Chem., **140**, 827 (1941).
232. C. A. Dekker, S. P. Taylor, J. S. Fruton, Там же, **180**, 155 (1949).
233. M. Brenner, R. W. Pfister, Helv. Chim. Acta, **34**, 2085 (1951).
234. H. Schüssler (Аахен, ФРГ) (неопубликованные данные).
235. K. Jost, J. Rudinger, Coll. Czech. Chem. Comm., **26**, 2345 (1961).
236. A. F. Beecham, J. Am. Chem. Soc., **79**, 3257, 3262 (1957).
237. M. Zaoral, Coll. Czech. Chem. Comm., **24**, 33 (1959); **27**, 1273 (1962).
238. M. Zaoral, J. Rudinger, Там же, **26**, 2316 (1961).
239. C. Berse, T. Massiah, L. Piche, J. Org. Chem., **26**, 4514 (1961).
240. R. Roeske, F. H. C. Stewart, R. J. Stedman, V. du Vigneaud, J. Am. Chem. Soc., **78**, 5883 (1956).
241. R. Schwyzer, C. H. Li, Nature, **182**, 1669 (1958).
242. B. Iselin, Arch. Biochem. Biophysics, **78**, 532 (1958).
243. A. R. Choppin, J. W. Rogers, J. Am. Chem. Soc., **70**, 2967 (1948).
244. W. Siefken, Ann., **562**, 105 (1949).
245. S. Goldschmidt, M. Wick, Там же, **575**, 217 (1952).
246. W. J. Humphlett, C. V. Wilson, J. Org. Chem., **26**, 2507 (1961).
247. См.¹⁷³, стр. 925 и след.

248. H. K. Miller, H. Waelsch, J. Am. Chem. Soc., **74**, 1092 (1952).
249. H. Schwarz, K. Arakawa, Там же, **81**, 5691 (1959).
250. R. Roeske, Chem. a. Ind., **1959**, 1121.
251. G. W. Anderson, F. M. Callahan, J. Am. Chem. Soc., **82**, 3359 (1960); *Chimia*, **14**, 371 (1960).
252. T. Curtius, F. Göbel, J. prakt. Chem. (2), **37**, 150 (1888).
253. E. Fischer, Ber., **34**, 436 (1901).
254. R. L. M. Syngé, Biochem. J., **42**, 99 (1948).
255. T. Wieland и др., Methoden der organischen Chemie. (Houben-Weyl), Verlag Thieme, Stuttgart, 1958, Bd. 11/2, стр. 355.
256. M. Brenner, W. Huber, Helv. Chim. Acta, **36**, 1114 (1953).
257. J. Herzig, K. Landsteiner, Biochem. Ztschr., **61**, 463 (1914); **105**, 11 (1920).
258. R. Kuhn, W. Brydowna, Ber., **70**, 1333 (1937).
259. H. Hörmann, W. Crassmann, E. Wunsch, H. Preller, Ber., **89**, 933 (1956).
260. B. Iselin, R. Schwyzer, Helv. Chim. Acta, **39**, 57 (1956).
261. H. Henecka, Methoden der organischen Chemie. (Houben-Weyl), Verlag Thieme, Stuttgart, 1952, Bd. 8, стр. 521.
262. M. Rothe, F. W. Kunitz, Ann., **609**, 88 (1957).
263. J. M. Theobald, M. W. Williams, G. T. Young, *Chimia*, **14**, 371 (1960).
264. J. R. Vaughan мл., J. A. Eichler, J. Am. Chem. Soc., **76**, 2474 (1954).
265. E. Walton, J. O. Rodin, C. H. Stammer, F. W. Holly, J. Org. Chem., **27**, 2255 (1962).
266. См. ²⁵⁵, стр. 359.
267. См. ¹⁷³, стр. 1110.
268. J. S. Fruton, M. Bergmann, J. Biol. Chem., **145**, 253 (1942).
269. H. Sachs, E. Brand, J. Am. Chem. Soc., **75**, 4610 (1953).
270. C. Ressler, V. du Vigneaud, Там же, **76**, 3107 (1954).
271. K. Hofmann, M. E. Woolner, G. Spühler, E. T. Schwartz, Там же, **80**, 1486 (1958).
272. B. F. Erlanger, R. M. Hall, Там же, **76**, 5781 (1954).
273. J. D. Ciperá, R. V. V. Nicholls, Chem. a. Ind., **1955**, 16.
274. L. Zervas, M. Winitz, J. P. Greenstein, J. Org. Chem., **22**, 1515 (1957).
275. J. E. Shields, W. H. McGregor, F. H. Carpenter, Там же, **26**, 1491 (1961).
276. E. Taschner, C. Wasielewski, Ann., **640**, 139 (1961).
277. E. Sondheimer, R. J. Semeraro, J. Org. Chem., **26**, 1847 (1961).
278. M. Bergmann, L. Zervas, W. F. Ross, J. Biol. Chem., **111**, 245 (1935).
279. P. C. Crofts, J. H. H. Markes, H. N. Rydon, J. Chem. Soc., **1959**, 3610.
280. M. Sela, R. Arnon, J. Am. Chem. Soc., **82**, 2626 (1960).
281. C. W. Roberts, Там же, **76**, 6203 (1954).
282. K. Hofmann, T. A. Thompson, M. E. Woolner, G. Spühler, H. Yajima, J. D. Ciperá, E. T. Schwartz, Там же, **82**, 3721 (1960).
283. R. Schwyzer, B. Iselin, M. Feurer, Helv. Chim. Acta, **38**, 69 (1955).
284. F. H. Carpenter, D. T. Gish, J. Am. Chem. Soc., **74**, 3818 (1952).
285. E. Taschner, A. Chimiak, B. Bator, T. Sokolowska, Ann., **646**, 134 (1961).
286. E. Taschner, C. Wasielewski, J. F. Biernat, Там же, **646**, 119 (1961).
287. K. Hofmann и др., J. Am. Chem. Soc., **72**, 2814 (1950); **74**, 470 (1952).
288. F. Weygand, W. Steglich, Ber., **92**, 313 (1959).
289. B. Hegedüs, Angew. Chem., **71**, 702 (1959).
290. J. I. Harris, J. S. Fruton, J. Biol. Chem., **191**, 143 (1951).
291. H. Zahn, H. R. Falkenburg, Ann., **636**, 117 (1960).
292. R. Häussler, *Chimia*, **14**, 369 (1960).
293. A. Vollmar, M. S. Dunn, J. Org. Chem., **25**, 387 (1960).
294. R. Schwyzer, H. Dietrich, Helv. Chim. Acta, **44**, 2003 (1961).
295. W. Klee, M. Brenner, Там же, **44**, 2151 (1961).
296. V. du Vigneaud, L. F. Auddrieth, H. S. Loring, J. Am. Chem. Soc., **52**, 4500 (1930).
297. J. L. Wood, V. du Vigneaud, J. Biol. Chem., **130**, 109 (1939).
298. G. Amiard, R. Heymès, L. Velluz, Bull. Soc. Chim. France, **1956**, 698.
299. H. S. Loring, V. du Vigneaud, J. Biol. Chem., **111**, 385 (1935).
300. J. P. Greenstein, Там же, **118**, 321 (1937); **124**, 255 (1938).
301. F. W. Holly, E. W. Peel, E. L. Luz, K. Folkers, J. Am. Chem. Soc., **74**, 4539 (1952).
302. L. Zervas, I. Photaki, *Chimia*, **14**, 375 (1960).
303. F. Schneider, Ztschr. physiol. Chem., **320**, 82 (1960); **321**, 38 (1960).
304. См. ¹⁷³, стр. 1049.
305. E. Bricas, C. Nicot-Gutton, Bull. Soc. Chim. France, **1960**, 466.
306. A. Patchornik, A. Berger, E. Katchalski, J. Am. Chem. Soc., **79**, 6416 (1957).
307. S. Akabori, K. Okawa, F. Sakiyama, Nature, **181**, 772 (1958).
308. K. Okawa, Bul. Chem. Soc. Japan, **29**, 486, 488 (1956).

309. W. Grassmann, E. Wunsch, P. Deufel, A. Zwick, Ber., **91**, 538 (1958).
310. E. Wunsch, G. Fries, A. Zwick, Там же, **91**, 542 (1958).
311. E. Katchalski, M. Sela, J. Am. Chem. Soc., **75**, 5284 (1953).
312. L. Zervas, T. T. Otani, M. Winitz, J. P. Greenstein, Там же, **81**, 2878 (1959).
313. M. Bergmann, L. Zervas, H. Rinke, Ztschr. physiol. Chem., **224**, 40 (1934).
314. K. Hofmann, W. D. Peckham, A. Rheiner, J. Am. Chem. Soc., **78**, 238 (1956).
315. D. T. Gish, F. H. Carpenter, Там же, **75**, 5872 (1953).
316. T. Curtius, Ber., **35**, 3226 (1902).
317. K. Hofmann, T. A. Thompson, H. Yajima, E. T. Schwartz, H. Inouye, J. Am. Chem. Soc., **82**, 3715 (1960).
318. J. Honzl, J. Rudinger, Coll. Czech. Chem. Comm., **26**, 2333 (1961).
319. E. Schnabel, Ann., **659**, 168 (1962).
320. V. Prelog, P. Wieland, Helv. Chim. Acta, **29**, 1128 (1956).
321. B. Hegedüs, Там же, **31**, 737 (1948).
322. J. W. Hinman, E. L. Caron, H. N. Christensen, J. Am. Chem. Soc., **72**, 1620 (1950).
323. M. A. Nymann, R. M. Herbst, J. Org. Chem., **15**, 108 (1950).
324. E. Dyer, S. Shyluk, J. Org. Chem., **26**, 1321 (1961).
325. M. Bergmann, L. Zervas, J. Biol. Chem., **113**, 341 (1936).
326. J. S. Fruton, Там же, **146**, 463 (1942).
327. H. Zahn, E. Schnabel, Ann., **605**, 212 (1957).
328. E. Schnabel, H. Zahn, Mh. Chem., **88**, 646 (1957).
329. H. G. Khorana, Chem. Rev., **53**, 145 (1953).
330. J. C. Sheehan, G. P. Hess, J. Am. Chem. Soc., **77**, 1067 (1955).
331. J. C. Sheehan, M. Goodman, G. P. Hess, Там же, **78**, 1367 (1956).
332. M. Smith, J. G. Moffat, H. G. Khorana, J. Am. Chem. Soc., **80**, 6204 (1958).
333. H. G. Khorana, Chem. a. Ind., **1955**, 1087.
334. I. Muramatsu, A. Hagitani, J. Chem. Soc. Japan, **80**, 1497 (1959).
335. H. Zahn, H. Schüssler, Ber., **95**, 1076 (1962).
336. H. Zahn, F. Diehl, Naturforsch., **12b**, 85 (1957); Angew. Chem., **69**, 135 (1957).
337. B. Helferich, H. Böhagen, Ber., **92**, 2813 (1959).
338. A. Buzas, C. Egnell, P. Fréon, C. R., **252**, 896 (1961).
339. D. T. Gish, P. G. Katsoyannis, G. P. Hess, R. J. Stedman, J. Am. Chem. Soc., **78**, 5954 (1956).
340. C. Ressler и др., J. Am. Chem. Soc., **78**, 5956 (1956); J. Org. Chem., **26**, 3356 (1961).
341. J. C. Sheehan, J. J. Hlavka, J. Org. Chem., **21**, 439 (1956); J. Am. Chem. Soc., **79**, 4528 (1957).
342. J. C. Sheehan, P. A. Cruickshank, G. L. Boshart, J. Org. Chem., **26**, 2525 (1961).
343. K. D. Kopple, D. E. Nitecki, J. Am. Chem. Soc., **84**, 4457 (1962).
344. N. F. Albertson, Synthesis of Peptides with Mixed Anhydrides. Organic Reactions. J. Wiley & Sons, Inc., London/New York, 1962, Vol. 12, стр. 157 (Библиогр. 538 назв.).
345. T. Wieland, W. Kern, R. Sehring, Ann., **569**, 117, 122 (1950).
346. J. R. Vaughan мл., R. L. Osato, J. Am. Chem. Soc., **73**, 5553 (1951).
347. G. W. Kenner, R. J. Stedman, J. Chem. Soc., **1952**, 2069.
348. H. Chantrenne, Nature, **160**, 603 (1947); **164**, 576 (1949); Biochim. Biophys. Acta, **2**, 286 (1948); **4**, 484 (1950).
349. J. C. Sheehan, V. S. Frank, J. Am. Chem. Soc., **72**, 1312 (1950).
350. A. Cosmatos, I. Photaki, L. Zervas, Ber., **94**, 2644 (1961).
351. T. Wieland, H. Bernhard, Ann., **572**, 190 (1951).
352. R. A. Boissonnas, Helv. Chim. Acta, **34**, 874 (1951).
353. J. R. Vaughan мл., R. L. Osato, J. Am. Chem. Soc., **74**, 676 (1952).
354. J. R. Vaughan мл. и др., J. Am. Chem. Soc., **74**, 6137 (1952); **75**, 5556 (1953).
355. A. R. Emery, V. Gold, J. Chem. Soc., **1950**, 1443.
356. E. J. Longosz, D. S. Tarbell, J. Org. Chem., **26**, 2161 (1961).
357. K. D. Kopple, R. J. Renick, Там же, **23**, 1565 (1958).
358. T. Wieland и др., Ann., **573**, 99 (1951); **576**, 20, 104 (1952), **582**, 218 (1953).
359. M. Bodanszky, Nature, **175**, 685 (1955); Acta Chim. Acad. Sci. Hung., **10**, 335 (1957).
360. M. Bodanszky, M. Szelke, E. Tömörkeny, E. Weisz, Там же, **11**, 179 (1957); Chem. a. Ind., **1955**, 1517.
361. R. Schwyzer, M. Feurer, B. Iselin, H. Kägi, Helv. Chim. Acta, **38**, 80 (1955).
362. R. Schwyzer, M. Feurer, B. Iselin, Там же, **38**, 83, 1508 (1955).
363. R. Schwyzer, B. Iselin, W. Rittel, P. Sieber, Там же, **39**, 872 (1956).
364. B. Iselin, W. Rittel, P. Sieber, R. Schwyzer, Там же, **40**, 373 (1957).
365. B. Iselin, R. Schwyzer, Там же, **43**, 1760 (1960).
366. J. A. Farrington, G. W. Kenner, J. M. Turner, Chem. a. Ind., **1955**, 601.
367. J. A. Farrington, P. J. Hextall, G. W. Kenner, J. M. Turner, J. Chem. Soc., **1957**, 1407.

368. D. F. Elliot, D. W. Russell, *Biochem. J.*, **66**, 49p (1957).
369. M. Rothe, F. W. Kunitz, *Chem. Techn.*, **9**, 59 (1957); *Acta Chim. Acad. Sci. Hung.*, **18**, 449 (1959).
370. K. Lübke, E. Schröder, *Naturforsch.*, **16b**, 765 (1961).
371. *См.* **262**, **364**, **368**, **372**.
372. M. Goodman, K. C. Stueben, *J. Am. Chem. Soc.*, **81**, 3980 (1959).
373. B. Liberek, *Chem. a. Ind.*, **1961**, 987.
374. G. Bailin, A. Lukton, *J. Org. Chem.*, **27**, 684 (1962).
375. M. Goodman, E. E. Schmitt, D. A. Yphantis, *J. Am. Chem. Soc.*, **84**, 1283 (1962).
376. G. Losse, J. Jeschkeit, W. Langenbeck, *Ztschr. Chem.*, **1**, 279 (1961).
377. E. Klieger, H. Gibian, *Ann.*, **651**, 194 (1962).
378. J. Meienhofer (неопубликованные данные).
379. C. J. Martin, J. Golubow, A. E. Axelrod, *J. Biol. Chem.*, **234**, 294, 1718 (1959).
380. P. Hargitay, A. Hubert (подготовлено к печати); A. Hubert, Диссертация. Люттих, 1958/59.
381. M. Bodanszky, C. A. Birkhimer, *Chimia*, **14**, 368 (1960).
382. S. Guttman, *Chimia*, **14**, 368 (1960).
383. M. Goodman, K. C. Stueben, *J. Am. Chem. Soc.*, **84**, 1279 (1962).
384. E. Bricas, *Bull. Soc. Chim. France*, **1961**, 2001.
385. R. Schwyzer, *Protides of the Biological Fluids*. Elsevier Publ. Co., Amsterdam, 1961, p. 27.
386. J. Fruton, *Adv. Prot. Chem.*, **5**, 1 (1949). (305 ссылок на литературу).
387. W. Grassmann, E. Wunsch, *Fortschritte der Chemie organischer Naturstoffe*, Springer — Verlag, Wien, 1956, Bd. 13, S. 444 (480 ссылок на литературу).
388. H. Springall, *Quart. Rev.*, **10**, 230 (1956). (180 ссылок на литературу).
389. M. Goodman, G. Kenner, *Adv. Prot. Chem.*, **12**, 465 (1957) (452 ссылки на литературу).
390. A. Cook, G. Harris, *Progr. Org. Chem.*, **4**, 140 (1958). (484 ссылки на литературу).
391. T. Wieland, B. Heinke, *Angew. Chem.*, **63**, 7 (1951); **66**, 507 (1954); **69**, 362 (1957); **71**, 417 (1959).
392. J. Greenstein, M. Winitz, *Chemistry of the Amino Acids*, J. Wiley & Sons, Inc., New York/London, 1961, Vol. 2 (1056 ссылок на литературу).
393. И. Кнунянц, Е. Первова, *Усп. химии*, **24**, 641 (1955). (185 ссылок на литературу).
394. J. Meienhofer, E. Schnabel, H. Bremer, O. Brinkhoff, R. Zabel, W. Sroka, H. Klotermeyer, D. Brandenburg, T. Okuda, H. Zahn, *Naturforsch.*, **18b**, 1120 (1963).
395. P. G. Katsoyannis, K. Fukuda, A. Tometsko, K. Suzuki, M. Tilak, *J. Am. Chem. Soc.*, **86**, 930 (1964).