

УДК 547.466 : 1.547.26.117.07:547.43

**МЕТОДЫ СИНТЕЗА И СВОЙСТВА
 β -ДИМЕТИЛАМИНОЭТИЛОВЫХ И ХОЛИНОВЫХ ЭФИРОВ
 АМИНОКИСЛОТ И ПЕПТИДОВ**

Мнджоян О. Л., Топузян В. О.

Обобщены литературные данные по синтезу β -диметиламиноэтиловых и холиновых эфиров аминокислот и пептидов. Рассмотрены применяемые N-защитные группы и методы их удаления, а также физико-химические и биологические свойства указанных соединений.

Библиография — 69 ссылок.

ОГЛАВЛЕНИЕ

I. Введение	2198
II. Защитные группы	2198
III. Методы синтеза	2200
IV. Физико-химические свойства	2207
V. Биологические свойства	2209

I. ВВЕДЕНИЕ

Холиновые эфиры аминокислот и пептидов имеют сравнительно небольшую историю. По структуре они напоминают ацетилхолин (АХ), в связи с чем вызывают в последние годы большой интерес с точки зрения их синтеза и биологической активности. За сравнительно короткий срок исследования как активных холиномиметиков, выделенных из растительного и животного сырья [1—4], так и полученных синтетическим путем холиновых эфиров аминокислот и пептидов приняли довольно широкий размах. Имеются также работы [5—7], где диалкиламиноалкиловые эфиры использовались как С-защитные группировки для пептидного синтеза.

Данный обзор посвящен рассмотрению методов синтеза β -диметиламиноэтиловых и холиновых эфиров аминокислот и пептидов, а также их физико-химических и биологических свойств. При разработке методов синтеза диалкиламиноалкиловых эфиров аминокислот и пептидов применяются основные положения, существующие в химии пептидов, согласно которым проводится выбор соответствующих защитных групп, способов синтеза эфира, удаления защиты и выделения конечного продукта.

II. ЗАЩИТНЫЕ ГРУППЫ

В пептидном синтезе одной из основных задач является защита аминогруппы аминокислоты или пептида. Этот вопрос со всей строгостью остается и при синтезе холиновых и β -диалкиламиноалкиловых эфиров аминокислот и пептидов.

Большинство исследователей [5, 8—14] при синтезе указанных эфиров в качестве N-защитной группы применяли бензилоксикарбонильную (Z) группу¹, удаление которой после синтеза аминоэфиров осуществля-

¹ Кроме стандартных сокращений, рекомендуемых комиссией по биохимической номенклатуре IUPAC — IUB, в работе приняты следующие сокращения: Ава — аминобензойная кислота, ϵ -Ака — ϵ -аминокапроновая кислота, γ -А- β -Оби — γ -амино- β -оксимасляная кислота, ω -Ава — ω -аминовалериановая кислота.

ли действием бромистого водорода в ледяной уксусной кислоте [5, 8—13], катализитическим гидрогенолизом над Pd [5]; из холиновых эфиров некоторых Z-аминокислот эти группы удаляли трехиодистым фосфонием [15] или гидрогенолизом над PtO₂ [16—19]. При этом, как отмечают авторы [16], происходит частичное расщепление сложноэфирной связи.

трет-Бутилоксикарбонильная (Boc) группа [6, 9, 10, 12, 20] из β-диметиламиноэтиловых эфиров N-защищенных аминокислот удалялась пропусканием сухого газообразного хлористого водорода через эфирный раствор β-диметиламиноэтилового эфира Boc-аминокислоты [6], а также действием трифторуксусной кислоты [9, 12]. Из холинового эфира Boc-ε-аминокапроновой кислоты [20] защитную группу удаляли разбавленным раствором бромистого водорода в уксусной кислоте (10 мин, 20°С), или 48%-ным раствором бромистого водорода (2 мин, 0°С) и 0,1 N раствором хлористого водорода в муравьиной кислоте (10 мин, 20°С).

Трифенилметильную (Trit) группу тоже успешно применяли при синтезе холинового эфира глутаминовой кислоты; она удалялась действием хлористого водорода [21] или уксусной кислоты [22, 23].

Исследована возможность применения *n*-толуолсульфонильной (Tos) и фтаильной (Pht) защитных групп [11]. Установлено, что гидразинолиз или кислотный гидролиз в различных условиях для Pht-группы и восстановление натрием в жидким аммиаке для Tos-группы приводят к частичному расщеплению сложноэфирной связи. По данным авторов работы [11], эти защитные группы, в противоположность группам Z и Boc, менее пригодны для синтеза диалкиламиноалкиловых эфиров аминокислот со свободной аминогруппой. При синтезе гидрохлоридов β-диметиламиноэтилового и холинового эфиров глицина в качестве N-защитной группы в [24] применена *o*-нитрофенилсульфенильная (Nps) группа, удаление которой осуществлено действием хлористого водорода.

Большинство авторов, применявших для синтеза β-диметиламиноэтиловых или холиновых эфиров аминокислот хлорангидридный метод, аминогруппу защищали протонированием [15, 25, 26]. Уникальной в этом отношении является работа [27], авторы которой применяли хлорангидриды α -азидокислот (см. ниже стр. 2201). После синтеза холиновых эфиров азидную группу превращали в аминогруппу восстановлением над Pd/C в присутствии хлористого водорода.

В работе [28] при синтезе холиновых эфиров некоторых аминокислот применена дансильная (Dns) группа. Авторы работ [8, 9] при синтезе холиновых эфиров аминокислот и пептидов кроме защиты аминогруппы осуществляли защиту и других функциональных групп: гидроксильную группу тирозина защищали бензилированием, гуанидиновую группу аргинина — нитрованием, β- и γ-карбоксильные группы аспарагиновой и глутаминовой кислот — бензилированием. В работе [9] защита β-карбоксильной группы аспарагиновой кислоты осуществлена трет-бутилированием. В [6] применяли бензильную группу при защите имидазольного кольца гистидина и гидроксильной группы серина.

В табл. 1 на примере глицина приведены данные о применении и условия удаления различных N-защитных групп при синтезе β-диметиламиноэтиловых и холиновых эфиров разными методами. Видно, что наилучшими N-защитными группами, которые можно применять при синтезе аминоэфиров аминокислот и пептидов, являются Z-, Boc- и Nps-группы: при их удалении конечный продукт получается с хорошими выходами.

ТАБЛИЦА 1

Условия удаления N-защитных групп из β -диметиламиноэтилового и холинового эфиров N-защищенного глицина R-Gly-OCH₂CH₂X

Условия удаления N-защиты		Выход, %	Ссылки
X=NMe ₂	X=NMe ₂ ·Hal		
Вос-группа			
F ₃ C—COOH; $t_{комп}$, 1 ч	—	94,4	[12]
Z-группа			
HBr/AcOH	—	100	[5]
H ₂ /Pd	—	—	[5]
34% -ный HBr/AcOH; $t_{комп}$, 2 ч	—	64,9	[12]
насыщ. раствор HBr/AcOH	—	90	[10]
28% -ный HBr/AcOH; $t_{комп}$, 40 мин	—	65	[13]
—	25% -ный HBr/AcOH; $t_{комп}$, 30–60 мин	—	[8]
—	28% -ный HBr/AcOH; $t_{комп}$	73	[13]
Nps-группа			
метанольный раствор HCl	—	89,5	[24]
—	метанольный раствор HCl	81,5	[24]
Pht-группа			
1 M раствор N ₂ H ₄ в метаноле; кипячение 1 час	—	*	[11]
N ₂ H ₄ (1 : 1); 50°C, 1 ч	—	*	[11]
N ₂ H ₄ (1 : 2,2); кипячение 1 ч	—	0	[11]
5 N раствор HCl; водяная баня, 4 ч	—	*	[11]
5 N раствор HCl; кипячение 2 ч	—	*	[11]
Tos-группа			
Na/NH ₃	—	—	[11]

* Смесь продуктов расщепления сложноэфирной связи и N-защиты, β -диметиламиноэтилового эфира N-защищенного глицина.

III. МЕТОДЫ СИНТЕЗА

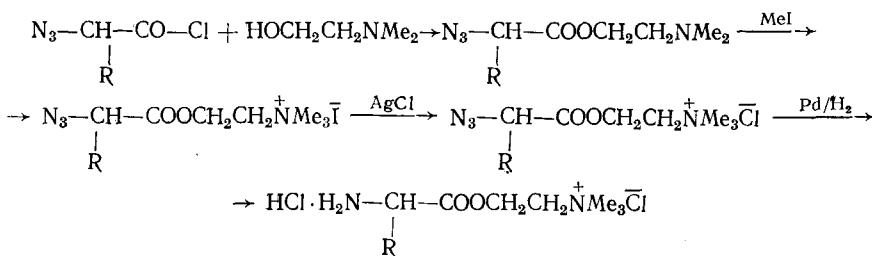
1. Хлорангидридный метод

Применение хлорангидридного метода свойственно в основном ранним работам по синтезу холиновых эфиров аминокислот и пептидов. Взаимодействием гидрохлорида хлорангидрида аминокислоты или пептида при нагревании с холином получены гидрохлориды холиновых эфиров глицина [15, 25], глицилглицина [15], метионина [26].

Хлорангидриды N-защищенных аминокислот применялись при синтезе как β -диметиламиноэтиловых эфиров [11, 15, 29], так и β -галогеноэтиловых эфиров [15], являющихся исходными продуктами при получении холиновых эфиров аминокислот. Для синтеза диалкиламиноалкиловых эфиров Tos- и Pht-глицина [11] установлена приблизительно одинаковая эффективность хлорангидридного метода и метода смешанных ангидридов, с применением метилового эфира хлоругольной кислоты.

α -Азидоацилхлориды [27] тоже применялись как исходные соединения для получения холиновых эфиров четырех аминокислот (глицина, DL-аланина, DL-лейцина, DL-валина):

Схема 1



2. Метод смешанных ангидридов

Этот метод применялся многими исследователями при синтезе β-диметиламиноэтиловых эфиров N-защищенных аминокислот и пептидов [5, 10—13, 30]. При синтезе использовались смешанные ангидриды, полученные из N-ациламинокислот и бензолсульфохлорида, *n*-толуолсульфохлорида и метилового эфира хлоругольной кислоты. Лучшие результаты получены в случае хлоругольного эфира. Однако в случае Pht-Gly с метиловым эфиром хлоругольной кислоты выход β-диметиламиноэтилового эфира незначителен [11]. Наилучшие результаты получены при применении изобутилового эфира хлоругольной кислоты [12]; следует, однако, отметить, что в этом случае метод азеотропной отгонки воды из смеси β-диметиламиноэтанола, N-ациламинокислоты и ксилола оказался более эффективным [13] по сравнению с методом смешанных ангидридов.

Из сравнения приведенных в различных работах данных по применению конденсирующих агентов при синтезе β-диметиламиноэтилового эфира N-бензилоксикарбонилглицина методом смешанных ангидридов (табл. 2) следует, что наилучшие результаты получаются для этилового и изобутилового эфиров хлоругольной кислоты.

ТАБЛИЦА 2

Влияние заместителей на реакционную способность смешанных ангидридов при синтезе β-диметиламиноэтилового эфира N-бензилоксикарбонилглицина по схеме: Z-Gly-O-R + HOCH₂CH₂·NMe₂ → Z-Gly-OCH₂CH₂NMe₂

R	Выход, %	Ссылки
C ₆ H ₅ SO ₂	13	[10]
<i>n</i> -CH ₃ C ₆ H ₄ SO ₂	26	[10]
MeOOC	40	[10]
EtOOC	58	[5]
изо-БиOOC	61*	[12]

* По данным работы [13], выход составляет 23,8%.

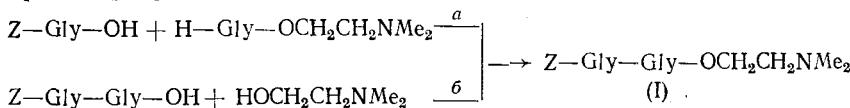
ТАБЛИЦА 3

Влияние растворителя и продолжительности реакции на выход β-диметиламиноэтилового эфира N-бензилоксикарбонилглицина при азеотропной отгонке воды

Растворитель	Время, ч	Выход, %	Ссылки
Толуол	23	25	[10]
Толуол	56	60	[11]
о-Ксиол	23	50	[11]
о-Дихлорбензол	23	20	[11]
Ксиол	15—18	76,4	[13]

Следует отметить, что в работе [13] выход β-диметиламиноэтилового эфира Z-глицина при использовании изобутилового эфира хлоругольной кислоты составляет всего 23,8%. Однако в работах [12, 30] этим реагентом синтезированы β-диметиламиноэтиловые эфиры N-защищенных аминокислот и пептидов с хорошими выходами, что и подтверждает эффективность изобутилового эфира хлоругольной кислоты для синтеза указанных соединений.

Были исследованы два варианта синтеза β -диметиламиноэтилового эфира N-бензилоксикарбонилглицина (I) методом смешанных ангидридов [30]:



Полученные в работе [30] данные показывают, что путь *a* дает лучшие выходы соединения (I).

3. Карбодииimidный метод

Карбодииimidный метод применялся при синтезе холиновых [8], β -галогеноэтиловых [20] и β -диметиламиноэтиловых [10, 12, 24] эфиров N-защищенных аминокислот и пептидов [12, 30]. В качестве конденсирующего агента в основном применялся N,N'-дициклогексилкарбодииimid.

Из работ [10, 12], в которых осуществлен синтез β -диметиламиноэтиловых эфиров Z-глицина и L-валилглицина, а также Вос-глицина как методом смешанных ангидридов, так и карбодииimidным методом, видно, что последний метод менее эффективен.

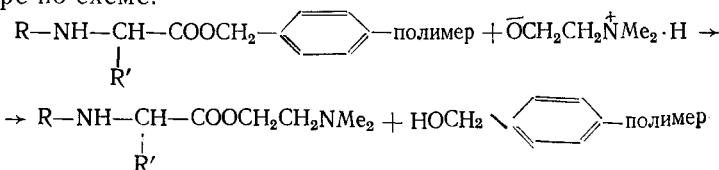
Имеется сообщение [10], что при конденсации Z-глицина и β -диметиламиноэтанола с помощью дициклогексилкарбодииимида, выход β -диметиламиноэтилового эфира Z-глицина меняется в зависимости от соотношения реагентов и продолжительности реакции. Авторы [10] отмечали образование в качестве побочного продукта N-бензилоксикарбонилглицилдициклогексилмочевину в значительном количестве (до 50%). Отмечено также, что при пониженной температуре выход β -диметиламиноэтилового эфира повышается.

В дальнейшем карбодииimidный метод успешно применяли [8] при конденсации некоторых N-ациламинокислот с холином. В работе [20] карбодииimidный метод использован для сшивания бромметилата β -диметиламиноэтилового эфира ϵ -аминокапроновой кислоты с сефарозой-2B.

4. Метод активированных эфиров или переэтерификации

При синтезе β -диметиламиноэтиловых и холиновых эфиров методом активированных эфиров в основном применялись *n*-нитрофениловые эфиры N-защищенных аминокислот. Этот метод применялся при получении холинового эфира Z-глицина [24]. β -Диметиламиноэтиловые эфиры Z-L-лейцилглицина и γ -метилового эфира L-глутамилглицина получены взаимодействием β -диметиламиноэтилового эфира глицина с *n*-нитрофениловыми эфирами Z-L-лейцина и γ -метилового эфира L-глутаминовой кислоты [5]. Цианметиловый эфир использовался при получении β -диметиламиноэтилового эфира N-бензоилсарказина [31].

В работе [6] после осуществления синтеза твердофазным методом пептид, связанный с полимером в виде бензилового эфира, подвергался переэтерификации действием β -диметиламиноэтанола при комнатной температуре по схеме:



На примере Boc-глицина проверено влияние растворителя на процесс переэтерификации [6]. Установлено, что действие смеси β -диметиламиноэтанола с ДМФА (1 : 1 по объему) в течение 70 ч обеспечивает почти количественную переэтерификацию. В случае диоксана или хлористого метилена степень переэтерификации Boc-Gly-O-полимера β -диметиламиноэтанолом гораздо ниже. Скорость переэтерификации в ДМФА более подробно изучена в работе [6] на примере связанного с полимером пентапептида Boc-O-Bzl-L-Ser-L-Gln-NO₂-L-Arg-N^{1m}-Bzl-L-His-Gly-O-полимер. Установлено, что длина пептидной цепи не влияет на скорость переэтерификации. Авторы работы [6] указывают также на затруднение реакции в случае валина и пролина. На примере переэтерификации соединения Boc-L-Leu-L-Ala-O-полимер β -диметиламиноэтанолом найдено также, что рацемизация незначительна ($\sim 0,3 \pm 0,1\%$).

Методом переэтерификации при взаимодействии метилового или этилового эфиров N-защищенных аминокислот с β -диметиламиноэтанолом в присутствии цианистого калия в качестве катализатора получены β -диметиламиноэтиловые эфиры Tos-глицина [31], гиппуровой кислоты и гиппурилглицина [32].

5. Метод азеотропной отгонки воды

Возможности получения диалкиламиноалкиловых эфиров N-защищенных аминокислот этим методом подробно исследованы на примере получения β -диметиламиноэтилового эфира Z-глицина [10, 11] при варьировании растворителя и времени проведения реакции (табл. 3). По данным авторов работы [11], в среде *o*-дихлорбензола происходит осмоление, а увеличение времени отгонки азеотропной смеси в толуоле приводит к увеличению выхода β -диметиламиноэтилового эфира Z-глицина. В дальнейшем этот метод был успешно применен для синтеза β -диметиламиноэтиловых эфиров Z- α - и ω -аминокислот [13].

Сравнивая выходы β -диметиламиноэтилового эфира N-бензилоксикарбонилглицина, синтезированного методом азеотропной отгонки воды из смеси Z-аминокислоты и соответствующего аминоспирта в различных растворителях, становится очевидным, что наилучшей реакционной средой является ксиол.

6. Другие методы синтеза

Одним из распространенных методов синтеза β -диметиламиноэтиловых эфиров аминокислот и пептидов является взаимодействие N-защищенных аминокислот и пептидов с диалкиламиноалкилгалогенидами ($XCH_2CH_2NR_2$; $X = Cl, Br$) в присутствии таких оснований как триэтиламин [8–10] или углекислый калий [7, 20, 24]. Этим же методом успешно синтезированы β -диметиламиноэтиловые эфиры ди-, три- и тетрапептидов [9]. Хорошие результаты получены при применении углекислого калия при синтезе β -диметиламиноэтилового эфира Boc- α -аминокапроновой кислоты [20]. Аналогично получен β -диметиламиноэтиловый эфир Nps-глицина [24].

Авторы работы [9] при исследовании степени рацемизации C-концевой аминокислоты в процессе синтеза холиновых эфиров на примере Ac-L-Ile-OCH₂CH₂N⁺Me₃·Tos⁻ установили, что степень рацемизации не превышает 1,2% при $X = Br$ и 1,4% при $X = Cl$.

Взаимодействием одного моля циклического ангидрида Z-глутаминовой кислоты с двумя молями холина получен соответствующий дихо-

ТАБЛИЦА 4

β-Диалкиламиноэтиловые и холиновые эфиры N-защищенных аминокислот и пептидов
R-Am-OCH₂CH₂NR₂·Y, где R'=Me

R	Am	Y	Выход, %	Т. пл.	Ссылки
Boc	ε-Aka	—	100	жидк.	[20]
Boc	L-Ala	—	65,0	жидк.	[10]
Boc	Gly	—	60,2	жидк.	[6, 12]
Boc	Gly-Gly	—	94,0	жидк.	[6]
Boc	L-Leu-L-Ala	—	—	—	[6]
Boc	L-Ser(BzI)-L-Gln-L-Arg(NO ₂)-L-His(BzI)-Gly	—	85,0	жидк.	[6]
Bz	Gly *	—	—	жидк.	[7]
Z	γ-Abu	—	70,0	жидк.	[13]
Z	ε-Aka	—	74,0	жидк.	[13]
Z	L-Ala	—	78,0	жидк.	[13, 30]
Z	β-Ala	—	70,0	жидк.	[13]
Z	Gly	—	76,4	жидк.	[8, 10—13]
Z	Gly **	—	50,0	65—67	[10, 11]
Z	L-Ile	—	57,2	жидк.	[30]
Z	L-Leu	—	64,2	жидк.	[30]
Z	D-Met	—	65,0	жидк.	[30]
Z	D-Nval	—	83,0	жидк.	[13]
Z	D-Phe	—	72,0	жидк.	[30]
Z	L-Val	—	81,3	жидк.	[13, 30]
Z	m-Aba-Gly	—	53,3	жидк.	[30]
Z	n-Aba-Gly	—	58,6	жидк.	[30]
Z	L-Ala-L-Phe	—	93,0	жидк.	[6]
Z	L-Glu(OMe)-Gly	—	69,0	78—80	[5]
Z	Gly-Gly	—	62,2	жидк.	[30]
Z	L-Leu-Gly	—	61,0	72—74	[5]
Z	L-Val-Gly	—	61,0	жидк.	[12]
H	Gly	—	—	жидк.	[12]
Nps	Gly	—	80,0	жидк.	[24]
Pht	Gly	—	37,0	46—48	[11]
Pht	Gly *	—	30,0	88—90	[11]
Tos	Gly	—	42,0	55—57	[11]
Tos	Gly *	—	36,0	56	[11]
Ac	L-Ile	TosOMe	88,0	184—186	[9]
Boc	ε-Aka	MeI	86,0	94—95	[20]
Boc	L-Trp-L-Met-L-Asp(OBu- <i>tert</i>)-L-Phe	MeBr	72,0	114—116	[9]
Bz	Gly	MeBr	—	180—181	[31]
Bz	Gly	MeCl	25,0	91 (с разл.)	[32, 34]
Bz	Gly	MeCl·AuCl ₄	—	173 (с разл.)	[34]
Bz	Gly	MeI	70,0	160—164	[32]
Bz	Gly	Cr(NH ₃) ₂ (SCN) ₄ Me	—	135 (с разл.)	[34]
Bz	Gly *	MeBr	—	жидк.	[7]
Bz	Sar	MeI	74,0	125—127	[31]
n-NO ₂ Bz	Gly	MeI	—	—	[31]
n-NO ₂ Bz	Gly	MeCl	64,0	189—192	[31]
	Gly-Gly	MeCl	81,6	222—225	[32]
Z	γ-Abu	MeI	50,0	123—125	[13]
Z	L-Ala	TosOMe	—	88—89	[8]
Z	L-Ala	H ₂ PtCl ₆	34,0	195—197	[8]
Z	L-Arg(NO ₂)	TosOMe	85,0	85—88	[8]
Z	L-Asp(OBzI)	TosOMe	—	131—133	[8]
Z	L-Asp(OBzI)	H ₂ PtCl ₆	—	172—174	[8]
Z	L-(Cys) ₂ ***	MeI	—	140—142	[15]
Z	L-(Cys) ₂ *	MeI	—	67—77	[15]
Z	L-Glu(OBzI)	H ₂ PtCl ₆	75,0	154	[8]
Z	Glu ***	MeCl	—	—	[17—19, 41]
Z	Gly	HCl	90,6	110—112	[5, 7, 11, 12]
Z	Gly	H ₂ PtCl ₆	—	156—161	[8]

ТАБЛИЦА 4 (окончание)

R	Am	Y	Выход, %	T. пл.	Ссылки
Z	Gly	MeBr	80,0	143—144	[8, 13]
Z	Gly	MeI	68,7	195—198	[11, 13, 24]
Z	L-Ile	TosOMe	60,0	104—105	[8]
Z	L-Ile	H ₂ PtCl ₆	—	149—150	[8]
Z	L-Leu	TosOMe	80,0	150	[8]
Z	L-Leu	H ₂ PtCl ₆	—	190—192	[8]
Z	L-Lys	H ₂ PtCl ₆	80,0	126—128	[8]
Z	L-Met	TosOMe	70,0	119—121	[8]
Z	L-Met	H ₂ PtCl ₆	—	126, 128	[8]
Z	D-Nval	MeI	41,2	95—97	[13]
Z	L-Phe	MeBr	68,0	117—119	[8]
Z	L-Phe	MeI	—	59—62	[15]
Z	L-Phe	TosOMe	80,0	184—187	[8]
Z	L-Pro	TosOMe	65,0	81	[8]
Z	L-Pro	H ₂ PtCl ₆	—	192—194	[8]
Z	L-Trp	TosOMe	35,5	83—85	[8]
Z	L-Trp	H ₂ PtCl ₆	—	121—124	[8]
Z	L-Tyr(Bzl)	MeBr	60,0	58—61	[8]
Z	L-Tyr(Bzl)	H ₂ PtCl ₆	80,0	148—150	[8]
Z	L-Val	MeBr	70,0	116—117	[8]
Z	L-Val	H ₂ PtCl ₆	80,0	158—162	[8]
Z	L-Asp(OBu- <i>tert</i>)-L-Phe	MeBr	75,0	81	[9]
Z	L-Asp-L-Phe	MeBr	87,0	84—85	[9]
Z	L-Met-L-Asp(OBu)-L-Phe	MeBr	77,0	74—76	[9]
Z	L-Met-L-Asp-L-Phe	MeBr	84,0	85—87	[9]
Z	L-Trp-L-Met-L-Asp(OBu- <i>tert</i> -L-Phe)	MeBr	73,0	89—94	[9]
Z	L-Trp-L-Met-L-Asp-L-Phe	MeBr	82,0	118—120	[9]
Z	L-Val-Gly	HCl	86,5	102—102	[12]
Dns	γ-Abu	MeBr	—	—	[28]
Dns	ω-Ava	MeBr	—	—	[28]
Dns	ε-Aka	MeBr	—	—	[28]
Dns	β-Ala	MeBr	—	—	[28]
Dns	Gly	MeBr	—	—	[28]
H	Gly	MeI	50,3	120—130	[12]
Nps	Gly	MeI	79,2	191—192	[24]
Pht	Gly	HCl	70,0	184—185	[11]
Pht	Gly	MeI	23,0	226—229	[11]
Pht	Gly	EtI	26,01	162—174	[11]
Tos	Gly	HCl	60,0	176—178	[11]
Tos	Gly	MeI	74,0	156—159	[11, 31]
Tos	Sar	MeI	86,0	142—144	[31]
Trit	L-Glu	MeI	54,0	—	[21—23]
Trit	L-Glu	MeCl	75,0	203	[33]

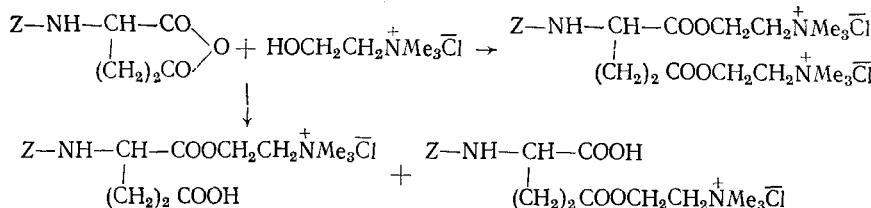
* R'—Et.

** Т. пл.=35—36° С.

*** Дихолиновый эфир.

**** Монохолиновый эфир.

линовый эфир [17, 33].



В случае эквимолярных количеств исходных продуктов получается смесь α- и γ-холиновых эфиров [16, 19, 22].

ТАБЛИЦА 5

Гидрогалогениды β -диалкиламиноалкиловых и холиновых эфиров аминокислот и пептидов $\text{HX}\cdot\text{H-Am-OCH}_2\text{CH}_2\text{NR}'\cdot\text{Y}$, где $\text{R}'=\text{Me}$

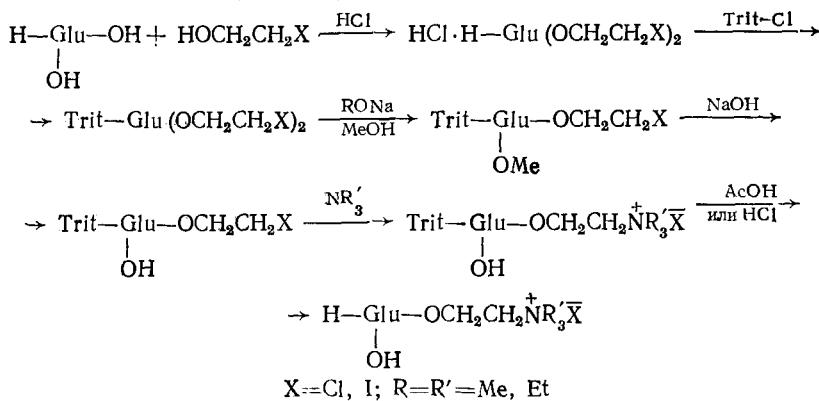
X	Am	Y	Выход, %	T. пл.	Ссылки
Br	γ -Abu	HBr	82,0	173,5—175	[13]
Br	γ -Abu	MeBr	65,0	158—160	[13]
Cl	γ -Abu	MeCl	—	193—194	[1, 35, 36]
Cl	γ -Abu	MeCl·PtCl ₄	—	153—154 (с разл.)	[36]
Cl	γ -A- β -Obu	MeCl	—	160 (с разл.)	[37]
Br	ϵ -Aka	HBr	72,0	169—172	[13]
Br	ϵ -Aka	MeBr	93,0	128	[13, 20]
Cl	ϵ -Aka	MeCl	75,0	—	[20]
Br	L-Ala	HBr	82,0	185—190	[10, 13, 30]
Br	L-Ala	MeBr	17,3	213—216	[8, 13]
Cl	DL-Ala	MeCl·PtCl ₄	—	237—239	[27]
Cl	DL-Ala	MeCl·2AuCl ₃	—	—	[27]
Br	β -Ala	MeBr	33,3	185—187	[13]
F	L-Arg	MeF	—	56—57	[8]
Br	L-Asp	MeBr·H ₂ PtCl ₆	—	138—140	[8]
J	L-(Cys) ₂ *	MeI	—	83—95	[15]
Br	Glu **	MeBr·H ₂ PtCl ₆	—	185—188	[8]
Cl	Glu *	MeCl	60	146	[33, 41]
CH ₃ COO	L-Glu **	MeI	77	170—180	[17, 19, 21—23]
Cl	L-Glu **	MeCl	—	—	[18]
Br	Gly	HBr	100	186—187	[5, 10, 12, 13]
Br	Gly	MeBr	73,0	257—259	[8, 13]
Cl	Gly	MeCl	—	241	[15, 20]
Cl	Gly	MeCl·PtCl ₄	—	236—238	[25, 27]
Cl	Gly	MeCl·3AuCl ₃	—	180—181 (с разл.)	[25]
Cl	Gly	MeCl·2HgCl ₂	—	150—156 (с разл.)	[25]
C ₁₄ H ₇ O ₇ S	Gly ***	C ₁₄ H ₇ O ₇ S	—	259—260	[15]
2C ₆ H ₃ O ₇ N ₃	L-His	C ₆ H ₃ O ₇ N ₃	—	125—128	[38]
2C ₆ H ₃ O ₇ N ₃	L-His ***	C ₆ H ₃ O ₇ N ₃	—	142—145	[38]
Cl	L-His	MeCl	88,0	230 (с разл.)	[38]
Br	L-Ile	HBr	55,7	жидк.	[30]
Br	L-Ile	MeBr	—	223—225	[8]
Br	L-Leu	HBr	53,6	жидк.	[30]
Br	L-Leu	MeBr	—	188—190	[8]
Cl	DL-Leu	MeCl·PtCl ₄	—	203	[27]
Cl	DL-Leu	MeCl·2AuCl ₃	—	—	[27]
Br	L-Lys	MeBr	—	63—65	[8]
Br	L-Met	MeBr·H ₂ PtCl ₆	—	138—140	[8]
Cl	L-Met	MeCl	—	154	[26]
Cl	L-Met	MeCl·PtCl ₄	—	195—197	[26]
Cl	DL-Met	MeCl	—	180	[26]
Br	D-Nval	MeBr	66,0	120—123	[13]
Br	D-Phe	HBr	61,6	—	[30]
Cl	Phe	MeCl	—	—	[15]
J	Phe	MeI	—	80—83	[15]
Br	L-Phe	MeBr	—	172—176	[8]
Br	L-Pro	MeBr	—	169—171	[8]
Br	L-Trp	MeBr	—	98—101	[8]
Br	L-Tyr	MeBr	—	68—72	[8]
Br	L-Val	HBr	57,6	—	[30]
Br	L-Val	MeBr	20,0	229—232	[8, 13]
Cl	DL-Val	MeCl·PtCl ₄	—	205—208	[27]
Cl	DL-Val	MeCl·2AuCl ₃	—	217—218	[27]
Br	<i>m</i> -Aba-Gly	HBr	50,3	жидк.	[30]
Br	<i>n</i> -Aba-Gly	HBr	51,3	жидк.	[30]
Br	L-Asp-L-Phe	MeBr	75,0	126—127	[9]
Br	Gly-Gly	HBr	62,4	жидк.	[30]
Cl	Gly-Gly	MeCl	—	128—130	[15]
Br	L-Met-L-Asp-L-Phe	MeBr	—	144—146	[9]
Br	L-Trp-L-Met-L-Asp-L-Phe	MeBr	75,0	126—128	[9]
Br	L-Val-Gly	HBr	93,6	жидк.	[12]

* Диохлинновый эфир.

** Монохолинновый эфир.

*** R' = Et.

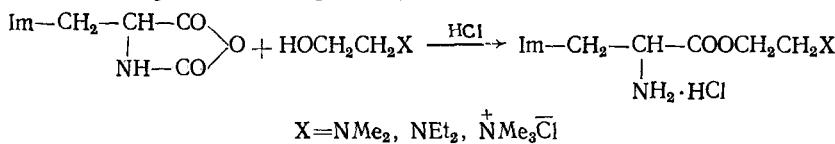
Разработана также другая методика получения α -холинового эфира глутаминовой кислоты [21—33]:



Аналогичным способом через β -галогеноэтиловые эфиры осуществлен синтез холиновых эфиров гиппуровой кислоты [34] и некоторых Dns-аминокислот [28].

В работах [35—37] описан синтез гидрохлоридов холиновых эфиров γ -аминомасляной и β -окси- γ -аминомасляной кислот взаимодействием соответствующей кислоты и холина в присутствии газообразного хлористого водорода в безводном диоксане. Холиновые эфиры аминокислот могут быть получены через их аммониевые соли [26, 33].

Для синтеза холинового эфира *L*-гистидина авторы работы [38] применили N-карбоксиангидриды (Im — имидазол):



В табл. 4 и 5 приведены данные, касающиеся синтеза β -диалкиламиноэтиловых и холиновых эфиров аминокислот и пептидов.

IV. ФИЗИКО-ХИМИЧЕСКИЕ СВОЙСТВА

1. Физические свойства

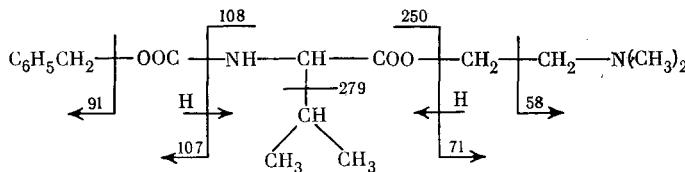
β -Диметиламиноэтиловые эфиры *Z*- и *Вос*-аминокислот и пептидов являются в основном маслообразными веществами. Гидрохлориды и гидробромиды указанных веществ являются кристаллическими веществами. Гидрогалогениды холиновых эфиров аминокислот и дигидрогалогениды диалкиламиноалкиловых эфиров аминокислот, как правило, кристаллические вещества; следует, однако, отметить, что некоторые из них очень гигроскопичны. Кристаллическими веществами являются также холиновые эфиры N-защищенных аминокислот и пептидов.

Для идентификации β -диметиламиноэтиловых эфиров N-защищенных и незащищенных аминокислот и пептидов широко применяется ИК-спектроскопия. Авторы работ [12, 13] подробно исследовали ИК-спектры поглощения β -диметиламиноэтиловых эфиров N-ациламино-кислот; обнаружено, что характерные пики находятся в области 1760—1680 и 1725—1625 cm^{-1} и относятся к амидным и эфирным карбонильным группам соответственно. В работах [12, 30] в подтверждение наличия сложноэфирной связи в β -диметиламиноэтиловых эфирах амино-

кислот и пептидов независимо от присутствия N-защитной группы найден пик поглощения при 1265 см^{-1} .

Для идентификации β -диметиламиноэтиловых и холиновых эфиров аминокислот и их производных применялся также метод ЯМР [6, 8, 13, 20, 28].

При масс-спектрометрическом исследовании β -диметиламиноэтиловых эфиров Z- α - и ω -аминокислот [13] выяснено, что пики молекулярных ионов у этих соединений мало интенсивны или в ряде случаев вообще не обнаруживаются. Это явление авторы [13] объясняют на примере β -диметиламиноэтилового эфира Z-валина выгодностью распада с образованием стабильных фрагментов вида $\text{CH}_2=\text{N}(\text{CH}_3)_2^+$ (m/e 58), $\text{CH}_2=\text{CH}-\text{N}(\text{CH}_3)_2^+$ (m/e 71), $\text{C}_6\text{H}_5\text{CH}_2^+$ (m/e 91), $\text{C}_6\text{H}_5\text{CH}_2\text{O}^+$ (m/e 108):



Масс-спектрометрическому исследованию подвергались и β -диметиламиноэтиловые эфиры *n*-алкоксибензоилглицинов [39].

Одним из распространенных физических методов идентификации β -диметиламиноэтиловых и холиновых эфиров аминокислот и пептидов является тонкослойная и бумажная хроматография [5, 6, 8, 9, 11–13, 16, 20, 26, 30, 33, 34, 38].

2. Химические свойства

Изучая гидролиз β -диметиламиноэтилового эфира Z-глицина под действием 2–4%-ного раствора бикарбоната натрия, авторы работы [5] установили, что полное расщепление сложноэфирной связи происходит в течение 40–70 мин при комнатной температуре. В работе [6] проведен гидролиз β -диметиламиноэтилового эфира Вос-глицина в ДМФА в присутствии воды. Обнаружено, что с увеличением количества воды уменьшается время полного гидролиза эфира; в присутствии имидазола (0,1 г-экв.) скорость реакции гидролиза увеличивается.

Гидролиз сложноэфирной группы происходит при кипячении в кислой среде β -диметиламиноэтилового эфира Pht-глицина, а также при удалении Tos-группы действием натрия в жидком аммиаке [11].

Найдено, что самопроизвольный гидролиз гиппурилхолина в дистиллированной воде идет с такой же скоростью, как и гидролиз АХ [34]. Исследован гидролиз холиновых эфиров Tos-глицина [31], гиппуровой кислоты [31, 32] и гиппурилглицина [32]. γ -Аминобутирилхолин (ГАБХ) неустойчив в щелочной среде; он устойчив при pH 5,5 и почти полностью гидролизуется под действием 1 N HCl при 100°C в течение 30 мин [40].

Гидразинолизом γ -холинового эфира глутаминовой кислоты получен соответствующий гидразид [41]. Гидразид аминокислоты получается и при удалении Pht-группы аминоэфира N-фталилглицина [11].

Исследован аминолиз сложноэфирной связи холиновых эфиров аминокислот. Действием на α - или γ -холиновые эфиры N-защищенной глутаминовой кислоты метанольным раствором аммиака [41] получены соответствующие амиды.

Авторы работы [7] в поисках активированных эфиров, пригодных для синтеза пептидов, исследовали возможность применения холиново-

го эфира. Взаимодействием бромметилата β -диметиламиноэтилового эфира гиппуровой кислоты с бензиламином получен ожидаемый бензиламид гиппуровой кислоты с выходом до 34 %.

V. БИОЛОГИЧЕСКИЕ СВОЙСТВА

Биологические свойства холиновых эфиров аминокислот и пептидов изучались достаточно широко. Франк и сотр. синтезировали диазоацетилхолин [42–44] и ϵ -аминокапропилхолин [20, 45] для выделения ацетилхолинэстеразы (АХЭ) и других специфических к АХ ферментов из электрических органов ската *Electrophorus electricus*. Было установлено, что ϵ -аминокапропилхолин является полным холинергическим (никотиновым) агонистом. Активность его колеблется между активностями АХ и карбахолина; он не гидролизуется под действием АХЭ и не является ее ингибитором, но его производное с сефарозой-2В — эффективное средство для выделения АХ-связывающих рецепторов. С такой же целью в работах [28, 46] синтезирован холиновый эфир N-дансил- ϵ -аминокапроновой кислоты.

Подробно изучено биологическое действие ГАБХ. По полученным в [1] данным ГАБХ в дозе $5 \cdot 10^{-2}$ М подавляет сокращающее действие АХ, в дозе $5 \cdot 10^{-3}$ М подавляет действие гистамина, а в дозе $1 \cdot 10^{-4}$ М тормозит секрецию гастрин. Эзерин усиливает, а *d*-тубокуарин и флакседил ослабляют тормозящее влияние ГАБХ на передачу нервно-мышечных импульсов [47]. В концентрации $5 \cdot 10^{-4}$ г/мл ГАБХ вызывает у морской свинки и кролика сокращения тонкого кишечника [48], которые не устраняются атропином, гексаметонием, феназолином или высокой концентрацией серотонина; морфин заметно ослабляет антисеротониновый эффект ГАБХ.

Кроме угнетающего действия на дыхание ГАБХ оказывает также влияние на сердечно-сосудистую систему, ГАБХ и глицилхолин понижают тонус и уменьшают амплитуду изолированного сердца молюска *Mepetrix lusoria* [49]. По мнению авторов работы [49], тормозящий эффект ГАБХ обусловлен его антихолинергическим действием. Изучено нейротропное действие ГАБХ [50], влияние на электрическую активность коры головного мозга [51] и на центральную нервную систему [52, 53]. Установлено, что ГАБХ уменьшает кровоток в мозгу [54], но повышает проводимость мембран [55].

Противосудорожные свойства ГАБХ [56] изучены на мышах, кроликах и собаках. Глутамилхолин и ГАБХ оказывают тормозящее влияние на первичные сенсорные потенциалы при раздражении центрального чувствительного нерва [57]. По мнению авторов работы [57], отсутствие влияния внутривенно введенного глутамилхолина и ГАБХ на вызванные раствором коразола разряды связано с разрушением этих веществ в крови. В работе [40] показано, что ГАБХ не гидролизуется под действием АХЭ эритроцитов крови или фермента из электрического органа угря, но частично подвергается действию бутирилхолинэстеразы плазмы и тканей, не являясь, однако, физиологическим субстратом этого фермента. Ферментативный гидролиз ГАБХ [40] тормозится ингибиторами холинэстеразы — эзерином и дизопропилфторфосфатом. В присутствии α -кетоглутаровой кислоты действие трансаминазы из мозга морской свинки на ГАБХ не сопровождается трансаминированием [40]. Установлено [13], что холиновые эфиры α - и ω -аминокислот обладают слабым противосудорожным действием; некоторые из них проявляют гипотермические свойства.

Результаты испытания влияния гидробромидов холиновых эфиров α -аминокислот на сокращение гладкой мускулатуры [8] показали хо-

линомиметическую активность, промежуточную между активностями АХ и холина. Установлено также, что холиновые эфиры цистеина и цистина проявляют окситоциновую активность [15]. Гиппурилхолин на 90% подавляет активность холинэстеразы сыворотки крови [34].

Холиномиметической активностью обладает холиновый эфир N-пальмито-глицина [24], который проявляет также выраженное антибактериальное действие *in vitro* в отношении золотистого стафилококка. Дигидрохлорид холинового эфира *L*-гистидина в дозе 2 мг/л усиливает сокращение изолированной кишки кролика, а при увеличении дозы (5, 10, 20 мг/л) угнетает ее сокращение. Пикраты β -диметил- и диэтиламино-этилового эфиров *L*-гистидина усиливают сокращение кишки кролика в дозах 1 и 5 мг/л соответственно [38]. Иодметилаты β -диметиламино-этиловых эфиров некоторых аминокислот и пептидов по холиномиметической активности уступают карбахолину, однако они значительно менее токсичны карбахолина [58].

Изучено также мутагенное действие гидрохлоридов β -диметиламино-этиловых эфиров *n*-алкоксибензоилглицинов [59]. Установлено, что некоторые из них обладают выраженным мутагенным действием и что степень их активности зависит от строения алкильного радикала алкоксильной группы.

Исследован гидролиз холиновых эфиров некоторых N-защищенных аминокислот под действием химотрипсина [32, 60]. Подробно изучен гидролиз холиновых эфиров N-замещенных аминокислот под действием АХЭ и бутирилхолинэстеразы [61], а также их влияние на гидролиз АХ. Диодметилат β -диметиламиноэтилового эфира N,N-диметиламино-пропионовой кислоты применен как модельное соединение при изучении гидролиза дихолиновых эфиров дикарбоновых кислот под действием бутирилхолинэстеразы [62]. Показано, что Z-глутамилхолин повышает активность трансметилазы и холиноксидазы, предотвращает уменьшение фосфолипидов и препятствует накапливанию жиров в печени [63—69].

ЛИТЕРАТУРА

1. Kuriaki K., Yakushiji T., Noro T., Shimizu T., Saji Sh. *Nature*, 1958, v. 181, № 4619, p. 1336.
2. Kewitz H. *Arch. Exptl. Pathol. and Pharmacol.*, 1959, B. 237, № 3, S. 308.
3. Kewitz H. *Naturwiss.*, 1959, B. 46, № 16, S. 495.
4. Kimura M., Osada E., Honke T., Yoshizaki M., Shioh D. *J. Pharm. Soc. Japan*, 1966, v. 86, № 10, p. 877.
5. Гребен А. Е., Мартынов В. Ф. *Ж. общ. химии*, 1968, т. 38, № 3, с. 664.
6. Barton M. A., Lemieux R. U., Savoie J. Y. *J. Am. Chem. Soc.*, 1973, v. 95, № 14, p. 4501.
7. Schwwyzer R., Iselin B., Feurer M. *Helv. Chim. Acta*, 1955, B. 38, № 7—8, S. 69.
8. Kanaoka M., Kimura M. *J. Pharm. Soc. Japan*, 1975, v. 95, № 2, p. 231.
9. Kanaoka M., Ishida T., Kikuchi T. *Chem. Pharm. Bull.*, 1978, v. 26, № 2, p. 605.
10. Миндоян О. Л., Агаджанян Ц. Е. *Арм. хим. ж.*, 1969, т. 22, № 11, с. 1003.
11. Миндоян О. Л., Агаджанян Ц. Е. *Арм. хим. ж.*, 1970, т. 23, № 6, с. 522.
12. Миндоян О. Л., Казарян С. А. *Арм. хим. ж.*, 1973, т. 26, № 5, с. 395.
13. Шамшин В. П., Анисимова О. С., Филипенко Т. Я., Воронин В. Г., Суворов Н. Н. *Хим.-фарм. ж.*, 1977, т. 11, с. 47.
14. Миндоян О. Л., Казарян С. А., Топузян В. О., Герасимян Д. А., Шахбазян Л. В. Советско-индийский симпозиум по природ. соединениям. Тезисы. Ереван, 1978, с. 60.
15. Gulland J. M., Partrige M. W., Randall S. S. *J. Chem. Soc.*, 1940, p. 419.
16. Matsukawa T., Masuda K. *J. Pharm. Soc. Japan*, 1953, v. 73, № 4, p. 397.
17. Яп. пат. 4320 ('52) (1954); C. A., 1954, v. 48, 5211.
18. Kotake M., Shimazu Y. *Inst. Politech. Osaka City Univ.*, 1950, v. 1, № 2, p. 43.
19. Пат. США 2776923 (1957); C. A., 1957, v. 51, 8781.
20. Frank J., Kriwaczek V. M., Marchand C., Schwwyzer R. *Helv. Chim. Acta*, 1977, v. 60, № 8, p. 2550.
21. Англ. пат. 871234 (1961); C. A., 1961, v. 55, 25783.
22. Герман. пат. 1101434 (1959); C. A., 1962, v. 56, 2509.

23. Amiard G., Heymes R. Rec. trav. chim., 1959, B. 78, S. 523.
24. Миндоян О. Л., Топузян В. О. Хим.-фарм. ж. 1980, т. 14, № 5, с. 34.
25. Dudley H. W. J. Chem. Soc., 1921, p. 119.
26. Matsukawa T., Masuda K. J. Pharm. Soc. Japan, 1954, v. 74, № 11, p. 1174.
27. Freudenberg K., Keller R. Ber., 1938, B. 71, № 2, S. 329.
28. Waksman G., Fournie-Zaluski M. C., Heidmann B., Rogues T., Grunhagen H. H., Changeux J. P. FEBS Letters, 1976, v. 67, № 3, p. 335.
29. Миндоян О. Л., Далогляян Д. А. Арм. хим. ж., 1973, т. 26, № 8, с. 675.
30. Миндоян О. Л., Казарян С. А. Арм. хим. ж., 1975, т. 28, № 1, с. 57.
31. Gemperli M., Hofmann W., Rottenberg M. Helv. Chim. Acta, 1965, v. 48, № 100, p. 939.
32. Wenger E., Urheim H., Rottenberg M. Ibid., 1962, v. 45, № 115, p. 1013.
33. Matsukawa T., Masuda K. J. Pharm. Soc. Japan, 1954, v. 74, № 12, p. 1344.
34. Augustinsson K.-B. Acta Chem. Scandinavica, 1955, v. 9, № 5, p. 793.
35. Англ. пат. 842843 (1960); С. А., 1961, v. 55, 6396.
36. Яп. пат. 17707 (61) (1958); С. А., 1962, v. 57, 4549.
37. Яп. пат. 6822852 (1968); С. А., 1969, v. 70, 77343.
38. Okano S., Kojima S., Fukagawa Y. J. Pharm. Soc. Japan, 1957, v. 77, № 10, p. 1100.
39. Миндоян О. Л., Топузян В. О., Казарян С. П., Диванян Н. М. Молодежная конференция по органическому синтезу и биоорганической химии. Тезисы докладов. Ереван, 1976, с. 11.
40. Kewitz H. Proc. Intern. Pharmacol. Meeting, 1st, Stockholm, 1961, v. 8, p. 25.
41. Matsukawa T., Masuda K. J. Pharm. Soc. Japan, 1953, v. 73, № 4, p. 400.
42. Frank J., Schwyzler R. Experientia, 1970, v. 26, № 11, p. 1207.
43. Schwyzler R., Frank J. Там же, 1971, № 5, p. 735.
44. Швейцер, пат. 538451 (1973); РЖХим., 1974, т. 6, 6Н211.
45. Schwyzler R., Frank J. Helv. Chim. Acta, 1972, с. 55, № 7, p. 2678.
46. Heidmann T., Iwatsubo M., Changeux J. P. Compt. rend., 1977, v. D284, p. 771.
47. Gryglewski R., Mikos E. Dissert. Pharm., 1963, v. 15, № 3, p. 251.
48. Gryglewski R. Bull. Acad. Polon. Sci. Ser. Sci. Biol., 1963, v. 11, № 1, p. 51.
49. Asano M., Noro T., Kuriaki K. Nature, 1960, v. 185 № 4716, p. 848.
50. Hance A. J., Winters W. D., Bach-y-Rita P., Killam K. F. J. Pharmacol. Exptl. Therap., 1963, v. 140, № 3, p. 385.
51. Takahashi H. In: Inhibition Nervous syst. and Gamma-aminobutyric Acid. Oxford — Ner York — London — Paris: Pergamon Press, 1960, p. 523.
52. Gryglewski R., Marcynski T., Trabka J. Dissertation Pharm., 1965, v. 17, № 2, p. 135.
53. Hayashi T. Abh. Deut. Acad. wiss. Berlin, kl. Med., 1966, № 2, S. 385, С. А., 1967, v. 67, 30398.
54. Saburo O., Shosuke W., Kazuyasu E., Takayuki H., Kyoaki N., Katsusuke M., Takanori S., Nikichi O. Igaku to Seibutsugaku, 1968, v. 76, № 4, p. 172.
55. Hagiwara S., Kasano K., Saito S. J. Neurophysiol., 1960, v. 26, p. 505.
56. Ashida H., Takeuchi N., Hori A., Jinnai D. Nature, 1965, v. 206, № 4983, p. 514.
57. Takahashi M., Nagashima A., Koshino Ch., Takahashi H. Japan J. Physiol., 1959, v. 9, № 3, p. 257.
58. Шахbazян Л. В., Мовсесян М. М., Багдасарян А. Л. Материалы молодежной конференции по органическому синтезу и исследованию новых биологически активных соединений, Ереван, 1978, с. 74.
59. Казарян С. А., Топузян В. О., Саркисян Т. П., Тумасян Э. А. Конференция молодых ученых, посвященная 60-летию Великой Октябрьской Социалистической революции, тезисы. Ереван, 1977, с. 63.
60. Epanet R. M., Wilson I. B. J. Biol. Chem., 1963, v. 238, № 5, p. 1718.
61. Foldes F. F., Foldes V. M. J. Pharmacol. Exptl. Therap., 1965, v. 150, № 2, p. 220.
62. Азбаян Г. П. Автореф. дис. на соискание уч. ст. канд. биол. наук. Л.: ИЭФБ им. И. М. Сеченова, 1978.
63. Batarai Vitamins (Japan), 1956, v. 10, № 2, p. 118; РЖБиол., 1956, 23027.
64. Kunitagai T., Matsuo H., Hata K. Bitamin, 1957, v. 13, p. 193, С. А., 1960, v. 54, 48856.
65. Mandokoro Y., Kumagai T., Namba S. Ibid., 1957, v. 13, p. 190, С. А., 1960, v. 54, 4885.
66. Kabayashi T. J. Pharm. Soc. Japan, 1960, v. 80, № 12, p. 1448.
67. Kusama I. Naika Hokan, 1957, v. 4, p. 763; С. А., 1959, v. 53, 11603f.
68. Kassai K. Ibid., 1957, v. 4, p. 770; С. А., 1959, v. 53, 12473f.
69. Ito F., Yamamura Y., Hoyal K. J. Biochem. (Tokyo), 1964, v. 55, № 2, p. 215.