

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 выделяется 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 Е. Grand, 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=дицилогексилкарбодиимид, DCH=N,N'-дицилогексилмочевина, Me=метил (OMe=метиловый эфир кислоты), ONP=p-нитрофениловый эфир кислоты, Tos=p-толуолсульфонил, TRI=трифенилметил, Z=карбобензокси, A=ангидро-цин, АКТГ=адренокортикотропный гормон, (AB=аргинин-вазопрессин, Бр=брadiкинин, ДМФ=диметилформамид, И. Е.=интернациональные единицы, ЛАП=лейцинаминопептидаза, ЛВ=лизин-вазопрессин, МСГ=меланофорстимулирующий 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—(Cly)₉—Leu—(Gly)₃—Leu—(Gly)₉—OH (3L), который, однако, наполовину состоял из полиглицина².

ТАБЛИЦА 1

Полный и частичный синтез биологически активных пептидов

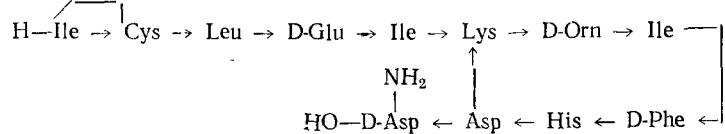
Название	Структура	Первый синтез (год)	Ссылки на литературу
Окситоцин	$ \begin{array}{ccccccccc} & & & \text{NH}_2 & \text{NH}_2 & & & & \\ & & & & & & & & \\ \text{H} & -\text{Cys} & -\text{Tyr} & -\text{Ile} & -\text{Glu} & -\text{Asp} & -\text{Cys} & -\text{Pro} & -\text{Leu} & -\text{Gly} & -\text{NH}_2 \\ 1 & 2 & 3 & 4 & 5 & 6 & 7 & 8 & 9 \end{array} $	1954	1, 3-9
Вазопрессин	$ \begin{array}{ccccccccc} & & & \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 \end{array} $ <p style="text-align: center;">(Arg)</p>	1957	10-15
Ангиотензин II	$ \begin{array}{ccccccccc} & & & \text{(OH)} & & & & & \\ & & & \text{NH}_2 & & & & & \\ & & & & & & & & \\ \text{H} & -\text{Asp} & -\text{Arg} & -\text{Val} & -\text{Tyr} & -\text{Val} & -\text{His} & -\text{Pro} & -\text{Phe} & -\text{OH} \\ 1 & 2 & 3 & 4 & 5 & 6 & 7 & 8 \end{array} $ <p style="text-align: center;">(Ile)</p>	1957	16-21
Ангиотензин I	$ \begin{array}{ccccccccc} & & & \text{(OH)} & & & & & \\ & & & \text{NH}_2 & & & & & \\ & & & & & & & & \\ \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}{ccccccccccccccc} & & & & & & & & & & & & & & & & \\ \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}{ccccccccccccccc} & & & & & & & & & & & & & & & \\ \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}{ccccccccccccccc} & & & & & & & & & & & & & & & \\ \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}{ccccccccccccccc} & & & & & & & & & & & & & & & \\ \text{H} & -\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)	Ac—Ser—Tyr—Ser—Met—Glu—His—Phe—Arg—Try—Gly—Lys—Pro—Val—NH ₂	1958	32—39
	1 2 3 4 5 6 7 8 9 10 11 12 13		
β -МСГ	H—Asp—Ser—Gly—Pro—Tyr—Lys—Met—Glu—His—Phe—Arg—Try—Gly—Ser— 1 2 3 4 5 6 7 8 9 10 11 12 13 14 —Pro—Pro—Lys—Asp—OH 15 16 17 18	1959	40—43
β -Кортикотропин АКТГ частичный синтез	H—Ser—Tyr—Ser—Met—Glu—His—Phe—Arg—Try—Gly—Lys—Pro—Val—Gly—Lys— 1 2 3 4 5 6 7 8 9 10 11 12 13 14 15 —Lys—Arg—Arg—Pro—Val—Lys—Val—Tyr—Pro—Asp—Gly—Glu—Ala—Glu—Asp— 16 17 18 19 20 21 22 23 24 25 26 27 28 29 30 NH ₂ —Ser—Ala—Glu—Ala—Phe—Pro—Leu—Glu—Phe—OH 31 32 33 34 35 36 37 38 39	Фрагменты 1—20, 10—20 1—19 1—19, 1—24 1—23, 1—13, 10—23, 1—20 1—9, 10—21, 22—28 12—22 19—24 33—39	44, 45 46, 47, 47a 48—50 51—54 54a 55 56 57
Пептиды, обладающие стрепогениновой активностью	H—Ser—His—Leu—Val—Glu—OH (Thr) (Phe) H—Leu—Val—Cys—Gly—Glu—Arg—OH H—Leu—Val—Cys—Gly—Glu—Arg—OH H—Leu—Cys—Leu—Val—Glu—OH H—Leu—Cys—Leu—Val—Glu—OH	H—Ser—Gly—Gly—Gly—Glu—OH H—Cys—His—Leu—Val—Glu—OH H—Cys—His—Leu—Val—Glu—OH	1956 58—61 62

ТАБЛИЦА 1 (продолжение)

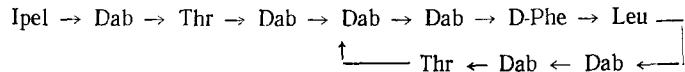
Название	Структура	Первый синтез (год)	Ссылки на литературу
Инсулин		Фрагменты B 10–14, 17–22 A 7–11 A 8–11 B 23–29 B 1–8, 14–18, 23–30 B 13–20 B 13–30 A 1–4, 1–9, 5–9, 12–21, 13–21, 17–21 B 1–5, 6–12, 7–9, 11–19, 13–20, 21–30 B 7–12, 23–30 1956	58, 61 63 64 65 66–68 69 70 71–75, 154 76, 77 78–86
Грамицидин С Аналоги Гомологи			
Тироцидин А, частичный синтез			87, 88

Бацитрацин A,
частичный синтез



89

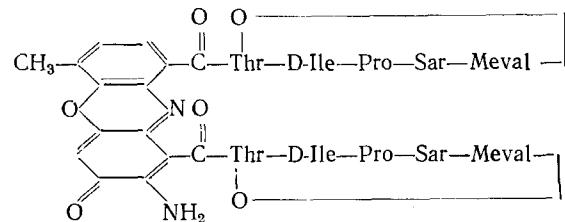
Полимикусин B
Аналоги



90—93

Ipel = изопеларгоновая кислота
Dab = диаминомасляная кислота

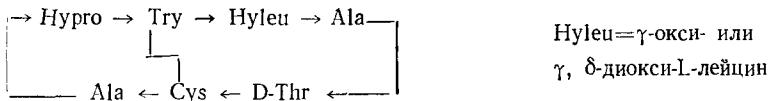
Актиномицин C₃



1960

94

Фаллоидин
частичный синтез



95, 96

ТАБЛИЦА 2

Синтетические аналоги, гомологи и производные окситоцина

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

* Меченный тритием.

Синтетические аналоги и производные вазопрессина

ТАБЛИЦА 3

Изменение в положении	Обозначение	Синтетические аналоги и производные вазопрессина										Ссылки на литературу
		1	2	3	4	5	6	7	8	9		
	Лизин-вазопрессин (ЛВ) Аргинин-вазопрессин (АВ)	H—Cys	Tyr	Phe	NH ₂ Glu	NH ₂ Asp	Cys	Pro	Lys (Arg)	Gly	NH ₂	
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 Гистидин ² -ЛВ		Phe His									116, 129 109
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 (Серин ² -изолейцин ³)-ЛВ (Серин ² -гистидин ³)-ЛВ (Гистидин ² -серин ³)-ЛВ		Phe Ser Ser His	Tyr Ile His Ser								116 109 109 109
8	Гистидин ⁸ -вазопрессин Цитруллин ⁸ -вазопрессин								His Cit			132 124
9	Саркозин ⁹ -ЛВ								Sar—NH ₂			134

Биологические активности ср. Буассона и др. 1961¹²⁸

ТАБЛИЦА 4

Синтетические аналоги брадикинина

Изменение в положении	Обозначение	1	2	3	4	5	6	7	8	9	Ссылки на литературу
	Брадикинин (Бр)	H—Arg—Pro—Pro—Gly—Phe—Ser—Pro—Phe—Arg—OH									
1	Lys-брадикинин=каллидин Cit ¹ -Бр	H—Lys—Arg									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 ³)-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, эледоизин 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 (Каояннисом с сотрудниками, Питсбург, США; Мейенхофером Шнабелем и Цаном, Аахен, ФРГ; Тсую, 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 Каояннисом 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).

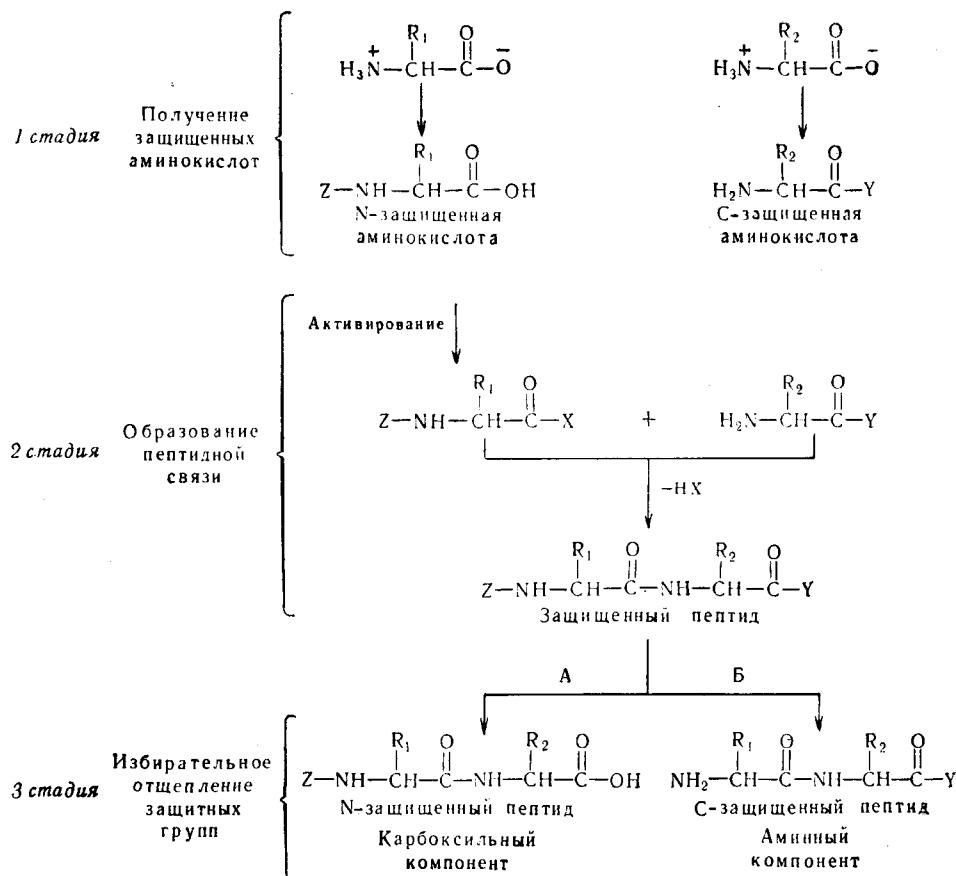


Схема 1. Общий путь синтеза пептидов

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 удается осуществить без применения аминокислот, содержащих селективно снимаемые защитные группы, например, из карбоксиангидридов; см. ¹⁵⁵.

ТАБЛИЦА 5

Синтетические аналоги, гомологи и производные ангиотензина I и II

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

ТАБЛИЦА 5 (продолжение)

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

	(Phe ⁸ —OMe)—Val ⁵ .All	$ \begin{array}{c} \text{NH}_2 \\ \\ \text{H—Asp} \\ \\ \text{NH}_2 \\ \\ \text{H—Asp} \\ \\ (\text{OH}) \\ \\ (\text{NH}_2) \\ \\ \text{H—Asp} \\ \\ \text{NH}_2 \\ \\ \text{H—Asp} \\ \\ \text{OH} \\ \\ \text{H—Asp} \\ \\ \text{OH} \\ \\ \text{H—Asp} \end{array} $				Val			Phe—OMe	—	—	147
	(Phe ⁸ —NH ₂)—Val ⁵ .All	$ \begin{array}{c} \text{NH}_2 \\ \\ \text{H—Asp} \\ \\ \text{NH}_2 \\ \\ \text{H—Asp} \\ \\ (\text{OH}) \\ \\ (\text{NH}_2) \\ \\ \text{H—Asp} \\ \\ \text{NH}_2 \\ \\ \text{H—Asp} \\ \\ \text{OH} \\ \\ \text{H—Asp} \end{array} $				Val			Phe—NH ₂	—	—	147
8	(p-Br-Phe ⁸)—Val ⁵ .All	$ \begin{array}{c} \text{NH}_2 \\ \\ \text{H—Asp} \\ \\ \text{NH}_2 \\ \\ \text{H—Asp} \\ \\ (\text{OH}) \\ \\ (\text{NH}_2) \\ \\ \text{H—Asp} \\ \\ \text{NH}_2 \\ \\ \text{H—Asp} \\ \\ \text{OH} \\ \\ \text{H—Asp} \end{array} $				Val			Br	—	—	150
	(des-Phe ⁸)—Val ⁵ .All	$ \begin{array}{c} \text{NH}_2 \\ \\ \text{H—Asp} \\ \\ \text{NH}_2 \\ \\ \text{H—Asp} \\ \\ \text{OH} \\ \\ \text{H—Asp} \end{array} $				Val			Pro—OH	—	—	146
	D-Phe ⁸ —Val ⁵ .All	$ \begin{array}{c} \text{OH} \\ \\ \text{H—Asp} \end{array} $				Val			Phe-D	His	Leu	24
	Ala ⁸ —Ile ⁵ .All	$ \begin{array}{c} \text{OH} \\ \\ \text{H—Asp} \\ \\ \text{H—Asp} \end{array} $				Ile			Ala	—	—	144
1+8	[(des-Asp ¹)—D-Phe ⁸]—Ile ⁵ .All	—				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 .All	$ \begin{array}{c} \text{OBZL} \\ \\ \text{Z—Asp} \\ \\ \text{NO}_2 \\ \\ \text{Arg} \end{array} $				Ile	$ \begin{array}{c} \text{BZL} \\ \\ \text{His} \end{array} $		Phe—OMe	—	—	153
9+10	(Pro ⁹ —Phe ¹⁰)—Val ⁵ .All	$ \begin{array}{c} (\text{OH}) \\ \\ (\text{NH}_2) \\ \\ \text{H—Asp} \end{array} $				Val			Pro	Phe		150
10	(Leu ¹⁰ —NH ₂)—Val ⁵ .All	$ \begin{array}{c} \text{NH}_2 \\ \\ \text{H—Asp} \end{array} $				Val			Leu—NH ₂			150

П р и м е ч а н и е: 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 аминокомпонент атакует C-атом карбонила¹⁵⁸, имеющий пониженную электронную плотность. При оценке пригодности метода активирования руководствуются пятью критериями:

1. *Отсутствие рацемизации* у α-С-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, энзиматическое расщепление пептида после удаления защитных групп^{18, 163, 169-171}, исследование продуктов полного гидролиза при помытии 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, 66, 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, карбодиимидный, 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

A. Защита амино-группы

Для обратимого блокирования амино-группы наиболее пригодными оказались четыре защитных группировки, а именно, карбобензоксигруппа¹⁷⁹, *p*-толуолсульфонильная (тозильная)¹⁸⁰, трифенилметильная (тритильная)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 амино-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
Карбобензокси O C ₆ H ₅ CH ₂ OCNHR (уретан)	Z	<p>1. Карбобензоксихлорид (по Шоттен — Бауману)</p> <p>2. Бензил-<i>p</i>-нитрофенилкарбонат *</p> <p>3. Бензиловый спирт + эфир изоцианжирной кислоты *</p>	<p>179, 184, 185</p> <p>186</p> <p>186</p>	<p>1. Каталитическое гидрирование</p> <p>2. Бромистый водород</p> <p>а) в лед. уксусной кислоте при 20° (10 мин. — 2 часа)</p> <p>б) в нитрометане</p> <p>в) в четыреххлористом углероде</p> <p>г) в диоксане</p> <p>д) в трифтормукусной кислоте</p> <p>е) жидкий HBr при —67°</p> <p>3. Натрий в жидким аммиаке</p> <p>4. Концентрированная соляная кислота при 37° или 60°</p> <p>5. Йодистый фосфорий + йодистый водород в ледяной уксусной кислоте</p> <p>6. Спиртовый раствор HCl</p> <p>7. <i>p</i>-Толуолсульфокислота в ледяной уксусной кислоте, бензole или толуоле</p> <p>8. Кипящая трифтормукусная кислота, 20—40 мин.</p> <p>9. Хлористый и бромистый водород в хлороформе</p> <p>10. Триэтилсилан + PdCl₂, 3 часа при 108°,</p>	<p>179, 187—189</p> <p>35, 190—194</p> <p>195</p> <p>196</p> <p>191, 197</p> <p>35, 36, 194</p> <p>198</p> <p>199</p> <p>58, 200</p> <p>201, 202</p> <p>203—205</p> <p>62</p> <p>206</p> <p>207, 208</p> <p>209</p>
<i>p</i> -Толуолсульфонильная p-CH ₃ C ₆ H ₄ SO ₂ NHR (сульфонамид)	Tos	Тозилхлорид	210	<p>1. Натрий в жидким аммиаке</p> <p>2. Йодистый фосфорий + йодистый водород</p> <p>3. Бромистый водород + фенол в ледяной уксусной кислоте</p>	<p>211</p> <p>180</p> <p>212</p>
Трифенилметильная (C ₆ H ₅) ₃ C—NHR (алкиламин)	TRI	<p>1. Аминокислота + +TRICl + Et₃NH</p> <p>2. Алкиловый эфир аминокислоты или пептида + +TRICl + Et₃N, затем омыление</p> <p>3. Бензиловый эфир аминокислоты + TRICl + Et₃N, затем частичное восстановление</p>	<p>213</p> <p>170, 181, 214, 215, 216, 217</p> <p>218</p>	<p>1. Каталитическое гидрирование</p> <p>2. Соляная кислота</p> <p>а) 1—2<i>N</i> в спирте или ацетоне, 1 мин. при 100° или продолжительнее при 20°</p> <p>б) 0,2<i>N</i> в ледяной уксусной кислоте, 5 мин. при 50° или 100°</p> <p>3. Разбавленная уксусная кислота</p> <p>а) 50%, 2 мин. при 100°</p> <p>б) 75%, 30 мин. при 30°</p>	<p>213</p> <p>213, 215, 219</p> <p>43, 215</p> <p>213, 214 217</p>

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 O (CH ₃) ₃ C—O—C—NHR (уретан)	ВОС	1. трет.-Бутил- <i>p</i> -нитрофенилкарбонат 2. трет.-Бутилокси-карбонилазид 3. трет.-Бутанол + + эфир изоциан-жирной кислоты	183, 217 220, 221 182, 183, 194	1. Трифтормукусная кислота (безводная), 1 час при 25° 2. Соляная кислота a) 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 дикетопиразин; в других случаях достаточно одной капли ледяной уксусной кислоты. В случае цистин- и цистеинсодержащих пептидов гидрогенолиз не применим²⁰⁰. Ацидолиз проводят обычно бромистым водородом в ледяной уксусной кислоте^{190—193} (1, 2). 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.

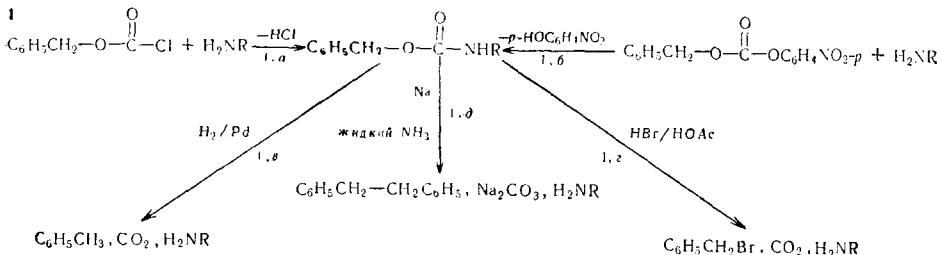
Отщепление натрием в жидким аммиаке^{199, 230} (1, 0) проводят при температуре кипения (—33,4°), медленно добавляя небольшие количества натрия, причем конец реакции определяют по исчезающей в течение 5 минут синей окраске. Аммиак удаляют лиофильной сушкой (водоструйный насос) и получают продукт реакции 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

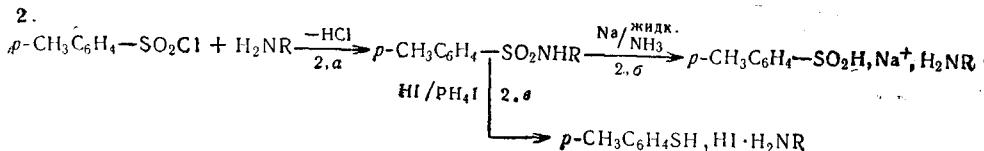
Пептид содержит	Побочная реакция	Устранение побочной реакции	Ссылки на литературу
Серин Триптофан Метионин	O-Ацетилирование Расщепление S-Бензилирование	HBr в трифтормукусной кислоте Добавление диэтилфосфита Добавление метилэтансульфата; HBr в трифтормукусной кислоте	35, 36, 194 35, 170 35, 195
Нитроаргинин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

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



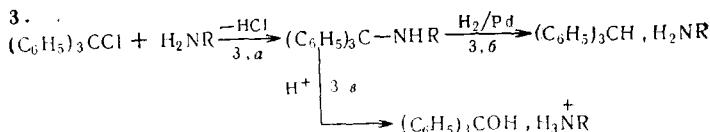
R=остаток аминокислоты или пептида

б. *p*-Толуолсульфонильную группу¹⁸⁰ обычно отщепляют восстановлением натрием в жидком аммиаке²¹¹, что сопровождается образованием сульфиновой кислоты²³⁵ (расходуется 2 экв. $\text{Na}^{13, 211}$) (2, б). Для α -тозиламинокислот самым подходящим методом создания пептидной связи является карбодимидный 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 тозилированными заместителями в радикале, как например, N_{ϵ} -тозиллизин²⁴⁰ или N_g -тозиларгинин^{38, 241} [см. пример (II)].



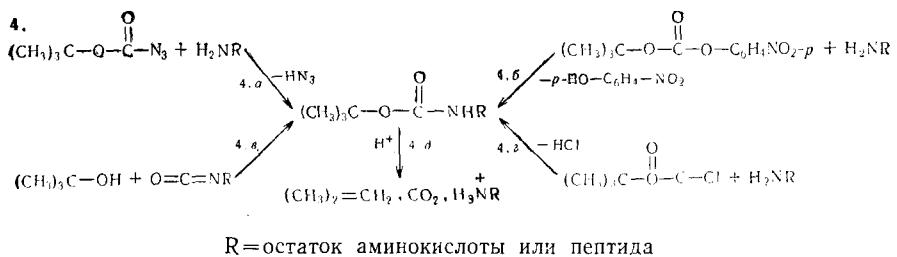
R=остаток аминокислоты или пептида

в. Трифенилметильная группа 181, 214, 216 хорошо себя оправдала благодаря легкой отщепляемости разбавленными кислотами (3, в) или катализитическим 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 тритильные группы в боковой цепи, никаких стерических затруднений не наблюдается^{170, 213, 218, 242}. Окситоцин был синтезирован с применением для защиты амино- и меркапто-групп только тритильной группировке⁸.



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 уверенно, но все же успешнее, чем с применением неустойчивого трет.-бутилоксикарбонилхлорида^{183, 243} (4, г), 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).



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*-толуолсульфоксилоту (см. табл. 8). Пептиды этиерифицируются^{270, 271} легче, и реакция с бензиловым спиртом и HCl²⁹¹ иногда протекает количественно. *Бензиловые и p-нитробензиловые эфиры* способны расщепляться при катализитическом 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 ацидозе частично разлагаются.

в. *Трет.-бутиловые эфиры* расщепляются в очень мягких условиях кислотного катализа²⁹³, например, трифтормуксусной кислотой при 20° в течение нескольких минут^{49, 50}. Они достаточно устойчивы к омылению щелочью, что дает возможность избирательного гидролиза или гидразинолиза присутствующих одновременно с ними метиловых, этиловых^{49, 50} или бензиловых эфиров²⁹⁴. Трет.-бутиловые эфиры получают действием изобутилена под давлением в присутствии серной кислоты или переэтерификацией 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 С-концевой амидной группой (окситоцин, вазопрессин, α -МСГ и эледоизин) 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+дициклогексилкарбодиимид+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 а.с. спирте)	247,255 72,264 265 266—268
Бензиловый эфир	OBzL	1. Бензиловый спирт+кислота, азето-тропная перегонка: a) Бензолсульфокислота/бензол b) 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 жидким 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_2SO_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 а) Карбобензоксигидразид б) Трет.-бутилоксикарбонилгидразид в) Тритильтгидразид	—N ₂ H ₂ —Z —N ₂ H ₂ —BOC —N ₂ H ₂ —TRJ	Общие методы образования пептидной связи при помощи: карбобензоксигидразина * трет.-бутилкарбазата * тритильтгидразина *	287 26, 88 288, 289	См. отщепление N-защитных групп, табл. 6	
Амид	—NH ₂	1. Аминолиз эфиров 2. Общие методы образования пептидной связи + аминак	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 цистein, является введение S-бензильной группы^{119, 296, 297}, легко отщепляемой натрием в жидком амиаке¹⁹⁹. S-Тритильтгидразина²⁹⁸ 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					
	катализитическое гидрирование H ₂ /Pd	восстановление Na NH ₃ жидк.	Ацидолиз			Омыление NaOH
			HBr	лед. HOAc	CF ₃ COOH	
N-защитные группы: N-Карбобензокси N-p-Толуолсульфонил N-Трифенилметил N-Трет.-бутилоксикарбонил	+	+	+	—	—	—
C-защитные группы: Метиловый и этиловый эфиры Бензиловый эфир p-Нитробензиловый эфир Трет.-бутиловый эфир Амид	—	×	—	—	—	+
Другие защитные группы: S-Бензильная группа O-Бензиловый 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}-тритил-^{214, 215} или N_{im}-карбобензоксипроизводные гистидина^{307, 308}, О-бензилсерин^{197, 308, 309} и О-бензил-³¹⁰, О-третиил-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.

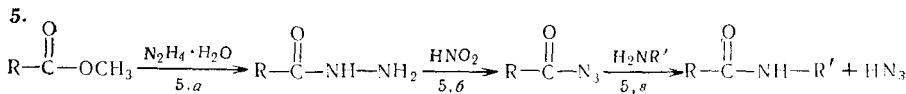
IV. РАЦИОНАЛЬНЫЕ МЕТОДЫ ОБРАЗОВАНИЯ ПЕПТИДНОЙ СВЯЗИ

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, a).

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

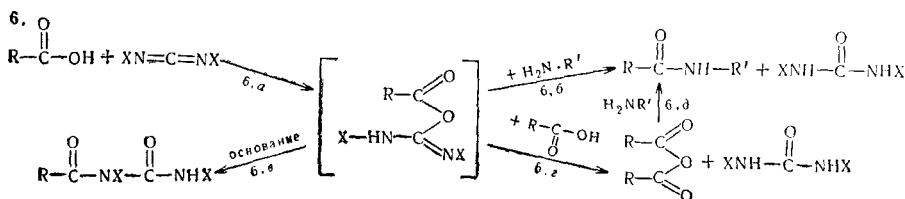


R=N-защищенный остаток аминокислоты или пептида R'=С-защищенный остаток аминокислоты или пептида

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 уреаны^{325, 326}, образование бисгидразидов^{290, 303, 327}, нитрование бензольного ядра тирозина³²⁸, разложение азидов а-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. *Карбодиимиидный метод*³²⁹ был впервые использован для синтеза пептидов Шиханом и Гессом^{330, 331}. Применяют почти исключительно дициклогексилкарбодиимид (ДСС). Поледний прибавляют к охлажденному до 0°¹⁶⁷ максимально концентрированному³³² раствору карбоксильного и аминного компонентов (б, а, б), применяя в качестве растворителя тетрагидрофуран, ацетонитрил, дихлорметан, этилацетат, диметилформамид или диоксан. Можно пользоваться и водусодержащими 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 б, а, б³³², 333 или б, а, г, д^{334, 335}).



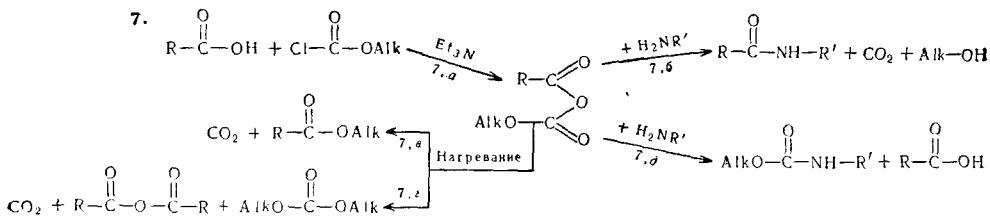
$\text{R} = \text{N-зашieldенный остаток аминокислоты или пептида}$
 $\text{R}' = \text{C-зашieldенный остаток аминокислоты или пептида}$
 $\text{X} = \text{циклогексил (или другие радикалы)}$

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, б)^{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 трудно растворимая 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, a) 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 С-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 С-концевым пролином или глицином. Опасность рацемизации в тетрагидрофуране наименьшая. *Побочная реакция* образования уретанов (7, *δ*) 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-ациламида³⁵⁷. *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 дициклогексилкарбодимида*. 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'=С-защищенный остаток аминокислоты или пептида

R'=свободный или С-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.

ТАБЛИЦА 10

p-Нитрофениловые эфиры замещенных *L*-аминокислот

Замещенная аминокислота	Сокращенное обозначение эфира	Т. пл., °C	Оптическ. враш. (α) _D		Растворитель и концентрация	Ссылки на литературу
			(α°)	T° C		
Карбобензокси- <i>L</i> -аланин	Z-Ala-ONP	79—79,5	—38,0	25	1,4, Этилацетат	372
Карбобензокси-β-циан- <i>L</i> -аланин	$\begin{array}{c} \text{CN} \text{ (3)} \\ \\ \text{Z-Ala-ONP} \end{array}$	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
Трикарбобензокси- <i>L</i> -аргинин	$\begin{array}{c} (Z)_2 \\ \\ \text{Z-Arg-ONP} \end{array}$	126—127				142
<i>N</i> _α -Карбобензокси- <i>N</i> _g -тозил- <i>L</i> -аргинин	$\begin{array}{c} \text{Tos} \\ \\ \text{Z-Arg-ONP} \\ \text{NH}_2 \end{array}$	50—60	—13,5	23	1,2, ДМФ	27
Карбобензокси- <i>L</i> -аспаргин	$\begin{array}{c} \text{Z-Asp-ONP} \\ \text{OBZL} \end{array}$	165—166	—31,5	20	2, ДМФ	4
<i>N</i> -Карбобензокси-β- <i>O</i> -бензил- <i>L</i> -аспарагиновая кислота	$\begin{array}{c} \text{Z-Asp-ONP} \\ \text{Z-Cit-ONP} \end{array}$	76	—16,6	22	1, ДМФ	24
<i>N</i> _α -Карбобензокси- <i>L</i> -цитруллин	$\begin{array}{c} \text{Z-Cit-ONP} \\ \text{BZL} \end{array}$	163—165	—19	20	1, ДМФ	124
<i>N</i> -Карбобензокси- <i>S</i> -бензил- <i>L</i> -цистеин	$\begin{array}{c} \text{Z-Cys-ONP} \\ \text{NBZL} \end{array}$	93—94	—43	20	2, ДМФ	4, 360, 364, 372
<i>N</i> -Карбобензокси- <i>S</i> - <i>p</i> -нитробензил- <i>L</i> -цистеин	$\begin{array}{c} \text{Z-Cys-ONP} \\ \text{NH}_2 \end{array}$	105—107	—39,8	28	1,03, ДМФ	73
Карбобензокси- <i>L</i> -глутамин	$\begin{array}{c} \text{Z-Glu-ONP} \\ \text{OBZL} \end{array}$	155—156	—24	20	2, ДМФ	4
Карбобензокси-γ- <i>O</i> -бензил- <i>L</i> -глутаминовая кислота	$\begin{array}{c} \text{Z-Glu-ONP} \\ \text{OMe} \end{array}$	111	—20,4	25	3,2, Этилацетат	372
Карбобензокси-γ- <i>O</i> -метил- <i>L</i> -глутаминовая кислота	$\begin{array}{c} \text{Z-Glu-ONP} \\ \text{ONP} \end{array}$	108	—33,8	25,5	2, ДМФ	375, 376
Карбобензокси-α- <i>O</i> -бензил- <i>L</i> -глутаминовая кислота	$\begin{array}{c} \text{Z-Glu-BZL} \\ \text{ONP} \end{array}$	66—67	—28,2	22	0,55, EtOH	376
Карбобензокси-α- <i>S</i> -этил- <i>L</i> -глутаминовая кислота	$\begin{array}{c} \text{Z-Glu-SEt} \\ \text{ONP} \end{array}$	98—99	—22,4	25	1,02, 95% HOAc	377
Карбобензоксиглицин	Z-Gly-ONP	124—125				364
Дикарбобензокси- <i>L</i> -гистидин	$\begin{array}{c} \text{Z-His-ONP} \\ \text{Z} \end{array}$	109—110				378
Карбобензокси- <i>S</i> -бензил- <i>L</i> -гомоцистеин	$\begin{array}{c} \text{Z-гомо-Cys-ONP} \\ \text{BZL} \end{array}$	74,5—75,5	—35,8	20,5	1,23, MeOH	103
Карбобензокси- <i>L</i> -изолейцин	Z-Ile-ONP	60—62	—15,5	20	2, ДМФ	4
Карбобензокси- <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., °C	Оптическ. вращ. $(\alpha)_D$		Растворитель и концентрация	Ссылки на литературу
			$(\alpha)^\circ$	$T^\circ C$		
N_α -Карбобензокси- N_ϵ -тозил-L-лизин	Tos Z-Lys-ONP	109—110	-16,5	20	2, ДМФ	14
N_α -Карбобензокси- N_ϵ -трет.-бутилоксикарбонил-L-лизин	BOC Z-Lys-ONP	88—91	-14,8	26	1, 13, Ацетон	217
Дикарбобензокси-L-лизин	Z	63	-19	21	1, ДМФ	30
Карбобензокси-L-фенилаланин	Z-Phe-ONP	126—126,5	-24,7	20	2, ДМФ	107, 372
Карбобензокси-L-пролин	Z-Pro-ONP	94—96	-68	20	2, ДМФ	4, 372
Карбобензокси-O-бензил-L-серин	BZL Z-Ser-ONP	55—57	-12	20	2, ДМФ	124
Карбобензокси-L-триптофан	Z-Try-ONP	103—105	-4,3	25	2, ДМФ	378
N -Карбобензокси-L-тиронин	Z-Tyr-ONP	158—159	-16,3 -8,1	27	1, Ацетон 1, Ацетон	379 365
N -Карбобензокси-O-бензил-L-тироzin	BZL Z-Tyr-ONP	148—150	-9	20	2, ДМФ	4
N , O -Дикарбобензокси-L-тироzin	Z	135—137	-10,5	26	2, Ацетон	365
Карбобензокси-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 дикетопиразины 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 критерииев приведены в табл. 11.

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

ТАБЛИЦА 11

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 аминов, изоцианатов (расщепление по Курциусу), мочевины, уретанов, бис-гидразидов, нитрование, окисление тиоэфира, разложение азида тозиламинокислоты	<i>N</i> -Ацилмочевина, образование нитрилов из аминов	Разложение ангидрида при температуре выше +5°. Взаимодействие аминокомпонента с остатком вспомогательной кислоты; образование <i>N</i> -ациламидов (глицина)	Отсутствуют (в случае нитрофениловых эфиров <i>Z</i> -аминокислот)
Обработка	Выделяется газообразная NH_3 .	Трудно растворимая дициклогексилмочевина выкристаллизовывается. Плохо растворимые пептиды экстрагируются кипящим метанолом	Выделяется газообразная CO_2 и летучий этанол (изобутанол)	Для удаления нитрофенола промывают пептид бикарбонатом или аммиаком; пересаживают 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 С-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 карбобензокси-группа, так как при этом опасность рацемизации минимальна. Азидный метод и методы смешанных ангидридов и нитрофениловых эфиров дают возможность вводить аминокомпоненты со свободной карбоксильной группой. Рацемизации не наблюдается только при азидном методе и поэтому он очень ценен для получения оптически чистых высших пептидов. Большини недостатками этого метода являются низкие выходы и трудность в выборе растворителя. Удлинение пептидной цепи методом нитрофени-

ТАБЛИЦА 12

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.

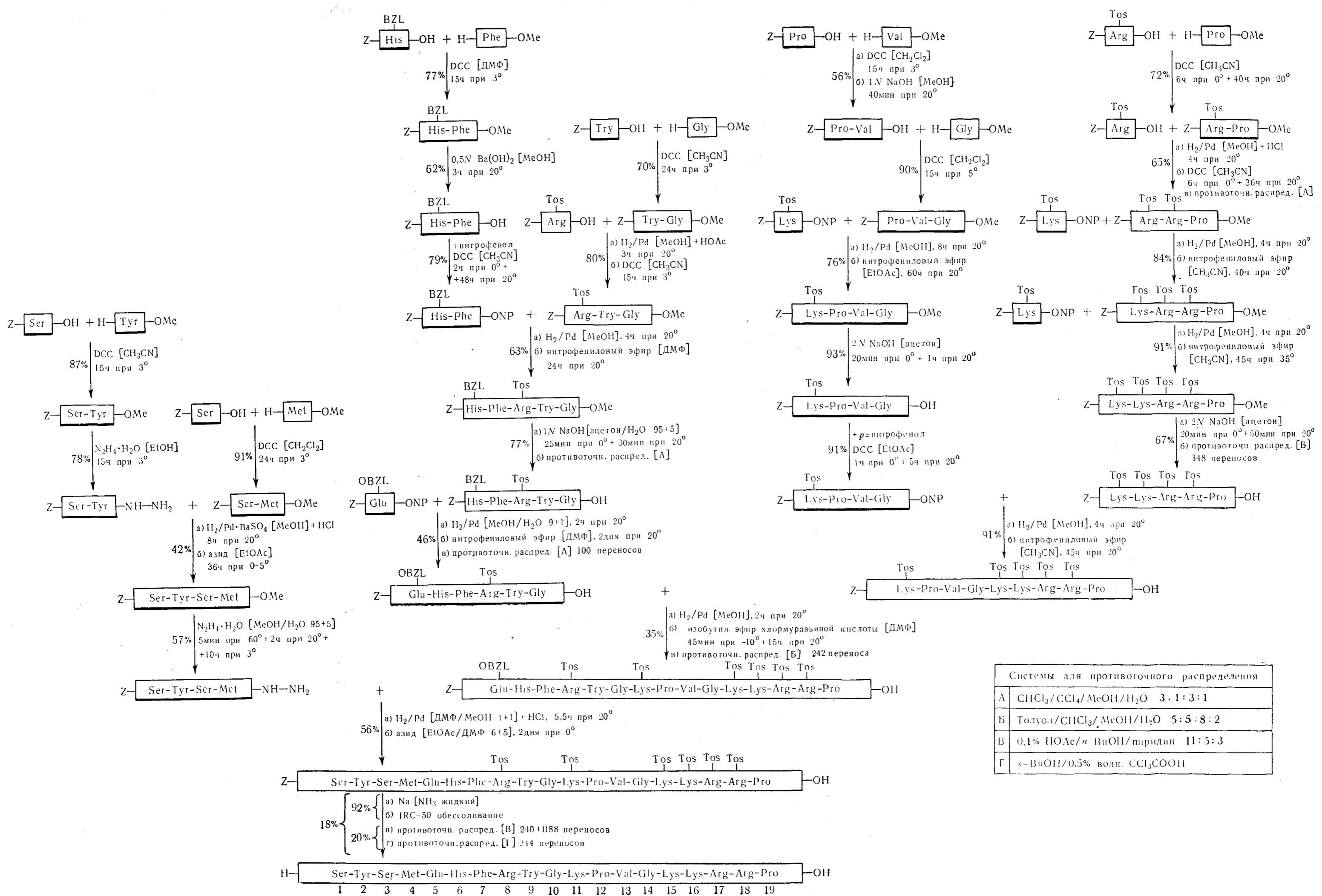
V. ПРИМЕРЫ СИНТЕЗА ПЕПТИДОВ

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 карбобензокси-группой. 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 АКТГ ^{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



Системы для противоточного распределения	
А	CHCl ₃ /CCl ₄ /MeOH/H ₂ O 3:1:3:1
Б	Толуол/CHCl ₃ /MeOH/H ₂ O 5:5:8:2
В	0,1% HOAc/n-БиОН/пиридин 11:5:3
Г	s-БиОН/0,5% водн. CCl ₄ COOH

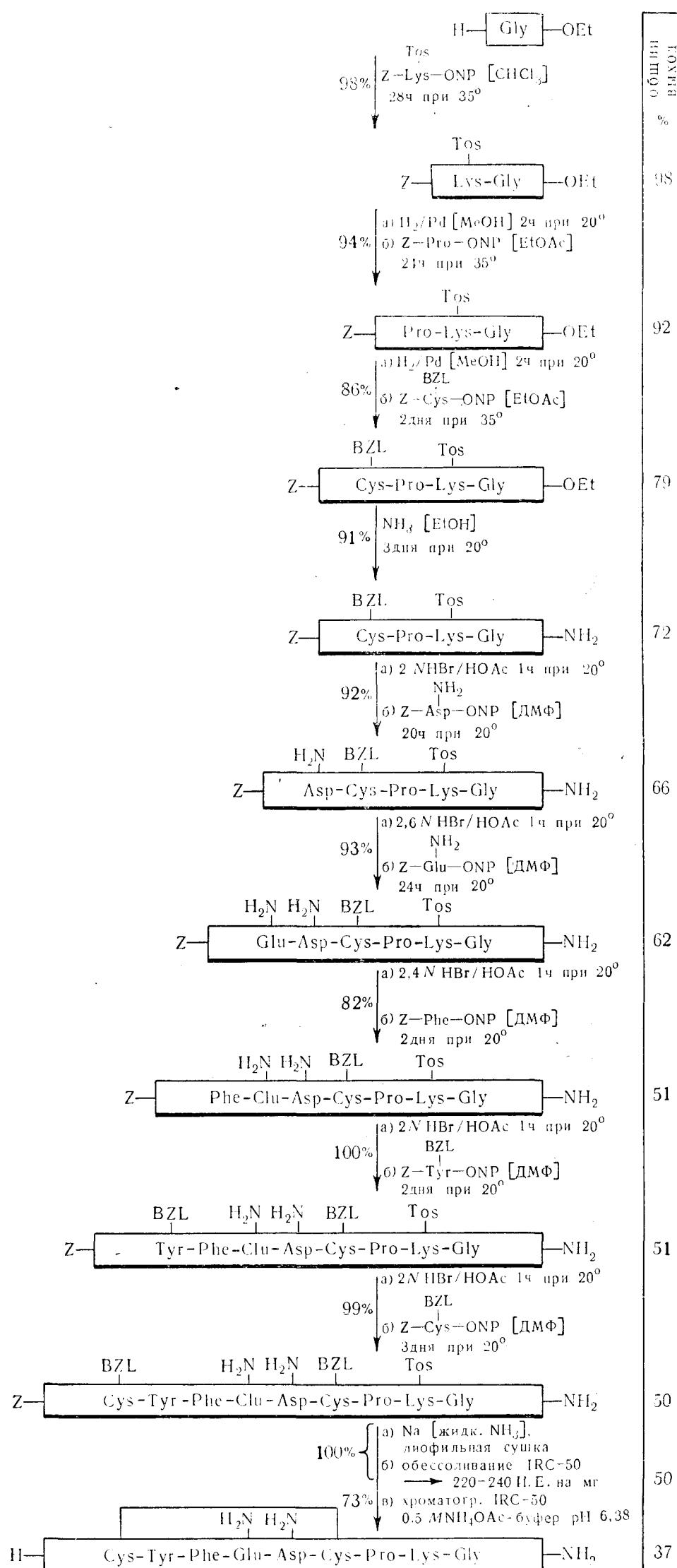


Схема 2. Лизин — вазопрессин 14

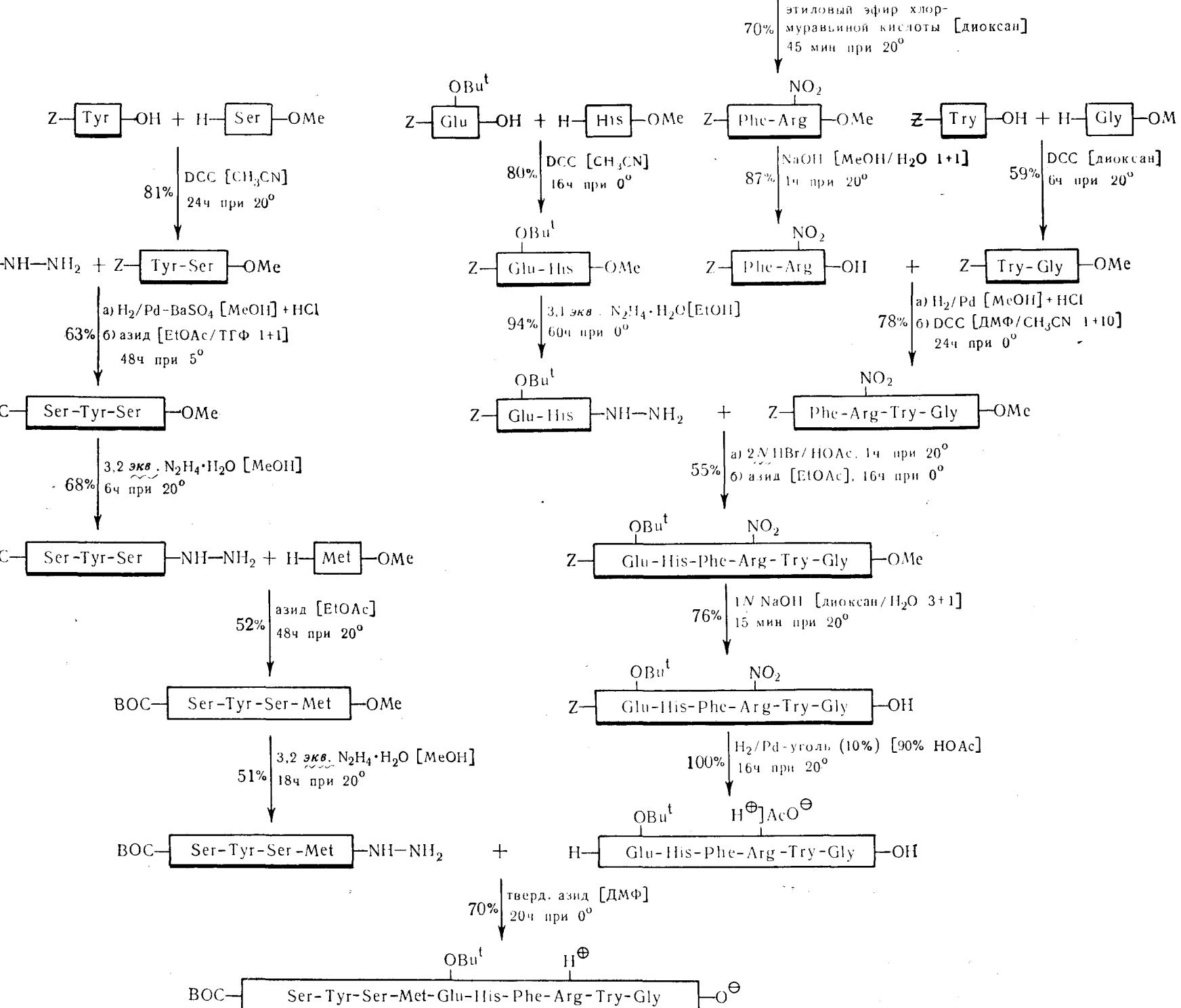


Схема 4. АКТГ; фрагмент I-10
После отщепления защитных групп CF₃COOH (5 мин. при 20°)— кристаллический декапептид (т. пл. 210°), однородный при электрофорезе на бумаге и по аминокислотному анализу; полностью расщепляется ЛАП.

были использованы карбобензокси-группа для α -амино-групп, тозильная защита — для ϵ -амино-группы 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 карбобензокси-группы, выбранной для защиты α -амино-групп, нитро-группы — 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. Guttmann, P.-A. Jaquenoud, J. P. Waller, Helv. Chim. Acta, **38**, 1491 (1955).
6. M. Bodanszky, M. Szelke, E. Tömörkény, E. Weisz, Неопубликованные данные, ср. L. Gyurmek, G. Fekete, Experientia, **11**, 238 (1955).
7. J. Rüdinger, J. Honzík, 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. Jöhrl, 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. Huguennin, Helv. Chim. Acta, **43**, 182 (1960).
16. W. Rittel, B. Iselin, H. Kappeler, B. Riniker, B. Schwyzerg, Там же, **40**, 614 (1957).
17. R. Schwyzerg, B. Iselin, H. Kappeler, B. Riniker, W. Rittel, H. Zuber, Там же, **41**, 1287 (1958).
18. B. Riniker, R. Schwyzerg, Там же, **44**, 658 (1961).
19. H. Schwarz, F. M. Bumpus, I. H. Page, J. Am. Chem. Soc., **79**, 5697 (1957); ср. также²⁶⁵.
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. Guttmann, *Helv. Chim. Acta*, **44**, 721 (1961).
25. L. T. Skeggs мл., K. E. Lenz, J. R. Kahn, N. P. Shumway, *J. Exper. Med.*, **108**, 283 (1958).
26. R. A. Boissonnas, S. Guttmann, P.-A. Jaquenoud, *Helv. Chim. Acta*, **43**, 1349 (1960).
27. S. Guttmann, 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. Guttmann, 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. Guttmann, R. A. Boissonnas, *Helv. Chim. Acta*, **42**, 1257 (1959).
36. S. Guttmann, 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. Guttmann, J.-P. Waller, P.-A. Jaquenoud, *Experientia*, **12**, 446 (1956).
45. R. A. Boissonnas, S. Guttmann, 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. Medzihradzky 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. Tritsch, D. W. Woolley, *J. Am. Chem. Soc.*, **82**, 2787 (1960).
62. K. Okawa, *Bull. Chem. Soc. Jap.*, **31**, 88 (1958).
63. J. A. Maclare, W. E. Savage, 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. Gillessen, 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. Rüdinger, F. Šorm, *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. Guttmann, R. A. Boissonnas, *Chimia*, **15**, 575 (1961).
105. S. Guttmann, 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. Guttmann, 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. Guttmann, P.-A. Jaquenoud, J.-P. Waller, *Там же*, **39**, 1421 (1956).
114. P. G. Katsoyannis, *J. Am. Chem. Soc.*, **79**, 109 (1957).
115. J. Rüdinger, J. Honzík, M. Zaoral, *Chem. Listy*, **50**, 825 (1956); *Coll. Czech. Chem. Comm.*, **21**, 770 (1956).
116. R. A. Boissonnas, S. Guttmann, *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. Romanas, V. du Vigneaud, *J. Med. Pharmaceut. Chem.*, **5**, 413 (1962).
126. R. A. Boissonnas, S. Guttmann, 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. Guttmann, P.-A. Jaquenoud, H. Konzett, E. Stürmer, Experientia, **16**, 326 (1960).
 139. S. Guttmann, R. A. Boissonnas, Helv. Chim. Acta, **44**, 1713 (1961).
 140. R. A. Boissonnas, S. Guttmann, P.-A. Jaquenoud, Там же, **43**, 1481 (1960).
 141. R. Schwyzер, 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. Schwyzер, 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. Schwyzер и др., Angew. Chem., **74**, 469 (1962); Circulation, **25**, 175 (1962).
 146. B. Riniker, R. Schwyzер, Helv. Chim. Acta, **44**, 685 (1961).
 147. B. Riniker, R. Schwyzер, Там же, **44**, 674 (1961).
 148. D. Theodoropoulos, Nature, **194**, 283 (1962).
 149. D. Theodoropoulos, J. Gazopoulos, J. Chem. Soc., **1960**, 3861.
 150. R. Schwyzер, Helv. Chim. Acta, **44**, 667 (1961).
 151. R. Schwyzер, 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. Schwyzер, 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. Schmidhammer, W. König, Angew. Chem., **75**, 282 (1963).
 169. K. Hofmann, Ann. N. Y. Acad. Sci., **88**, 689 (1960).
 170. R. A. Boissonnas, S. Guttmann, 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, срп. 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. B. A. 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. Helferich, 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. также²⁹¹.
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. Guttmann, 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. Fahnentrich, *Ann.*, **663**, 184 (1963); W. Haas, Диссертация.. Аахен, 1960.
199. R. H. Sifford, 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. Barkdull, 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. Birkofe, 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**, 1, 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. Schwyz, 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. Schwyz, P. Sieber, H. Kappeler, *Helv. Chim. Acta*, **42**, 2622 (1959).
221. L. A. Carpi, *J. Am. Chem. Soc.*, **79**, 98, 4427 (1957); **81**, 955 (1959); **82**, 2725 (1960).
222. B. Iselin, R. Schwyz, *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. Schwyz, 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. Waelisch, *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. Syngle, *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. Brydonna, *Ber.*, **70**, 1333 (1937).
 259. H. Hörmann, W. Crassmann, E. Wünsch, H. Preller, *Ber.*, **89**, 933 (1956).
 260. B. Iselin, R. Schwyzер, *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. Cipera, 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. Cipera, E. T. Schwartz, *Там же*, **82**, 3721 (1960).
 283. R. Schwyzер, 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. Schwyzер, H. Dietrich, *Helv. Chim. Acta*, **44**, 2003 (1961).
 295. W. Klee, M. Brenner, *Там же*, **44**, 2151 (1961).
 296. V. du Vigneaud, L. F. Audrieth, 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. Rink, *Ztschr. physiol. Chem.*, **224**, 40 (1934).
314. K. Hofmann, W. D. Peckham, A. Reiner, *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. Ruding, *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. Nyman, 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. Böshagen, *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. Tömörkény, 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. Lübbe, 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. Р. Hargitay, A. Hubert (подготовлено к печати); A. Hubert, Диссертация. Лютих, 1958/59.
381. M. Bodanszky, C. A. Birkhimer, Chimia, **14**, 368 (1960).
382. S. Guttmann, 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. Wünsch, Fortschritte der Chemie organischer Naturstoffe, Springer — Verlag, Wien, 1956, Bd. 13, S. 444 (480 ссылок на литературу).
388. H. Springall, Quart. Rew., **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. Klottermeyer, D. Brandenburg, T. Okuda, H. Zahn, Naturforsch., **186**, 1120 (1963).
395. P. G. Katsoyannis, K. Fukuda, A. Tometsko, K. Suzuki, M. Tilak, J. Am. Chem. Soc., **86**, 930 (1964).